

MUESTREO Y ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

Existen tres actividades básicas para solucionar un problema analítico:

- La recolección de una muestra representativa
- La preparación de la muestra para el análisis
- El análisis usando métodos apropiados

Estas actividades son independientes una de la otra; sin embargo, una puede tener una influencia decisiva en la otra. Puesto que en cada una de estas actividades existe la posibilidad de cometer errores, se deben tomar medidas para identificarlos y evitar que ocurran. Los laboratorios deben desarrollar un plan para el desempeño adecuado de cada actividad y, luego, establecer los estándares de calidad y procedimientos escritos que satisfagan estos estándares. La elaboración de planes apropiados dependerá del entendimiento de los problemas involucrados en cada actividad, seguido de la aplicación de criterios razonables en la búsqueda de soluciones.

Recolección de muestras

Por lo general, el personal de laboratorio no participa en la planificación de la recolección de las muestras, lo cual es desafortunado. Aunque los analistas pueden ser consultados de vez en cuando con relación al tamaño apropiado de la muestra o del uso de los preservativos apropiados y se les puede pedir que proporcionen los recipientes adecuadamente preparados, con frecuencia ni siquiera esto sucede y se deja que el analista haga lo que pueda en una situación deficiente. Esto es lamentable para el laboratorio, toda vez que cuando se obtienen resultados analíticos dispares de diferentes muestras del mismo lote, la conclusión general es atribuirle la diferencia a un trabajo analítico deficiente o a una mala selección de los métodos, en lugar de a la causa más probable, que es un muestreo deficiente del lote de material. Cuando se presenta una diferencia significativa de resultados entre laboratorios que supuestamente han analizado la misma muestra, pueden surgir problemas graves que involucran cuestiones de competencia y credibilidad. Muchas de estas situaciones pueden evitarse si las muestras se recolectan de acuerdo a un plan racional que proporcione cierta seguridad de que las muestras enviadas al laboratorio representan la composición del lote original.

Existen por lo menos dos formas de medir un lote determinado de artículos:

Una, que con frecuencia se supone es la "apropiada," es encontrar su "valor verdadero," es decir su valor **promedio**. Otra, con frecuencia descubierta accidentalmente como el resultado de muestreos "deficientes", es medir su variabilidad.

El llamado muestreo apropiado de dosificación de medicinas, por ejemplo, puede involucrar el hacer una muestra compuesta de 20 tabletas, proceso por el cual la mayoría de las tabletas pueden ser usadas para diluir la muestra y encubrir el hecho de que varias de ellas están severamente sub o superpotentes. De manera similar, es posible que alguien mezcle dos lotes de grano en un intento por reducir el nivel promedio de un contaminante. El muestreo puede llevar al laboratorio a encontrar resultados inconsistentes que revelen el intento de diluir un producto ilegal.

Se han realizado pocos estudios sobre la distribución de los errores entre las tres actividades: muestreo, preparación de las muestras para el análisis y análisis. En uno de tales estudios que involucraba 20 partes por mil millones de aflatoxinas en una muestra de maní, el error aportado por el muestreo del lote original fue de 67% de la desviación estándar total, el error aportado por la preparación de una submuestra por el analista fue de 20% y el error del procedimiento analítico fue de 13% (1). Este ejemplo exagera la proporción del error que puede atribuirse al muestreo promedio, porque la distribución de las aflatoxinas en maní puede mostrar amplias variaciones, en donde unos pocos manies son los responsables de la mayor parte de la contaminación. El punto importante en este ejemplo, sin embargo, es mostrar que el error de muestreo puede desempeñar un papel muy significativo en el error total en el sistema analítico.

El plan de muestreo

El muestreo se hace generalmente con un propósito específico y éste puede, desde luego, sugerir o dictar la naturaleza del plan de muestreo. La presencia de un plan bien diseñado es importante, puesto que proporciona un modelo uniforme para guiar a la gente que desempeña la actividad de muestrear, y sirve como un recordatorio de los elementos importantes en esta parte del programa total del análisis de las muestras. El plan de muestreo cumple varios propósitos adicionales: requiere de la consideración cuidadosa de los recolectores y de los analistas antes de ser formulado en una reunión de las personas afectadas; sirve como punto de referencia; proporciona los medios para operar sobre una base planificada; puede servir como una fuente de entrenamiento y, muy importante, proporciona un medio para comparar el desempeño frente a los objetivos.

En muchos programas los enfoques estadísticos de muestreo no siempre reciben la atención que merecen. El viejo y a menudo usado método de muestro usando la raíz cuadrada está siendo descartado, como debe ser, por su valor cuestionable. Los sistemas de muestreo por porcentajes, que especifican un porcentaje fijo de un lote, digamos 5% o 10%, no proporcionan la protección de la calidad que con frecuencia se supone. La teoría estadística de muestreo proporciona los medios para analizar las relaciones entre un lote de artículos y las muestras que se sacan de éste. Se la puede

usar para estimar las medidas de la población o "parámetros," tales como varianza y correlación, a partir de un conocimiento de las cantidades de muestra correspondientes.

Existen varios métodos de selección de muestras en uso común: Muestreo probabilístico, muestreo no probabilístico, muestreo por volumen y muestreo por aceptación. Estos se describen brevemente a continuación.

Muestreo probabilístico: se usa cuando se desea una muestra representativa e involucra principios de muestreo estadístico y probabilidad, un enfoque de selección aleatoria que tiende a dar a cada unidad la misma oportunidad de ser seleccionada.

Muestreo no probabilístico: se usa cuando no es posible coleccionar una muestra representativa, o no se desea una muestra representativa. El recolector de las muestras usa su criterio más que consideraciones estadísticas en la selección de la muestra.

Muestreo por volumen: involucra la selección de una muestra de un lote de material que no consiste de unidades separadas, identificables o constantes. El muestreo puede realizarse en situaciones estáticas o dinámicas. El muestreo por volumen posee problemas especiales que requieren la toma de ciertas decisiones: el número de incrementos que se debe tomar, el tamaño de los incrementos, de qué lugar de la pila o flujo deben ser sacados, el utensilio a usar en el muestreo, y cómo reducir los incrementos tomados a un tamaño de muestra razonable para ser enviada al laboratorio.

Muestreo por aceptación: difiere de los ejemplos previos, que pueden ser caracterizados como *muestreos de sondeo*. El muestreo por aceptación involucra la aplicación de un plan predeterminado para decidir si un lote de bienes satisface los criterios de aceptación definidos. El riesgo de aceptar lotes "malos" o rechazar los "buenos" está establecido junto con uno o más parámetros, por ejemplo, índices de calidad del plan. Los planes estadísticos pueden ser diseñados para regular las probabilidades de rechazar lotes buenos o aceptar lotes malos.

Existen dos amplias categorías de muestreo por aceptación. Se llaman muestreo por atributos (2) y muestreo por variables (3). En el **muestreo por atributos** la unidad del producto se clasifica como defectuosa o no defectuosa o se cuenta el número de defectos de la unidad del producto con respecto a un requisito dado. En el **muestreo por variables** se mide una cantidad característica especificada o una unidad del producto en una escala continua (por ejemplo libras, pulgadas, pies por segundo) y se registra una medida.

Un ejemplo de determinación del peso neto puede servir para explicar las diferencias entre las dos categorías (4). En el muestreo por atributos se acepta cada unidad que pese una libra o más y toda unidad que pese menos de una libra se rechaza. Si el número de rechazos excede un número predeterminado, se rechaza el lote. Si el número de rechazos es menor que el número predeterminado, se acepta el lote.

En el muestreo por variables, si se promedian los pesos y el promedio alcanza o

excede el peso declarado sin faltas razonables, juzgadas por la desviación estándar, el lote se acepta.

En los muestreos por aceptación, con frecuencia se usan las curvas de características operativas (CO). La curva CO muestra las relaciones entre la calidad y el porcentaje de lotes que se espera sean aceptables para la característica de calidad inspeccionada. En otras palabras, la curva CO es una gráfica de los defectos del lote contra la posibilidad de que el plan de muestreo acepte el lote. La Figura 1 representa las curvas CO para un plan de muestreo ideal y uno real.

El Estándar Militar de Estados Unidos 105D (United States Military Standard 105D) (2) incluye varias tablas y curvas CO. Proporciona siete niveles de inspección que cubren niveles variables de discriminación, esto es "estiramiento" o "empinamiento" de las curvas CO, y tres niveles de inspección en términos de severidad de la inspección, esto es "normal," "empinada," y "reducida."

La MIL-STD-414 (3) es una publicación complementaria para examinar lotes por variables. Presenta curvas para una variedad de planes, pero los planes no hacen juego con los de MIL-STD-105D.

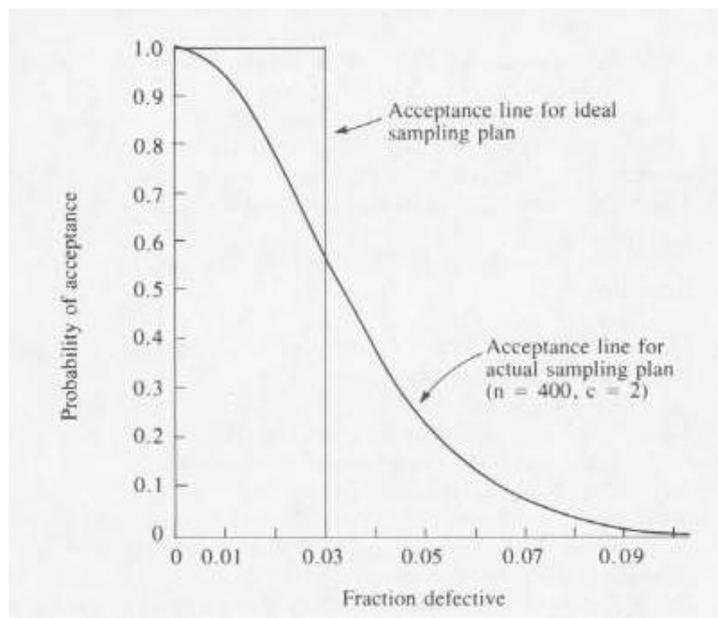


Figura 1. Curvas CO para planes de muestreo ideal y real*

*Legends

Probability of **acceptanc**en= Probabilidad de aceptación

Fraction defective = Fracción con defectos

Acceptance line for ideal sampling plan = Línea de aceptación para un plan de muestreo ideal

Acceptance line for actual sampling plan (n = 400, c = 2) = Línea de aceptación para un plan de muestreo real (n = 400, c = 2)

En las *Referencias* hay cuatro artículos excelentes sobre muestreo y deben ser consultados para tener información adicional sobre este tema (5).

Las muestras serán útiles para el propósito para el que fueron tomadas, si ello se realizó de acuerdo con la aplicación de buenas técnicas y prácticas de muestreo reconocidas universalmente. Esto requiere que se inspeccione el lote antes del muestreo; el uso de dispositivos adecuados para muestrear el producto en particular y el tipo de muestra deseada; el uso de recipientes adecuados para contener la muestra; el mantenimiento de la integridad de la muestra y sus registros asociados; el uso de precauciones apropiadas para preservar, empacar y enviar la muestra oportunamente al laboratorio, y las condiciones adecuadas de almacenamiento de la muestra, tanto previas como posteriores al análisis. Todos estos factores, junto con otros como un análisis de costos-beneficios y la revisión de los objetivos del programa y de los requerimientos regulatorios, deben ser evaluados y recogidos en un plan de muestreo firme, que sirva como guía tanto a los administradores como al personal operativo para alcanzar la calidad en el muestreo.

El desarrollo de planes de muestreo de calidad es una ciencia en sí misma y así lo han considerado muchas organizaciones. A continuación se expone, con comentarios, el formato de un plan confeccionado por la Organización Internacional para la Estandarización (International Organization for Standardization) y que merece ser considerado seriamente (6). Puede servir como punto de partida o bien como una lista para elaborar un plan de muestreo para la mayoría de los productos. El título y encabezamientos de las secciones de la monografía son como sigue:

"Productos Alimenticios Agrícolas- Plan para un Método Estándar de Muestreo de un Lote"

1. Título (corto pero apropiado para su identificación en un índice)
2. Introducción (describiendo el propósito del plan)
3. Alcance (describiendo la amplitud de cobertura del plan)
4. Campo de aplicación (productos que serán cubiertos; en dónde será hecho el muestreo)
5. Referencias (documentos de la validez del plan con relación a otros requisitos)
6. Definiciones
7. Principios (bases estadísticas del método de muestreo)
8. Disposiciones administrativas
 - 8.1 Personal de muestreo
 - 8.2 Representación de las partes interesadas
 - 8.3 Salud, seguridad y precauciones de seguridad
 - 8.4 Preparación del informe de muestreo
9. Identificación e inspección del lote antes del muestreo (importante en muestreos de inspecciones para identificación, condiciones del lote y selección de métodos de muestreo)

10. Equipo de muestreo y condiciones ambientales (herramientas apropiadas, tales como el uso de equipo estéril para tomar muestras en forma aséptica)
11. Recipientes y empaque de las muestras (esencial para evitar contaminación y daño durante el transporte o almacenamiento)
12. Procedimientos de muestreo (como lo dicten los objetivos del plan)
 - 12.1 Tamaño de las muestras
 - 12.2 Toma de las muestras
 - 12.3 Preparación de las muestras por volumen y reducidas
 - 12.4 Selección de muestras de productos empacados
13. Empacado sellado y marcado de las muestras y de los recipientes que las contengan (identificación de unidades y establecimiento de una cadena de custodia)
 - 13.1 Llenado y sellado de los recipientes de las muestras
 - 13.2 Marcado
 - 13.3 Empacado de las muestras para su almacenamiento o transporte
14. Precauciones durante el almacenamiento y transporte de las muestras
15. Informe del muestreo
 - 15.1 Detalles administrativos
 - 15.2 Detalles de los paquetes unitarios o cajas que contengan el lote
 - 15.3 Muestras del material
 - 15.4 Marcado y sellado de las muestras
16. Anexos (información suplementaria si es necesario)

Submuestreo para análisis

El mejor análisis puede proporcionar información falsa si la porción de la muestra analizada no representa la muestra o al lote del que fue tomada. Las distorsiones introducidas en este punto permanecerán durante el análisis, afectando los resultados finales de manera adversa así como las conclusiones obtenidas de éstos. Generalmente hay dos opciones para el submuestreo analítico: preparación de una muestra de laboratorio compuesta (si se envían muestras múltiples para su análisis) o examen de las unidades individuales. Una muestra de laboratorio **compuesta** es aquella en la que las unidades individuales o porciones representativas de las unidades se combinan para formar una mezcla uniforme. Para el análisis se toman porciones de la muestra compuesta. El mejor uso de las muestras compuestas es en casos en que la homogeneidad no es una preocupación significativa. Las muestras compuestas ahorran tiempo analítico y en algunos tipos de pruebas por contrato pueden ser el procedimiento especificado. No se elige este procedimiento cuando existe la posibilidad de que una unidad individual que constituya una amenaza de salud pública o de

seguridad (existen algunas excepciones) escape detección, o bien cuando una unidad fuera de la tolerancia podría no ser detectada debido a la dilución de la matriz. El muestreo de **unidades múltiples** en el laboratorio es el indicado cuando la fluctuación posible de valores entre las unidades individuales se considera significativa o es deseable establecer la variabilidad del lote.

Youden y Steiner (7) observan que "Muchos materiales son notoriamente difíciles de muestrear. Con frecuencia, la variabilidad entre las muestras es el factor de control de la confianza puesta en el resultado analítico." Adicionalmente notan que:

Un error que a veces se comete es hacer muestras compuestas de varias muestras y después hacer repetidas determinaciones sobre estas muestras compuestas. El analista puede estar satisfecho con varios resultados que concuerdan, porque solamente está involucrado en el resultado el error analítico. Algunos pueden tener fe en el resultado. Es verdad que si las muestras individuales fuesen del mismo peso, y mezcladas de manera apropiada, resultará el mismo promedio si las muestras son analizadas individualmente o se hacen repeticiones de la muestra compuesta. El uso de la muestra compuesta oculta, efectivamente, la variación entre muestras. Debería ser obligatorio analizar las muestras individualmente ya que sólo haciéndolo así podrá cualquiera estar en la posición de hacer declaraciones estadísticas acerca de los resultados, sin importar qué tan bueno es el procedimiento analítico.

Un punto de vista algo similar del submuestreo para el análisis está expresado en un artículo publicado en *Chemical and Engineering News* por un Subcomité ad hoc de la American Chemical Society para el "Abordaje de los Aspectos Científicos de Mediciones Regulatorias" (8). Este informe observa que:

Por lo general, el número de muestras por analizar en una situación dada está limitado por los recursos disponibles para la recolección de las muestras o para su análisis. Sin embargo, la confiabilidad de los resultados generalmente se incrementa con la raíz cuadrada del número de muestras analizadas. Por esta razón los análisis de muestras múltiples siempre son preferibles a los de muestras únicas, puesto que las muestras únicas no dan información sobre la homogeneidad del lote que fue muestreado. Además, en las muestras únicas, el error de muestreo también se confunde con el error analítico. Como resultado, si se debe fijar el número total de determinaciones, se prefieren múltiples muestras únicas independientes, por encima de las réplicas de alícuotas de una sola muestra. Si solamente es posible un solo análisis, es preferible una muestra compuesta sobre una muestra única aleatoria. En cualquier caso, la decisión del muestreo debe ser una decisión a priori y debe basarse en el asunto en

cuestión.

Además del número de submuestras tomadas para el análisis, es esencial que cada una se prepare de forma que se logre su homogeneidad y se la maneje de manera que se prevengan alteraciones de su composición original. Obviamente, un descuido a esta altura en la preparación de una submuestra homogénea afectará los resultados del análisis independientemente del método usado.

Preparación de las muestras para el análisis

Cada tipo de material que sea preparado para el análisis presenta sus propias dificultades prácticas. Las exigencias para una preparación adecuada de las muestras son determinadas por la consistencia y características químicas del analito y de la matriz y por la distribución del analito en la muestra. Incluso, materiales aparentemente homogéneos como los líquidos pueden estar sujetos a sedimentación o estratificación. Las palabras clave son vigilancia y cuidado.

Los líquidos de una fase generalmente se pueden mezclar, revolver o agitar. Los materiales de partículas secas pueden ser reducidos en volumen por conos y cuarteo, laminado y cuarteo o por el uso de un divisor, como los de tipo rifle (9). Para desintegrar muestras existen diversas herramientas y máquinas como molinos, trituradoras y cortadoras. Se tiene que prestar atención en su utilización para prevenir la pérdida de polvo o cambios en la composición por la separación parcial de los componentes. Para reducir del tamaño de las partículas se pueden usar tamices, tras lo cual se las mezcla para alcanzar la homogeneidad. Los errores de muestreo se pueden presentar incluso en mezclas de partículas bien mezcladas, si las partículas difieren apreciablemente en tamaño o propiedades físicas, especialmente en los análisis de trazas.

Cada pieza del equipo usado en la preparación de las muestras debe ser vista con recelo. Anteriormente se mencionaron los molinos, los cuales contribuyen a la pérdida de las partículas más finas en forma de polvo. También se ha sabido que segregan los materiales dentro de la mezcla por tamaños, por ejemplo, los materiales más finos se acumulan bajo la hoja. Los tamices metálicos pueden dejar pasar partículas finas pero retienen el polvo que se adhiere a los materiales del tamiz. Los recipientes de vidrio y los aparatos de laboratorio pueden absorber ciertos materiales y es posible que haya que tratar sus superficies. Los recipientes de plástico pueden retener contaminantes, tales como pelos de animal, aunque el resto de la muestra se transfiera con aparente facilidad. En otras palabras, la validación de un método de análisis, que será discutido más adelante, ciertamente incluye la validación del método de preparación y el almacenamiento de la muestra.

La pérdida o ganancia de humedad durante la manipulación puede ser un problema. La pérdida se puede reducir al mínimo manteniendo las muestras cubiertas con plástico o papel de aluminio. Se puede proteger un producto frío para que no se humedezca, permitiendo que la muestra alcance la temperatura ambiente antes de empezar la preparación.

Cuando la muestra contiene elementos orgánicos volátiles, la manipulación de las muestras puede no ser posible, o bien se la puede restringir gravemente con el objeto de evitar su pérdida. Esto complica la preparación de la muestra.

Como guía general, las muestras de alimentos se analizan en la forma en que se las consume comúnmente. Las porciones incomedibles, tales como cortezas, cáscaras de nueces o espinas de pescado, se remueven y desechan antes del análisis y se hace una nota adecuada de cómo fue preparada la muestra.

Los análisis de trazas de metales pueden presentar problemas significativos (10). Por ejemplo, los metales que se presentan en trazas pueden estar distribuidos de manera desigual en las fases líquida y sólida en frutas y verduras enlatadas. La mayoría de la gente no consume el líquido (salmuera) de las verduras, pero la porción líquida de las frutas enlatadas generalmente se consume. Obviamente, esta distribución irregular de los metales puede presentar problemas para el analista que desea establecer el nivel de los residuos de metales en el producto, así como para aquellos encargados de establecer tolerancias.

Como anteriormente se mencionó, uno de los problemas más difíciles para muestrear un lote y para hacer el submuestreo subsecuente en el laboratorio, se encuentra al tratar de obtener una muestra representativa para el análisis de aflatoxinas en productos agrícolas crudos (11). La contaminación con aflatoxinas presenta una distribución altamente errática, con una reducción de la heterogeneidad al reducir los alimentos o productos alimenticios al tamaño de partículas. Después de que se reconoció que existía un alto grado de variabilidad entre y dentro de las muestras del mismo lote, hubo un movimiento hacia la colección de muestras más grandes. Los tamaños de las muestras empezaron, para cacahuete (maní), con 1 kilogramo, y el tamaño se incrementó a medida que los productores de alimentos exigieron resultados más confiables, toda vez que al incrementar el tamaño de la muestra se reduce el número de lotes buenos que pueden ser rechazados y el de lotes malos aceptados.

En la actualidad, en Estados Unidos las muestras tomadas de un lote de cacahuates (maní) descascarados es de 144 libras -tres muestras de 48 libras-tomando las porciones del lote de manera aleatoria. El examen en el laboratorio es por análisis secuencial, la primera muestra de 48 libras es molida en un molino para submuestrear y se examinan porciones de prueba por duplicado. Si el promedio de las porciones de prueba está por debajo de la tolerancia establecida (Fijada por la Administración de Alimentos y Medicinas), el lote pasa. Si el promedio está por encima del nivel de

aceptación, el lote se rechaza. Si lo que se encuentra está entre los dos números, se reduce el tamaño de las partículas de la segunda muestra de 48 libras y se repite el análisis. Si no se puede tomar una decisión con respecto a aceptar o rechazar el lote, se prepara y analiza la tercera muestra de 48 libras y se consideran los resultados acumulativos. El ejemplo anterior puntualiza, de manera preocupante, la necesidad de atender el muestreo del lote, el submuestreo en el laboratorio y la preparación de la muestra para el análisis. Aunque éste es un caso bastante extremo, ilustra que los problemas de muestreo no pueden ser ignorados ni tratados con indiferencia.

Selección de métodos

La intención de los análisis es proporcionar información confiable sobre la naturaleza y composición de los materiales sometidos al análisis. Es bien reconocido que todas las mediciones muestran un cierto grado de variabilidad. Esta variabilidad usualmente se incrementa cuando las mediciones son realizadas por analistas diferentes en el mismo laboratorio, y se observa una variabilidad aún mayor cuando los analistas están en laboratorios diferentes (12). Uno de los objetivos de un programa de garantía de calidad es mantener esta variabilidad de los resultados analíticos en un mínimo.

Los métodos de análisis tienen ciertos atributos que deben ser considerados cuando se selecciona el método más apropiado para resolver un problema específico, tales como exactitud, precisión, especificidad, sensibilidad, confiabilidad y que sea práctico. No siempre es posible, ni siquiera deseable, optimizar todos estos atributos para un análisis dado. Finalmente, el analista debe evaluar toda la información a mano y decidir el nivel de incertidumbre que es aceptable en una situación particular. Esta información científica debe ser estimada frente a consideraciones prácticas como tiempo del análisis, costo por análisis, riesgo de errores y nivel de experiencia requerida del analista para su desempeño satisfactorio. Algunas veces estos atributos son conocidos como "figuras de mérito" (13).

Como mínimo, los datos de desempeño proporcionados por un método deben incluir la siguiente información (14): evidencia de identificación del analito; evidencia de la separación del analito de las sustancias interferentes; el nivel más bajo de medición de la concentración del analito; una medida razonable de precisión obtenible dentro del laboratorio y, si es posible, entre laboratorios, a niveles funcionales del analito en la matriz; y la exactitud de la medición del analito a niveles típicos de concentración. En otras palabras, se requieren especificidad, sensibilidad, la capacidad de ser reproducido y exactitud.

La precisión con la que se puede determinar un analito depende del analista, las condiciones del laboratorio, la concentración del analito, los tipos y naturaleza de los interferentes contaminantes, los límites de detección y la integridad y estabilidad del analito. A medida que decrece el analito estas influencias afectan más la capacidad de ser reproducido. Horwitz (15) estudió este efecto examinando los resultados

acumulativos de los estudios colaborativos de la AOAC. Cuando trazó el coeficiente de variación como una función de la concentración (ver la Figura 2) expresada en las potencias de 10, encontró que el coeficiente de variación se duplicó por cada dos órdenes de decremento en la magnitud de la concentración. A un nivel de 1% o más, el coeficiente de variación entre laboratorios fue de 2.5% y a una parte por mil, fue de 5%. Al nivel de partes por millón el CV fue de 16% y al nivel de partes por mil millones fue de 32%. El hecho interesante de la curva, es que parece ser independiente del analito, la matriz, el método de análisis y la técnica de medición.

La selección de métodos apropiados con frecuencia toma en consideración otros asuntos diferentes a los atributos tratados anteriormente. Los métodos pueden ser clasificados de manera amplia de acuerdo con su propósito o con su propiedad administrativa.

- Métodos oficiales
- Consenso estándar o métodos de referencia
- Métodos discriminatorios o métodos rápidos
- Métodos de rutina
- Métodos automatizados
- Métodos modificados

Los métodos oficiales son generalmente aquellos requeridos por ley o reglamento para las agencias gubernamentales, o bien para una industria regulada por una agencia gubernamental. Por ejemplo, la Ley de Alimentos, Medicinas y Cosméticos (Food, Drug, and Cosmetic Act) bajo la que opera la Administración de Alimentos y Medicinas, cita los métodos en la *Farmacopea de Estados Unidos (United States Pharmacopeia)* y exige que sean usados para el análisis de los artículos descritos en tal compendio. La FDA ha designado al *Official Methods of Analysis* de la AOAC como los métodos que la agencia usa para el análisis regulatorio de otros productos para los que se proporcionan métodos en esa publicación. Las *métodos de consenso estándar* o *métodos de referencia*, son aquellos elaborados por organizaciones o grupos que usan estudios colaborativos o vías similares para validarlos. Su valor depende de la autoridad de las organizaciones que los patrocinan. Las *métodos discriminatorios* o *métodos rápidos* son usados como un medio conveniente para determinar, para un gran número de muestras, si alguna debe ser sujeta a pruebas adicionales por un método más exacto. Las *métodos de rutina* son aquellos usados con base rutinaria. Pueden ser oficiales o estándar, pero pueden ser modificados para que sean más convenientes de usar en grandes números de muestras similares. Las *métodos automatizados*, como el nombre lo implica, usan equipos automatizados, pero también pueden ser métodos oficiales o discriminatorios. Las *métodos modificados* son generalmente métodos oficiales o estándares que han sido modificados para simplificarlos o para acomodarlos a tipos de muestras diferentes para las que fueron previstos originalmente o para remover sustancias interferentes no comunes.

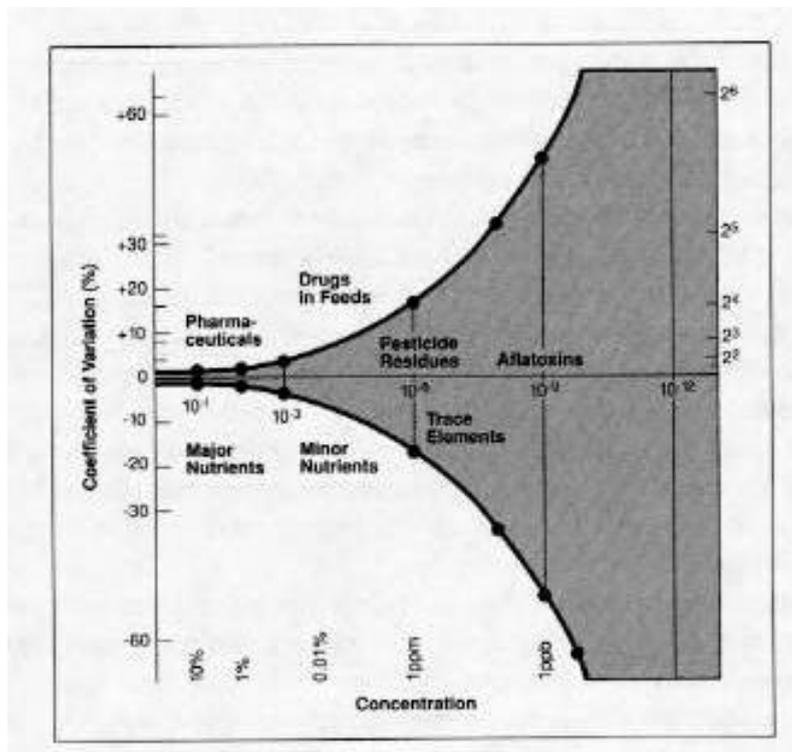


Figura 2. La curva general relacionando coeficientes de variación entre laboratorios (expresados como porcentaje a la izquierda y potencias de 2 a la derecha) con concentraciones (expresadas como potencias de 10 a lo largo del eje central horizontal) decreciendo hacia la derecha. Un punto de referencia conveniente es a 1 ppm (10^{-6}) en donde el $CV = 2^4 = 16\%$ *

*Legends

Coefficient of variation (%) = Coeficiente de variación (%)

Concentration = Concentración

Pharmaceuticals = Fármacos

Drugs in Feeds = Medicinas en alimentos

Pesticide Residues- Residuos de pesticidas

Aflatoxins- Aflatoxinas

Major Nutrients= Nutrientes mayores

Minor Nutrients= Nutrientes menores

Trace elements = Trazas de elementos

La selección del método apropiado es fundamental para el desempeño del laboratorio y debe ser vigilada por el programa de garantía de calidad, pero no existe, de hecho, una fórmula simple para hacerlo. Cobb (16) sugiere que una combinación de esfuerzos puede proporcionar una especificación razonablemente buena. El proceso de evaluación puede incluir una lectura de la bibliografía, referencia a la experiencia personal o la experiencia de colegas, consideraciones sobre los instrumentos disponibles, cantidad de tiempo disponible para el análisis, la exactitud y precisión requeridas, y consideraciones similares. El Instituto Nacional de Seguridad y Salud Ocupacionales (National Institute of Occupational Safety and Health) ha desarrollado un

sistema empírico para circunstancias en las que no existen requisitos legales para usar un método específico (17):

- Se deben preferir métodos que han sido aplicados a la matriz de interés, sobre métodos que han sido aplicados a otras matrices o métodos que aparentemente no han sido probados en muestras auténticas.
- Los métodos documentados por datos de validación interlaboratorios publicados, deben ser seleccionados sobre aquellos que no lo son.
- Los métodos que han sido probados y validados sobre los límites de la concentración de interés deben ser seleccionados sobre los métodos probados a otros niveles (particularmente niveles más altos). Métodos que funcionan muy bien en un nivel, pueden ser totalmente inadecuados en un nivel más bajo.
- Los métodos de amplia difusión se deben escoger sobre los que no lo son.
- Los métodos simples, de costo bajo, o rápidos son preferibles a los métodos complejos, más costosos o más lentos.

Egan (18), haciendo consideraciones similares, sugiere que:

- Se dé preferencia a los métodos para los que se ha establecido confiabilidad en estudios colaborativos en varios laboratorios.
- Se dé preferencia a los métodos que han sido recomendados o adoptados por organizaciones internacionales relevantes.
- Se dé preferencia a aquellos métodos de análisis que son aplicables de manera uniforme a varios sustratos, sobre aquellos aplicables a sustratos individuales.

Aun cuando se seleccione un método y se encuentre que es adecuado para un tipo dado de muestra, se deben efectuar verificaciones de control junto con los análisis, o de manera intermitente después de un número especificado de análisis, para documentar que su funcionamiento es consistente. También es útil construir diagramas de control, usando los resultados de las muestras de control o verificaciones de funciones seleccionadas para confirmar la uniformidad de la calidad. Los diagramas de control proporcionan una verificación disponible sobre si el sistema analítico está o no fuera de control y pueden indicar en qué parte puede estar la causa probable.

Validación de métodos

La validación de un método es un proceso por medio del cual se determinan y evalúan los atributos o figuras de mérito y es una parte importante del programa de garantía de calidad (19). Muchos métodos son validados por organizaciones de consenso estándar. Algunos métodos deben ser usados porque son oficiales, como se mencionó anteriormente, sin importar si han sido validados ni cómo. Como regla general, los métodos oficiales que se aplican al tipo de muestra para la que fueron especificados y los métodos que se han estudiado colaborativamente en la matriz y concentración de interés, no necesitan ser validados antes de ser usados. Por otra parte, el uso de esos métodos no siempre asegurará resultados deseables. Un analista que tiene alguna experiencia en el uso del método tendrá una oportunidad significativamente mayor de hacer un análisis satisfactorio, pero también es importante

recordar que un método que es válido en una situación puede no serlo en otra. Así, si el analista no tiene experiencia en el uso del método o la situación analítica no es usual, el camino más seguro es la revalidación.

Hay varias formas de abordar la validación de métodos y éstas deben ser consideradas especialmente si un método es nuevo para el laboratorio o para el analista, o si el laboratorio va a usar el método en el futuro con cierta regularidad (20). Estos enfoques son:

- El análisis de formulaciones sintéticas
- El análisis de muestras añadidas (adición de estándar)
- Comparación de los resultados con aquellos obtenidos usando un método oficial o estándar
- El análisis de materiales de referencia certificados, de concentración conocida

El enfoque ideal para la evaluación de métodos es hacer pruebas en una muestra de composición conocida que duplique exactamente el tipo de muestra en la que el método será usado (analito de interés, límites de concentración adecuados y matriz idéntica). Lamentablemente, no siempre es posible esta solución ideal. Tal vez se desconozca la composición total de la muestra o no estén disponibles los ingredientes auténticos. Un factor que complica aún más la situación es que la fabricación del producto o la inclusión biológica de un residuo, pueden incorporar al analito de tal forma que no puede ser duplicado fácilmente por el analista. Por lo tanto, con frecuencia es necesario adoptar otras formas de abordar la validación de métodos.

El procedimiento de adición de estándares incluye la adición de cantidades conocidas de la sustancia pura a porciones de muestra previamente analizadas y la repetición del análisis usando los mismos reactivos, instrumentos y técnicas. Aquí se describen dos procedimientos. En el primero, la muestra de interés se analiza por duplicado para asegurar que los resultados de varias porciones de la muestra compuesta serán uniformes, o sea, el método proporcionará una precisión razonable. Entonces, se toma la mitad de la muestra compuesta y se le agrega una cantidad precisa del analito equivalente a la mitad de la encontrada en el análisis original. Se calcula entonces el porcentaje de recuperación con ese método, usando las proporciones de la cantidad encontrada (F), menos la cantidad ya presente [la mitad de la encontrada en el análisis original (O) - equivalente a un blanco] sobre la cantidad añadida o agregada (S):

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{F - \frac{1}{2}O}{S} \times 100$$

En el otro procedimiento, a algunas porciones de la muestra se les añaden niveles del analito que incluyen la concentración estimada en la muestra de prueba y se construye una curva de calibración. Si las concentraciones calculadas después del análisis son una función lineal de los añadidos agregados, se puede considerar que el desempeño es satisfactorio. Si la línea pasa por el origen de la gráfica, y la muestra de prueba sin adiciones no arroja respuesta para el analito, es razonable suponer la

ausencia del analito en la muestra. Si la muestra no fortificada da una respuesta y ésta cae en la misma línea que las muestras con los añadidos, la línea se extrapola en la región negativa del eje de x . La cantidad de analito en la muestra no fortificada está reflejada en el punto en donde se cruza con el eje de x , pero se lee en una escala positiva (la imagen de espejo de la escala de la concentración normal en el eje positivo de x) (16).

El procedimiento estándar de adición no es tan riguroso como el uso de una buena formulación sintética. El método es especialmente útil en situaciones en las que hay un fondo constante de interferencias de los elementos de la matriz y no es posible suprimirlos.

Es importante que la adición estándar o añadidos se haga en las primeras etapas del análisis, ya sea en la porción de la muestra de prueba original o poco después, y no en el último paso. Si la adición se hace en el último paso, la validación solamente se extiende a la adición del añadido y a los pasos de medición subsiguientes. Esta es otra desventaja común en la significación de las recuperaciones de estándar añadido, si se compara con el uso de una muestra estándar, porque frecuentemente es más fácil recuperar la sustancia pura que es agregada a un extracto preparado, que extraer el compuesto del material de la muestra original. En otras palabras, agregar el añadido en el último estado del análisis puede dar recuperaciones falsas altas.

Los otros dos procedimientos de validación se explican por sí mismos. Se puede usar la comparación con un método oficial o con un método que se ha encontrado aceptable si las muestras usadas en la comparación y la muestra que va a ser probada por el método recién validado, no difieren sustancialmente en composición o en el orden de magnitud de la concentración del analito. Finalmente, los materiales de referencia certificados, tales como aquellos disponibles en el Instituto Nacional para Estándares y Tecnología, pueden usarse para calibrar los métodos que serán utilizados para detectar analitos específicos en productos similares.

Prueba de rigurosidad de los métodos

Algunos métodos son sensibles a cambios relativamente menores en la técnica analítica, reactivos o factores ambientales. Yuden y Steiner sugieren el uso de una prueba de "rigurosidad" como protección contra tales fuentes de problemas. El plan es introducir variaciones razonablemente menores en el método para ver qué sucede. Su plan introduce varios cambios al mismo tiempo, de tal forma que los efectos de cambios individuales puedan ser determinados usando un número limitado y razonable de análisis (21). Las desviaciones estándar calculadas del número limitado de análisis proporciona una buena medida del nivel de imprecisión que puede esperarse en el uso habitual del método en el laboratorio. Se sugiere que todos los métodos analíticos nuevos, elaborados en el laboratorio o usados regularmente por él, se sometan a pruebas de rigurosidad con la intención de diseñar y adoptar sólo los métodos que sean adecuadamente estables.

Control de los métodos

Una vez que un laboratorio ha adoptado cierto método, los analistas deben seguirlos exactamente, sin desviaciones significativas. El tipo y los límites permisibles de modificación deben entenderse claramente y todos los cambios deben ser documentados minuciosamente en el registro analítico original. Los cambios más sustanciales, cuando no están acompañados de experimentos de recuperación que los valide, pueden y de hecho crean problemas. En situaciones de este tipo, los resultados deficientes son causados generalmente por el desempeño cuestionable del analista, más que por fallas del método.

Para los propósitos de garantía de calidad, Dux (22) sugiere que el director del laboratorio documente el uso autorizado de los métodos. Recomienda el uso de un "Formulario de Métodos Autorizados" para prevenir el uso de métodos no probados. El formulario incluye el título del método; analito; matriz; descripción breve de las bases científicas del método; una descripción breve de los resultados del estudio de validación que cubre exactitud, precisión, interferencias, límites de concentración a los que se aplica, límites de detección, resultados de la prueba de rigurosidad, nombre del analista que realizó el estudio, localización de los datos (número de la libreta y páginas), nombre y cargo del funcionario que aprobó y la fecha de aprobación.

Con respecto al formato del método escrito en el archivo, Dux sugiere incluir un número para el método, fecha de autorización, referencias de la bibliografía de apoyo, alcance del método y principios básicos, aparatos y reactivos requeridos, precauciones de seguridad, pasos detallados del procedimiento, fórmulas para los cálculos, información sobre precisión y exactitud, requisitos de verificaciones de garantía de calidad de las muestras de prueba y todos los comentarios especiales pertinentes. La AOAC recomienda un formato estandarizado similar para sus miembros (23).

Exactitud y precisión

Los términos relacionados con *error*, exactitud y precisión pueden requerir una mejor definición (24). Los errores pueden ser clasificados como sistemáticos (o determinados) o aleatorios (indeterminados). Las *errores sistemáticos* tienen varias causas, tales como defectos en el método, prácticas de análisis deficientes, mal funcionamiento de los instrumentos y estándares no válidos. Estos errores son usualmente constantes para un método dado y pueden ser contabilizados o medidos. Las *errores aleatorios* son inevitables y se reflejan en las fluctuaciones impredecibles que se presentan en el uso de un método. Pueden ser descritos usando procedimientos estadísticos.

La exactitud, por supuesto, es la cercanía de un resultado o la media aritmética de un grupo de resultados al valor verdadero, estimado o aceptado. *Precisión* es la conformidad o la repetibilidad de un grupo de resultados replicados entre sí o el acuerdo entre observaciones repetidas hechas bajo las mismas condiciones. Las medidas de precisión son calificadas o explicadas en términos de las posibles fuentes de

variabilidad: replicabilidad, repetibilidad y reproducibilidad. El siguiente diagrama refleja los requerimientos de la definición (25):

Fuente de Variabilidad	Replicabilidad	Repetibilidad	Reproducibilidad
Espécimen (Submuestra)	Igual o Diferente	Igual o Diferente	Lo más probable diferente
Muestra	Igual	Igual	Igual
Analista	Igual	(Por lo menos uno de éstos debe ser diferente)	Diferente
Aparato	Igual		Diferente
Día	Igual		Igual o Diferente
Laboratorio	Igual	Igual	Diferente

El desempeño efectivo de un método es la prueba real de su aplicabilidad a la situación presente. Para algunos métodos, cuando los resultados son críticos y varios analistas usan los métodos intermitentemente pero de manera regular, puede ser deseable estudiar el método para conocer su repetibilidad. Esto incluye el examen de muestras por duplicado en tiempos escalonados. También sería deseable incluir en el estudio el uso del mismo instrumento o diferentes instrumentos por más de un analista. Se puede usar el siguiente diagrama como un ejemplo del programa para la ejecución de los análisis en una prueba de repetibilidad.

V	Lu		Ma		Mi		J		V	
PM	AM	PM								
O1	O2		O3	O4			O5	O6		
	D1		D2	D3			D4	D5		D6

O- Análisis original de la muestra y número de prueba

D- Análisis del duplicado en el análisis original correspondiente

Puntos críticos de control

Algunos laboratorios, como parte de sus programas de garantía de calidad, establecen puntos críticos de control y especificaciones para los métodos individuales a los que se les tiene que dar atención particular en sus esquemas analíticos. El siguiente ejemplo, tomado del Manual de Garantía de Calidad del Servicio de Seguridad e

Inspección de Alimentos (Quality Assurance Manual of the Food Safety and Inspection Service, FSIS) del Departamento de Agricultura de EE.UU., ilustra esta práctica (26):

En el análisis de PCB usando el método de la AOAC "Residuos de Pesticidas Organoclorados y Organofosforados" (27) se reconocen varios puntos críticos de control. En 970.52B "Prueba de la pureza del solvente", el método de la AOAC establece "La GC con captura de electrones requiere la ausencia de sustancias que causen la respuesta del detector", usando una prueba descrita. El FSIS agrega "Sin deflexión >3 mm de la línea basal de 2-60 minutos después de la inyección del solvente concentrado". En 970.52B(j), "Florisil" el método de la AOAC establece en parte "60/100 grado PR, activado a 675 °C (1250 °F)". El FSIS agrega entonces "Activado a 1250 °F ≥ 2 horas si no ha sido hecho ya por el proveedor, seguido por ≥ 5 horas a 130 °C y almacenar en desecadores. ≥ 5 horas a 130 °C debe ser repetido para cada tanda por lo menos cada 2 días".

El FSIS también sugiere que se use un procedimiento discriminatorio para PCB, tal como cromatografía de permeación de gel o un procedimiento de columna de microalúmina. En estos procedimientos se deben satisfacer los siguientes estándares: (a) no debe perder ningún residuo de PCB presente en o arriba del límite de detección; (b) no debe registrar ningún positivo falso; (c) los residuos recuperados de PCB deben ser de 60 a 100 % con un CV < 20 %; (d) los valores encontrados, corregidos para recuperación, deben concordar dentro de 20 % con los valores corregidos de recuperación obtenidos con el método oficial; y (e) debe haber validación documentada de que el procedimiento de extracción usado remueve compuestos de interés de la matriz de la muestra.

La preparación de tal sistema de control de calidad, que incluye la identificación de los puntos críticos de control para cada método, puede consumir bastante tiempo si el laboratorio usa una gran variedad de métodos. Por otro lado, el control puede ser efectivo para reducir errores engorrosos en los análisis, especialmente cuando el analito medido está presente en microcantidades.

Los analistas

Es razonable esperar que un analista, después de entrenamiento apropiado y con experiencia adecuada, produzca resultados confiables en el análisis de muestras y opere con un mínimo de supervisión. Se puede alcanzar y mantener este tipo de operación satisfactoria cuando se dispone de los métodos y el equipo adecuados, la carga de trabajo es razonable y se proporciona el entrenamiento adecuado que prepare a los analistas para situaciones nuevas.

Es esencial que aun los analistas competentes y experimentados se familiaricen con los nuevos procedimientos y con procedimientos complejos rara vez usados, con el objeto de que produzcan resultados satisfactorios de manera consistente. Esto es especialmente cierto cuando las concentraciones del analito decrecen a niveles cercanos a cero, y cuando la complejidad de la matriz se incrementa. El examen de muestras de verificación intralaboratorio y muestras de verificación para el desempeño

interlaboratorio, pueden proporcionar una medida de la capacidad del analista para hacer frente a los métodos más nuevos.

Las analistas deben ser entrenados para entender las limitaciones de sus hallazgos analíticos. La calibración de los instrumentos y su precisión y sesgo, y las interferencias causadas por otros constituyentes en la muestra, representan las influencias más comunes en el desempeño de un método y son responsables de gran parte de la incertidumbre asociada con los resultados producidos. La calidad de la descripción escrita de un método influye en lo bien que éste puede ser interpretado, así como también puede conducir al error total del proceso de medición. La buena comprensión que el analista tenga del procedimiento escrito dependerá no sólo de lo bien escrito que se encuentre, sino de la capacidad del analista para entender los procedimientos técnicos escritos, así como de su conocimiento específico y su experiencia como analista. En cualquier caso, se espera que el analista use su buen criterio en la interpretación del método y después *siga el método tan al pie de la letra como sea posible.*

Las analistas deben entender que sus resultados pueden verse distorsionados por interferencias provenientes tanto de la misma muestra como del procedimiento usado para analizarla. Se conoce a estos últimos efectos como efectos no matriciales, e incluyen cosas como las contribuciones de reactivos contaminantes o el material de vidrio. El ruido instrumental también puede jugar un papel en la producción de datos engañosos. Tanto los efectos de la matriz como los no matriciales tienen una influencia especialmente significativa en análisis de cantidades de trazas del analito.

En algunos casos, el mismo material de la muestra puede causar problemas que se manifiestan de diferentes formas. La más común de éstas es un incremento aparente en la respuesta analítica como resultado de una irregularidad de la línea basal desde donde se mide la respuesta del analito. La matriz de la muestra, por supuesto, puede afectar la recuperación del analito, ya sea incrementándolo o disminuyéndolo en una situación dada, y la "limpieza" que precede al paso determinante, al variar la eficiencia en cada corrida, cambiará la composición de la matriz final y por tanto, cualquier influencia que la matriz pueda tener en el paso de determinación.

El Programa de Garantía de Calidad del FSIS, antes mencionado, requiere cierto nivel de desempeño por parte de los analistas: estar listo para trabajar a un nivel elevado, examen de muestras de prueba intralaboratorio y participación en los programas interlaboratorio de muestras de prueba. Además, se establecen "criterios de aceptabilidad" para los análisis complejos. Si el analista no logra mantener un nivel de competencia aceptable, se toman acciones investigativas y correctivas. Usando, de nuevo, como ejemplo el de análisis de PCB, el FSIS exige a los analistas recuperaciones mayores de 75 %, que el coeficiente de variación sea menor de 12 %, que no se encuentren resultados positivos falsos, que no se pierdan residuos de PCB si están presentes por encima de sus más bajos límites de detección, y que todos los valores reportados, corregidos para recuperación, estén dentro de la desviación estándar de 1.7 (90 % de confianza) del valor promedio, corregido para recuperación, encontrado por todos los laboratorios que han analizado las mismas muestras. Se han establecido criterios similares de aceptabilidad para muestras de prueba intralaboratorio.

El ambiente

El desempeño o efectividad de la gente, instrumentos, equipo e incluso reactivos, se ven afectados por las condiciones ambientales. Por ejemplo, los altibajos de temperatura durante el día en un laboratorio afectarán severamente los tiempos de retención de procedimientos cromatográficos a temperatura ambiente, tales como cromatografía líquida de alta presión. Si los análisis se realizan en un periodo de una hora o más, los cromatogramas de la muestra y los estándares pueden no ser comparables debido a las fluctuaciones de la temperatura. Las temperaturas ambiente dispares de lugar a lugar en un laboratorio pueden afectar también las pruebas, puesto que, por ejemplo, los cambios de temperatura afectan medidas de volumen de líquidos orgánicos. La humedad, como se mencionó antes, puede afectar las muestras que están abiertas en el laboratorio - pueden adquirir o perder humedad rápidamente, dependiendo de las condiciones atmosféricas. Es bien sabido que ciertos reactivos toman humedad, y los polvos finos, que tienen expuesta una superficie considerable, pueden adsorber humedad en un ambiente húmedo o perderla en uno seco. Ciertas sustancias químicas son sensibles a la luz ultravioleta contenida en la iluminación fluorescente, y en aquellos laboratorios que todavía tienen ventanas, la luz del sol puede ser un "contaminante" ambiental importante. Finalmente, la categoría de posibles problemas ambientales también incluye las instalaciones. Como ejemplos se pueden citar los incrementos o irregularidades de la energía eléctrica, contaminantes o fluctuaciones en la temperatura del suministro de agua, y aceite de la bomba u otros contaminantes en el suministro de aire del laboratorio.

Los instrumentos

Puesto que los instrumentos constan de componentes mecánicos ópticos o electrónicos, su desempeño tiende a cambiar al ir envejeciendo o gastándose. Es difícil detectar cambios lentos en las operaciones cotidianas diarias o incluso semanales, y dado que la mayoría de las mediciones se hacen comparando la respuesta de las muestras con la respuesta de un estándar, la evidencia de los cambios en la respuesta absoluta del instrumento tiende a ser pasada por alto (28). Si estos cambios sutiles no se vigilan, eventualmente ocurrirán problemas. Por regla general, los errores instrumentales de esta clase se controlan mediante calibraciones periódicas.

Las técnicas de estandarización instrumental más comunes son la *curva de calibración analítica*, el método de adiciones de estándar y el método de estándar interno. La curva de calibración analítica es el método más común y más frecuentemente usado. En este método, la señal de respuesta del instrumento se determina usando varias concentraciones del analito en un solvente o matriz adecuado

y la relación se grafica. La técnica de *adiciones de estándares* se aplica cuando no es posible suprimir interferencias de los elementos de la matriz. Como se explicó antes, la técnica es más complicada que la curva de calibración usual, pero en ocasiones es la única alternativa cuando los efectos de la matriz causan problemas. El método de estándares internos usa la adición de una cantidad fija de un estándar secundario que permite su medición y comparación con el analito, pero no interfiere con la respuesta del mismo. El método de adiciones de estándar o el de estándares internos, generalmente permite resultados más precisos que el uso de la simple curva de calibración, basada en estándares externos.

Las intervalos de calibración, es decir, un programa que requiere la realización de pruebas específicas de desempeño para cada instrumento, deben ser asignados a todo el equipo como parte del programa de mantenimiento preventivo del laboratorio.

Aunque el mantenimiento preventivo proporciona mayor seguridad en la confiabilidad de los resultados, no siempre controla completamente el desempeño del equipo. Además del mantenimiento preventivo regular, es importante el reacondicionamiento periódico de los instrumentos, como lo es el cuidado diario en el uso básico del instrumento. A continuación se citan algunos ejemplos de errores técnicos comunes en la operación y uso de los instrumentos (29):

- ❑ No comprobar el nivel de una balanza analítica, no dejar que los objetos lleguen a su equilibrio térmico o de humedad antes de pesarlos o no disipar las cargas estáticas que causan problemas durante el pesaje.
- ❑ Algunos instrumentos requieren un tiempo de calentamiento adecuado para llegar a su estabilidad y otros necesitan monitoreo constante de corrientes electrónicas; no observar estas condiciones puede causar errores.
- ❑ Puede haber errores instrumentales relativos, asociados con mediciones de absorbencia, por ejemplo, cuando los espectrofotómetros se usan fuera de sus límites óptimos de desempeño, con frecuencia limitado de 0,2 a 0,7. La estabilidad de algunos instrumentos tiende a cambiar con el tiempo; por lo tanto, las muestras y los estándares deben ser medidos a intervalos relativamente pequeños.
- ❑ Las líneas basales inestables pueden llevar a mediciones erróneas. Asimismo, el juicio erróneo sobre la manera de interpretar o extrapolar una línea basal puede conducir a resultados inexactos.
- ❑ La falla de cualquiera de los componentes en el funcionamiento óptimo de un cromatógrafo, tales como la temperatura del horno, sistema de flujo de gases o líquidos, el detector, el electrómetro o el registrador, pueden distorsionar la respuesta total del instrumento.
- ❑ No acondicionar una columna de cromatografía o no hacer una evaluación de sus características de calidad, puede no revelar su funcionamiento deficiente o su

inadecuación total para resolver y medir compuestos correctamente.

Equivocaciones

Es fácil cometer simples equivocaciones durante el análisis, pero por supuesto, pueden causar daños importantes. Los errores se pueden reducir al mínimo por medio del entrenamiento y por la atención cuidadosa del supervisor y del personal operativo a la asignación. La lista siguiente, tomada de diversas fuentes, muestra equivocaciones encontradas frecuentemente en las operaciones del laboratorio:

- Muestreos no representativos
- Identificación incorrecta de las muestras
- Descuido al seguir las instrucciones del método
- Dejar de comunicar observaciones o información importante
- Fallas en la lectura de datos de los instrumentos o mediciones volumétricas
- Registro incorrecto de los datos, como transposición de dígitos, colocación incorrecta de comas decimales o la confusión o inversión del numerador y el denominador
- Reducción inapropiada de los datos analíticos o errores en la reducción de la información de los diagramas
- Fallas en la purificación de los reactivos o el uso de reactivos de calidad no adecuada
- Estandarización incorrecta o fallas para reestandarizar soluciones (ésta es una de las causas más frecuentes de error)
- Lectura incorrecta de los tiempos de retención o alturas de los picos
- Uso de cubetas de vidrio en la región UV
- Diluciones inapropiadas o informes incorrectos de las diluciones
- Uso de celdas que no hacen juego
- Uso de material de vidrio inadecuadamente lavado
- Lectura incorrecta de los volúmenes de inyección
- Equivocaciones en el cálculo de los resultados
- Interpretación incorrecta de los datos
- Equivocaciones en la transposición de datos entre los registros o entre la parte frontal y posterior de la hojas de trabajo
- Introducción incorrecta de los datos en la computadora
- Manejo descuidado de cintas o discos

La mala caligrafía ha sido siempre un problema que va en aumento. En el laboratorio, los errores del analista en la escritura a máquina son un problema relativamente nuevo.

los números llevan tanta información en un espacio tan pequeño, que es especialmente importante que se formen cuidadosamente o se escriban a máquina y nunca se les escriba encima. Los cambios se deben hacer con solo tacharlos, poniendo las iniciales en la tachadura si representa datos originales, y reescribiendo legiblemente el número correcto. Los números escritos a máquina siempre deben ser verificados por el analista que los escribió.

Diagramas de control

Los laboratorios que analizan grandes números del mismo tipo de muestras pueden encontrar que los diagramas de control analítico son un instrumento muy útil para asegurar la efectividad de sus esfuerzos de control de calidad. Estos diagramas exhiben los datos en una forma que compara la variabilidad de los resultados de la prueba con la variabilidad promedio o prevista de grupos pequeños de datos. Los resultados de los análisis se trazan en el eje vertical de un diagrama, en las unidades de los resultados de la prueba, contra el tiempo en el eje horizontal (30). Cuando el diagrama cubre un período suficiente, proporciona un medio disponible para determinar tendencias o la falta de aleatoriedad (sesgo).

Acciones correctivas

Como parte del programa de garantía de calidad, es deseable desarrollar un plan para tomar acciones correctivas expeditas cuando se observan errores o deficiencias o se observan situaciones fuera de control. Existen dos tipos de acciones correctivas: en el lugar o de acción inmediata, y acción a largo plazo. La acción en el lugar se usa para corregir problemas menores, tales como la reparación de una pieza del equipo que funciona mal y requiere el reemplazo de una parte menor, o la corrección de las técnicas analíticas deficientes que están siendo usadas por un analista. Frecuentemente se toman *acciones en el lugar*. Incluyen situaciones que pueden ser manejadas rápidamente por el analista o tratadas por el supervisor y puestas en conocimiento de un analista individual o de todo el personal, si el problema parece ser generalizado. La acción correctiva a *largo plazo* se usa cuando se descubre una condición que está fuera de control o es sumamente insatisfactoria y su corrección requiere consideraciones cuidadosas e involucra a varios individuos. Por ejemplo, un mejoramiento general de la calidad de los datos o la necesidad de hacer reparaciones mayores en un instrumento o una corrección importante a un procedimiento del laboratorio, requerirán acción correctiva a largo plazo.

En un laboratorio pequeño, o uno en el que se encuentren pocos problemas, la

acción correctiva puede ser casual. Cuando los problemas son numerosos o severos, se necesita abordarlos de una manera más formal, tal como el sistema de acción correctiva de "lazo cerrado" (31). los pasos en tal sistema son definir el problema, asignar la responsabilidad para investigarlo, investigar y determinar las causas, tomar las medidas correctivas para eliminarlo, asignar la responsabilidad de efectuar las medidas correctivas, establecer la efectividad de la acción correctiva y ejecutar la corrección, y verificar que la acción correctiva ha eliminado el problema. Este sistema implica el uso de formularios para documentar los diferentes pasos.

Este sistema puede ser muy complicado para algunos laboratorios y tal vez innecesario para laboratorios pequeños, pero sin tomar en cuenta el sistema usado, las acciones correctivas deben ser una parte continua del plan del laboratorio para asegurar la calidad del análisis de muestras.

Recomendaciones

Como parte de la administración y control de muestreo, preparación de las muestras y análisis de las mismas, se recomiendan las siguientes acciones:

1. Trabajar con las personas apropiadas para desarrollar los planes de muestreo para los diferentes tipos de productos enviados al laboratorio para análisis.
2. Establecer los procedimientos de submuestreo para diferentes productos, considerando el uso de exámenes de las muestras compuestas o unidades individuales, con base en la variabilidad esperada entre las unidades de muestra y los recursos disponibles para su análisis.
3. Elaborar guías para la preparación de muestras para análisis que reduzcan al mínimo los cambios de composición.
4. Seleccionar métodos de análisis para los que existan datos disponibles de desempeño que satisfagan los propósitos del laboratorio, considerando las sugerencias hechas en este capítulo.
5. Someter a pruebas de validación todos los métodos no oficiales o modificados para asegurar sus bondades con respecto a la exactitud y precisión para el tipo de muestra bajo consideración.
6. Efectuar verificaciones de control regulares para determinar el desempeño satisfactorio del programa de control analítico.
7. En la medida en que se juzgue necesario, someter ciertos métodos a análisis críticos, estableciendo los puntos críticos de control para reducir errores.
8. Mantener vigilancia supervisora constante para reducir al mínimo los

errores de procesamiento y operacionales inadvertidos.

9. Supervisar el uso de instrumental básico, además del mantenimiento preventivo, para evitar o reducir errores provenientes de técnicas analíticas no adecuadas.

10. Proporcionar a los analistas un tiempo de familiarización cuando se usen procedimientos o instrumentos nuevos o complejos en el examen de las muestras.

11. Establecer criterios de nivel de desempeño para mantener los niveles competitivos de calidad para los análisis.

12. Usar diagramas de control a fin de mantener el control estadístico para el tipo de análisis repetitivo.

13. Tomar acciones correctivas en el momento o a largo plazo, según sea necesario, para corregir o responder a fallas instrumentales, técnica deficiente del analista o desempeño insatisfactorio o fuera de control.