

**ENSAYOS DE INTERCOMPARACIÓN COMO UN MODO DE DEMOSTRAR
COMPETENCIA TÉCNICA EN LA EJECUCIÓN DEL TRABAJO ANALÍTICO**
**Participation in proficiency tests as a way to demonstrate technical competence in the
analytical work.**

Autores: Tec.Mirta López Berta*, Lic. Giselle Rodríguez Castro*, MSc. Daimy Díaz Mena*, Lic. Roberto Casanova Casanova*.

*Centro de Investigaciones Apícolas.

Recibido: Agosto 2012

Aprobado: Septiembre 2012

Resumen.

Con el objetivo de asimilar las tendencias internacionales más actuales de Gestión de la Calidad, y convencidos de la necesidad de mantener la competencia técnica, se comenzó un proceso de estudio en nuestros Laboratorios de Control de la Calidad consistente en la realización de ensayos de intercomparaciones con un laboratorio de ensayos reconocido. Se seleccionaron 10 muestras representativas de lotes de exportación de miel de abejas. Las intercomparaciones se realizaron de conjunto con los Laboratorios QSI de Alemania (acreditados por la NC/ISO IEC 17025:2006 “Competencia técnica de los Laboratorios”). Los ensayos evaluados fueron: Humedad, Color, HMF, Acidez y Conductividad Eléctrica. Los resultados obtenidos fueron:

- El factor *Planta* y la interacción *Laboratorio-Planta* no ejercen influencias significativas en los valores de Humedad, Color, HMF y Acidez determinados.
- El factor *Laboratorio* sí ejerce influencia significativa en los valores de Humedad, Color, HMF y Acidez obtenidos por lo que existen diferencias significativas en los resultados obtenidos por ambos laboratorios para un mismo lote por tanto no se cumple con la política de ensayos de aptitud para este parámetro.
- El factor *Planta* donde único ejerció influencia estadísticamente significativa fue en el ensayo de Conductividad eléctrica.
- Los valores más altos de Humedad los reporta el Laboratorio QSI (Alemania).
- Dado que en la prueba de aleatoriedad se señaló un tamaño de muestra pequeño se recomienda en la próxima comparación aumentar la cantidad de datos.
- Como Humedad, HMF y Acidez de las mieles son parámetros sensibles se hace necesario, de acuerdo a los resultados obtenidos, realizar un estudio de las condiciones de almacenamiento de la muestra testigo para descartar su influencia en

el resultado final de los ensayos de aptitud junto con las condiciones experimentales de cada técnica en nuestra instalación.

Introducción.

Los ensayos de intercomparación o interlaboratorios presentan una utilidad importante, como es el hecho de que los organismos de acreditación empiezan a valorar positivamente, cuando se comienza a exigir en algunas ocasiones (ver requerimientos de la NC/ISO 17025:2006), la participación de los laboratorios en ejercicios de intercomparación apropiados a sus ensayos, siempre que existan; además, requieren un desarrollo satisfactorio de la participación en los mismos y un procedimiento establecido para investigar aquellos errores cometidos, si los hubiera.

En general, los laboratorios están empezando a utilizar los resultados de su participación en los circuitos existentes de ensayos de intercomparación como un modo de demostrar competencia técnica a la hora de la ejecución del trabajo analítico.

Es conocido y aceptado que la participación en los ensayos de intercomparación entre laboratorios generalmente mejora la actuación y el desarrollo de los métodos analíticos por parte de los laboratorios participantes, tal y como ha sido reflejado en la NC/ISO 17025:2006, según la cual la participación en los circuitos apropiados de ensayos interlaboratorios es requerida para laboratorios acreditados, siendo un modo de proporcionar un grado de equivalencia entre los laboratorios participantes en un determinado ejercicio, por lo que cada uno puede comprobar la comparabilidad de los resultados de sus medidas analíticas, tanto de modo relativo frente a los demás participantes como de un modo absoluto frente a otros materiales de referencia.

La participación en estos ensayos también tiene un valor educacional, puesto que animan a los laboratorios a mejorar su actuación, estableciendo medidas preventivas y correctoras consecuencia de los resultados de su participación.

Además, permite a los laboratorios demostrar ante terceras partes, tanto clientes como organismos de acreditación, su capacidad analítica y la calidad de las medidas efectuadas. Por último, una participación satisfactoria en un programa de intercomparación es una demostración de la validez de la trazabilidad de sus medidas en términos de incertidumbre, aunque no exime al laboratorio de su obligación de hacer explícito este valor de la trazabilidad por los medios adecuados.

Objetivos:

- Demostrar la competencia en los ensayos involucrados, permitiendo evaluar la capacidad analítica de un método, tanto por comparación frente a un laboratorio similar.

Materiales y métodos.

Se seleccionaron 8 muestras representativas de lotes de exportación de miel de abejas (4 de la planta de SS y 4 de la planta de Beneficio de Contra maestre).

Las intercomparaciones se realizaron de conjunto con los laboratorios QSI de Alemania (acreditados por la NC/ISO 17025:2006 “Competencia técnica de los Laboratorios”)

Los ensayos evaluados fueron:

1. Humedad
2. Color
3. HMF
4. Acidez
5. Conductividad Eléctrica

El análisis físico-químico de la miel de abejas es muy importante ya que el resultado dictamina si una miel cumple satisfactoriamente con la calidad requerida. El análisis estadístico de estos parámetros de calidad seleccionados es fundamental porque la Humedad influye en el peso específico, viscosidad, sabor y condiciona por ello la conservación y el valor comercial de la miel. La miel normalmente contiene cantidades mínimas de ácidos orgánicos, al fermentarse la miel aumenta el contenido de ácidos y esto influye en su comercialización. El HMF aparece de forma espontánea y natural en la miel debido al pH ácido, al agua y la composición rica en monosacáridos (fructosa y glucosa), aumentando su concentración con el tiempo. Este parámetro es indicativo de las condiciones de almacenamiento, tratamiento recibido y edad del producto.

El procesamiento de los datos se realizó con el programa estadístico MINITAB 14.

Tabla. 1 Resultados de los lotes analizados.

Lotes	Humedad		Color		HMF		Acidez		Cond. Elect.	
	QSI	FQ	QS	I	QS	I	QSI	FQ	QSI	FQ
			I	FQ	I	FQ				
C8-34	17,5	17,4	39,0	31,2	28,9	5,16	16,0	22,5	0,21	0,2

C8-35	17,1	17,8	41,0	29,7	27,7	4,12	16,0	27,5	0,20	0,10
C8-45	17,1	17,6	52,0	37,4	21,7	3,44	16,0	22,0	0,33	0,20
C8-L15	17,4	17,6	62,0	39,4	28,8	0,15	16,0	23,5	0,28	0,20
S8-97	17,1	18,0	42,0	39,9	24,2	2,69	16,0	20,0	0,26	0,30
S8-101	17,3	18,4	50,0	40,4	25,6	1,12	16,5	25,0	0,27	0,30
S8-104	17,3	18,0	47,0	35,4	27,1	0,60	16,5	23,5	0,28	0,20
S8-121	16,8	17,4	55,0	39,4	19,8	3,07	16,0	21,0	0,54	0,40
S8-139	18,3	18,4	40,0	23,7	16,7	1,87	12,5	21,5	0,61	0,30
S8-158	19,1	19,4	73,0	52,7	20,5	5,03	24,0	30,0	0,69	0,60

Discusión de los Resultados.

Evaluación y representación de los resultados.

Tras recibir los resultados, se evaluó los datos por parámetros donde se chequeó la precisión de los valores.

No se comprobaron la reproducibilidad de los resultados individuales en el laboratorio y/o la repetibilidad.

Tabla 2: Análisis para el ensayo de Humedad

Planta	Humedad del lote	
	Laboratorio 1	Laboratorio 2
C	17,50	17,40
C	17,10	17,80
C	17,10	17,60
C	17,40	17,60
SS	17,10	18,00
SS	17,30	18,40

SS	17,30	18,00
SS	16,80	17,40

Variable respuesta: humedad del lote

Factor: laboratorio con dos niveles (1 y 2)

Factor: Planta con dos niveles (Contramaestre y Sancti Spiritus)

Two-way ANOVA: Humedad versus Laboratorio; Planta

Source	DF	SS	MS	F	P
Laboratorio	1	1,3225	1,32250	17,93	0,001
Planta	1	0,0400	0,04000	0,54	0,476
Interaction	1	0,2500	0,25000	3,39	0,090
Error	12	0,8850	0,07375		
Total	15	2,4975			

S = 0,2716 R-Sq = 64,56% R-Sq(adj) = 55,71%

De acuerdo con los resultados de la tabla ANOVA de los dos factores, el laboratorio ejerce influencias significativas sobre la variable respuesta ya que su p-value (0,001) es menor que alfa (0,05) rechazándose la hipótesis nula de este factor. El factor planta no ejerce influencias significativas puesto que su p-value (0,476) es mayor que alfa y se acepta, por tanto, la hipótesis nula. Respecto a la interacción entre estos dos factores el p-value (0,090) es mayor que alfa por lo que se acepta la hipótesis nula y no ejerce influencias significativas sobre la variable respuesta. Por el valor del error en la suma de cuadrados (0,8850), bastante alejado del valor total, significa que todos los factores se tuvieron en cuenta y la interacción realmente no influye y no hace falta tenerla en cuenta para explicar el modelo.

El valor de la desviación típica condicional, S, es bajo lo cual es favorable y el coeficiente de determinación es bastante alto y me explica el 64, 56 % de los errores del modelo.

De acuerdo con estos resultados la ecuación matemática del modelo es:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + e_{ij}$$

Comprobación de los requisitos en los residuos

Residual Plots for Humedad

Normalidad

En el gráfico se observa que los puntos están alienados en la recta, lo que evidencia normalidad aunque en el grafico la campana lo describe bien la campana se puede ver los extremos. Para confirmar recurrimos a la prueba Anderson-Darling.

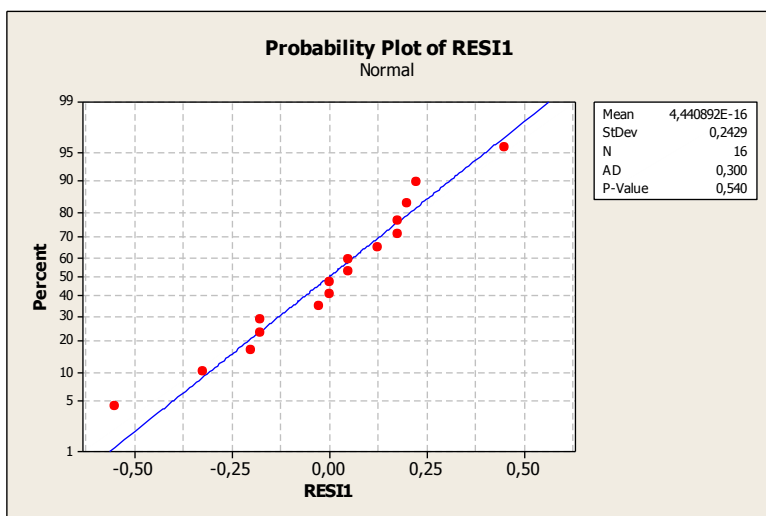


Gráfico 1: Prueba de Normalidad de los residuos.

Como el p-value (0,540) es mayor que alfa, acepto H_0 y los residuos cumplen con una distribución normal. El valor de la media como tiende a cero (4,440892E-16) corrobora este resultado.

Varianza Constante

El grafico versus fit muestra que los puntos puede enmarcarse entre dos líneas paralelas al eje de las x manteniendo aproximadamente la misma distancia a lo largo del grafico 2. De todas maneras se comprueba la varianza por el grafico 2.

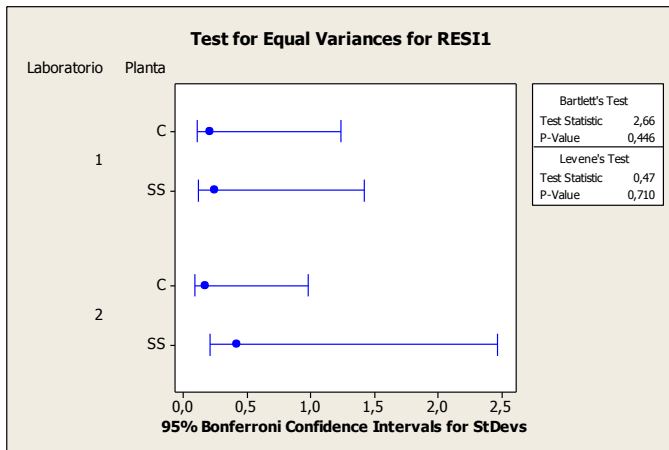


Gráfico 2: Prueba de igualdad de varianzas para los residuos.

Como los residuos cumplen con una distribución normal, el p-value que se compara es el obtenido en Bartlett's Test. De acuerdo con esto, el p-value (0,446) es mayor que alfa, acepto H_0 y por tanto los residuos cumplen con el requisito de varianza constante.

Aleatoriedad

Runs Test: RESI1

Runs test for RESI1

Runs above and below $K = 4,510281E-16$

The observed number of runs = 10

The expected number of runs = 9

8 observations above K ; 8 below

* N is small, so the following approximation may be invalid.

P-value = 0,605

Como el valor de K es pequeño se puede decir que la media de los residuos tiende a cero y como el p-value (0,605), a pesar de que el tamaño de muestra es pequeño, es mayor que alfa se acepta H_0 y los residuos son aleatorios.

Tabla 3: Análisis para el ensayo de Color

Plantas	Color	
	1	2
C	39,0	31,2
C	41,0	29,7
C	52,0	37,4
C	62,0	39,4
SS	42,0	39,9
SS	50,0	40,4
SS	47,0	35,4
SS	55,0	39,4

Variable respuesta: color del lote

Factor: laboratorio con dos niveles (1 y 2)

Factor: Planta con dos niveles (Contramaestre y Sancti Spiritus)

Two-way ANOVA: Color versus Laboratorio; Planta

Source	DF	SS	MS	F	P
Laboratorio	1	566,44	566,440	13,28	0,003
Planta	1	18,92	18,923	0,44	0,518
Interaction	1	18,92	18,923	0,44	0,518
Error	12	512,02	42,668		
Total	15	1116,30			

S = 6,532 R-Sq = 54,13% R-Sq(adj) = 42,67%

De acuerdo con los resultados de la tabla ANOVA de los dos factores, el laboratorio ejerce influencias significativas sobre la variable respuesta ya que su p-value (0,003) es menor que alfa (0,05) rechazándose la hipótesis nula de este factor. El factor planta no ejerce influencias significativas puesto que su p-value (0,518) es mayor que alfa y se acepta, por tanto, la hipótesis nula. Respecto a la interacción entre estos dos factores el p-value (0,518) es mayor que alfa por lo que se acepta la hipótesis nula y no ejerce influencias significativas sobre la variable respuesta. Por el valor del error en la suma de cuadrados (512,02), bastante alejado del valor total, significa que todos los factores se tuvieron en cuenta y la interacción realmente no influye y no hace falta tenerla en cuenta para explicar el modelo.

El valor de la desviación típica condicional, S, no es bajo lo cual es desfavorable y el coeficiente de determinación tampoco es bastante alto y solo me explica el 54, 13 % de los errores del modelo.

De acuerdo con estos resultados la ecuación matemática del modelo es:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + e_{ij}$$

Comprobación de los requisitos en los residuos:

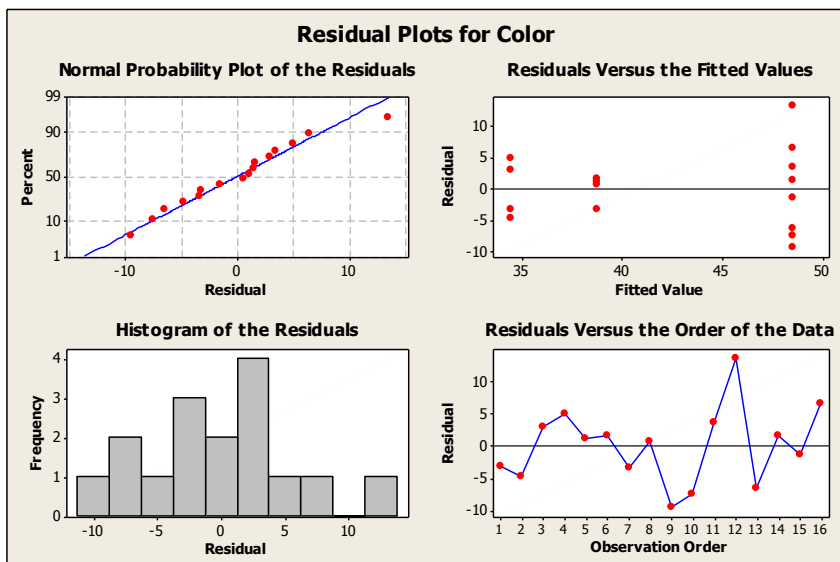


Gráfico 3: Prueba de los residuos del ensayo de Color.

Normalidad

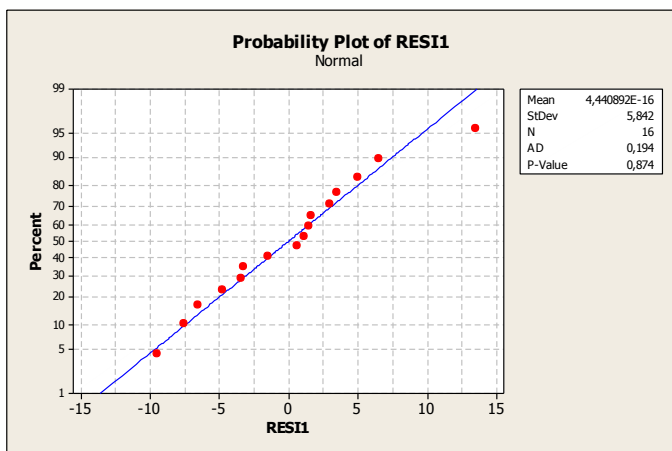


Gráfico 4: Prueba de Normalidad de los residuos.

Como el p-value (0, 874) es mayor que 0,05 se acepta la hipótesis nula y los residuos del ensayo del color cumplen con una distribución normal.

Varianza Constante

El grafico versus fit muestra que los puntos puede enmarcarse entre dos líneas paralelas al eje de las x manteniendo aproximadamente la misma distancia a lo largo del grafico. De todas maneras compruebo la varianza por el grafico 5.

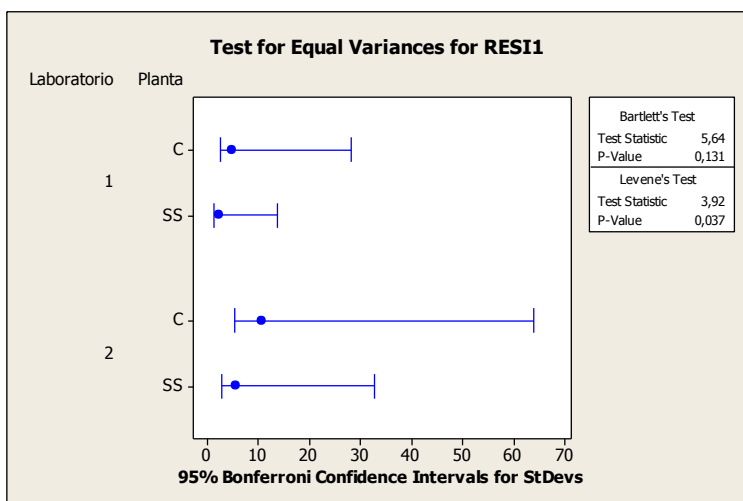


Gráfico 5: Prueba de igualdad de varianzas de los residuos.

El p-value (0,131) es mayor que alfa, acepto H_0 y por tanto los residuos cumplen con el requisito de varianza constante.

Aleatoriedad

Runs Test: RESI1

Runs test for RESI1

Runs above and below $K = 4,440892E-16$

The observed number of runs = 10

The expected number of runs = 8,875

9 observations above K ; 7 below

* N is small, so the following approximation may be invalid.

P-value = 0,554

Como el valor de K es pequeño se puede decir que la media de los residuos tiende a cero y como el p-value (0,554), a pesar de que el tamaño de muestra es pequeño, es mayor que alfa se acepta H_0 y los residuos son aleatorios.

Tabla 4: Análisis para el ensayo de HMF

Plantas	HMF	
	1	2
C	28,9	5,16
C	27,7	4,12
C	21,7	3,44
C	28,8	0,15
SS	24,2	2,69
SS	25,6	1,12
SS	27,1	0,60
SS	19,8	3,07

Variable respuesta: HMF del lote

Factor: laboratorio con dos niveles (1 y 2)

Factor: Planta con dos niveles (Contramaestre y Sancti Spiritus)

Two-way ANOVA: HMF versus Laboratorio; Planta

Source	DF	SS	MS	F	P
Laboratorio	1	2103,37	2103,37	303,04	0,000
Planta	1	15,58	15,58	2,25	0,160
Interaction	1	1,57	1,57	0,23	0,643
Error	12	83,29	6,94		
Total	15	2203,81			

S = 2,635 R-Sq = 96,22% R-Sq(adj) = 95,28%

El factor laboratorio ejerce influencias significativas sobre la variable respuesta ya que su p-value (0,000) es menor que alfa (0,05) rechazándose la hipótesis nula. El factor planta no ejerce influencias significativas puesto que su p-value (0,160) es mayor que alfa y se acepta, por tanto, la hipótesis nula.

Respecto a la interacción entre estos dos factores el p-value (0,643) es mayor que alfa por lo que se acepta la hipótesis nula y no ejerce influencias significativas sobre la variable respuesta.

Por el valor del error en la suma de cuadrados (83,29), da bastante alejado del valor total, significa que todos los factores se tuvieron en cuenta y la interacción realmente no influye y no hace falta tenerla en cuenta para explicar el modelo. La desviación típica condicional no da un valor bajo sin embargo el coeficiente de determinación es bastante alto y explica el 96,22% de los errores del modelo.

Comprobación de los requisitos de los residuos

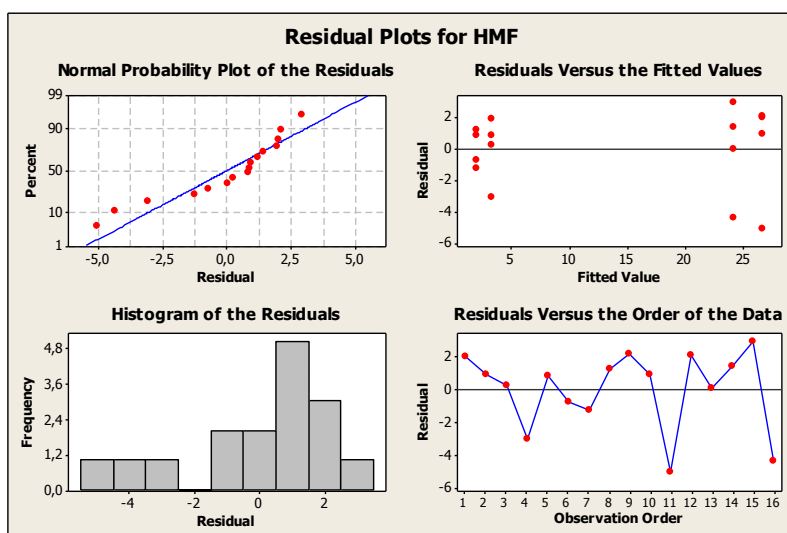


Gráfico 6: Prueba de los residuos del ensayo de HMF.

Normalidad

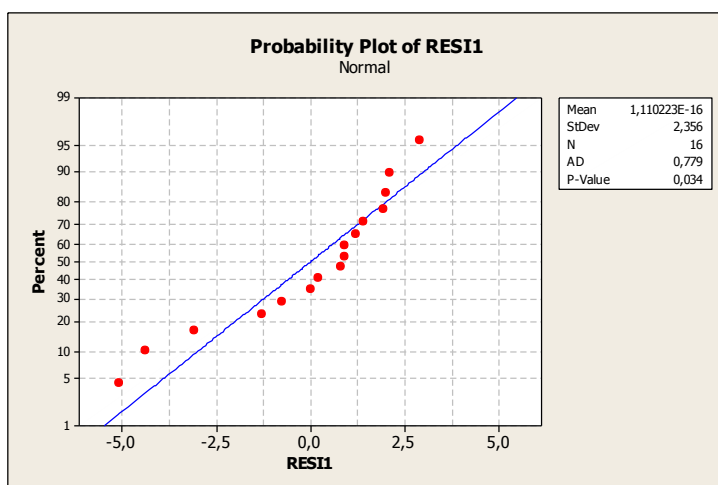


Gráfico 7: Prueba de Normalidad de los residuos.

En este caso el requisito de normalidad no se cumple porque el p-value (0,034) es menor que 0,05, se rechaza H_0 y los residuos no cumplen con una distribución normal. Por este motivo el análisis realizado anteriormente no tiene validez y hay que transformar los datos por la transformada de Johnson.

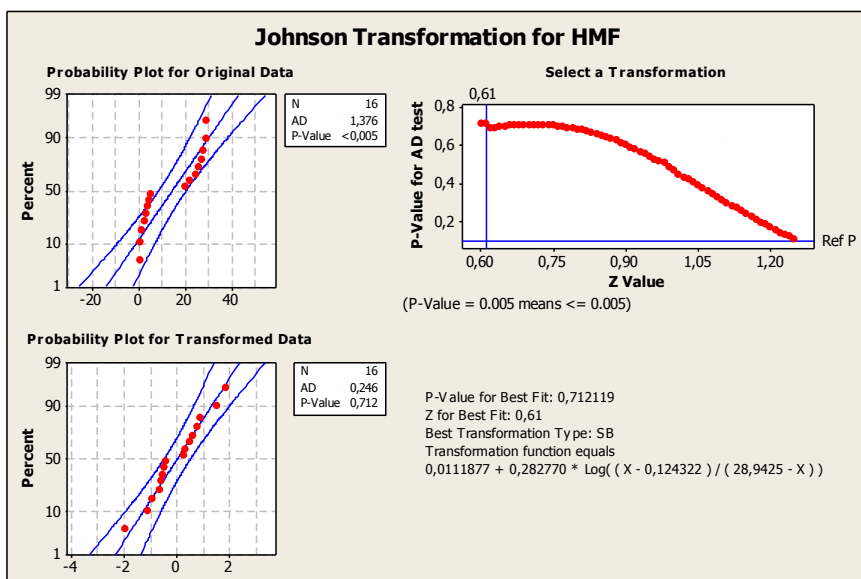


Gráfico 8: Transformada de Johnson de los valores de HMF.

Se le aplicó a los datos de HMF la función logaritmo, cumpliendo con una distribución normal por p-value (0,712) mayor que alfa (0,05). Con los datos transformados se repitió el análisis.

Two-way ANOVA: C5 versus Laboratorio; Planta

Source	DF	SS	MS	F	P
Laboratorio	1	5,56543	5,56543	34,45	0,000
Planta	1	0,01401	0,01401	0,09	0,773
Interaction	1	0,00088	0,00088	0,01	0,943
Error	12	1,93851	0,16154		
Total	15	7,51883			

S = 0,4019 R-Sq = 74,22% R-Sq(adj) = 67,77%

Con la transformación de los datos el resultado de la tabla ANOVA volvió a ser el mismo. El factor laboratorio ejerce influencias por lo que se rechaza H_0 . El factor planta no ejerce influencia al igual que la interacción entre los dos factores. El valor de la desviación típica condicional es bajo lo cual es un resultado favorable y el coeficiente de determinación solo explica el 74,22% de los errores del modelo.

Comprobación de los requisitos de los residuos

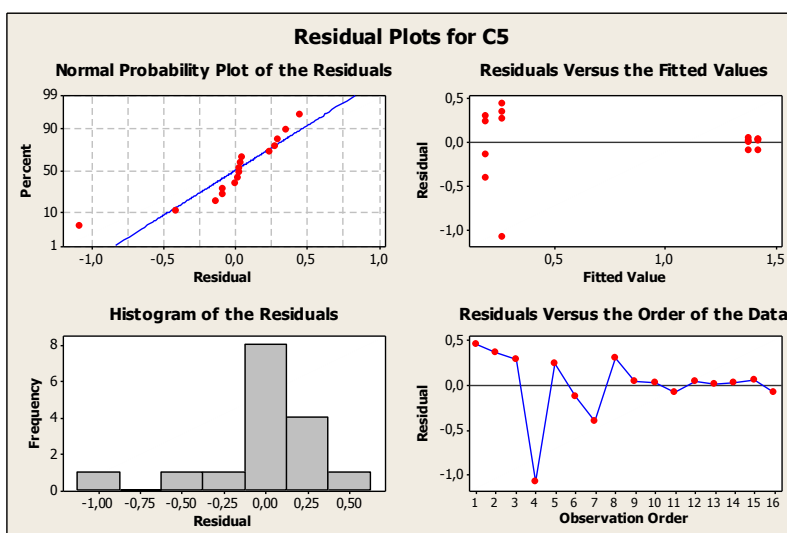


Gráfico 9: Prueba de los requisitos de los residuos transformados.

Normalidad

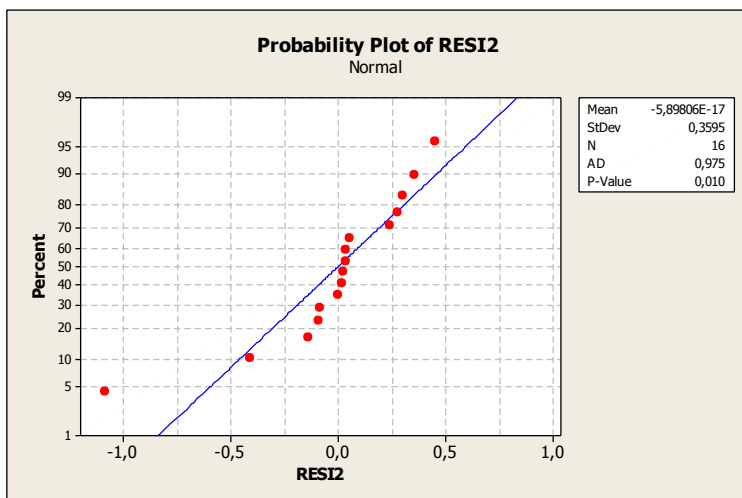


Gráfico 10: Prueba de Normalidad para los residuos transformados.

A pesar de la transformación no se cumple la normalidad para estos datos. Los motivos de este resultado puede deberse a que el HMF es un producto de degradación de la fructosa en el medio ácido de la miel y se afecta por las condiciones en que se almacene el producto (temperatura); de ahí que los valores de HMF obtenidos en laboratorio QSI dieran muy superiores a los obtenidos en nuestro laboratorio.

Tabla 5: Análisis del ensayo de Acidez

Plantas	Acidez	
	1	2
C	16,0	22,5
C	16,0	27,5
C	16,0	22,0
C	16,0	23,5
SS	16,0	20,0
SS	16,5	25,0
SS	16,5	23,5
SS	16,0	21,0

Two-way ANOVA: Acidez versus Laboratorio; Planta

Source	DF	SS	MS	F	P
Laboratorio	1	196,000	196,000	67,93	0,000
Planta	1	1,563	1,563	0,54	0,476
Interaction	1	3,063	3,063	1,06	0,323
Error	12	34,625	2,885		
Total	15	235,250			

S = 1,699 R-Sq = 85,28% R-Sq(adj) = 81,60%

Los resultados de la tabla ANOVA evidencian que el factor laboratorio ejerce influencia en la variable respuesta ya que su p-value (0,000) es menor que 0,05 y se rechaza la Ho. El factor planta y la interacción de ambos factores no ejerce influencia en el resultado. El coeficiente de determinación no da tan bajo para este caso explicando el 85,28% de los errores del modelo.

Comprobación de los requisitos de los residuos

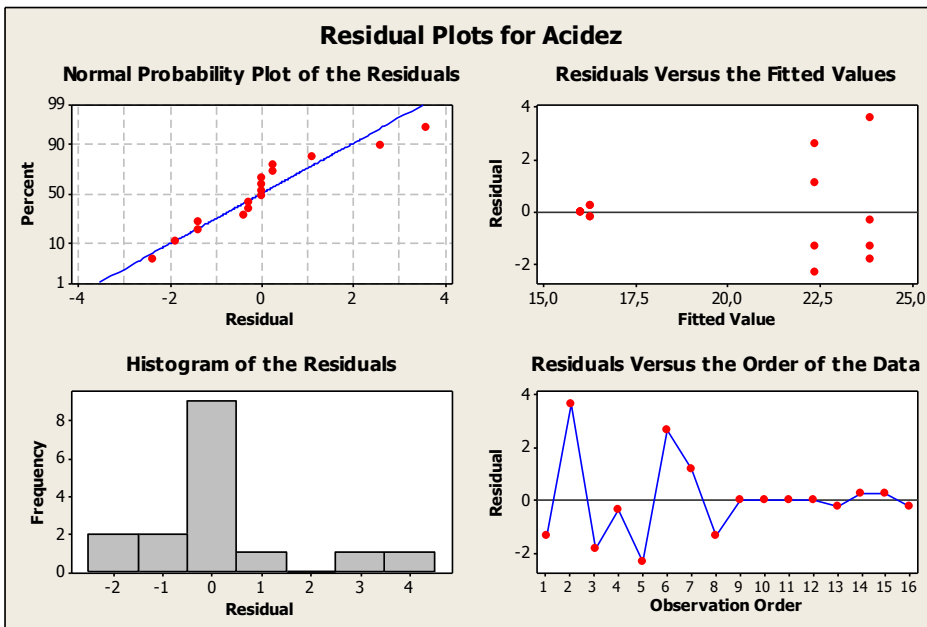


Gráfico 11: Prueba de los requisitos para los residuos.

Normalidad

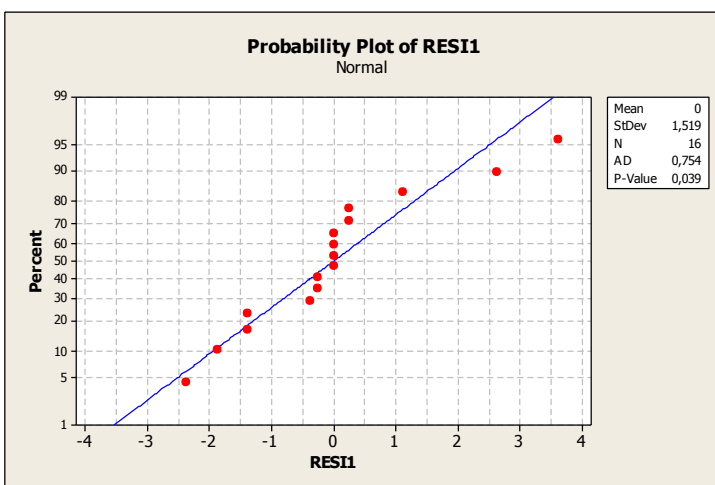


Gráfico 12: Prueba de Normalidad de los residuos.

No se cumplió el requisito normalidad y se realizó el mismo procedimiento que a los datos de HMF.

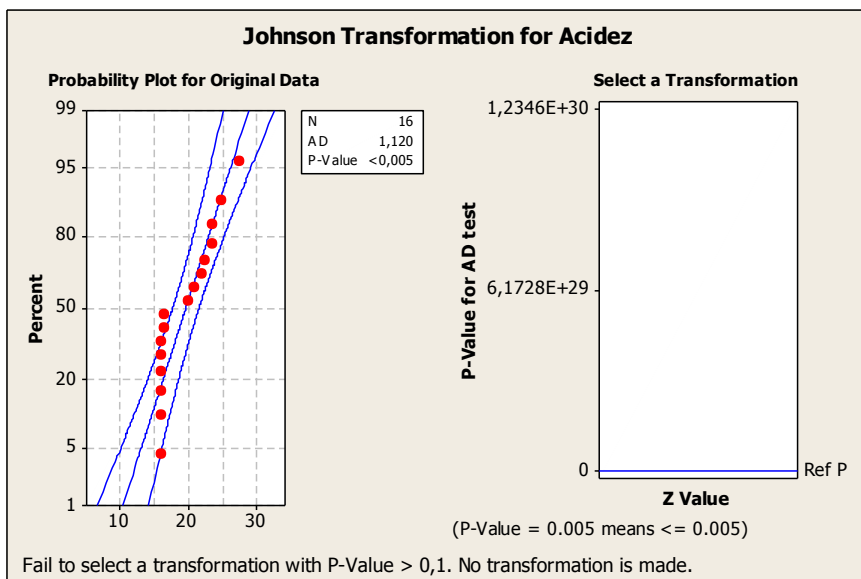


Gráfico 13: Transformada de Jonson para los residuos de acidez.

Para el caso de la acidez no fue posible hallar la función para que los datos cumplieran con una distribución normal. Si comparamos los resultados obtenidos por ambos laboratorios se observa que la diferencia es bastante marcada y los valores obtenidos por QSI, son para ambas plantas, menores que los obtenidos en nuestro laboratorio. Este ensayo se realiza con un Titrímetro en QSI (la técnica es automatizada) mientras que en nuestro laboratorio el error se comparte entre el analista, calidad de los reactivos y equipamiento.

Tabla 6: Análisis del ensayo de Conductividad eléctrica

Plantas	Conductividad	
	1	2
C	0,21	0,2
C	0,20	0,1
C	0,33	0,2
C	0,28	0,2
SS	0,26	0,3
SS	0,27	0,3
SS	0,28	0,2
SS	0,54	0,4

Two-way ANOVA: Conductividad versus Laboratorio; Planta

Source	DF	SS	MS	F	P
Laboratorio	1	0,013806	0,0138063	1,77	0,208
Planta	1	0,043056	0,0430563	5,52	0,037
Interaction	1	0,001806	0,0018063	0,23	0,639
Error	12	0,093675	0,0078062		
Total	15	0,152344			

S = 0,08835 R-Sq = 38,51% R-Sq(adj) = 23,14%

Para el caso de la conductividad eléctrica el factor que ejerce influencia sobre los resultados fue el factor planta, rechazándose H_0 . El factor laboratorio y la interacción entre ambos factores no ejercen influencias por lo que se acepta H_0 .

El valor de la desviación típica condicional es bajo lo cual es favorable y el coeficiente de determinación también tiene un valor bajo solo explica el 38,51 % de los errores del modelo.

La conductividad eléctrica da una medida del contenido de minerales en la miel de abejas que llegan fundamentalmente a través de la materia prima recolectada por la abeja. Es un parámetro que depende de la zona geográfica (terreno en el que se desarrolla la planta) y el origen botánico de ahí que sea lógico esperar que el factor planta sea el que ejerce influencia ya que una esta ubicada en la parte oriental del país (Contramaestre-Santiago de Cuba) y la otra en el centro (Sancti Spiritus).

Para el caso de acidez libre y conductividad eléctrica se realizan de diferentes maneras, en Alemania de forma automatizada y por un solo equipo sin intervención casi del analista, no siendo ese nuestro caso. De acuerdo con los resultados obtenidos por el Laboratorio QSI las mieles seleccionadas para este estudio están envejecidas porque los valores del color dan superiores (intensificado) y el contenido de HMF es muy superior a los reportados por nuestros analistas. Lo que determina que las condiciones experimentales de los laboratorios influyen en los resultados que se pueden obtener en los ensayos de aptitud.

Conclusiones parciales

- El factor **Planta** y la interacción **Laboratorio-Planta** no ejercen influencias significativas en los valores de Humedad, Color, HMF y Acidez determinados.
- El factor **Laboratorio** sí ejerce influencia significativa en los valores de Humedad, Color, HMF y Acidez obtenidos por lo que existen diferencias significativas en los resultados obtenidos por ambos laboratorios para un mismo lote por tanto no se cumple con la política de ensayos de aptitud para este parámetro.
- El factor **Planta** donde único ejerció influencia estadísticamente significativa fue en el ensayo de Conductividad eléctrica.
- Los valores más altos de Humedad los reporta el Laboratorio QSI (Alemania).
- Dado que en la prueba de aleatoriedad se señaló un tamaño de muestra pequeño se recomienda en la próxima comparación aumentar la cantidad de datos.
- El análisis estadístico del factor Laboratorio resultó que es importante la relación entre las condiciones experimentales de las técnicas.
- Como Humedad, HMF y Acidez de las mieles son parámetros sensibles de acuerdo a las condiciones de almacenamiento, se hace necesario realizar un estudio de la muestra testigo para descartar su influencia en el resultado final de los ensayos de aptitud, incluyendo las condiciones experimentales de cada técnica en nuestra instalación.

Conclusión General:

Los resultados obtenidos se tendrán en cuenta para la elaboración del programa de ensayo de aptitud, premisa fundamental para la acreditación de los ensayos.

Para la efectividad de los ensayos intercomparación se debe emplear una metodología homologa en los ensayos entre las partes.