

comisión del codex alimentarius

S



ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES
UNIDAS PARA LA AGRICULTURA
Y LA ALIMENTACIÓN

ORGANIZACIÓN
MUNDIAL
DE LA SALUD



OFICINA CONJUNTA: Viale delle Terme di Caracalla 00100 ROMA Tel: 39 06 57051 www.codexalimentarius.net Email: codex@fao.org Facsimile: 39 06 5705 4593

Tema 6 del programa

CX/MAS 09/30/7

**PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS
COMITÉ DEL CODEX SOBRE MÉTODOS DE ANÁLISIS Y TOMA DE MUESTRAS
30ª reunión**

Balatonalmádi (Hungría), 9 – 13 de marzo de 2009

**DIRECTRICES SOBRE EL ESTABLECIMIENTO DE CRITERIOS SOBRE LOS MÉTODOS
PARA LA IDENTIFICACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS RELEVANTES
(Preparado por Suecia, NMKL + grupo de trabajo¹)**

ANTECEDENTES

La 29ª reunión del Comité acordó adelantar las propuestas de enmiendas a las *Instrucciones de Trabajo para la Implementación del Enfoque de Criterios en el Codex* (Anexo I) a la 31ª reunión de la Comisión del Codex Alimentarius para adopción e inclusión en el Manual de Procedimiento. La Comisión adoptó las enmiendas en su 31ª reunión en junio-julio de 2008.

Además, la 29ª reunión del Comité acordó que un grupo de trabajo electrónico coordinado por Suecia, con ayuda de NMKL, redactaría nuevamente la Sección II del documento presentado a la 28ª reunión con el objetivo de ofrecer directrices (ejemplos) para el establecimiento de los criterios de los métodos a fines de inclusión en el Manual de Procedimiento, para examen en la 30ª reunión del CCMAS (Anexo II).

RECOMENDACIÓN

El grupo de trabajo propone que la 30ª reunión del CCMAS examine y discuta el **Anexo II Directrices para establecer valores numéricos relativos a los criterios de método y/o evaluar los métodos para el cumplimiento de los mismos**, a fines de posible inclusión en el Manual de Procedimiento como guía a las *Instrucciones de Trabajo para la Implementación del Enfoque de Criterios en el Codex*.

(Favor notar que el Anexo I es un texto adoptado por la Comisión y por lo tanto no se presenta para examen en la 30ª reunión)

¹ Argentina, Brasil, Comunidad Europea, Finlandia, Francia, Japón, Alemania, Países Bajos, Noruega, Reino Unido, Estados Unidos y ISO.

ENMIENDAS AL MANUAL DE PROCEDIMIENTO

INSTRUCCIONES DE TRABAJO PARA LA APLICACIÓN DEL ENFOQUE POR CRITERIOS EN EL CODEX

(El texto que sigue reemplaza a las “Instrucciones de trabajo para la aplicación del criterio por enfoques en el Codex” que forman parte de los “Principios para el establecimiento de métodos de análisis del Codex”).

Los comités del Codex podrán continuar proponiendo métodos de análisis apropiados para determinar una entidad química o elaborar un conjunto de criterios a los que deberá ajustarse el método aplicado para la determinación en cuestión. En cualquiera de los dos casos, debe señalarse el nivel máximo, el nivel mínimo, cualquier otro nivel regulado o el grado de concentración de interés especificados.

Cuando un comité del Codex decida que se debe elaborar un conjunto de criterios, en algunos casos el comité podría considerar más fácil recomendar un método específico y pedir al Comité del Codex sobre Métodos de Análisis y Toma de Muestras (CCMAS) que “convierta” dicho método en criterios apropiados. Posteriormente, el CCMAS examinará a efectos de ratificación dichos criterios, que, después de la ratificación, formarán parte de la norma. Si un comité del Codex desea elaborar los criterios, debería seguir las instrucciones establecidas para la elaboración de criterios específicos, que se esbozan en el Cuadro 1.

Cuadro 1: Directrices para establecer valores numéricos relativos a los criterios

Aplicabilidad	El método debe ser aplicable a la disposición especificada, el producto especificado y los niveles especificados (máximo, mínimo o ambos) (ML). El intervalo mínimo aplicable del método depende del nivel especificado (ML) que se debe evaluar y puede expresarse, bien como la desviación típica de la reproducibilidad (s_R), bien como límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ).
Intervalo mínimo aplicable	Respecto de un $ML \geq 0,1 \text{ mg/kg}$, $[ML - 3 s_R, ML + 3 s_R]$. Respecto de un $ML < 0,1 \text{ mg/kg}$, $[ML - 2 s_R, ML + 2 s_R]$. $s_R^2 =$ desviación típica de la reproducibilidad.
Límite de detección (LOD)	Respecto de un $ML \geq 0,1 \text{ mg/kg}$, $LOD \leq ML \cdot 1/10$. Respecto de un $ML < 0,1 \text{ mg/kg}$, $LOD \leq ML \cdot 1/5$.
Límite de cuantificación (LOQ)	Respecto de un $ML \geq 0,1 \text{ mg/kg}$, $LOQ \leq ML \cdot 1/5$. Respecto de un $ML < 0,1 \text{ mg/kg}$, $LOQ \leq ML \cdot 2/5$.

² La s_R debería calcularse aplicando la ecuación de Horwitz/Thompson. Cuando la ecuación de Horwitz/Thompson no sea aplicable (por motivos analíticos o de acuerdo con un reglamento) o cuando se “conviertan” métodos en criterios, entonces debería basarse en la s_R procedente de un estudio apropiado de funcionamiento del método.

Precisión	Respecto de un ML $\geq 0,1$ mg/kg, valor de HorRat ≤ 2 . Respecto de un ML $< 0,1$ mg/kg, la $RSD_{TR} < 22\%$. RSD_R^3 = desviación típica relativa de la reproducibilidad.			
Recuperación (R)	Concentración	Razón	Unidad	Recuperación (%)
	100	1	100 % (100 g/100g)	98 – 102
	≥ 10	10^{-1}	$\geq 10\%$ (10 g/100g)	98 – 102
	≥ 1	10^{-2}	$\geq 1\%$ (1 g/100g)	97 – 103
	$\geq 0,1$	10^{-3}	$\geq 0,1\%$ (1 mg/g)	95 – 105
	0,01	10^{-4}	100 mg/kg	90 – 107
	0,001	10^{-5}	10 mg/kg	80 – 110
	0,0001	10^{-6}	1 mg/kg	80 – 110
	0,00001	10^{-7}	100 μ g/kg	80 – 110
	0,000001	10^{-8}	10 μ g/kg	60 – 115
	0,0000001	10^{-9}	1 μ g/kg	40 – 120
Existen otras directrices relativas a los intervalos previstos de recuperación en áreas específicas de análisis. En casos en los que se haya demostrado que la recuperación es una función de la matriz, podrán aplicarse otros requisitos especificados.				
Conformidad	Para la evaluación de la conformidad, debería utilizarse preferiblemente material de referencia certificado.			

Los criterios expuestos en el Cuadro 1 deberán ser aprobados para la determinación en cuestión.

No obstante, la responsabilidad primaria por el suministro de información sobre los niveles, métodos de análisis y criterios del Codex especificados incumbe al comité solicitante. Si el comité no logra establecer un método de análisis o los criterios a pesar de varias solicitudes, el CCMAS podrá establecer unos criterios adecuados con arreglo a lo indicado anteriormente.

CONVERSIÓN DE MÉTODOS DE ANÁLISIS ESPECÍFICOS EN CRITERIOS DE MÉTODOS POR EL CCMAS

Cuando un comité del Codex remita un método del tipo II o el tipo III al CCMAS para su ratificación, debería también proporcionar información sobre los niveles del Codex especificados junto con la disposición para permitir al CCMAS convertir el método en características analíticas generalizadas apropiadas:

- conformidad
- aplicabilidad (matriz, grado de concentración y preferencia atribuida a los métodos “generales”)
- límite de detección
- límite de cuantificación
- precisión; repetibilidad intralaboratorio (dentro del mismo laboratorio), reproducibilidad intralaboratorio e interlaboratorios (dentro del mismo laboratorio y entre laboratorios), pero basándose en datos procedentes de estudios de funcionamiento del método más que en consideraciones relativas a la incertidumbre de la medición
- recuperación
- selectividad
- sensibilidad
- linealidad

³ La RSD_R debería calcularse aplicando la ecuación de Horwitz/Thompson. Cuando la ecuación de Horwitz/Thompson no sea aplicable (por motivos analíticos o de acuerdo con un reglamento) o cuando se “conviertan” métodos en criterios, entonces debería basarse en la RSD_R procedente de un estudio apropiado de funcionamiento del método.

Estos términos, así como otros términos de importancia, se definen en la “Terminología analítica para uso del Codex”.

El CCMAS evaluará el funcionamiento analítico efectivo del método, según se ha determinado en su validación. Se tendrán en cuenta a tal efecto las características de precisión apropiadas, obtenidas en estudios de funcionamiento del método que hayan podido realizarse sobre el método, junto con los resultados a que se haya llegado en otros trabajos de elaboración realizados durante la elaboración del método. El conjunto de criterios que se elaboren formará parte del informe del CCMAS y se incluirá en la correspondiente norma del Codex.

Además, el CCMAS identificará los valores numéricos aplicables a los criterios a los que desearía que tal método se ajustara.

EVALUACIÓN DE LA ACEPTABILIDAD DE LAS CARACTERÍSTICAS DE PRECISIÓN DE UN MÉTODO DE ANÁLISIS

Los valores calculados de repetibilidad y reproducibilidad pueden compararse con los correspondientes a los métodos vigentes. Si los resultados son satisfactorios, podrá utilizarse el método como método validado. Si no se dispone de un método con el cual comparar los parámetros de precisión, en tal caso los valores teóricos de repetibilidad y reproducibilidad pueden calcularse aplicando la ecuación de Horwitz. (M. Thompson, *Analyst*, 2000, 125, págs. 385-386)

PROPUESTA PARA LA INCLUSIÓN EN EL MANUAL DE PROCEDIMIENTO

DIRECTRICES PARA ESTABLECER VALORES NUMÉRICOS RELATIVOS A LOS CRITERIOS DE MÉTODO Y/O EVALUAR LOS MÉTODOS PARA EL CUMPLIMIENTO DE LOS MISMOS

1. RECOMENDACIONES PARA ESTABLECER VALORES NUMÉRICOS RELATIVOS A LOS CRITERIOS DE MÉTODO

Sólo es necesario conocer la disposición del producto y su LM (nivel máximo, nivel mínimo, nivel regulado o grado de concentración) al establecer valores numéricos relativos a los criterios de método.

1.1 Aplicabilidad

El método se debe poder aplicar a los analitos/disposiciones concretos en la matriz o categoría de producto o alimento especificada. En el caso de los métodos horizontales, las categorías de alimentos pertinentes se habrán sometido a las pruebas correspondientes. Además, debe haberse demostrado que el método puede aplicarse a niveles de concentración similares al LM especificado, esto es, el LM debe encontrarse dentro del rango validado.

- Para un $LM \geq 10^{-7}$, el rango mínimo aplicable debe ser: $LM \pm 3s_R$
- Para un $LM < 10^{-7}$, el rango mínimo aplicable debe ser: $LM \pm 2s_R$

El rango de concentración mínimo aplicable debe equivaler a un intervalo que contenga una fracción importante de la variación esperada (como consecuencia de la incertidumbre de la medición) en los resultados similar al límite especificado (LM). En cuanto a los métodos validados de forma conjunta, la variación esperada sería la desviación estándar de la reproducibilidad (s_R) multiplicada por un factor de cobertura. Un factor de cobertura de 2 equivale a un nivel de confianza del 95% aproximadamente; un factor de cobertura de 3 equivale a un nivel de confianza del 99% aproximadamente. Dado que el porcentaje del 99% se utiliza con frecuencia como nivel de intervención en los gráficos de control, se recomienda aplicar un factor de cobertura de 3 a los coeficientes de concentración iguales o mayores que 10^{-7} ($\geq 0,1$ mg/kg). Cuando las concentraciones sean inferiores a $0,1$ mg/kg, se aconseja emplear un factor de cobertura de 2, ya que el factor de cobertura de 3 dificultaría la identificación de métodos aplicables para determinados analitos/disposiciones debido al bajo nivel.

Cálculo del rango mínimo aplicable para los LM especificados:

El rango mínimo aplicable para la desviación estándar de la reproducibilidad (s_R) puede calcularse basándose en la ecuación de Horwitz-Thompson.

1.1.1: Para coeficientes de concentración $\geq 10^{-7}$ ($\geq 0,1$ mg/kg) se aplica la ecuación de Horwitz-Thompson:

$$RSD_T(\%) = s_{TR}/c \cdot 100 = 2C^{-0.1505}$$

siendo

RSD_T : la desviación estándar relativa “teórica”;

s_{TR} : la desviación estándar “teórica”;

c : la concentración de interés, que en este caso es el LM;

C : el coeficiente de concentración, esto es, el coeficiente de concentración del LM ($Ratio_{ML}$).

Tras reestructurar la ecuación en lo que respecta a s_R , se obtiene la ecuación siguiente:

$$s_R = \frac{c \cdot 2C^{-0.1505}}{100} = \frac{ML \cdot 2Ratio_{ML}^{-0.1505}}{100}$$

Ejemplo 1: $LM = 0,1$ mg/kg, $Ratio_{ML} = 10^{-7}$:

$$0,1 \pm 3 \cdot s_R = 0,1 \pm 3 \cdot \frac{0,1 \cdot 2 \cdot (0,0000001)^{-0.1505}}{100} = \mathbf{0,1 \pm 0,07 \text{ mg/kg}}$$

El rango mínimo aplicable para un LM de 0,1 mg/kg es por lo tanto 0,03-0,17 mg/kg.

Ejemplo 2: Para un LM de 1 mg/kg (esto es, 10^{-7}):

$$1,0 \pm 3 \cdot s_R = 1,0 \pm 3 \cdot \frac{1,0 \cdot 2 \cdot (0,0000001)^{-0,1505}}{100} = \mathbf{1,0 \pm 0,48 \text{ mg/kg}}$$

El rango mínimo aplicable para un LM de 1 mg/kg es, por lo tanto, 0,5-1,5 mg/kg.

1.1.2: Para coeficientes de concentración $< 10^{-7}$, se aplica la teoría de Horwitz-Thompson, esto es, $RSD_T = 22\%$ y, por tanto, $s_R = 0,22 \cdot LM$.

Ejemplo 3: LM = 0,01 mg/kg (es decir, 10^{-8}):

$$0,01 \pm 2 \cdot s_R = 0,01 \pm 2 \cdot (0,22 \cdot LM) = 0,01 \pm 0,44 \cdot 0,01 = \mathbf{0,01 \pm 0,0044 \text{ mg/kg}}$$

El rango mínimo aplicable para un LM de 0,01 mg/kg es, por lo tanto, 0,006-0,014 mg/kg.

El Cuadro 1 muestra una serie de rangos de concentración mínimos aplicables para LM específicos.

Cuadro 1: Criterios recomendados para el rango mínimo de aplicación para LM específicos

LM (mg/kg)	0,01	0,02	0,05	0,1	1	10	100
Nivel inferior:	0,006	0,011	0,028	0,03	0,52	6,6	76
Nivel superior: *	0,014	0,029	0,072	0,17	1,48	13,3	124

* El nivel superior pocas veces actuará como factor limitador, tal y como sucede con el nivel inferior.

1.2 Límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LC)

Como alternativa al establecimiento de un rango mínimo aplicable, podrían establecerse como criterios los valores numéricos del LD y el LC.

El valor numérico para el límite de detección (LD) debe ser:

- no más de una décima parte del LM especificado para niveles iguales o mayores que 0,1 mg/kg;
- no más de una quinta parte del LM especificado por debajo de 0,1 mg/kg.

El LD se calcula multiplicando por 3 la desviación estándar del blanco promedio ($n \geq 20$ réplicas).

El valor numérico para el límite de cuantificación (LC) debe ser:

- no más de una quinta parte del LM especificado para niveles iguales o mayores que 0,1 mg/kg;
- no más de dos quintas partes del LM especificado por debajo de 0,1 mg/kg.

El LC se calcula multiplicando por 6 la desviación estándar del blanco promedio ($n \geq 20$ réplicas), o multiplicando por 2 el LD.

1.3 Precisión del método, según estudios sobre el funcionamiento de los métodos conjuntos

La precisión debería expresarse como la desviación estándar relativa observada (RSD_R) de la reproducibilidad que se obtiene de los estudios sobre el funcionamiento de los métodos conjuntos. Este valor se compara con la desviación estándar relativa teórica (RSD_T) de la reproducibilidad.

Según Horwitz, el coeficiente entre el valor observado y el valor teórico debería ser ≤ 2 (conocido como el valor HorRat). Esta afirmación también es aplicable a la ecuación de Horwitz-Thompson de la $RSD_T = 22\%$:

$$\frac{RSD_R}{RSD_T} \leq 2 \Leftrightarrow RSD_R \leq 2 \cdot RSD_T$$

Los valores numéricos de la precisión enumerados en el Cuadro 2 también se basan en la ecuación de Horwitz-Thompson. El uso de técnicas avanzadas en determinados análisis permite obtener una precisión mayor.

Cuadro 2. Precisión requerida en distintas concentraciones de acuerdo con la ecuación de Horwitz-Thompson

	Thompson	Ecuación de Horwitz-Thompson ($2C^{-0.1505}$)							
Coeficiente de concentración	$< 10^{-7}$	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	1
Unidad de concentración	$< 0,1$ mg/kg	0,1 mg/kg	1 mg/kg	10 mg/kg	0,1 g/kg	1 g/kg	10 g/kg	100 g/kg	1000 g/kg
RSD_T (%)	= 22	22	16	11	8	6	4	3	2
RSD_R (%)	≤ 44	≤ 44	≤ 32	≤ 22	≤ 16	≤ 12	≤ 8	≤ 6	≤ 4

RSD_T = valor teórico (empírico) para la desviación estándar relativa de la reproducibilidad.

RSD_R = valor observado para la desviación estándar relativa de la reproducibilidad en un estudio conjunto.

1.4 Recuperación

La evaluación y el cálculo de la recuperación forman parte del proceso de validación del método. El hecho de que la recuperación sea relevante o no dependerá del procedimiento del método. La recuperación puede definirse como el rendimiento de los pasos de extracción de un proceso analítico dividido entre la cantidad del analito existente en la muestra original.

1.5 Conformidad

Para evaluar la conformidad, es recomendable analizar los materiales de referencia certificados (MRC) adecuados y probar que ofrecen el valor certificado (teniendo en cuenta la incertidumbre de la medición).

1.6 Ejemplos sobre el establecimiento de criterios para una disposición

A fin de mostrar cómo establecer los criterios para una disposición se utiliza el ejemplo siguiente:

De acuerdo con la Norma del Codex 1993-1995, Rev 2-2006, Norma General para los Contaminantes y las Toxinas presentes en los Alimentos, el LM del plomo en los zumos de fruta es de **0,05 mg/kg**. Según las recomendaciones para la obtención de valores numéricos para las características basadas en el LM, se aplicarían los criterios del Cuadro 3:

Cuadro 3. Recomendación para los valores numéricos de criterios del plomo en los zumos de fruta

Aplicabilidad: Analito:	Plomo
Matriz/disposición:	Zumo
LM:	0,05 mg/kg
Nivel inferior del rango mín. de aplicación:	0,03 mg/kg (= $LM - 2s_R = 0,05 \text{ mg/kg} - 0,44 \cdot 0,05 \text{ mg/kg}$). Véase 1.1.2
LD:	0,01 mg/kg (= $LM \cdot 1/5 = 0,05 \text{ mg/kg} \cdot 1/5$)
LC:	0,02 mg/kg (= $LM \cdot 2/5 = 0,05 \text{ mg/kg} \cdot 2/5$)
Precisión:	Para concentraciones a 0,05 mg/kg, la $RSD_R \leq 44\%$. Véase 1.1.2
Recuperación:	El procedimiento de método no incluye un paso de extracción, por lo que la recuperación no es pertinente
Conformidad:	Uso de los MRC

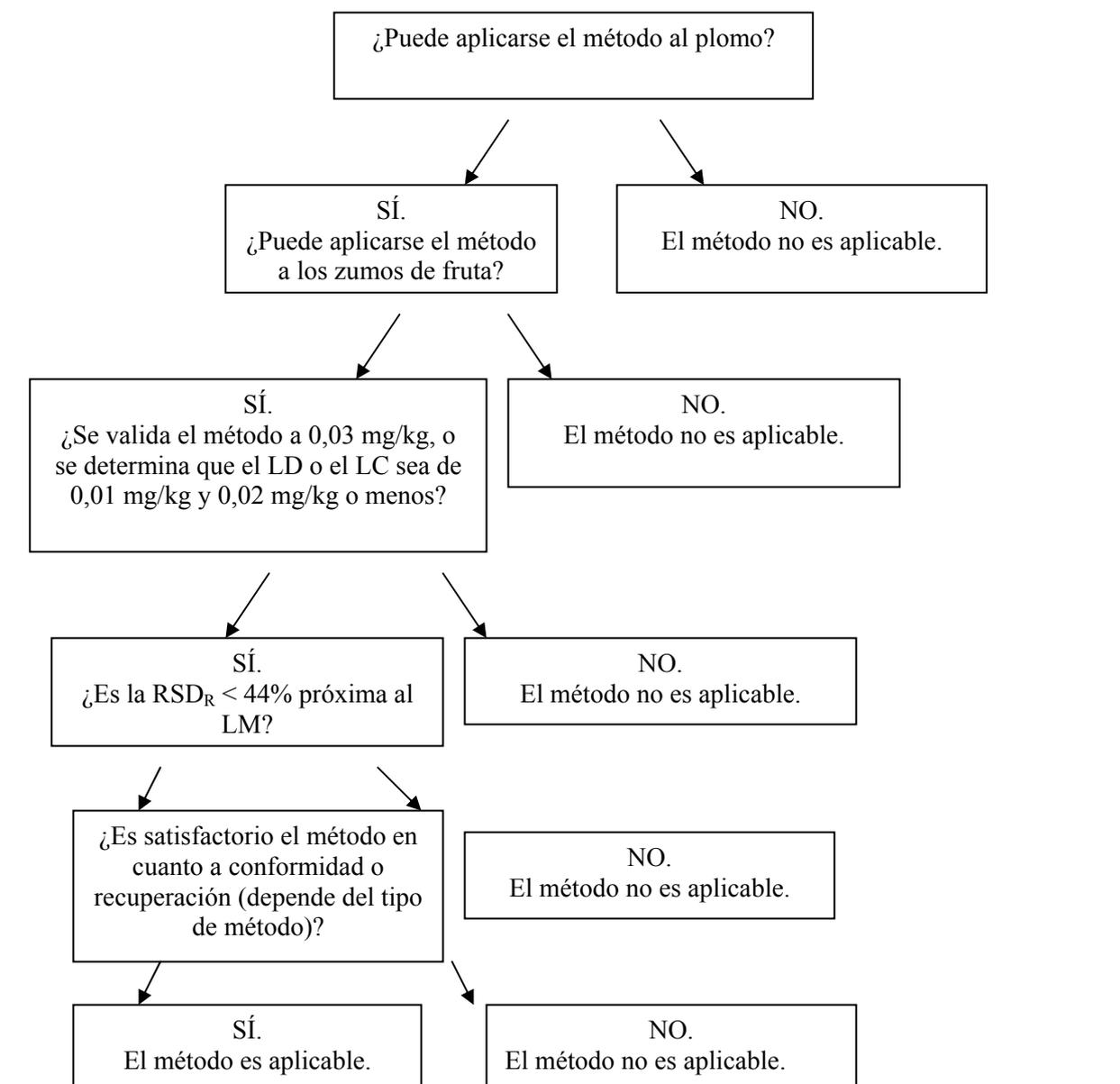
2. CÓMO DETERMINAR LA ADHESIÓN DE UN MÉTODO A LOS CRITERIOS

Para revisar un método a fin de determinar si cumple los criterios establecidos, es necesario evaluar sus características de funcionamiento. El resultado de un estudio sobre el funcionamiento del método está disponible en el propio método y/o se publica en una revista internacional.

2.1 Ejemplo de evaluación de los métodos para determinar su adhesión

Continuando con el ejemplo anterior sobre el plomo en los zumos de fruta, que tiene un LM de 0,05 mg/kg, los métodos considerados deberían ser capaces de cuantificar el plomo en el zumo de fruta desde 0,03 mg/kg, con una precisión, RSD_{TR} del 22%; la RSD_R extraída del estudio de funcionamiento del método no debería por lo tanto superar el 44% (correspondiente a un intervalo de confianza del 95%).

Al evaluar un método para determinar su adhesión, deben tenerse en cuenta los pasos siguientes:



A fin de encontrar métodos adecuados a este objetivo, se recopila información sobre los métodos para la determinación del plomo. (Dado que esta situación es un ejemplo para el Manual de procedimiento, no se incluye la identificación de los métodos):

Cuadro 4: Métodos validados de forma conjunta para el análisis del plomo

N.º de método	Aplicabilidad	Principio	Nivel evaluado (mg/kg)	LD (mg/kg)	RSD _R (%)	Aplicable Sí/No y por qué
1	Todos los alimentos	AAS de llama	2,2 - 29		4,9-36	NO La AAS de llama no podrá detectar a 0,05 mg/kg. (No supera el paso 4)
2	Todos los alimentos (pollo, manzana)	Voltametría de separación anódica	0,03-2,8	0,03	17-106	NO La RSD _R es del 106% (no <44%) a 0,03 mg/kg. (No supera el paso 5)
3	Azúcares	GFAAS	0,03-0,50		12-30	SÍ Aunque la aplicabilidad no dice Zumos (o todos los alimentos), debería considerarse aplicable ya que el zumo de fruta contiene una gran cantidad de azúcar. La precisión es satisfactoria.
4	Grasas y aceites	GFAAS	0,018-0,090		5,9-30	NO El método describe la preparación de muestras para grasas y aceites únicamente. (No supera el paso 2)
5	Agua mineral natural	AAS	0,0197-0,977	< 0,01	2,8-4,2	NO El método describe la preparación de muestras para agua únicamente. (No supera el paso 2)
6	Todos los alimentos	GFAAS tras incineración en seco	0,045-0,25	< 0,01	26-40	NO El nivel validado menor no es lo suficientemente bajo. Sin embargo, ya que la técnica es GFAAS, debería ser aplicable para 0,03 mg/kg.
7	Todos los alimentos excepto los aceites, las grasas y los productos extremadamente grasos	AAS tras digestión por microondas bajo presión	0,005-1,62	0,014	26-44	SÍ El nivel de validación y la RSD _R son correctos.
8	Todos los alimentos	ICP-MS tras digestión a presión	0,013-2,45	< 0,01	8-47	SÍ El nivel de validación y la RSD _R son correctos para niveles de 0,03 mg/kg y superiores.

AAS = espectrometría de absorción atómica

GFAAS = espectrometría de absorción atómica con cámara de grafito

ICP-MS = espectrometría de masas por plasma de acoplamiento inductivo

Conclusión: Los métodos n.º 3, 7 y 8 se consideran aplicables para la determinación del plomo en los zumos de fruta para el LM dado de 0,05 mg/kg. Para evaluar los métodos y determinar su cumplimiento es necesario conocer los métodos, la preparación de muestras, los procedimientos y la instrumentación. Por consiguiente, los métodos no pueden “juzgarse” exclusivamente por los valores numéricos de los criterios.