

Validación de técnicas analíticas asociadas al etiquetado nutricional de pescado

Spath,C; Bononi,M; Roldán, H; Garbari, D; Campos Otamendi, F; Vergara, O
INTI Mar del Plata
mspath@inti.gov.ar

OBJETIVO

El etiquetado o rotulado nutricional se aplica a todos los alimentos y bebidas producidos, comercializados y envasados. El mismo consiste en una descripción de las propiedades nutricionales de un alimento destinada a informar al consumidor. El interés de los consumidores en cuanto a los productos que adquieren ha aumentado notablemente en los últimos años, y se asocia a la relación que existe entre la salud y una dieta apropiada, ya que a través de la información se contribuye significativamente a mejorar la nutrición de la población. Por este motivo, a partir del año 2006 el rotulado nutricional en los alimentos envasados es obligatorio según las Res. GMC 46/03 y la 47/03.

El objetivo de este estudio fue validar las técnicas fisicoquímicas que resultan necesarias para la confección del etiquetado nutricional de alimentos en matriz pescado, tales como humedad, cenizas, proteínas, lípidos totales, composición de ácidos grasos (AG), sodio y fibra alimentaria, para demostrar a través de evidencia objetiva que el INTI emite a sus usuarios resultados de ensayos altamente confiables y seguros, convirtiéndolo en un referente regional sustentado en la calidad de sus resultados de ensayos en lo que respecta a rotulado nutricional. Las metodologías correspondientes a las técnicas analíticas validadas se desarrollaron en el laboratorio de fisicoquímica en base a normas AOAC. Durante el proceso de validación de los métodos se estudiaron los siguientes parámetros estadísticos: robustez, repetibilidad, precisión intermedia, veracidad y se realizó el cálculo de incertidumbre. Para llevar a cabo la validación de las metodologías se utilizó material de referencia certificado en base a pescado, FAPAS T2559, verificándose los criterios de aceptación previamente establecidos. De este modo se demostró que los métodos evaluados son aptos para el propósito, y a partir de los mismos se pueden obtener resultados altamente confiables.

DESCRIPCIÓN

Para evaluar la repetibilidad y precisión intermedia de los métodos se realizaron replicados de un material de referencia certificado (T2559, FAPAS), llevados a cabo por distintos analistas y realizados en

diferentes días de análisis. La repetibilidad y precisión intermedia se evaluaron a través de los resultados del análisis de varianza de un factor (ANOVA). La desviación estándar en condiciones de repetibilidad (S_r) se calculó como $PC_d^{1/2}$ siendo PC_d el promedio de cuadrados dentro de los grupos del análisis ANOVA. La desviación estándar en condiciones de precisión intermedia (S_{pi}) se calculó como $(SC_t / (N-1))^{1/2}$, siendo SC_t la suma de cuadrados totales del análisis ANOVA y N el número total de análisis realizados. Se estableció como criterio de aceptación una desviación estándar relativa $<2\%$.

La veracidad fue evaluada analizando el material de referencia y comparándolo con el valor asignado en el certificado.

La incertidumbre se evaluó utilizando los datos de la validación. Para ello se combinaron los datos de la incertidumbre asociada a la determinación del sesgo del método, obtenida a partir de la evaluación de la veracidad, y la incertidumbre asociada a la precisión del método teniendo en cuenta la mayor cantidad de variables.

Para evaluar la robustez de cada uno de los métodos se identificaron los posibles factores que puedan tener influencia y que necesiten ser controlados. Cada factor se evaluó en dos niveles, uno superior y otro inferior respecto a lo establecido en el método. Para ello se diseñó el modelo de Packett-Burman según se describe en la norma ASTM E 1169-07. Cada análisis se llevó a cabo por duplicado. De esta manera se identificaron los efectos que deben ser controlados.

RESULTADOS

Se analizaron los resultados obtenidos por los diferentes analistas para evaluar si existen o no diferencias estadísticamente significativas entre ellos, por medio de la prueba de Fisher de varianzas de dos muestras a un nivel de confianza del 95%. Como los valores de F calculados fueron menores que los F críticos se concluyó que **no existen diferencias**, por lo tanto se procedió a realizar la evaluación de los parámetros de desempeño. En la Tabla 1 se presentan los resultados de la validación de cada una de las metodologías relacionadas con el etiquetado nutricional de alimentos envasados de matriz pescado.

Tabla 1: Resultados ensayos de validación

Métodos	n	X _n	S _r	S _{pi}	X _{MR}	δ	μ _{comb}	μ _{exp}
Nitrógeno (g/100g)	14	1,45	0,02	0,02	1,49	0,04	0,15	0,1
Humedad (g/100g)	27	77,74	78	0,09	0,09	0,04	0,56	1,12
Cenizas (g/100g)	27	2,64	0,01	0,01	2,64	0	0,09	0,18
Sodio (mg/100g)	10	0,59	0,02	0,02	0,59	0	0,04	0,08
Lípidos (g/100g)	18	4,32	0,05	0,06	4,16	0,16	0,29	0,58
AG sat (g/100g)	12	21,58	0,42	0,44	-	*	1,76	3,52
AG trans (g/100g)	12	0,7	0,03	0,03	-	*	0,05	0,1

n: número de ensayos; X_n: promedio de los ensayos; X_{MR}: valor del material de referencia; S_r: desviación estándar; δ: sesgo; μ_{comb}: incertidumbre combinada; μ_{exp}: incertidumbre expandida, *: no calculados

Al no contar con valores asignados en el material de referencia para ácidos grasos trans y para ácidos grasos saturados, para el cálculo de la incertidumbre de los AG trans, se utilizó el sesgo correspondiente al ácido graso 20:4w6 y para los AG saturados, el sesgo de los AG poliinsaturados.

Los resultados correspondientes al ensayo de fibra dietaria no pudieron ser presentados ya que los mismos se encuentran en proceso de evaluación.

Los resultados de la evaluación de la robustez se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2: Ensayos de robustez

Cenizas			Humedad		
Efectos	VALOR p		Efectos	VALOR p	
Cantidad de muestra (g)	0,05	0,63	Cantidad de muestra (g)	0,6	0,34
Tiempo (h)	0,2	0,15	Tiempo (h)	0,9	0,17
Balanzas	0,05	0,63	Balanzas	0	1,00
Mufflas	0,2	0,18	Tiempo enfriado	0	1,00
Temperatura °C	0,1	0,20	Uso de tapa o no al enfriar	0,2	0,74
Rampa calentamiento	0,04	0,70	Distribución muestra	1	0,13
Analistas	0,03	0,77	Analistas	0,2	0,74
Nitrógeno			Sodio		
Efectos	VALOR p		Efectos	VALOR p	
Cantidad de muestra (g)	0,22	0,26	Tipo de ácido	1,00	0,40
Tiempo digestión	0,03	0,87	Dilución del ácido	5,67	0,004
Balanzas	0,49	0,05	Volumen de ácido (cenizas)	2,13	0,11
Cu(SO ₄) (g)	0,22	0,26	Solución de calibración	6,67	0,002
Temperatura Digestión (°C)	0,34	0,10	Tiempo (min) espera llama	1,63	0,20
Tiempo destilación (min)	0,62	0,01			
K ₂ SO ₄ (g)	0,21	0,28			

Ácidos grasos saturados			Ácidos grasos trans		
Efectos	VALOR p		Efectos	VALOR p	
Analistas	0,04	0,09	Analistas	0,001	0,40
Volumen KOH 0,5N en Metanol (ml)	0,02	0,36	Volumen KOH 0,5N en Metanol (ml)	0,001	0,08
Flujo gas portador	0,01	0,56	Flujo gas portador	0,001	0,16
Volumen BF ₃ (ml)	0,01	0,79	Volumen BF ₃ (ml)	0,001	0,20
Temperatura del inyector (°C)	0,05	0,84	Temperatura del inyector (°C)	0,001	0,05
Fibra dietaria			Lípidos totales		
Efectos	VALOR p		Efectos	VALOR p	
Cantidad muestra digestión (g)	2,27	0,06	Analistas	0,01	0,66
Tiempo precipitación	0,29	0,78	Solventes de extracción	0,08	0,017
Cantidad de alcohol (ml)	0,31	0,77	Proporción solventes extracción	0,30	5,59 10 ⁻⁶
Tiempo de calcinación (h)	0,85	0,42	Homogeneización	0,16	3,38 10 ⁻⁴
Tierra diatomeas (g)	0,25	0,81	Velocidad homogeneización	0,35	1,81 10 ⁻⁶
Lavado de residuo	2,5	0,04	Separación fases	0,21	6,73 10 ⁻⁵
Temperatura calcinación (°C)	1,73	0,13	Lavado	0,25	4,08 10 ⁻⁵

Los efectos que poseen un valor de p < 0,05 poseen influencia significativa en el método, por lo tanto debieron ser estrictamente controlados.

CONCLUSIONES

Los parámetros de desempeño de los métodos evaluados cumplieron con las especificaciones previamente establecidas. Se demostró que los métodos fueron validados y que son aptos para la aplicación específica prevista. La excepción fue la determinación de fibra dietaria total donde la validación aún se encuentra en proceso de evaluación.

De esta manera queda demostrado que el INTI brinda a sus usuarios resultados de ensayo altamente confiables y seguros, y que es un referente regional en las metodologías validadas.