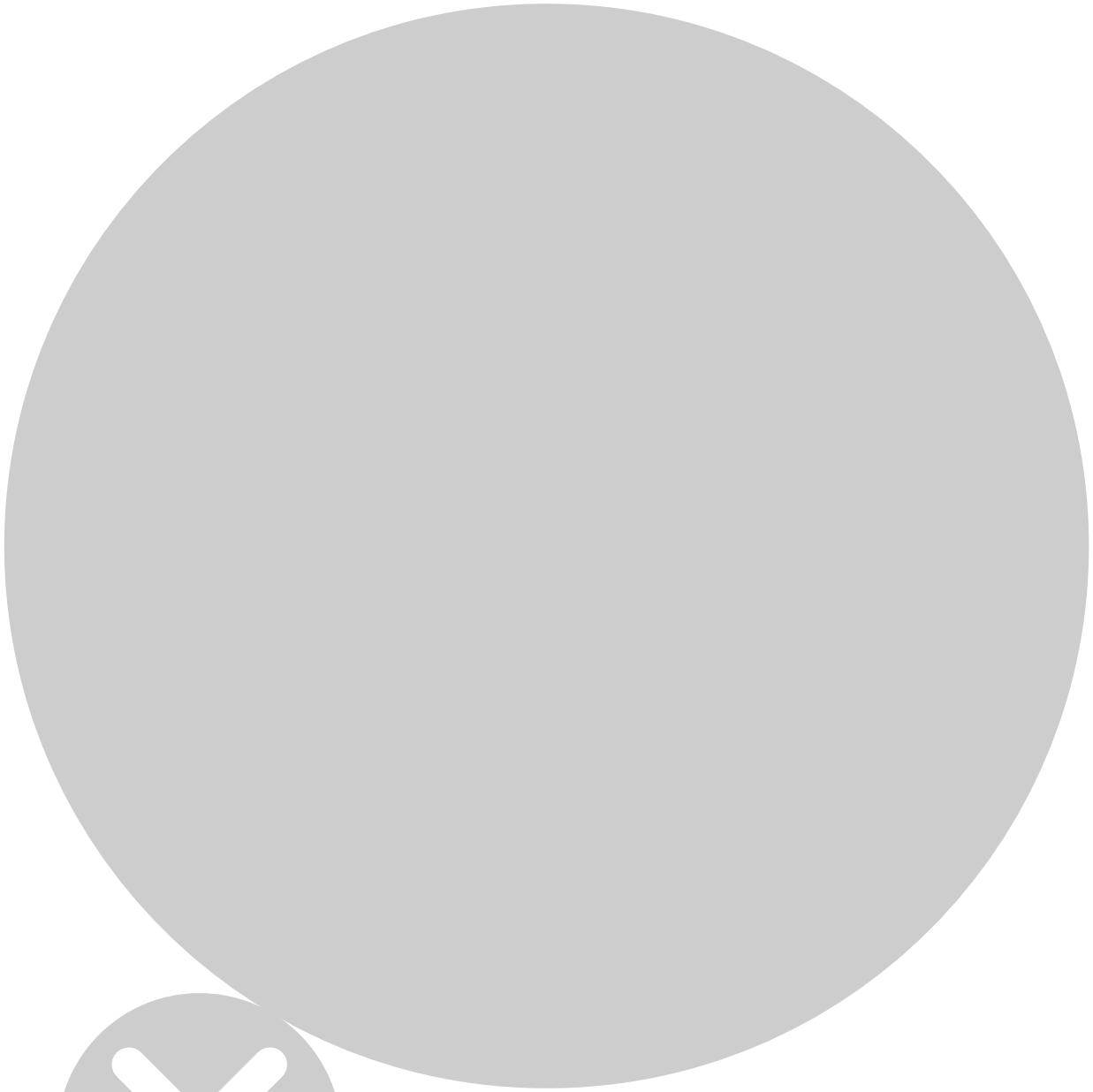
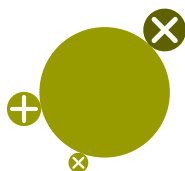


**3**

**MÉTODOS  
DE MUESTREO**





## INTRODUCCIÓN

Existen una infinidad de procedimientos de muestreo que dependen de la naturaleza de la materia prima que se va a analizar; o bien de la sustancia que se pretenden determinar. Lo más recomendable es que el procedimiento de muestreo que se aplique esté conforme con las normas ISO relativas al producto que se trate, si bien no todos los productos tienen normas apropiadas.

En este apartado se recogen líneas generales de muestreo que ayudan a los fabricantes de piensos a la hora de elaborar un procedimiento de muestreo o diseñar un plan de muestreo adecuado a sus necesidades.

## DEFINICIONES

**Característica.** Por característica se entiende una propiedad que permite identificar los elementos de un determinado lote o diferenciarlos entre sí. La característica puede ser cuantitativa (una cantidad medida) o cualitativa (satisface o no una especificación). Un ejemplo de característica cuantitativa sería el contenido en sustancias indeseables de un cereal, mientras que un ejemplo de característica cualitativa sería un test de ELISA que indican la presencia de salmonela en un cereal.

**Error total de estimación.** En la estimación de un parámetro, el error total de estimación es la diferencia entre el valor calculado del estimador y el valor auténtico de este parámetro. El error total de estimación puede deberse a las causas siguientes:

- error de muestreo,
- error de medición,

- redondeo de valores o subdivisión en clases,
- sesgo del estimador.

**Error de muestreo.** El error de muestreo puede deberse en parte a uno o varios de los parámetros siguientes:

- la heterogeneidad de las características inspeccionadas,
- el carácter aleatorio del muestreo,
- las características conocidas y aceptables de los planes de muestreo.

**Heterogéneo.** Un lote es heterogéneo con respecto a una determinada característica si ésta última no está distribuida de manera uniforme en todo el lote.

**Homogéneo.** Un lote es homogéneo con respecto a una determinada característica si ésta última está distribuida de manera unifor-

## + MÉTODOS DE MUESTREO

me en todo el lote con arreglo a una ley de probabilidad dada. El hecho de que un lote sea homogéneo con respecto a una determinada característica no indica que el valor de la característica sea el mismo en todo el lote.

Los elementos de un lote pueden ser homogéneos con respecto a una característica y heterogéneos con respecto a otra.

**Lote.** Cantidad de producto identificable, suministrada en una vez, de la que el agente responsable establece que presenta características comunes como el origen, la variedad, el tipo de envase, el envasador, el expedidor o el marcado.

**Muestra elemental.** Cantidad de materia tomada en un único punto del lote o del sublote. En la medida de lo posible, éstas deben tomarse en distintos puntos del lote o sublote.

**Muestra representativa.** Se entiende una muestra en la que se mantienen las características del lote de que procede. En concreto, es

el caso de una muestra aleatoria simple, en la que todos los elementos o porciones del lote tienen la misma probabilidad de integrar la muestra.

**Muestra global.** Reunión de todas las muestras elementales tomadas del lote o sublote.

**Muestra de laboratorio.** Muestra destinada al laboratorio (submuestra).

**Muestreo.** Procedimiento empleado para extraer y constituir una muestra.

**Porción.** Cantidad de material tomada de una sola vez de una cantidad mayor de producto para formar una muestra.

**Remesa.** Cantidad de producto entregada en un momento determinado. Puede ser una parte de un lote o también una serie de lotes.

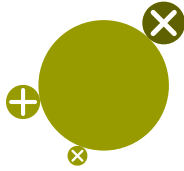
**Sublote.** Parte designada de un gran lote con el fin de aplicar el método de toma de muestras a esta parte designada. Cada sublote debe estar separada físicamente y ser identificable.

## PROCEDIMIENTO DE MUESTREO

### GENERALIDADES

La mayoría de los procedimientos de muestreo comprenden la selección de una o varias muestras de un lote, la inspección o el análisis de las muestras y la clasificación del lote (como “aceptable” o “no aceptable”) a partir del resultado de la inspección o el análisis de la muestra.

El procedimiento de muestreo debe contemplar las instrucciones necesarias para la aplicación del *plan de muestreo*, subrayando los aspectos siguientes:



## GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL



- Las medidas necesarias para asegurar que la muestra seleccionada sea *representativa* de la remesa o el lote (si una remesa consta de varios lotes, deberán recogerse muestras representativas de los distintos lotes).
- **Los procedimientos que han de seguirse para la recogida, la manipulación y el registro de la muestra o las muestras.**
- **Las indicaciones específicas para que la muestra se tome de forma aleatoria.**
- El *tamaño y el número de elementos individuales* que constituyen la muestra tomada del lote o la remesa.

Un procedimiento de muestreo correcto es fundamental a la hora de valorar los resultados analíticos obtenidos de la muestra. Por ello, a la hora de seleccionar un **procedimiento de muestreo**, además de los aspectos anteriores, deberán abordarse los siguientes:

- La distribución de las características en la población objeto de muestreo.
- El costo del plan de muestreo.
- La evaluación de riesgos, es decir que dependiendo del riesgo que presente una materia prima a estar más o menos contaminada de micotoxinas, así se deberá elaborar el procedimiento de muestreo. Si el riesgo es alto, el número de muestras será mayor.

Además, todos los procedimientos de muestreo deben validarse con el fin de asegurar que la muestra final que se toma sea lo más representativa posible.

Con todo lo anteriormente expuesto podemos resumir que la definición precisa de un **procedimiento de muestreo** requerirá el establecimiento o la selección de los puntos siguientes:

- **La característica que debe medirse.**
- **El tamaño del lote.**
- **El nivel de inspección.**
- **El tamaño de la muestra.**
- **Los criterios para la aceptación o el rechazo del lote.**
- **Los procedimientos que han de seguirse en caso de controversia.**

### DISEÑO DE UN PLAN DE MUESTREO

Un *plan de muestreo* es un procedimiento planificado con arreglo al cual se inspecciona y clasifica un lote. El plan estipulará el número de elementos, que habrán de ser seleccionados de forma aleatoria en el lote objeto de inspección, que constituirán la muestra y el número de



elementos no conformes que se requieren en una muestra para evaluar el grado de cumplimiento de las normas en un lote.

Tal y como se ha indicado anteriormente dentro de los procedimientos de muestreo, el *plan de muestreo* debe asegurar que la muestra a analizar sea **representativa** de la población de todo el lote.

El grado de representatividad de una muestra puede estar limitado por razones de coste o por conveniencia. Los principales aspectos que influyen en la representatividad de la muestra son:

- Estado físico del lote, muestra líquida, gaseosa o sólida.
- Heterogeneidad del lugar de la toma de muestras.
- Número y tamaño de las porciones tomadas.
- Desconocimiento de la estructura de la población objeto de estudio.
- Conocimiento y control de factores potencialmente distorsionadores en el momento de la toma de muestras.

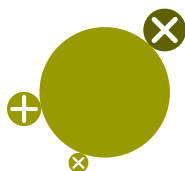
Todos estos factores que influyen en la representatividad de la muestra pueden reducirse a través del correcto diseño de un *plan de muestreo*, que incluya un examen previo, criterios estadísticos y el sentido común del analista.

Para conseguir esta representatividad, es importante también, como ya se ha indicado que el muestreo sea **aleatorio**. Un muestreo aleatorio se puede definir como la recogida de  $n$  elementos de un lote de  $N$  elementos, de forma que todas las combinaciones posibles de  $n$  elementos tengan la misma probabilidad de ser seleccionadas. La aleatoriedad se puede conseguir utilizando una tabla de números aleatorios que puede elaborarse mediante programas informáticos.

Por todo ello, nos encontramos con que la muestra seleccionada debe ser representativa y también aleatoria. Ambos factores van a depender de que los lotes sean homogéneos o heterogéneos.

Cuando los lotes son **homogéneos** una pequeña muestra es considerada como una muestra representativa, ya que el analito que vamos a medir se encuentra distribuido uniformemente en toda la muestra a analizar.

Por el contrario, en los **lotes heterogéneos** una muestra aleatoria no tiene por que ser representativa del lote, debido a que la distribución del analito a determinar es irregular y la



## GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL



concentración del mismo varía respecto el lugar donde se tome la muestra y dentro de unos rangos bastantes amplios.

En el caso de lotes heterogéneos el muestreo estratificado puede constituir una solución a la hora de obtener una muestra representativa. El muestreo estratificado consiste en dividir el lote en distintos estratos o zonas, cada uno de los cuales será más homogéneo que el lote original en cuanto a propiedades de la muestra. Dentro de cada estrato se puede seguir cualquier criterio en la consiguiente selección de muestras, aunque en la mayoría de los casos suelen aplicarse criterios probabilísticos en general y estrategias de toma de muestras aleatoria, en particular:

Una vez establecidos los grupos y el número de muestras total a tomar del lote completo, las porciones de muestras se toman dentro de cada estrato proporcionalmente a su peso o volumen relativo respecto al total.

También se puede aplicar una estrategia de toma de muestras estratificada en situaciones en las que dispone de mucha información previa del lote de muestra, en especial de sus características generales.

Cuando no se puede realizar el muestreo de forma aleatoria, p. ej., en el caso de un almacén muy grande en el que las mercancías están desordenadas o cuando el proceso de producción conlleva un fenómeno periódico (p. ej. un contaminante localizado de forma específica en una zona concreta del silo), resulta indispensable:

- Evitar en lo posible la selección de elementos de acceso más fácil o que pueden diferenciarse por una característica visible.
- En el caso de fenómenos periódicos, evitar la toma de muestras cada  $k$  segundos, o del  $k^{\circ}$  envase o cada  $k$  centímetros, y tomar una unidad de cada  $n$  paletas, preenvases, etc.

Finalmente, es importante que en el proceso de tomas de muestras se utilice un equipo adecuado que puede constar de lo siguiente:

- Bastones toma-muestras (largo y corto).
- Cuarteador de muestras.
- Recipientes de varias capacidades para la toma de muestras.
- Paleta toma muestras.
- Frascos de cierre hermético para muestras líquidas.
- Frascos estériles para envíos a microbiología.

## MÉTODOS DE MUESTREO

- Bolsas de plástico porta muestras con aros metálicos.
- Etiquetas adhesivas para referenciar envíos y cajas de cartón.
- Material estéril desechable (guantes, cucharas, etc).

En el siguiente cuadro se puede ver los diferentes pasos que hay que seguir para diseñar un plan de muestreo:



### Aspectos estadísticos del plan de muestreo

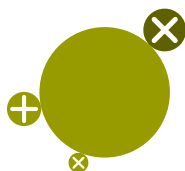
En el diseño de toma de muestra el investigador tiene que decidir el nivel de error tolerable, el nivel de confianza aceptado, así como estimar el mínimo número de porciones a tomar.

Los errores asociados a la toma de muestra así como la estimación inicial del tamaño de cada porción y el número de porciones que se tienen que tomar, dependerá del tipo de muestra.

### Fuentes de error en la etapa del plan de muestreo

La etapa de toma de muestras, al igual que otras etapas del proceso analítico, conlleva la posibilidad de introducir errores y por tanto los resultados cuantitativos que se obtengan de





los análisis efectuados a las muestras correspondientes, tienen sólo un valor limitado si no se acompañan de una estimación de los errores *aleatorios* (imprevisibles) y *sistemáticos* (previsibles) asociados a dichos resultados. (Los errores *aleatorios* afectan a la precisión del resultado, mientras que los *sistemáticos* afectan a la exactitud).

Los errores sistemáticos deberían evitarse con una correcta planificación y ejecución de la toma de muestras, mientras que los errores aleatorios, inherentes a muestras heterogéneas y básicamente asociados a falta de representatividad, deben minimizarse con una correcta estimación del tamaño y número de porciones tomadas del lote de muestra inicial.

Además, los resultados de la aplicación de los planes de muestreo están expuestos a dos tipos de errores:

- *error de muestreo* (debido a que la muestra no representa con exactitud la población de la que se ha tomado); y
- *error de medición* (debido a que el valor medido de la característica no representa con exactitud el valor auténtico de la característica en la muestra).

Es conveniente que se cuantifiquen y reduzcan al mínimo los errores de muestreo relacionados con cualquier plan de muestreo, así como los errores de medición propios del análisis.

### Tamaño de la muestra

El tamaño de la porción a coleccionar del lote de muestra inicial dependerá tanto de la matriz de la muestra como de la distribución del analito en la muestra problema. De tal manera, el grado de heterogeneidad del material (por ej., tamaño, forma, composición y distribución de las partículas en muestras sólidas), la heterogeneidad respecto al analito a determinar, la concentración media del analito en la muestra y la magnitud de error exigido en el resultado final serán factores determinantes en la elección del tamaño de muestra a coleccionar. Otros factores serán el material disponible y el coste de la muestra.

**Muestras homogéneas.** El tamaño de la muestra deberá asegurar que en la determinación del analito, la concentración resultante de éste supere el límite de cuantificación analítico del método analítico elegido.

**Muestras heterogéneas.** Necesita de la aplicación de la teoría estadística, así como de un conocimiento previo aproximado de la muestra y de la concentración del analito de interés en ésta. En muchas situaciones no se dispone de información previa, o la complejidad de la



## MÉTODOS DE MUESTREO

aproximación estadística es desproporcionada respecto a los objetivos de la toma de muestras, con lo que la decisión final sobre el tamaño vendrá determinado por la experiencia y criterios del analista.

### Número de muestras

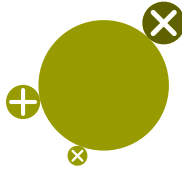
Varios son los conceptos básicos asociados con la estimación del número necesario de muestras: el grado de homogeneidad/heterogeneidad de la muestra inicial, el coste intrínseco de la toma de muestras y la variabilidad aceptada en el resultado final. Al ser imposible analizar toda la población inicial, los aspectos estadísticos podrán ser necesarios para elegir el número de muestras a tomar; siempre y cuando se disponga de una cierta información previa del lote de muestra, en especial de la variabilidad en su contenido del analito, tanto en el tiempo como en el espacio.

Aplicando criterios estadísticos el número de muestras que resulta de estos cálculos supera a menudo las posibilidades de la toma de muestras debido al alto coste asociado a los análisis. En determinadas situaciones no es posible aplicar únicamente criterios estadísticos, sino que es necesario aplicar conjuntamente criterios personales del analista, basados en su experiencia previa, así como aproximaciones empíricas para decidir el número de muestras a tomar. *Cabe recordar que aumentar el número de muestras no reduce la variabilidad natural de la muestra, sino el error en la estimación de la media, lo que puede conducir a valores mayores al aumentar el número de muestras. Por el contrario, si el número de muestras se reduce, aumentará el error aceptado en la predicción de la media, considerando que la varianza de la muestra permanece constante. De hecho, una opción válida acaba siendo elegir un número de muestras aceptable bajo el punto de vista económico, en el que la variabilidad se estabiliza.*

### Preparación de muestras

#### Muestras primarias

Una **muestra primaria** es la 'porción de producto' extraída de un lote durante la primera fase del proceso de muestreo, que constituirá normalmente un elemento (si se ha tomado de un lote de productos preenvasados) o una porción de muestreo (si se ha extraído de un lote a granel) (no obstante, una 'porción de muestreo' puede considerarse un 'elemento' si las mediciones se realizan en porciones de muestreo individuales). En la medida que sea factible, las muestras primarias deberían tomarse en todo el lote y deberían anotarse las excepciones a este requisito. Con el fin de facilitar el análisis en el laboratorio, debería tomarse una cantidad



## GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL



suficiente de muestras primarias de tamaño parecido. Durante la toma de muestras primarias (elementos o porciones de muestreo) y en todos los procedimientos subsiguientes habrán de tomarse precauciones a fin de mantener la integridad de la muestra (p. ej. para evitar la contaminación de las muestras o cualquier otro cambio que pueda repercutir de forma negativa en la cantidad de residuos o los resultados analíticos, o que tengan como resultado que la muestra de laboratorio no sea representativa de la muestra compuesta del lote).

### **Muestra compuesta**

Cuando el plan de muestreo lo requiera, se obtendrá una **muestra compuesta** combinando con cautela las muestras primarias (los elementos) de un lote de productos *preenvasados*, o las muestras primarias (las porciones de muestreo) de un lote *a granel* (no preenvasado).

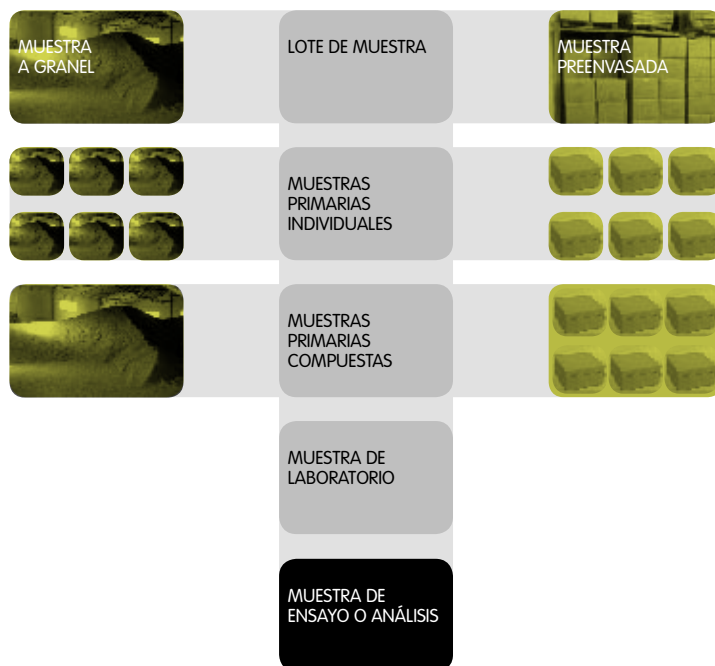
Salvo por razones económicas, no se recomienda esta técnica de muestreo, debido a la pérdida de información sobre los cambios de muestra a muestra debido a la combinación de muestras primarias.

### **Muestra final**

La *muestra global* debe constituir, en la medida de lo posible, la **muestra final** y ha de entregarse al laboratorio para su análisis. Si la muestra global es demasiado grande, la muestra final podrá prepararse a partir de ella mediante un *método de reducción* adecuado. En ese proceso, sin embargo, no se deben cortar o dividir los elementos individuales.

## MÉTODOS DE MUESTREO

### CADENA DE TRANSFORMACIÓN DEL LOTE DE MUESTRA EN LA MUESTRA DE ENSAYO O ANÁLISIS

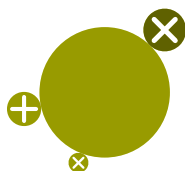


### Estrategias generales en la toma de muestras

#### Estrategia basada en criterios no probabilísticos

Esta estrategia está basada en el juicio previo de la persona que lleva a cabo el plan de toma de muestras, por eso en ocasiones recibe también el nombre de toma de muestras selectiva o dirigida. Este tipo de estrategia de toma de muestras contempla un diseño dirigido a minimizar el efecto de los factores secundarios que pueden aportar variabilidad. Para conseguir este objetivo se utiliza toda la información de que se dispone al planificar la toma de muestras con el fin de potenciar dicha toma de muestras en puntos que pueden ser representativos de la población.

Con el fin de aplicar con éxito este tipo de estrategia es necesario disponer de mucha información previa de la zona de toma de muestras y del lote de muestra en sí. No obstante, aplicar un juicio previo acaba comportando una pérdida de exactitud, ya que las muestras analizadas estarán sesgadas respecto al global de la población. En cualquier caso esta estrate-



gia puede constituir una etapa previa de una posterior toma de muestras probabilística, lo que permitirá un mejor diseño de esta última.

### **Estrategia basada en criterios probabilísticos**

Cuando no se dispone de suficiente información previa de la población y cuando se busca una muestra lo más representativa posible, es necesario llevar a cabo una toma de muestras probabilística, en la cual todos los componentes del lote tienen la misma probabilidad de ser tomados, mientras que componentes ajenos al lote tienen una probabilidad nula.

Se pueden distinguir dos tipos:

**Toma de muestra aleatoria.** En este tipo de toma de muestras, las porciones de muestra se extraen del lote de forma que cualquier porción de la población tiene la misma probabilidad de ser seleccionada. Es muy difícil en la realidad asegurar una muestra completamente aleatoria, ya que tomar muestras al azar no es igual que tomarlas según un patrón aleatorio. El número de muestras a tomar es elevado.

**Toma de muestra Sistemática.** Es una de las más utilizadas. Las porciones de muestra se toman en intervalos (de tiempo y espaciales) predeterminados en el plan de toma de muestras.

Una de las limitaciones es cuando la población tiene una tendencia periódica de variación, temporal o espacial, ya que en este caso el riesgo de obtener una población sesgada es superior al de otras estrategias.

### **Aseguramiento de la calidad en la toma de muestras**

Prácticamente todos los conceptos y prácticas para asegurar la calidad de los datos y resultados analíticos pueden en un principio ser aplicados a la etapa de toma de muestras, aunque esto puede conllevar un aumento de su coste. El aseguramiento de la calidad de la toma de muestras se fundamentará en una planificación adecuada, en la documentación y en el control del proceso.

Los métodos de toma de muestras y especialmente los de análisis de rutina, deberán estar escritos y estandarizados en forma de procedimientos normalizados de trabajo. Estos no han de corresponder únicamente a etapas específicas y detalladas de la toma de muestras, sino que también tienen que incluir un esquema de toma de decisiones asociadas a la estrategia general de la toma de muestras.

## +

### MÉTODOS DE MUESTREO

En muchos casos el protocolo de toma de muestras ya se encuentra descrito en forma de un procedimiento normalizado de trabajo, en especial si se están siguiendo procedimientos recogidos en normas nacionales o internacionales, que no son de obligado cumplimiento, pero son las que se han de aplicar si de la toma de muestras y posterior análisis puede derivarse un problema legal.

#### Almacenamiento, envasado y transmisión de las muestras de laboratorio

Es importante que el transporte y el almacenamiento de las muestras sea adecuado, manteniendo correctas condiciones higiénicas, de temperatura, humedad, etc. Además, el tiempo durante el cual las muestras van a estar almacenadas antes de enviarse al laboratorio de destino debe ser el mínimo posible, con el fin de evitar recontaminaciones, contaminaciones cruzadas, etc.

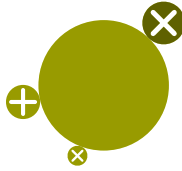
La muestra que finalmente se entrega al laboratorio se denomina **muestra de laboratorio** y adoptará la forma de la muestra final o de una porción representativa de esta última.

La muestra de laboratorio deberá conservarse de modo que se impida la alteración de la característica inspeccionada. Además, la muestra de laboratorio deberá mantenerse en un recipiente limpio e inerte que ofrezca una protección adecuada contra la contaminación externa y evite el deterioro de la muestra durante el tránsito. El recipiente debería luego precintarse de forma que se pueda detectar toda apertura no autorizada y enviarse al laboratorio lo antes posible, adoptando todas las precauciones necesarias para evitar derrames o el deterioro

#### Informes de muestreo

Toda operación de muestreo conlleva la redacción de un informe de muestreo en el que se indique, en particular, el motivo del muestreo, el origen de la muestra, el método de muestreo y la fecha y el lugar de este último, así como otro tipo de información que pueda resultar de ayuda para el analista, como la hora y las condiciones del transporte. Las muestras se identificarán de forma clara, en especial las destinadas al laboratorio.

En caso de cualquier desviación con respecto al procedimiento de muestreo recomendado (cuando haya habido que apartarse, por cualquier motivo, del método aconsejado), es necesario adjuntar al informe de muestreo otro informe detallado sobre el procedimiento modificado que, de hecho, se ha aplicado.



### Toma de muestras para análisis microbiológicos

Aunque esta guía no ha contemplado los contaminantes microbiológicos, si parece oportuno que en este apartado se haga alguna alusión a la toma de muestras para realizar el análisis microbiológico.

En primer lugar, es importante que la toma de muestras no esté dirigida únicamente a recoger una pequeña porción de materia prima o agua para efectuar el análisis correspondiente. El objetivo de la toma de muestras debe ser suministrar información sobre las características microbianas del pienso y del agua, y mediante criterios previamente convenidos, nos ayude a la hora de proceder a la aceptación o rechazo de los lotes de materias primas.

Además, los resultados analíticos nos deben servir para proporcionar información sobre si es necesario que los lotes sean sometidos a tratamientos específicos, almacenados en condiciones concretas o nos indiquen qué evaluaciones de riesgos sanitario o higiénico deben efectuarse.

Por otro lado, la toma de muestras determinará los detalles del procedimiento, por ejemplo definirá el tamaño de la muestras, la frecuencia de muestreo, el punto de recogida, la hora de toma de muestras, etc.

Es necesario que el material de toma de muestras sea estéril y desechable (guantes, botas, cucharas, frascos, etc.) con el fin de evitar cualquier contaminación que pueda interferir en el resultado analítico y que dicha toma de muestras se realice en correctas condiciones higiénicas. También, cabe destacar que tanto el almacenamiento de las muestras como su transporte se deben llevar a cabo bajo condiciones higiénicas, de temperatura, humedad, etc., adecuadas.

