



SUBSECRETARÍA DE EDUCACIÓN SUPERIOR.
DIRECCIÓN GENERAL DE EDUCACIÓN SUPERIOR TECNOLÓGICA.
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ.



SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ.

IQUISSA ASESORES QUÍMICOS.

**DETERMINACIÓN DE INCERTIDUMBRE AL VALORAR
MÉTODOS DE ANÁLISIS DE PROTEÍNAS, GRASAS Y
ACEITES EN ALIMENTOS.**

Nombre del alumno:

ROBLES ESCOBAR GEOVANNY JESÚS.

Nombre del asesor interno:

ING. HUMBERTO TORRES JÍMENEZ.

Nombre del asesor externo:

ING. LORENA DEL CARMEN MORALES BALCAZAR.

TUXTLA GUTIÉRREZ, CHIAPAS A 21 DE DICIEMBRE DE 2012.

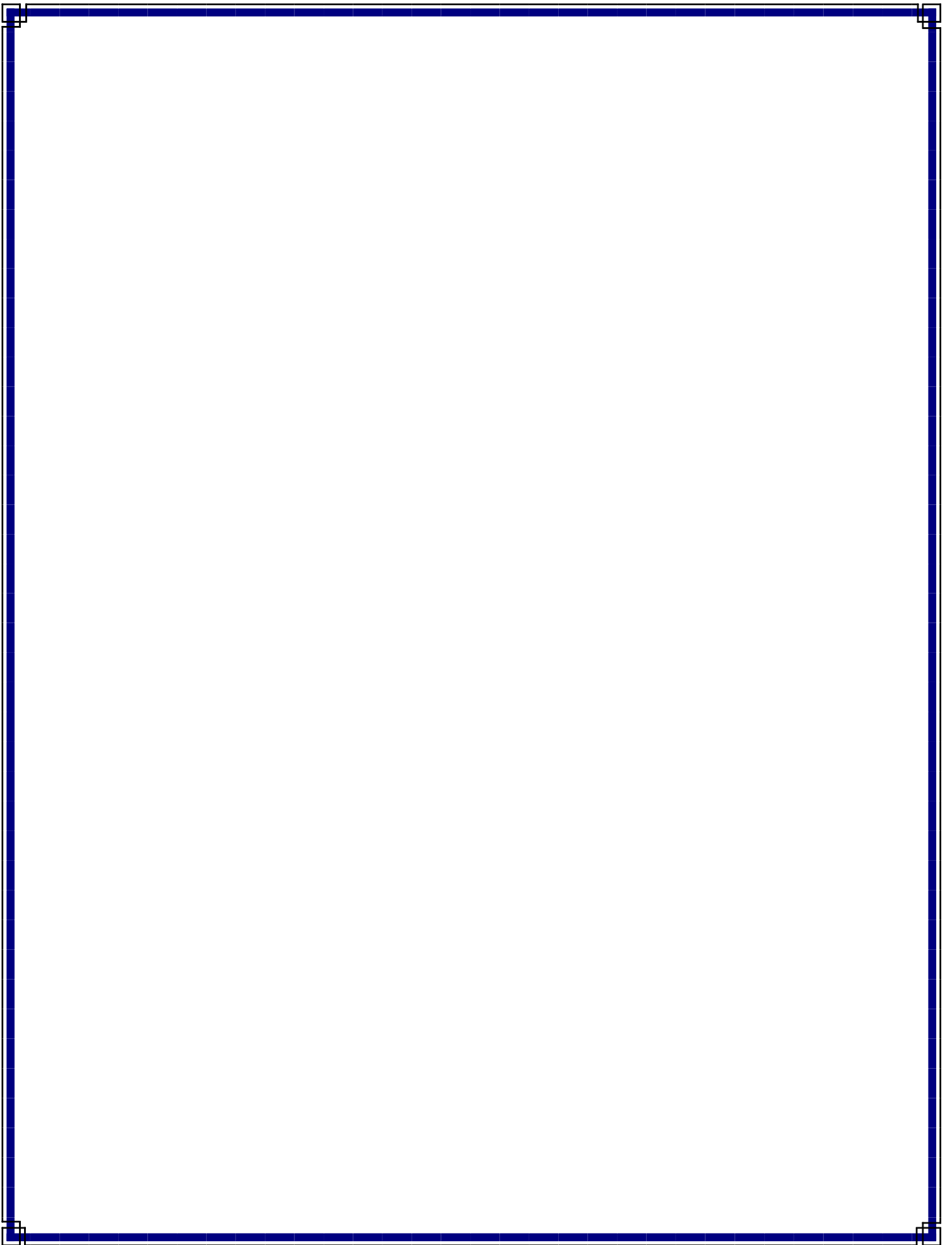
ÍNDICE GENERAL.

INTRODUCCIÓN.	1
JUSTIFICACIÓN.	4
OBJETIVO GENERAL.	5
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.	6
CARACTERIZACIÓN DE ÁREA DONDE SE TRABAJO.	6
HISTORIA.	8
EXPERIENCIA.	9
LOCALIZACIÓN.	9
LABORATORIO INDUSTRIAL.	11
MISIÓN.	12
VISIÓN.....	12
ORGANIGRAMA DE LA EMPRESA.	12
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	13
NECESIDAD DE UNA VALIDACIÓN.	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
CUÁNDO REALIZAR UNA VALIDACIÓN.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
CRONOGRAMA PRELIMINAR DE ACTIVIDADES.	17
DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS ACTIVIDADES.....	18
ALCANCES Y LIMITACIONES.	19
PROTEÍNAS.	19
GRASAS Y ACEITES.....	22
VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS, GRASAS Y ACEITES.	22

MARCO TEÓRICO.....	23
¿QUÉ ES LA VALIDACIÓN DE UN MÉTODO?	23
¿POR QUÉ ES NECESARIA LA VALIDACIÓN DE UN MÉTODO?	24
¿CÓMO DEBEN VALIDARSE LOS MÉTODOS?.....	26
DECIDIENDO QUE GRADO DE VALIDACIÓN SE REQUIERE.....	27
CLASIFICACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS.	29
1. MÉTODOS ESTÁNDAR O NORMALIZADOS.	29
2. MÉTODOS DESARROLLADOS POR EL LABORATORIO.	30
3. MÉTODOS NO NORMALIZADOS	30
PARÁMETROS DE RENDIMIENTO Y DE CARACTERIZACIÓN DEL MÉTODO.....	31
Robustez.....	32
Procedimiento para cálculo de robustez.....	33
Confirmación de identidad (selectividad/especificidad).....	33
Limite de detección (lid y ldm).	34
Límite de cuantificación (ldc) y límite de cuantificación práctico (lcp). ...	35
Linealidad.	36
Sensibilidad	37
Precisión	38
Exactitud	40
Interpretación de la parcialidad o sesgo.	41
Incertidumbre.....	42
GUÍA PARA LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS.	43
GUÍAS PARA EL CÁLCULO DE INCERTIDUMBRE DE MEDICIÓN DE LOS MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS, GRASAS Y ACEITES EN ALIMENTOS.....	44
Alcance de la guía técnica	45
Principio de medición en titulación volumétrica.	45
GUÍA TÉCNICA SOBRE TRAZABILIDAD E INCERTIDUMBRE EN LAS MEDICIONES ANALÍTICAS QUE EMPLEAN LA TÉCNICA DE GRAVIMETRÍA DE MASA.....	47
Alcance de la guía técnica	47
Principio de la técnica de gravimetría de masa.	48
PROCEDIMIENTOS Y DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES REALIZADAS.	49
1. DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	49
□ Intervalo Lineal y de Trabajo.	49
□ Limite de Cuantificación.....	49
□ Recuperación y Sesgo.....	50

<input type="checkbox"/> Repetibilidad.....	50
<input type="checkbox"/> Reproducibilidad.....	50
<input type="checkbox"/> Incertidumbre.....	51
2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	51
<input type="checkbox"/> Intervalo Lineal y de Trabajo:	51
<input type="checkbox"/> Recuperación y Sesgo.....	52
<input type="checkbox"/> Repetibilidad.....	54
Desviación Estándar.....	55
<input type="checkbox"/> Reproducibilidad.....	57
<input type="checkbox"/> Incertidumbre.....	60
CRITERIOS DE ACEPTACIÓN PARA LA VALIDACIÓN DE LOS METODOS DE DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS, GRASAS Y ACEITES.....	61
Criterios de aceptación para la validación del método de grasas y aceites (determinación de extracto etéreo (método soxhlet) en alimentos.	61
Criterios de aceptación para la validación del método de proteínas (determinación de proteínas (método kjeldahl) en alimentos.....	62
Materiales, equipos y reactivos utilizados en la validación de del método de grasas y aceites.....	63
Materiales, equipos y reactivos utilizados en la validación de del método de proteínas.....	70
RESULTADOS.....	76
<input type="checkbox"/> RESULTADOS DE LOS PARÁMETROS EVALUADOS PARA EL MÉTODO DE PROTEÍNAS.....	76
Intervalo lineal.....	77
Intervalo de trabajo.	78
Recuperación y Sesgo.....	80
Repetibilidad.....	81
Reproducibilidad.....	82
Incertidumbre.....	83
<input type="checkbox"/> RESULTADOS DE LOS PARÁMETROS EVALUADOS PARA EL MÉTODO DE GRASAS Y ACEITES.	86
Intervalo lineal.....	86
Intervalo de trabajo.	88
Recuperación y Sesgo.....	89
Repetibilidad.....	90
Reproducibilidad.....	91
Incertidumbre.....	92

FORMATO DE REPORTE DE CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RESULTADOS OBTENIDOS EN LA EVALUACION DE LOS PARAMETROS DE DESEMPEÑO DE LA VALIDACION DE LA NORMA: NMX-F-608-NORMEX-2002. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS (MÉTODO KJELDAHL) EN ALIMENTOS.....	95
FORMATO DE REPORTE DE CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RESULTADOS OBTENIDOS EN LA EVALUACION DE LOS PARAMETROS DE DESEMPEÑO DE LA VALIDACION DE LA NORMA: NMX-F-615-NORMEX-2004. DETERMINACIÓN DE EXTRACTO ETÉREO (MÉTODO SOXHLET) EN ALIMENTOS.....	96
CONCLUSIONES.....	97
RECOMENDACIONES.....	101
FUENTES DE INFORMACIÓN.	102
BIBLIOGRAFÍA.....	102
PÁGINAS ELECTRÓNICAS.....	105
ANEXOS.	106
ANEXO I.....	106
ANEXO II.....	107
ANEXO III.....	108
ANEXO IV.....	109
ANEXO V.....	110
ANEXO VI.....	110
ANEXO VII.....	111
ANEXO VIII.....	112
ANEXO IX.....	113
ANEXO X.....	113
FOTOGRAFÍAS.....	116



INTRODUCCIÓN.

La empresa Iquissa Asesores Químicos lleva un largo recorrido en la determinación de análisis fisicoquímicos y microbiológicos en el estado de Chiapas y está comprometida con la calidad de todos sus procesos cumpliendo con las especificaciones de la norma NMX-EC-17025-IMNC-2005. Al implementar, observar y mejorar continuamente la eficacia de su sistema de gestión mediante el cual se satisfagan los requisitos del cliente así como los legales y reglamentarios, así como también demostrar competencia generando resultados técnicamente válidos.

La incertidumbre de medida es un parámetro, asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que pueden atribuirse razonablemente al mensurando. El concepto de incertidumbre, como un atributo cuantificable, es relativamente nuevo en la historia de las mediciones en México, aunque los términos error y análisis de error han sido bastante usados como parte práctica de la ciencia de las mediciones o metrología. Cuando se han evaluado todas las componentes, conocidas y supuestas de un error, y se han aplicado las correcciones adecuadas, todavía queda como remanente una incertidumbre sobre la corrección del resultado establecido, esto es, la duda de cuán bien representa el resultado de la medición al valor de la magnitud que se está midiendo. La incertidumbre del resultado de una medida refleja la falta de conocimiento exacto del valor del mensurando. Esa

incertidumbre proviene de los efectos aleatorios y de la corrección imperfecta del resultado de la medida debida a efectos sistemáticos.

El objetivo de un sistema de gestión de las mediciones es gestionar el riesgo de que los equipos y procesos de medición pudieran producir resultados incorrectos que afecten a la calidad del producto de una prueba de ensayo. De acuerdo a los lineamientos en nuestro país sobre la evaluación de la competencia técnica de los laboratorios de calibración y ensayo, se solicita la estimación de la incertidumbre de las mediciones, las cuales deben aplicar criterios técnicos uniformes y consistentes, propuestos por la Entidad Mexicana de Acreditación A. C. (EMA), la cual entró en vigor en Julio del 2008, esta Guía técnica de Trazabilidad e Incertidumbre de las Mediciones sirven de apoyo a la aplicación de la norma NMX-EC-17025-INMC-2006.

Cuando se crea un modelo para evaluar la incertidumbre y se analizan las diferentes variables que influyen en el proceso de medición, cualquier evento, fenómeno o propiedad que pueda restar nitidez al valor del mensurando, participa como factor o componente de la incertidumbre en el valor de la medición. Cabe mencionar que no siempre serán tomadas en cuenta todas ellas, pues habrá algunas que sus valores no sean significativos y serán descartadas.

Entre las variables que afectan la incertidumbre se encuentran:

- a) La medición; de la cual se obtiene información del estado de una propiedad empírica (proceso de medición).
- b) La estabilidad de los instrumentos de medición donde se considera el ruido propio o ambiental y la combinación de diversos errores aleatorios.

La evaluación de la incertidumbre debe efectuarse, si y solo si, se cumple con los requisitos que se enuncian a continuación:

Las personas que realizan el análisis de incertidumbre deben tener un buen conocimiento del proceso de medición y de sus limitaciones, así como de la naturaleza de las magnitudes que deben medirse. Además deben conocer el propósito de la medición y uso que se le dé.

Hasta la fecha, los conceptos básicos que se utilizan para cuantificar son de naturaleza estadística, por lo tanto, el personal de evaluación debe tener un conocimiento de esta disciplina.

La instalación, los reactivos, el tipo de equipos, los aditamentos y las condiciones ambientales así como sus posibles variaciones deben estar definidos.

Los tipos de instrumentos y de los equipos deben estar especificados. El comportamiento de los mismos, a largo plazo, así como la acción de las variables de influencia, deben ser conocidos o por lo menos enmarcados dentro de ciertos valores y finalmente, el procesamiento de la información recolectada debe estar definido.

JUSTIFICACIÓN.

Al validar los métodos de Determinación de Proteínas en Alimentos (método Kjeldahl). NMX-F-608-NORMEX-2002 y Determinación de Extracto Etéreo (método Soxhlet) en Alimentos. NMX-F-615-NORMEX-2004., se busca una mejor orientación y capacitación del analista respecto a las técnicas, normas y adelantos tecnológicos y todas las variables que pudieran influenciar en la metodología de análisis de las respectivas determinaciones, así como también introducir los conocimientos de la composición de algunos alimentos, sus características físicas, químicas, nutricionales, microbiológicas, organolépticas, el modo de recepción, rotulación, almacenamiento y manejo de muestras y por último el manejo de resultados que deberían esperarse en cada prueba y verificar que el método cumpla con todos los parámetros de desempeño para una validación parcial con una matriz de referencia que permita demostrar que los resultados son los correctos.

Igualmente realizar una selección de todas las variables más relevantes que pudieran influenciar en la incertidumbre de los resultados de los análisis y que puedan ser identificadas en el laboratorio de análisis industriales IQUISSA ASESORES QUÍMICOS, de acuerdo con la disponibilidad de recursos, materiales, equipos y reactivos, la experimentación y el ajuste de las especificaciones según las condiciones que marcan las respectivas normas.

Con la validación parcial de los métodos también se pretende reducir costos en los reactivos materiales y equipos, optimizando el método de análisis

permitiendo comparar diferentes tipos de reactivos que pudieran tener la misma propiedad analizando la incertidumbre de los resultados, así como también materiales improvisados en el laboratorio, y ajustar las variables para un mejor resultado.

Se pretende demostrar también que los resultados obtenidos por los análisis son los correctos por medio de la validación parcial e ir adquiriendo mayormente la confiabilidad de los clientes y que ellos puedan tomar decisiones beneficiados de los resultados proporcionados.

Es conveniente realizar la validación ya que el laboratorio necesita cumplir con las políticas de calidad y así mismo certificarse ante una organización encargada como los son: la Entidad Mexicana de Acreditación A.C. (EMA), Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura, El Centro Nacional de Metrología (CENAM).

OBJETIVO GENERAL.

Realizar una validación parcial de los métodos analíticos de Determinación de Proteínas en Alimentos (método Kjeldahl). NMX-F-608-NORMEX-2002 y Determinación de Extracto Etéreo (método Soxhlet) en Alimentos. NMX-F-615-NORMEX-2004., y realizar el cálculo de incertidumbre en las mediciones correspondientes, como parte del proceso de demostración de la validez de

resultados en servicios de análisis de las Proteínas, Grasas y Aceites a la industria.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Conocer los fundamentos teóricos para la realización del trabajo de validación parcial.
- Recopilar toda la bibliografía de manuales existentes, bibliografía asociada, normas técnicas, legislación sobre alimentos en México y Chiapas, y otros documentos e igualmente elegir una matriz de referencia que más se asemeje a los resultados de los alimentos que mayor demanda tienen en el laboratorio y de mayor impacto en la industria alimentaria.
- Llevar a la práctica mediante pruebas de laboratorio el desarrollo de los métodos analíticos, de la metodología de validación y del cálculo de la incertidumbre.
- Validar los métodos y estimar la incertidumbre en las mediciones.
- Diseñar e imprimir los documentos finales de la validación.

CARACTERIZACIÓN DE ÁREA DONDE SE TRABAJO.

IQUISSA Asesores Químicos es una empresa 100% Mexicana y orgullosamente Chiapaneca que se dedica a realizar análisis fisicoquímicos y microbiológicos de agua y alimentos además de brindar asesoría técnica a las

empresas como apoyo para que logren el aseguramiento de la calidad de sus productos y procesos.

Su mayor compromiso es el de brindar al cliente la asesoría adecuada y satisfacción total en todos nuestros servicios para contribuir en el aseguramiento de la calidad de sus productos y el de proporcionar las herramientas necesarias para que su empresa logre sus objetivos.

IQUISSA Asesores Químicos se compromete a:

- Brindar la asesoría necesaria para la elaboración de productos inocuos que cumplan los estándares de calidad en base a las normas mexicanas.
- Llevar el control de calidad (análisis Físicoquímicos y Microbiológicos) de sus productos/empresa e informarle cuando existan variaciones en los puntos críticos de su proceso que puedan alterar la calidad del producto terminado.
- Realizar la investigación y desarrollo de nuevas presentaciones de sus productos
- Diseñar los procesos adecuados para aumentar la productividad, disminuyendo los costos de operación
- Implementar los controles correspondientes a la producción y gestión de la calidad de su empresa.

Historia.

IQUISSA Asesores Químicos es una empresa creada el 6 de enero de 1980 como laboratorio auxiliar a la industria alimentaria para efectuar análisis físicos, químicos y microbiológicos a alimentos y bebidas, turnando solicitud de licencia sanitaria correspondiente y de reconocimiento del laboratorio a la Secretaría de Salubridad y Asistencia (actual Secretaría de Salud) a través de los servicios coordinados de salud pública en el estado de Chiapas.

Desde 1980, IQUISSA Asesores Químicos fue pionero y es el actual líder en ofrecer servicios de calidad para la industria y Pymes en el estado de Chiapas. Con el continuo crecimiento y evolución de la industria chiapaneca, se han creado nuevas divisiones enfocadas a brindar servicios de:

- Consultoría para crear y mejorar productos y procesos (diseño, evaluación y formulación).
- Diseño, venta e instalación de plantas de tratamiento de agua.
- Venta, instalación y mantenimiento de equipos.
- Venta de productos químicos e insumos para proceso y control de calidad.
- Cursos y capacitaciones para: Manejo Higiénico de Alimentos, HACCP.
- Diseño, construcción, mantenimiento y remodelación de albercas.
Venta de equipo.

Experiencia.

Cuenta con más de 30 años de experiencia y cumple con los reglamentos y normas vigentes para realizar las actividades correspondientes. Actualmente está en proceso de certificación ante COFEPRIS para poder ser el primer laboratorio privado del Estado y del Sureste en contar con la certificación como tercero autorizado.

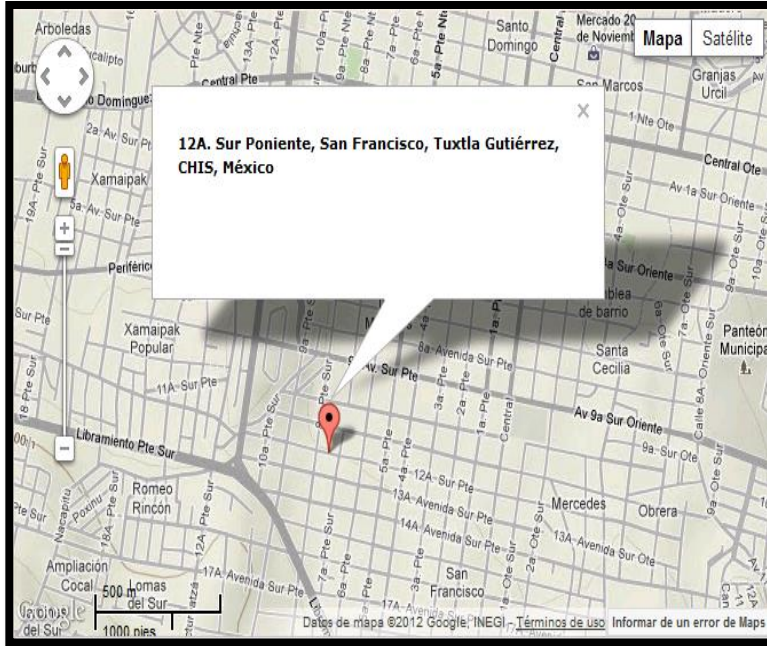
Valores:

- Honestidad.
- Integridad.
- Trabajo en equipo.
- Confianza en nuestra capacidad.
- Constancia.
- Espíritu de superación.

Localización.

El laboratorio de análisis industriales IQUISSA Asesores Químicos se encuentra ubicado actualmente en Tuxtla Gutiérrez Chiapas en la avenida 12 sur poniente entre 7ª y 8ª poniente con el número 826-A.

	<u>Coordenadas</u> <u>Geográficas.</u>
--	---



Norte:
 16°45'11''
 Oeste:
 93°06'56''
 Altitud: 522
 msnm

Fotografía.

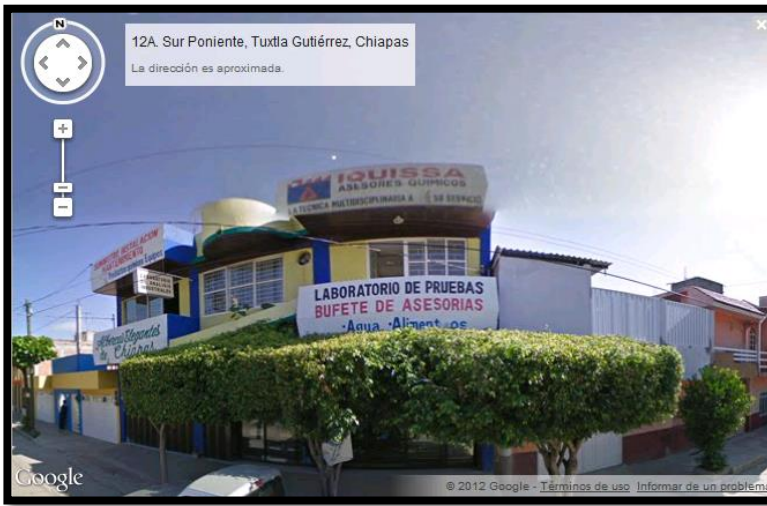


Figura 1.
 Ubicación geográfica en la ciudad de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.

Laboratorio Industrial.

Creado con el objetivo de brindar apoyo y asesorías a las empresas para la elaboración de productos inocuos. El laboratorio se especializa en realizar análisis fisicoquímicos y microbiológicos de agua y alimentos, también se realizan pruebas de degradación de grasas y aceites, pruebas de tratabilidad, diseño de proceso para el tratamiento de aguas residuales, etc.

Es necesario llevar un control de calidad interno del proceso para que los clientes tengan la garantía de que los productos elaborados en su empresa cumplen las normas oficiales mexicanas y son de buena calidad. Con estas medidas se reducen: riesgos de contaminación, pérdidas de materia prima y producto, enfermedades transmitidas por los alimentos, se evitan sanciones administrativas y/o hasta la clausura de la empresa.

Por otra parte, las ventajas de contar con un sistema de calidad son el aumento en la confianza del cliente, aumento del prestigio de la marca o empresa, posibilidad de exportar, etc.

IQUISSA Asesores Químicos recomienda que para poder obtener productos de calidad es necesario contar con materias primas de calidad y un buen sistema de análisis. En IQUISSA Asesores Químicos se ofrece todas las herramientas necesarias para que la empresa pueda cumplir los objetivos de calidad planteados.

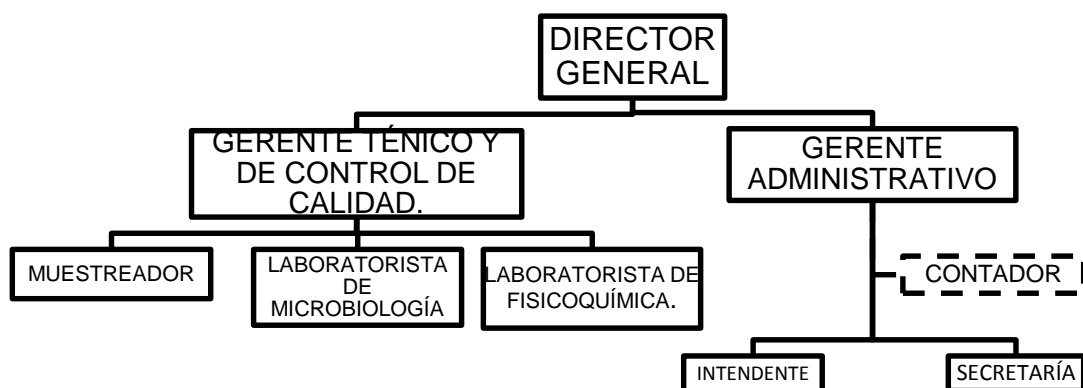
Misión.

Proporcionar servicios de análisis físicos, químicos y microbiológicos de agua y alimentos a empresas, dependencias reguladoras y público en general para crear y mejorar productos y procesos, así como generar confianza en nuestros clientes, cumpliendo con las exigencias normativas y logrando resultados técnicamente válidos con base en un sistema de gestión.

Visión.

Ser un laboratorio de pruebas físicas, químicas y microbiológicas de agua y alimentos, líder en el sureste del país y que además ofrezca un servicio integral para el desarrollo industrial alimentario.

Organigrama de la Empresa.



Áreas de IQUISSA

1. Área de muestra.
2. Área de recepción.
3. Área administrativa.
4. Área de almacenamiento.
5. Área de cursos y asesorías.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Para la empresa IQUISSA Asesores Químicos, los métodos de análisis para la determinación de Proteínas, Grasas y Aceites en alimentos proporcionan información muy relevante y válida acerca de la composición de una materia prima o algún producto. Por lo que los clientes del laboratorio pueden usar los datos obtenidos de los análisis para señalarlos en el marbete de información nutrimental, o también para que pueda hacer cambios al proceso de elaboración de los productos para tener una mejor calidad de los mismos. proporcionándoles a sus consumidores un marbete de información nutrimental, o también para que el cliente pueda hacer cambios al proceso de elaboración de los productos para tener una mejor calidad de los mismo.

Un laboratorio de pruebas debe evaluar los parámetros de desempeño de cada método que emplea, para corroborar que cumplen con los criterios exigidos en la validación parcial del mismo.

Existen varias formas de llevar a cabo una validación, de acuerdo a sus objetivos y alcances, los cuales dependen del analista, del laboratorio y del uso que se haga del método; además el analista debe conocer los resultados esperados y definir el nivel de confianza. El laboratorio que desarrolla o aplica el método es el responsable del proceso de validación.

La validación puede definirse como: i) El establecimiento de una base de datos experimental que certifica el rendimiento de un método analítico teniendo en cuenta su objetivo de diseño. ii) La confirmación por medio de una evaluación, con la cual se suministra la evidencia necesaria para ratificar que los objetivos de diseño del método bajo especificaciones particulares se cumplen en su totalidad.

Dos palabras claves en estas dos definiciones reúnen los dos objetivos primordiales de una validación, establecer un método y confirmar su desempeño por medio de tratamientos estadísticos y apreciaciones cualitativas por parte del laboratorio en general. De ahí radica la importancia de una adecuada validación, ya que establece bajo qué circunstancias debe realizarse un análisis asegurando que los datos obtenidos cumplen en la

totalidad la calidad deseada, brindando seguridad y respaldo. Además, proporciona criterios para el rechazo o reanálisis de lecturas anómalas.

La validación de un método, generalmente, está íntimamente relacionada con el desarrollo del método. En efecto, a menudo es difícil saber de forma exacta cuándo termina el desarrollo del método y cuando comienza la validación.

Por otro lado, acompañando el proceso de validación, está la transferencia de métodos. Este proceso se encarga de la introducción de un método validado a otro laboratorio de tal forma que pueda ser usado con la misma capacidad para el cual fue diseñado inicialmente. Generalmente, el proceso de transferencia de métodos está a cargo del laboratorio que usará el método validado. Sin embargo es de vital importancia la participación de ambas partes, tanto el que seleccionó/diseñó/validó el método como los laboratorios que harán un uso rutinario de estos. Una transferencia de métodos depende de una cooperación y comunicación cercana entre éstos laboratorios.

Eurachem, una asociación europea de laboratorios focalizada en el mejoramiento y estandarización de los métodos de análisis químico, propone los siguientes principios para promover una buena práctica en las mediciones de análisis químico:

1. Las mediciones analíticas deben hacerse para satisfacer un objetivo definido.

2. Las mediciones analíticas deben realizarse usando métodos y equipos evaluados, y así asegurar que estos son adecuados para su propósito.

3. Los analistas encargados de los análisis deben estar calificados y ser competentes con las tareas asignadas, además deben demostrar que ellos pueden realizar el análisis de forma adecuada.

4. Debe de existir un aseguramiento independiente y periódico del desempeño de las técnicas del laboratorio.

5. Las mediciones analíticas realizadas en un lugar en particular deben ser consistentes con aquellas realizadas en cualquier otro laboratorio.

6. Las organizaciones encargadas de realizar estos análisis deben tener bien definido un procedimiento de control y aseguramiento de la calidad.

En el segundo principio se pueden encontrar de forma implícita la validación y por tanto hace parte de las buenas prácticas fundamentales para realizar buenas medidas en análisis fisicoquímicos.

La validación se encuentra dentro de un proceso de mejoramiento de la calidad de los laboratorios, y hace parte de un ciclo que es renovado con cada modificación que se realiza a los métodos.

Estos factores no son excluyentes y por lo tanto pueden efectuarse varios a la vez. Se recomienda, entonces, cuando sea necesaria una re-validación,

realizar la mayor cantidad de cambios previstos a futuro, y de esta forma no será necesario ejecutar validaciones de manera seguida; es decir, si por algún motivo se realiza una corrección en el procedimiento y es necesaria la validación, se debe realizar una búsqueda bibliográfica de la técnicas actuales para el método en cuestión y evaluar si en ese momento existen mejores técnicas para dicho análisis y si es apropiada su aplicación.

Por lo anterior, en este trabajo se aplicara la metodología aceptada para validar los métodos: Determinación de extracto etéreo (método Soxhlet) en Alimentos - NMX-F-615-NORMEX-2004 y Determinación de Proteínas (método Kjeldahl) en Alimentos - NMX-F-608-NORMEX-2002.

CRONOGRAMA PRELIMINAR DE ACTIVIDADES.

Actividad	Semana															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16

Investigación y análisis de los metodos bibliográficos.																				
Pruebas de laboratorio y metodología de validación de los metodos analíticos y cálculo de incertidumbre en las mediciones.																				
Elaboración del informe, discusión de los resultados y conclusiones.																				

Descripción detallada de las actividades:

Actividad 1.

- Analizar las normas de alimentos para la determinación de proteínas, grasas y aceites.
- Analizar la metodología para la validación de los métodos de las normas, y para la determinación de la incertidumbre en las mediciones correspondientes, utilizando la metodología aprobada por el CENAM y COFEPRIS.

Actividad 2.

- Hacer pruebas de laboratorio hasta conocer los métodos analíticos y obtener resultados confiables, así como para aplicar experimentalmente la metodología para la validación de métodos analíticos y en particular de alimentos.
- Estas pruebas generan resultados experimentales las cuales se emplearan para realizar los cálculos de parámetros de validación, registrándose el procedimiento, los resultados analíticos y de los cálculos originando un registro valido del procedimiento de validación.

Actividad 3.

- Hacer el informe técnico conforme a la guía de presentación de trabajos de residencia.

ALCANCES Y LIMITACIONES.

Proteínas.

Nitrógeno total

El método de análisis, en el que se miden las proteínas como el nitrógeno total multiplicado por un factor específico, sigue siendo el predominante en los estudios sobre la composición de alimentos. Los valores más citados para las proteínas en las bases de datos de composición de alimentos se derivan en realidad de los valores del nitrógeno total o el nitrógeno orgánico total. En la mayoría de los casos, el nitrógeno total se mide utilizando alguna versión del método de Kjeldahl (1883), el cual mide el nitrógeno orgánico total. En este método se digiere la materia orgánica con ácido sulfúrico concentrado caliente. Para elevar el punto de ebullición del ácido se le añade una «mezcla

catalizadora», que normalmente contiene un verdadero agente catalítico (mercurio, cobre o selenio) junto con sulfato de potasio. Todo el nitrógeno orgánico se convierte en amoníaco, que se suele medir mediante titulación o, en ocasiones más raras, mediante colorimetría. En el método original se utilizaba una porción analítica relativamente grande (1 g-2 g), pero esto exige grandes cantidades de ácido. Es mucho más habitual el uso de métodos microKjeldahl, puesto que producen una cantidad reducida de humos ácidos y también necesitan menos ácido y mezcla catalizadora. Las consideraciones ambientales ejercen una presión considerable para que se garantice la eliminación inocua del agente catalizador, y especialmente para que se reduzca al mínimo la utilización de ácido.

Los micrométodos pueden automatizarse en varios niveles (Egan, Kirk y Sawyer, 1987; Chang, 1998). La automatización de las fases de destilación y titulación funciona bien, pero en el caso de la digestión ha resultado bastante difícil.

Desde la introducción del método de análisis de las proteínas, los valores de las «proteínas brutas» se han calculado multiplicando el nitrógeno total (N) por un determinado factor. Este factor era al principio 6,25, tomando como base la hipótesis de que las proteínas contenían un 16 por ciento de N. Desde hace bastante tiempo se sabe que las proteínas de origen vegetal (y la gelatina) contienen más N, por lo que se requiere un factor más bajo. Jones, Munsey y Walker (1942) midieron el contenido de nitrógeno de una amplia gama de proteínas aisladas y propusieron una serie de factores específicos para

distintas categorías de alimentos. Estos factores, que se enumeran en el Cuadro 7.3, se han adoptado de manera generalizada y se utilizaron en el examen de las necesidades de proteínas de la FAO/OMS (1973). Varios autores han criticado el uso de estos factores tradicionales para los distintos alimentos (por ejemplo, Tkachuk, 1969). En Heidelbaugh *et al.* (1975) se evaluaron tres métodos diferentes de cálculo (aplicación del factor de 6,25, aplicación de factores tradicionales y suma de los datos de los aminoácidos) y se encontraron variaciones de hasta un 40 por ciento. Sosulski e Imafidon (1990) obtuvieron un factor medio de 5,68 basándose en el estudio de los datos de los aminoácidos y recomendaron el uso de un factor de 5,70 para alimentos mixtos.

Cuadro 7.3 Factores para la conversión de los valores de nitrógeno en proteínas (por g de N)*			
Producto alimenticio	Factor	Producto alimenticio	Factor
Productos animales		Productos vegetales	
Carne y pescado	6,25	Trigo	
Gelatina	5,55	entero	5,83
Leche y productos lácteos	6,38	salvado	6,31
Caseína	6,40	embriones	5,80
Leche humana	6,37	endosperma	5,70
Huevos		Arroz y harina de arroz	5,95
enteros	6,25	Centeno y harina de centeno	5,83
albúmina	6,32	Cebada y harina de cebada	5,83
vitelina	6,12	Avena	5,83
		Mijo	6,31
		Maíz	6,25
		Frijoles	6,25
		Soja	5,71
		Nueces	
		almendras	5,18
		nueces del Brasil	5,46
		maníes	5,46
		otras	5,30

* (Cuando no se indica ningún factor específico, se debe utilizar el de 6,25 hasta que se haya determinado uno más apropiado).

Fuente: FAO/OMS, 1973.

Grasas y Aceites.

Los solventes, reactivos, material de cristalería y otros artículos utilizados en los procedimientos de preparación de la muestra pueden contener impurezas (como grasas residuales). Por lo que se requiere confirmar que estos materiales estén libres de interferencias, bajo las mismas condiciones de análisis, mediante la corrida de un blanco, utilizando reactivos puros. La limpieza rigurosa de los materiales por utilizar es necesaria y, en ocasiones, dependiendo del grado de pureza de solvente, es conveniente purificarlo por destilación.

Los plásticos en particular deben ser evitados porque los ftalatos que contienen son comúnmente usados como plastificantes y son fácilmente extraídos de estos materiales.

Validación de los métodos de determinación de Proteínas, Grasas y Aceites.

Este estudio se circunscribe a la empresa de carácter privado IQUISSA Asesores Químicos, localizada en la ciudad de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. Por lo tanto las conclusiones, resultados y recomendaciones que surjan de este estudio serán validos para esta organización, no se pretende, a partir de los resultados generalizar a otras organizaciones.

Por las limitaciones de tiempo y de costos, se utilizara un muestreo a partir de una matriz de una leche comercial leche NAN 2 con protect plus que se

asemeja a las muestras que mayormente llegan al laboratorio de Análisis Industriales IQUISSA Asesores Químicos, así como también a la leche descremada en polvo proporcionada por el Centro Nacional de Metrología (CENAM) para la validación de métodos analíticos.

Los resultados de esta investigación servirán de elementos de juicio para evaluar los parámetros de desempeño y para el cálculo de la Incertidumbre en la validación parcial de los metodos de análisis.

MARCO TEÓRICO.

1. ¿Qué es la validación de un método?

La validación de un método es el proceso de definir una necesidad analítica y confirmar que el método en cuestión tiene capacidades de desempeño consistentes con las que requiere la aplicación. Está implícita la necesidad de evaluar las capacidades de desempeño del método. El criterio de la “conveniencia” del método es importante; en el pasado la validación del método tendía a concentrarse sobre el proceso de evaluación de los parámetros de desempeño.

En el proceso de validación del método está implícito que los estudios para determinar los parámetros de desempeño se realizan usando equipos dentro de especificaciones, que están trabajando correctamente y que están calibrados adecuadamente. Asimismo, el operador que realiza los estudios debe ser técnicamente competente en el campo de trabajo bajo estudio y debe

poseer suficiente conocimiento sobre el trabajo a realizar con el fin de que sea capaz de tomar decisiones apropiadas a partir de las observaciones hechas mientras avanza el estudio.

Generalmente se considera que la validación del método está ligada estrechamente con el desarrollo del método. De hecho, no es posible determinar exactamente donde termina el desarrollo del método y donde empieza la validación. Por lo general, muchos de los parámetros de desempeño del método que están asociados a su validación son evaluados, por lo menos aproximadamente, como parte del desarrollo del método.

2. ¿Por qué es necesaria la validación de un método?

El deber profesional del químico analítico.

Si el resultado de una prueba no es confiable entonces tiene poco valor y la prueba no debió haberse realizado así. Si un “cliente” encarga un trabajo analítico a un laboratorio, se supone que el laboratorio tiene un nivel de conocimiento experto que el cliente no tiene por sí mismo. El cliente espera poder confiar en los resultados reportados y por lo general sólo los cuestiona cuando surge una controversia. De este modo, el laboratorio y su personal tienen una clara responsabilidad de corresponder a la confianza del cliente proporcionando la respuesta correcta a la parte analítica del problema, en otras palabras, proporcionando resultados que han demostrado ser “adecuados a su propósito”. Esto lleva implícito que las pruebas realizadas son apropiadas para la parte analítica del problema que el cliente desea resolver y

que el informe final presenta los datos analíticos de tal manera que el cliente pueda entenderlos fácilmente y sacar conclusiones apropiadas. La validación del método permite a los químicos demostrar que el método es “adecuado para su propósito”.

Para que un resultado analítico concuerde con el propósito requerido, debe ser lo suficientemente confiable para que cualquier decisión basada en éste pueda tomarse con confianza. Así, el desempeño del método debe validarse y debe estimarse la incertidumbre del resultado a un nivel de confianza dado. La incertidumbre deberá ser evaluada y establecida de una forma que sea ampliamente reconocida, consistente de forma interna y fácil de interpretar. La mayor parte de la información requerida para evaluar la incertidumbre se puede obtener durante la validación del método.

A pesar de lo bueno que es un método y de lo bien que se ha usado, un problema analítico puede resolverse mediante el análisis de muestras sólo si éstas son apropiadas al problema. La toma adecuada de las muestras es un trabajo de gran habilidad que requiere entender el problema con su química asociada. Un laboratorio, como parte de la atención al cliente, deberá, siempre que sea posible, aconsejarlo sobre la forma de tomar las muestras. Obviamente, habrá ocasiones en que el laboratorio no podrá ni influir ni tomar él mismo las muestras. En estas ocasiones los resultados de análisis tendrán que ser reportados en base a como se recibieron las muestras y el informe debe indicar esta distinción claramente.

3. ¿Cómo deben validarse los métodos?

(a) ¿Quién lleva a cabo la validación del método?

El laboratorio que utiliza un método es responsable de asegurar que el método esté validado adecuadamente y, si es necesario, de llevar a cabo trabajo adicional para complementar los datos ya existentes. Como ejemplo, cuando un método ha sido validado por una organización de aprobación de normas, como la Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura (CCAYAC), por lo general, el usuario necesitará únicamente establecer los datos de desempeño del método para su propio uso.

Al trabajar aisladamente se reduce inevitablemente la cantidad de datos de validación que pueden obtenerse para un método. Principalmente, se restringe el tipo de información sobre la comparabilidad entre laboratorios. Esta información no siempre se requiere, así que esto puede no ser un problema. De ser necesario, es posible obtener una idea de la comparabilidad de los resultados de las mediciones de cualquier método dado con los obtenidos en otro lugar mediante la medición de materiales de referencia certificados o comparando el método contra uno para el cual la validación se ha realizado.

La aceptación o no, de los métodos validados por un solo laboratorio con propósitos de normalización dependerá de los lineamientos que cubren el área de medición concerniente. Normalmente sería posible obtener una declaración precisa de la política del organismo de normalización adecuado.

4. Decidiendo que grado de validación se requiere.

El laboratorio tiene que decidir cuáles de los parámetros de desempeño del método necesitan caracterizarse con el fin de validar el método. La caracterización del desempeño del método es un proceso costoso pero puede restringirse inevitablemente por consideraciones de tiempo y costo. Al empezar con una especificación analítica considerada cuidadosamente, se tiene una buena base sobre la cual planear el proceso de validación, pero se sabe que en la práctica esto no siempre es posible. El laboratorio deberá hacer lo mejor que pueda con las restricciones impuestas, tomando en cuenta las necesidades del cliente, la experiencia existente sobre el método y la necesidad de compatibilidad con otros métodos similares que ya estén en uso dentro del laboratorio o en otros laboratorios. Algunos de los parámetros pudieron haber sido determinados aproximadamente durante la etapa de desarrollo del método. A menudo una serie específica de experimentos proporcionará información sobre varios parámetros, así que, con una planeación cuidadosa puede minimizarse el esfuerzo requerido para obtener la información necesaria.

Los requisitos de validación pueden ser especificados en guías dentro de un sector particular de mediciones concernientes al método y es recomendable que, si se tienen disponibles, sean seguidas. Por ejemplo, la validación de un método para análisis de alimentos debe ser consistente con la estrategia de validación usada por el CCAYAC. Esto asegurará que la terminología

particular de validación junto con la estadística empleada se interpretarán de una manera consistente dentro del sector concerniente. El reconocimiento oficial de un método puede requerir la caracterización empleando un estudio de colaboración. Los requisitos de normalización pueden requerir que un método en particular sea seguido al pie de la letra aun cuando el laboratorio lo considere inexacto o inapropiado. Una validación adicional será necesaria para confirmar el desempeño satisfactorio del analista.

Frente a un problema analítico particular, idealmente, el laboratorio debería primeramente acordar con el cliente una necesidad analítica la cual define los requisitos de desempeño que un método debe tener para ser adecuado para resolver el problema analítico. En respuesta a esta necesidad, el laboratorio puede evaluar si los métodos existentes son adecuados o si es necesario desarrollar un nuevo método. Este proceso iterativo de desarrollo y evaluación continúa hasta que el método se estime capaz de cumplir con las exigencias; en este caso, sería innecesario un desarrollo adicional y el trabajo analítico puede proceder.

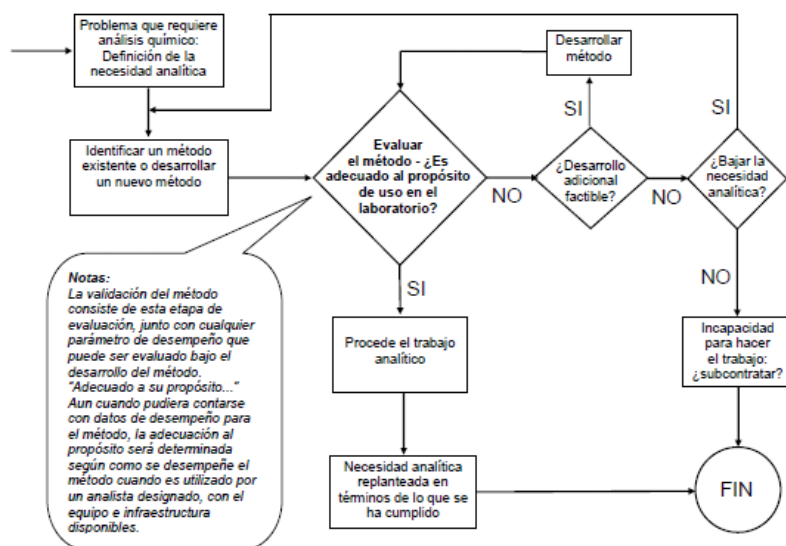


Figura 1: Elección, desarrollo y evaluación de métodos.

5. Clasificación de métodos analíticos.

Según la normalización y estado de desarrollo del método.

5.1.- Métodos estándar o normalizados.

Los métodos estándar son aquellos publicados por organizaciones internacionales, regionales o nacionales; por organizaciones técnicas respetables; referencias legales; métodos publicados por la FDA (Food and Drug Administration), y que se ejecutan tal como se describen en la norma.

Estos métodos incluyen aquellos publicados por:

- United States Pharmacopeia (USP)
- National Formulary (NF)
- Homeopathic Pharmacopeia of the United States
- Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC)
- American Public Health Association (APHA)
- Pesticide Analytical Manual (PAM)
- Food Additives Analytical Manual
- Food Chemicals Codex
- FDA Bacteriological Analytical Manual (BAM)

- FDA Macroanalytical Procedures Manual (MPM)
- ORA Laboratory Information Bulletins (LIBs)

Se prefiere usar los métodos estándar, sin embargo es necesaria la verificación de la capacidad analítica dentro de los laboratorios en los cuales es usado. Un método estándar puede estar complementado con detalles adicionales sobre como los laboratorios deben proceder para asegurar una aplicación consistente.

5.2.- Métodos desarrollados por el laboratorio.

En ocasiones cada laboratorio elabora sus propios métodos, esto puede deberse a que el análisis es muy específico y se evalúa, por ejemplo, cierta matriz especial que solo interesa al laboratorio; o que debido a restricciones de tipo comercial no se puede disponer de métodos análogos usados en otras empresas o compañías. El laboratorio, por consiguiente, debe evaluar la capacidad de los analistas, equipos y otros recursos relacionados con el método en cuestión. Los métodos deben estar debidamente validados, documentados y autorizados para su uso.

Para la evaluación de la capacidad del método se sugiere realizar comparaciones con otros métodos normalizados, preferiblemente que usen otro principio activo. En lo posible se debe usar materiales de referencia, estándares o muestras fortificadas.

5.3.- Métodos no normalizados

Los métodos no normalizados son aquellos que no han sido publicados por fuentes autorizadas y/o validadas. Es muy probable que los métodos sin

normalización no dispongan de datos de validación o estudios colaborativos fiables o suficientes, por esto se recomienda realizar una validación cuanto sea posible. Si el método sufre cambios se requerirá una re-validación del método.

Según categoría de método.

Los métodos también pueden clasificarse según el ámbito en el cual es usado, estos pueden agruparse en tres categorías generales:

- Categoría I: para la cuantificación de materia prima o principio activo en producto terminado.
- Categoría II: para determinar impurezas en materia prima o compuestos de degradación en producto terminado; o para análisis de residuos en material biológico o alimentos.
- Categoría III: para determinar las características de funcionamiento como disolución o liberación de droga en el organismo.

6. Parámetros de rendimiento y de caracterización del método.

A continuación se describirán los parámetros que definen el rendimiento de un método, o en otras palabras, que ayudan a la caracterización de éste. En el presente proyecto se tendrán en cuenta los siguientes:

- Robustez.
- Selectividad/especificidad.
- Linealidad.
- Exactitud.
- Intervalo de trabajo (rango).
- Límite de detección.
- Límite de cuantificación.

- Estabilidad (resistencia).
- Sensibilidad.
- Incertidumbre.
- Exactitud (recuperación o sesgo).
- Precisión:
- Repetibilidad.
- Reproducibilidad.
- Precisión intermedia.
- Incertidumbre.

6.1.-Robustez

Una medida de que tan efectivo es un método analítico es saber la fiabilidad de los resultados obtenidos cuando *no* es ejecutado de forma ideal. En cualquier método siempre habrá etapas que no son efectuadas de manera cuidadosa, estas variaciones podrían traer efectos negativos en su rendimiento y es posible que el método no cumpla su objetivo. Estas etapas deben ser identificadas, y si es posible, también se debe evaluar la influencia sobre el rendimiento del método valorándose a través de pruebas de robustez, también llamado algunas veces rigidez. Esto conlleva a realizar variaciones de forma deliberada en el método e investigar los efectos subsecuentes en su rendimiento. Con estos resultados es posible identificar que variables afectan de manera significativa y por lo tanto, asegurar que cuando se haga uso de él, estas sean controladas de forma eficiente.

La AOAC International define la robustez como la habilidad de un procedimiento analítico para tolerar pequeñas variaciones de las condiciones del procedimiento, especialmente en variables como: volumen, temperatura, concentración, pH, tiempo de extracción y configuración del instrumento

analítico. Generalmente la robustez es usada para estudiar el efecto de ciertas variables sobre la precisión y/o exactitud.

6.2.- Procedimiento para cálculo de robustez.

- Identificar los factores de variación
- Establecer los niveles de influencia
- Selección del diseño experimental
- Definición del protocolo de experimentos
- Ejecución de los experimentos y determinaciones
- Cálculo de efectos
- Análisis de varianza o prueba t para cuantificar la significancia del factor sobre la respuesta del método.

6.3.- Confirmación de identidad: selectividad/especificidad.

Es necesario establecer que la señal producida u otra propiedad evaluada atribuida al Analito, es debida solo a este y no por la presencia de otro compuesto química o físicamente similar. Esto se llama confirmación de identidad.

La medida del Analito dependerá de la efectividad con que este es aislado y de la selectividad/especificidad de la medida.

En ocasiones las interferencias no se pueden separar del Analito, por lo tanto cuando se analiza no se tiene conocimiento del aporte de la interferencia en la medida. Para evitar esto, se recomienda realizar un análisis de confirmación de identidad usando distintas técnicas, preferiblemente con principios activos

diferentes. Estas interferencias no separables también pueden ser percibidas por una curva de calibración no lineal.

Respecto a la diferencia entre selectividad y especificidad, aunque ambas son usadas en varias fuentes como si fueran el mismo parámetro, la especificidad es considerada como un término absoluto, es decir como una selectividad al 100 %, por lo que no se puede cuantificar o graduar.

En la selectividad/especificidad de un método se investiga la habilidad de medir el Analito de interés, en porciones donde se ha añadido deliberadamente compuestos que provocan interferencias. También se puede determinar realizando lecturas en otros métodos y realizando una comparación entre éstos.

En general la selectividad/especificidad se da de modo verbal y raramente de forma numérica como en el caso de análisis cromatográfico, donde existe la posibilidad de calcular coeficientes de selectividad.

6.4.- Limite de detección (LID y LDM).

Antes de describir el procedimiento para el cálculo de los distintos límites de detección es importante definir cuales límites existen y en qué caso aplican. A continuación se definen en orden ascendente según su magnitud.

Límite de detección instrumental (LDI): concentración que produce una señal 5 veces mayor a la relación señal/ruido del instrumento. Se puede definir como

1.645 veces la desviación estándar de la concentración que reporta un blanco. También es llamado nivel crítico.

Límite de detección del método (LDM): es la concentración obtenida de una muestra procesada con el método completo y la cual produce una señal con el 99 % de probabilidad de ser diferente al blanco. Esto se verifica realizando 7 réplicas, las cuales deben tener una media por arriba de $3.14s$, donde “s” es la desviación estándar de las 7 réplicas.

Límite de cuantificación (LDC): es la concentración que produce una señal lo suficientemente grande que pueda ser detectada arriba del blanco. Típicamente es la concentración que produce una señal $10s$ arriba del blanco. Cuando se realizan mediciones en las cuales el Analito está en bajas proporciones, por ejemplo, en el análisis de trazas, es importante saber cuál es la mínima cantidad de Analito que puede medirse con la suficiente confianza por el método. Por lo anterior, es de anotar, que este parámetro se debe calcular para métodos que cuantifiquen trazas en una matriz dada, cuando el Analito se encuentra entre los componentes mayoritarios no es necesaria la cuantificación de este valor.

6.5.- Límite de cuantificación (LDC) y límite de cuantificación práctico (LCP).

El *límite de cuantificación* es estrictamente la concentración más baja del Analito que puede ser determinada con un nivel de repetibilidad, precisión y exactitud aceptable, y produce una señal lo suficientemente grande como para

distinguirse de un blanco. Si bien el LDC resulta de utilidad dentro de un laboratorio, es mayor la utilidad del *límite de cuantificación práctica* (LCP) definido como el nivel inferior registrable en los límites especificados a lo largo de operaciones rutinarias del laboratorio.

6.6.- Linealidad.

Para los métodos cuantitativos es necesario determinar el rango de concentración del Analito donde el método debe ser aplicado. La linealidad y rango son dos parámetros muy relacionados, sin embargo el rango se distingue de la linealidad en que éste toma en cuenta además la precisión y la exactitud de los valores obtenidos y por lo tanto se trabaja como un parámetro distinto. Sin embargo ambos se obtienen a partir del mismo grupo de ensayos. Debido a que en este proceso se desea tener la menor cantidad de factores sistemáticos que puedan influenciar y se debe tener controlado al máximo los errores aleatorios, se recomienda:

- Realizar las mediciones de menor a mayor concentración. Esto elimina posibles efectos de memoria en el equipo.
- Las muestras deben prepararse a partir de estándares de concentración o pureza conocida. Los datos del estudio de linealidad servirían entonces también en la etapa del cálculo de recuperación y exactitud.
- La cantidad de repeticiones que se realizarán es función de la precisión del equipo o instrumento usado, y del número de mediciones que se realizarán de

forma rutinaria a una misma muestra. En general se recomienda que estas repeticiones no sean menores a tres.

Coeficiente de correlación (r) y determinación (r^2).

El coeficiente de correlación, r nos indica el grado de relación entre la concentración y la respuesta, además es un estimado indirecto de la dispersión de los datos con relación a la estimación lineal. Cuando este parámetro se acerca a un valor de 1, indica una alta relación lineal entre ambas variables.

Se recomienda un valor del coeficiente de correlación mayor a 0.999, aunque en el caso de impurezas este podría ser mayor a 0.990.

El coeficiente de determinación, r^2 aporta una mayor significancia estadística ya que esta expresa como tal la variación total del modelo lineal.

Proceder de igual forma que en el análisis de linealidad, a diferencia de este, calcular además la precisión y la recuperación en cada nivel de concentración.

Para el cálculo de rango de trabajo se recomienda usar el definido por el mínimo valor y el máximo valor aportados por los análisis usuales que se realicen dentro del laboratorio. Restringir entonces el rango donde los valores de precisión y exactitud están dentro de lo especificado en los criterios de aceptación.

6.7.- Sensibilidad

La sensibilidad es el gradiente de la curva de respuesta (respuesta vs concentración), es decir, el cambio en la respuesta de un instrumento que corresponde a un cambio en la concentración del analito, en otras palabras, es la pendiente de la curva de calibración. Cuando un método tenga una pendiente más alta que otro, se dice que el primero es más sensible. La IUPAC define la sensibilidad de forma más técnica como "El cambio en la respuesta de un instrumento dividido por el correspondiente cambio del estímulo (señal de entrada)."

Cuando se ha establecido linealidad en la curva de respuesta este parámetro es constante, sin embargo en métodos no lineales existen valores para distintos rangos de concentración. La sensibilidad en ocasiones es referida al límite de detección pero esto en general no es aceptado.

6.8.- Precisión

La precisión de un procedimiento analítico expresa el nivel de concordancia o grado de dispersión entre una serie de mediciones obtenidas de múltiples muestras homogéneas bajo condiciones prescritas. Se evalúa mediante análisis de réplicas, análisis repetidos de un estándar estable o análisis de adiciones conocidas sobre las muestras.

La precisión indica la variabilidad de un método de ensayo y expresa en que rango es aceptable la variación de una misma muestra a condiciones reales, dato que posteriormente es usado como condición de criterio para la aceptación o rechazo de análisis.

En la precisión pueden considerarse tres niveles: repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad. En la figura 5 podemos observar de manera más clara la organización jerárquica de estos niveles.

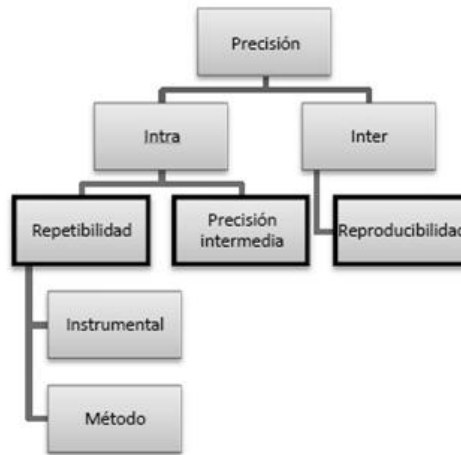


Figura 5. Jerarquía de los niveles de precisión.

La precisión de un método analítico por lo general se expresa como la varianza, desviación estándar o coeficiente de variación de una serie de mediciones.

Repetibilidad: expresa el nivel de concordancia de los datos bajo las mismas condiciones de operación en un intervalo corto de tiempo. La repetibilidad también se conoce como precisión intra-ensayo.

Precisión intermedia: expresa la variación dentro de un mismo laboratorio: a diferentes días de análisis, distintos analistas, distintos equipos, etc.

Reproducibilidad: indica la precisión entre laboratorios, usualmente se lleva a cabo con ayuda de estudios colaborativos o interlaboratorios.

La precisión y exactitud a menudo son conceptos que pueden confundirse, para una mejor apreciación de lo que significa cada una podemos analizar la figura 6:

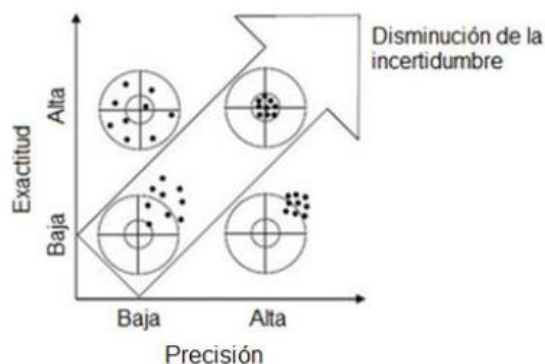


Figura 6. Diferencia entre exactitud y precisión

6.9.- Exactitud

La exactitud de un procedimiento analítico expresa el acercamiento entre el valor admitido como valor verdadero o como una referencia aceptada y el valor encontrado. También es llamada en algunos casos fidelidad. En el método de validación se busca con el cálculo de la exactitud valorar conjuntamente los efectos sistemáticos y aleatorios, y está muy ligado con la precisión, incluso algunos autores dividen la exactitud en dos componentes: fidelidad y precisión. Existen dos procedimientos en general para determinar la exactitud de un método. El primero y más común es realizar la comparación contra un material de referencia, que puede ser un estándar trazable, un placebo o una muestra con una cantidad de Analito conocida. El segundo método es comparar los resultados con otra técnica aún más exacta o que por consenso común es referencia, este caso se usa cuando no existen materiales de referencia

certificados o trazables. En la figura 7 se puede observar la anterior clasificación en forma de diagrama.



Figura 7. Procesos para cálculo de exactitud.

El uso de materiales de referencia o estándares está dado según los siguientes criterios:

- Material de referencia o patrones certificados: se usan para validación de métodos a largo plazo. Su uso no es extensivo.
- Estándares: utilizados en los cálculos de exactitud a corto plazo, verificaciones y estudios no críticos.

6.10.- Interpretación de la parcialidad o sesgo.

La figura 8 muestra los dos componentes principales de la parcialidad en la medición de una muestra, referida al laboratorio y al método como tal. La parcialidad del método reside en el error sistemático inherente al mismo independiente del laboratorio que lo use. La parcialidad del laboratorio proviene de los errores sistemáticos peculiares del laboratorio y la interpretación del método.

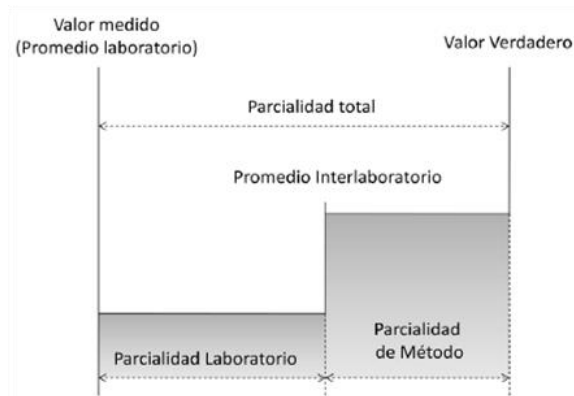


Figura 8. Componentes del sesgo en una medida

6.11.- Incertidumbre

La incertidumbre se define como un "parámetro asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que pueden ser atribuidos razonablemente a lo que se mide".

La incertidumbre de una medición puede estar asociada a muchas fuentes, entre las principales se encuentran: el instrumento de medida, el objeto de medida o mensurando, condiciones ambientales (humedad relativa, presión y temperatura) y el analista. Estas incertidumbres se calculan realizando un análisis estadístico de un conjunto de mediciones a condiciones controladas y/o a partir de otras fuentes fiables como certificados y fenomenología del proceso de medición.

La incertidumbre es un parámetro asociado generalmente con la calidad de la medición, y hace referencia a la duda que existe respecto al resultado de la medición, pero no respecto a la validez del proceso de medida. Al contrario, el

conocimiento de la incertidumbre aumenta el nivel de confianza de la validez del método.

Es de vital importancia no confundir el error o exactitud del método con su incertidumbre, el error expresa la diferencia entre el valor medido y el valor convencionalmente verdadero que se está midiendo, mientras que la incertidumbre es la *duda* asociada al resultado.

Guía para la validación de métodos de Análisis Físicoquímicos.

Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura.

Criterios para la validación de métodos físicoquímicos.

Tiene como objetivo definir los criterios mínimos para llevar a cabo actividades de validación de métodos no normalizados o confirmación (validación parcial) de métodos normalizados que involucren mediciones físicoquímicas o físicas cuantitativas y cualitativas, para confirmar que estos se pueden aplicar correctamente antes de utilizarlos para los métodos analíticos.

Este documento debe ser aplicado por el personal de los laboratorios de ensayo aspirantes ante la COFEPRIS a terceros autorizados, para la validación de sus métodos y por los miembros del padrón de evaluadores para el proceso de evaluación a laboratorios de pruebas y es factible establecer no conformidades con base en los criterios descritos en el mismo.

Parámetros de Desempeño Evaluados según el CCAYAC para los métodos de análisis de Proteínas (prueba volumétrica), Grasas y Aceites (prueba gravimétrica).

Parámetro de desempeño	Tipo de prueba					
	Espectrofotométrica	Cromatográfica	Potenciométrica	Volumétrica	Gravimétrica	Física
Intervalo lineal y de trabajo	SI	SI	SI	SI	SI	NO
Límite de detección	SI ^a	SI ^a	NO	NO	NO	SI ^b
Límite de cuantificación	SI ^a	SI ^a	SI ^a	SI ^a	SI ^a	NO
Recuperación	SI	SI	NO	SI	SI	NO
Sesgo	SI	SI	SI	SI	SI	NO
Repetibilidad	SI	SI	SI	SI	SI	SI ^c
Reproducibilidad	SI	SI	SI	SI	SI	SI ^c
Incertidumbre	SI	SI	SI	SI	SI	SI ^c
Sensibilidad	SI ^d	SI ^d	SI ^{d,e}	SI ^d	SI ^d	NO
Selectividad	SI ^d	SI ^d	SI ^{d,e}	SI	SI	SI ^d
Robustez	SI ^d	SI ^d	SI ^d	SI ^d	SI ^d	SI ^d

^a Solo para análisis a nivel de trazas (ppm, ppb, ppt)

^b Solo métodos cualitativos.

^c Solo métodos cuantitativos.

^d Solo aplica para métodos no normalizados.

^e Solo para el análisis de aniones y cationes por ión selectivo

Nota: Solo para métodos gravimétricos y volumétricos la selectividad se sustenta con los resultados de linealidad, recuperación, repetibilidad y reproducibilidad, si estos cumplen con los criterios de aceptación establecidos

Guías para el cálculo de Incertidumbre de medición de los métodos de determinación de Proteínas, Grasas y Aceites en alimentos.

1. “Guía Técnica sobre Trazabilidad e Incertidumbre en las Mediciones Analíticas que emplean la técnica de Titulación Volumétrica”

El **propósito** de esta Guía Técnica es establecer los criterios y requisitos de trazabilidad e incertidumbre en la aplicación de la técnica de medición de Titulación Volumétrica para lograr medidas con incertidumbre y trazabilidad confiables.

La “Guía Técnica sobre Trazabilidad e Incertidumbre en las Mediciones Analíticas que emplean la técnica de Titulación Volumétrica” no reemplaza ni total, ni parcialmente, a los documentos de referencia en que se fundamentan las políticas de trazabilidad e incertidumbre de la Entidad Mexicana de Acreditación (EMA). La aportación de criterios técnicos de esta Guía específica sirven de apoyo en la aplicación de la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006[2]. La consistencia de esta Guía con esta norma y con los demás documentos de referencia apoyan a conseguir el propósito de asegurar la confiabilidad de la evaluación de la conformidad por parte de los laboratorios de ensayo, en lo concerniente a trazabilidad e incertidumbre.

ALCANCE DE LA GUÍA TÉCNICA

Esta Guía Técnica es aplicable para la técnica de medición de titulación volumétrica manual, cuyo principio se describe a continuación. Para el caso de titulaciones volumétricas automatizadas, se deberán seguir los lineamientos de esta guía más los que establezca el manual del equipo que define el punto de equivalencia final.

Principio de medición en titulación volumétrica.

Es la medición de la cantidad de sustancia, a través de la medición de volumen de una disolución titulante de concentración conocida preparada a partir de un Material de Referencia Certificado (MRC), que se compara con otra medición de volumen donde se requiera cuantificar al mensurando; es necesario que la

reacción o reacciones químicas involucradas tengan una eficiencia del 100 % y la estequiometría sea conocida.

En titulación, la ecuación general que describe la medición es:

$$n_{(X)} = n_{(MRC)} \dots\dots 1)$$

Donde:

$n(X)$ es la cantidad de sustancia a ser medida.

$n(MRC)$ es la cantidad de sustancia conocida contenida en un volumen de disolución titulante (MRC).

Los métodos volumétricos normalizados, toman en cuenta que la estequiometría de la(s) reacción (es) procede(n) principalmente en una sola dirección, su velocidad de equilibrio es rápida, su reacción tiene una eficiencia del 100 % y la constante de equilibrio es suficiente para tener una indicación del punto final.

Suponiendo que la concentración de cantidad de sustancia conocida de (MRC) en la disolución titulante es $c(MRC)$ y que el volumen de la disolución (MRC) es $V(MRC)$ se tiene:

$$n_{(MRC)} = c_{(MRC)} V_{(MRC)} \dots\dots 2)$$

Conociendo la ecuación 1 y sustituyendo la cantidad de sustancia del titulante de la ecuación 2 se tiene la ecuación 3:

$$c_{(X)} V_{(X)} = c_{(MRC)} V_{(MRC)} \dots\dots 3)$$

2. “Guía Técnica sobre Trazabilidad e Incertidumbre en las Mediciones Analíticas que emplean la Técnica de Gravimetría de Masa”

El **propósito** de esta Guía Técnica es establecer los criterios y requisitos de trazabilidad e incertidumbre en la aplicación de la técnica de medición gravimétrica de masa, para lograr medidas con incertidumbre y trazabilidad confiables.

La “Guía Técnica sobre Trazabilidad e Incertidumbre en las Mediciones Analíticas que emplean la Técnica de Gravimetría de Masa” no reemplaza ni total, ni parcialmente, a los documentos de referencia en que se fundamentan las políticas de trazabilidad e incertidumbre de la Entidad Mexicana de Acreditación (EMA). La aportación de criterios técnicos de esta Guía específica sirven de apoyo en la aplicación de la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 [2]. La consistencia de esta Guía con esta norma y con los demás documentos de referencia apoyan a conseguir el propósito de asegurar la confiabilidad de la evaluación de la conformidad por parte de los laboratorios de ensayo, en lo concerniente a trazabilidad e incertidumbre.

ALCANCE DE LA GUÍA TÉCNICA

Esta Guía Técnica es aplicable para las mediciones gravimétricas en donde la finalidad es conocer el valor de la masa de un cuerpo.

La medición de masa para conocer la magnitud de cantidad de sustancia, queda fuera del alcance de esta guía.

Principio de la técnica de gravimetría de masa.

La masa de un cuerpo se determina midiendo su peso y comparándolo contra el peso de otro objeto cuya masa se toma como referencia.

El peso definido como la fuerza de atracción que ejerce la tierra sobre un cuerpo, es una función de la masa del cuerpo. Esta relación se describe mediante la ecuación de la Segunda Ley de Newton:

$$F = m * a$$

Donde

F, es la fuerza de atracción de la gravedad o peso del cuerpo.

m, es la masa del cuerpo.

a, es la aceleración de la gravedad.

En una balanza, el peso de un objeto se determina por medio de una fuerza que ejerce la balanza hasta equilibrar el peso del objeto.

$$F_x = F_{bal}$$

F_x es el peso del cuerpo que se está midiendo.

F_{bal} es la fuerza ejercida por la balanza para equilibrar el peso del objeto.

Previamente la fuerza que ejerce la balanza ha sido medida por medio del peso de una masa de referencia

$$F_{bal} = F_{ref}$$

F_{ref} es el peso de la masa de referencia

Igualando F_{ref} y F_{bal} y considerando la Segunda Ley de Newton se tiene:

$$m_x = m_{ref}$$

Siendo m_x la masa del cuerpo que se está pesando, y m_{ref} , la masa de la referencia.

PROCEDIMIENTOS Y DESCRIPCION DE LAS ACTIVIDADES REALIZADAS.

1. DESARROLLO EXPERIMENTAL.

- **Intervalo Lineal y de Trabajo:** Para la determinación de muestras de control de este parámetro de desempeño se establecerán como mínimo 5 niveles diferentes de concentración, cada nivel tendrá repeticiones por triplicado. Las concentraciones a elegir dependerá de la magnitud de los valores certificados del intervalo o matriz (leche descremada en polvo) proporcionada por el CENAM. Se realizaran 15 corridas en total para el primer día, después de esto se tendrán 15 respuestas analíticas con el cual se confirmara visualmente la existencia de linealidad del parámetro intervalo lineal para esto se graficara en Excel la respuesta analítica en (Y) vs nivel de concentración adicionada (X). Para el intervalo de trabajo se graficara en Excel la concentración obtenida (Y) vs concentración adicionada (X), se calculara la pendiente y el coeficiente de correlación.
- **Limite de Cuantificación:** En la determinación de este parámetro se utilizaran los 5 niveles de concentración con repeticiones por triplicado establecidos en el Intervalo Lineal y de Trabajo, al obtener las 15 respuestas analíticas se calculara la pendiente y la desviación estándar de la ordenada al origen de la respuesta analítica vs nivel de concentración adicionada.

Además de esto se estimara el límite de cuantificación con la formula proporcionada por CCAYAC.

- **Recuperación y Sesgo:** Para este parámetro de igual forma se utilizaran los 5 niveles diferentes de concentración con repeticiones por triplicado y al obtener las respuestas analíticas se calcularan las concentraciones recuperadas para cada nivel de concentración adicionado. Además que para el Sesgo se efectuara la resta aritmética de la concentración adicionada menos la concentración recuperada.
- **Repetibilidad:** Para este parámetro se utilizaran del intervalo de trabajo únicamente 3 niveles de concentración (inferior, medio y superior), cada nivel tendrá repeticiones por sextuplicado en los 2 días, se analizaran las muestras por un mismo analista (analista 1) en los 2 días. Se calculara el porcentaje de recuperación de los 6 resultados para cada nivel, además de calcular la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación de los porcentajes de recuperación obtenidos para cada nivel.
- **Reproducibilidad:** Se utilizaran los mismos 3 niveles de concentración (inferior, medio y superior) utilizados en repetibilidad pero serán analizados por un segundo analista (analista 2), se calculara el porcentaje de recuperación de los 6 resultados para cada nivel. Se combinaran los resultados con los datos obtenidos en la estimación de la repetibilidad y se calculara la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación de los

porcentajes de recobro para cada nivel. Se reportaran los máximos obtenidos de lo mencionado anteriormente.

- **Incertidumbre:** Se utilizará la información obtenida del proceso de validación al realizar los análisis, se especificará el mensurando y se identificará las posibles fuentes de incertidumbre descartando las de menor importancia.

*Cuantificar los componentes de la Incertidumbre. μ

*Calcular la incertidumbre estándar combinada. μ_C

*Calcular la incertidumbre expandida. μ_{Exp} .

2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

- **Intervalo Lineal y de Trabajo:**

1. Para el Intervalo Lineal se confirmará visualmente la existencia de linealidad del intervalo para esto se necesita graficar la concentración adicionada (X) vs la respuesta analítica (Y) y observar que el método analítico este dando resultados que sean directamente proporcionales a la concentración del Analito dentro del intervalo que se ha proporcionado por la matriz o material de referencia.
2. Para el intervalo de Trabajo se necesita calcular la pendiente (m) y el coeficiente de correlación (r) de la gráfica anteriormente realizada en el intervalo lineal, para esto se empleara el método de mínimos cuadrados para el cálculo de la pendiente y la ordenada al origen.

3. Para el cálculo del coeficiente de correlación se utilizará la siguiente fórmula que se presenta a continuación:

$$r_s = \frac{\sum_{i=1}^n XY - \frac{\sum_{i=1}^n X \sum_{i=1}^n Y}{n}}{\sqrt{\left(\sum_{i=1}^n X^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n X)^2}{n} \right) \left(\sum_{i=1}^n Y^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n Y)^2}{n} \right)}}$$

El coeficiente de correlación lineal es un número real comprendido entre -1 y 1.

$$-1 \leq r \leq 1$$

Si el coeficiente de correlación lineal toma valores cercanos a -1 la correlación es fuerte e inversa, y será tanto más fuerte cuanto más se aproxime r a -1.

Si el coeficiente de correlación lineal toma valores cercanos a 1 la correlación es fuerte y directa, y será tanto más fuerte cuanto más se aproxime r a 1.

Si el coeficiente de correlación lineal toma valores cercanos a 0, la correlación es débil.

- **Recuperación y Sesgo.**

1. Para el parámetro de Recuperación se necesita calcular la concentración recuperada para cada nivel de concentración adicionado y dar los resultados como intervalo en porcentaje. Se utilizara la siguiente fórmula para su determinación:

% Recuperación por repetición.

$$\%Rr: \frac{RAR}{NCA} * 100$$

Donde:

%Rr: Porcentaje de recuperación por repetición.

RAr: Respuesta Analítica por repetición.

NCA: Nivel de Concentración Adicionado.

% Recuperación por nivel.

$$\% RN: \frac{\sum \%Rr}{n}$$

Donde:

% RN: Porcentaje de Recuperación por Nivel.

Σ % Rr: Sumatoria del Porcentaje de recuperación por repetición.

n: Número de Repeticiones.

2. Para el cálculo del Sesgo de los datos obtenidos del intervalo de trabajo se efectuara la resta aritmética de la concentración añadida menos la concentración recuperada.

$$\text{Sesgo: } [Xi] - [Yi]$$

Donde:

Xi: Concentración adicionada por Nivel.

Yi: Respuesta analítica por Nivel.

- **Repetibilidad.**

1. En este parámetro se efectuará el cálculo del porcentaje de recuperación de las 6 repeticiones de los niveles de concentración adicionados (superior, medio e inferior) con las formulas de % Recuperación por Repetición y por Nivel proporcionadas anteriormente.

% Recuperación por repetición.

$$\%Rr: \frac{RAr}{NCA} * 100$$

Donde:

%Rr: Porcentaje de recuperación por repetición.

RAr: Respuesta Analítica por repetición.

NCA: Nivel de Concentración Adicionado.

% Recuperación por nivel.

$$\% RN: \frac{\sum \%Rr}{n}$$

Donde:

% RN: Porcentaje de Recuperación por Nivel.

Σ % Rr: Sumatoria del Porcentaje de recuperación por repetición.

n: Número de Repeticiones.

2. Se efectuará el cálculo de la media aritmética, la desviación estándar y el coeficiente de variación de los porcentajes de recobro para cada nivel de concentración adicionado con las formulas proporcionadas a continuación:

Media Aritmética.

$$\bar{X} = \frac{X_1 + X_2 + X_3 + \dots + X_N}{N} = \frac{\sum_{j=1}^N X_j}{N} = \frac{\sum X}{N}$$

Donde:

X1, X2, Xn: Conjunto de Datos.

n: Número total de Datos.

Desviación Estándar.

1. La desviación estándar o Desviación típica de un conjunto de N números X1, X2,..., Xn se denota por s y se define como:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^N (X_j - \bar{X})^2}{N}} = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N}} = \sqrt{\frac{\sum x^2}{N}} = \sqrt{(X - \bar{X})^2}$$

Donde x representa las desviaciones de cada uno de los números X_j respecto de la media. Así que s es la raíz cuadrada de la media de las desviaciones cuadráticas o como se le llama en ocasiones, la desviación raíz – media – cuadrado.

Coeficiente de Variación.

La variación o dispersión real, tal como se determina de la desviación típica u otra medida de dispersión, se llama la dispersión absoluta. Una medida de la dispersión relativa, a saber:

Dispersión Relativa: $\frac{\text{Dispersión Absoluta}}{\text{Promedio}}$

Si la dispersión absoluta es la desviación típica s y el promedio es la media, entonces la dispersión relativa se llama el coeficiente de correlación, o coeficiente de dispersión y se define como:

$$\text{Coeficiente de variación (V)} = \frac{s}{\bar{X}}$$

Y se expresa en general en forma de porcentaje. El coeficiente de variación es independiente de las unidades usadas. Por esa razón es útil al comparar distribuciones con unidades diferentes. Una desventaja del coeficiente de variación es que pierde su utilidad cuando la media es próxima a cero.

2. Reportar de la desviación estándar o coeficiente de variación los máximos obtenidos.

- **Reproducibilidad.**

1. Se calculara el porcentaje de recuperación de los 6 resultados (respuestas analíticas) para cada nivel de concentración adicionado con las siguientes formulas:

% Recuperación por repetición.

$$\%Rr: \frac{RAr}{NCA} * 100$$

Donde:

%Rr: Porcentaje de recuperación por repetición.

RAr: Respuesta Analítica por repetición.

NCA: Nivel de Concentración Adicionado.

% Recuperación por nivel.

$$\% \text{ RN: } \frac{\sum \%Rr}{n}$$

Donde:

% RN: Porcentaje de Recuperación por Nivel.

$\Sigma \% Rr$: Sumatoria del Porcentaje de recuperación por repetición.

n: Número de Repeticiones.

2. Combinar los resultados (respuestas analíticas) con los datos obtenidos en la estimación de la repetibilidad.
3. Calcular la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación de los porcentajes de recobro para cada nivel de concentración adicionado.

Media Aritmética.

$$\bar{X} = \frac{X_1 + X_2 + X_3 + \dots + X_N}{N} = \frac{\sum_{j=1}^N X_j}{N} = \frac{\sum X}{N}$$

Donde:

X_1, X_2, X_n : Conjunto de Datos.

n : Número total de Datos.

Desviación Estándar.

La desviación estándar o Desviación típica de un conjunto de N números X_1, X_2, \dots, X_n se denota por s y se define como:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^N (X_j - \bar{X})^2}{N}} = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N}} = \sqrt{\frac{\sum x^2}{N}} = \sqrt{(X - \bar{X})^2}$$

Donde x representa las desviaciones de cada uno de los números X_j respecto de la media. Así que s es la raíz cuadrada de la media de las desviaciones cuadráticas o como se le llama en ocasiones, la desviación raíz – media – cuadrado.

Coefficiente de Variación.

La variación o dispersión real, tal como se determina de la desviación típica u otra medida de dispersión, se llama la dispersión absoluta. Una medida de la dispersión relativa, a saber:

Dispersión Relativa: $\frac{\text{Dispersión Absoluta}}{\text{Promedio}}$

Si la dispersión absoluta es la desviación típica s y el promedio es la media, entonces la dispersión relativa se llama el coeficiente de correlación, o coeficiente de dispersión y se define como:

$$\text{Coeficiente de variación } (V) = \frac{s}{\bar{X}}$$

Y se expresa en general en forma de porcentaje. El coeficiente de variación es independiente de las unidades usadas. Por esa razón es útil al comparar distribuciones con unidades diferentes. Una desventaja del coeficiente de variación es que pierde su utilidad cuando la media es próxima a cero.

4. Reportar de la desviación estándar o coeficiente de variación los máximos obtenidos.

- **Incertidumbre.**

Estimar la incertidumbre en base a los siguientes pasos:

- a) Definir los modelos físicos y matemáticos.
- b) Definir y organizar las magnitudes de influencia.
- c) Cuantificar magnitudes de influencia y su dispersión.
- d) Obtener la mejor estimación del mensurando.
- e) Combinar las contribuciones a la incertidumbre del mensurando.
- f) Determinar el intervalo que abarca el valor del mensurando con un cierto nivel de confianza

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN PARA LA VALIDACIÓN DE LOS METODOS DE DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS, GRASAS Y ACEITES.

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN PARA LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE GRASAS Y ACEITES (Determinación de Extracto Etéreo (método Soxhlet) en Alimentos. NMX-F-615-NORMEX-2004).

PARÁMETRO	CRITERIOS DE ACEPTACIÓN	REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA
Intervalo Lineal.	a) Comportamiento lineal en la gráfica de concentración vs respuesta analítica. b) Datos aleatorios en el gráfico de residuales	Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura.
Intervalo de Trabajo.	a) Pendiente: valor cercano a 1 b) Coeficiente de correlación: $r \geq 0.98$ para cuantificación de residuos e impurezas $r \geq 0.99$ para cuantificación de contenido e ingrediente activo	Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura.
Recuperación.	Recuperación para contenido en alimentos y agua	
	Concentración del Analito.	Criterio de Aceptación.
	0.1 a 1 %	90 – 108 %
	1 a 10%	92 – 105 %

	10 a 99%	95 – 102 %	
	100%	98 – 101 %	
Repetibilidad	La diferencia entre dos datos individuales obtenidos en la misma muestra y laboratorio, por el mismo analista siguiendo el mismo método, con el mismo material, el mismo equipo y bajo las mismas condiciones en forma simultánea, en un corto intervalo de tiempo no debe exceder ± 0.2 g/100 g entre ambos resultados.		Determinación de Extracto Etéreo (método Soxhlet) en Alimentos. NMX-F-615-NORMEX-2004.
Reproducibilidad	La diferencia absoluta obtenida entre dos resultados, analizando la misma muestra, aplicando el mismo método de ensayo, en condiciones diferentes de laboratorio, analistas y equipos, no deberá exceder ± 0.3 g / 100 g entre ambos resultados.		Determinación de Extracto Etéreo (método Soxhlet) en Alimentos. NMX-F-615-NORMEX-2004.

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN PARA LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE PROTEINAS (Determinación de Proteínas (método Kjeldahl) en Alimentos. NMX-F-615-NORMEX-2004).

PARÁMETRO	CRITERIOS DE ACEPTACIÓN	REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA
Intervalo Lineal.	a) Comportamiento lineal en la gráfica de concentración vs respuesta analítica. b) Datos aleatorios en el gráfico de residuales	Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura.
Intervalo de Trabajo.	a) Pendiente: valor cercano a 1 b) Coeficiente de correlación: $r \geq 0.98$ para cuantificación de residuos e impurezas $r \geq 0.99$ para cuantificación de contenido e ingrediente activo	Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura.
Recuperación.	Recuperación para contenido en alimentos y agua	
	Concentración del Analito.	Criterio de Aceptación.
	0.1 a 1 %	90 – 108 %
	1 a 10%	92 – 105 %

	10 a 99%	95 – 102 %	
	100%	98 – 101 %	
Repetibilidad	La diferencia entre dos datos individuales obtenidos en la misma muestra y laboratorio, por el mismo analista siguiendo el mismo método, con el mismo material, el mismo equipo y bajo las mismas condiciones en forma simultánea, en un corto intervalo de tiempo no debe exceder ± 0.2 g/100 g entre ambos resultados.		Determinación de Proteínas (método Soxhlet) en Alimentos. NMX-F-615-NORMEX-2004.
Reproducibilidad	La diferencia absoluta obtenida entre dos resultados, analizando la misma muestra, aplicando el mismo método de ensayo, en condiciones diferentes de laboratorio, analistas y equipos, no deberá exceder ± 0.3 g / 100 g entre ambos resultados.		Determinación de Proteínas (método Soxhlet) en Alimentos. NMX-F-615-NORMEX-2004.

Materiales, Equipos y Reactivos utilizados en la validación de del método de Grasas y Aceites (Determinación de Extracto Etéreo (método Soxhlet) en Alimentos. NMX-F-615-NORMEX-2004).

NOMBRE DEL EQUIPO	CARACTERISTICAS GENERALES
Campana de extracción de humos	Marca: Modelo: Número. de serie: Número. de identificación: Intervalo de trabajo:
Estufa de calentamiento	Marca: Modelo: Número. de serie: Número. de identificación: Intervalo de trabajo:

Balanza analítica	Marca: Modelo: Número. de serie: Número. de identificación: Intervalo de trabajo:
Equipo extractor Soxhlet	Marca: Modelo: Número. de serie: Número. de identificación: Intervalo de trabajo:
Parrilla de calentamiento	Marca: Modelo: Número. de serie: Número. de identificación: Intervalo de trabajo:

MATERIALES DE USO GENERAL.	DESCRIPCIÓN	CARACTERISTICAS GENERALES.
Algodón desengrasado	<p>La composición del algodón es celulosa casi pura. Su color es blanco, amarillo pálido o ligeramente rojizo. Su fibra es más o menos sedosa, fuerte en mayor o menor grado. En cuanto al grueso, varía de 6 a 29 centésimas de milímetro por fibra. El algodón de fibra larga sirve para la fabricación de tastos, indianas, etc.</p>	Marca: Lote: Clave: Volumen Nominal: Volumen Real:

	La homogeneidad de éstas, su elasticidad, resistencia y color son las cualidades que más directamente influyen en la mayor o menor estimación del algodón.	
Cartuchos de Celulosa	Celulosa de alto rendimiento, producida con fibra de alfa celulosa de alta calidad, con excelente resistencia mecánica y retención. Medidas de cartucho: 25mm x 80mm. Grosor: 1mm.	Marca: Lote: Clave: Volumen Nominal: Volumen Real:
Espátula	Es una herramienta que consiste en una lámina plana de metal con agarradera o mango similar a un cuchillo con punta roma.	Marca: Lote: Clave: Volumen Nominal: Volumen Real:
Pinzas de Acero para Crisol	Las pinzas para crisoles tienen forma de tenazas, o de tijeras grandes con el extremo adaptado para sujetar un crisol mientras se calienta fuertemente. Solo pueden estar construidas en metal, para aguantar temperaturas muy altas, y se necesitan	Marca: Lote: Clave: Volumen Nominal: Volumen Real:

	guantes protectores para agarrarlas.	
Mascarilla de Protección contra solventes	Ofrece protección para partículas y la mayoría de los gases y vapores. Adicionalmente se pueden utilizar cuando la aplicación requiere el uso de Suministro de Aire. -Cierre perfecto: conexión segura, cierre sonoro en la posición correcta entre los filtros y las piezas faciales -Su sellado integral permite ajustar inmediatamente el filtro a la máscara -La conexión permanece inalterada incluso después de su intensiva utilización	Marca: Lote: Clave: Volumen Nominal: Volumen Real:
Guantes Resistentes a altas temperaturas	Guante de material KEVLAR, ignifugo, con resistencia a altas temperaturas de hasta 900 grados Fahrenheit, con una longitud de 12.5" pulgadas, con 5" de puño de tela y 7.5" de todo KEVLAR, especial para procesos donde se maneje directamente objetos de muy alta temperatura. Talla única.	Marca: Lote: Clave: Volumen Nominal: Volumen Real:

<p>Desecador con Silica gel Azul</p>	<p>Está fabricado con un vidrio muy grueso y en él se distinguen dos cavidades, la primera cavidad más grande y superior, permite poner a secar la sustancia, y la otra cavidad inferior se usa para poner el desecante, más comúnmente gel de sílice. También posee un grifo de cierre o llave de paso en su parte lateral o en la tapa, que permite la extracción del aire para poder dejarlo al vacío.</p>	<p>Marca: Lote: Clave: Volumen Nominal: Volumen Real:</p>
<p>Soporte Universal</p>	<p>Está formado por dos elementos, generalmente metálicos. Una base o pie horizontal, construido de hierro fundido, relativamente pesado y generalmente en forma de rectángulo, bajo el cual posee unos pequeños pies de apoyo. Una varilla cilíndrica vertical, insertada cerca del centro de uno de los lados de la base, que sirve para sujetar otros elementos como</p>	<p>Marca: Lote: Clave: Volumen Nominal: Volumen Real:</p>

	pinzas de laboratorio.	
Pinzas de Sujeción	Las pinzas de laboratorio son un tipo de sujeción ajustable, generalmente de metal, que forma parte del equipamiento de laboratorio, mediante la cual se pueden sustentar diferentes objetos de vidrio (embudos de laboratorio, buretas...) o realizar montajes más elaborados (aparato de destilación). Se sujetan mediante una doble nuez a un pie o soporte de laboratorio	Marca: Lote: Clave: Volumen Nominal: Volumen Real:
Pinzas para cubierta de vidrio		Marca: Lote: Clave: Volumen Nominal: Volumen Real:
MATERIAL VOLUMÉTRICO	DESCRIPCIÓN	CARACTERÍSTICAS GENERALES
Matraz de bola de fondo plano de 250 mL.	El matraz tiene un bajo coeficiente de expansión para resistir al choque térmico. Están contruidos con paredes resistentes para minimizar el choque mecánico, reforzado en la parte superior	Marca: Lote: Clave: Volumen Nominal: Volumen Real:

	para mayor resistencia y ajuste del tapón.	
Probeta Graduada de 50 mL.	Es un recipiente cilíndrico de vidrio con una base ancha, que generalmente lleva en la parte superior un pico para verter el líquido con mayor facilidad. Las probetas suelen ser graduadas, es decir, llevan grabada una escala (por la parte exterior) que permite medir un determinado volumen,	Marca: Lote: Clave: Volumen Nominal: Volumen Real:
Vasos de precipitados de 100 o 250 mL.	Se fabrican en vidrio ordinario y en "PIREX", y de distintos tamaños. Son cilíndricos y en la boca llevan un pequeño apéndice en forma de pico para facilitar el vertido de las sustancias cuando se transvasan. Puede ir aforados o graduados, si bien su exactitud es menor que la de un matraz aforado o una probeta.	Marca: Lote: Clave: Volumen Nominal: Volumen Real:
MATERIAL DE REFERENCIA.	DESCRIPCIÓN	CARACTERÍSTICAS GENERALES.
Leche Descremada en Polvo.	Control de calidad en la medición de proteína, grasa, cenizas, lactosa,	Magnitud Valores certificados: Proteína (35%), Grasa (0.7%), Cenizas (7%).

	hierro y zinc en leche y productos lácteos. En la validación de métodos analíticos.	Valores de Información: lactosa (50%), Hierro (197mg/kg), Zinc (209mg/kg). Presentación: Bolsa de aluminio con 130 g de material.
--	---	--

Materiales, Equipos y Reactivos utilizados en la validación de del método de Proteínas (Determinación de Proteínas (método Kjeldahl) en Alimentos. NMX-F-615-NORMEX-2004).

NOMBRE DEL EQUIPO	CARACTERISTICAS GENERALES
Campana de extracción de humos	Marca: Modelo: Número. de serie: Número. de identificación: Intervalo de trabajo:
Balanza analítica	Marca: Modelo: Número. de serie: Número. de identificación: Intervalo de trabajo:
Equipo Kjeldahl	Marca: Modelo: Número. de serie: Número. de identificación: Intervalo de trabajo:
Parrilla de calentamiento	Marca: Modelo: Número. de serie: Número. de identificación: Intervalo de trabajo:

MATERIALES DE USO GENERAL.	DESCRIPCIÓN	CARACTERISTICAS GENERALES.
----------------------------	-------------	----------------------------

Papel Arroz.	Papel de arroz es un término usado para referirse al papel hecho con partes de la planta del arroz, como la paja de arroz o la harina de arroz. Sin embargo, el término se aplica para papel hecho con otras plantas, o que contiene otras plantas, como cáñamo, bambú y mora.	Marca: Lote: Clave: Volumen Nominal: Volumen Real:
Pinzas de 3 dedos.	Este utensilio presenta dos nueces. Una nuez se adapta perfectamente al soporte universal y la otra se adapta a una pinza para refrigerante de ahí se deriva su nombre. Están hechos de una aleación de níquel no ferroso.	Marca: Lote: Clave: Volumen Nominal: Volumen Real:
Anillo de Hierro	El anillo de hierro es un material de laboratorio de metal de estructura circular y de hierro que se adapta al soporte universal y sirve como soporte de otros utensilios como lo son los vasos de precipitados, embudos de separación, etc. Se fabrican en hierro	Marca: Lote: Clave: Volumen Nominal: Volumen Real:

	colado y se utilizan para sostener recipientes que van a calentarse a fuego directo. Funciona sobre todo con elementos químicos calentados al fuego o mediante procesos químicos para evitar quemaduras.	
Soporte universal	Soporte universal o pie universal es una pieza del equipamiento de laboratorio donde se sujetan las pinzas de laboratorio, mediante dobles nueces. Sirve para sujetar tubos de ensayo, buretas, embudos de filtración, embudos de decantación, etc. También se emplea para montar aparatos de destilación y otros equipos similares más complejos. El soporte universal es una herramienta que se utiliza en laboratorios para realizar montajes con los materiales presentes en el laboratorio y obtener sistemas de mediciones o de diversas funciones.	Marca: Lote: Clave: Volumen Nominal: Volumen Real:

<p>Mascarilla de Protección contra solventes</p>	<p>Ofrece protección para partículas y la mayoría de los gases y vapores. Adicionalmente se pueden utilizar cuando la aplicación requiere el uso de Suministro de Aire. -Cierre perfecto: conexión segura, cierre sonoro en la posición correcta entre los filtros y las piezas faciales -Su sellado integral permite ajustar inmediatamente el filtro a la máscara -La conexión permanece inalterada incluso después de su intensiva utilización</p>	<p>Marca: Lote: Clave: Volumen Nominal: Volumen Real:</p>
<p>Guantes Resistentes a altas temperaturas</p>	<p>Guante de material KEVLAR, ignifugo, con resistencia a altas temperaturas de hasta 900 grados Fahrenheit, con una longitud de 12.5" pulgadas, con 5" de puño de tela y 7.5" de todo KEVLAR, especial para procesos donde se maneje directamente objetos de muy alta temperatura. Talla única.</p>	<p>Marca: Lote: Clave: Volumen Nominal: Volumen Real:</p>
<p>MATERIAL VOLUMÉTRICO</p>	<p>DESCRIPCIÓN</p>	<p>CARACTERÍSTICAS GENERALES</p>

Equipo Kjeldhal.	El método de Kjeldhal consiste en tomar la muestra exactamente pesada y se somete a un tratamiento de acidificación con mezcla sulfúrico clorhídrico o con ácido brómico la idea es usarlo con muestras con contenido de nitrógeno. Lo que se hace es que en las proteínas el tratamiento lleva al nitrógeno a amoníaco y este luego es evaporado en un sistema de recolección y cae a una solución de ácido de concentración y cantidad exactamente conocida con indicador. El punto de equivalencia (cambio de color) o por potenciómetro me indica cuando no hay más amoníaco en la muestra.	Marca: Lote: Clave: Volumen Nominal: Volumen Real:
Bureta de 50 mL.	Las buretas son tubos cortos, graduados, de diámetro interno uniforme, provistas de un grifo de cierre o llave de paso en su parte inferior llamado robinete. Se	Marca: Lote: Clave: Volumen Nominal: Volumen Real:

	usan para ver cantidades variables de líquidos, y por ello están graduadas con pequeñas subdivisiones (dependiendo del volumen, de décimas de mililitro o menos). Su uso principal se da en volumetrías, debido a la necesidad de medir con precisión volúmenes de líquido variables.	
Vasos de precipitados de 500 mL.	Se fabrican en vidrio ordinario y en "PIREX", y de distintos tamaños. Son cilíndricos y en la boca llevan un pequeño apéndice en forma de pico para facilitar el vertido de las sustancias cuando se transvasan. Puede ir aforados o graduados, si bien su exactitud es menor que la de un matraz aforado o una probeta.	Marca: Lote: Clave: Volumen Nominal: Volumen Real:
MATERIAL DE REFERENCIA.	DESCRIPCIÓN	CARACTERÍSTICAS GENERALES.
Leche Descremada en Polvo.	Control de calidad en la medición de proteína, grasa, cenizas, lactosa, hierro y zinc en leche y productos lácteos. En la	Magnitud Valores certificados: Proteína (35%), Grasa (0.7%), Cenizas (7%). Valores de Información: lactosa (50%), Hierro

	validación de métodos analíticos.	(197mg/kg), Zinc (209mg/kg). Presentación: Bolsa de aluminio con 130 g de material.
--	-----------------------------------	--

REACTIVOS	PUREZA	CONCENTRACIÓN
Sulfato de Potasio (K ₂ SO ₄)	101.1%	---
Sulfato de Cobre (Cu ₂ SO ₄)	99.5%	---
Carbonato de Sodio Anhidro (Na ₂ CO ₃)	99.9%	---
Ácido Sulfúrico	98%	Concentrado
Agua Destilada	---	---
Ácido Bórico	100.1%	4%
Indicador D'Wes	---	---
Hidróxido de Sodio al (NaOH)	97%	50%
Ácido Clorhídrico	37.1%	0.1 N

RESULTADOS.

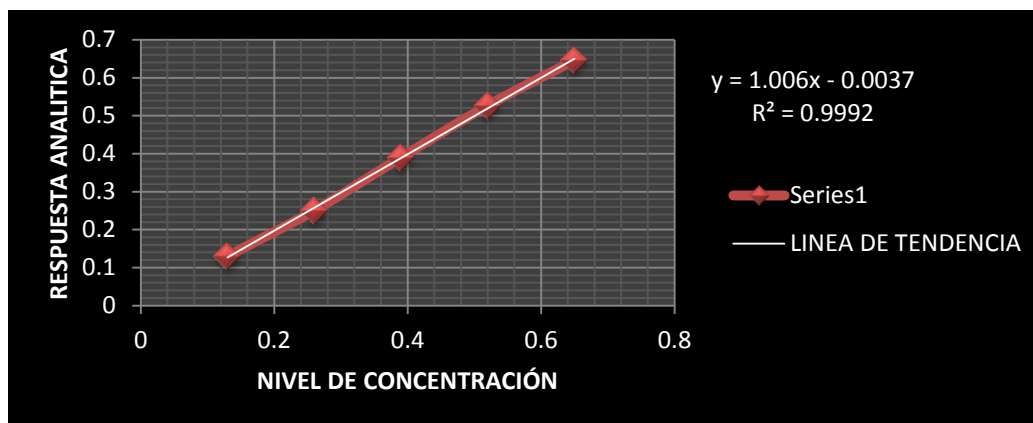
- Resultados de los parámetros evaluados para el método de Proteínas.

Según los parámetros de desempeños que pide la guía del CCAYAC para la validación de métodos fisicoquímicos, se presenta a continuación los resultados obtenidos de los análisis.

Intervalo lineal.

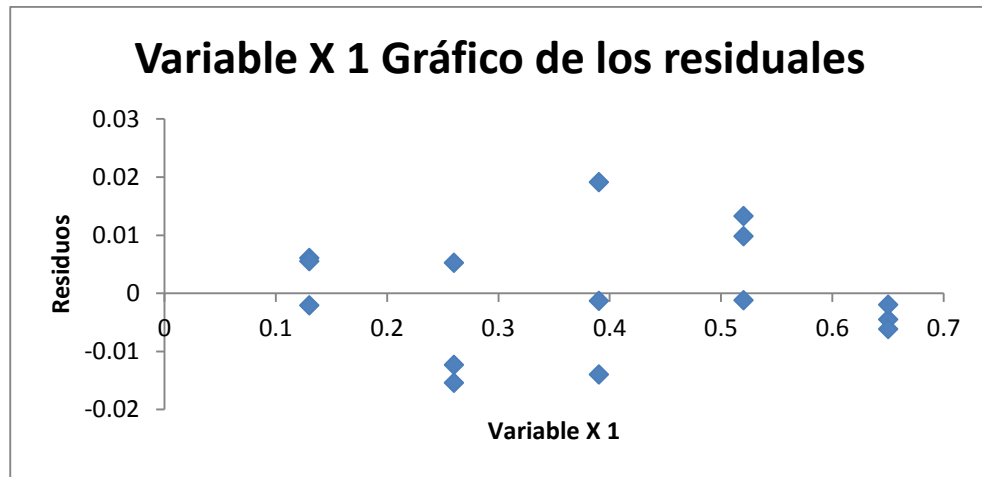
Parámetro	Muestras	Repeticiones	Calcular/determinar	Observaciones
Intervalo lineal	Blancos de muestra (placebos) o muestras adicionadas Mínimo 5 niveles diferentes de concentración	Cada nivel por triplicado	a) Graficar respuesta analítica (y) vs. nivel de concentración adicionado (x) b) Confirmar visualmente la existencia de linealidad del intervalo. c) Elaborar gráfico de residuales. d) Confirmar aleatoriedad de los residuales alrededor de la recta Ver nota 2	a) Utilizar niveles establecidos en la curva de calibración ó utilizar la tabla guía contenida en el anexo A. b) Los niveles de concentración deben estar igualmente espaciados en el intervalo de interés. c) Considerar en el intervalo el valor de la especificación y/o los valores de aceptación y rechazo y estar en la medida de lo posible al centro de este. d) Reportar el intervalo de concentraciones obtenido en las unidades establecidas por el método.

a) Gráfica de respuesta analítica (y) vs nivel de concentración adicionada (x).



b) Se confirma visualmente la existencia de Linealidad de los Resultados obtenidos de los análisis.

c) Gráfico de Residuales.



d) Se confirma la aleatoriedad de las respuestas analíticas obteniendo los siguientes valores de un análisis de residuales.

Análisis de los residuales			
Observación	Pronóstico para Y	Residuos	Residuos estándares
1	0.650218993	-0.00452027	-0.454224251
2	0.650218993	-0.00618084	-0.621088404
3	0.650218993	-0.00199739	-0.200709444
4	0.519439047	0.013283704	1.334826967
5	0.519439047	0.009819003	0.98667285
6	0.519439047	-0.00121195	-0.121784298
7	0.388659102	-0.00130184	-0.13081648
8	0.388659102	0.019098975	1.919180628
9	0.388659102	-0.01399391	-1.406192992
10	0.257879156	-0.0154025	-1.547736902
11	0.257879156	-0.0123091	-1.236892415
12	0.257879156	0.005226883	0.525228841
13	0.12709921	0.006039216	0.606857017
14	0.12709921	-0.00206547	-0.207551131
15	0.12709921	0.005515492	0.554230013

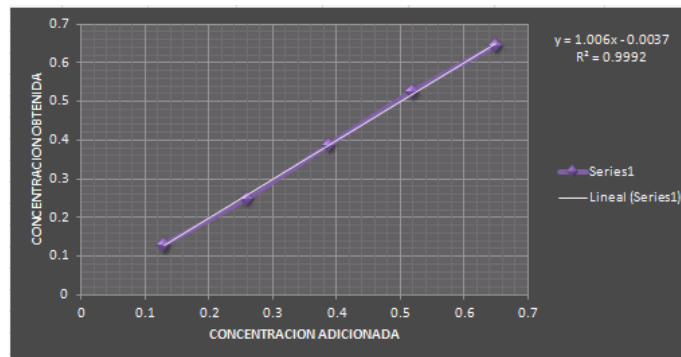
Intervalo de Trabajo.

Intervalo de trabajo	Blancos de muestra (placebos) o muestras adicionadas Mínimo 5 niveles diferentes de concentración.	Cada nivel por triplicado	a) Considerar los niveles que cumplen con los criterios de recuperación y repetibilidad establecidos. b) Graficar la concentración obtenida (y) vs. la concentración adicionada (x) c) Calcular la pendiente (m) y el coeficiente de correlación (r).	a) Utilizar los datos obtenidos en la estimación del intervalo lineal. b) Reportar el intervalo de concentraciones obtenido en las unidades establecidas por el método
----------------------	---	---------------------------	---	---

a) Se consideraron 5 niveles de concentración adicionada con repeticiones por triplicado y se confirmó que todos los datos cumplían con los criterios de aceptación enmarcados en la norma de Determinación de Proteínas (método Kjeldahl) en Alimentos. NMX-F-608-NORMEX-2002.

NIVEL	C. ADICIONADA	REPETICION	C. OBTENIDA	MEDIA
1	0.65	A1	0.645698721	0.64598616
		A2	0.644038151	
		A3	0.648221607	
2	0.52	B1	0.532722751	0.526735965
		B2	0.52925805	
		B3	0.518227095	
3	0.39	C1	0.387357264	0.389926844
		C2	0.407758077	
		C3	0.374665189	
4	0.26	D1	0.242476651	0.25038425
		D2	0.24557006	
		D3	0.263106039	
5	0.13	E1	0.133138426	0.130262289
		E2	0.125033738	
		E3	0.132614702	

b) Gráfico de la concentración obtenida (y) vs la concentración adicionada (x).



- c) Cálculo de la Pendiente (m) con el método de mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación (R²).

CÁLCULO DE PENDIENTE Y COEFICIENTE DE CORRELACION POR MINIMOS CUADRAD

ECUACIÓN DE LA RECTA YA QUE POR LA GRAFICA ESTA TIENDE A UNA LINEA RECTA.

Y=a0 + a1X		X=CONCENTRACION ADICIONADA. Y=RESPUESTA ANALITICA.			
n	X	Y	XY	X ²	Y ²
1	0.65	0.6456987	0.419704169	0.4225	0.41692684
2	0.65	0.6440382	0.418624798	0.4225	0.41478514
3	0.65	0.6482216	0.421344045	0.4225	0.42019125
4	0.52	0.5327228	0.277015831	0.2704	0.28379353
5	0.52	0.5292581	0.275214186	0.2704	0.28011408
6	0.52	0.5182271	0.269478089	0.2704	0.26855932
7	0.39	0.3873573	0.151069333	0.1521	0.15004565
8	0.39	0.4077581	0.15902565	0.1521	0.16626665
9	0.39	0.3746652	0.146119424	0.1521	0.140374
10	0.26	0.2424767	0.063043929	0.0676	0.05879493
11	0.26	0.2455701	0.063848216	0.0676	0.06030465
12	0.26	0.263106	0.06840757	0.0676	0.06922479
13	0.13	0.1331384	0.017307995	0.0169	0.01772584
14	0.13	0.1250337	0.016254386	0.0169	0.01563344
15	0.13	0.1326147	0.017239911	0.0169	0.01758666
Σ=	5.85	5.8298865	2.783697532	2.7885	2.78032677

ΣY= a0N + a1ΣX						
5.829887	=	a0	15	+	a1	5.85
ΣXY= a0ΣX + a1ΣX ²						
2.783698	=	a0	5.85	+	a1	2.7885
CALCULO DEL SISTEMA DE ECUACIONES CON SOLVER						
Ordenada	Pendiente	A	B	TI	IGUAL A	
-0.003681	1.006	15	5.85	-5.829887	-7.28E-14	
		5.85	2.7885	-2.783698	8.88E-14	
$r = \frac{\sum_{i=1}^n XY - \frac{\sum_{i=1}^n X \sum_{i=1}^n Y}{n}}{\sqrt{\left(\sum_{i=1}^n X^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n X)^2}{n} \right) \left(\sum_{i=1}^n Y^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n Y)^2}{n} \right)}}$						
				CORRELACIÓN		
				0.510042		
				r =	0.998652	
				0.51073		

Recuperación Y Sesgo.

Recuperación y sesgo	Blancos de muestra (placebos) o muestras adicionadas. Mínimo 5 niveles diferentes de concentración	Cada nivel por triplicado	a) Calcular la concentración recuperada para cada nivel de concentración adicionado. b) Para el sesgo, efectuar la resta aritmética de la concentración añadida menos la concentración recuperada.	a) Utilizar los datos obtenidos en la estimación del intervalo de trabajo b) Reportar la recuperación como intervalo en % y el sesgo como intervalo en las unidades establecidas por el método.
-----------------------------	---	---------------------------	---	--

a) Concentración recuperada para cada nivel de concentración adicionada.

RECUPERACIÓN Y SESGO.						
NIVEL	C. ADICIONADA	REPETICION	RESPUESTA ANALITICA	MEDIA DE RESPUESTA ANALITICA	% RECUPERACION	MEDIA DEL % DE RECUPERACION
1	0.65	A1	0.645698721	0.64598616	99.33826484	99.38248613
		A2	0.644038151		99.08279249	
		A3	0.648221607		99.72640107	
2	0.52	B1	0.532722751	0.526735965	102.4466829	101.295378
		B2	0.52925805		101.7803943	
		B3	0.518227095		99.65905674	
3	0.39	C1	0.387357264	0.389926844	99.32237548	99.98124193
		C2	0.407758077		104.553353	
		C3	0.374665189		96.0679973	
4	0.26	D1	0.242476651	0.25038425	93.26025044	96.30163466
		D2	0.24557006		94.45002323	
		D3	0.263106039		101.1946303	
5	0.13	E1	0.133138426	0.130262289	102.4141742	100.2017606
		E2	0.125033738		96.17979852	
		E3	0.132614702		102.0113092	

b) Sesgo.

DESVIACIÓN DEL % DE RECUPERACIÓN	COEFICIENTE DE VARIACIÓN DEL % DE RECUPERACION	SESGO
0.324075059	0.326088702	0.00401384
1.45572852	1.437112481	-0.006735965
4.280875384	4.281678544	7.31565E-05
4.27901211	4.443343174	0.00961575
3.488941043	3.461915906	-0.000262289
MAXIMOS OBTENIDOS.		
S _r =	4.280875384	
CV _r =	4.443343174	

Repetibilidad.

Parámetro	Muestras	Repeticiones	Calcular/determinar	Observaciones
Repetibilidad	Blancos de muestra (placebos) o muestras adicionadas. Tres niveles diferentes de concentración (niveles inferior, medio y superior estimados en el intervalo de trabajo)	Cada nivel por sextuplicado.	a) Analizar las muestras por un mismo analista (analista 1) en 2 días diferentes (3 niveles/triplicado /día). b) Calcular el % de recuperación de los 6 resultados para cada nivel c) Calcular la media (x), desviación estándar (s) y el coeficiente de variación (CV _r) de los % de recuperación obtenidos para cada nivel adicionado.	a) Utilizar la información obtenida en la estimación del intervalo de trabajo como los datos para el día 1 (cada nivel por triplicado por día). b) Reportar la desviación estándar (s) o coeficiente de variación (CV _r) máximos obtenidos. c) Si no se cuenta con dos analistas o dos equipos para estimar la reproducibilidad, estimar solo la repetibilidad con el mismo analista pero utilizando un tercer día.

a) Se analizaron las muestras de leche descremada en polvo (leche NAN 2 con protect plus) por un mismo analista en 2 días diferentes con sus respectivas repeticiones por triplicado.

b) % de recuperación.

REPETIBILIDAD								
NIVEL	ADICIONADA	REPETICIONES	RESPUESTA ANALITICA (DÍA 1)	RESPUESTA ANALITICA (DÍA 2)	MEDIA DE R. ANALITICA (DÍA 1 Y 2)	MEDIA DE R. ANALITICA POR NIVEL	% RECUPERACIÓN	MEDIA DE % RECUPERACIÓN
1	0.65	A1	0.645638721	0.643214223	0.644456472	0.647430332	99.14714958	99.60466639
		A2	0.644038151	0.649985733	0.647011942		99.54023878	
		A3	0.648221607	0.653423554	0.650822558		100.1265508	
3	0.39	C1	0.387357264	0.400165954	0.393761609	0.392495415	100.9645152	100.63985
		C2	0.407758077	0.393395303	0.400576669		102.7119717	
		C3	0.374665189	0.391630704	0.383147947		98.24306323	
5	0.13	E1	0.133138426	0.123111277	0.128124852	0.127563034	98.55757831	98.12541088
		E2	0.125033738	0.124896722	0.12496523		96.12709986	
		E3	0.132614702	0.12658334	0.129599021		99.69155446	

c) Cálculo de la media (x), desviación estándar (Sr) y coeficiente de variación (CVr) de los % de recuperación obtenidos para cada nivel de concentración adicionada.

MEDIA DE % RECUPERACIÓN	DESVIACIÓN ESTANDAR DEL % RECUPERACIÓN	COEFICIENTE DE VARIACIÓN DEL % DE RECUPERACIÓN
99.60466639	0.492863146	0.494819333
100.63985	2.252074911	2.237756625
98.12541088	1.821101503	1.85589185
MAXIMOS OBTENIDOS.		
	Sr=	2.252074911
	CVr=	2.237756625

Reproducibilidad.

Reproducibilidad (Precisión intermedia)	Blancos de muestra (placebos) o muestras adicionadas. Tres niveles diferentes de concentración (niveles inferior, medio y superior estimados en el intervalo de trabajo).	Cada nivel por sextuplicado.	<p>a) Analizar las muestras en 2 días diferentes (3 niveles/triplicado/día) y por un analista diferente (analista 2)</p> <p>b) Calcular el % de recuperación de los 6 resultados para cada nivel</p> <p>c) Combinar estos resultados con los datos obtenidos en la estimación de la repetibilidad y calcular la media (x), desviación estándar (sr) y el coeficiente de variación (CVr) de los % de recobro para cada nivel.</p>	Reportar la desviación estándar (sr) o coeficiente de variación (CVr) máximos obtenidos
--	--	------------------------------	--	---

- a) Para la estimación de la reproducibilidad no se contaba con 2 analistas por cual se utilizó un tercer día para su estimación, realizando sus respectivas repeticiones por triplicado.
- b) Cálculo del % de recuperación para cada nivel de concentración adicionado.

REPRODUCIBILIDAD							
NIVEL	C. ADICIONADA	REPETICION	ESPUESTA ANALITICA(DIA 1)	ESPUESTA ANALITICA(DIA 2)	MEDIA DE R. ANALITICA (DIA 1 Y 2)	RESPUESTA ANALITICA (DIA 3)	MEDIA DE R.A. DE (DIA 1 Y 2) CON DIA 3
1	0.65	A1	0.645638721	0.643214223	0.644456472	0.65249555	0.648476011
		A2	0.644038151	0.649985733	0.647011942	0.649372735	0.648492338
		A3	0.648221607	0.653423554	0.65082258	0.651619885	0.651221233
3	0.39	C1	0.387357264	0.400165854	0.393761609	0.39996639	0.391879124
		C2	0.407758077	0.393395303	0.40057669	0.391709027	0.396142858
		C3	0.374665189	0.391630704	0.383147947	0.39335597	0.388251958
5	0.13	E1	0.133138426	0.123111277	0.128124852	0.12995564	0.129040208
		E2	0.125033738	0.124896722	0.12496523	0.134215894	0.129590562
		E3	0.132614702	0.12658334	0.129599021	0.13243752	0.13101827

- c) Calculo de la media (x), desviación estándar (Sr) y coeficiente de variación (CVr) del % de recuperación para cada nivel de concentración adicionada.

MEDIA DE R.A. DE (DIA 1 Y 2) CON DIA 3	MEDIA DE R. A. POR NIVEL	% RECUPERACIÓN	MEDIA DEL % RECUPERACIÓN	DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE % DE RECUPERACIÓN	COEFICIENTE DE VARIACIÓN
0.648476011		99.78554019			
0.648492338	0.649396527	99.76305205	99.90715807	0.243117273	0.243343198
0.651221233		100.187882			
0.391879124		100.4818267			
0.396142858	0.392091314	101.5750919	100.5362343	1.012750564	1.007348815
0.388251958		99.55178417			
0.129040208		99.26169845			
0.129590562	0.129883013	99.68504771	99.91001038	0.78534232	0.786049683
0.13101827		100.783285			
MAXIMOS OBTENIDOS					
					Sr= 1.012750564
					CVr= 1.007348815

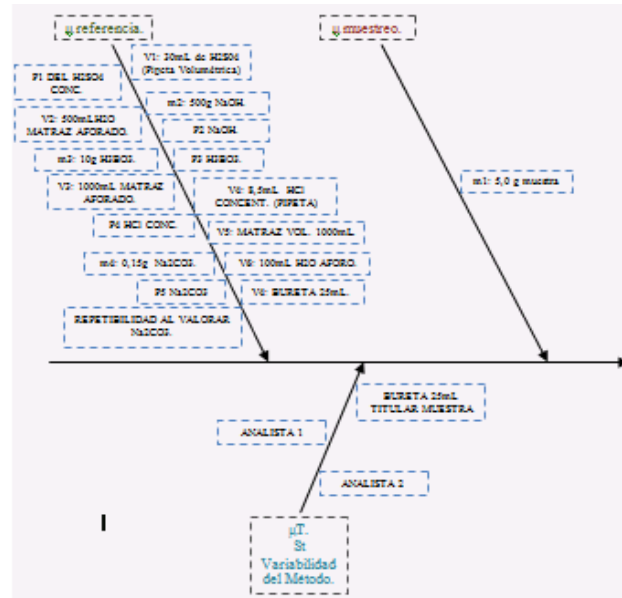
Incertidumbre.

Parámetro	Muestras	Repeticiones	Calcular/determinar	Observaciones
Incertidumbre	No aplica	Utilizar la información obtenida en el proceso de validación.	a) Especificar el mensurando. b) Identificar las fuentes de incertidumbre c) Cuantificar los componentes de la incertidumbre (u) d) Calcular la incertidumbre estándar combinada (u_c) e) Calcular la incertidumbre expandida (U_{exp})	Puede utilizarse como guía los criterios establecidos en las referencias 2, 12, 14, 16 y 18.

- a) Mensurando: Nitrógeno Amoniacal.

b) Fuentes de Incertidumbre

Fuentes de Incertidumbre para el método del CCAYAC.



Fuentes de Incertidumbre con el método del CENAM.

1) FUENTES DE INCERTIDUMBRE DEL PROCESO DE PREPARACIÓN DE LA DISOLUCIÓN DE C1.
CONCENTRACIÓN DE CANTIDAD DE SUSTANCIA DE CARBONATO DE SODIO ANHIDRO (Na₂CO₃).

TABLA 1. FUENTES DE INCERTIDUMBRE.			
C1 CONCENTRACIÓN DE CANTIDAD DE SUSTANCIA DE Na ₂ CO ₃ .			
m, MASA DEL Na ₂ CO ₃ ANHIDRO.	P, PUREZA DEL Na ₂ CO ₃ .	VOLUMEN DE DISOLUCIÓN DE Na ₂ CO ₃	M(Na ₂ CO ₃) MASA MOLECULAR.
*R, REPETIBILIDAD.	*CERTIFICADO DE ANALISIS	DATOS DE CALIBRACIÓN O ESPECIFICACIONES DEL FABRICANTE.	*PESOS ATÓMICOS DEL Na, C Y O.
*LINEALIDAD.			

2) FUENTES DE INCERTIDUMBRE DEL PROCESO DE TITULACIÓN DE LA DISOLUCIÓN DE HCl CON Na₂CO₃, C2.

TABLA. FUENTES DE INCERTIDUMBRE		
C2, CONCENTRACIÓN DE CANTIDAD DE SUSTANCIA DE HCl.		
C1, CONTENIDO DE CANTIDAD DE SUSTANCIA DE Na ₂ CO ₃ .	V1, VOLUMEN DE DISOLUCIÓN DE Na ₂ CO ₃ UTILIZADA PARA TITULAR EL HCl.	V2, VOLUMEN DE HCl GASTADO EMPLEADO PARA VALORAR EL HCl.
*LA INCERTIDUMBRE COMBINADA PARA ESTA MAGNITUD DE ENTRADA SE DETERMINÓ ANTERIORMENTE.	*LA INCERTIDUMBRE COMBINADA PARA ESTA MAGNITUD DE ENTRADA SE DETERMINÓ ANTERIORMENTE.	*ΔT, DIFERENCIA DE TEMPERATURA DE CALIBRACIÓN Y DE TRABAJO.
		*CALIBRACIÓN O ESPECIFICACIÓN DE LA BURETA.
		*R, REPETIBILIDAD.

4) FUENTES DE INCERTIDUMBRE DEL PROCESO DE PREPARACIÓN DE LA DISOLUCIÓN DE CONCENTRACIÓN DE SUSTANCIA DE NaOH.

TABLA. FUENTES DE INCERTIDUMBRE.			
m, MASA DE NaOH.	P, PUREZA DE NaOH	V0, VOLUMEN DE DISOLUCIÓN	M(NaOH) PESO MOLECULAR.
*R, REPETIBILIDAD.	*CERTIFICADO	DATOS DE CALIBRACIÓN.	*PESOS ATÓMICOS DE Na, O e H.
*LINEALIDAD.		*R, REPETIBILIDAD.	
		*ΔT, DIFERENCIA DE TEMPERATURA DE CALIBRACIÓN Y DE TRABAJO.	

5) FUENTES DE INCERTIDUMBRE DEL PROCESO DE TITULACIÓN DEL NITRÓGENO AMONICAL EN LA MUESTRA.			
TABLA. FUENTES DE INCERTIDUMBRES.			
V. VOLUMEN DE HCl GASTADO EN LA MUESTRA.	N = C2 , CONCENTRACIÓN DE LA DISOLUCIÓN DE HCl.	mMUESTRA, MASA DE LA MUESTRA.	Vb. VOLUMEN DE HCl GASTADO EN EL BLANCO.
*ΔT, DIFERENCIA DE TEMPERATURA DE CALIBRACIÓN Y LA DE TRABAJO. *R, REPETIBILIDAD	LA INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR DE ESTA MAGNITUD DE ENTRADA SE ESTIMÓ CON ANTERIORIDAD.	*R, REPETIBILIDAD. *LINEALIDAD.	*ΔT, DIFERENCIA DE TEMPERATURA DE CALIBRACIÓN Y LA DE TRABAJO. *R, REPETIBILIDAD
*CALIBRACIÓN O ESPECIFICACIÓN DE LA BURETA DE 25 mL.			*CALIBRACIÓN O ESPECIFICACIÓN DE LA BURETA DE 25 mL.

c) Cálculo de la Incertidumbre Estándar Combinada.

Cálculo de la Incertidumbre Estándar Combinada por método del CCAYAC.

μ%PROTEINAS=	0.508002813		
% PROTEINAS		nivel de confianza 95%--	2
μ%PROTEINAS=	0.066040366		

Cálculo de la Incertidumbre Estándar Combinada por el método del CENAM.

μ%NITROGENO=	0.262220413	%
--------------	-------------	---

d) Cálculo de la Incertidumbre Expandida.

Cálculo de la Incertidumbre Expandida por el método del CCAYAC.

μ%PROTEINAS=	0.508002813		
% PROTEINAS		nivel de confianza 95%--	2
μ%PROTEINAS=	0.066040366		
μEXP. %PROTEINAS=	0.132080731		

Cálculo de la Incertidumbre Expandida por el método del CENAM.

CONSIDERANDO UN NIVEL DE CONFIANZA DEL 95% Y UN FACTOR DE COBERTURA=		2
μ%NITROGENO=	0.524440826	%

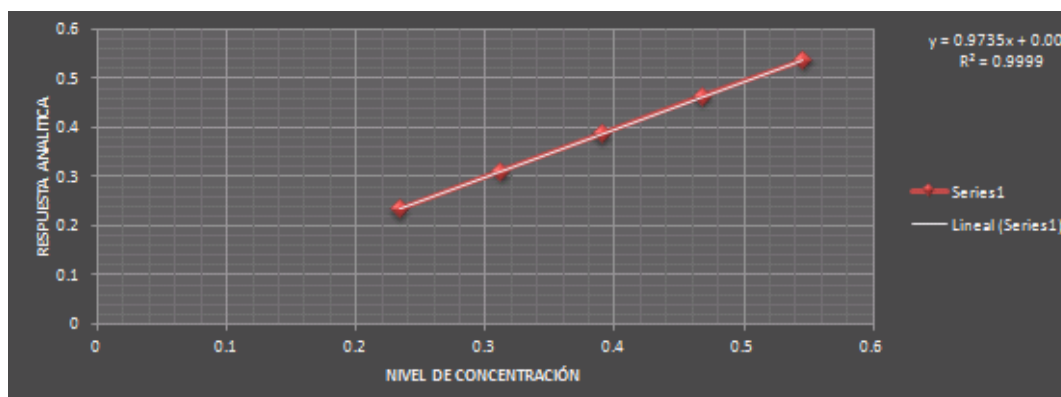
- **Resultados de los parámetros evaluados para el método de Grasas y Aceites.**

Según los parámetros de desempeños que pide la guía del CCAYAC para la validación de métodos fisicoquímicos, se presenta a continuación los resultados obtenidos de los análisis.

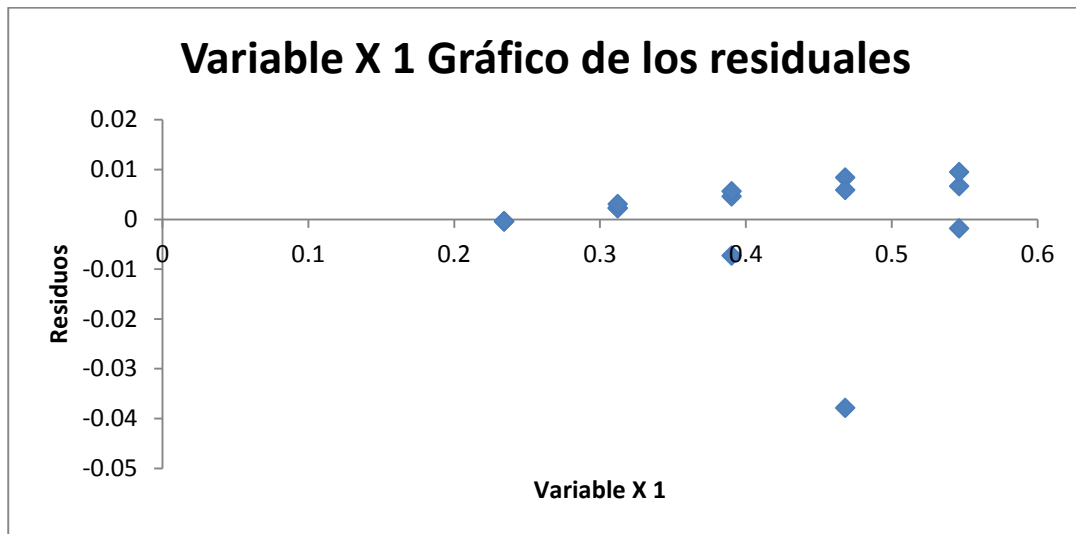
Intervalo Lineal.

Parámetro	Muestras	Repeticiones	Calcular/determinar	Observaciones
Intervalo lineal	Blancos de muestra (placebos) o muestras adicionadas Mínimo 5 niveles diferentes de concentración	Cada nivel por triplicado	a) Graficar respuesta analítica (y) vs. nivel de concentración adicionado (x) b) Confirmar visualmente la existencia de linealidad del intervalo. c) Elaborar gráfico de residuales. d) Confirmar aleatoriedad de los residuales alrededor de la recta Ver nota 2	a) Utilizar niveles establecidos en la curva de calibración ó utilizar la tabla guía contenida en el anexo A. b) Los niveles de concentración deben estar igualmente espaciados en el intervalo de interés. c) Considerar en el intervalo el valor de la especificación y/o los valores de aceptación y rechazo y estar en la medida de lo posible al centro de este. d) Reportar el intervalo de concentraciones obtenido en las unidades establecidas por el método.

e) Gráfica de respuesta analítica (y) vs nivel de concentración adicionada (x).



- f) Se confirma visualmente la existencia de Linealidad de los Resultados obtenidos de los análisis.
- g) Gráfico de Residuales.



- h) Se confirma la aleatoriedad de las respuestas analíticas obteniendo los siguientes valores de un análisis de residuales.

Análisis de los residuales			
<i>Observación</i>	<i>Pronóstico para Y'</i>	<i>Residuos</i>	<i>Residuos estándares</i>
1	0.532269363	0.00667486	0.588225332
2	0.532269363	0.009469768	0.834527905
3	0.532269363	-0.00182403	-0.160743548
4	0.457763203	0.008420252	0.742038777
5	0.457763203	0.005889058	0.518976128
6	0.457763203	-0.037868176	-3.337151541
7	0.383257043	-0.007282627	-0.641785078
8	0.383257043	0.004571478	0.402863688
9	0.383257043	0.005626292	0.495819772
10	0.308750882	0.002238129	0.202124208
11	0.308750882	0.002238129	0.197236172
12	0.308750882	0.003032199	0.26721401
13	0.234244722	-0.00043956	-0.038736438
14	0.234244722	-0.000400618	-0.035304633
15	0.234244722	-0.000400618	-0.035304633

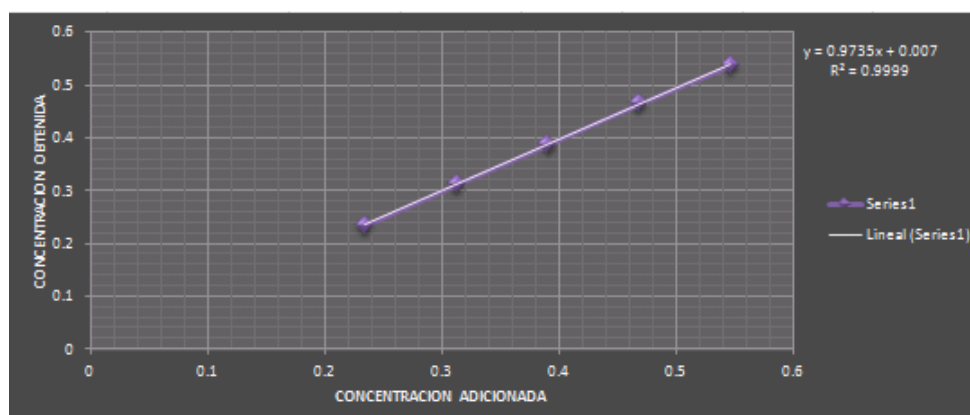
Intervalo de Trabajo.

Intervalo de trabajo	Blancos de muestra (placebos) o muestras adicionadas Mínimo 5 niveles diferentes de concentración.	Cada nivel por triplicado	a) Considerar los niveles que cumplen con los criterios de recuperación y repetibilidad establecidos. b) Graficar la concentración obtenida (y) vs. la concentración adicionada (x) c) Calcular la pendiente (m) y el coeficiente de correlación (r).	a) Utilizar los datos obtenidos en la estimación del intervalo lineal. b) Reportar el intervalo de concentraciones obtenido en las unidades establecidas por el método
----------------------	---	---------------------------	---	---

d) Se consideraron 5 niveles de concentración adicionada con repeticiones por triplicado y se confirmó que todos los datos cumplían con los criterios de aceptación enmarcados en la norma de Determinación de Extracto Etéreo (método Soxhlet) en Alimentos. NMX-F-615-NORMEX-2004.

NIVEL	C. ADICIONADA (%)	REPETICION	C. OBTENIDA (%)	MEDIA
1	0.546	A1	0.538944223	0.5370429
		A2	0.54173913	
		A3	0.530445333	
2	0.468	B1	0.466183454	0.46417335
		B2	0.463652261	
		B3	0.462684329	
3	0.39	C1	0.383769738	0.3868272
		C2	0.38782852	
		C3	0.388883335	
4	0.312	D1	0.311044478	0.31127219
		D2	0.310989011	
		D3	0.311783081	
5	0.234	E1	0.233805162	0.23383112
		E2	0.233844104	
		E3	0.233844104	

e) Gráfico de la concentración obtenida (y) vs la concentración adicionada (x).



- f) Cálculo de la Pendiente (m) con el método de mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación (R²).

CÁLCULO DE PENDIENTE Y COEFICIENTE DE CORRELACION POR MINIMOS CUADRADOS.

ECUACIÓN DE LA RECTA YA QUE POR LA GRAFICA ESTA TIENDE A UNA LINEA RECTA.

Y= a0 + a1X X=CONCENTRACION ADICIONADA.
Y=RESPUESTA ANALITICA.

n	X	Y	XY	X ²	Y ²
1	0.546	0.538944223	0.294263546	0.298116	0.290460876
2	0.546	0.54173913	0.295789565	0.298116	0.293481285
3	0.546	0.530445333	0.289623152	0.298116	0.281372251
4	0.468	0.466183454	0.218173857	0.219024	0.217327013
5	0.468	0.463652261	0.216989258	0.219024	0.214973419
6	0.468	0.462684329	0.216536266	0.219024	0.214076788
7	0.39	0.383769738	0.149670198	0.1521	0.147279212
8	0.39	0.38782852	0.151253123	0.1521	0.150410961
9	0.39	0.388883335	0.151664501	0.1521	0.151230248
10	0.312	0.311044478	0.097045877	0.097344	0.096748667
11	0.312	0.310989011	0.097028571	0.097344	0.096714165
12	0.312	0.311783081	0.097276321	0.097344	0.09720869
13	0.234	0.233805162	0.054710408	0.054756	0.054664854
14	0.234	0.233844104	0.05471952	0.054756	0.054683065
15	0.234	0.233844104	0.05471952	0.054756	0.054683065
Σ=	5.85	5.799440263	2.439463683	2.46402	2.415314559

ΣY= a0N + a1ΣX						COMPROBACION	
5.799440263	=	a0	15	+	a1	5.85	5.799440263
ΣXY= a0ΣX + a1ΣX ²							
2.439463683	=	a0	5.85	+	a1	2.46402	2.439463683

CALCULO DEL SISTEMA DE ECUACIONES CON SOLVER					
VALORES		COEFICIENTES			IGUAL A
X=	Y=	X	Y	TI	
6.97E-03	0.97349321	15	5.85	-5.7994403	-5.22E-13
		5.85	2.46402	-2.4394637	2.78E-13

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n XY - \frac{\sum_{i=1}^n X \sum_{i=1}^n Y}{n}}{\sqrt{\left(\sum_{i=1}^n X^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n X)^2}{n} \right) \left(\sum_{i=1}^n Y^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n Y)^2}{n} \right)}}$$

CORRELACIÓN
0.17768198
.....
0.177737716 0.9996864

Recuperación Y Sesgo.

Recuperación y sesgo	Blancos de muestra (placebos) o muestras adicionadas. Mínimo 5 niveles diferentes de concentración	Cada nivel por triplicado	a) Calcular la concentración recuperada para cada nivel de concentración adicionado. b) Para el sesgo, efectuar la resta aritmética de la concentración añadida menos la concentración recuperada.	a) Utilizar los datos obtenidos en la estimación del intervalo de trabajo b) Reportar la recuperación como intervalo en % y el sesgo como intervalo en las unidades establecidas por el método.
----------------------	---	---------------------------	---	--

c) Concentración recuperada para cada nivel de concentración adicionada.

RECUPERACIÓN Y SESGO.						
NIVEL	C. ADICIONADA	REPETICIÓN	RESPUESTA ANALÍTICA	MEDIA DE RESPUESTA ANALÍTICA	% RECUPERACIÓN	MEDIA DEL % DE RECUPERACIÓN
1	0.546	A1	0.538944223	0.537042895	98.70773317	98.35950465
		A2	0.54173913		99.21962096	
		A3	0.530445333		97.15115981	
2	0.468	B1	0.466183454	0.464173348	99.61184917	99.18233931
		B2	0.463652261		99.0709959	
		B3	0.462684329		98.86417285	
3	0.39	C1	0.383769738	0.386827198	98.40249696	99.18646096
		C2	0.38782852		99.44321027	
		C3	0.388883335		99.71367564	
4	0.312	D1	0.311044478	0.31127219	99.69374287	99.76672757
		D2	0.310989011		99.67596506	
		D3	0.311783081		99.93047479	
5	0.234	E1	0.233805162	0.233831123	99.91673605	99.92783052
		E2	0.233844104		99.9337775	
		E3	0.233844104		99.9337775	

d) Sesgo.

DESVIACIÓN DEL % DE RECUPERACIÓN	DEFICIENTE DE VARIACIÓN DEL % DE RECUPERACIÓN	SESGO
1.077302282	1.095270138	0.008957105
0.386073813	0.389256611	0.003826652
0.692269844	0.697947923	0.003172802
0.142087563	0.142419789	0.00072781
0.009608087	0.009615026	0.000168877
MAXIMOS OBTENIDOS.		
Sr=	1.077302282	
CVr=	1.095270138	

Repetibilidad.

Parámetro	Muestras	Repeticiones	Calcular/determinar	Observaciones
Repetibilidad	Blancos de muestra (placebos) o muestras adicionadas. Tres niveles diferentes de concentración (niveles inferior, medio y superior estimados en el intervalo de trabajo)	Cada nivel por sextuplicado.	a) Analizar las muestras por un mismo analista (analista 1) en 2 días diferentes (3 niveles/triplicado /día). b) Calcular el % de recuperación de los 6 resultados para cada nivel c) Calcular la media (x), desviación estándar (s) y el coeficiente de variación (CV) de los % de recuperación obtenidos para cada nivel adicionado.	a) Utilizar la información obtenida en la estimación del intervalo de trabajo como los datos para el día 1 (cada nivel por triplicado por día). b) Reportar la desviación estándar (s) o coeficiente de variación (CV) máximos obtenidos. c) Si no se cuenta con dos analistas o dos equipos para estimar la reproducibilidad, estimar solo la repetibilidad con el mismo analista pero utilizando un tercer día.

a) Se analizaron las muestras de leche descremada en polvo (leche NAN 2 con protect plus) por un mismo analista en 2 días diferentes con sus respectivas repeticiones por triplicado.

b) % de recuperación.

REPETIBILIDAD									
NIVEL	C. ADICIONADA	REPETICION	RESPUESTA ANALITICA(DIA 1)	RESPUESTA ANALITICA(DIA 2)	MEDIA DE R. ANALITICA (DIA 1 Y 2)	MEDIA DE R. ANALITICA POR NIV.	% RECUPERACION	MEDIA DE % RECUPERACION	
1	0.546	A1	0.538944223	0.09148633	0.315215577	0.321565008	57.73179062	58.89469014	
		A2	0.54173913	0.065588946	0.303662538		55.61584948		
		A3	0.530445333	0.161188487	0.34581631		63.33643032		
3	0.39	C1	0.383769738	0.383854441	0.38386209	0.38403068	98.42617682	98.46940522	
		C2	0.387822852	0.379862014	0.383845267		98.42186331		
		C3	0.388883335	0.379886034	0.384384685		98.56017554		
5	0.234	E1	0.233805162	0.228961906	0.231183534	0.223031487	98.7963822	97.87670402	
		E2	0.233844104	0.210789211	0.222316657		95.00711853		
		E3	0.233844104	0.233344437	0.23359427		99.82661132		

c) Cálculo de la media (x), desviación estándar (Sr) y coeficiente de variación (Cvr) de los % de recuperación obtenidos para cada nivel de concentración adicionada.

MEDIA DE % RECUPERACION	DESVIACION ESTANDAR DEL % RECUPERACION	COEFICIENTE DE VARIACION DEL % DE RECUPERACION
58.89469014	3.989497915	6.773951786
98.46940522	0.07863898	0.079861334
97.87670402	2.537958562	2.593015965
MAXIMOS OBTENIDOS.		
	Sr=	3.989497915
	Cvr=	6.773951786

Reproducibilidad.

Reproducibilidad (Precisión intermedia)	Blancos de muestra (placebos) o muestras adicionadas. Tres niveles diferentes de concentración (niveles inferior, medio y superior estimados en el intervalo de trabajo).	Cada nivel por sextuplicado.	a) Analizar las muestras en 2 días diferentes (3 niveles/triplicado/día) y por un analista diferente (analista 2) b) Calcular el % de recuperación de los 6 resultados para cada nivel c) Combinar estos resultados con los datos obtenidos en la estimación de la repetibilidad y calcular la media (x), desviación estándar (sr) y el coeficiente de variación (Cvr) de los % de recobro para cada nivel.	Reportar la desviación estándar (sr) o coeficiente de variación (Cvr) máximos obtenidos
--	--	------------------------------	---	---

- d) Para la estimación de la reproducibilidad no se contaba con 2 analistas por cual se utilizó un tercer día para su estimación, realizando sus respectivas repeticiones por triplicado.
- e) Cálculo del % de recuperación para cada nivel de concentración adicionado.

REPRODUCIBILIDAD							
NIVEL	C. ADICIONADA	REPETICION	ESPUESTA ANALITICA(DIA 1)	ESPUESTA ANALITICA(DIA 2)	MEDIA DE R. ANALITICA (DIA 1 Y 2)	ESPUESTA ANALITICA (DIA 3)	MEDIA DE R. A. DE (DIA 1 Y 2) CON DIA 3
1	0.546	A1	0.538944223	0.09148693	0.315215577	0.434668952	0.374942264
		A2	0.54173913	0.065585946	0.303662538	0.33697965	0.320321094
		A3	0.530445333	0.161188487	0.34581691	0.125946023	0.235891466
3	0.39	C1	0.383769738	0.383954441	0.38386209	0.109878024	0.246870057
		C2	0.38782852	0.379862014	0.383845267	0.058847038	0.221346152
		C3	0.388883335	0.379886034	0.384384685	0.196501749	0.290443217
5	0.234	E1	0.233805162	0.228561906	0.231183534	0.047860117	0.139521825
		E2	0.233844104	0.210789211	0.222316657	0.087956022	0.15513634
		E3	0.233844104	0.233344437	0.23359427	0.19121318	0.176357794

- f) Calculo de la media (x), desviación estándar (Sr) y coeficiente de variación (CVr) del % de recuperación para cada nivel de concentración adicionada.

MEDIA DE R. A. POR NIVEL	% RECUPERACIÓN	MEDIA DEL % RECUPERACIÓN	DESVIACIÓN ESTANDAR DE % DE RECUPERACIÓN	COEFICIENTE DE VARIACIÓN
0.310381608	68.67074441	56.84644841	12.8317212	22.57259962
	58.66686706			
	43.20173376			
0.252886475	63.30001461	64.84268599	8.958774199	13.81616764
	56.75542366			
	74.47261971			
0.15700532	59.62471174	67.09629051	7.901268683	11.77601418
	66.29758106			
	75.36657874			
MAXIMOS OBTENIDOS				
			Sr=	12.8317212
			CVr=	22.57259962

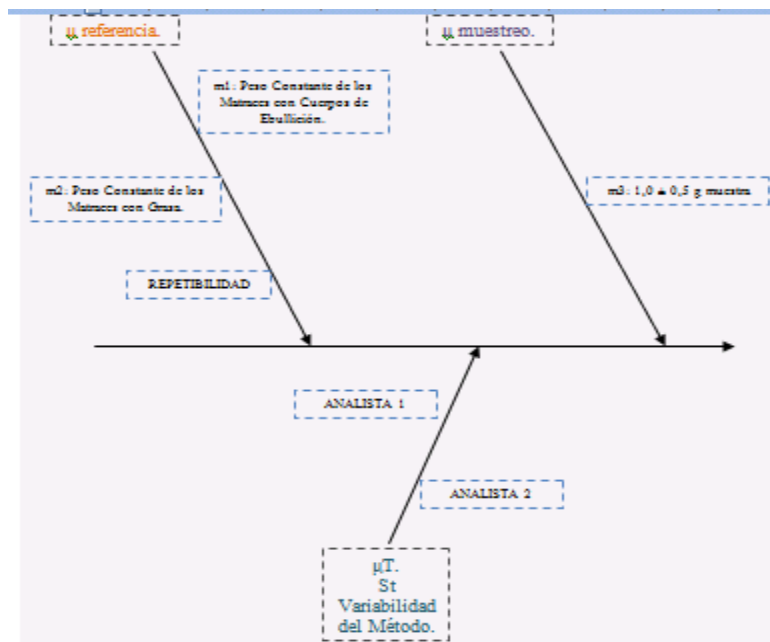
Incertidumbre.

Parámetro	Muestras	Repeticiones	Calcular/determinar	Observaciones
Incertidumbre	No aplica	Utilizar la información obtenida en el proceso de validación.	a) Especificar el mensurando. b) Identificar las fuentes de incertidumbre c) Cuantificar los componentes de la incertidumbre (u) d) Calcular la incertidumbre estándar combinada (u _c) e) Calcular la incertidumbre expandida (U _{exp})	Puede utilizarse como guía los criterios establecidos en las referencias 2, 12, 14, 16 y 18.

- e) Mensurando: Extracto Etéreo.

Fuentes de Incertidumbre

Fuentes de Incertidumbre para el método del CCAYAC.



Fuentes de Incertidumbre con el método del CENAM.

FUENTES DE INCERTIDUMBRE DEL PROCESO DE DETERMINACIÓN DE EXTRACTO ETÉREO (MÉTODO SOXHLET) EN ALIMENTOS			
		% DE EXTRACTO ETÉREO POR EL MÉTODO SOXHLET EN ALIMENTOS.	
* (A) MASA DEL MATRAZ CON CUERPOS DE EBULLICIÓN O VASO.		* (C) MASA DEL MATRAZ CON CUERPOS DE EBULLICIÓN + GRASA.	* (B) MASA DE LA MUESTRA.
* REPETIBILIDAD		* REPETIBILIDAD	* REPETIBILIDAD
* LINEALIDAD		* LINEALIDAD	* LINEALIDAD

f) Cálculo de la Incertidumbre Estándar Combinada.

Cálculo de la Incertidumbre Estándar Combinada por método del CCAYAC.

6.- CÁLCULO DE INCERTIDUMBRE DEL % EXTRACTO ETÉREO EN LECHE NAN 2.			
μ %EXTRACTO ETÉREO=	0.485064511		
% EXTRACTO ETÉREO			niv
μ %EXTRACTO ETÉREO=	0.189175159		

Cálculo de la Incertidumbre Estándar Combinada por el método del CENAM.

7.- ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE ASOCIADA CON EL % EXTRACTO ETÉREO.			
	μ % EXTRACTO ETÉREO=	$\sqrt{((\mu R)^2)+((\mu \% E. E)^2)}$	
	μ % E. E=	400.6791825	

g) Cálculo de la Incertidumbre Expandida.

Cálculo de la Incertidumbre Expandida por el método del CCAYAC.

6.- CÁLCULO DE INCERTIDUMBRE DEL % EXTRACTO ETÉREO EN LECHE NAN 2.			
	μ %EXTRACTO ETÉREO=	0.485064511	
	% EXTRACTO ETÉREO		nivel de confianza 95%----k= 2
	μ %EXTRACTO ETÉREO=	0.189175159	
	μ EXP. %EXTRACTO ETÉREO=	0.378350318	

Cálculo de la Incertidumbre Expandida por el método del CENAM.

μ % EXTRACTO ETÉREO=	$\sqrt{((\mu R)^2)+((\mu \% E. E)^2)}$	
μ % E. E=	400.6791825	
CONSIDERANDO UN NIVEL DE CONFIANZA DEL 95% Y UN FACTOR DE COBERTURA DE =		2
	μ % E. E=	4.80815019 %

FORMATO DE REPORTE DE CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RESULTADOS OBTENIDOS EN LA EVALUACION DE LOS PARAMETROS DE DESEMPEÑO DE LA VALIDACION DE LA NORMA: NMX-F-608-NORMEX-2002. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS (MÉTODO KJELDAHL) EN ALIMENTOS.

PARAMETROS EVALUADOS.	RESULTADOS.					CRITERIOS DE ACEPTACION.		CUMPLIMIENTO.	
								SI	NO
INTERVALO LINEAL.	LINEALIDAD DEL INTERVALO ALEATORIDAD DE RESIDUALES					<ul style="list-style-type: none"> EXISTENCIA DE LINEALIDAD DEL INTERVALO. DATOS ALEATORIOS EN GRAFICO DE RESIDUALES. 		SI	
INTERVALO DE TRABAJO.	PENDIENTE=1.0059 $R^2=0.9986$					<ul style="list-style-type: none"> PENDIENTE: VALOR CERCANO A 1. COEFICIENTE DE CORRELACIÓN: $R^2 \leq 0.99$ 		SI	
LIMITE DE CUANTIFICACIÓN.	LIMITE DE CUANTIFICACIÓN.		NIVEL INFERIOR DEL INTERVALO DE TRABAJO.			<ul style="list-style-type: none"> $LC \leq$ NIVEL INFERIOR ESTIMADO EN EL INTERVALO DE TRABAJO. 			NO APLICA
	NO APLICA		NO APLICA						
RECUPERACIÓN Y SESGO.	NIVELES % DE RECUPERACIÓN.					CONCENTRACION DEL ANALITO.	CRITERIO DE ACEPTACION.	SI	
	1	2	3	4	5	0.1 a 1%	90 - 108 %		
						1 a 10 %	92- 105 %		
	99.38 24861 3	101.2 95378	99.98 12419 3	96.30 16346 6	100.2 01760 6	10 a 99%	95 – 102 %		
						100 %	98 – 101 %		
REPETIBILIDAD.	C.V. DEL % RECUPERACIÓN.					<ul style="list-style-type: none"> LA DIFERENCIA ENTRE DOS DATOS INDIVIDUALES OBTENIDOS EN LA MISMA MUESTRA Y LABORATORIO, POR EL MISMO ANALISTA SIGUIENDO EL MISMO MÉTODO, CON EL MISMO MATERIAL, EL MISMO EQUIPO Y BAJO LAS MISMAS CONDICIONES EN FORMA SIMULTÁNEA, EN UN CORTO INTERVALO DE TIEMPO NO DEBE EXCEDER $\pm 0.2g/100g$ ENTRE AMBOS RESULTADOS. 		SI	
	NIVEL 1		NIVEL 2		NIVEL 3				
	0.494819333		2.237756625		1.85589185				
REPRODUCIBILIDAD.	C.V. DEL % RECUPERACIÓN.					<ul style="list-style-type: none"> LA DIFERENCIA ABSOLUTA OBTENIDA ENTRE AMBOS RESULTADOS, ANALIZANDO LA MISMA MUESTRA, APLICANDO EL MISMO MÉTODO DE ENSAYO, EN CONDICIONES DIFERENTES DE LABORATORIO, ANALISTAS Y EQUIPOS, NO DEBERA EXCEDER $\pm 0.3g/100g$ ENTRE AMBOS RESULTADOS. 		SI	
	NIVEL 1		NIVEL 2		NIVEL 3				
	0.243343198		1.007348815		0.786049683				

FORMATO DE REPORTE DE CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RESULTADOS OBTENIDOS EN LA EVALUACION DE LOS PARAMETROS DE DESEMPEÑO DE LA VALIDACION DE LA NORMA: NMX-F-615-NORMEX-2004. DETERMINACIÓN DE EXTRACTO ETÉREO (MÉTODO SOXHLET) EN ALIMENTOS.

PARAMETROS EVALUADOS.	RESULTADOS.					CRITERIOS DE ACEPTACION.		CUMPLIMIENTO.	
								SI	NO
INTERVALO LINEAL.	NO LINEALIDAD ALEATORIDAD DE RESIDUALES					<ul style="list-style-type: none"> EXISTENCIA DE LINEALIDAD DEL INTERVALO. DATOS ALEATORIOS EN GRAFICO DE RESIDUALES. 		SI	
INTERVALO DE TRABAJO.	PENDIENTE=0.8368 R²=0.636797092					<ul style="list-style-type: none"> PENDIENTE: VALOR CERCANO A 1. COEFICIENTE DE CORRELACIÓN: R² ≤ 0.99 		SI	
LIMITE DE CUANTIFICACIÓN.	LIMITE DE CUANTIFICACIÓN.		NIVEL INFERIOR DEL INTERVALO DE TRABAJO.			<ul style="list-style-type: none"> LC ≤ NIVEL INFERIOR ESTIMADO EN EL INTERVALO DE TRABAJO. 			NO APLICA
	NO APLICA		NO APLICA						
RECUPERACIÓN Y SESGO.	NIVELES % DE RECUPERACIÓN.					COCENTRACION DEL ANALITO.	CRITERIO DE ACEPTACION.	SI	
	1	2	3	4	5	0.1 a 1%	90 - 108 %		
	98.35	76.39	70.14	99.76	99.92	1 a 10 %	92- 105 %		
	95046	60131	40573	67275	78305	10 a 99%	95 – 102 %		
	5		4	7	2	100 %	98 – 101 %		
REPETIBILIDAD.	C.V. DEL % RECUPERACIÓN.					<ul style="list-style-type: none"> LA DIFERENCIA ENTRE DOS DATOS INDIVIDUALES OBTENIDOS EN LA MISMA MUESTRA Y LABORATORIO, POR EL MISMO ANALISTA SIGUIENDO EL MISMO MÉTODO, CON EL MISMO MATERIAL, EL MISMO EQUIPO Y BAJO LAS MISMAS CONDICIONES EN FORMA SIMULTÁNEA, EN UN CORTO INTERVALO DE TIEMPO NO DEBE EXCEDER ±0.2g/100g ENTRE AMBOS RESULTADOS. 		SI	
	NIVEL 1		NIVEL 2		NIVEL 3				
	6.77395178		30.0053963		2.59301596				
	6	4	5						
REPRODUCIBILIDAD.	C.V. DEL % RECUPERACIÓN.					<ul style="list-style-type: none"> LA DIFERENCIA ABSOLUTA OBTENIDA ENTRE AMBOS RESULTADOS, ANALIZANDO LA MISMA MUESTRA, APLICANDO EL MISMO MÉTODO DE ENSAYO, EN CONDICIONES DIFERENTES DE LABORATORIO, ANALISTAS Y EQUIPOS, NO DEBERA EXCEDER ± 0.3g/100g ENTRE AMBOS RESULTADOS. 		SI	
	NIVEL 1		NIVEL 2		NIVEL 3				
	22.5725996		28.6421534		11.7760141				
	2	6	8						

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

- **VALIDACIÓN DEL MÉTODO. (NMX-F-608-NORMEX-2002. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS (MÉTODO KJELDAHL) EN ALIMENTOS.)**

Se puede concluir que este proceso de validación y cálculo de la incertidumbre, proporciona una idea clara del intervalo en el que se encuentra el verdadero valor del mensurando y cuáles son las variables significativas que influyen en este proceso de estimación, el cual para el caso de la norma de "Determinación de Proteínas en Alimentos"- método de prueba (NMX-F-608-NORMEX-2002), cumple satisfactoriamente. Además la estimación de la incertidumbre en el laboratorio de pruebas permite llevar a cabo la evaluación del desempeño de los equipos y los analistas involucrados en el proceso. En este trabajo se presentaron resultados de porcentaje de proteínas en dos tipo de matrices: material de referencia, leche descremada en polvo proporcionado por el CENAM, el cual sirvió para corroborar que los resultados obtenidos por el método Kjeldahl al realizar las corridas con la leche descremada en polvo NAN 2 con protect plus son correctas.

Además de esto el cálculo de incertidumbre se realizó por medio de dos métodos proporcionados por dos guías para su determinación: 1) Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura (CCAYAC), que proporciona los criterios para la validación de métodos fisicoquímicos, y da un claro ejemplo del cálculo de incertidumbre, 2) Guía Técnica sobre Trazabilidad e Incertidumbre en las Mediciones Analíticas que emplea la Técnica de

Titulación Volumétrica, que asegura la uniformidad y consistencia de los criterios técnicos en la evaluación de la Trazabilidad y la incertidumbre de la Titulación Volumétrica.

Con la matriz de referencia leche descremada en polvo NAN 2 con protect plus se tiene un porcentaje de proteína de 13% en 100 gramos de material, y al correr los análisis se encontró un promedio de 12.92% con el primer día de análisis, 12.87% con la repetibilidad y un 13.10% de reproducibilidad, con el cual se tiene una incertidumbre de 0.13% con el método del CCAYAC y 0.52% con el método de CENAM, observándose una diferencia de 0.39% lo que resalta la eficiencia del método observando que los valores de incertidumbre no se disparan poniendo en riesgo los resultados ante un amplio rango.

Con esta información podemos decir que el método cumple con los criterios de aceptación señalados en la pág. 95, para una validación parcial y además de esto se le proporciona al cliente la certera confianza que los resultados obtenidos en el análisis son correctos.

- ***VALIDACIÓN DEL MÉTODO. NMX-F-615-NORMEX-2004. DETERMINACIÓN DE EXTRACTO ETÉREO (MÉTODO SOXHLET) EN ALIMENTOS.***

Se puede concluir que este proceso de validación y cálculo de la incertidumbre, proporciona una idea clara del intervalo en el que se encuentra el verdadero valor del mensurando y cuáles son las variables significativas que influyen en este proceso de estimación, el cual para el caso de la norma de "Determinación de Extracto Etéreo (Método Soxhlet) en Alimentos" - método de

prueba (NMX-F-615-NORMEX-2004), se tiene una desviación de los resultados obtenidos de los análisis que concuerdan con los datos verdaderos de la matriz seleccionada de leche descremada en polvo NAN 2 con protect plus. Además la estimación de la incertidumbre en el laboratorio de pruebas permite llevar a cabo la evaluación del desempeño de los equipos y los analistas involucrados en el proceso. En este trabajo se presentaron resultados de porcentaje de Extracto Etéreo en dos tipo de matrices: material de referencia, leche descremada en polvo proporcionado por el CENAM, el cual sirvió para corroborar que los resultados obtenidos por el método Kjeldahl al realizar las corridas con la leche descremada en polvo NAN 2 con protect plus son correctas.

Además de esto el cálculo de incertidumbre se realizó por medio de dos métodos proporcionados por dos guías para su determinación: 1) Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura (CCAYAC), que proporciona los criterios para la validación de métodos fisicoquímicos, y dá un claro ejemplo del cálculo de incertidumbre, 2) Guía Técnica sobre Trazabilidad e Incertidumbre en las Mediciones Analíticas que emplea la Técnica de Titulación Volumétrica, que asegura la uniformidad y consistencia de los criterios técnicos en la evaluación de la Trazabilidad y la incertidumbre de la Titulación Volumétrica.

Con la matriz de referencia leche descremada en polvo NAN 2 con protect plus se tiene un porcentaje de Extracto Etéreo de 39g en 100 g de material, y al correr los análisis se encontró un promedio de 38.73 % con el primer día de

análisis, 37.98% con la repetibilidad y un 37.76% de reproducibilidad, con el cual se tiene una incertidumbre de expandida con un nivel de confianza del 95% $k=2$, de 0.37% con el método del CCAYAC y 4.80% con el método de CENAM, observándose una diferencia de 4.43% lo que resalta que la eficiencia del método es la óptima para tener un dato correcto observando que los valores de incertidumbres pueden poner en riesgo los resultados ante un amplio rango.

Con esta información podemos decir que el método cumple con los criterios de aceptación señalados en la pág. 96, para una validación parcial y además de esto se le proporciona al cliente la certera confianza que los resultados obtenidos en el análisis son correctos.

CONCLUSIONES PARTICULARES DEL ANALISTA.

Como analista de los respectivos métodos de análisis podemos concluir que los métodos de Proteínas, Grasas y Aceites son métodos muy útiles para el sector Agroindustrial ya que se manejan materias primas, y productos procesados ya sean de origen animal o vegetal y además de esto, son económicos y si se realizan correctamente pueden proporcionar datos muy concretos acerca del analito determinado. Estos métodos permiten aplicar todos los conocimientos sobre Ing. Química y a tener conciencia acerca del impacto ambiental que los residuos inorgánicos que estos análisis dejan, para esto se debe tener un estricto conocimiento de los riesgos químicos, físicos y

biológicos que puedan ocasionar los reactivos que se utilizan en estas determinaciones.

Como residente de IQUISSA Asesores Químicos y alumno del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, recibí una grata experiencia acerca del sector industrial. La residencia profesional me permitió demostrar los conocimientos obtenidos a lo largo de la carrera y cómo trabaja una empresa de orden privado. Aprendí a manejar situaciones difíciles que se pueden originar en el trabajo o desempeño de un Ing. Químico Comprendiendo a las demás personas con diferentes formas de pensar e ideales.

Finalmente puedo concluir que la residencia profesional es la herramienta más indicada para que un futuro profesionista pueda conocer e ir teniendo experiencia para un trabajo. Integrar los conocimientos de muchas materias de la carrera, por lo que ha contribuido bastante en mi formación profesional.

RECOMENDACIONES.

La experiencia adquirida me permite decir que en el análisis de grasas y aceites es clave la regulación de la temperatura. Además de esto por los resultados obtenidos se pueden sustituir el cartucho de celulosa por un cartucho con papel filtro, ya que al hacer una comparación en los análisis se

demonstró que los dos tipos realizan la misma función, reteniendo la muestra y obtener el extracto etéreo con el disolvente.

Para el método de proteínas se hace la misma recomendación en cuanto a los cuidados para controlar la temperatura, ya que en el proceso de digestión se pueden perder componentes necesarios para la obtención de los resultados confiables.

Se tiene que controlar además la temperatura del destilado en la recolección con ácido bórico, ya que si excede los 28°C se pueden perder el analito problema y arrojar datos erróneos.

FUENTES DE INFORMACIÓN.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Norma: Determinación de Extracto Etéreo (Método Soxhlet) en alimentos- método de prueba. NMX-F-615-NORMEX-2004.
2. Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura. Criterios para la Validación de Métodos Físicoquímicos.
3. Guía Técnica sobre Trazabilidad e Incertidumbre en las Mediciones Analíticas que emplea la Técnica de Gravimetría de Masa.
4. Química de los Alimentos- Salvador Badui Dergal, Editorial Alhambra Mexicana, Segunda Edición 1990.

5. NMX-17025-IMNC-2006. IMNC. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración. Instituto Mexicano de Normalización y Certificación, A.C. (2006).
6. Nielsen S.S. Análisis de Alimentos. Editorial Acriba S.A., Impreso en España, 2009.
7. NMX-Z-055:1996 IMNC Metrología – Vocabulario de términos fundamentales y generales, equivalente al documento International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology, BIPM, IEC, IFCC, ISO, IUPAC, IUPAP, OIML, 1993. Instituto Mexicano de Normalización y Certificación, A.C. (1996).
8. Deterioro oxidativo durante la conservación de leche entera en polvo en diferentes condiciones de almacenamiento, *et al.* Páez R., Chávez M., Sabbag N., Pensel N, Taverna M. y Zalazar C.
9. Estadística- Murray R. Spiegel, Segunda Edición, Editorial Mc Graw Hill.
10. Química Orgánica Fundamental- Henry Rakoff, Norman C. Rose, Editorial Limusa Noriega, Primera Edición 1971.
11. NMX-F-089-S-1978. Determinación de extracto etéreo (método Soxhlet) en alimentos. Foodstuff-determination of ether extract (Soxhlet). Normas mexicanas. Dirección general de normas.
12. La Validación de Métodos Analíticos.- *et al.* F. Xavier Ruiz, Alicia Maroto, Ricard Boqué, Jordi Riu.
13. PROY-NMX-F-089-SCFI-2007 ALIMENTOS - Determinación de ácidos grasos cis-, trans-, saturados, monoinsaturados y poli-insaturados en aceites y grasas

de origen vegetal o animal de animales no rumiantes por cromatografía capilar gas líquido – método de prueba.

14. Prejuicios y verdades sobre las grasas y otros alimentos- R.M. Ortega F. Pérez Jiménez L. Bultó Sagnier E. Martín Quesada.
15. NMX-F-608-NORMEX-2002. Determinación de proteínas en alimentos- método de prueba.
16. CHUNG CHOW CHAN, HERMAN LAM, Y. C. LEE, XUE-MING ZHANG. Analytical Method Validation and Instrument Performance Verification. New Jersey. John Wiley & Sons, Inc., 2004.
17. EURACHEM. The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, 1th Edition. United Kingdom, 1998. [Citado el 17 de Junio de 2009]
18. CASTRO VELÁSQUEZ, Jaime Andrés. Elaboración e Implementación del Procedimiento de Validación de Métodos de Análisis Físicoquímicos utilizados en el Laboratorio Central de Postobón S.A. Universidad de Antioquia, 2008.
19. AEFI, Asociación Española de Farmacéuticos de la industria. Validación de Métodos Analíticos. Madrid, 2001.
20. Official Methods of Analysis of the association of official Analytical Chemist. Editado por Kenneth Herlich. Ed.15, 1990.

PÁGINAS ELECTRÓNICAS.

1. Página Electrónica de la comisión federal para la Protección contra Riesgos

Sanitarios (COFEPRIS):

<http://www.cofepris.gob.mx/TyS/Documents/TercerosAutoriza+dos/cvfq032011.pdf>

2. Manual de Validación de métodos Analíticos:

<http://www.eurachem.org/guides/mval.htm>

Página Electrónica del Centro Nacional de Metrología.

<http://www.cenam.mx/>

ANEXOS.

ANEXO I. DESCRIPCIÓN DE LAS MATRICES A UTILIZAR EN LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE PROTEÍNAS.

Leche NAN 2 con Protect Plus	Masa de muestra a utilizar indicada por la Norma	Concentraciones del Analito por nivel		
		Nivel	Concentración en %	
Muestra (g).	Para grasa 1 ± 0.5 g			
1		1	Proteína	13.3138426
2		2	Proteína	13.15530194
3		3	Proteína	13.59193589
4		4	Proteína	13.23145126
5		5	Proteína	12.91397443

ANEXO II. FORMATO DE REGISTROS DE PESADAS DE LA MUESTRA, EL VOLUMEN DE HCl GASTADO Y NORMALIDAD DE LA SOLUCIÓN DE HCl, OBTENIDOS EN LA PRÁCTICA EXPERIMENTAL PARA LA VALIDACIÓN DE LA NMX-F-615-NORMEX-2004.

NIVEL	REPETICIÓN	Muestra	Volumen HCl	Normalidad	%Proteína
1	A	1.0786	16.9	0.095132392	13.31384265
	B	1.0058	14.8	0.095132392	12.50337381
	C	1.0316	16.1	0.095132392	13.2614702
2	A	2.0956	29.9	0.095132392	12.12383256
	B	2.0346	29.4	0.095132392	12.27850302
	C	2.0088	31.1	0.095132392	13.15530194
3	A	3.0009	45.6	0.095132392	12.91190881
	B	3.0008	48	0.095132392	13.59193589
	C	3.0005	44.1	0.095132392	12.48883965
4	A	4.0004	62.7	0.095132392	13.31806878
	B	4.0009	62.3	0.095132392	13.23145126
	C	4.0008	61	0.095132392	12.95567738
5	A	5.0007	76	0.095132392	12.91397443
	B	5.0004	75.8	0.095132392	12.88076302
	C	5.0009	76.3	0.095132392	12.96443214

ANEXO III. FORMATOS DE PRESENTACION DE RESPUESTAS ANALITICAS OBTENIDAS EN EL PROCESO DE VALIDACIÓN DE LA NORMA: NMX-F-608-NORMEX-2002. “DETERMINACION DE PROTEÍNAS (MÉTODO KJELDAHL) EN ALIMENTOS- MÉTODO DE PRUEBA.

NOMBRE DE LA ORGANIZACIÓN ENCARGADA DE LA VALIDACIÓN:	<ul style="list-style-type: none"> • COMISIÓN DE CONTROL ANALÍTICO Y AMPLIACIÓN DE COBERTURA (CCAYAC). • CENTRO NACIONAL DE METROLOGÍA (CENAM) • ENTIDAD MEXICANA DE ACREDITACIÓN A.C. (EMA)
TIPO DE VALIDACIÓN:	<u>PARCIAL</u> TOTAL
NOMBRE COMPLETO DEL ANALISTA 1.	FIRMA.
ROBLES ESCOBAR GEOVANNY JESÚS.	
NOMBRE COMPLETO DEL ANALISTA 2.	FIRMA.
NO APLICA.	NO APLICA.
NOMBRE Y FIRMA DEL ASESOR INTERNO.	
ING. HUMBERTO TORRES JÍMENEZ.	
NOMBRE Y FIRMA DEL ASESOR EXTERNO.	
ING. LORENA DEL CARMEN MORALES BALCAZAR.	
NOMBRE Y FIRMA DE QUIÉN CALIFICA:	
FECHA DE INICIO:	
HORA DE INICIO:	
FECHA DE TERMINACIÓN:	
HORA DE TERMINACIÓN:	
ANALITO DETERMINADO:	NITROGENO AMONICAL
TIPO DE ANALISIS	FISICOQUÍMICO
PARÁMETROS EVALUADOS.	INTERVALO LINEAL Y DE TRABAJO, RECUPERACIÓN Y SESGO, REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD E INCERTIDUMBRE.
MATRIZ O MATERIAL DE REFERENCIA A UTILIZAR.	LECHE DESCREMADA EN POLVO.

ANEXO IV. CONCENTRACIONES OBTENIDAS EN EL PROCESO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE PROTEÍNAS. (DIA 1).

NIVELES DE CONCENTRACION	CONCENTRACIÓN ADICIONADA (X).	REPETICIONES	RESPUESTA ANALITICA (Y).
1	0.65	A1	0.645698721
		B1	0.644038151
		C1	0.648221607
2	0.52	A2	0.532722751
		B2	0.52925805
		C2	0.518227095
3	0.39	A3	0.387357264
		B3	0.407758077
		C3	0.374665189
4	0.26	A4	0.242476651
		B4	0.24557006
		C4	0.263106039
5	0.13	A5	0.133138426
		B5	0.125033738
		C5	0.132614702
ESTADISTICA.			
REGRESION LINEAL (R^2).		0.9986516	
PENDIENTE PROMEDIO:		1.006	
ORDENADA AL ORIGEN:		-0.0037	

ANEXO V. CONCENTRACIONES OBTENIDAS EN EL PROCESO DE VALIDACIÓN DE PROTEÍNAS. (DIA 2 - REPETIBILIDAD).

NIVELES DE CONCENTRACION	CONCENTRACIÓN ADICIONADA.	REPETICIONES	RESPUESTA ANALITICA (DIA 1).	RESPUESTA ANALITICA (DIA 2).
1	0.65	A1	0.645698721	0.123111277
		B1	0.644038151	0.124896722
		C1	0.648221607	0.12658334
3	0.39	A3	0.387357264	0.400165954
		B3	0.407758077	0.393395303
		C3	0.374665189	0.391630704
5	0.13	A5	0.133138426	0.643214223
		B5	0.125033738	0.649985733
		C5	0.132614702	0.653423554

ANEXO VI. CONCENTRACIONES OBTENIDAS EN EL PROCESO DE VALIDACIÓN DE PROTEÍNAS. (DIA 3 - REPRODUCIBILIDAD).

NIVELES DE CONCENTRACION	CONCENTRACIÓN ADICIONADA.	REPETICIONES	MEDIA DE RESPUESTA ANALITICA (DIA 1 Y 2).	RESPUESTA ANALITICA (DIA 3).
1	0.65	A1	0.644456472	0.65249555
		B1	0.647011942	0.649972735
		C1	0.65082258	0.651619885
3	0.39	A3	0.393761609	0.389996639
		B3	0.40057669	0.391709027
		C3	0.383147947	0.39335597
5	0.13	A5	0.128124852	0.129955564
		B5	0.12496523	0.134215894
		C5	0.129599021	0.13243752

ANEXO VII. FORMATOS DE PRESENTACION DE RESPUESTAS ANALITICAS OBTENIDAS EN EL PROCESO DE VALIDACIÓN DE LA NORMA: NMX-F-615-NORMEX-2004. “DETERMINACION DE EXTRACTO ETÉREO (MÉTODO SOXHLET) EN ALIMENTOS- MÉTODO DE PRUEBA.

NOMBRE DE LA ORGANIZACIÓN ENCARGADA DE LA VALIDACIÓN:	<ul style="list-style-type: none"> • COMISIÓN DE CONTROL ANALÍTICO Y AMPLIACIÓN DE COBERTURA (CCAYAC). • CENTRO NACIONAL DE METROLOGÍA (CENAM) • ENTIDAD MEXICANA DE ACREDITACIÓN A.C. (EMA)
TIPO DE VALIDACIÓN:	<u>PARCIAL</u> TOTAL
NOMBRE COMPLETO DEL ANALISTA 1.	FIRMA.
ROBLES ESCOBAR GEOVANNY JESÚS.	
NOMBRE COMPLETO DEL ANALISTA 2.	FIRMA.
NO APLICA.	NO APLICA.
NOMBRE Y FIRMA DEL ASESOR INTERNO.	
ING. HUMBERTO TORRES JÍMENEZ.	
NOMBRE Y FIRMA DEL ASESOR EXTERNO.	
ING. LORENA DEL CARMEN MORALES BALCAZAR.	
NOMBRE Y FIRMA DE QUIÉN CALIFICA:	
FECHA DE INICIO:	
HORA DE INICIO:	
FECHA DE TERMINACIÓN:	
HORA DE TERMINACIÓN:	
ANALITO DETERMINADO:	EXTRACTO ETÉREO
TIPO DE ANALISIS	
PARAMÉTROS EVALUADOS.	INTERVALO LINEAL Y DE TRABAJO, RECUPERACIÓN Y SESGO, REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD E INCERTIDUMBRE.
MATRIZ O MATERIAL DE REFERENCIA A UTILIZAR.	LECHE DESCREMADA EN POLVO.

ANEXO VIII. CONCENTRACIONES OBTENIDAS EN EL PROCESO DE VALIDACIÓN. (DIA 1).

NIVELES DE CONCENTRACION	CONCENTRACIÓN ADICIONADA (X).	REPETICIONES	RESPUESTA ANALITICA (Y).
1	0.546	A1	0.538944223
		B1	0.54173913
		C1	0.530445333
2	0.468	A2	0.466183454
		B2	0.463652261
		C2	0.465683579
3	0.39	A3	0.383769738
		B3	0.38782852
		C3	0.388883335
4	0.312	A4	0.311044478
		B4	0.310989011
		C4	0.311783081
5	0.234	A5	0.233805162
		B5	0.233844104
		C5	0.233844104
ESTADISTICA.			
REGRESION LINEAL (R^2).		0.636797092	
PENDIENTE PROMEDIO:		0.836769793	
ORDENADA AL ORIGEN:		1.63E-02	

ANEXO IX. CONCENTRACIONES OBTENIDAS EN EL PROCESO DE VALIDACIÓN. (DIA 2 - REPETIBILIDAD).

NIVELES DE CONCENTRACION	CONCENTRACIÓN ADICIONADA.	REPETICIONES	RESPUESTA ANALITICA (DIA 1).	RESPUESTA ANALITICA (DIA 2).
1	0.546	A1	0.538944223	38.58734467
		B1	0.54173913	38.78454617
		C1	0.530445333	37.98300121
3	0.39	A3	0.043973616	38.3954441
		B3	0.38782852	37.98620138
		C3	0.388883335	37.98860342
5	0.234	A5	0.233805162	38.09365106
		B5	0.233844104	35.13153513
		C5	0.233844104	38.89073951

ANEXO X. CONCENTRACIONES OBTENIDAS EN EL PROCESO DE VALIDACIÓN. (DIA 3 - REPRODUCIBILIDAD).

NIVELES DE CONCENTRACION	CONCENTRACIÓN ADICIONADA.	REPETICIONES	MEDIA DE RESPUESTA ANALITICA (DIA 1 Y 2).	RESPUESTA ANALITICA (DIA 3).
1	0.546	A1	0.315215577	38.56867367
		B1	0.303662538	37.90789004
		C1	0.34581691	38.98329287
3	0.39	A3	0.213964028	35.46290742
		B3	0.383845267	38.20561495
		C3	0.384384685	37.5912044
5	0.234	A5	0.231183534	38.98417985
		B5	0.222316657	34.59936698
		C5	0.23359427	39.57397237

ANEXOS EN DISCO.

NOTA: LOS SIGUIENTES DOCUMENTOS SERÁN PRESENTADOS EN UN DISCO DE GRABACIÓN, YA QUE ESTOS SON DOCUMENTOS QUE SE ENCUENTRA EN FORMATO DE EXCEL.

ANEXO XI. CÁLCULOS Y RESULTADOS DE ANÁLISIS DE PROTEÍNAS.

ANEXO XII. PARÁMETRO DE DESEMPEÑO EVALUADO PARA EL MÉTODO DE PROTEÍNAS (INTERVALO LINEAL Y DE TRABAJO).

ANEXO XIII. PARÁMETRO DE DESEMPEÑO EVALUADO PARA EL MÉTODO DE PROTEÍNAS (RECUPERACIÓN Y SESGO).

ANEXO XIV. PARÁMETRO DE DESEMPEÑO EVALUADO PARA EL MÉTODO DE PROTEÍNAS (REPETIBILIDAD).

ANEXO XV. PARÁMETRO DE DESEMPEÑO EVALUADO PARA EL MÉTODO DE PROTEÍNAS (REPRODUCIBILIDAD).

ANEXO XVI. MEMORIA DE CÁLCULO DE INCERTIDUMBRE CON MÉTODO DEL CCAYAC.

ANEXO XVII. MEMORIA DE CÁLCULO DE INCERTIDUMBRE CON MÉTODO DEL CENAM.

ANEXO XVIII. CÁLCULOS Y RESULTADOS DE ANÁLISIS DE GRASAS Y ACEITES.

ANEXO XIX. PARÁMETRO DE DESEMPEÑO EVALUADO PARA EL MÉTODO DE GRASAS Y ACEITES (INTERVALO LINEAL Y DE TRABAJO).

ANEXO XX. PARÁMETRO DE DESEMPEÑO EVALUADO PARA EL MÉTODO DE GRASAS Y ACEITES (RECUPERACIÓN Y SESGO).

ANEXO XXI. PARÁMETRO DE DESEMPEÑO EVALUADO PARA EL MÉTODO DE GRASAS Y ACEITES (REPETIBILIDAD).

ANEXO XXII. PARÁMETRO DE DESEMPEÑO EVALUADO PARA EL MÉTODO DE GRASAS Y ACEITES (REPRODUCIBILIDAD).

ANEXO XXIII. MEMORIA DE CÁLCULO DE INCERTIDUMBRE CON MÉTODO DEL CCAYAC.

ANEXO XIV. MEMORIA DE CÁLCULO DE INCERTIDUMBRE CON MÉTODO DEL CENAM.

ANEXO V. FOTOGRAFÍAS DE LOS ANÁLISIS.

PROTEINAS.

DIGESTIÓN.



Neutralización.



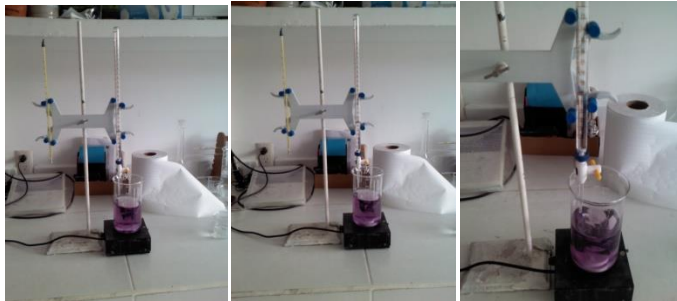
DESTILACIÓN.



RECOLECCIÓN.



TITULACIÓN.



Grasas y Aceites.



