

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



VALIDACION DEL METODO ANALITICO PARA CUANTIFICAR
BENZOATO DE SODIO Y SORBATO DE POTASIO EN SALSAS POR
HPLC

TRABAJO DE GRADO EN MODALIDAD PRACTICA PROFESIONAL
SUPERVISADA

PRESENTADO POR
MARLON VLADIMIR MEDRANO HERNANDEZ

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADO EN QUIMICA Y FARMACIA

AGOSTO 2023

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS BENITEZ

SECRETARIO GENERAL

MAESTRO FRANCISCO ANTONIO ALARCON SANDOVAL

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA

LICDA. REINA MARIBEL GALDAMEZ

SECRETARIA

LICDA. EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCION DE PROCESOS DE GRADO

M.Sc. Ena Edith Herrera Salazar

TRIBUNAL EVALUADOR

**ASESORAS DE AREA DE CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS
FARMACÉUTICOS, COSMÉTICOS Y VETERINARIOS**

M.Sc. Rocío Ruano De Sandoval

Licda. Zenia Ivonne Arévalo De Márquez

TUTORA

Licda. Corina Ivette Interiano Ramírez

LABORATORIO DE ALIMENTOS Y TOXICOLOGÍA DEL LNSP - INS – MINSAL

JEFE LABORATORIO

Licda. Celina Stefanie Valle Elías

TUTORA

Licda. Cindy Rebeca Martínez Linares

DEDICATORIAS

Le dedico este trabajo de grado a mi familia, a mis padres: **Teresa Hernández y Ricardo Medrano**; a mis hermanos: **Corina Medrano y Ricardo Medrano**; por el gran apoyo en los momentos más difíciles de la carrera, dando ejemplo de superación y entrega.

A todos los maestros que me brindaron sus conocimientos y en especial a mi asesora que me entrego su invaluable tiempo y dedicación.

A mis compañeros y amigos que hicieron el camino hasta la culminación de la carrera más placentero y llevadero.

Por todos ellos, ahora veo alcanzada mi meta.

Y a todos los estudiantes que vienen detrás, que este trabajo les sea útil, un apoyo y fuente de conocimiento.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador por brindar toda la ayuda necesaria durante la investigación y la selección de estudiantes aptos para las pasantías realizadas.

A mis asesoras de trabajo de grado, Licda. Cindy Martínez y Licda. Corina Interiano por su guía y ayuda en la realización de todo el proceso de investigación, selección, ejecución y finalización del trabajo escrito y el Manual de Práctica Profesional Supervisada dirigida especialmente al estudiante de Química y Farmacia.

A mi amiga y mentora Licda. Eriseldi Menjivar por su incondicional apoyo, dedicación y por su invaluable ayuda en todo el proceso.

Al Laboratorio de Alimentos y Toxicología donde se realizó la pasantía, por su colaboración y valioso aporte a la carrera y educación de los estudiantes participantes.

A los analistas que se prestaron para la inducción dentro de laboratorio colaborando en la realización del Programa de Práctica Profesional Supervisada, por su empeño, tiempo, esfuerzo y responsabilidad a la hora de participar y llevar a cabo las prácticas laborales.

A todas las personas involucradas en la investigación y a los docentes y entidades internas de la Universidad de El Salvador.

INDICE

	Pág. N°
Introducción	X
Capitulo I. Plan de Trabajo	12
Capitulo II. Producto Final	58
Capitulo III. Conclusiones	75
Capitulo IV. Recomendaciones	78
Bibliografía	
Anexos	

INDICES COMPLEMENTARIOS

INDICE DE TABLAS

Tabla N°		Pág. N°
1	Abreviaturas de referencias reconocidas internacionalmente.	13
2	Fórmulas de los parámetros de desempeño.	28
3	Parámetros para métodos normalizados modificados.	34
4	Nivel máximo de presencia de Benzoatos en salsas.	44
5	Nivel máximo de presencia de Sorbatos en salsas.	45
6	Registro de pesos tomados en balanza semi analítica	49
7	Datos obtenidos por el análisis en la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC).	50
8	Registro de equipos utilizados durante la obtención de información.	50
9	Resumen de resultados obtenidos a la concentración de x µg /ml para evaluar la linealidad del sistema	51
10	Resumen de las desviaciones estándares y sus respectivos coeficientes de variación (cv).	51
11	Determinación de parámetros para Benzoato de Sodio.	52
12	Determinación de parámetros para Sorbato de Potasio.	53
13	Tabla resumen de resultados con su especificación para el método.	54
14	Parámetros a estudiar para un método Normalizado modificado.	61-62
15	Equipos e instrumentos utilizados en la validación.	63
16- 23	Resumen de resultados con su especificación para el método	66-73

INDICE DE FIGURAS

Figura N°		Pág N°
1	Organigrama institucional del Ministerio de Salud	15
	Organigrama de Laboratorio de Alimentos y	
2	Toxicología	18
3	Fórmulas para el cálculo del parámetro de exactitud utilizando Material de Referencia.	36
4	Fórmulas para el cálculo del parámetro de exactitud utilizando matriz adicionada.	37

INDICE DE CUADROS

Cuadro N°		Pág N°
1	Actividades y funciones realizadas por parte del estudiante.	21-22
2	Formato para el protocolo de validación. Elaboración propia	26
3	Formato del resumen de informe de validación. Elaboración propia.	29

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°		Pág N°
1	Reglamento Técnico Centroamericano	84
2	Apartado de Salsas en el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 67.04.54:18).	86
3	Cálculos (Benzoato De Sodio)	88
4	Cálculos (Sorbato De Potasio)	109

INTRODUCCION

Los aditivos alimentarios, están prácticamente en todos los alimentos y bebidas que ingerimos formando parte de nuestra vida cotidiana. Desde el principio de los tiempos, la humanidad ha desarrollado distintos métodos de conservación de los alimentos, es decir, distintas formas de minimizar o paliar los efectos de su descomposición. Hoy en día, el uso de tecnologías modernas de producción, que incluyen la utilización de aditivos, permite satisfacer la demanda del consumidor en cuanto a disponer de una conveniente y variada cantidad de alimentos, que no sólo sean sanos, sino también seguros y accesibles, en toda época del año.

Con el programa de Prácticas Profesionales Supervisadas, se realizó la validación del método analítico para cuantificar benzoato de sodio y sorbato de potasio en salsas por cromatografía líquida de alta eficiencia, ya que el sorbato de potasio es un aditivo muy utilizado en los alimentos, en este caso salsas, el cual se suele combinar con benzoato de sodio para tener una mejor función tecnológica.

Se realizó un estudio documental y experimental para la validación del método analítico, dentro de la cual se recopiló información para la realización del producto final de la investigación, así mismo, el programa se desarrolló en tres etapas las cuales se ven reflejadas en este informe.

La implementación de las Prácticas Profesionales Supervisadas ha sido de gran ayuda para el desarrollo de la investigación, brindando apoyo por parte de tutores de la institución, se pudo realizar de manera satisfactoria la validación del método de análisis de preservantes en salsa (benzoato de sodio y sorbato de potasio) presentando así, un resumen de informe de validación.

Con el informe debidamente realizado y presentado, se demuestra la confiabilidad de la técnica, instrumentos y equipos utilizados en el Laboratorio de

Alimentos y Toxicología garantizando que los resultados gozan de fiabilidad y que las salsas que ingiere la población salvadoreña cumplen con los estándares de calidad normalizados, de igual forma, se asegura que el método es eficaz, fiable y reproducible.

CAPITULO I.
PLAN DE TRABAJO

Tabla N°1. Abreviaturas de referencias reconocidas internacionalmente.

Fuente: Elaboración Propia

ABREVIATURA	REFERENCIA
USP	Farmacopea de los Estados Unidos Americanos
FEUM	Farmacopea de Estados Unidos Mexicanos
BP	Farmacopea Europea
EP	Farmacopea Británica
JP	Farmacopea Japonesa
AOAC	Official Methods of Analysis of AOAC
EPA	Environmental Protection Agency
CIPAC	Collaborative International Pesticides Analytical Council
ASTM	American Society for Testing and Materials
ASHTO	American Association of State Highway and Transportation Officials
ISO	"International Organization for Standardization"
FDA	Food and Drug Administration
FAO	Food and Agriculture Organization
OSA	Organismo Salvadoreño de Acreditación
USDA	United States Department of Agriculture
RTCA	Reglamento Técnico Salvadoreño
INS	Instituto Nacional de Salud
LNSP	La Unidad de Laboratorio Nacional de Salud Pública
LAT	Laboratorio de Alimentos y Toxicología
NTS	Norma Técnica Salvadoreña

I.TITULO

El programa es una práctica profesional supervisada que se desarrolló en el Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud Pública, Unidad de Laboratorio Nacional de Salud Pública, Laboratorio de Alimentos y Toxicología, Plataforma Fisicoquímico.

Validación del método analítico para cuantificar benzoato de sodio y sorbato de potasio en salsas por HPLC.

II. DESCRIPCIÓN DE LA ENTIDAD / DEPARTAMENTOS

El Ministerio de Salud de El Salvador es una institución estatal que tiene como objetivo principal coordinar y proveer la atención de la salud de los salvadoreños, es por ello que tiene bajo su dirección El Instituto Nacional de Salud (INS).⁽¹⁾

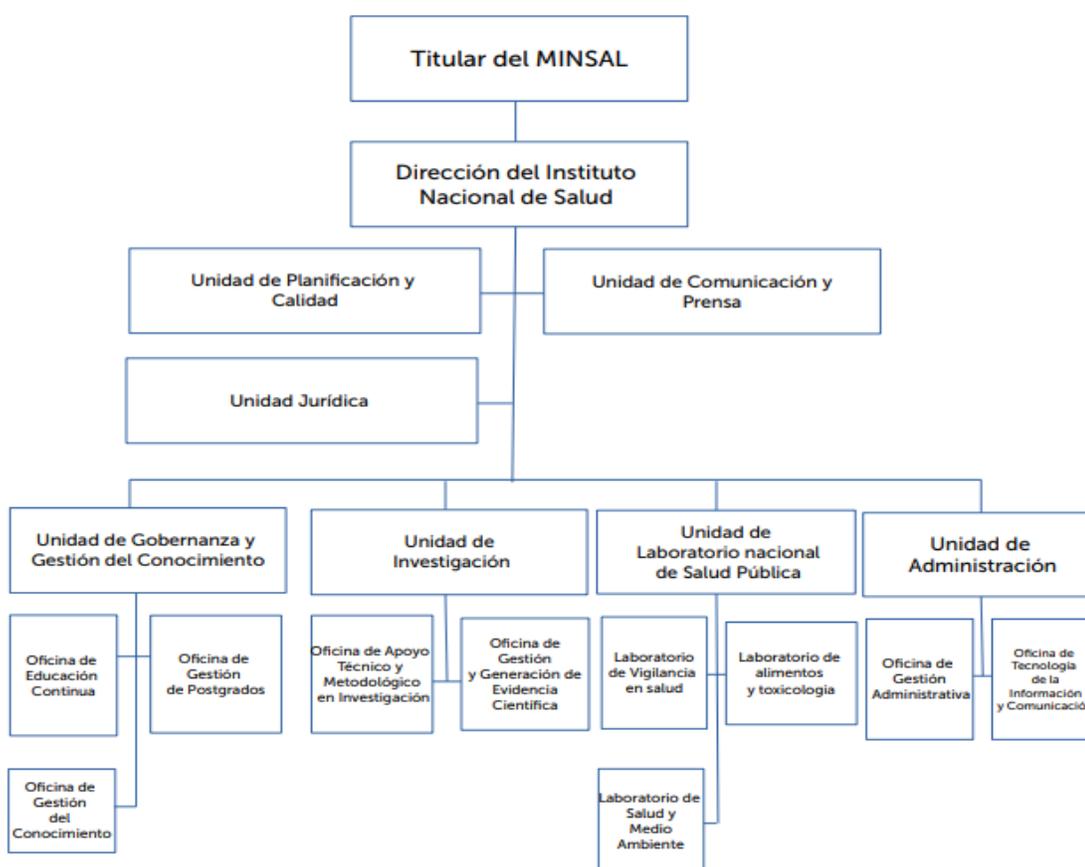


Figura N°1. Organigrama institucional del Ministerio de Salud. ⁽¹⁾

El Instituto Nacional de Salud (INS) tiene como fin generar, transmitir y difundir conocimientos científico-tecnológicos y promover su incorporación para la solución de los problemas de salud de la población. El INS surgió para convertirse en el referente nacional de investigación en salud, que brinda rectoría y gestiona condiciones científico técnicas para la indagación de las causas de las

enfermedades y sus determinantes, para la producción de evidencia científica que permita la toma de decisiones, dirigidas a la solución de los problemas de salud pública que amenazan a la población. Para tales fines el INS ha venido estableciendo coordinaciones con otras instituciones como universidades, organismos de cooperación internacional, servicios de salud, sector público y privado. ⁽¹⁾.

El INS está conformado por tres áreas prioritarias: Escuela de Gobierno en Salud, Departamento de Investigaciones en Salud y el Departamento de Laboratorios Especializados, siendo el Laboratorio Nacional de Referencia (LNR), más conocido como Laboratorio Nacional de Salud Pública, la máxima figura de este último componente. ⁽¹⁾.

Dentro de la estructura del Laboratorio Nacional de Salud Pública se encuentran tres dependencias: Laboratorio de Vigilancia en Salud, Laboratorio de Salud y Medio Ambiente y el Laboratorio de Alimentos y Toxicología (LAT), el cual cumple una función muy importante dentro de la sociedad salvadoreña, puesto que posee la responsabilidad de velar por la calidad de los alimentos e insumos alimenticios que se comercializan y consumen a nivel nacional. ⁽¹⁾.

El LAT tiene como objetivo brindar servicios de análisis Físicoquímicos, Microbiológicos y Toxicológicos de calidad, en muestras de alimentos, biológicas y ambientales utilizando métodos estandarizados, manteniendo al personal capacitado, actualizado y comprometido a trabajar bajo la Norma Técnica Salvadoreña NTS ISO/IEC 17025:2017 Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración, para obtener resultados que garanticen la precisión, exactitud, integridad, trazabilidad, confidencialidad y satisfacción de sus clientes. ⁽¹⁾.

Los servicios que presta este laboratorio son para soporte y apoyo en programas y funciones que desarrolla el Ministerio de Salud, entre ellos se encuentran:

- Vigilancia Microbiológicos, Físicoquímicos y Toxicológicos en Agua de

Consumo Humano para dar cumplimiento al programa de la calidad del agua,

- Vigilancia de Vitamina A en azúcar, Hierro en Harina de maíz, trigo y pastas alimenticias, Yodo en Sal, para dar cumplimiento al programa de alimentos fortificados,
- Vigilancia de bebidas alcohólicas (Grado Alcohólico y Metanol)
- Vigilancia de Hielo
- Vigilancia de Agua envasada
- Vigilancia de Piscinas
- Vigilancia de Fórmulas Lácteas
- Intoxicaciones alimentarias
- Denuncias de alimentos
- Venta de servicios
- Licitaciones
- Tercería
- Registro Sanitario de Alimentos, Aguas y Bebidas Alcohólicas
- Vigilancia del Registro Sanitario
- Plomo en Sangre
- Colinesterasa en suero
- Metales en Suelo y sedimento,
- Estudios nutricionales, toxicológicos, etc. ⁽¹⁾.

La organización interna del laboratorio está conformada por el organigrama siguiente:

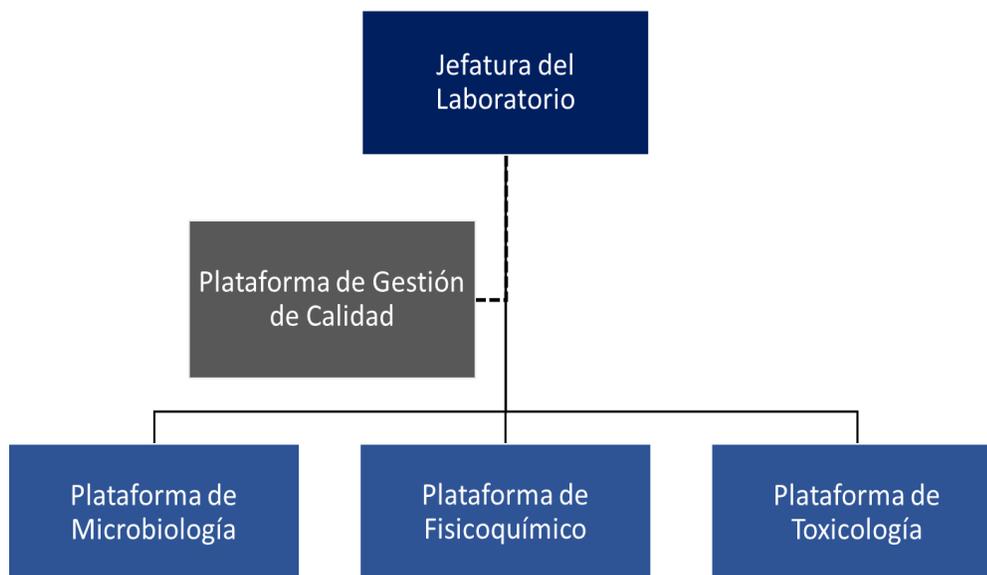


Figura N° 2. Organigrama de Laboratorio de Alimentos y Toxicología. ⁽¹⁾.

El Laboratorio de Alimentos y Toxicología del Ministerio de Salud se encuentra estructurado de manera administrativa bajo la jefatura del laboratorio y se divide organizadamente en plataformas donde se realizan las determinaciones de acuerdo a las disciplinas de los análisis; Plataforma de Físicoquímico, Plataforma de Toxicología, Plataforma de Microbiología y la Plataforma de Gestión de Calidad; a su vez cada plataforma es dirigida por una coordinación. ⁽¹⁾.

La plataforma de análisis Físicoquímico, que es el área dentro del Laboratorio de Alimentos y Toxicología donde se realizará la Práctica Profesional Supervisada, en esta plataforma se realizan determinaciones de metales, grasa, humedad, vitamina A en azúcar, Índice de peróxido y acidez, presencia de almidón, materias extrañas, proteínas, preservantes, cafeína, entre otros y de interés para este trabajo la determinación de preservantes en alimentos. ⁽¹⁾.

Además, se realizan análisis de agua para consumo humano, entre las determinaciones que se realizan se encuentran: Concentración de cloro residual, dureza, turbidez, pH y sólidos totales disueltos, entre otros. ⁽¹⁾.

III.ANTECEDENTES

Previamente en el Laboratorio de Alimentos y Toxicología, se ha tenido como preferente el método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para la determinación de preservantes como Benzoato de sodio y Sorbato de potasio en diferentes matrices de alimentos debido a que permite determinar simultáneamente ambos aditivos de forma rápida y sencilla. Lo cual ha presentado una ventaja en la eficacia de los resultados emitidos por el Ministerio de Salud (MINSAL), manteniendo la calidad de dichos procesos. No obstante para que el laboratorio pueda ampliar el alcance de la acreditación, a través del cumplimiento de los requisitos establecidos por el Organismo Salvadoreño de Acreditación (OSA) y en búsqueda de la mejora continua, se realiza este proyecto de grado que consiste en la Validación de la metodología del análisis de alimentos específicamente la cuantificación de los preservantes benzoato de sodio y sorbato de potasio en salsas a través del método de Cromatografía líquida de alta eficiencia en salsas. ⁽¹⁾.

IV.DESCRIPCION DE ACTIVIDADES Y FUNCIONES

Cuadro N°1. Actividades y funciones realizadas por parte del estudiante.

Fuente: Elaboración Propia

Actividades	Funciones
Se leerá los procedimientos que corresponden al Sistema de Gestión de Calidad.	Conocer los procedimientos aplicados dentro del laboratorio.
Se firmará el acuerdo de confidencialidad de parte de los estudiantes involucrados en el proyecto.	Establecer el compromiso de confidencialidad de la institución
Se revisará la normativa vigente (ISO / IEC 17025:2017- Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración, para validar la metodología empleada en la determinación de preservantes.	Leer sobre la normativa y los parámetros a seguir para realizar una validación.
Se leerá los Procedimientos Operativos Estandarizados, para la determinación de preservantes.	Desarrollar las competencias necesarias para el área.
Se realizarán las prácticas supervisadas en la determinación de preservantes.	Realizar de forma correcta y ordenada la determinación de preservantes (Benzoato de sodio y Sorbato de potasio).
Se apoyarán en la validación realizada por analistas del Laboratorio de Alimentos y Toxicología, sobre la determinación de preservantes.	Aprender los fundamentos básicos tomados en cuenta al momento de realizar una validación.
Se cuantificará el parámetro de linealidad del método aplicado	Definir la capacidad del método para obtener resultados de la prueba proporcionales a la concentración del analito
Se cuantificará el parámetro de exactitud del método aplicado	Obtener el sesgo entre las mediciones
Se cuantificará el parámetro de Precisión del método aplicado	Conocer el grado de dispersión entre las diferentes mediciones
Se cuantificará el parámetro límite de detección del método aplicado	Determinar la menor cantidad de Preservantes (Benzoato de sodio y Sorbato de potasio) que puede medir con certeza estadística razonable.
Se determinará el parámetro de límite de cuantificación del método.	Determinar la menor concentración que puede cuantificarse de Preservantes (Benzoato de sodio y Sorbato de potasio) con precisión y exactitud aceptable.

Continuación de Cuadro N°1. Actividades y funciones a realizar por parte del estudiante.

Fuente: Elaboración Propia

Actividades	Funciones
Realizar un análisis estadístico cuantificando, Linealidad, Exactitud, Precisión y Límite de cuantificación de cada uno de los preservantes (Benzoato de sodio y Sorbato de potasio).	Realizar un análisis de los datos obtenidos posteriormente a la cuantificación.
Presentación de resultados obtenidos.	Demostrar en forma gráfica los resultados obtenidos.

V.JUSTIFICACION

El programa de Prácticas Profesionales Supervisadas es una modalidad reciente, adoptada por la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, esta servirá para que los egresados cumplan con el requisito establecido en dicho programa en un rango de 940-1056 horas, las cuales se cumplen en el periodo de seis meses (Julio del año 2022 a enero del año 2023) y de esta manera obtener el título de Licenciado en Química y Farmacia. El aporte para la Facultad es garantizar que los futuros profesionales en Química y Farmacia graduados del Alma Máter estén capacitados para desarrollarse en cualquier ámbito laboral.

Así mismo, con el cumplimiento del programa no solo se vio beneficiado el egresado sino también la entidad receptora MINSAL; el estudiante tiene la oportunidad de poner en práctica los conocimientos teóricos – prácticos adquiridos durante su formación académica y a la vez adquirir habilidades prácticas y experiencia laboral, fortaleciendo sus conocimientos dentro del ámbito profesional, y el Laboratorio tuvo apoyo en las actividades realizadas en el mismo, lo que ayudó a dar continuidad a los proyectos que ahí se desarrollan en la búsqueda de la mejora continua de su Sistema de Gestión.

Se optó por realizar el análisis de preservantes en salsas, específicamente benzoato de sodio y sorbato de potasio, para profundizar y hacer énfasis en dicho producto asegurando que el método es eficaz, fiable y reproducible.

Como resultado del Programa de Práctica Profesional Supervisada se elaboró un resumen de informe de validación del método de análisis de benzoato de sodio y sorbato de potasio utilizados como preservantes en salsas las cuales están según el Reglamento Técnico Centroamericano ⁽⁹⁾, en el grupo 12, se toma el

apartado 12.6 que consta de salsas y sus productos análogos el cual es el ítem al que se le quiere dar cumplimiento, dentro de este grupo, se encuentran cuatro subcategorías las cuales son: Salsas emulsionadas y salsas para mojar (12.6.1), Salsas no emulsionadas (12.6.2), Mezclas para salsas y “gravies” (12.6.3) y Salsas ligeras (12.6.4).⁽⁹⁾

Según criterios del Organismo Salvadoreño de Acreditación, para darle cumplimiento a la categoría, es necesario cumplir con el 50% de la misma, por lo tanto, se seleccionarán dos sub categorías las cuales son Salsas no emulsionadas (12.6.2) y Salsas ligeras (12.6.4), de estas sub categorías, se tomarán dos muestras de cada una de ellas para realizar la validación, las cuales son: Salsa picante, Salsa de tomate, Salsa de ostras y Salsa de pescado, estas son con las que se trabajará de forma directa en la realización de la validación del método de análisis de benzoato de sodio y sorbato de potasio. Dicha validación será importante ya que, si los resultados obtenidos son fiables, se garantizará la calidad del análisis en el alimento estudiado.

Finalmente, con la realización del estudio del método de análisis de preservantes en salsas, específicamente benzoato de sodio y sorbato de potasio, se pretendió demostrar la confiabilidad de la técnica, instrumentos y equipos utilizados en el Laboratorio de Alimentos y Toxicología garantizando que los resultados gozan de fiabilidad y que las salsas que ingiere la población salvadoreña cumplen con los estándares de calidad normalizados.

VI.OBJETIVOS

6.1 OBJETIVO GENERAL

Validar el método analítico para cuantificar benzoato de sodio y sorbato de potasio en salsas por HPLC.

6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

6.2.1. Desarrollar el protocolo de validación del método analítico para cuantificar Benzoato de sodio y Sorbato de potasio en salsas por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia.

6.2.2. Determinar los parámetros de desempeño de linealidad, exactitud, límite de cuantificación, límite de detección y linealidad para el método de validación de preservantes benzoatos de sodio y sorbato de potasio en salsas.

6.2.3. Elaborar el resumen de informe de validación de los parámetros de desempeño de la cuantificación de los preservantes Benzoato de sodio y Sorbato de potasio en salsas.

VII.RESULTADOS. PRODUCTO FINAL ESPERADO

El producto final de esta práctica fue la redacción de un resumen de informe de validación de preservantes (benzoato de sodio y sorbato de potasio) por HPLC.

Para la realización de este resumen de informe de validación, se tomaron en cuenta 3 pasos que son:

- Establecimiento del protocolo de validación,
- Realización de la validación,
- Elaboración del resumen de informe de validación ⁽²⁾.

7.1. DESARROLLO DEL PROTOCOLO DE VALIDACION

Se desarrolló un documento que indicará como se realizará la validación, incluyendo parámetros de prueba, características de producto, equipo de fabricación, y puntos de decisión en lo que constituye un resultado de prueba aceptable. ⁽²⁾.

A continuación, se presenta el formato del protocolo de validación:

Cuadro N°2. Formato para el protocolo de validación.

Fuente: Elaboración Propia

<p>Objetivo Alcance Responsabilidades Parámetros a estudiar y los correspondientes criterios de aceptación Muestras (matrices) Equipos, reactivos y materiales de referencia involucrados en la validación Referencia del método analítico a validar Procedimiento para la determinación de los parámetros a evaluar.</p>
--

Una vez aprobado el protocolo se procedió a asistir a los analistas en la realización de la validación de acuerdo a lo planificado.

7.2. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE DESEMPEÑO

7.2.1. Método de análisis

7.2.2. Determinación de los parámetros de desempeño

- Linealidad: se esperó que sea directamente proporcional a la concentración del analito dentro de un intervalo dado
- Exactitud: se pretendió que haya una proximidad entre los resultados de la prueba obtenidos y el valor verdadero.
- Precisión: Se determinó la precisión del método mediante la repetición del análisis de las muestras y calcula la desviación estándar y el coeficiente de variación.
- Límite de cuantificación: se deseó obtener la mínima cantidad de analito en la muestra con precisión y exactitud aceptables.
- Límite de detección: se esperó determinar la concentración más baja del analito que puede ser detectada.
- Incertidumbre: se expresó el intervalo de valores que razonablemente pueden atribuirse a la cantidad que se está midiendo. ⁽²⁾.

7.2.3. Contenido principal del segundo paso:

Aquí se desarrolló el proceso de cálculo estadístico de los distintos parámetros evaluados.

- Linealidad
- Exactitud
- Precisión.
- Límite de Detección
- Límite de Cuantificación

– Incertidumbre ⁽²⁾.

Tabla Nº 2 Fórmulas de los parámetros de desempeño. ⁽²⁾⁽³⁾⁽²²⁾.

Parámetros de desempeño	Fórmulas
Límite de Detección	$LD = \frac{3.3 * sb_o}{m}$
Límite de Cuantificación	$LC = \frac{10 * sb_o}{m}$
Linealidad	$Y=mx+b$
Precisión	$CV = \frac{\sqrt{CMd + CMe}}{\bar{X}} 100$
Exactitud (Porcentaje de Recobro) y Precisión (Efecto matriz)	$b = \bar{X} - X_{ref}$ $b(\%) = \frac{\bar{X} - X_{ref}}{X_{ref}} \times 100$ $R(\%) = \frac{\bar{X}}{X_{ref}} \times 100$ $R'(\%) = \frac{\bar{X}' - \bar{X}}{X_{adición}} \times 100$
Incertidumbre	$S_c = C \sqrt{\left(\frac{Scal}{Ccal}\right)^2 + \left(\frac{SRep}{FRep}\right)^2 + \left(\frac{SP}{P}\right)^2 + \left(\frac{SV}{V}\right)^2}$ $+ \left(\frac{Sg}{g}\right)^2 + \left(\frac{SRec}{Rec}\right)^2$

7.3. ELABORACION DEL RESUMEN DE INFORME DE VALIDACION

Se elaboró el resumen de informe de validación en el cual se plasmaron los resultados de la evaluación de los parámetros de desempeño de la cuantificación del método analítico para cuantificar benzoato de sodio y sorbato de potasio en salsas por HPLC. ⁽²⁾.

7.3.1. Formato del resumen de informe de validación

El protocolo debió ser fechado y firmado por los responsables de la validación o persona designada por el laboratorio y deberá incluir lo siguiente:

Cuadro N° 3. Formato del resumen de informe de validación.

Fuente: Elaboración Propia

Logo del laboratorio	Código del documento	Pág. X de Y
Nombre del laboratorio	Resumen de Informe de validación del método para la cuantificación de preservantes en salsas.	Revisión:
		Vigencia:
<ul style="list-style-type: none"> - Referencia al protocolo utilizado. - Parámetros validados y criterios de aceptación. - Resultados Analíticos. - Resultados Estadísticos. - Interpretación de resultados y/o conclusiones. - Cuadro resumen de los resultados obtenidos (parámetro, criterio, resultado y conclusión) - Declaración de Aptitud del Método 		

VIII.MARCO TEORICO

8.0. GENERALIDADES

Hay diferentes métodos de análisis para determinar el contenido de sorbatos y benzoatos en los alimentos como son la cromatografía en capa fina, espectrofotometría ultravioleta (UV), la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la cromatografía de gases (GC). Aunque en concreto, la técnica de HPLC ha demostrado ser la más adecuada para estas determinaciones, ya que evita resultados anómalos como consecuencia de ciertas interferencias con otros componentes del alimento, y es más exacta y precisa que otras técnicas analíticas. ⁽²⁾.

Como Químico farmacéuticos, la validación de los métodos analíticos se utiliza para proporcionar unas pautas generales para monitorizar parámetros de proceso, asegurando la exactitud y fiabilidad del método usado. ⁽²⁾.

Es de suma importancia la cuantificación de preservantes químicos contenidos en los alimentos ya que, al sobrepasarse de los límites máximos de consumo, puede provocar un daño serio en la salud de las personas. Y, por consiguiente, el Ministerio de Salud el cual es el encargado de regular que dichos alimentos cumplan con la normativa vigente, garantizando la salud del consumidor. ⁽²⁾.

8.1. DEFINICIONES

- **Exactitud de una medición:** Es la proximidad de concordancia entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado. ⁽²⁾.
- **Incertidumbre de medida:** Parámetro no negativo que caracteriza la dispersión de los valores atribuidos a un mensurando, a partir de la información que se utiliza. ⁽²⁾.

- **Intervalo de confianza:** Intervalo en torno al valor estimado que contiene el valor real con una probabilidad determinada. ⁽²⁾.
- **Intervalo o Rango:** Se define como el intervalo entre la concentración superior e inferior para las cuales se ha demostrado la correcta precisión, exactitud y linealidad del método. ⁽²⁾.
- **Intervalo lineal:** Es la capacidad de un método analítico para dar resultados que son directamente proporcionales a la concentración del analito dentro de un intervalo dado. ⁽²⁾.
- **Precisión:** Es la proximidad de concordancia entre los resultados de pruebas independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas. ⁽²⁾.
- **Límite de detección:** El menor contenido que puede medirse con una certeza estadística razonable o La menor concentración del analito en una muestra que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse bajo las condiciones establecidas de la prueba. ⁽²⁾.
- **Límite de cuantificación:** La menor concentración de un analito que puede determinarse con una precisión (repetibilidad) y una exactitud aceptable bajo las condiciones establecidas de la prueba. ⁽²⁾.
- **Linealidad:** Define la habilidad del método para obtener resultados de la prueba proporcionales a la concentración del analito. ⁽²⁾.
- **Repetibilidad:** Precisión en condiciones de repetibilidad, es decir, condiciones según las cuales los resultados independientes de una prueba se obtienen con el mismo método, sobre objetos de prueba idénticos, en el mismo laboratorio, por el mismo operador, usando el mismo equipo y dentro de intervalos de tiempo cortos. ⁽²⁾.
- **Validación:** Confirmación mediante el suministro de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos para una utilización o aplicación específica prevista. ⁽²⁾.

- **Protocolo de validación:** Descripción de pruebas específicas para demostrar que un proceso da resultados que cumplen con los criterios preestablecidos de manera consistente. ⁽⁴⁾

8.2. VALIDACION

El término validación ha sido definido en distintas literaturas de diversas maneras y por diversos autores, aunque los términos utilizados son diferentes, todas concuerdan con lo mismo: especificar e implementar, aprobar y documentar. ⁽⁵⁾

La validación de un método tiene como definición:

El proceso de establecer las características de desempeño y limitaciones de un método y la identificación de las influencias que pueden modificar esas características y hasta qué punto. ⁽⁵⁾

Nota: Se puede aplicar cuando un método se desarrolla sin tener en mente ningún problema en particular ⁽⁵⁾.

En general se consideran 3 tipos de validación:

- **Validación prospectiva:** para procesos nuevos.
- **Validación retrospectiva:** para procesos repetidamente utilizados no validados anteriormente, pero de los cuales se tiene suficiente documentación para probar la “bondad” del proceso.
- **Validación concurrente:** validación llevada a cabo durante la producción rutinaria de productos destinados a la venta. ⁽⁵⁾

8.3. IMPORTANCIA DE LA VALIDACION

La validación consiste en confirmar y documentar que los resultados emanados de la aplicación de un método de análisis son confiables. ⁽⁵⁾

Evidentemente todo nuevo método analítico debe validarse para demostrar su idoneidad, pero generalmente existen metodologías antiguas aplicadas durante mucho tiempo y entonces tiene poco sentido validar como si fuera una metodología desconocida. Se habla entonces de una validación retrospectiva, donde se pueden combinar los nuevos criterios de validación con toda la experiencia ya adquirida. En cambio, se conoce como validación prospectiva a la que se realiza frente a un producto nuevo. ⁽⁵⁾.

Al realizar una validación de un método, se contribuye a la garantía que se les da a los consumidores sobre la calidad de un producto determinado. Se refuerza el control de calidad en alimentos y el cumplimiento de las normas alimentarias; Por lo tanto, este es un proceso que debe realizarse de una forma meticulosa y ordenada ya que, a partir del resultado de la validación del método, se determinará si es o no, confiable dicho método. ⁽⁵⁾.

8.4. METODO

Se define como una pieza fundamental en el análisis químico, y se emplea para resolver problemas relativos a la composición y naturaleza de la materia. El análisis químico tiene diversos ámbitos de aplicación, destacando el control de calidad de las materias primas y de los productos. ⁽⁵⁾.

8.5. CLASIFICACION DEL METODO

Se diferencian tres casos, en los que la dificultad de la validación aumenta del primero al tercero:

- **Método Normalizado:** Se trata de un método de ensayo normalizado, que se aplica exactamente como está descrito en referencias reconocidas internacionalmente. Ejemplos de referencias reconocidas: USP, FEUM, EP, BP, JP, IP, AOAC, Standard Methods, EPA, PAM, CIPAC, ASTM,

ASHTO, ISO, Codex Alimentarius, FDA, FAO, CE, USDA, otras referencias serán evaluadas. ⁽⁵⁾.

- **Método Normalizado modificado:** Se trata de una modificación a un método de ensayo normalizado. Ejemplos: un método de extracción diferente o la aplicación del método en una matriz diferente a la indicada, aplicación del método en rangos distintos trabajos. ⁽⁵⁾.
- **Método no normalizado:** Se trata de un método de ensayo que no se encuentra en referencias reconocidas internacionalmente. ⁽⁵⁾.

8.6. PARAMETROS A VALIDAR PARA METODOS NORMALIZADOS MODIFICADOS.

Los parámetros que se utilizaron en esta investigación para validar métodos normalizados modificados según la Organización Salvadoreña de Acreditación fueron los siguientes. ⁽⁵⁾:

Tabla N°3 Parámetros para métodos normalizados modificados. ⁽⁶⁾

Parámetros	Cualitativo	Clasificación de componentes	Propiedad física
Selectividad/ Especificidad	Si	+	No
Linealidad	No	Si	+
Exactitud	No	Si	+
Precisión	No	Si	Si
Límite de detección	Si	+	No
Límite de cuantificación	No	Si	+
Robustez	No	+	No
Incertidumbre	No	Si	Si

+: Puede o no requerirse, dependiendo de la naturaleza del análisis o rango a validar.

8.7. GENERALIDADES DE LOS PARAMETROS A VALIDAR POR METODOS NORMALIZADOS MODIFICADOS (CLASIFICACION DE COMPONENTES).

- Linealidad

La linealidad se evaluó con la determinación de Intervalo lineal e Intervalo de trabajo. ⁽²⁾.

El 'intervalo de trabajo' es el intervalo en el cual el método proporciona resultados con una incertidumbre aceptable. El extremo inferior del intervalo de trabajo está determinado por el límite de cuantificación, LOQ. El extremo superior del intervalo de trabajo está definido por las concentraciones a las cuales se observan anomalías significativas en la sensibilidad analítica. ⁽²⁾.

Un ejemplo de esto es el efecto meseta a altos valores de absorbancia en la espectroscopia UV/VIS. El intervalo lineal es la capacidad de un método analítico para dar resultados que son directamente proporcionales a la concentración del analito dentro de un intervalo dado. ⁽²⁾.

Se definen a continuación los elementos a considerar para la realización de los parámetros de Intervalo de trabajo e intervalo lineal. ⁽²⁾.

- Exactitud

La evaluación práctica de la Exactitud (veracidad) se fundamentó en la comparación de la media de los resultados de un método con relación a valores conocidos, es decir, la veracidad se determina contra un valor de referencia. ⁽²⁾.

Se dispone de dos técnicas básicas: Verificación con respecto a los valores de referencia de un material caracterizado y comparación con otro método caracterizado. ⁽²⁾.

Para verificar la Exactitud (veracidad) utilizando un material de referencia, se determinó la media y la desviación estándar de una serie de réplicas de una prueba y se compara contra el valor caracterizado del material de referencia. ⁽²⁾.

El material de referencia ideal sería un material certificado de matriz natural, muy semejante a la muestra de interés. Claramente la disponibilidad de estos materiales es limitada. ⁽²⁾.

Los materiales de referencia para una validación pueden ser:

- a) Preparados por adición de materiales típicos con materiales de referencia con pureza certificada u otros materiales de pureza y estabilidad adecuada.
- b) Materiales típicos bien caracterizados, de estabilidad verificada internamente y conservados para control de calidad interno. ⁽²⁾.

Para el cálculo del parámetro de Exactitud utilizando Material de Referencia, se debió tomar en cuenta las siguientes formulas:

$$b = \bar{X} - X_{ref}$$

$$b(\%) = \frac{\bar{X} - X_{ref}}{X_{ref}} \times 100$$

$$R(\%) = \frac{\bar{X}}{X_{ref}} \times 100$$

Figura N° 3. Fórmulas para el cálculo del parámetro de exactitud utilizando Material de Referencia. ⁽²⁾.

En donde:

X = Valor medio

X_{ref} = valor de referencia

b = Sesgo

$b(\%)$ = Error relativo porcentual

$R(\%)$ = Recuperación aparente. ⁽²⁾.

Para el cálculo del parámetro de Exactitud utilizando matriz adicionada, se debió tomar en cuenta las siguientes formulas:

$$R'(\%) = \frac{\bar{X}' - \bar{X}}{X_{adición}} \times 100$$

Figura N° 4. Fórmulas para el cálculo del parámetro de exactitud utilizando matriz adicionada ⁽²⁾.

En donde:

R' (%) es la recuperación relativa de adiciones a las diferentes concentraciones.

- Precisión

Se pueden determinar de tres maneras:

Repetibilidad: Estudia la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra en las mismas condiciones operativas (un mismo analista, mismos aparatos y reactivos, etc.) en un mismo laboratorio y en un periodo de tiempo corto. ⁽²⁾.

Precisión intermedia: Estudia la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra, pero en condiciones operativas diferentes (diferentes analistas, aparatos, días, etc.) y en un mismo laboratorio. ⁽²⁾.

Reproducibilidad: Estudia la variabilidad del método bajo condiciones operativas diferentes y en distintos laboratorios. Esto aplica en caso de organizaciones con diferentes laboratorios y/o cuando se requiera transferir métodos. Este parámetro aplica únicamente a laboratorios que tienen cedos con las cuales poder compararse ⁽²⁾.

- Límite de Detección y Limite de Cuantificación

El límite de Cuantificación es un término cuantitativo (menor cantidad medible) mientras que el límite de detección es cualitativo (menor cantidad detectable). ⁽²⁾.

- Incertidumbre

La incertidumbre es un intervalo asociado con un resultado de medida que expresa el intervalo de valores que razonablemente pueden atribuirse a la cantidad que se está midiendo. Una estimación de la incertidumbre debe tener en cuenta todos los efectos reconocidos que operan en el resultado. Las incertidumbres asociadas con cada efecto se combinan de acuerdo con procedimientos bien establecidos. ⁽²⁾.

8.8. CRITERIOS DE ACEPTACION

Linealidad:

Criterios de aceptación Intervalo lineal:

- Comportamiento lineal en la gráfica de concentración vs respuesta analítica.
- Datos aleatorios en el gráfico de residuales.
- El intervalo de confianza del intercepto debe incluir el cero, cuando se incluyan concentraciones bajas en la curva. ⁽²⁾.

Criterios de aceptación Intervalo de trabajo:

- $r \geq 0.98$
- El intervalo de confianza de la pendiente debe incluir la unidad ⁽²⁾.

Exactitud:

Se deberá tomar en cuenta lo establecido en la referencia del método. ⁽²⁾.

Precisión:

Se deberá tomar en cuenta lo establecido en la referencia del método. ⁽²⁾.

Límite de detección:

A partir de la curva o tabla construida, determinar mediante inspección, la concentración mínima a la cual la prueba no es confiable. ⁽²⁾.

Límite de Cuantificación:

Numéricamente es mayor el límite de Cuantificación y representa la menor cantidad de analito que puede analizarse con un % de Coeficiente de Variación y de Recuperación aceptables. Concentraciones menores pueden detectarse, pero no cuantificarse. ⁽²⁾.

Incertidumbre:

Reportar la incertidumbre expandida con un factor de cobertura $k=2$ y un nivel de significancia del 95%. ⁽²⁾.

8.9. ASPECTOS GENERALES SOBRE ADITIVOS ALIMENTARIOS

Desde un punto de vista estrictamente etimológico podría entenderse por “aditivo”, cualquiera sustancia extraña que se agrega voluntariamente a un alimento y en este contexto se justifica una alarma a nivel del consumidor. Pero, lamentablemente se suele llegar, a veces aun en forma sensacionalista, a expresiones de desconocimiento total, al equiparar, por ejemplo, “química” con “veneno”, olvidando que todos los procesos de los organismos vivos de la naturaleza se basan en reacciones químicas y que la “quimio-fobia” es irracional, pues muchos de los grandes problemas de la humanidad se resuelven sólo con la ayuda de la química. ⁽⁷⁾.

Es por estas consideraciones que, a nivel internacional (FAO/OMS, CEE y FDA), se ha procedido a restringir el concepto de “aditivo alimentario” a una sustancia de carácter generalmente no nutritivo, de composición perfectamente conocida y que se incorpora a un alimento en cantidades siempre pequeñas y muy

controladas para cumplir un determinado objetivo tecnológico. Este puede consistir en un mejoramiento, ya sea de su estabilidad (calidad tecnológica) o de su presentación, a través de sus caracteres organolépticos (calidad estética). ⁽⁷⁾.

8.10. PRESERVANTES / CONSERVANTES

Existen un conjunto de factores causantes de alteraciones en los alimentos; crecimiento y actividad de los microorganismos (bacterias, levaduras y mohos), actividad enzimática y otras reacciones químicas del propio alimento, infestación por insectos, parásitos y roedores, almacenamiento a temperaturas inadecuadas, ganancia o pérdida de humedad, reacciones con el oxígeno y la luz. ⁽⁸⁾.

De todas las alteraciones mencionadas la causada por microorganismos, es una de las más preocupantes en la industria alimentaria, porque además de echar a perder los nutrientes pueden dar lugar a intoxicaciones graves. Es por esto que los conservantes químicos con propiedades antimicrobianas juegan un importante papel para prevenir las alteraciones y asegurar la calidad higiénica de muchos alimentos. ⁽⁸⁾.

Los conservantes químicos son: “sustancias que se añaden a los productos alimenticios para protegerlos de alteraciones biológicas como fermentación, enmohecimiento y putrefacción”. ⁽⁸⁾.

Un aspecto a considerar es, que ningún aditivo conservador es eficaz sobre todo el espectro contaminante por lo que es bastante infrecuente la utilización de un solo método antimicrobiano para preservar un alimento y, siempre que es posible, se recurre a la combinación de varios procedimientos suaves encaminados a obtener una máxima inhibición de la actividad microbiana y un mínimo deterioro del valor nutritivo o de la aceptabilidad del producto. ⁽⁸⁾.

Las sustancias químicas que se usan como conservantes no han variado desde hace tiempo, pues es difícil encontrar nuevos compuestos con acciones mejores o más amplias que a la vez carezcan o posean una débil toxicidad, además de tener un bajo costo. ⁽⁸⁾.

Cuando la contaminación de los alimentos se da de forma natural actúan varios tipos de microorganismos y si las condiciones son apropiadas (calurosas y húmedas) presentaran una gran velocidad de multiplicación, pudiendo duplicar su número cada 30 minutos, estas propiedades hacen de ellos la principal fuente de descomposición de los alimentos. ⁽⁸⁾.

8.11. BENZOATO DE SODIO (C_6H_5COONa)

También conocido como benzoato de sosa, es blanca, cristalina o granulada, es soluble en agua y ligeramente soluble en alcohol. La sal es antiséptica y en cantidades elevadas es tóxica. Puede ser producido por reacción de hidróxido sódico con ácido benzoico. ⁽⁸⁾.

El benzoato sódico sólo es efectivo en condiciones ácidas ($pH < 3.6$) lo que hace que su uso más frecuente sea en conservas, en aliño de ensaladas (vinagre), en bebidas carbonatadas (ácido carbónico), en mermeladas (ácido cítrico), en zumo de frutas (ácido cítrico) y en salsas de comida china (soja, mostaza y pato). ⁽⁸⁾.

Se ha comprobado que tanto el ácido benzoico como sus sales no tienen efectos nocivos para las personas cuando se utiliza en pequeñas cantidades, se elimina rápidamente del organismo después de conjugarse con la glicina para formar ácido hipúrico (benzoilglicina) evitando su acumulación. ⁽⁸⁾.

8.12. SORBATO DE POTASIO ($C_6H_7O_2K$)

El sorbato de potasio es un conservante suave, actúa principalmente contra hongos y levaduras, es utilizado en una variedad de aplicaciones incluyendo alimentos, vinos y cuidado personal, es usado principalmente en los productos lácteos y en el pan de centeno. ⁽⁸⁾.

Este compuesto no es tóxico, pero dado que es un producto sintético, puede conducir a ciertas consecuencias negativas como la pérdida de nutrientes en los alimentos, diarrea, náuseas y diversos tipos de reacciones alérgicas. Un estudio mostró que la combinación entre el sorbato de potasio y la vitamina C, que se encuentra en la mayoría de los alimentos, pueden causar mutagenicidad y actividad que daña el ADN. Este conservante ocasionalmente puede causar urticaria, así como erupciones e irritaciones en la piel y los ojos ⁽⁸⁾.

8.13. REGLAMENTO TECNICO CENTROAMERICANO RTCA 67.04.54:18, ALIMENTOS Y BEBIDAS PROCESADAS. ADITIVOS ALIMENTARIOS.

Dentro de este reglamento se estipulan los tipos de salsas de las cuales las que se estudiarán, se encuentran en el apartado 12.6, con sub categorías del 12.6.1 al 12.6.4 en el orden siguiente: ⁽⁹⁾.

8.13.1. Salsas y productos análogos (12.6) ⁽⁹⁾.

Incluye las salsas, los “gravies”, los aliños y las mezclas que hay que reconstituir antes de su consumo. Los productos listos para el consumo se dividen en una subcategoría de productos emulsionados (12.6.1) y otra de productos no emulsionados (12.6.2), mientras que la subcategoría de mezclas (12.6.3) abarca las mezclas de salsas emulsionadas y no emulsionadas. ⁽⁹⁾.

- Salsas emulsionadas y salsas para mojar (p.ej. mayonesa, aderezos para ensaladas salsa para mojar de cebollas), (12.6.1). ⁽⁹⁾.

Salsas, gravies, aderezos, y salsas para mojar a base de, por lo menos en parte, una emulsión de grasa o aceite en agua. Los ejemplos incluyen: aderezos para ensaladas (p. ej. estilos francés, italiano, griego, ranchero), grasas para untar (por ejemplo, la mayonesa con la mostaza), cremas para ensaladas, salsas grasas y salsas para mojar para aperitivos (p. ej. salsa para mojar de tocino y queso cheddar, salsa para mojar de cebollas). ⁽⁹⁾.

- Salsas no emulsionadas (p. ej. “ketchup”, salsas a base de queso, salsas a base de nata (crema) y salsa “gravy”), (12.6.2). ⁽⁹⁾.

Incluye las salsas, “gravies” y aderezos a base de agua, leche de coco, y leche. Entre otros ejemplos cabe mencionar: la salsa picante, la salsa de tomate, la salsa de queso, la salsa Worcestershire, la salsa Worcestershire oriental espesa (salsa tonkatsu), el ajiaco, la salsa agridulce para mojar, y la salsa bechamel (a base de nata (crema)) (se trata de una salsa que consiste principalmente en leche o nata (crema) con poca grasa (p. ej. mantequilla) y harinas añadidas, con o sin aderezos o especias). ⁽⁹⁾.

- Mezclas para salsas y “gravies” (en polvo), (12.6.). ⁽⁹⁾.

Producto concentrado, normalmente en polvo, que hay que mezclar con agua, leche, aceite u otro líquido para preparar una salsa o “gravy” acabados. Ejemplos de ese producto son las mezclas para salsa de queso, salsa holandesa, y los aliños para ensaladas (p. ej. el italiano o el tipo “ranch”). ⁽⁹⁾.

- Salsas ligeras (p. ej. salsa de pescado), (12.6.4). ⁽⁹⁾.

Incluye las salsas ligeras no emulsionadas y poco espesas que pueden elaborarse a base de agua. Estas salsas se utilizan más como condimento o ingrediente que como un “gravy” acabado (para emplear, p. ej. en el rosbif). Son

ejemplos de estos productos la salsa de ostra, y la salsa de pescado tailandesa (nam pla) ⁽⁹⁾.

En la realización de la validación, se toman en cuenta los niveles máximos de presencia de benzoato de sodio y Sorbato de potasio en salsas de la categoría 12.6 las cuales nos proporciona el Organismo Salvadoreño de Reglamentación Técnica y están normados los límites permitidos en mg/kg. ⁽⁹⁾.

Tabla N°4. Nivel máximo de presencia de Benzoatos en salsas. ⁽⁹⁾.

N° categoría de alimentos °	Grupo de alimento/ Determinación	Límite Permitido según.	Referencias
12.6.1	Benzoatos: Benzoato de sodio (E211)	1000 mg/kg	CODEX STAN 192-1995 Norma General para los Aditivos Alimentarios. ⁽⁹⁾ .
12.6.2	Benzoatos: Benzoato de sodio (E211)	1000 mg/kg	CODEX STAN 192-1995 Norma General para los Aditivos Alimentarios ⁽⁹⁾ .
12.6.3	Benzoatos: Benzoato de sodio (E211)	1000 mg/kg	CODEX STAN 192-1995 Norma General para los Aditivos Alimentarios ⁽⁹⁾ .
12.6.4	Benzoatos: Benzoato de sodio (E211)	1000 mg/kg	CODEX STAN 192-1995 Norma General para los Aditivos Alimentarios ⁽⁹⁾ .

Tabla N°5. Nivel máximo de presencia de Sorbatos en salsas. ⁽⁹⁾.

N° categoría de alimentos °	Grupo de alimento/ Determinación	Límite Permitido según.
12.6.1	Sorbatos: Ácido sórbico (E200) Sorbato de potasio (E202)	3350 mg/kg ⁽⁹⁾ .
12.6.2	Sorbatos: Ácido sórbico (E200) Sorbato de potasio (E202)	2000 mg/kg ⁽⁹⁾ .
12.6.3	Sorbatos: Ácido sórbico (E200) Sorbato de potasio (E202)	2000 mg/kg ⁽⁹⁾ .
12.6.4	Sorbatos: Ácido sórbico (E200) Sorbato de potasio (E202)	2000 mg/kg ⁽⁹⁾ .

8.14. METODO DE DETECCION

CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA

La cromatografía comprende un conjunto de técnicas que tienen como finalidad la separación de mezclas basándose en la diferente capacidad de interacción de cada componente en otra sustancia. De forma general, consiste en pasar una fase móvil (una muestra constituida por una mezcla que contiene el compuesto deseado en el disolvente) a través de una fase estacionaria fija sólida. La fase estacionaria retrasa el paso de los componentes de la muestra, de forma que los componentes la atraviesan a diferentes velocidades y se separan en el tiempo. Cada uno de los componentes de la mezcla presenta un tiempo característico de paso por el sistema, denominado tiempo de retención. Cuando el tiempo de retención del compuesto deseado difiere del de los otros componentes de la mezcla, éste se puede separar mediante la separación cromatográfica. ⁽¹⁰⁾.

La separación de los diferentes componentes de una mezcla que se encuentran en un líquido o gas es el resultado de las diferentes interacciones de los solutos a medida que se desplazan alrededor o sobre una sustancia líquida o sólida (la fase estacionaria). Las diversas técnicas para la separación de mezclas complejas se fundamentan en la diversidad de afinidades de las sustancias por un medio móvil gas o líquido y un medio absorbente estacionario (papel, gelatina, alúmina o sílice) a través del cual circulan. ⁽¹⁰⁾.

IX.DISEÑO METODOLOGICO

Los aspectos metodológicos que se utilizaron para la elaboración del informe de la validación del método analítico normalizado modificado para cuantificar benzoato de sodio y sorbato de potasio en salsas por cromatografía líquida de alta eficiencia fueron:

9.1. UNIVERSO

Todas las muestras que ingresaron al Laboratorio de Alimentos y Toxicología dentro del área de análisis fisicoquímico, a las cuales se les debió realizar la determinación de preservantes.

9.2. MUESTRA

Salsas que ingresaron como muestras de análisis al Laboratorio de Alimentos y Toxicología, las cuales fueron: Salsa picante, Salsa de tomate, Salsa de ostras y Salsa de pescado, proporcionadas por la institución en los meses de diciembre del año 2022 a enero del año 2023.

9.3. FUENTES DE INFORMACION

En esta validación, se utilizaron las siguientes fuentes primarias:

- Manuales de procedimientos para determinar la cuantificación de los preservantes (Benzoato de sodio y Sorbato de potasio)
- Normativas vigentes nacionales e internaciones sobre los límites en la presencia de preservantes (Benzoato de sodio y Sorbato de potasio)
- Trabajos de investigación nacionales como internacionales sobre el método y la exactitud de métodos analíticos.
- Guías nacionales e internacionales sobre la cuantificación de Benzoato de sodio y Sorbato de potasio.

9.4. TECNICAS DE OBTENCION DE INFORMACION (INTERVENCION)

Para esta investigación se utilizó el análisis documental como una técnica y la observación experimental las cuales se describen a continuación.

- Análisis Documental:

En este aspecto, se consultará y analizará la información de documentos tales como guías, trabajos de investigación, normativas y manuales de procedimientos, relacionados con la validación.

- Observación Experimental:

Para esta técnica se utilizará la manipulación en este caso de las salsas, tomando muestras, observándolas y recolectando la información necesaria para cumplir con la investigación.

Las muestras se codificaron de la siguiente manera:

- Muestra de salsa de tomate proporcionada por el Laboratorio. Durante el proceso de Validación la muestra se va a identificar bajo el código (S1).
- Muestra de salsa picante proporcionada por el Laboratorio. Durante el proceso de Validación la muestra se va a identificar bajo el código (S2).
- Muestra de salsa de pescado proporcionada por el Laboratorio. Durante el proceso de Validación la muestra se va a identificar bajo el código (S3).
- Muestra de salsa de ostras proporcionada por el Laboratorio. Durante el proceso de Validación la muestra se va a identificar bajo el código (S4).

Fortificación a diferentes concentraciones con estándar analítico de benzoato de sodio y sorbato de potasio para elaboración de las curvas de calibración y fortificación de muestras.

De igual manera, se tiene una intervención de tipo experimental porque se recopiló y analizó información obtenida durante el ensayo en laboratorio y bibliográfica ya que para la obtención de información se utiliza la consulta y análisis de fuentes escritas.

9.5. HERRAMIENTAS PARA OBTENCION DE INFORMACION (INSTRUMENTOS).

Los instrumentos utilizados fueron hojas de registros para recolectar los datos. Los resultados se presentaron recogiendo todos los datos obtenidos del registro de pesos que se toman en balanza semi analítica con el formato siguiente:

Tabla N°6. Registro de pesos tomados en balanza semi analítica.

Fuente: Elaboración Propia

Mx	Concentración añadida (μg /mL)	Peso de Mx	Mx	Concentración añadida (μg /mL)	Peso de Mx
S1A			S4A		
S1B			S4B		
S1C			S4C		
S1D			S4D		
S1E			S4E		
S2A			S5A		
S2B			S5B		
S2C			S5C		

Así también, se recolectaron los datos obtenidos en el análisis por Cromatografía líquida de alta eficacia, haciendo uso de la siguiente tabla:

Tabla N°7. Datos obtenidos por el análisis en la cromatografía líquida de alta Eficacia (HPLC).

Fuente: Elaboración Propia

Mx	Conc. añadida (µg /mL)	Conc. obtenida en HPLC	Área obtenida de HPLC	Mx	Conc. añadida (µg /mL)	Conc. obtenida en HPLC	Área obtenida de HPLC
S1A				S4A			
S1B				S4B			
S1C				S4C			
S1D				S4D			
S1E				S4E			
S2A				S5A			
S2B				S5B			
S2C				S5C			

Para el uso y control de los equipos del laboratorio, se elaboró un registro en el cual se registraron las fechas, horas, el equipo utilizado y el responsable del mismo durante la obtención de la información, con el formato siguiente:

Tabla N°8. Registro de equipos utilizados durante la obtención de información.

Fuente: Elaboración Propia

REGISTO DE EQUIPO UTILIZADO			
FECHA	HORA	EQUIPO	RESPONSABLE

9.6. PROCEDIMIENTOS Y ANALISIS DE INFORMACION (PROCESAMIENTO Y ANALISIS DE INFORMACION).

Posteriormente de la recolección de datos se dio inicio a su procesamiento y análisis, el cual se encuentra registrado en las siguientes tablas:

Nota: Los cálculos se realizaron siguiendo las fórmulas de la Tabla N° 2 la cual se encuentra en la página número 28

Tabla N°9. Resumen de resultados obtenidos a la concentración de x µg /ml para evaluar la linealidad del sistema.

Fuente: Elaboración Propia

N° de Replica	Concentración añadida (µg /mL)	Y = Concentración obtenida (µg /mL)	Y ²	Y - Y'	ŷ	S	CV (%)
1	X						
2	X						
3	X						
4	X						
5	X						
6	X						

Tabla N° 10. Resumen de las desviaciones estándares y sus respectivos coeficientes de variación (cv).

Fuente: Elaboración Propia

Concentración Teórica (ug/mL)	ŷ	Y - Y'	S	CV (%)
x				
x				
x				
x				
x				
Promedio				

De estos datos, se calculó la regresión lineal, si la desviación estándar era proporcional a la concentración, entonces se consideraba cálculo de regresión ponderado en lugar de una regresión lineal no ponderada simple.

Cálculos para la determinación de precisión, exactitud y límite de cuantificación.

Se elaboraron los cálculos para la determinación de los parámetros de precisión, exactitud y límite de cuantificación, según la recolección y procesamiento de datos obtenidos previamente, sus resultados se registraron en el formato siguiente:

Tabla N° 11. Determinación de parámetros para Benzoato de Sodio.

Fuente: Elaboración Propia.

Resultados de la exactitud del método para Benzoato de Sodio					
Concentración Teórica (ug/mL)	x	x	x	x	x
Réplicas	Concentración Recuperada (ug/mL)				
1					
2					
3					
4					
5					
6					
Media aritmética					
Desv. Estd					
Sesgo (b)					
Error relativo porcentual b%					
Recuperación aparente (%R)					
CV (Coeficiente de variación)					
Intervalo de confianza (IC)					

Tabla N°12. Determinación de parámetros para Sorbato de Potasio.

Fuente: Elaboración Propia.

Resultados de la exactitud del método para Sorbato de Potasio					
Concentración Teórica (ug/mL)	x	x	x	x	x
Replicas	Concentración Recuperada (ug/mL)				
1					
2					
3					
4					
5					
6					
Media aritmética					
Desv. Estd					
Sesgo (b)					
Error relativo porcentual b%					
Recuperación aparente (%R)					
CV (Coeficiente de variación)					
Intervalo de confianza (IC)					

El programa utilizado durante el desarrollo de la investigación fue:

- El software que se utilizó fue: “*OpenLAB Chromatography Data System (CDS) ChemStation Edition*”.

Posteriormente del desarrollo de los cálculos, se realizó una tabla resumen en la que se plasmó los resultados, con su especificación para el método.

Tabla N°13. Tabla resumen de resultados con su especificación para el método.

Fuente: Elaboración Propia.

PARAMETRO EVALUADO		LIMITE	RESULTADO OBTENIDO	OBSERVACION (Cumple / NC)
LINEALIDAD				
Intervalo Lineal				
Residuales		Aleatorios		Cumple/ NC
Intervalo del intercepto		Debe contener el valor cero		Cumple/ NC
Intervalo de Trabajo				
Coeficiente de determinación		$r \geq 0,98$		Cumple/ NC
RECUPERACIÓN, EXACTITUD (TANTO POR UNO)				
Nivel 1	Analista 1	80%-120%		Cumple/ NC
Nivel 1	Analista 2			Cumple/ NC
Nivel 2	Analista 1			Cumple/ NC
Nivel 2	Analista 2			Cumple/ NC
Nivel 3	Analista 1			Cumple/ NC
Nivel 3	Analista 2			Cumple/ NC
PRECISIÓN INTERMEDIA COMO CV				
Nivel 1		CV \leq 20 %		Cumple/ NC
Nivel 2				Cumple/ NC
Nivel 3				Cumple/ NC
REPETIBILIDAD COMO CV				
Analista 1	Nivel 1	CV \leq 10 %		Cumple/ NC
	Nivel 2			Cumple/ NC
	Nivel 3			Cumple/ NC
Analista 2	Nivel 1			Cumple/ NC
	Nivel 2			Cumple/ NC
	Nivel 3			Cumple/ NC
INCERTIDUMBRE DEL RESULTADO A REPORTAR		$\leq 20 \%$		Cumple/ NC
LÍM. DE DETECCIÓN DEL MÉTODO (LDM)		$\leq 33.333 \%$		Cumple/ NC
LÍM. DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO (LCM)		$\leq 100 \%$		Cumple/ NC

9.7. PRUEBAS ESTADÍSTICAS

- Regresión Lineal

Técnica de análisis de datos que predice el valor de datos desconocidos mediante el uso de otro valor de datos relacionado y conocido. Modela matemáticamente la variable desconocida o dependiente y la variable conocida o independiente como una ecuación lineal. ⁽¹¹⁾.

- Media Aritmética

La media aritmética es el valor obtenido al sumar todos los datos y dividir el resultado entre el número total de datos. ⁽¹¹⁾.

- Desviación Estándar

La desviación estándar de la repetibilidad s_r , se obtiene calculando la raíz cuadrada del término del cuadrado medio dentro del grupo, que representa la varianza intragrupo. ⁽¹¹⁾.

- Coeficiente de Variación

El Coeficiente de Variación es una medida de dispersión que permite el análisis de las desviaciones de los datos con respecto a la media y al mismo tiempo las dispersiones que tienen los datos dispersos entre sí. ⁽¹¹⁾.

- Intervalo de confianza

Intervalo en torno al valor estimado que contiene el valor real con una probabilidad determinada. ⁽¹¹⁾.

- Incertidumbre estándar Combinada

U_c es una estimación de la desviación estándar igual a la raíz de la varianza total obtenida por combinación de todos los componentes de la incertidumbre. ⁽¹¹⁾.

- Incertidumbre expandida

U proporciona el intervalo en el cual el valor de la medida se encontrará con un alto nivel de confianza. ⁽¹¹⁾.

X.CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

TIEMPO		AÑOS											
		2022						2023					
		Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun
ACTIVIDAD													
I	ELABORACION DEL PLAN DE TRABAJO												
	REVISION Y APROBACION DEL PLAN DE TRABAJO												
	PRESENTACION DEL PLAN DE TRABAJO												
II	EJECUCION DE LAS PPS												
	REVISION DEL INFORME DE PPS												
	PRESENTACION DE INFORME DE PPS												
III	REDACCION DEL INFORME FINAL												
	REVISION Y APROBACION DEL PRODUCTO FINAL												
	PRESENTACION DEL INFORME												

CAPITULO II
PRODUCTO FINAL

XI.PRODUCTO FINAL

11.1. Desarrollo del protocolo de validación

La validación de un método analítico para cuantificar Benzoato de sodio y Sorbato de potasio en salsas utilizando Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC). El objetivo es asegurar la precisión y fiabilidad del método en la determinación de estos conservantes. Se evaluarán parámetros como la selectividad, linealidad, precisión, exactitud, límite de detección y límite de cuantificación. La validación garantizará resultados confiables y contribuirá a la seguridad alimentaria en la industria de alimentos y bebidas. ⁽²⁾.

Logo del laboratorio		
Pág.: 1 de 6		
Código del procedimiento:	Fecha de emisión:	Cambio No: x
	Aprobado por:	Versión No: x

PROTOCOLO DE VALIDACION DEL METODO ANALITICO PARA CUANTIFICACION DE BENZOATO DE SODIO Y SORBATO DE POTASIO EN SALSAS POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA.

11.2. OBJETIVO

Establecer la evidencia científica de la verificación de los parámetros de calidad necesarios para la validación del procedimiento aplicado en la Determinación de Benzoato de Sodio y Sorbato de Potasio en Salsas por cromatografía líquida, para demostrar idoneidad del ensayo y que se emplea correctamente y puede ser utilizado para el propósito previsto.

La evaluación de los parámetros de validación se efectuará en enero del año 2023.

11.3. ALCANCE

Es aplicable para la evaluación de los parámetros de validación de los analitos benzoato de sodio y sorbato de potasio en la matriz salsas y sus productos análogos en las concentraciones 5.00 mg/L a 200 mg/L.

11.4. RESPONSABLES

La validación es responsabilidad de los analistas del área de fisicoquímico, coordinadora de plataforma de Fisicoquímico, Coordinadora de Calidad, y Jefe de Laboratorio.

Código del procedimiento:	Fecha de emisión:	Cambio No: x
	Aprobado por:	Versión No: x

11.5. DETERMINACION DE PARAMETROS DE VALIDACION

Método Normalizado modificado por el Laboratorio de Alimentos y Toxicología, Ministerio de Salud. ⁽³⁾.

Según lo establecido por el Organismo Salvadoreño de Acreditación (OSA) que toma como base la Guía EURACHEM, los parámetros a estudiar para un método Normalizado modificado son: ⁽²⁾.

Tabla N° 14 Parámetros a estudiar para un método Normalizado modificado.⁽¹²⁾.

Parámetro	Criterio de Aceptación	Referencia
Linealidad (Intervalo Lineal e Intervalo de Trabajo)	<p>Intervalo Lineal: Coeficiente correlación $(r) \geq 0.995$ (Respuesta en función de la concentración). Datos aleatorios en el gráfico de residuales. El intervalo de confianza del intercepto debe incluir cero, a un nivel de confianza del 95%.</p> <p>Intervalo de Trabajo: Coeficiente correlación $(r) \geq 0.995$ (Concentración medida en función de Concentración teórica). El intervalo de confianza de la pendiente debe incluir la unidad, a un nivel de confianza del 99.9%.</p>	OSA. G 9.6 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS FISCOQUÍMICOS ⁽²⁾ .
Exactitud	<p>Porcentaje de Recobro $\pm 20\%$.</p> <p>Intervalo de Confianza del Porcentaje de Recobro debe incluir el 100%, a un nivel de significancia (α) de 0.05</p>	Criterio Interno de Laboratorio ⁽¹²⁾ .
Precisión (Repetibilidad / Precisión Intermedia)	<p>Repetibilidad: Coeficiente de Variación (CV) $\leq 10\%$</p> <p>Precisión Intermedia Coeficiente de Variación (CV) $\leq 20\%$</p>	Criterio Interno de Laboratorio. ⁽¹²⁾ . IUPAC 2002. Harmonized Guidelines for Single-Laboratory Validation of Methods. ⁽⁵⁾ .

Logo del laboratorio		
Pág.: 3 de 6		
Código del procedimiento:	Fecha de emisión:	Cambio No: x
	Aprobado por:	Versión No: x

Continuación de Tabla N° 14 Parámetros a estudiar para un método Normalizado modificado. ⁽¹²⁾

	No hay diferencia significativa entre los grupos (ANOVA).	Eurachem 2012. La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos. ⁽¹³⁾ .
Límite de Cuantificación	Menor al primer punto de la curva de Calibración.	Criterio Interno de Laboratorio. ⁽¹²⁾ .
Incertidumbre	Máxima incertidumbre expandida relativa porcentual 20%.	

11.6. MUESTRAS

Muestra de salsa de tomate proporcionada por el Laboratorio. Durante el proceso de Validación la muestra se va a identificar bajo el código (S1).

Muestra de salsa picante proporcionada por el Laboratorio. Durante el proceso de Validación la muestra se va a identificar bajo el código (S2).

Muestra de salsa de pescado proporcionada por el Laboratorio. Durante el proceso de Validación la muestra se va a identificar bajo el código (S3).

Muestra de salsa de ostras proporcionada por el Laboratorio. Durante el proceso de Validación la muestra se va a identificar bajo el código (S4).

Logo del laboratorio		
Pág.: 4 de 6		
Código del procedimiento:	Fecha de emisión:	Cambio No: x
	Aprobado por:	Versión No: x

Fortificación a diferentes concentraciones con estándar analítico de benzoato de sodio y sorbato de potasio para elaboración de las curvas de calibración y fortificación de muestras. ⁽²⁾.

11.7. EQUIPOS, REACTIVOS Y MATERIALES DE REFERENCIA INVOLUCRADOS EN LA VALIDACION

11.7.1. Equipos/Instrumentos

Tabla N° 15 Equipos e instrumentos utilizados en la validación. ⁽¹²⁾

Equipo/Instrumento	Código de Identificación Interno
Cromatógrafo líquido de alta resolución con detector ultravioleta.	C003
Balanza Analítica	B004
Mezclador de Vórtice	M215
Micropipeta Digital de Volumen Variable 50 µL – 1000 µL	V563
Unidad de filtración al vacío	U780

11.7.2. Reactivos y Materiales de Referencia

- Fosfato de potasio di hidrogenado
- Fosfato de potasio dibásico
- Metanol grado HPLC
- Estándar de Benzoato de sodio
- Estándar de Sorbato de potasio
- Hexacianoferrato (III) de potasio
- Sulfato de cinc heptahidratado ⁽¹²⁾.

Logo del laboratorio		
Pág.: 5 de 6		
Código del procedimiento:	Fecha de emisión:	Cambio No: x
	Aprobado por:	Versión No: x

11.8. REFERENCIA DEL METODO ANALITICO PARA VALIDAR

- Método de Análisis para la Determinación de Preservantes (Benzoato de Sodio y Sorbato de Potasio) en Alimentos por Cromatografía Líquida (HPLC). (Procedimiento interno de El Laboratorio de Alimentos y Toxicología) ⁽¹²⁾.
- Sistema de gestión de calidad G9.6 Validación de métodos analíticos fisicoquímicos, Organismo Salvadoreño de Acreditación, El Salvador, 2017. ⁽²⁾.

11.9. FRECUENCIA DE LA VERIFICACION O RE-VALIDACION

Cada vez que se haga una modificación significativa del procedimiento de medición.

11.10. REGISTROS

Registrar los resultados obtenidos en el resumen de Informe de validación 007 del procedimiento de medición “Validación del método analítico para cuantificar benzoato de sodio y sorbato de potasio en salsas por HPLC.”.

11.11. BIBLIOGRAFÍA

- OSA. G 9.6 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS FISICOQUÍMICOS ⁽²⁾.
- IUPAC 2002. Harmonized Guidelines for Single-Laboratory Validation of Methods. ⁽⁵⁾.
- Eurachem 2012. La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos. ⁽¹⁴⁾.

Código del procedimiento:	Fecha de emisión:	Cambio No: x
	Aprobado por:	Versión No: x

- *Método de Análisis para la Determinación de Preservantes (Benzoato de Sodio y Sorbato de Potasio) en Alimentos por Cromatografía Líquida (HPLC).*
(12).
- Eurachem/CITAG 2012 Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement.
(13).

11.12. RESPONSABLES DE LA VALIDACION:

Analista 1

Analista 2

Coordinadora de Plataforma
Fisicoquímico

Aprobado por:

Coordinadora de Calidad

Jefa de Laboratorio

FIN DEL DOCUMENTO

Observación:

Las tablas descritas en el apartado “9.5 Herramientas para obtención de información (instrumentos).” del plan de trabajo fueron demostrativas respecto a los cálculos efectuados, su desarrollo puede revisarse en el resumen de informe de validación.

VALIDACIÓN PARA LA DETERMINACION DE SORBATO DE POTASIO EN SALSA 1 POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN CON DETECTOR ULTRAVIOLETA
TABLA N°17 RESUMEN DE RESULTADOS CON SU ESPECIFICACIÓN PARA EL MÉTODO, Fuente: Elaboración Propia.

PARAMETRO EVALUADO	LIMITE	RESULTADOS OBTENIDOS	OBSERVACION	
Linealidad	Aleatorios.			
Intervalo Lineal	Debe			
Residuales	contener el	Aleatorios.	Cumple	
Intervalo del intercepto	valor cero	Contiene el valor cero	Cumple	
Intervalo de Trabajo				
Coefficiente de determinación	$r \geq 0.98$	0.9999	Cumple	
Recuperación, Exactitud (tanto por uno)				
Nivel 1 Analista 1	80%-120%	0.86 1.06	Cumple	
Nivel 1 Analista 2	80%-120%	0.94 0.94	Cumple	
Nivel 2 Analista 1	80%-120%	0.98 1.00	Cumple	
Nivel 2 Analista 2	80%-120%	0.97 0.99	Cumple	
Nivel 3 Analista 1	80%-120%	0.99 0.99	Cumple	
Nivel 3 Analista 2	80%-120%	0.93 0.97	Cumple	
Precisión intermedia como CV				
Nivel 1	CV \leq 20 %	4.79	Cumple	
Nivel 2	CV \leq 20 %	1.40	Cumple	
Nivel 3	CV \leq 20 %	5.88	Cumple	
Repetibilidad como CV				
Analista 1	Nivel 1	CV \leq 10 %	0.25	Cumple
	Nivel 2	CV \leq 10 %	0.53	Cumple
	Nivel 3	CV \leq 10 %	0.59	Cumple
Analista 2	Nivel 1	CV \leq 10 %	2.58	Cumple
	Nivel 2	CV \leq 10 %	0.99	Cumple
	Nivel 3	CV \leq 10 %	0.72	Cumple
Incertidumbre del resultado a reportar	CV \leq 20 %	Todos los valores \geq LCM tienen Incertidumbre \leq 20%	Cumple	
Lím. de Detección del Método (LDM)	\leq 33.333 %	6.33 mg/kg	Cumple	
Lím. de Cuantificación del Método (LCM)	\leq 100 %	21.1 mg/kg	Cumple	

Observación: Se cumplen los requisitos de calidad requeridos, por lo que el método puede ser utilizado para los propósitos establecidos

Registros Revisados por
Coordinadora de Calidad

Fecha

Revisado y aprobado por
Jefe de laboratorio

Fecha

VALIDACIÓN PARA LA DETERMINACION DE BENZOATO DE SODIO EN SALSAS 2 POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN CON DETECTOR ULTRAVIOLETA
TABLA N°18 RESUMEN DE RESULTADOS CON SU ESPECIFICACIÓN PARA EL MÉTODO Fuente: Elaboración Propia.

PARAMETRO EVALUADO	LIMITE	RESULTADOS OBTENIDOS	OBSERVACION
Linealidad Intervalo Lineal Residuales Intervalo del intercepto Intervalo de Trabajo Coeficiente de determinación	Aleatorios. Debe contener el valor cero $r \geq 0.98$	Aleatorios. Contiene el valor cero 0.9999	Cumple Cumple Cumple
Recuperación, Exactitud (tanto por uno) Nivel 1 Analista 1 Nivel 1 Analista 2 Nivel 2 Analista 1 Nivel 2 Analista 2 Nivel 3 Analista 1 Nivel 3 Analista 2	80%-120% 80%-120% 80%-120% 80%-120% 80%-120% 80%-120%	0.89 1.01 0.92 1.04 0.99 1.01 0.99 1.01 0.99 1.03 0.98 1.02	Cumple Cumple Cumple Cumple Cumple Cumple
Precisión intermedia como CV Nivel 1 Nivel 2 Nivel 3	CV \leq 20 % CV \leq 20 % CV \leq 20 %	2.97 0.73 1.80	Cumple Cumple Cumple
Repetibilidad como CV Analista 1 Nivel 1 Nivel 2 Nivel 3 Analista 2 Nivel 1 Nivel 2 Nivel 3	CV \leq 10 % CV \leq 10 %	2.12 0.68 0.85 2.64 0.72 1.11	Cumple Cumple Cumple Cumple Cumple Cumple
Incertidumbre del resultado a reportar	CV \leq 20 %	Todos los valores \geq LCM tienen Incertidumbre \leq 20%	Cumple
Lím. de Detección del Método (LDM)	\leq 33.333 %	6.85 mg/kg	Cumple
Lím. de Cuantificación del Método (LCM)	\leq 100 %	22.8 mg/kg	Cumple

Observación: Se cumplen los requisitos de calidad requeridos, por lo que el método puede ser utilizado para los propósitos establecidos

Registros Revisados por
Coordinadora de Calidad

Fecha

Revisado y aprobado por
Jefe de laboratorio

Fecha

VALIDACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE SORBATO DE POTASIO EN SALSA 2 POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN CON DETECTOR ULTRAVIOLETA
TABLA N°19 RESUMEN DE RESULTADOS CON SU ESPECIFICACIÓN PARA EL MÉTODO, Fuente: Elaboración Propia.

PARAMETRO EVALUADO	LIMITE	RESULTADOS OBTENIDOS	OBSERVACION	
Linealidad	Aleatorios. Debe contener el valor cero	Aleatorios. Contiene el valor cero	Cumple	
Intervalo Lineal			Cumple	
Residuales			Cumple	
Intervalo del intercepto			Cumple	
Intervalo de Trabajo				
Coefficiente de determinación	$r \geq 0.98$	0.9999	Cumple	
Recuperación, Exactitud (tanto por uno)				
Nivel 1 Analista 1	80%-120%	0.87 1.01	Cumple	
Nivel 1 Analista 2	80%-120%	0.93 0.95	Cumple	
Nivel 2 Analista 1	80%-120%	0.97 0.99	Cumple	
Nivel 2 Analista 2	80%-120%	0.96 0.98	Cumple	
Nivel 3 Analista 1	80%-120%	0.98 1.02	Cumple	
Nivel 3 Analista 2	80%-120%	0.92 1.00	Cumple	
Precisión intermedia como CV				
Nivel 1	CV \leq 20 %	1.93	Cumple	
Nivel 2	CV \leq 20 %	2.28	Cumple	
Nivel 3	CV \leq 20 %	4.90	Cumple	
Repetibilidad como CV				
Analista 1	Nivel 1	CV \leq 10 %	1.25	Cumple
	Nivel 2	CV \leq 10 %	1.15	Cumple
	Nivel 3	CV \leq 10 %	1.28	Cumple
Analista 2	Nivel 1	CV \leq 10 %	2.42	Cumple
	Nivel 2	CV \leq 10 %	1.44	Cumple
	Nivel 3	CV \leq 10 %	0.97	Cumple
Incertidumbre del resultado a reportar	CV \leq 20 %	Todos los valores \geq LCM tienen Incertidumbre \leq 20%	Cumple	
Lím. de Detección del Método (LDM)	\leq 33.333 %	5.20 mg/kg	Cumple	
Lím. de Cuantificación del Método (LCM)	\leq 100 %	17.3 mg/kg	Cumple	

Observación: Se cumplen los requisitos de calidad requeridos, por lo que el método puede ser utilizado para los propósitos establecidos

Registros Revisados por
Coordinadora de Calidad

Fecha

Revisado y aprobado por
Jefe de laboratorio

Fecha

VALIDACIÓN PARA LA DETERMINACION DE BENZOATO DE SODIO EN SALSA 3 POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN CON DETECTOR ULTRAVIOLETA
TABLA N°20 RESUMEN DE RESULTADOS CON SU ESPECIFICACIÓN PARA EL MÉTODO, Fuente: Elaboración Propia.

PARAMETRO EVALUADO	LIMITE	RESULTADOS OBTENIDOS	OBSERVACION
Linealidad Intervalo Lineal Residuales Intervalo del intercepto Intervalo de Trabajo Coeficiente de determinación	Aleatorios. Debe contener el valor cero $r \geq 0.98$	Aleatorios. Contiene el valor cero 0.9997	Cumple Cumple Cumple
Recuperación, Exactitud (tanto por uno) Nivel 1 Analista 1 Nivel 1 Analista 2 Nivel 2 Analista 1 Nivel 2 Analista 2 Nivel 3 Analista 1 Nivel 3 Analista 2	80%-120% 80%-120% 80%-120% 80%-120% 80%-120% 80%-120%	0.95 1.03 0.96 1.02 0.99 1.01 0.99 0.99 0.91 1.03 0.97 0.99	Cumple Cumple Cumple Cumple Cumple Cumple
Precisión intermedia como CV Nivel 1 Nivel 2 Nivel 3	CV \leq 20 % CV \leq 20 % CV \leq 20 %	2.19 1.02 1.86	Cumple Cumple Cumple
Repetibilidad como CV Analista 1 Nivel 1 Nivel 2 Nivel 3 Analista 2 Nivel 1 Nivel 2 Nivel 3	CV \leq 10 % CV \leq 10 %	1.22 0.44 0.82 2.83 0.93 2.22	Cumple Cumple Cumple Cumple Cumple Cumple
Incertidumbre del resultado a reportar	CV \leq 20 %	Todos los valores \geq LCM tienen Incertidumbre \leq 20%	Cumple
Lím. de Detección del Método (LDM)	\leq 33.333 %	6.17 mg/kg	Cumple
Lím. de Cuantificación del Método (LCM)	\leq 100 %	20.6 mg/kg	Cumple

Observación: Se cumplen los requisitos de calidad requeridos, por lo que el método puede ser utilizado para los propósitos establecidos

Registros Revisados por
Coordinadora de Calidad

Fecha

Revisado y aprobado por
Jefe de laboratorio

Fecha

VALIDACIÓN PARA LA DETERMINACION DE SORBATO DE POTASIO EN SALSA 3 POR CROMATOGRFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN CON DETECTOR ULTRAVIOLETA

TABLA N°21 RESUMEN DE RESULTADOS CON SU ESPECIFICACIÓN PARA EL MÉTODO, Fuente: Elaboración Propia.

PARAMETRO EVALUADO	LIMITE	RESULTADOS OBTENIDOS	OBSERVACION	
Linealidad	Aleatorios. Debe contener el valor cero	Aleatorios. Contiene el valor cero	Cumple	
Intervalo Lineal Residuales Intervalo del intercepto			Cumple	
Intervalo de Trabajo Coeficiente de determinación	$r \geq 0.98$	0.9987	Cumple	
Recuperación, Exactitud (tanto por uno)				
Nivel 1 Analista 1	80%-120%	0.86 1.02	Cumple	
Nivel 1 Analista 2	80%-120%	0.91 0.99	Cumple	
Nivel 2 Analista 1	80%-120%	0.98 1.00	Cumple	
Nivel 2 Analista 2	80%-120%	0.93 0.97	Cumple	
Nivel 3 Analista 1	80%-120%	0.82 1.06	Cumple	
Nivel 3 Analista 2	80%-120%	0.94 1.00	Cumple	
Precisión intermedia como CV				
Nivel 1	CV \leq 20 %	3.09	Cumple	
Nivel 2	CV \leq 20 %	6.84	Cumple	
Nivel 3	CV \leq 20 %	4.91	Cumple	
Repetibilidad como CV				
Analista 1	Nivel 1	CV \leq 10 %	2.78	Cumple
	Nivel 2	CV \leq 10 %	1.78	Cumple
	Nivel 3	CV \leq 10 %	1.94	Cumple
Analista 2	Nivel 1	CV \leq 10 %	3.15	Cumple
	Nivel 2	CV \leq 10 %	1.35	Cumple
	Nivel 3	CV \leq 10 %	3.99	Cumple
Incertidumbre del resultado a reportar	CV \leq 20 %	Todos los valores \geq LCM tienen Incertidumbre \leq 20%	Cumple	
Lím. de Detección del Método (LDM)	\leq 33.333 %	8.16 mg/kg	Cumple	
Lím. de Cuantificación del Método (LCM)	\leq 100 %	27.2 mg/kg	Cumple	

Observación: Se cumplen los requisitos de calidad requeridos, por lo que el método puede ser utilizado para los propósitos establecidos

Registros Revisados por
Coordinadora de Calidad

Fecha

Revisado y aprobado por
Jefe de laboratorio

Fecha

Código del procedimiento:	Fecha de emisión:	Cambio No: x
	Aprobado por:	Versión No: x

VALIDACIÓN PARA LA DETERMINACION DE BENZOATO DE SODIO EN SALSA 4 POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN CON DETECTOR ULTRAVIOLETA
TABLA N°22 RESUMEN DE RESULTADOS CON SU ESPECIFICACIÓN PARA EL MÉTODO, Fuente: Elaboración Propia.

PARAMETRO EVALUADO	LIMITE	RESULTADOS OBTENIDOS	OBSERVACION	
Linealidad	Aleatorios. Debe contener el valor cero	Aleatorios. Contiene el valor cero	Cumple Cumple	
Intervalo Lineal Residuales Intervalo del intercepto				
Intervalo de Trabajo Coeficiente de determinación	$r \geq 0.98$	0.9999	Cumple	
Recuperación, Exactitud (tanto por uno)				
Nivel 1 Analista 1	80%-120%	0.89 1.07	Cumple	
Nivel 1 Analista 2	80%-120%	0.91 1.01	Cumple	
Nivel 2 Analista 1	80%-120%	1.00 1.02	Cumple	
Nivel 2 Analista 2	80%-120%	0.98 1.02	Cumple	
Nivel 3 Analista 1	80%-120%	0.96 1.02	Cumple	
Nivel 3 Analista 2	80%-120%	0.99 0.99	Cumple	
Precisión intermedia como CV				
Nivel 1	CV \leq 20 %	4.02	Cumple	
Nivel 2	CV \leq 20 %	1.63	Cumple	
Nivel 3	CV \leq 20 %	1.10	Cumple	
Repetibilidad como CV				
Analista 1	Nivel 1	CV \leq 10 %	1.42	Cumple
	Nivel 2	CV \leq 10 %	1.80	Cumple
	Nivel 3	CV \leq 10 %	0.51	Cumple
Analista 2	Nivel 1	CV \leq 10 %	3.09	Cumple
	Nivel 2	CV \leq 10 %	0.76	Cumple
	Nivel 3	CV \leq 10 %	0.94	Cumple
Incertidumbre del resultado a reportar	CV \leq 20 %	Todos los valores \geq LCM tienen Incertidumbre \leq 20%	Cumple	
Lím. de Detección del Método (LDM)	\leq 33.333 %	7.31 mg/kg	Cumple	
Lím. de Cuantificación del Método (LCM)	\leq 100 %	24.4 mg/kg	Cumple	

Observación: Se cumplen los requisitos de calidad requeridos, por lo que el método puede ser utilizado para los propósitos establecidos

Registros Revisados por
 Coordinadora de Calidad
 Revisado y aprobado por
 Jefe de laboratorio

Fecha

Fecha

CAPITULO III
CONCLUSIONES

III. CONCLUSIONES

- 1.0. El Programa de Prácticas Profesionales Supervisadas es una excelente opción para realizar un proyecto de grado, ya que proporciona experiencia práctica en una institución, fomenta la responsabilidad y el compromiso del estudiante, y brinda oportunidades para desarrollar habilidades profesionales.
- 2.0. La realización de Prácticas Profesionales Supervisadas brinda una valiosa experiencia para el ámbito laboral. Al participar en actividades dentro de la institución, se adquiere conocimiento práctico en el manejo de muestras, la correcta manipulación de equipos y la realización de diversos análisis. Estas prácticas también permiten comprender la importancia de los análisis y su relevancia en el contexto profesional.
- 3.0. Las prácticas brindan la oportunidad de interactuar con profesionales y otros miembros del equipo. Trabajar en colaboración con ellos permite aprender sobre dinámicas de trabajo en equipo, comunicación efectiva y cómo contribuir de manera efectiva en un entorno laboral colaborativo.
- 4.0. El método analítico para la determinación cuantitativa de los preservantes: benzoato de sodio y sorbato de potasio mediante cromatografía líquida de alta resolución tiene en cuenta las propiedades de especificidad, linealidad, sensibilidad, precisión, buena reproducibilidad y exactitud además de cumplir con los estándares de verificación y su ejecución es de forma rápida y sencilla.

- 5.0. Se destaca que el método de análisis es específico, demostrando que la matriz, pese a su consistencia y naturaleza, permite una identificación y cuantificación clara e inequívoca de los preservantes Benzoato de sodio y sorbato de potasio.

- 6.0. La validación del método analítico nos permite observar que, los resultados de precisión del sistema del instrumento y el método fueron satisfactorios. Queda demostrado que el método tiene excelentes niveles de precisión.

CAPITULO IV
RECOMENDACIONES

IV. RECOMENDACIONES

- 1.0. Se recomienda a la dirección de procesos de grado de la Universidad de El Salvador, mejorar la coordinación con la institución donde se llevan a cabo las Prácticas Profesionales Supervisadas. Es importante que exista una comunicación fluida y efectiva entre ambas partes para asegurar un desarrollo óptimo de las prácticas.
- 2.0. Se recomienda a la dirección de procesos de grado de la Universidad de El Salvador, implementar manuales de Prácticas Profesionales Supervisadas para áreas adicionales, ya que actualmente solo se cuenta con uno para el área hospitalaria. Esto permitirá brindar orientación específica y recursos adecuados para el desarrollo exitoso de las prácticas en diferentes campos de estudio. Los manuales proporcionarán directrices claras, información sobre normativas y procedimientos, así como ejemplos de proyectos y recomendaciones de seguridad. Esta ampliación beneficiará tanto a los estudiantes como a los tutores, al garantizar un marco estructurado y apoyo adicional para las prácticas en diversas áreas.
- 3.0. Sería recomendable para la dirección de procesos de grado de la Universidad de El Salvador, considerar la inclusión de más personas en el proyecto de graduación y brindarles la oportunidad de participar en el Programa de Prácticas Profesionales Supervisadas. Esto permitiría aumentar el personal involucrado en las validaciones, ya que son procesos extensos que podrían afectar el desarrollo diario de las actividades del analista.

- 4.0. Se sugiere a los futuros laboratorios participantes en esta modalidad que, en caso de que la práctica profesional supervisada implique un desarrollo experimental de gran envergadura, se valore la posibilidad de que dos personas colaboren en un mismo proyecto, dado su nivel de complejidad.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

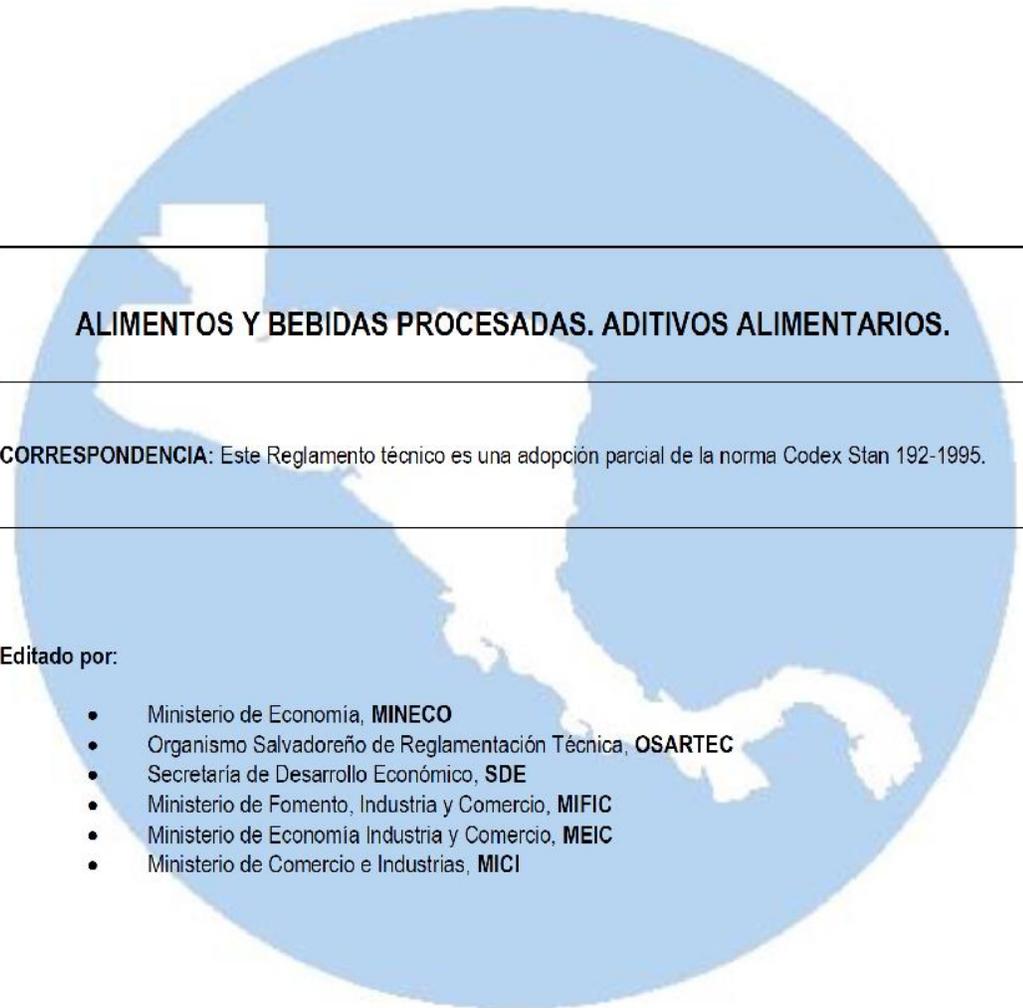
1. Manual de Procedimientos Internos del Laboratorio del Ministerio de Salud.
2. Osa. Sistema De Gestión De Calidad G 9.6 Validación De Métodos Analíticos Físicoquímicos Versión 2. (2017).
3. Método Normalizado modificado por el Laboratorio de Alimentos y Toxicología, Ministerio de Salud.
4. Cruz, M. J. A. Propuesta De Guía Técnica Para La Validación De Métodos De Limpieza De Equipos Utilizados En La Fabricación De Formas Farmacéuticas Líquidas Orales No Estériles. Universidad De El Salvador. (2014).
5. *IUPAC 2002. Harmonized Guidelines for Single-Laboratory Validation of Methods.*
6. OSA. G 9.6 Validación De Métodos Analíticos Físicoquímicos
7. *Schmidt-Hebbel, D. H. Avances en Aditivos alimentarios y la reglamentación de los alimentos.* Editorial Universitaria S.A. (1990).
8. Moreno, J. J. V. Conservadores Químicos Utilizados En La Industria Alimentaria. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. (2010).
9. Organismo Salvadoreño de Reglamentación Técnica. Reglamento Técnico salvadoreño. Alimentos y Bebidas Procesadas. Aditivos Alimentarios. 2012.
10. Operaciones Básicas en el Laboratorio de Química. Cromatografía. Fundamento de la Técnica. [Www.ub.edu](http://www.ub.edu).
11. Walpole RE, Myers RH, Sharon L. Myers KY. Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias. Pearson Education, Inc; 2012.

12. Método de Análisis para la Determinación de Preservantes (Benzoato de Sodio y Sorbato de Potasio) en Alimentos por Cromatografía Líquida (HPLC). (Procedimiento interno de El Laboratorio de Alimentos y Toxicología).
13. *Eurachem/CITAG 2012 Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement.*
14. Eurachem 2012. La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos.

ANEXOS

ANEXO N°1.

Reglamento Técnico Centroamericano ⁽⁹⁾.



ALIMENTOS Y BEBIDAS PROCESADAS. ADITIVOS ALIMENTARIOS.

CORRESPONDENCIA: Este Reglamento técnico es una adopción parcial de la norma Codex Stan 192-1995.

Editado por:

- Ministerio de Economía, **MINECO**
- Organismo Salvadoreño de Reglamentación Técnica, **OSARTEC**
- Secretaría de Desarrollo Económico, **SDE**
- Ministerio de Fomento, Industria y Comercio, **MIFIC**
- Ministerio de Economía Industria y Comercio, **MEIC**
- Ministerio de Comercio e Industrias, **MICI**

ANEXO N°2.

**Apartado de Salsas en el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA
67.04.54:18). ⁽⁹⁾.**

12.4 Mostazas:

Es una salsa de condimento elaborada a partir de semillas de mostaza molidas y a menudo desgrasadas que se mezclan en una solución con agua, vinagre, sal, aceite y otras especias y se refina. Destacan la mostaza de Dijon y la mostaza "picante" (preparada a base de semillas con hollejo).⁷⁰

12.5 Sopas y caldos:

Incluye las sopas y los preparados listos para el consumo. Los productos finales pueden ser a base de agua (p. ej. el consomé) o leche (p. ej. la sopa de pescado).

12.5.1 Sopas y caldos listos para el consumo, incluidos los envasados, embotellados y congelados:

Se trata de productos elaborados a base de agua o leche que consisten en caldos de hortalizas, carne o pescado con o sin otros ingredientes (p. ej. hortalizas, carne, fideos). Como ejemplos cabe mencionar: cubitos, caldos, consomés, sopas a base de agua y nata (crema), sopas de pescado y sopas de marisco.

12.5.2 Mezclas para sopas y caldos:

Se trata de la sopa concentrada que habrá de reconstituirse con agua y/o leche, con o sin otros ingredientes optativos añadidos (p. ej. hortalizas, carne, fideos). Cabe mencionar como ejemplos: los cubitos y polvos para caldo y las sopas en polvo y condensadas (p. ej. *mentsuyu*).

12.6 Salsas y productos análogos:

Incluye las salsas, los "gravies", los aliños y las mezclas que hay que reconstituir antes de su consumo. Los productos listos para el consumo se dividen en una subcategoría de productos emulsionados (12.6.1) y otra de productos no emulsionados (12.6.2), mientras que la subcategoría de mezclas (12.6.3) abarca las mezclas de salsas emulsionadas y no emulsionadas.

12.6.1 Salsas emulsionadas y salsas para mojar (p.ej. mayonesa, aderezos para ensaladas, salsa para mojar de cebollas):

Salsas, *gravies*, aderezos, y salsas para mojar a base de, por lo menos en parte, una emulsión de grasa o aceite en agua. Los ejemplos incluyen: aderezos para ensaladas (p. ej. estilos francés, italiano, griego, ranchero), grasas para untar (por ejemplo, la mayonesa con la mostaza), cremas para ensaladas, salsas grasas y salsas para mojar para aperitivos (p. ej. salsa para mojar de tocino y queso cheddar, salsa para mojar de cebollas).

12.6.2 Salsas no emulsionadas (p. ej. "ketchup", salsas a base de queso, salsas a base de nata (crema) y salsa "gravy"):

Incluye las salsas, "gravies" y aderezos a base de agua, leche de coco, y leche. Entre otros ejemplos cabe mencionar: la salsa picante, la salsa de tomate, la salsa de queso, la salsa Worcestershire, la salsa Worcestershire oriental espesa (salsa *tonkatsu*), el ajiaco, la salsa agrídulce para mojar, y la salsa bechamel (a base de nata (crema)) (se trata de una salsa que consiste principalmente en leche o nata (crema) con poca grasa (p. ej. mantequilla) y harina añadidas, con o sin aderezos o especias).

12.6.3 Mezclas para salsas y "gravies":

Producto concentrado, normalmente en polvo, que hay que mezclar con agua, leche, aceite u otro líquido para preparar una salsa o "gravy" acabados. Ejemplos de ese producto son las mezclas para salsa de queso, salsa holandesa, y los aliños para ensaladas (p. ej. el italiano o el tipo "ranch").

12.6.4 Salsas ligeras (p. ej. salsa de pescado):

Incluye las salsas ligeras no emulsionadas y poco espesas que pueden elaborarse a base de agua. Estas salsas se utilizan más como condimento o ingrediente que como un "gravy" acabado (para emplear, p. ej. en el rosbif). Son ejemplos de estos productos la salsa de ostra, y la salsa de pescado tailandesa (*nam pla*).

12.7 Ensaladas (p. ej. la ensalada de macarrones, la ensalada de patatas (papas)) y emulsiones para untar emparedados, excluidas las emulsiones para untar a base de cacao y nueces de las categorías de alimentos 04.2.2.5 y 05.1.3:

Incluye las ensaladas preparadas, las emulsiones a base de leche para untar emparedados, las emulsiones sin normalizar para untar emparedados parecidas a la mayonesa y el aliño para *coleslaw* (ensalada de col).

⁷⁰ *Food Chemistry*, H.-D. Belitz & W. Grosch, Springer-Verlag, Heidelberg, 1987, pág. 718.

ANEXO Nº 3.

CÁLCULOS (BENZOATO DE SODIO) ⁽¹²⁾.

9.5.01 LINEALIDAD
INTERVALO LINEAL

TABLA N° 1 CURVA No. 1 (ANALISTA 1)

Est No.	Conc. (X)mg/L	Area (Y)	C. Mx mg/kg	(Xi-Xprom) ²	Yci	(Yi-Yci) ²
1	0.00	0.000	0.1930	3700.6944	-10.1806	103.6438
2	5.0	246.913	4.8840	3117.3611	253.0326	37.4478
3	20.0	1042.613	19.9990	1667.3611	1042.6722	0.0035
4	40.0	2107.581	40.2290	434.0278	2095.5249	145.3447
5	100	5226.472	99.4760	1534.0278	5254.0831	762.3644
6	200	10529.900	200.2190	19367.3611	10518.3468	133.4766

CONTINUACION DE (TABLA N°1)

Est No.	χ_i^2	Residual	% Dif
1	0.0000	10.18056	-200.00
2	25.0000	-6.11946	2.45
3	400.0000	-0.05926	0.01
4	1600.0000	12.05590	0.57
5	10000.0000	-27.61095	0.53
6	40000.0000	11.55321	0.11

Promedio 60.8333 **Yi:** Area leída
Pendiente 52.64264 **Yci:** Area estimada con la curva de calibración
Intercepto -10.18056 **Residual** Yi - Yci
Coef. Det 0.99999

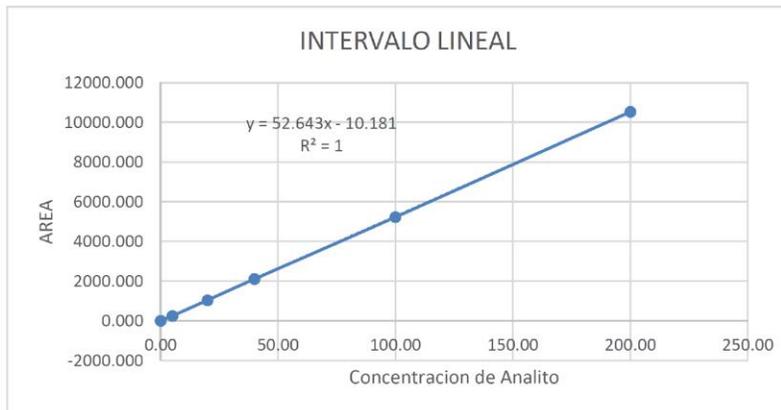


Figura. N°1. Grafica de intervalo lineal de Curva N°1 Analista 1



Figura. N°2. Grafica de Residuales de Curva N°1 Analista 1

NOTA: Se observa distribución aleatoria del residual con respecto a la línea cero

**COMPARACION DEL INTERCEPTO CON EL VALOR CERO
DETERMINACIÓN DEL INTERVALO DE INTERCEPTO**

		INTERVALO DEL INTERCEPTO	
$S^2_{v/x}$	295.570205	Lim Inferior	-35.9194584
S_{xx}	29820.8333	Lim Superior	15.55833762
$S_{y/x}$	17.1921553		
S_b	9.2704509		
GL	4		
t calculado	1.098173		
$t_{0.05(4)}$	2.776445		

Observación:

t calculado no es mayor que t tabulado, por lo que el intervalo de intercepto contiene el valor cero. Cumple

TABLA N° 2 CURVA No. 2 (ANALISTA 1)

Est No.	Conc. (X)mg/L	Area (Y)	C. Mx mg/kg	$(X_i - \bar{X}_{prom})^2$	Y_{ci}	$(Y_i - Y_{ci})^2$
1	0.00	0.00	0.1260	3700.6944	-6.6366	44.0442
2	5.0	248.5	4.8470	3117.3611	256.4950	64.4101
3	20.0	1049	20.0650	1667.3611	1045.8898	11.8339
4	40.0	2107	40.1680	434.0278	2098.4161	78.2832
5	100	5238	99.6590	1534.0278	5255.9952	322.9850
6	200	10526	200.1340	19367.3611	10518.6270	50.0269

CONTINUACION DE (TABLA N°2)

Est No.	χ^2	Residual	% Dif
1	0.0000	6.63658	-200.00
2	25.0000	-8.02559	3.18
3	400.0000	3.44005	0.33
4	1600.0000	8.84778	0.42
5	10000.0000	-17.97178	0.34
6	40000.0000	7.07297	0.07

Promedio	60.8333	Y_i:	Area leída
Pendiente	52.62632	Y_{ci}	Area estimada con la curva de calibración
Intercepto	-6.63658	Residual	Y _i - Y _{ci}
Coef. Det	0.99999		

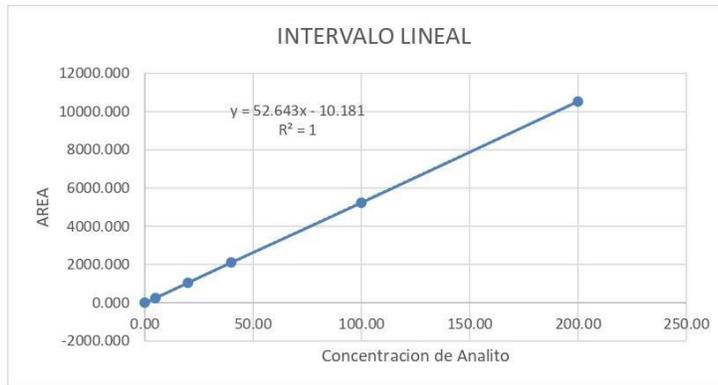


Figura. N°3. Grafica de intervalo lineal de Curva N°2 Analista 1

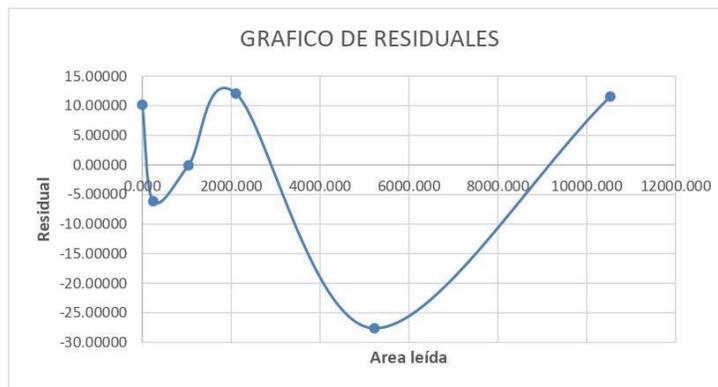


Figura. N°4. Grafica de Residuales de Curva N°2 Analista 1

NOTA: Se observa distribución aleatoria del residual con respecto a la línea cero

**COMPARACION DEL INTERCEPTO CON EL VALOR CERO
DETERMINACIÓN DEL INTERVALO DE INTERCEPTO**

$S^2_{v/x}$	142.895842	INTERVALO DEL INTERCEPTO	
Sxx	29820.8333	Lim Inferior	-24.53313289
Sy/x	11.9539049	Lim Superior	11.25997534
Sb	6.4458520		
GL	4		
t calculado	1.029589		
$t_{0.05}(4)$	2.776445		

Observación:

t calculado no es mayor que t tabulado, por lo que el intervalo de intercepto contiene el valor cero. Cumple

TABLA N° 3 CURVA No. 3 (ANALISTA 1)

Est No.	Conc. (X)mg/L	Area (Y)	C. Mx mg/kg	$(X_i - X_{prom})^2$	Yci	$(Y_i - Y_{ci})^2$
1	0.00	0.00	0.1910	3700.6944	-10.0766	101.5377
2	5.0	250.5	4.9450	3117.3611	253.4407	8.4273
3	20.0	1036	19.8560	1667.3611	1043.9926	57.4244
4	40.0	2099	40.0140	434.0278	2098.0617	0.5104
5	100	5258	99.9620	1534.0278	5260.2692	3.9809
6	200	10532	200.0320	19367.3611	10530.6149	2.8395

CONTINUACION DE (TABLA N°3)

Est No.	X_i^2	Residual	% Dif
1	0.0000	10.07659	-200.00
2	25.0000	-2.90299	1.15
3	400.0000	-7.57789	0.73
4	1600.0000	0.71441	0.03
5	10000.0000	-1.99523	0.04
6	40000.0000	1.68509	0.02

Promedio 60.8333 **Yi:** Area leída
Pendiente 52.70346 **Yci:** Area estimada con la curva de calibración
Intercepto -10.07659 **Residual** Yi - Yci
Coef. Det 1.00000

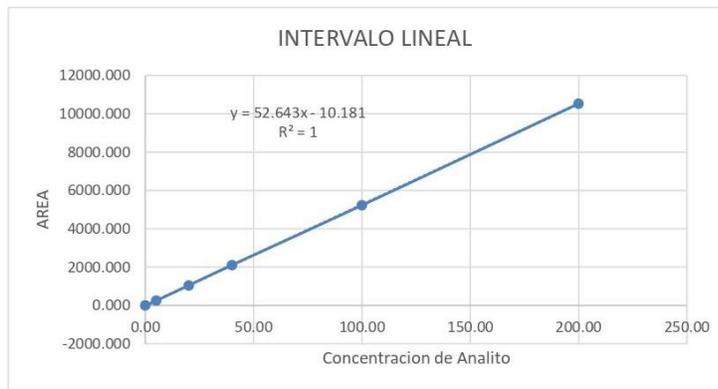


Figura. N°5. Grafica de intervalo lineal de Curva N°3 Analista 1



Figura. N°6. Grafica de Residuales de Curva N°3 Analista 1

NOTA: Se observa distribución aleatoria del residual con respecto a la línea cero

**COMPARACION DEL INTERCEPTO CON EL VALOR CERO
DETERMINACIÓN DEL INTERVALO DE INTERCEPTO**

		INTERVALO DEL INTERCEPTO	
$S^2_{v/x}$	43.680069	Lim Inferior	-19.97126192
Sxx	29820.8333	Lim Superior	-0.181923362
Sy/x	6.6090899		
Sb	3.5637907		
GL	4		
t calculado	2.827493		
$t_{0.05}(4)$	2.776445		

Observación:

t calculado es mayor que t tabulado, por lo que el intervalo del intercepto no contiene el valor de cero. No Cumple

TABLA N° 4 CURVA No. 4 (ANALISTA 1)

Est No.	Conc. (X)mg/L	Area (Y)	C. Mx mg/kg	$(X_i - X_{prom})^2$	Yci	$(Y_i - Y_{ci})^2$
1	0.00	0.00	0.0500	3700.6944	-2.6343	6.9396
2	5.0	255.4	4.9030	3117.3611	260.5045	25.9887
3	20.0	1047	19.9500	1667.3611	1049.9210	6.9501
4	40.0	2107	40.0950	434.0278	2102.4763	24.9859
5	100	5262	100.0270	1534.0278	5260.1421	2.0161
6	200	10522	199.9750	19367.3611	10522.9186	1.7387

CONTINUACION DE (TABLA N°4)

Est No.	X_i^2	Residual	% Dif
1	0.0000	2.63432	-200.00
2	25.0000	-5.09791	1.98
3	400.0000	-2.63630	0.25
4	1600.0000	4.99859	0.24
5	10000.0000	1.41988	0.03
6	40000.0000	-1.31858	0.01

Promedio	60.8333	Yi:	Area leída
Pendiente	52.62776	Yci	Area estimada con la curva de calibración
Intercepto	-2.63432	Residual	Yi - Yci
Coef. Det	1.00000		

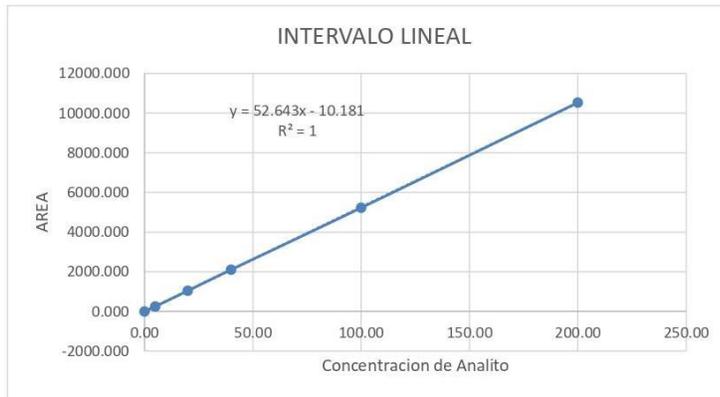


Figura. N°7. Grafica de intervalo lineal de Curva N°4 Analista 1

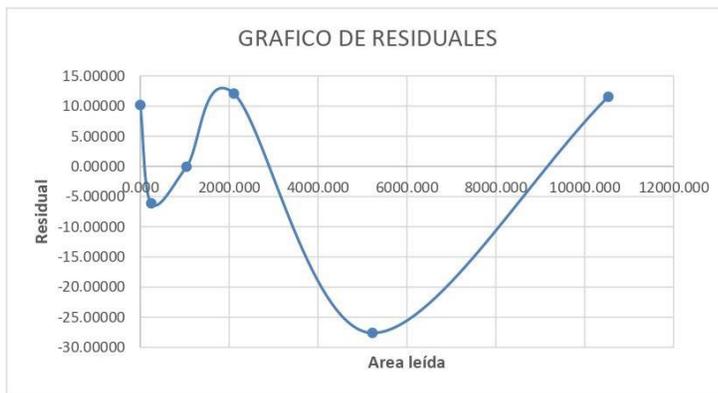


Figura. N°8. Grafica de Residuales de Curva N°4 Analista 1

**NOTA: Se observa distribución aleatoria del residual con respecto a la línea cero
COMPARACION DEL INTERCEPTO CON EL VALOR CERO
DETERMINACIÓN DEL INTERVALO DE INTERCEPTO**

		INTERVALO DEL INTERCEPTO	
$S^2_{v/x}$	17.154761	Lim Inferior	-8.835181349
Sxx	29820.8333	Lim Superior	3.566539742
Sy/x	4.1418307		
Sb	2.2333813		
GL	4		
t calculado	1.179521		
$t_{0.05}(4)$	2.776445		

Observación:

t calculado no es mayor que t tabulado, por lo que el intervalo de intercepto contiene el valor cero. Cumple

Máxima respuesta del equipo	10532.300
Pendiente promedio	52.65004
Intercepto promedio	-7.38201

**9.5.01 LINEALIDAD
INTERVALO DE TRABAJO**

RESULTADOS DEL ANÁLISIS DEL BLANCO PREPARADO

Réplica	Conc.	
1	0.00	Analista 1
2	0.00	Analista 1
3	0.00	Analista 1

PREPARACIÓN Y RESULTADOS DE ANÁLISIS DE BLANCOS FORTIFICADOS

NIVEL 1 (ANALISTA 1)

SOLUCION FORTIFICANTE

Concentración de solución fortificante	5000 mg/L
Cantidad de fortificante adicionado	50.0 uL
Cant de Muestra Fortificada Resultante	2.50 g
Cantidad de analito adicionada	0.250 mg
Concentración esperada	100 mg/kg

Réplica	Conc. Calc
1	91.07
2	99.69
3	96.80

NIVEL 2 (ANALISTA 1)

SOLUCION FORTIFICANTE

Concentración de solución fortificante	5000 mg/L
Cantidad de fortificante adicionado	200 uL
Cant de Muestra Fortificada Resultante	2.50 g
Cantidad de analito adicionada	1.00 mg
Concentración esperada	400 mg/kg

Réplica	Conc. Calc
1	378.6
2	394.1
3	396.4

NIVEL 3 (ANALISTA 1)

SOLUCION FORTIFICANTE

Concentración de solución fortificante	5000 mg/L
Cantidad de fortificante adicionado	400 uL
Cant de Muestra Fortificada Resultante	2.50 g
Cantidad de analito adicionada	2.00 mg
Concentración esperada	800 mg/kg

Réplica	Conc. Calc
1	762.4
2	801.6
3	800.4

NIVEL 4 (ANALISTA 1)

SOLUCION FORTIFICANTE

Concentración de solución fortificante	5000 mg/L
Cantidad de fortificante adicionado	1000 uL
Cant de Muestra Fortificada Resultante	2.50 g
Cantidad de analito adicionada	5.00 mg
Concentración esperada	2000 mg/kg

Réplica	Conc. Calc
1	1919
2	1989
3	1992

NIVEL 5 (ANALISTA 1)

SOLUCION FORTIFICANTE

Concentración de solución fortificante	5000 mg/L
Cantidad de fortificante adicionado	2000 uL
Cant de Muestra Fortificada Resultante	2.50 g
Cantidad de analito adicionada	10.0 mg
Concentración esperada	4000 mg/kg

Réplica	Conc. Calc
1	3932
2	4016
3	3984

TABLA N° 5 CALCULOS RELATIVOS AL INTERVALO DE TRABAJO

Xi: Nivel esperado

Yi: Nivel calculado

Residual =

Xi - Yci

Yci = m Xi + b

m: pendiente

b: Intercepto

i	Xi	Yci	(Xi-Yci)	(Xi-Yci) ²	Xi ²	(Xi-Xprom) ²
1	0.0	0.000	0.0000	0.00000	0.0	1463727.61257
2	0.0	0.000	0.0000	0.00000	0.0	1463727.61257
3	0.0	0.000	0.0000	0.00000	0.0	1463727.61257
4	100.0	91.070	8.9300	79.74490	10000.0	1231758.39035
5	100.0	99.690	0.3100	0.09610	10000.0	1231758.39035
6	100.0	96.800	3.2000	10.24000	10000.0	1231758.39035
7	400.0	378.580	21.4200	458.81640	160000.0	655850.72368
8	400.0	394.070	5.9300	35.16490	160000.0	655850.72368
9	400.0	396.360	3.6400	13.24960	160000.0	655850.72368
10	800.0	762.390	37.6100	1414.51210	640000.0	167973.83479
11	800.0	801.550	-1.5500	2.40250	640000.0	167973.83479
12	800.0	800.440	-0.4400	0.19360	640000.0	167973.83479
13	2000.0	1919.300	80.7000	6512.49000	4000000.0	624343.16813
14	2000.0	1989.480	10.5200	110.67040	4000000.0	624343.16813
15	2000.0	1992.370	7.6300	58.21690	4000000.0	624343.16813
16	4000.0	3932.290	67.7100	4584.64410	16000000.0	7784958.72368
17	4000.0	4015.910	-15.9100	253.12810	16000000.0	7784958.72368
18	4000.0	3984.160	15.8400	250.90560	16000000.0	7784958.72368
Promedio	1209.8461					

i	% Dif Xi, Yci
1	
2	
3	
4	9.35
5	0.31
6	3.25
7	5.50
8	1.49
9	0.91
10	4.81
11	-0.19
12	-0.05
13	4.12
14	0.53
15	0.38
16	1.71
17	-0.40
18	0.40

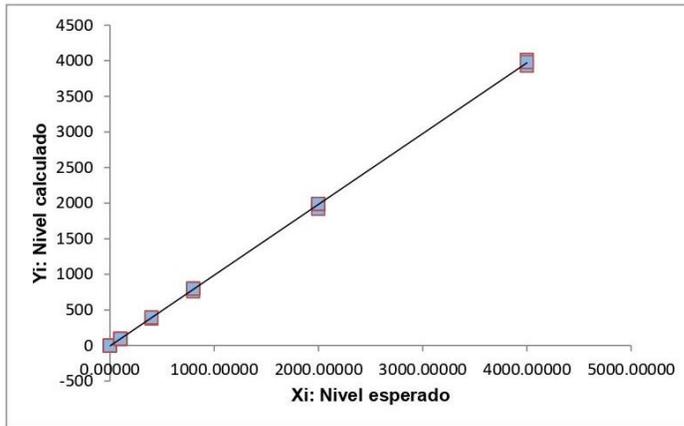


Figura. N°9. Grafica Nivel calculado vrs Nivel esperado para intervalo de trabajo

Pendiente 0.990
 Intercepto -6.445
 Coefi. Corr. 1.000

Cumple

GRAFICO DE RESIDUALES

Residual = $X_i - Y_{ci}$

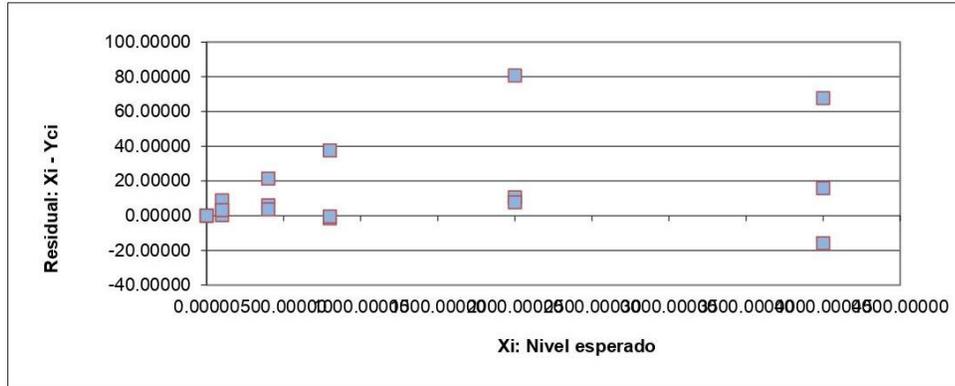


Figura. N° 10. Grafica de Residuales para el calculo de Intervalo de trabajo

NOTA: Se observa distribución aleatoria del residual con respecto a la línea cero

**COMPARACIÓN DE LA PENDIENTE CON EL VALOR UNO.
DETERMINACIÓN DEL INTERVALO DE LA PENDIENTE**

$S^2_{v/x}$	861.5297	INTERVALO DE LA PENDIENTE	
Sxx	35785837.4		0.970
Sm	0.0049	Lim Superior	1.010
GL	16		
t 0.001 (16)	4.015		
t calculado	2.038		

Observación:

t calculado es menor o igual que t tabulado, por lo que el intervalo de la pendiente contiene el valor uno. **Cumple**

**INTERVALO DE TRABAJO EN MUESTRAS CONSIDERANDO CANTIDAD DE MUESTRA Y DILUCIÓN ANTES
ESPECIFICADAS**

Límite inferior = LCM 19.5838 mg/kg
Límite superior para Area máxima (10532.3) = 4003.6745 mg/kg

9.5.2 RECUPERACION, EXACTITUD, SESGO

RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE MATRIZ NO FORTIFICADA

Réplica	C: mg/kg	
1	0.00	Analista 1
2	0.00	Analista 1
3	0.00	Analista 1
Promedio	0.00	

FORTIFICACIÓN DE LA MUESTRA CONTROL. SE FORTIFICARÁN MATRICES
SOLUCION FORTIFICANTE

Preparar una solución de Analito con concentración 5000 mg/L

NIVEL 1 (ANALISTA 1, ANALISTA 2)
SOLUCION FORTIFICANTE

Concentración de solución fortificante 5000 mg/L
 Cantidad de fortificante adicionado 50.0 uL
 Cant de Muestra Fortificada Resultante 2.50 g
 Cantidad de analito adicionada 0.250 mg
 Concentración esperada 100 mg/kg

TABLA N° 6 RESULTADOS DEL ANALISIS (ANALISTA 1) CALCULO DE RECUPERACION						
Réplica	C esp. mg/L	C calc: mg/kg	b	b(%)	R(%)	R'(%)
1	100	91.1	4.1	4.147	95.853	95.853
2	100	99.7				
3	100	96.8				
Promedio		95.9				
b	Sesgo.					
b(%)	Error relativo porcentual.					
R(%)	Recuperación aparente.					
R'(%)	Exactitud utilizando matriz adicionada.					
GL	Grados de libertad		2			
	Nivel de Confianza		95			
	Valor de T en tabla		4.30265273			
	Recuperación calculada		0.96			
S	Desviación Estandar		0.043872809			
σ	Desviación Estandar de la media		0.025329978			
IC(R'(%%))	Intervalo de Confianza de la Recuperación					
	[0.85	a	1.07]	
Conclusión	Se Cumple el requisito de Recuperación					

TABLA N° 7 RESULTADOS DEL ANALISIS (ANALISTA 2) CALCULO DE RECUPERACION						
Réplica	C esp. mg/L	C calc: mg/kg	b	b(%)	R(%)	R'(%)
1	100	96.50	3.2	3.153	96.847	96.847
2	100	96.62				
3	100	97.42				
Promedio		96.8				
b	Sesgo.					
b(%)	Error relativo porcentual.					
R(%)	Recuperación aparente.					
R'(%)	Exactitud utilizando matriz adicionada.					
GL	Grados de libertad		2			
	Nivel de Confianza		95			
	Valor de T en tabla		4.30265273			
	Recuperación calculada		0.97			
S	Desviación Estandar		0.005001333			
σ	Desviación Estandar de la media		0.002887521			
IC(R'(%%))	Intervalo de Confianza de la Recuperación					
	[0.96	a	0.98]	
Conclusión	Se Cumple el requisito de Recuperación					

NIVEL 3 (ANALISTA 1, ANALISTA 2)

SOLUCION FORTIFICANTE

Concentración de solución fortificante 5000 mg/L
 Cantidad de fortificante adicionado 400 uL
 Cant de Muestra Fortificada Resultante 2.50 g
 Cantidad de analito adicionada 2.00 mg
 Concentración adicionada 800 mg/kg

TABLA N° 8 RESULTADOS DEL ANALISIS (ANALISTA 1) CALCULO DE RECUPERACION

Réplica	C esp. mg/L	C calc: mg/kg	b	b(%)	R(%)	R'(%)
1	800	762	5.6	0.704	99.296	99.296
2	800	802				
3	800	800				
4	800	801				
5	800	800				
6	800	801				
Promedio		794.4				
b	Sesgo.					
b(%)	Error relativo porcentual.					
R(%)	Recuperación aparente.					
R'(%)	Exactitud utilizando matriz adicionada.					
GL	Grados de libertad		5			
	Nivel de Confianza		95			
	Valor de T en tabla		2.570581836			
	Recuperación calculada		0.99			
S	Desviacion Estandar		0.019602148			
σ	Desviacion Estandar de la media		0.008002543			
IC(R'(%))	Intervalo de Confianza de la Recuperación					
	[0.97	a	1.01]	
Conclusión	Se Cumple el requisito de Recuperación					

TABLA N° 9 RESULTADOS DEL ANALISIS (ANALISTA 2) CALCULO DE RECUPERACION

Réplica	C esp. mg/L	C calc: mg/kg	b	b(%)	R(%)	R'(%)
1	800	778.18	4.5	0.56	99.44	99.44
2	800	798.46				
3	800	799.14				
4	800	800.11				
5	800	799.23				
6	800	797.98				
Promedio		795.5				
b	Sesgo.					
b(%)	Error relativo porcentual.					
R(%)	Recuperación aparente.					
R'(%)	Exactitud utilizando matriz adicionada.					
GL	Grados de libertad		5			
	Nivel de Confianza		95			
	Valor de T en tabla		2.570581836			
	Recuperación calculada		0.99			
S	Desviacion Estandar		0.010655212			
σ	Desviacion Estandar de la media		0.004349972			
IC(R'(%))	Intervalo de Confianza de la Recuperación					
	[0.98	a	1]	
Conclusión	Se Cumple el requisito de Recuperación					

NIVEL 5 (ANALISTA 1, ANALISTA 2)

SOLUCION FORTIFICANTE

Concentración de solución fortificante 5000 mg/L
 Cantidad de fortificante adicionado 2000 uL
 Cant de Muestra Fortificada Resultante 2.50 g
 Cantidad de analito adicionada 10.0 mg
 Concentración adicionada 4000 mg/kg

TABLA N° 10 RESULTADOS DEL ANALISIS (ANALISTA 1) CALCULO DE RECUPERACION						
Réplica	C esp. mg/L	C calc: mg/kg	b	b(%)	R(%)	R'(%)
1	4000	3932.29	22.5	0.564	99.436	99.436
2	4000	4015.91				
3	4000	3984.16				
Promedio		3977.5				
b	Sesgo.					
b(%)	Error relativo porcentual.					
R(%)	Recuperación aparente.					
R'(%)	Exactitud utilizando matriz adicionada.					
GL	Grados de libertad		2			
	Nivel de Confianza		95			
	Valor de T en tabla		4.30265273			
	Recuperación calculada		0.99			
S	Desviacion Estandar		0.010552875			
σ	Desviacion Estandar de la media		0.006092705			
IC(R'(%))	Intervalo de Confianza de la Recuperación					
	[0.96	a	1.02]	
Conclusión	Se Cumple el requisito de Recuperación					

TABLA N° 11 RESULTADOS DEL ANALISIS (ANALISTA 2) CALCULO DE RECUPERACION						
Réplica	C esp. mg/L	C calc: mg/kg	b	b(%)	R(%)	R'(%)
1	4000	3928.78	82.6	2.066	97.934	97.934
2	4000	3925.43				
3	4000	3898				
Promedio		3917.4				
b	Sesgo.					
b(%)	Error relativo porcentual.					
R(%)	Recuperación aparente.					
R'(%)	Exactitud utilizando matriz adicionada.					
GL	Grados de libertad		2			
	Nivel de Confianza		95			
	Valor de T en tabla		4.30265273			
	Recuperación calculada		0.98			
S	Desviacion Estandar		0.004237563			
σ	Desviacion Estandar de la media		0.002446558			
IC(R'(%))	Intervalo de Confianza de la Recuperación					
	[0.97	a	0.99]	
Conclusión	Se Cumple el requisito de Recuperación					

TABLA N° 12 RESUMEN CORRELACION DE LA RECUPERACION Y NIVEL MEDIDO

i	Nivel	Rec. Calc.	Ln(Rec. Calc.)	Ln(Nivel)	Rec. Pred.
1	95.8533	0.9600	-0.0408	4.5628	0.969
2	96.8467	0.9700	-0.0305	4.5731	0.969
3	794.3717	0.9900	-0.0101	6.6776	0.981
4	795.5167	0.9900	-0.0101	6.6790	0.981
5	3977.4533	0.9900	-0.0101	8.2884	0.990
6	3917.3667	0.9800	-0.0202	8.2732	0.990
Ln(k)	-0.05850991		k	0.943168889	
p	0.005874538				
Coef. Corr	0.755109571				
R ²	0.570190464				

9.5.3 REPETIBILIDAD Y PRECISIÓN INTERMEDIA

REPETIBILIDAD

Concentraciones obtenidas en blanco fortificado: mg/kg

TABLA N° 13 CALCULOS DE REPETIBILIDAD PARA NIVEL 1

Réplica	Analista 2	Analista 1	Promedio
1	96.50	91.1	
2	96.62	99.7	
3	97.42	96.8	
4	97.03	96.1	
5	97.21	97	
6	97.31	96.4	
Promedio	97.0	96.1	96.564
Varianza	0.14211	7.807666667	3.974888333
S	0.3769748	2.794220225	1.585597513
Repetibilidad como (CV%)	0.388573726	2.90721394	1.647893833
Incertidumbre en la precisión:			0.016420144
Observación	Cumple	Cumple	

Concentraciones obtenidas en blanco fortificado: mg/kg

TABLA N° 14 CALCULOS DE REPETIBILIDAD PARA NIVEL 3

Réplica	Analista 2	Analista 1	Promedio
1	778.18	762.4	
2	798.46	801.6	
3	799.14	800.4	
4	800.11	801.4	
5	799.23	799.7	
6	797.98	800.8	
Promedio	795.5	794.4	794.944
Varianza	72.66146667	245.9162967	159.2888817
S	8.524169559	15.68171855	12.10294405
Repetibilidad como (CV%)	1.071526206	1.974103459	1.522814833
Incertidumbre en la precisión:			0.015224898
Observación	Cumple	Cumple	

Concentraciones obtenidas en blanco fortificado: mg/kg

TABLA N° 15 CALCULOS DE REPETIBILIDAD PARA NIVEL 5

Réplica	Analista 2	Analista 1	Promedio
1	3928.78	3932.3	
2	3925.43	4015.9	
3	3897.89	3984.2	
4	3969.78	3954.6	
5	3958.66	3994	
6	3997.09	4019.1	
Promedio	3946.3	3983.3	3964.808
Varianza	1273.946937	1177.65451	1225.800723
S	35.69239326	34.31697117	35.00468221
Repetibilidad como (CV%)	0.904458595	0.861511397	0.882984996
Incertidumbre en la precisión:			0.008828846
Observación	Cumple	Cumple	

Desv. Est. de la Media

CORRELACION DE CV Y NIVEL DE ANALITO

TABLA N° 16 RESUMEN DE CALCULOS DE REPETIBILIDAD

i	Nivel	CV calc	Ln(CV)	Ln(Nivel)	CV predicho
1	96.5642	1.65	0.4995	4.5702	1.78
2	794.9442	1.52	0.4206	6.6783	1.27
3	3964.8083	0.88	-0.1244	8.2852	0.98

Ln(k) 1.31568128 k 3.727289448
 p -0.16133316
 Coef. Corr -0.88472715
 R² 0.7827421

PRECISIÓN INTERMEDIA COMO CV

ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS RESULTADOS

TABLA N° 17 CALCULOS PARA PRECISION INTERMEDIA PARA NIVEL 1

Réplica	Analista 2	Analista 1	Sumatoria
1	96.5	91.1	
2	96.6	99.7	
3	97.4	96.8	
4	97.0	96.1	
5	97.2	96.6	
6	97.3	96.4	
Prom	97.0	96.1	
Varianza	0.142	7.808	
Suma Gi	582.090	576.680	1158.770
(Suma Gi) ²	338828.768	332559.822	671388.591

CONTINUACION DE TABLA N° 17 CALCULO DE Xij²

Réplica	Analista 2	Analista 1
1	9312.25000	8293.74490
2	9335.42440	9938.09610
3	9490.65640	9370.24000
4	9414.82090	9235.21000
5	9449.78410	9335.42440
6	9469.23610	9292.96000

CONTINUACION DE TABLA N° 20 ESTIMACION DE LA INCERTIDUMBRE ESTANDAR DE Xp POR REP

Est. No.	Xi o Xpi	Yi	SXp Rep	Incert. Exp Rel. %
1	0.0000	0.0000	0.03388	Infinito
2	5.0000	246.9132	0.03392	1.36
3	20.0000	1042.6129	0.03458	0.35
4	40.0000	2107.5808	0.03661	0.18
5	100.0000	5226.4722	0.04823	0.10
6	200.0000	10529.9000	0.07697	0.08

TABLA N° 22 ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR DE XP POR AJUSTE IMPERFECTO DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN (SXp AJU)

Est No.	Xi	Yi	Yci	(Yi-Yci) ²	Xi ²
1	0.0000	0.00	-7.38	54.49	0.0
2	5.0000	250.33	255.87	30.65	25.0
3	20.0000	1043.91	1045.62	2.92	400.0
4	40.0000	2105.27	2098.62	44.28	1600.0
5	100.0000	5246.08	5257.62	133.16	10000.0
6	200.0000	10527.38	10522.63	22.55	40000.0
SUMA	365.0000			288.05	52025.0
PROMEDIO	60.8333				

TABLA N° 23 INCERTIDUMBRES ESTÁNDAR POR AJUSTE IMPERFECTO, ESTIMADAS PARA CADA XI

Est. No.	Xi o Xpi	SXp Aju	Incert. Exp Rel. %
1	0.0000	0.183	Infinito
2	5.0000	0.182	7.3
3	20.0000	0.178	1.8
4	40.0000	0.175	0.9
5	100.0000	0.178	0.4
6	200.0000	0.217	0.2

TABLA N° 24 CALCULO DE INCERTIDUMBRE EN LA CALIBRACION

Est. No.	Xp	SXp Rep	SXp Aju	S Xp Cal	Incert. Exp Rel. %
1	0.0000	0.03388	0.183	0.186	Infinito
2	5.0000	0.03392	0.182	0.185	7.4
3	20.0000	0.03458	0.178	0.182	1.8
4	40.0000	0.03661	0.175	0.179	0.9
5	100.0000	0.04823	0.178	0.184	0.4
6	200.0000	0.07697	0.217	0.230	0.2

Incertidumbre Estándar de la Recuperación

CORRELACION DE LA INCERTIDUMBRE ESTANDAR (S) Y LA RECUPERACION (Recup)

TABLA N° 25 RESUMEN DE CALCULO DE INCERTIDUMBRE

i	Recup.	σ	Ln(S)	Ln(Recup)	S predicha
1	0.9600	0.0253	-3.6758	-0.0408	0.0100
2	0.9700	0.0029	-5.8474	-0.0305	0.0076
3	0.9900	0.0080	-4.8280	-0.0101	0.0044
4	0.9900	0.0043	-5.4376	-0.0101	0.0044
5	0.9900	0.0061	-5.1007	-0.0101	0.0044
6	0.9800	0.0024	-6.0131	-0.0202	0.0058

Ln(k) -5.69118753 k: 0.003375582
 p -26.675594
 Coef. Corr -0.40773771
 R² 0.1662500

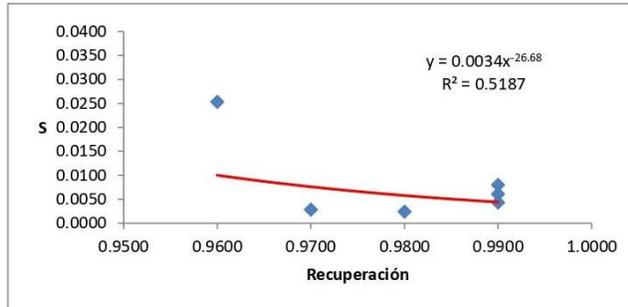


Figura. N°11. Grafica de Recuperacion vs S

Recuperación estimada: 0.9690
 Incertidumbre Estándar de la Recuperación 0.0078

Incertidumbre Estándar de la Repetibilidad de todo el proceso analítico
 Factor de Repetibilidad = 1
 Incertidumbre estándar de la repetibilidad = 0.01773
 Nivel del analito medido 100.0000 mg/kg

Incertidumbre de la Pureza del Estándar Analítico
 Pureza 1.000 (Considerando Pureza relativa a la concentración)
 Incertidumbre relativa: 0.002

9.5.5 LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO

TABLA N° 26 RESULTADOS DE MUESTRAS BLANCO

i	C		
1	96.5		
2	96.6		
3	97.4		
4	97.0		
5	97.2		
6	97.3		
7	91.1		
8	99.7		
9	96.8		
10	96.1		
11	96.6		
12	96.4		
DES. EST	1.9584	mg/kg	
LDM	5.9	mg/kg	Cumple
LCM	19.6	mg/kg	Cumple

CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE EN RESULTADO DE MUESTRA DE RUTINA

LECTURA DE LA MUESTRA

Cantidad de muestra analizada 2.5000 g
Factor de dilución 50.00 L

LECTURA DADA POR EL EQUIPO

Conc. dada por el Equipo 5.0 mg/L
Area estimada 255.9
S Xp Ajuste 0.1817 S Xp Rep 0.033927
S 0.1849 mg/kg S Xp Cal 0.1849
C 100.00 mg/kg
Factor de dilución adicional 1.0 ml
¿Desea corregir el sesgo mediante la recuperación, Si/No? Si

TABLA N° 27 RESUMEN

Descripción	X: Medida	S	S/X	S expand	S exp/X %	CV
Ccal	5.00	0.1849	0.0370	0.3697	7.39	
P	1.00	0.0020	0.0020	0.0040	0.40	
F Rep	1.00	0.0177	0.0177	0.0355	3.55	
Rec	0.9690	0.0078	0.0081	0.0156	1.61	
C	103.1957	4.3174	0.0418	8.6349	8.37	1.77
LCM	19.5838	mg/kg	LDM	5.8751	mg/kg	

Reportar: (103.2 ± 8.6) mg/kg Decimales 1

La incertidumbre reportada es de tipo expandida con un factor de cobertura de k=2 y un nivel de confianza aproximado del 95%

Notas:

Cumple el requisito de Incertidumbre Incert Max 20 %
Cumple el requisito de precisión CV máximo: 20 %
Cumple el requisito de Area del analito Area. Máx. 4003.6745
Cumple el requisito de Exactitud 0.800 a 1.200

TABLA N° 28 COMPARACIÓN DE INCERTIDUMBRES

Fuente	X: Medida	S	Contribución
Ccal	5.00	0.1849	36.97
P	1.00	0.0020	2.00
F Rep	1.0	0.0177	17.73
Rec	1.0	0.0078	8.06
C	103.2	4.3174	41.84

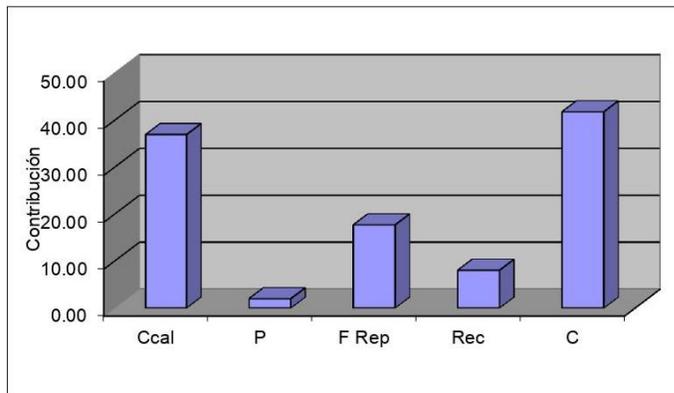


Figura n° 12 Gráfico de comparación de incertidumbres

ANEXO Nº 4.

CÁLCULOS (SORBATO DE POTASIO) ⁽¹²⁾.

9.5.01 LINEALIDAD
INTERVALO LINEAL

TABLA N° 1 CURVA No. 1 (ANALISTA 1)

Est No.	Conc. (X)mg/L	Area (Y)	C. Mx mg/kg	$(X_i - X_{prom})^2$	Y _{ci}	$(Y_i - Y_{ci})^2$
1	0.00	0.000	0.1030	3700.6944	-9.6847	93.7939
2	5.0	448.881	4.8850	3117.3611	459.6625	116.2496
3	20.0	1856.307	19.8790	1667.3611	1867.7041	129.9059
4	40.0	3752.547	40.0790	434.0278	3745.0930	55.5563
5	100	9387.505	100.1090	1534.0278	9377.2596	104.9648
6	200	18759.000	199.9450	19367.3611	18764.2040	27.0819

CONTINUACION DE (TABLA N°1)

Est No.	X_i^2	Residual	% Dif
1	0.0000	9.68473	-200.00
2	25.0000	-10.78191	2.37
3	400.0000	-11.39763	0.61
4	1600.0000	7.45361	0.20
5	10000.0000	10.24523	0.11
6	40000.0000	-5.20403	0.03

Promedio 60.8333 **Yi:** Area leída
Pendiente 93.86944 **Yci** Area estimada con la curva de calibración
Intercepto -9.68473 **Residual** Yi - Yci
Coef. Det 1.00000

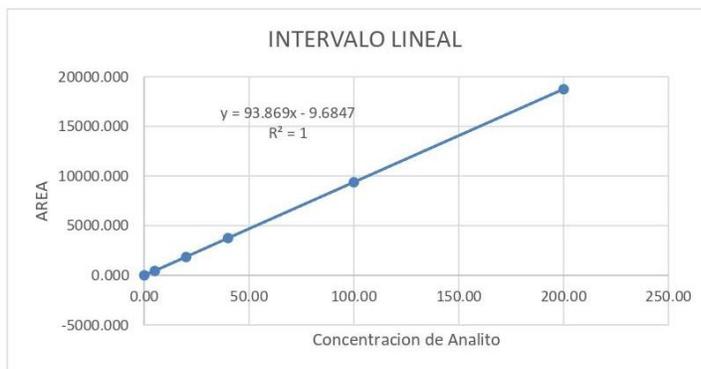


Figura. N°1. Grafica de intervalo lineal de Curva N°1 Analista 1



Figura. N°2. Grafica de Residuales de Curva N°1 Analista 1
NOTA: Se observa distribución aleatoria del residual con respecto a la línea cero

**COMPARACION DEL INTERCEPTO CON EL VALOR CERO
 DETERMINACIÓN DEL INTERVALO DE INTERCEPTO**

$S^2_{v/x}$	131.888093	INTERVALO DEL INTERCEPTO	
S_{xx}	29820.8333	Lim Inferior	-26.87815337
$S_{y/x}$	11.4842541	Lim Superior	7.50869815
S_b	6.1926042		
GL	4		
t calculado	1.563918		
$t_{0.05(4)}$	2.776445		

Observación:

t calculado no es mayor que t tabulado, por lo que el intervalo de intercepto contiene el valor cero. Cumple

TABLA N° 2 CURVA No. 2 (ANALISTA 1)

Est No.	Conc. (X)mg/L	Area (Y)	C. Mx mg/kg	$(X_i - X_{prom})^2$	Y_{ci}	$(Y_i - Y_{ci})^2$
1	0.00	0.00	0.0370	3700.6944	-3.4421	11.8480
2	5.0	445.7	4.7990	3117.3611	464.5147	354.4657
3	20.0	1858	19.8900	1667.3611	1868.3851	105.5773
4	40.0	3752	40.1220	434.0278	3740.2122	129.7445
5	100	9386	100.3220	1534.0278	9355.6937	905.9646
6	200	18699	199.8310	19367.3611	18714.8295	250.5744

CONTINUACION DE (TABLA N°2)

Est No.	X_i^2	Residual	% Dif
1	0.0000	3.44209	-200.00
2	25.0000	-18.82726	4.14
3	400.0000	-10.27508	0.55
4	1600.0000	11.39055	0.30
5	10000.0000	30.09925	0.32
6	40000.0000	-15.82954	0.08

Promedio	60.8333	Yi:	Area leída
Pendiente	93.59136	Yci	Area estimada con la curva de calibración
Intercepto	-3.44209	Residual	$Y_i - Y_{ci}$
Coef. Det	0.99999		

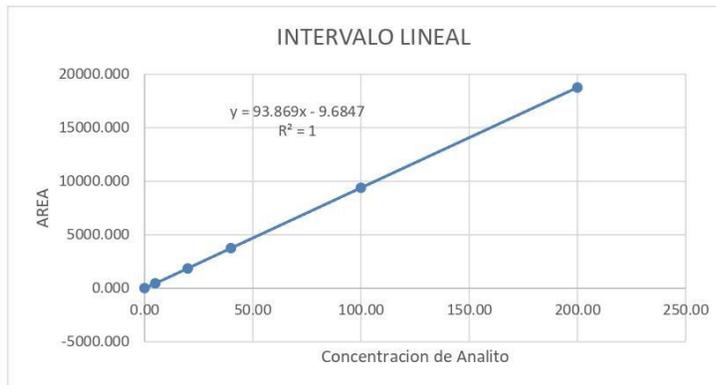


Figura. N°3. Grafica de intervalo lineal de Curva N°2 Analista 1



Figura. N°4. Grafica de Residuales de Curva N°2 Analista 1

NOTA: Se observa distribución aleatoria del residual con respecto a la línea cero

**COMPARACION DEL INTERCEPTO CON EL VALOR CERO
DETERMINACIÓN DEL INTERVALO DE INTERCEPTO**

		INTERVALO DEL INTERCEPTO	
$S^2_{v/x}$	439.543610	Lim Inferior	-34.82987258
Sxx	29820.8333	Lim Superior	27.94568861
Sy/x	20.9652954		
Sb	11.3050247		
GL	4		
t calculado	0.304475		
$t_{0.05}(4)$	2.776445		

Observación:

t calculado no es mayor que t tabulado, por lo que el intervalo de intercepto contiene el valor cero. Cumple

TABLA N° 3 CURVA No. 3 (ANALISTA 1)

Est No.	Conc. (X)mg/L	Area (Y)	C. Mx mg/kg	$(X_i - X_{prom})^2$	Yci	$(Y_i - Y_{ci})^2$
1	0.00	0.00	0.1580	3700.6944	-14.8398	220.2203
2	5.0	450.1	4.9560	3117.3611	454.2333	17.4100
3	20.0	1848	19.8610	1667.3611	1861.4528	169.4565
4	40.0	3728	39.8980	434.0278	3737.7455	91.7994
5	100	9384	100.1840	1534.0278	9366.6235	296.4696
6	200	18743	199.9440	19367.3611	18748.0868	27.9507

CONTINUACION DE (TABLA N°3)

Est No.	x_i^2	Residual	% Dif
1	0.0000	14.83982	-200.00
2	25.0000	-4.17253	0.92
3	400.0000	-13.01755	0.70
4	1600.0000	-9.58120	0.26
5	10000.0000	17.21829	0.18
6	40000.0000	-5.28684	0.03

Promedio 60.8333 **Yi:** Area leída
Pendiente 93.81463 **Yci** Area estimada con la curva de calibración
Intercepto -14.83982 **Residual** $Y_i - Y_{ci}$
Coef. Det 1.00000

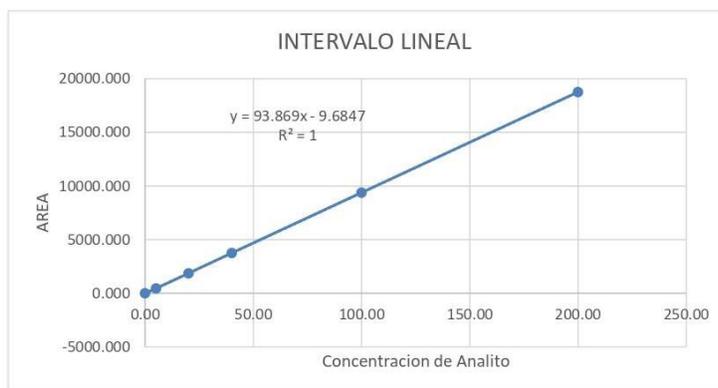


Figura. N°5. Grafica de intervalo lineal de Curva N°3 Analista 1



Figura. N°6. Grafica de Residuales de Curva N°3 Analista 1

NOTA: Se observa distribución aleatoria del residual con respecto a la línea cero

**COMPARACION DEL INTERCEPTO CON EL VALOR CERO
DETERMINACIÓN DEL INTERVALO DE INTERCEPTO**

		INTERVALO DEL INTERCEPTO	
$S^2_{v/x}$	205.826590	Lim Inferior	-36.31863721
S_{xx}	29820.8333	Lim Superior	6.638997176
$S_{y/x}$	14.3466578		
S_b	7.7360857		
GL	4		
t calculado	1.918260		
$t_{0.05}(4)$	2.776445		

Observación:

t calculado no es mayor que t tabulado, por lo que el intervalo de intercepto contiene el valor cero. Cumple

TABLA N° 4 CURVA No. 4 (ANALISTA 1)

Est No.	Conc. (X)mg/L	Area (Y)	C. Mx mg/kg	$(X_i - X_{prom})^2$	Y_{ci}	$(Y_i - Y_{ci})^2$
1	0.00	0.00	0.1480	3700.6944	-13.9071	193.4080
2	5.0	439.9	4.8450	3117.3611	454.4102	210.7703
3	20.0	1860	20.0020	1667.3611	1859.3622	0.0408
4	40.0	3729	39.9560	434.0278	3732.6314	16.8416
5	100	9359	100.0720	1534.0278	9352.4393	44.8688
6	200	18717	199.9770	19367.3611	18718.7857	4.7772

CONTINUACION DE (TABLA N°4)

Est No.	X_i^2	Residual	% Dif
1	0.0000	13.90712	-200.00
2	25.0000	-14.51793	3.25
3	400.0000	0.20193	0.01
4	1600.0000	-4.10385	0.11
5	10000.0000	6.69842	0.07
6	40000.0000	-2.18568	0.01

Promedio	60.8333	Y_i:	Area leída
Pendiente	93.66346	Y_{ci}	Area estimada con la curva de calibración
Intercepto	-13.90712	Residual	Y _i - Y _{ci}
Coef. Det	1.00000		

**9.5.01 LINEALIDAD
INTERVALO DE TRABAJO**

RESULTADOS DEL ANÁLISIS DEL BLANCO PREPARADO

Réplica	Conc.	
1	0.00	Analista 1
2	0.00	Analista 1
3	0.00	Analista 1

PREPARACIÓN Y RESULTADOS DE ANÁLISIS DE BLANCOS FORTIFICADOS

NIVEL 1 (ANALISTA 1)

SOLUCION FORTIFICANTE	
Concentración de solución fortificante	5000 mg/L
Cantidad de fortificante adicionado	50.0 uL
Cant de Muestra Fortificada Resultante	2.50 g
Cantidad de analito adicionada	0.250 mg
Concentración esperada	100 mg/kg

Réplica	Conc. Calc
1	91.93
2	99.27
3	98.00

NIVEL 2 (ANALISTA 1)

SOLUCION FORTIFICANTE	
Concentración de solución fortificante	5000 mg/L
Cantidad de fortificante adicionado	200 uL
Cant de Muestra Fortificada Resultante	2.50 g
Cantidad de analito adicionada	1.00 mg
Concentración esperada	400 mg/kg

Réplica	Conc. Calc
1	384.2
2	386.4
3	387.2

NIVEL 3 (ANALISTA 1)

SOLUCION FORTIFICANTE	
Concentración de solución fortificante	5000 mg/L
Cantidad de fortificante adicionado	400 uL
Cant de Muestra Fortificada Resultante	2.50 g
Cantidad de analito adicionada	2.00 mg
Concentración esperada	800 mg/kg

Réplica	Conc. Calc
1	773.8
2	790.8
3	791.2

NIVEL 4 (ANALISTA 1)

SOLUCION FORTIFICANTE

Concentración de solución fortificante	5000 mg/L
Cantidad de fortificante adicionado	1000 uL
Cant de Muestra Fortificada Resultante	2.50 g
Cantidad de analito adicionada	5.00 mg
Concentración esperada	2000 mg/kg

Réplica	Conc. Calc
1	1915
2	1938
3	1954

NIVEL 5 (ANALISTA 1)

SOLUCION FORTIFICANTE

Concentración de solución fortificante	5000 mg/L
Cantidad de fortificante adicionado	2000 uL
Cant de Muestra Fortificada Resultante	2.50 g
Cantidad de analito adicionada	10.0 mg
Concentración esperada	4000 mg/kg

Réplica	Conc. Calc
1	3935
2	3951
3	3945

TABLA N° 5 CALCULOS RELATIVOS AL INTERVALO DE TRABAJO

Xi: Nivel esperado

Yi: Nivel calculado

Residual =

Xi - Yci

Yci = m Xi + b

m: pendiente

b: Intercepto

i	Xi	Yci	(Xi-Yci)	(Xi-Yci) ²	Xi ²	(Xi-Xprom) ²
1	0.0	0.000	0.0000	0.00000	0.0	1449392.59972
2	0.0	0.000	0.0000	0.00000	0.0	1449392.59972
3	0.0	0.000	0.0000	0.00000	0.0	1449392.59972
4	100.0	91.930	8.0700	65.12490	10000.0	1218611.15527
5	100.0	99.270	0.7300	0.53290	10000.0	1218611.15527
6	100.0	98.000	2.0000	4.00000	10000.0	1218611.15527
7	400.0	384.180	15.8200	250.27240	160000.0	646266.82194
8	400.0	386.370	13.6300	185.77690	160000.0	646266.82194
9	400.0	387.160	12.8400	164.86560	160000.0	646266.82194
10	800.0	773.790	26.2100	686.96410	640000.0	163141.04416
11	800.0	790.760	9.2400	85.37760	640000.0	163141.04416
12	800.0	791.200	8.8000	77.44000	640000.0	163141.04416
13	2000.0	1914.660	85.3400	7282.91560	4000000.0	633763.71083
14	2000.0	1937.700	62.3000	3881.29000	4000000.0	633763.71083
15	2000.0	1954.230	45.7700	2094.89290	4000000.0	633763.71083
16	4000.0	3935.360	64.6400	4178.32960	16000000.0	7818134.82194
17	4000.0	3951.110	48.8900	2390.23210	16000000.0	7818134.82194
18	4000.0	3944.940	55.0600	3031.60360	16000000.0	7818134.82194
Promedio	1203.9072					

i	% Dif Xi, Yci
1	
2	
3	
4	8.41
5	0.73
6	2.02
7	4.03
8	3.47
9	3.26
10	3.33
11	1.16
12	1.11
13	4.36
14	3.16
15	2.31
16	1.63
17	1.23
18	1.39

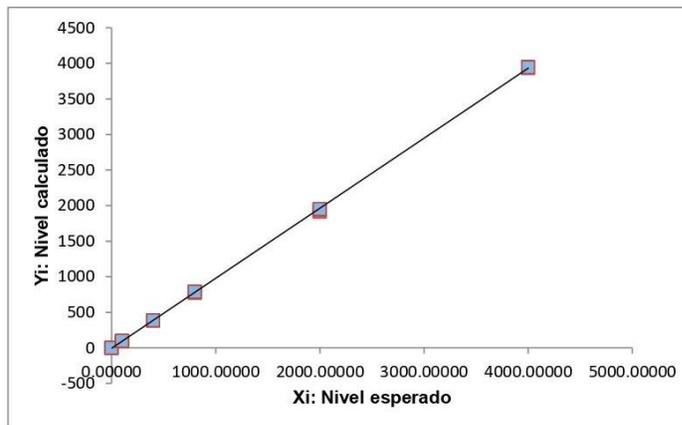


Figura. N°9. Grafica Nivel calculado vrs Nivel esperado para intervalo de trabajo

Pendiente 0.980

Intercepto -6.625

Coefi. Corr. 1.000

Cumple

GRAFICO DE RESIDUALES

Residual = $X_i - Y_{ci}$

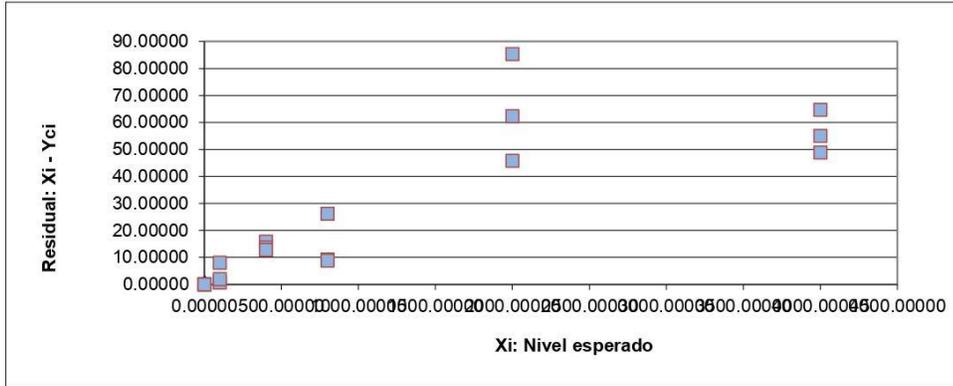


Figura. N° 10. Grafica de Residuales para el calculo de Intervalo de trabajo

NOTA: Se observa distribución aleatoria del residual con respecto a la línea cero

**COMPARACIÓN DE LA PENDIENTE CON EL VALOR UNO.
DETERMINACIÓN DEL INTERVALO DE LA PENDIENTE**

$S^2_{v/x}$	1523.7261	INTERVALO DE LA PENDIENTE	
Sxx	35787930.5		0.954
Sm	0.0065	Lim Superior	1.006
GL	16		
t 0.001 (16)	4.015		
t calculado	3.065		

Observación:

t calculado es menor o igual que t tabulado, por lo que el intervalo de la pendiente contiene el valor uno. Cumple

**INTERVALO DE TRABAJO EN MUESTRAS CONSIDERANDO CANTIDAD DE MUESTRA Y DILUCIÓN ANTES
ESPECIFICADAS**

Límite inferior = LCM 21.0997 mg/kg
Límite superior para Area máxima (18759) = 4004.8058 mg/kg

9.5.2 RECUPERACION, EXACTITUD, SESGO

RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE MATRIZ NO FORTIFICADA

Réplica	C: mg/kg	
1	0.00	Analista 1
2	0.00	Analista 1
3	0.00	Analista 1
Promedio	0.00	

FORTIFICACIÓN DE LA MUESTRA CONTROL. SE FORTIFICARÁN MATRICES
SOLUCION FORTIFICANTE

Preparar una solución de Analito con concentración 5000 mg/L

NIVEL 1 (ANALISTA 1, ANALISTA 2)

SOLUCION FORTIFICANTE

Concentración de solución fortificante 5000 mg/L
 Cantidad de fortificante adicionado 50.0 uL
 Cant de Muestra Fortificada Resultante 2.50 g
 Cantidad de analito adicionada 0.250 mg
 Concentración esperada 100 mg/kg

TABLA N° 6 RESULTADOS DEL ANALISIS (ANALISTA 1) CALCULO DE RECUPERACION						
Réplica	C esp. mg/L	C calc: mg/kg	b	b(%)	R(%)	R´(%)
1	100	91.9	3.6	3.6	96.4	96.4
2	100	99.3				
3	100	98.0				
Promedio		96.4				
b	Sesgo.					
b(%)	Error relativo porcentual.					
R(%)	Recuperación aparente.					
R´(%)	Exactitud utilizando matriz adicionada.					
GL	Grados de libertad		2			
	Nivel de Confianza		95			
	Valor de T en tabla		4.30265273			
	Recuperación calculada		0.96			
S	Desviación Estandar		0.039228688			
σ	Desviación Estandar de la media		0.022648694			
IC(R´(%%))	Intervalo de Confianza de la Recuperación					
	[0.86	a	1.06]	
Conclusión	Se Cumple el requisito de Recuperación					

TABLA N° 7 RESULTADOS DEL ANALISIS (ANALISTA 2) CALCULO DE RECUPERACION						
Réplica	C esp. mg/L	C calc: mg/kg	b	b(%)	R(%)	R´(%)
1	100	93.88	6.0	6.01	93.99	93.99
2	100	93.88				
3	100	94.21				
Promedio		94.0				
b	Sesgo.					
b(%)	Error relativo porcentual.					
R(%)	Recuperación aparente.					
R´(%)	Exactitud utilizando matriz adicionada.					
GL	Grados de libertad		2			
	Nivel de Confianza		95			
	Valor de T en tabla		4.30265273			
	Recuperación calculada		0.94			
S	Desviación Estandar		0.001905256			
σ	Desviación Estandar de la media		0.0011			
IC(R´(%%))	Intervalo de Confianza de la Recuperación					
	[0.94	a	0.94]	
Conclusión	Se Cumple el requisito de Recuperación					

NIVEL 3 (ANALISTA 1, ANALISTA 2)

SOLUCION FORTIFICANTE

Concentración de solución fortificante 5000 mg/L
 Cantidad de fortificante adicionado 400 uL
 Cant de Muestra Fortificada Resultante 2.50 g
 Cantidad de analito adicionada 2.00 mg
 Concentración adicionada 800 mg/kg

TABLA N° 8 RESULTADOS DEL ANALISIS (ANALISTA 1) CALCULO DE RECUPERACION

Réplica	C esp. mg/L	C calc: mg/kg	b	b(%)	R(%)	R'(%)
1	800	774	10.7	1.337	98.663	98.663
2	800	791				
3	800	791				
4	800	791				
5	800	794				
6	800	795				
Promedio		789.3				
b	Sesgo.					
b(%)	Error relativo porcentual.					
R(%)	Recuperación aparente.					
R'(%)	Exactitud utilizando matriz adicionada.					
GL	Grados de libertad		5			
	Nivel de Confianza		95			
	Valor de T en tabla		2.570581836			
	Recuperación calculada		0.99			
S	Desviacion Estandar		0.009773937			
σ	Desviacion Estandar de la media		0.003990193			
IC(R'(%)	Intervalo de Confianza de la Recuperación					
	[0.98	a	1]	
Conclusión	Se Cumple el requisito de Recuperación					

TABLA N° 9 RESULTADOS DEL ANALISIS (ANALISTA 2) CALCULO DE RECUPERACION

Réplica	C esp. mg/L	C calc: mg/kg	b	b(%)	R(%)	R'(%)
1	800	775.79	15.9	1.987	98.013	98.013
2	800	785.47				
3	800	785.15				
4	800	787.43				
5	800	786.14				
6	800	784.63				
Promedio		784.1				
b	Sesgo.					
b(%)	Error relativo porcentual.					
R(%)	Recuperación aparente.					
R'(%)	Exactitud utilizando matriz adicionada.					
GL	Grados de libertad		5			
	Nivel de Confianza		95			
	Valor de T en tabla		2.570581836			
	Recuperación calculada		0.98			
S	Desviacion Estandar		0.005231123			
σ	Desviacion Estandar de la media		0.002135597			
IC(R'(%)	Intervalo de Confianza de la Recuperación					
	[0.97	a	0.99]	
Conclusión	Se Cumple el requisito de Recuperación					

NIVEL 5 (ANALISTA 1, ANALISTA 2)

SOLUCION FORTIFICANTE

Concentración de solución fortificante 5000 mg/L
 Cantidad de fortificante adicionado 2000 uL
 Cant de Muestra Fortificada Resultante 2.50 g
 Cantidad de analito adicionada 10.0 mg
 Concentración adicionada 4000 mg/kg

TABLA N° 10 RESULTADOS DEL ANALISIS (ANALISTA 1) CALCULO DE RECUPERACION						
Réplica	C esp. mg/L	C calc: mg/kg	b	b(%)	R(%)	R'(%)
1	4000	3935.36	56.2	1.405	98.595	98.595
2	4000	3951.11				
3	4000	3944.94				
Promedio		3943.8				
b	Sesgo.					
b(%)	Error relativo porcentual.					
R(%)	Recuperación aparente.					
R'(%)	Exactitud utilizando matriz adicionada.					
GL	Grados de libertad		2			
	Nivel de Confianza		95			
	Valor de T en tabla		4.30265273			
	Recuperación calculada		0.99			
S	Desviación Estandar		0.001984071			
σ	Desviación Estandar de la media		0.001145504			
IC(R'(%%))	Intervalo de Confianza de la Recuperación					
	[0.99	a	0.99]	
Conclusión	Se Cumple el requisito de Recuperación					

TABLA N° 11 RESULTADOS DEL ANALISIS (ANALISTA 2) CALCULO DE RECUPERACION						
Réplica	C esp. mg/L	C calc: mg/kg	b	b(%)	R(%)	R'(%)
1	4000	3822.80	204.1	5.102	94.898	94.898
2	4000	3774.28				
3	4000	3790.69				
Promedio		3795.9				
b	Sesgo.					
b(%)	Error relativo porcentual.					
R(%)	Recuperación aparente.					
R'(%)	Exactitud utilizando matriz adicionada.					
GL	Grados de libertad		2			
	Nivel de Confianza		95			
	Valor de T en tabla		4.30265273			
	Recuperación calculada		0.95			
S	Desviación Estandar		0.006169929			
σ	Desviación Estandar de la media		0.00356221			
IC(R'(%%))	Intervalo de Confianza de la Recuperación					
	[0.93	a	0.97]	
Conclusión	Se Cumple el requisito de Recuperación					

TABLA N° 12 RESUMEN CORRELACION DE LA RECUPERACION Y NIVEL MEDIDO

i	Nivel	Rec. Calc.	Ln(Rec. Calc.)	Ln(Nivel)	Rec. Pred.
1	96.4000	0.9600	-0.0408	4.5685	0.957
2	93.9900	0.9400	-0.0619	4.5432	0.956
3	789.3017	0.9900	-0.0101	6.6711	0.969
4	784.1017	0.9800	-0.0202	6.6645	0.969
5	3943.8033	0.9900	-0.0101	8.2799	0.979
6	3795.9233	0.9500	-0.0513	8.2417	0.979

Ln(k) -0.07311235 k 0.929496395
 p 0.006271145
 Coef. Corr 0.471486002
 R² 0.22229905

9.5.3 REPETIBILIDAD Y PRECISIÓN INTERMEDIA

REPETIBILIDAD

Concentraciones obtenidas en blanco fortificado: mg/kg

TABLA N° 13 CALCULOS DE REPETIBILIDAD PARA NIVEL 1

Réplica	Analista 2	Analista 1	Promedio
1	93.88	91.9	
2	93.88	99.3	
3	94.21	98.0	
4	94.47	96.8	
5	94.08	97	
6	93.92	96.4	
Promedio	94.1	96.5	95.289
Varianza	0.054866667	6.19163	3.123248333
S	0.234236348	2.488298616	1.361267482
Repetibilidad como (CV%)	0.248993354	2.578414192	1.413703773
Incertidumbre en la precisión:			0.014285648
Observación	Cumple	Cumple	

Concentraciones obtenidas en blanco fortificado: mg/kg

TABLA N° 14 CALCULOS DE REPETIBILIDAD PARA NIVEL 3

Réplica	Analista 2	Analista 1	Promedio
1	775.79	773.8	
2	785.47	790.8	
3	785.15	791.2	
4	787.43	791.0	
5	786.14	793.6	
6	784.63	795.5	
Promedio	784.1	789.3	786.702
Varianza	17.51337667	61.13909667	39.32623667
S	4.184898645	7.819149357	6.002024001
Repetibilidad como (CV%)	0.533718881	0.990641435	0.762180158
Incertidumbre en la precisión:			0.007629352
Observación	Cumple	Cumple	

Concentraciones obtenidas en blanco fortificado: mg/kg

TABLA N° 15 CALCULOS DE REPETIBILIDAD PARA NIVEL 5

Réplica	Analista 2	Analista 1	Promedio
1	3822.80	3935.4	
2	3774.28	3951.1	
3	3790.69	3944.9	
4	3820.22	3901.6	
5	3834.28	3982	
6	3802.92	3913.9	
Promedio	3807.5	3938.2	3872.847
Varianza	504.0343367	814.5842567	659.3092967
S	22.45070905	28.54092249	25.49581577
Repetibilidad como (CV%)	0.589639457	0.72472704	0.657183249
Incertidumbre en la precisión:			0.006583224
Observación	Cumple	Cumple	

Desv.Est.de la Media

CORRELACION DE CV Y NIVEL DE ANALITO

TABLA N° 16 RESUMEN DE CALCULOS DE REPETIBILIDAD

i	Nivel	CV calc	Ln(CV)	Ln(Nivel)	CV predicho
1	95.2892	1.41	0.3462	4.5569	1.34
2	786.7017	0.76	-0.2716	6.6678	0.86
3	3872.8467	0.66	-0.4198	8.2617	0.61

Ln(k) 1.257338981 k 3.516052743
 p -0.21128301
 Coef. Corr -0.96645122
 R² 0.9340280

PRECISIÓN INTERMEDIA COMO CV

ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS RESULTADOS

TABLA N° 17 CALCULOS PARA PRECISION INTERMEDIA PARA NIVEL 1

Réplica	Analista 2	Analista 1	Sumatoria
1	93.9	91.9	
2	93.9	99.3	
3	94.2	98.0	
4	94.5	96.8	
5	94.1	96.7	
6	93.9	96.4	
Prom	94.1	96.5	
Varianza	0.055	6.192	
Suma Gi	564.440	579.030	1143.470
(Suma Gi) ²	318592.514	335275.741	653868.255

CONTINUACION DE TABLA N° 17 CALCULO DE Xij²

Réplica	Analista 2	Analista 1
1	8813.45440	8451.12490
2	8813.45440	9854.53290
3	8875.52410	9604.00000
4	8924.58090	9374.11240
5	8851.04640	9343.15560
6	8820.96640	9283.32250

CONTINUACION DE TABLA N° 20 ESTIMACION DE LA INCERTIDUMBRE ESTANDAR DE Xp POR REP

Est. No.	Xi o Xpi	Yi	SXp Rep	Incert. Exp Rel. %
1	0.0000	0.0000	0.02770	Infinito
2	5.0000	448.8806	0.02791	1.12
3	20.0000	1856.3065	0.03092	0.31
4	40.0000	3752.5466	0.03917	0.20
5	100.0000	9387.5049	0.07450	0.15
6	200.0000	18759.0000	0.14087	0.14

TABLA N° 22 ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR DE XP POR AJUSTE IMPERFECTO DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN (SXp AJU)

Est No.	Xi	Yi	Yci	(Yi-Yci) ²	Xi ²
1	0.0000	0.00	-10.47	109.59	0.0
2	5.0000	446.13	458.21	145.80	25.0
3	20.0000	1855.60	1864.23	74.34	400.0
4	40.0000	3740.21	3738.92	1.66	1600.0
5	100.0000	9379.07	9363.00	258.09	10000.0
6	200.0000	18729.35	18736.48	50.79	40000.0
SUMA	365.0000			640.28	52025.0
PROMEDIO	60.8333				

TABLA N° 23 INCERTIDUMBRES ESTÁNDAR POR AJUSTE IMPERFECTO, ESTIMADAS PARA CADA XI

Est. No.	Xi o Xpi	SXp Aju	Incert. Exp Rel. %
1	0.0000	0.153	Infinito
2	5.0000	0.152	6.1
3	20.0000	0.149	1.5
4	40.0000	0.147	0.7
5	100.0000	0.149	0.3
6	200.0000	0.182	0.2

TABLA N° 24 CALCULO DE INCERTIDUMBRE EN LA CALIBRACION

Est. No.	Xp	SXp Rep	SXp Aju	S Xp Cal	Incert. Exp Rel. %
1	0.0000	0.02770	0.153	0.156	Infinito
2	5.0000	0.02791	0.152	0.155	6.2
3	20.0000	0.03092	0.149	0.152	1.5
4	40.0000	0.03917	0.147	0.152	0.8
5	100.0000	0.07450	0.149	0.167	0.3
6	200.0000	0.14087	0.182	0.230	0.2

Incertidumbre Estándar de la Recuperación

CORRELACION DE LA INCERTIDUMBRE ESTANDAR (S) Y LA RECUPERACION (Recup)

TABLA N° 25 RESUMEN DE CALCULO DE INCERTIDUMBRE

i	Recup.	σ	Ln(S)	Ln(Recup)	S predicha
1	0.9600	0.0226	-3.7877	-0.0408	0.0032
2	0.9400	0.0011	-6.8124	-0.0619	0.0035
3	0.9900	0.0040	-5.5239	-0.0101	0.0028
4	0.9800	0.0021	-6.1490	-0.0202	0.0029
5	0.9900	0.0011	-6.7719	-0.0101	0.0028
6	0.9500	0.0036	-5.6374	-0.0513	0.0033

Ln(k) -5.91270797 k: 0.002704852
 p -4.08628286
 Coef. Corr -0.08086886
 R² 0.0065398

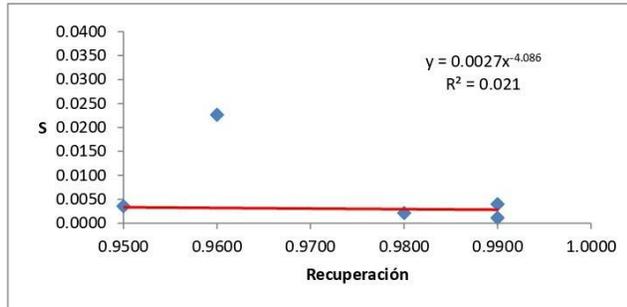


Figura. N°11. Grafica de Recuperacion vs S

Recuperación estimada: 0.9567
 Incertidumbre Estándar de la Recuperación 0.0032

Incertidumbre Estándar de la Repetibilidad de todo el proceso analítico
 Factor de Repetibilidad = 1
 Incertidumbre estándar de la repetibilidad = 0.01329
 Nivel del analito medido 100.0000 mg/kg

Incertidumbre de la Pureza del Estándar Analítico
 Pureza 1.000 (Considerando Pureza relativa a la concentración)
 Incertidumbre relativa: 0.003

9.5.5 LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO

TABLA N° 26 RESULTADOS DE MUESTRAS BLANCO

i	C		
1	93.9		
2	93.9		
3	94.2		
4	94.5		
5	94.1		
6	93.9		
7	91.9		
8	99.3		
9	98.0		
10	96.8		
11	96.7		
12	96.4		
DES. EST	2.1100	mg/kg	
LDM	6.3	mg/kg	Cumple
LCM	21.1	mg/kg	Cumple

CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE EN RESULTADO DE MUESTRA DE RUTINA

LECTURA DE LA MUESTRA

Cantidad de muestra analizada 2.5000 g
 Factor de dilución 50.00 L

LECTURA DADA POR EL EQUIPO

Conc. dada por el Equipo 5.0 mg/L
 Area estimada 458.2
 S Xp Ajuste 0.1522 S Xp Rep 0.027917
 S 0.1547 mg/kg S Xp Cal 0.1547
 C 100.00 mg/kg
 Factor de dilución adicional 1.0 ml
 ¿Desea corregir el sesgo mediante la recuperación, Si/No? Si

TABLA N° 27 RESUMEN

Descripción	X: Medida	S	S/X	S expand	S exp/X %	CV
Ccal	5.00	0.1547	0.0309	0.3094	6.19	
P	1.00	0.0030	0.0030	0.0060	0.60	
F Rep	1.00	0.0133	0.0133	0.0266	2.66	
Rec	0.9567	0.0032	0.0034	0.0065	0.68	
C	104.5226	3.5517	0.0340	7.1034	6.80	1.33
LCM	21.0997	mg/kg	LDM	6.3299	mg/kg	

Reportar: (104.5 ± 7.1) mg/kg Decimales 1

La incertidumbre reportada es de tipo expandida con un factor de cobertura de k=2 y un nivel de confianza aproximado del 95%

Notas:

Cumple el requisito de Incertidumbre Incert Max 20 %
 Cumple el requisito de precisión CV máximo: 20 %
 Cumple el requisito de Area del analito Area. Máx. 4004.8058
 Cumple el requisito de Exactitud 0.800 a 1.200

TABLA N° 28 COMPARACIÓN DE INCERTIDUMBRES

Fuente	X: Medida	S	Contribución
Ccal	5.00	0.1547	30.94
P	1.00	0.0030	3.01
F Rep	1.0	0.0133	13.29
Rec	1.0	0.0032	3.39
C	104.5	3.5517	33.98

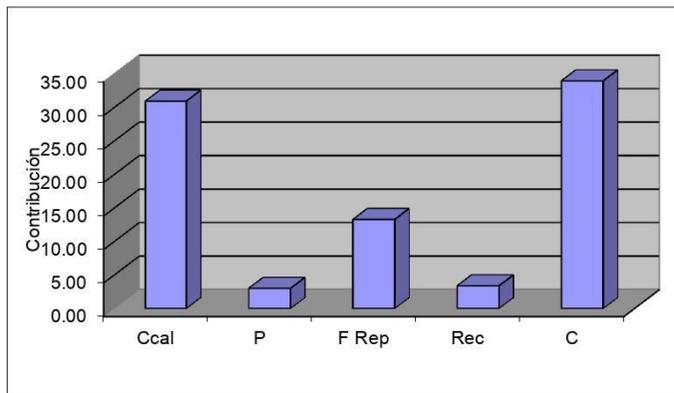


Figura n° 12 Gráfico de comparación de incertidumbres

Nota: Los anexos N° 3 y 4, representan un ejemplo de los cálculos efectuados en Excel durante la realización de este trabajo de grado los cuales, nos brindaron la información para el llenado de las tablas N° 16-23. Además, la numeración de las

figuras y tablas presentes en estos anexos, corresponde a la numeración de los documentos de Excel.