



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMATICAS

DEPARTAMENTO DE MATEMÁTICAS

EXAMEN COMPLEXIVO

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

“MAGÍSTER EN GESTION DE LA PRODUCTIVIDAD Y LA CALIDAD”

TEMA

“REVALIDACION DEL ENSAYO DE PH EN LA MATRIZ DE PRODUCTOS

PESQUEROS PARA UN LABORATORIO DE ALIMENTOS”

AUTORA

ANGELICA MARIA INDACOCHEA VASQUEZ

GUAYAQUIL - ECUADOR

AÑO

2016

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme la oportunidad de alcanzar una meta más en vida profesional.

A mis padres: Hernán y Mercedes por ser el pilar de apoyo y comprensión en mi vida.

A la Ing. Leonor Vizuite Gaibor, Directora del Centro de Servicios para el Control de Calidad CE.SE.C.CA, por ser mi ejemplo de perseverancia.

A la ESPOL que con sus Profesores, Compañeros y Amigos de la maestría aportaron con grandes conocimientos, experiencias y gratos momentos.

DEDICATORIA

Este logro se lo dedico a mis padres y hermanos quienes son el impulso de mi superación personal, y muy orgullosamente a la Ing. Leonor Vizuite Gaibor, quien me ha apoyado incondicionalmente en mi vida profesional.

DECLARACION EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de este proyecto de graduación, me corresponden exclusivamente; y el patrimonio cultural de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL”.



Angélica María Indacochea Vásquez

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN



Francisco Vera Alcívar, Ph.D.

PRESIDENTE



Sandra García Bustos, Ph.D

DIRECTORA



Mónica Mite León, M.Sc.

EVALUADOR

FIRMA DE LA AUTORA DEL PROYECTO



Angélica María Indacochea Vásquez

INDICE GENERAL

CAPITULO I.....	1
1. GENERALIDADES.....	1
1.1 ANTECEDENTES.....	1
1.2 ALCANCE DEL PROYECTO.....	1
1.3 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.....	2
1.4 OBJETIVO GENERAL.....	2
1.5 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
1.6 HIPÓTESIS.....	3
CAPITULO II.....	4
2. MARCO CONCEPTUAL.....	4
2.1 DEFINICIONES BÁSICAS.....	4
2.2 REFERENCIAS DE NORMATIVAS SOBRE LA REVALIDACIÓN DEL MÉTODO DE ENSAYO DE PH.....	10
2.3 LEY DE PROPAGACIÓN DE LAS INCERTIDUMBRES.....	16
2.4 CAUSAS PRINCIPALES DE INCERTIDUMBRE, DISTRIBUCIONES Y FUENTES DE INFORMACIÓN.....	24
2.5 CÁLCULO DEL NÚMERO EFECTIVO DE GRADOS DE LIBERTAD.....	37
CAPITULO III.....	42
3. REVALIDACIÓN DEL MÉTODO DE PH EN LA MATRIZ DE PRODUCTOS PESQUEROS.....	42
3.1 NECESIDAD ANALÍTICA.....	42
3.2 MÉTODO.....	42
3.3 PROCEDIMIENTO.....	42
3.4 PUESTA A PUNTO.....	48

3.5	DISEÑO EXPERIMENTAL Y ESTADÍSTICO	51
3.6	REALIZACIÓN	53
3.7	TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS OBTENIDOS	54
	CAPITULO IV	57
4.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	57
4.1	CONCLUSIONES.....	57
4.2	RECOMENDACIONES	57
	BIBLIOGRAFIA.....	58

CAPITULO I

1. GENERALIDADES

1.1 Antecedentes

La empresa en estudio, es un laboratorio que ofrece servicios de ensayos físico-químicos y microbiológicos a los alimentos, efluentes industriales y aguas, el cual se encuentra acreditado en la matriz alimentos, harinas y productos del mar bajo la Norma ISO 17025 “Requisitos para los laboratorios de ensayos y calibración”.

Como parte de la mejora continua y para controlar los procesos de ensayos es necesario revalidar los métodos iniciales para conocer en que magnitud se ve afectada la incertidumbre del método.

1.2 Alcance del Proyecto

El presente proyecto tiene como alcance desarrollar la revalidación del ensayo de pH en la matriz de productos pesqueros.

1.3 Descripción del Problema

La validación inicial del ensayo de pH en productos del mar contenía pruebas experimentales de verificación con las soluciones patrones de los Buffer de concentración 4, 7 y 10 unidades de pH siendo el método para productos pesqueros y acuícolas; además la deriva no estaba incluida en la incertidumbre; sin embargo en la Auditoria de Vigilancia N°2 realizada por el Servicio de Acreditación Ecuatoriano SAE se evidenció que dichas validaciones no contenían la matriz en las que la empresa tenía acreditado ese parámetro; detectando la siguiente No Conformidad como incumplimiento al requisito 5.4.6.3 de la Norma INEN-ISO 17025:2006 - Estimación de la Incertidumbre de la medición:

“En algunos casos no se ha tomado en cuenta todos los componentes de la incertidumbre que sean de importancia en los procedimientos aplicados”.

Como parte del cierre efectivo de la No Conformidad se plantea realizar la revalidación de este parámetro tomando en consideración las observaciones de los auditores.

1.4 Objetivo General

Proporcionar a la empresa mediante la revalidación del ensayo de pH la garantía de la confiabilidad de sus resultados analíticos.

1.5 Objetivos específicos

- Revalidar el ensayo de pH cumpliendo con los requisitos exigidos en la Normativas pertinentes para mantener la acreditación de este parámetro.
- Desarrollar las pruebas en la matriz de productos del mar aplicando tratamiento estadístico a los datos experimentales para determinar los resultados de la revalidación.
- Evaluar los resultados obtenidos con el fin de verificar si se cumplieron los objetivos fijados en la revalidación.

1.6 Hipótesis

La revalidación del ensayo de pH proporciona un diseño robusto que contiene los componentes principales para la estimación de la incertidumbre de medición.

CAPITULO II

2. MARCO CONCEPTUAL

2.1 Definiciones básicas

Validación de los métodos.

La validación de métodos es un procedimiento para establecer por medio de estudios de laboratorio una demostración científica que un método analítico tiene las características de desempeño que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas. Por lo tanto, es un componente esencial de las medidas que un laboratorio debe implementar para producir datos analíticos fiables.

“La validación de un método se puede definir como el proceso desarrollado con la finalidad de confirmar, por medio de evidencia objetiva, que el método en cuestión tiene capacidades de desempeño consistentes con las que requiere para su aplicación.”

Un método debe validarse cuando sea necesario verificar que sus parámetros de desempeño son adecuados para el uso en un problema analítico específico, en este caso se revalidará el método de análisis químico de pH en productos del mar. El laboratorio tiene que decidir cuáles de los parámetros de desempeño del método necesitan caracterizarse con el fin de revalidar el todo.

Incertidumbre.

Según el Vocabulario Internacional de Metrología (VIM), incertidumbre es el parámetro asociado al resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que podrían ser razonablemente atribuidos al mensurando.

Tolerancia.

Es un intervalo definido en el que es admisible que se sitúe una magnitud. La tolerancia es un parámetro que no está asociado a la medida, sino que es un requisito dado por:

- Normas
- Especificaciones del fabricante
- Especificaciones del cliente
- Especificaciones propias: definido en función de nuestras propias necesidades y basándonos en la experiencia.

Precisión.

Grado de coincidencia existente entre los resultados independientes de un ensayo, obtenidos en condiciones estipuladas. NOTA: La precisión depende únicamente de la distribución de los errores aleatorios y no está relacionada con el valor verdadero o especificado (ISO 3534-1).

Repetibilidad y Reproducibilidad.

Precisión bajo condiciones en las cuales los ensayos se obtienen con el mismo método, sobre muestras distintas, en laboratorios diferentes, con operadores distintos y utilizando equipos diferentes (ISO 3534-1).

Exactitud.

Grado de concordancia existente entre el resultado de un ensayo y un valor aceptado como referencia (ISO 3534-1).

Magnitud (medible).

Atributo de un fenómeno, cuerpo o sustancia que puede ser distinguido cualitativamente y determinarse cuantitativamente (VIM 1.1).

Mensurando.

Magnitud particular, objeto de medición (VIM 2.6).

Medición.

Conjunto de operaciones que tienen por objeto determinar el valor de una magnitud (VIM 2.1).

Característica.

Propiedad que ayuda a identificar o diferenciar elementos de una población dada (ISO 3534).

Ensayo.

Operación técnica que consiste en la determinación de una o varias características de un producto, proceso o servicio dado, de acuerdo con un procedimiento especificado (Guía ISO/IEC 2 [3]).

Un proceso de medida suele generar un resultado independiente del procedimiento utilizado salvo por las diferentes incertidumbres asociadas a los distintos métodos.

El resultado de un ensayo suele depender, a veces completamente, del método o del procedimiento utilizado.

Estrictamente, en cuanto respecta a la determinación de la incertidumbre, el resultado de un ensayo cuantitativo es el resultado de una medición en el sentido utilizado en la

GUM. Pero en los ensayos es menos probable (y a veces imposible) disponer de un modelo matemático detallado que describa todos los efectos sobre el mensurando.

Por eso la estimación de la incertidumbre en los ensayos puede exigir estudios particulares y, sobre todo, un buen conocimiento del método y de sus factores de influencia y la manera en que estos influyen en el resultado.

Incertidumbre típica.

Incertidumbre del resultado de una medición, expresada en forma de desviación típica.

Evaluación de incertidumbre de tipo A.

Método de evaluación de la incertidumbre mediante análisis estadístico de series de observaciones.

Evaluación de incertidumbre de Tipo B.

Método de evaluación de la incertidumbre por medios distintos al análisis estadístico de series de observaciones.

Incertidumbre típica combinada.

Incertidumbre típica del resultado de una medición, cuando el resultado se obtiene a partir de los valores de otras magnitudes, igual a la raíz cuadrada de una suma de términos, siendo éstos las varianzas o las covarianzas de esas otras magnitudes, ponderadas en función de la variación del resultado de medida con la variación de dichas magnitudes.

Factor de cobertura.

Factor numérico utilizado como multiplicador de la incertidumbre típica combinada para obtener la incertidumbre típica expandida. Un factor de cobertura k típico toma valores comprendidos entre 2 y 3.

Incertidumbre expandida.

Magnitud que define un intervalo en torno al resultado de una medición, y en el que se espera encontrar una fracción importante de la distribución de valores que podrían ser atribuidos razonablemente al mensurando.

2.2 Referencias de normativas sobre la revalidación del método de ensayo de PH

2.2.1 Norma NTE-INEN ISO/IEC 17025:2005

En 1982 se publica la Guía ISO 25 para el caso de los laboratorios, y en año 2005 fue sustituida por la norma ISO/ IEC 17025: “Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración”. La ISO/IEC 17025 establece los requisitos generales para la competencia en la realización de ensayos o de calibraciones, incluido el muestreo. Cubre los ensayos y las calibraciones que se realizan utilizando métodos normalizados, métodos no normalizados y métodos desarrollados por el propio laboratorio.

Los laboratorios acreditados tienen como función principal crear resultados válidos que permitan el reconocimiento mutuo con otros laboratorios del mundo. Esta norma cumple con los requerimientos técnicos de la ISO 9001. Por lo tanto, toda organización que cumple con los requerimientos de ISO 17025 también cumple con los requerimientos de ISO 9001.

Mientras que los requerimientos de la ISO 9001 son genéricos y se pueden aplicar a todo tipo de organización, los requerimientos de la ISO 17025 son específicos para los laboratorios de ensayo y calibración. La norma trata temas tales como: la competencia técnica del personal, la conducta ética del personal, la utilización de ensayos bien definidos y procedimientos de calibración, participación en ensayos de

aptitud y contenidos de los informes de ensayos y certificados. Por tanto las normas de acreditación ISO 17025 tiene un propósito y contenido distinto al de la norma de certificación ISO 9001. Así, la acreditación otorga al laboratorio un reconocimiento de su competencia técnica en el alcance de su acreditación además de un sistema de calidad implementado. Mientras que la certificación con ISO 9001 de un laboratorio únicamente certifica la existencia de un sistema de la calidad implementado, no garantizando aseguramiento de su competencia técnica.

La norma ISO/IEC 17025 recoge, en su apartado 5.4.5. (Dentro del apartado 5.4. de Métodos de ensayo y calibración y validación de métodos), los siguientes elementos:

5.4.5.1. La validación es la confirmación, a través del examen y el aporte de evidencias objetivas, de que se cumplan los requisitos particulares para uso específico previsto.

5.4.5.2. El laboratorio debe validar los métodos no normalizados, los métodos que diseña o desarrolla, los métodos normalizados empleados fuera del alcance previsto, así como las ampliaciones y modificaciones de los métodos normalizados, para confirmar que los métodos son aptos para el fin previsto. La validación debe ser tan amplia como sea necesario para satisfacer las necesidades del tipo de aplicación o del campo de aplicación dados. El laboratorio debe registrar los resultados obtenidos, el

procedimiento utilizado para la validación y una declaración sobre la aptitud del método para uso previsto.

5.4.5.3. La gama y la exactitud de los valores que se obtienen empleando métodos validados (por ejemplo, la incertidumbre de los resultados, el límite de detección, la selectividad del método, la linealidad, el límite de repetibilidad o de reproducibilidad, la robustez ante influencias externas o la sensibilidad cruzada frente a las interferencias provenientes de la matriz de la muestra o del objeto de ensayo) tal como fueron fijadas para el uso previsto, deben responder a las necesidades de los clientes.

2.2.2 Guías EURACHEM para la validación de métodos

EURACHEM es una red de organizaciones en Europa cuyo objetivo es establecer un sistema internacional para asegurar la trazabilidad en mediciones analíticas y la promoción de prácticas de calidad. Esta organización provee una amplia lista de documentos con protocolos que se pueden establecer como guías en diferentes aspectos del trabajo de laboratorios analíticos. Las guías Eurachem se usan para validación de métodos de análisis y estimación de la incertidumbre ya que son aceptadas internacionalmente y además han demostrado ser aplicables para laboratorios alrededor del mundo.

De acuerdo en la guía de EURACHEM en el apartado 3 nos dice:

3.1. La validación de un método es el proceso de definir una necesidad analítica y permitir la confirmación que el método en cuestión tiene capacidades de desempeño consistentes con las que requiere la aplicación. Esta implícita la necesidad de evaluar las capacidades de desempeño del método. Esto concuerda con la interpretación de la definición ISO de Morkowski. El criterio de la “conveniencia” del método es importante; en el pasado la validación del método tendía a concentrarse sobre el proceso de evaluación de los parámetros de desempeño.

3.2. En el proceso de validación del método está implícito que los estudios para determinar los parámetros de desempeño se realizan usando equipos dentro de especificaciones, que están trabajando correctamente y que están calibrados adecuadamente. Asimismo, el operador que realiza los estudios debe ser técnicamente competente en el campo de trabajo bajo estudio y debe poseer suficiente conocimiento sobre el trabajo a realizar con el fin de que sea capaz de tomar decisiones apropiadas a partir de las observaciones hechas mientras avanza el estudio.

3.3. Generalmente se considera que la validación del método está ligada estrechamente con el desarrollo del método. De hecho, no es posible determinar exactamente donde termina el desarrollo del método y donde empieza la validación. Por lo general, muchos de los parámetros de desempeño del método que están

asociados a su validación son evaluados, por lo menos aproximadamente, como parte del desarrollo del método.

2.2.3 Criterios generales del SAE y ENAC para la acreditación de ensayos y calibración según la NORMA ISO/IEC:17025

El SAE (NTE-INEN ISO/IEC 17025:2005) y la ENAC (UNE EN-ISO/IEC 17025) recoge, en su apartado 5.4.5. (Dentro del apartado 5.4. de Métodos de ensayo y calibración y validación de métodos), los siguientes elementos:

C.5.4.5.2 Verificación de Métodos Normalizados; En la mayoría de los casos se puede considerar que en el desarrollo de los métodos normalizados se han tenido en cuenta todos los aspectos necesarios relativos a validación y por tanto es suficiente con que el laboratorio se asegure que el uso que pretende hacer del método es compatible con este (respecto a rango, equipos utilizados, propiedad medida, repetibilidad, etc.)

Por otra parte, en ocasiones, del contenido del método normalizado se puede deducir que no se ha llevado a cabo una correcta validación. En este caso el laboratorio debe desarrollar su propio procedimiento interno, calculando y evaluando los parámetros que considere necesarios para una correcta validación.

2.2.4 Guía para la determinación de la incertidumbre en métodos analíticos.

La Guía para la de la Incertidumbre en Métodos Analíticos proporciona una guía detallada para la evaluación de la incertidumbre en análisis químicos cuantitativos. Es aplicable a todos los niveles de precisión en todos los campos, desde análisis de rutina a investigaciones básicas y métodos empíricos.

Algunas áreas en las cuales mediciones químicas son requeridas y en donde los principios de la Guía son aplicables se enlistan a continuación:

- Control de la calidad y aseguramiento en industrias de manufactura.
- Pruebas para cumplimiento de regulaciones.
- Calibración de estándares y equipos.
- Mediciones asociadas al desarrollo y certificación de material de referencia.
- Investigación y desarrollo.

La Guía Eurachem define un modelo para la evaluación de las incertidumbres de las medidas analíticas. De este modo se tiene una base para validar los métodos de ensayo empleados y para asegurar la calidad de los resultados obtenidos, para lo cual se deben incluir algunas medidas como por ejemplo, el personal debidamente calificado, adecuado mantenimiento y calibración de equipos y reactivos, el uso adecuado de normas de referencia y gráficos de control.

2.3 Ley de propagación de las incertidumbres

Una vez conocida la ecuación a la que obedece nuestro ensayo o medición, se aplica la ley de propagación de incertidumbres para obtener la expresión que nos permita calcular incertidumbre típica combinada a partir de las contribuciones de cada magnitud de entrada o influencia.

- En una medición directa, la ecuación de la incertidumbre típica combinada se puede expresar:

$$u^2(y) = \sum_{i=1}^N u^2(x_i)$$

Esta es la expresión aplicable, en general, al cálculo de la incertidumbre típica combinada asociada a una medida realizada con un instrumento, siendo $u(x_i)$ las incertidumbres típicas asociadas a cada una de las diferentes magnitudes de entrada x_i , es decir, cada una de las contribuciones a la incertidumbre final buscada.

También es la expresión a utilizar si y es de la forma $y = x_1 + x_2 + \dots + x_n$ y las magnitudes de entrada no están correlacionadas.

Con la letra y representamos el valor estimado de la función y . El valor estimado de la magnitud de entrada x_i se representa como x_i .

Una magnitud x_i puede ser a su vez una suma (o cualquier otra función) de un conjunto de magnitudes, por ejemplo $x_{i1} + \dots + x_{im}$. Según la forma de dicha función, se le aplicará a su vez la ley de propagación de las incertidumbres tal y como estamos viendo en este apartado, para calcular así su incertidumbre típica combinada a partir de las incertidumbres típicas de sus variables de entrada.

- Ocurre que en numerosos casos, el mensurando o característica bajo ensayo y no se mide directamente, sino que se determina a partir de otras magnitudes x_1, x_2, \dots, x_n , mediante una relación matemática o función:

$$y = f(x_1, x_2, \dots, x_n)$$

Para el cálculo de la incertidumbre de Y se aplica la ley de propagación de las incertidumbres, cuya forma general es:

$$u^2(y) = \sum_{i=1}^N c_i^2 u^2(x_i) + 2 \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N c_i c_j u(x_i, x_j)$$

$u(y)$: es la incertidumbre típica combinada asociada a la magnitud de salida, cuya estimación es y .

$c_i = \left(\frac{\partial Y}{\partial X_i} \right)_{x_i}$: es el coeficiente de sensibilidad con respecto a la magnitud de entrada x_i .

$u(x_i, x_j) = u(x_i)u(x_j)r(x_i, x_j)$ es la covarianza estimada asociada a las estimaciones de las magnitudes de entrada x_i y x_j . Siendo $u(x_i)$ y $u(x_j)$ las incertidumbres típicas asociadas a las estimaciones de las magnitudes de entrada x_i y x_j , y r el coeficiente de correlación entre ambas, que toma valores entre -1 y +1.

- Como simplificación del caso general, si y es de la forma:

$$y = c \cdot x_1^{p_1} \cdot x_2^{p_2} \cdot \dots \cdot x_n^{p_n}$$

Con p_i números conocidos de incertidumbre despreciable y magnitudes x_i no correlacionadas, la ecuación de la incertidumbre típica combinada se puede expresar así:

$$\left[\frac{u(y)}{y}\right]^2 = \sum_{i=1}^n \left[\frac{p_i \cdot u(x_i)}{x_i}\right]^2$$

Cada expresión permite expresar la incertidumbre típica combinada asociada al resultado que se obtiene, $u(y)$, en función de la incertidumbre típica asociada a cada una de las estimaciones de las magnitudes de entrada que influyen en dicho resultado. Para cada una de estas estimaciones de las magnitudes de entrada su incertidumbre típica podrá tener contribuciones como las que veremos en los apartados siguientes.

2.3.1 Estimación de las distintas fuentes de incertidumbre

Como hemos visto anteriormente, para calcular la incertidumbre de nuestro ensayo debemos estimar las incertidumbres típicas de cada variable de influencia en el ensayo. No debemos perder de vista que al calcular las incertidumbres típicas estamos buscando caracterizar las dispersiones de sus datos. Características importantes de una distribución estadística son:

- Su valor medio: la media, que representa el mejor valor atribuible al mensurando o la característica bajo ensayo.
- Un parámetro que nos indique la dispersión de los valores con respecto al valor medio: la desviación típica, s , que posee las mismas unidades que la media, o la varianza V , que es el cuadrado de s y tiene para nosotros la ventaja de que las varianzas se pueden sumar para calcular la incertidumbre típica combinada, como hemos visto al aplicar la ley de propagación de las incertidumbres.
- Las componentes de la incertidumbre de un resultado de medida pueden ser agrupadas en 2 categorías en función del método que se utilice para estimar su valor:

Tipo A: Son estimadas aplicando métodos estadísticos a una serie de determinaciones repetidas para calcular la desviación típica o la varianza.

Tipo B: Son estimadas por otros medios, basándose entre otros en:

- Datos de mediciones o ensayos anteriores
- Experiencia o conocimiento general de las características, especificaciones y el comportamiento y las propiedades de los instrumentos
- Datos obtenidos de los certificados de calibración o de otro tipo de certificados
- Incertidumbres asociadas a datos de referencia tomados de manuales.

Evaluación de tipo A de la incertidumbre típica:

En la mayoría de los casos, la mejor estimación disponible del valor esperado de una magnitud x_i de la cual se han obtenido n observaciones, bajo las mismas condiciones de medición, es la media aritmética de las n observaciones (\bar{x}).

Las observaciones individuales ($x_1, x_2... x_n$) difieren del valor medio y un estimador de la dispersión de los valores alrededor de este valor medio es la desviación estándar experimental (s) que viene dada por la expresión:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Cuando el resultado que se emplea es una media a partir de n observaciones independientes y se expresa como \bar{x} , un mejor estimador de esta variabilidad es la desviación típica experimental de la media s' , que viene dada por:

$$s' = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

La incertidumbre asociada a esta estimación es:

$$u(X_i) = s'(\bar{x})$$

Si el número de mediciones n es pequeño ($n < 10$), la evaluación de tipo A expresada por la ecuación anterior puede no ser fiable. Si no se puede aumentar el número de observaciones deberían calcularse los grados efectivos de libertad.

En ocasiones, cuando la medición está correctamente caracterizada y bajo control estadístico, es posible que se disponga de una estimación combinada de la varianza, p. ej. de repetibilidad (sr^2) que caracterice mejor la dispersión que la desviación típica estimada a partir de un número limitado de observaciones. En este caso, si el valor de la magnitud de entrada X_i se calcula como la media aritmética \bar{x} de un número pequeño m de observaciones independientes, la varianza de esta media aritmética podrá estimarse como:

$$s^2(\bar{x}) = \frac{s_r^2}{m}$$

Evaluación de tipo B de la incertidumbre típica:

Las contribuciones de tipo B son estimadas mediante otros medios, y se caracterizan por unos términos $u_2(x_i)$ que pueden ser considerados como unas aproximaciones de las varianzas correspondientes.

Estas $u_2(x_i)$ (varianza estimada asociada) o $u(x_i)$ (desviación típica estimada asociada) son evaluadas mediante juicios basados en toda la información disponible anteriormente definida, conociendo o aproximando una determinada distribución estadística como descripción de la variable.

Entonces, pueden plantearse los siguientes casos:

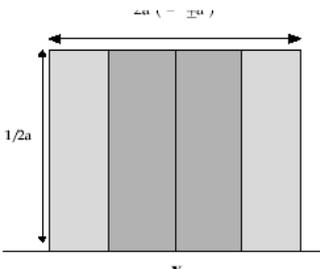
- a) La estimación x_i se toma de una especificación del fabricante, de un certificado de calibración, de un manual de instrucciones, etc. y su incertidumbre asignada se establece como un múltiplo particular de una desviación estándar.

En este caso, la incertidumbre asociada $u(x_i)$ es simplemente el valor asignado dividido por el multiplicador.

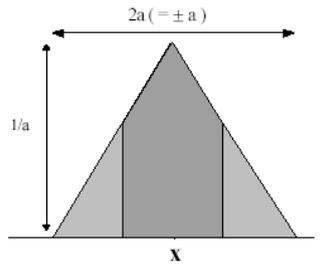
- b) Un caso análogo es que la incertidumbre asignada a x_i no venga dada como un múltiplo de una desviación estándar, sino que se defina un intervalo con un determinado nivel de confianza.

A menos que se indique otra cosa, se puede considerar que se usó para su determinación una distribución normal y recuperar la incertidumbre de x_i dividiendo la incertidumbre asignada por el factor apropiado para la distribución normal (éste puede ser 1, 2 o 3 en función del nivel de confianza que se haya decidido).

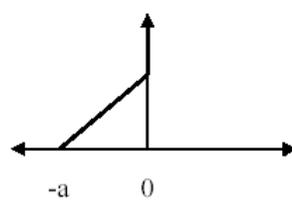
- c) En otros casos, únicamente pueden estimarse límites (superior e inferior) y se puede establecer que la probabilidad de que el valor de x_i esté dentro del intervalo $(-a, +a)$ es igual a 1 y la probabilidad de que caiga fuera de ese intervalo es prácticamente 0, y, además, el mejor estimador es el punto medio del intervalo (distribución rectangular).

Distribución Rectangular		
Forma	Usar cuando:	Incertidumbre
	<ul style="list-style-type: none"> • Un certificado u otra especificación proporcione límites sin un nivel específico de confianza (ej 25ml \pm 0.05ml) • Se haga un estimado en la forma de un intervalo máximo ($\pm a$) sin conocimiento de la forma de la distribución. 	$u(x) = \frac{a}{\sqrt{3}}$

d) Otra distribución muy habitual en ensayos químicos es la triangular, que resulta de suponer que la probabilidad es superior en los valores centrales que en los límites del intervalo:

Distribución triangular		
Forma	Usar cuando:	Incertidumbre
	<ul style="list-style-type: none"> • La información disponible relacionada con x es menos limitada que para una distribución rectangular. Son más probables los valores cercanos a x que a los límites. • Se haga un estimado en la forma de un intervalo máximo ($\pm a$) descrito por una distribución simétrica 	$u(x) = \frac{a}{\sqrt{6}}$

e) Y un caso particular de la anterior es la triangular asimétrica:



$$\text{Media} = \frac{-a}{3}$$

$$\text{Varianza } (u^2) = \frac{a^2}{18}$$

$$\text{Incertidumbre típica } (u) = \frac{a}{3\sqrt{2}}$$

2.4 Causas principales de incertidumbre, distribuciones y fuentes de información

El procedimiento desarrollado para el cálculo de incertidumbres debe mencionar tanto las fuentes de información como las estimaciones realizadas.

- **Certificado de calibración.-** En él se establecen las correcciones y las incertidumbres asociadas, para un factor de cobertura (k) determinado, en las condiciones de calibración.

La desviación típica asociada se calculará como el intervalo de incertidumbre expandida dada en el certificado de calibración (U_{cal}), dividido por el factor de cobertura asociado (k_{cal}).

$$u_c = \frac{U_{cal}}{k_{cal}}$$

- **Deriva.-** La deriva de un instrumento o medida materializada entre dos calibraciones se estima, para un valor dado, como la diferencia entre la corrección en la calibración n menos la corrección en la calibración $n-1$, en valor absoluto. La contribución a la incertidumbre se estimaría:

$$u_D = \frac{|C_n - C_{n-1}|_{max}}{\sqrt{3}}$$

C_n y C_{n-1} deben restarse algebraicamente (teniendo en cuenta su signo) antes de considerarse el valor absoluto de esta diferencia. Si se quiere establecer un límite conservador, puede tomarse la mayor diferencia encontrada entre correcciones, aunque pertenezcan a años no consecutivos.

Si los datos de las calibraciones fuesen de varios laboratorios o las incertidumbres fuesen dispares entre dichas calibraciones, para estimar un límite máximo de la deriva, podría ser conveniente considerar dichas incertidumbres y la contribución a la incertidumbre puede calcularse con la expresión alternativa siguiente:

$$u_D = \frac{|C_n - C_{n-1}| + U_n + U_{(n-1)}}{\sqrt{3}}$$

Donde:

C_n = corrección del certificado de calibración n .

C_{n-1} = corrección del certificado de calibración $n-1$

U_n = incertidumbre expandida del certificado de calibración n

U_{n-1} = incertidumbre expandida del certificado de calibración $n-1$

Inicialmente, cuando todavía no se tiene historia de calibración de los equipos, la deriva se puede estimar con la exactitud del instrumento de medida dada por el fabricante ("accuracy", clase, "precisión" en algunos termohigrómetros, etc.).

Esto se interpreta como la máxima variación de las características de la medida a lo largo del tiempo por todas las causas no especificadas de otra forma, o máximo error que podría cometer el equipo sin salir de la tolerancia establecida para su calidad metrológica. Por su carácter de límite la desviación estándar asociada se calculará como la exactitud dividida por $\sqrt{3}$.

$$u_D = \frac{\text{Exactitud}}{\sqrt{3}}$$

En el caso de calibraciones diarias o equipos que se calibran para realizar el ensayo, la deriva se estimaría como deriva en el período de validez de la calibración.

Se estimaría a partir de la máxima diferencia entre valores obtenidos sobre una referencia en el período de vigencia, dividida por $\sqrt{3}$. Como referencia suele usarse un patrón o muestra estable en ese período. Ejemplos: calibración de pHmetros, espectrofotómetros, cromatógrafos.

- **Temperatura.-** Suele influir sobre el equipo de medida. Si no viene expresamente definida por el fabricante, ni se conoce o espera algún tipo de influencia, no se considera como contribución, siempre que se trabaje dentro de los márgenes de temperatura para los que esté garantizado.

En caso de que el fabricante la defina como una contribución máxima a la incertidumbre se considerará como un límite máximo, salvo que se especifique de otra forma, y por tanto se dividirá el semi intervalo por $\sqrt{3}$.

$$u_T = \frac{\text{límite máximo}}{2\sqrt{3}}$$

En muchos casos, el fabricante lo que da es un coeficiente máximo de variación de la sensibilidad con la temperatura. En este caso el límite máximo de la expresión anterior se estimaría como:

$$\text{Límite máximo} = CT \cdot \Delta T \cdot x$$

CT: El coeficiente de variación con la temperatura expresado en tanto por uno, y en $^{\circ}\text{C}^{-1}$. Es el coeficiente de dilatación.

ΔT : Es la máxima diferencia de temperatura entre la calibración del equipo y el momento en que se realiza la medida (o la máxima diferencia de temperatura durante la calibración para el equipo que se está calibrando en su caso).

x : Es el valor medido por el instrumento de la magnitud de entrada.

Otras veces esta influencia puede tratarse como una corrección, entonces ésta se hace y se considera como contribución a la incertidumbre la máxima

desviación incluyendo la incertidumbre de ésta en el tiempo en que se realiza la calibración. En este caso se podría calcular también la incertidumbre, si se quiere realizar un cálculo más exacto, aplicando la ley de propagación de las incertidumbres a la expresión de la corrección.

En el caso en que se decidiese no hacer la corrección correspondiente se considerará ésta como una contribución no realizada, considerándola al final, como se verá más adelante.

- **Precisión** (denominada a veces de Tipo A por su forma de cálculo).- Conocida la precisión de un método o equipo, s_A , se tiene esta contribución como:

$$u_A = \frac{s_A}{\sqrt{n}}$$

Siendo n el número de repeticiones realizadas del ensayo, bajo las condiciones de precisión. Como se puede observar, esta contribución disminuye conforme se realizan repeticiones de la medida.

Es un error común en los laboratorios olvidar esta contribución o incluso considerar que no existe porque se realiza una sola medida, cuando la realidad

es que si no se hacen diferentes repeticiones del ensayo, se introduce íntegra la contribución.

- **Inestabilidad de la medida.-** Viene dada por la inestabilidad de la fuente de la magnitud a medir y la propia del equipo de medida. Se manifiesta en una variación de la lectura del instrumento (sobre todo en equipos que llevan asociado un indicador eléctrico o electrónico).

Se suele estimar esta contribución determinando los valores máximo y mínimo del intervalo de variación, considerando como valor medio el punto medio de este intervalo y como desviación estándar asociada, el semi-intervalo dividido por $\sqrt{3}$.

$$u_i = \frac{\text{valor máximo} - \text{valor medio}}{\sqrt{3}}$$

o

$$u_i = \frac{\text{valor máximo} - \text{valor mínimo}}{2\sqrt{3}}$$

- **Método de medida.-** Puede introducir contribuciones a la incertidumbre, como por ejemplo:

- ✓ La medida de una resistencia con un amperímetro y un voltímetro (conexión "larga" o "corta"): se introduce un error de método debido a la resistencia interna del amperímetro (distinta de cero) en la conexión larga o a la resistencia/impedancia interna del voltímetro (distinta de infinito) en la conexión larga.
- ✓ La variación que sufre la densidad del agua en función de la temperatura, al medir volúmenes por métodos másicos.
- ✓ Cuando se mide una carga de rotura si el eje de la probeta no está alineado con el eje en el que mide la célula de carga de la máquina de ensayo.
- ✓ La variación del punto geográfico en el que se calibró el equipo o donde se realizó la medida, al determinar masas por medio de sistemas dinamométricos.

En la mayoría de los casos, estas contribuciones debidas al método pueden considerarse como contribución a la incertidumbre directamente estimando un límite máximo y dividiéndolo por $\sqrt{3}$:

$$u_M = \frac{\text{límite máximo}}{\sqrt{3}}$$

O alternativamente calcular la corrección a realizar y su incertidumbre asociada, aplicándola bien al final como corrección, bien como una contribución más dentro de la ley de propagación.

- **Criterio de medida o lectura en equipos analógicos.-** Es la contribución que se introduce en función del criterio de medida que se utiliza.

Si se da como valor la división más cercana, el máximo error que se puede cometer (y que también podría incluir en este caso la resolución y el operador) sería 1/2 división y, por lo tanto, la contribución sería:

$$u_{CM} = \frac{1/2 \text{ división}}{\sqrt{3}}$$

Sin embargo si por ejemplo el criterio de medida fuese dar el punto medio entre las divisiones más cercanas, el máximo error sería 1/4 de división y por tanto:

$$u_{CM} = \frac{1/4 \text{ división}}{\sqrt{3}}$$

- **Operador.-** Puede ser especialmente significativa en equipos analógicos, por lo que se aconseja en ellos hacer coincidir las lecturas con valores de la división de escala, cuando sea posible. Se puede estimar para estos equipos en

1/2 o 1/4 de la división de escala, con lo cual equivale a la contribución anteriormente discutida.

También puede hacerse un diseño para conocerla y estimarla como una contribución de tipo A, es decir, como s/\sqrt{n} . Ejemplo: la precisión en el uso de los matraces o buretas.

No se incluirá cuando se haya incluido como contribución el criterio de medida o cuando se haya incluido la de repetibilidad del equipo de medida o la de reproducibilidad.

En equipos digitales, en general, no existe (salvo en la forma indicada como inestabilidad en el criterio de medida).

- **Resolución.-** En los equipos digitales se considera como una unidad del dígito menos significativo. Su contribución será:

$$u_R = \frac{\text{resolución}}{\sqrt{3}}$$

En equipos analógicos, en general, viene dada por las contribuciones discutidas en las del operador y criterio de medida, relacionadas con su apreciación de la división de escala.

- **Redondeo.-** Siempre que se realiza un redondeo se introduce una contribución a la incertidumbre igual al máximo valor del redondeo que se puede hacer, en función del criterio que se haya definido, dividido por $\sqrt{3}$.

$$u_{RE} = \frac{\text{límite}_{\text{máximo}}}{\sqrt{3}}$$

Si es un redondeo del resultado final se debiera aumentar la incertidumbre, con $k=2$, en el máximo error de redondeo admisible (tratándolo como corrección).

- **Representatividad de una muestra.-** Cuando un ensayo se realiza sobre varias submuestras, y los resultados obtenidos se utilizan para asignar un valor al lote o a la muestra de partida, se introduce una contribución a la incertidumbre que se puede calcular como la dispersión de los valores obtenidos en forma de desviación típica:

$$u_{FR} = S$$

Para que los resultados sean adecuados, el ensayo se debe realizar sobre un número significativo de submuestras.

Otra alternativa es describir matemáticamente la manera en que se obtiene la muestra, y aplicarle la ley de propagación de incertidumbres.

- **Incertidumbre de regresión:**

En una regresión lineal:

$$L = L_0 + m \cdot C$$

Aparece una contribución a la incertidumbre debida a la aproximación que supone la recta. Dicha contribución viene dada por:

$$u(FR) = u(C) = \sqrt{\left(\frac{1}{m}\right)^2 \cdot u^2(L) + \left(-\frac{1}{m}\right)^2 \cdot u^2(L_0) + \left(-\frac{L-L_0}{m^2}\right)^2 \cdot u^2(m)}$$

Expresión que resulta de aplicar la ley de propagación de las incertidumbres a la ecuación de la recta.

Otra posible estimación de $u(C)$ es el error tipo en la estimación de L (desviación típica de los residuos), SLC, convertido a unidades de C al dividir por la pendiente de la recta:

$$(s_{y,x}) = s_{L,C} = \sqrt{\frac{\sum (L_{obs} - L_{est})^2}{n-2}} \Rightarrow u(C) = \frac{s_{L,C}}{m}$$

Siendo n el número de puntos de la recta y m la pendiente de la recta.

- **Empuje o flotabilidad.**- A esta contribución se la suele denominar como “de empuje”, ya que es debida a la diferencia que se produce en la determinación de la masa debida al diferente empuje del aire sobre la muestra y sobre las masas patrón utilizadas en la calibración de la balanza:

$$u_{EMP} = \frac{\rho_A \cdot M \cdot \left(\frac{1}{\rho_M} - \frac{1}{\rho_P} \right)}{\sqrt{3}}$$

Siendo ρ_A la densidad del aire en el lugar donde se encuentra la balanza, M la indicación de esta, y ρ_M y ρ_P las densidades respectivas de la muestra que se está midiendo y de la masa patrón con que se calibró la balanza.

- **Excentricidad.**- Otra contribución que hay que considerar a veces en medidas de masa es la debida a la excentricidad de la balanza o báscula.

Se define el error de excentricidad como la máxima diferencia en valor absoluto de indicación de la balanza, para una masa dada, por el hecho de

situar esta masa en distintos puntos del plato de la balanza o báscula. El valor de esta contribución será suponiendo distribución rectangular:

$$u_{EXC} = \frac{\text{máximadiferenciade indicación}}{\sqrt{3}}$$

2.5 Cálculo del número efectivo de grados de libertad

El resultado final de una medida se expresa:

$$\bar{X} \pm U$$

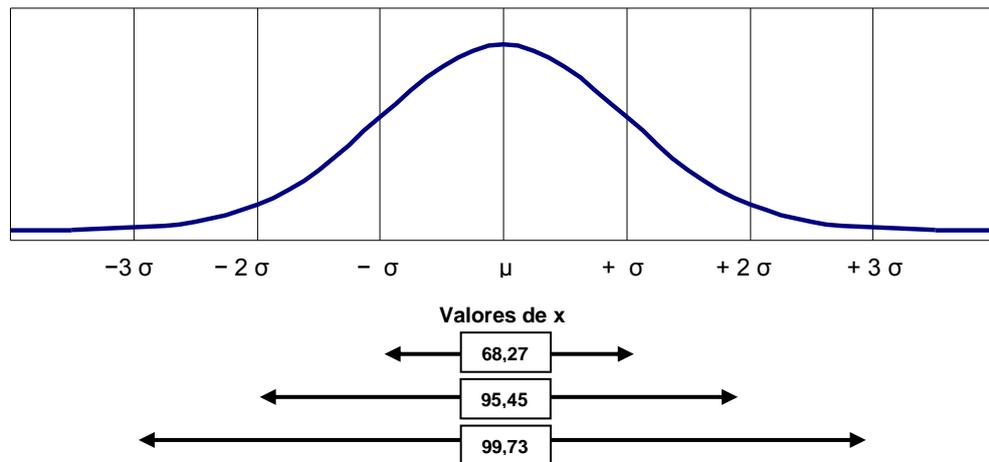
(k = factor de cobertura)

Siendo U la incertidumbre expandida y \bar{X} el valor de la medición o el ensayo, o la media de la serie de determinaciones del resultado.

Según esto, la expresión anterior se interpreta diciendo que la mejor estimación del valor atribuible a un mensurando es \bar{X} , y que se espera que el intervalo que va de $\bar{X} - U$ a $\bar{X} + U$ abarque una fracción importante (dada por el valor de k) de los valores que razonablemente pueden ser atribuidos al mensurando.

En una distribución normal, conocemos la relación entre k y la fracción de valores incluida en el intervalo.

La desviación típica, σ , mide la distancia de la media al punto de inflexión de la curva, siendo el punto de inflexión aquel en el que la pendiente deja de crecer y empieza a disminuir o viceversa. Entonces, ocurre que:



- En el intervalo $\bar{X} \pm \sigma$ se encuentran el 68,27% de los valores de la distribución (o, dicho de otro modo, la probabilidad de que un determinado valor se encuentre en ese intervalo es del 68,27%)
- En el intervalo $\bar{X} \pm 2\sigma$ se encuentran el 95,45% de los valores de la distribución (o la probabilidad de que un determinado valor se encuentre en ese intervalo es del 95,45%)

- En el intervalo $\bar{X} \pm 3\sigma$ se encuentran el 99,73% de los valores de la distribución (o la probabilidad de que un determinado valor se encuentre dentro de ese intervalo es del 99,73%)

Pero la hipótesis de una distribución normal no siempre se verifica experimentalmente. En tales casos, para calcular el factor de cobertura se hace uso del Teorema Central del Límite, que establece que la distribución de la magnitud de salida será aproximadamente normal si las magnitudes de entrada son independientes (sea cual sea su distribución, p. ej. normal, rectangular, triangular, etc.) y la varianza de la magnitud de salida es mucho más grande que cualquier componente de una magnitud de entrada cuya distribución no sea normal.

Así que en los casos prácticos aproximaremos el factor de cobertura calculando primero el número efectivo de grados de libertad con la expresión de Welch-Satterthwaite:

$$v_{ef} = \frac{u^4(y)}{\sum_{i=1}^N \frac{u_{x_i}^4(y)}{v_i}}$$

$u_{x_i}(y)$, con $(i = 1, 2, \dots)$ son los productos $c_i \cdot u(x_i)$

v_i son los grados efectivos de libertad de la contribución a la incertidumbre típica $u_{x_i}(y)$.

Para una incertidumbre típica $u_i(y)$ de Tipo A, normalmente, $\nu_i = n - 1$.

Para una incertidumbre típica $u_i(y)$ de Tipo B, los grados de libertad serán los indicados por los datos de partida (p. ej. a partir del certificado de calibración) o, si la estimación se ha realizado a partir de un límite máximo elegido con criterio conservador, se considerará $\nu_i = \infty$.

Si el valor de ν_{ef} obtenido no coincide con alguno de los tabulados, se puede interpolar o tomar el valor inmediatamente inferior.

Si y es de la forma $y = c \cdot x_1^{p_1} \cdot x_2^{p_2} \cdot \dots \cdot x_n^{p_n}$ con p_i números conocidos de incertidumbre despreciable y magnitudes x_i no correlacionadas, y por tanto la ecuación de la incertidumbre típica combinada se calcula con la simplificación:

$$\left[\frac{u(y)}{y} \right]^2 = \sum_{i=1}^n \left[\frac{p_i \cdot u(x_i)}{x_i} \right]^2$$

Entonces, la fórmula de Welch-Satterthwaite toma la forma siguiente:

$$\nu_{ef} = \frac{\left(\frac{u(y)}{y} \right)^4}{\sum_{i=1}^N \frac{\left(\frac{u_{x_i}(y)}{x_i} \right)^4}{\nu_i}}$$

- **Correcciones no realizadas**

$$U = k \cdot u(y) + b_{\text{máx}}$$

Siendo $b_{\text{máx}}$ un límite máximo de la corrección no realizada sobre y , que se estimaría como la máxima diferencia en valor absoluto entre el valor de y tomando los valores corregidos de todas las estimaciones de entrada x_i y el valor de y tomando los valores de x_i a partir de los cuales se ha calculado la estimación de la magnitud de salida y . $b_{\text{máx}}$ debe tener las mismas unidades que la estimación de la magnitud de salida y .

CAPITULO III

3. REVALIDACIÓN DEL MÉTODO DE PH EN LA MATRIZ DE PRODUCTOS PESQUEROS

3.1 Necesidad analítica

El pH es un parámetro que determina la calidad comercial y frescura del producto, este se realiza bajo pedido del productor para demostrar que el producto es apto para el consumo humano y cumple con las características solicitadas por el cliente.

3.2 Método

El laboratorio cuenta con un solo método de ensayo para determinar pH en alimentos. Código Interno: PEE/CESECCA/QC/01.

3.3 Procedimiento

Objeto

Describir la metodología a seguir para la realización del ensayo pH, así como las medidas necesarias de seguridad y de calidad.

Alcance

Este procedimiento es de aplicación a los ensayos de pH a realizarse en los productos pesqueros y acuícolas en su presentación de fresco, congelados, precocidos, conservas y harinas en forma permanente en el laboratorio del CESECCA.

Referencia

Documentos utilizados en la elaboración

- PG/CESECCA/01 Procedimiento general para la elaboración de documentos.
- Normas INEN.181.Conservas Envasadas de Pescado.
- DE/CESECCA/60. AOAC 19th Edición 2012, Método Oficial 937.07 Capítulo 35.1.01 pag. 1.
- DE/CESECCA/60. AOAC 19th Edición 2012, Método Oficial 981.12 Capitulo. 42.1.04 pag. 2 y 3.

Documentos a utilizar conjuntamente

- PE/QC/0101 – Formato Primario.
- PE/QC/0102 – Registro de Carta de Control.
- MC2003 – Orden de análisis.
- MC2203 – Informe parcial de Ensayos.
- PEU/CESECCA/QC/04 – Procedimiento de de utilización del medidor de pH.

General

Principio

pH, término que indica la concentración de iones hidrógeno en una disolución. El término (del francés *pouvoir hydrogène*, 'poder del hidrógeno') se define como el logaritmo negativo de la concentración de iones hidrógeno, H⁺:

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$$

donde [H⁺] es la concentración de iones hidrógeno en moles por litro.

Descripción

Equipos y materiales

Equipos

- Procesador de alimentos
- Potenciómetro QC-EI/50-00
- Electrodo Inlab Solids pH QC-EI/50-01
- Electrodo Inlab Expert Pro pH QC-EI/50-02

Materiales

- Bandejas plásticas rectangulares
- Espátula de acero inoxidable.

- Abrelatas de acero inoxidable.
- Cuchillo de acero inoxidable.
- Cuchara de acero inoxidable.
- Vaso de polipropileno de 250 ml.
- Piseta o frasco lavador
- Papel absorbente.

Reactivos y/o Materiales de Referencia

- | | |
|--|------------|
| • Solución Buffer pH= 4.00 | QC-PQ/43 |
| • Solución Buffer pH= 7.00 | QC-PQ/44 |
| • Solución Buffer pH= 10.00 | QC-PQ/45 |
| • Material de Referencia (Buffer 7.00) | QC-MRI/166 |
| • Agua destilada | |

Toma de la muestra

Luego de la homogenización de la muestra, se toma aproximadamente 200g en un vaso de precipitación de 250 ml plástico, previamente codificado (esta codificación corresponde al número de orden de análisis designado en la recepción de la muestra), para luego proceder a la realización del ensayo.

Preparación de equipos

- Encender el pH metro.
- Almacenamiento: Mantener el electrodo en solución de cloruro de potasio antes de ponerlo a trabajar.

Realización

- Homogenizar la muestra y recibirla en un vaso plástico de 250 ml.
- Encender potenciómetro.
- “Medir la temperatura de la solución buffer 7.00 con el termómetro y ajustar en el medidor de pH (MTC).”
- Realizar la respectiva verificación diaria, lo cual se procede hacer antes de la realización del análisis; lo cual consiste en introducir el electrodo limpio y seco en las soluciones buffer certificadas (7.00, 4.00 y 10.00) para verificar el correcto funcionamiento del equipo. Se deberá verificar los resultados de la pendiente y el offset de acuerdo a los criterios establecidos para el equipo.
- Limpiar electrodo con agua destilada y secar antes de introducirlos en las soluciones de buffer.
- Determinar el pH, introduciendo el electrodo en el vaso plástico con la muestra.

Tratamiento de resultados

Los datos obtenidos de la lectura son registrados en el formato PE/QC/0101 y revisados por Jefe Técnico del Laboratorio. Luego son transcritos al formato. MC2203.

Cálculo de Incertidumbre

La incertidumbre asociada a los resultados emitidos es la determinada en el registro de revalidación RV-PEE/CESECCA/QC/01.

Puntos críticos

No aplica

Condiciones ambientales

- Temperatura Óptima de trabajo: 15 a 25°C.
- Humedad Relativa Optima de Trabajo: <80%.
- Presión Atmosférica: No aplica.

Medidas de seguridad

Lavar el electrodo con un papel absorbente con etanol y dejar el electrodo del potenciómetro sumergido en solución de cloruro de potasio cuando el electrodo se encuentre fuera de servicio.

3.4 Puesta a punto

Identificación de las variables que intervienen en el método

Identificación de Matrices Afines.- El equipo (pH metro) y el método con el que cuenta el laboratorio para realizar los ensayos de pH en alimentos, le permite realizar las determinaciones directamente sobre la muestra. Para poder determinar las matrices a la que es aplicable el método con los objetivos de validación, se realizó un estudio en las diferentes matrices que se analizan en el laboratorio.

Puesta a punto del equipo.- Se debe siempre verificar el funcionamiento del potenciómetro antes del análisis y cuando sea conveniente, realizar el respectivo ajuste.

Preparación Muestra.- Debe tenerse cuidado de realizar la homogenización de la muestra de forma correcta.

Identificación de requisitos

Equipos	U calibración	k:	Corrección de Calibración	Deriva	Utilidad
pH metro	SI	SI	SI	SI	Lectura de pH
Termómetro	SI	SI	SI	SI	Lectura de temperatura
pH metro	SI	SI	SI	SI	Lectura de pH

Reactivos	Valor	U	k:	Lote de preparación	Fecha caducidad	Método de análisis	Patrón al que son trazables	Utilidad
Solución buffer 4.00	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	Calibración/ Verificación del equipo
Solución buffer 7.00	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	Calibración/ Verificación del equipo
Solución buffer 10.00	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	Calibración Verificación del equipo

Elección de parámetros de validación.

Fijación de Objetivos	
PARÁMETRO	OBJETIVO ESTABLECIDO
Selectividad/Especificidad	NO APLICA
Linealidad/ Función respuesta	NO APLICA
Límite de Cuantificación del método	4.00 unidades de pH
Precisión (repetibilidad y /o reproducibilidad)	CVR:<= 1%; CVR:<= 2%
Incertidumbre	%U(K=2) <= 8%
Exactitud	97<%R<103%
Intervalo de trabajo	4.00 a 7.00 unidades de pH

Límite de Cuantificación

Se tomará como límite de cuantificación el menor valor de concentración con el cual se realizó la validación y que es estable según los objetivos planteados para la repetibilidad, reproducibilidad, exactitud e incertidumbre, como el valor de la muestra de menor concentración ensayada según la ficha del producto oscilará entre 3.6 a 4.1 unidades de pH.

Repetibilidad

Basado en el histórico de repetibilidad del ensayo en el Laboratorio se fijara el siguiente objetivo: $\%CVr = 1 \%$

Reproducibilidad

Basado en el histórico de reproducibilidad del ensayo en el Laboratorio se fijara el siguiente objetivo:

$$\%CVR = 2 \%$$

Incertidumbre

La incertidumbre al ser resultado de la suma de todas las contribuciones debe ser superior al CVR y por tanto se asume como:

$$\%U = 8 \%$$

Recuperación

Está fijado en función del histórico del laboratorio, debiendo estar entre el 97 a 103 %.

Rango de Trabajo:

Se establece en función de la experiencia de los trabajos realizados en el Laboratorio, de las necesidades de los clientes y va de 4.00 hasta 7.00 unidades de pH.

3.5 Diseño experimental y estadístico

DISEÑO EXPERIMENTAL	Ajuste cada día del equipo con las soluciones patrón en tres puntos (4,7 y 10). Verificación de la respuesta del método respecto a los objetivos de validación, probándose con muestras en productos del mar. Determinación de la exactitud (recuperación) de la intercomparación resultados que fueron obtenidos del histórico del laboratorio con una serie de cinco repeticiones y del material de referencia certificado en donde se analizarán con una serie de diez repeticiones. Se realizará la validación en productos
--------------------------------	---

	<p>del mar en cuatro niveles.</p> <p>Repeticiones del diseño anterior con diferentes analistas en condiciones de reproducibilidad</p>
<p>“Muestras” de las que se dispone para la validación</p>	<p><u>Soluciones Patrón:</u> Buffer 4, Buffer 7 y Buffer 10</p> <p><u>Interlaboratorio</u></p> <p><u>Material de Referencia Certificado (MRC)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • MRC (MT734) = 6.31 unidades de pH. <p><u>Muestras</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Muestra 1: Muestra de Pescado descompuesta • Muestra 2: Muestra a base de péptidos de pescado fresco
<p>Submuestras</p>	<p>5 submuestra en cada uno de los niveles de buffer e interlaboratorio.</p> <p>10 submuestras del Material de Referencia Certificado, muestras 1 y 2.</p>
<p>Procesamiento</p>	<p><u>Soluciones Patrón:</u> Buffer 4, Buffer 7 y Buffer 10</p> <p>Diariamente se procesan ensayos a fin de determinar la incertidumbre del uso del medidor de pH:</p> <p>3 niveles * 5 submuestra = 15</p> <p>Diariamente 15 ensayos * 5 días = 75 ensayos</p> <p><u>Interlaboratorio</u></p> <p>En la participación se analizó cinco repeticiones por analista.</p> <p>1 nivel *5 submuestras*2 = 10 ensayos.</p>

	<p><u>Material de Referencia Certificado (MRC) y Muestras 1 y 2</u></p> <p>Se analizarán diez repeticiones por analista.</p> <p>3 niveles * 10 submuestras *2 analistas = 60 ensayos.</p> <p>Con un total de 145 ensayos.</p>
Lectura	Se obtiene una lectura por cada submuestra
Interpolación y cálculos	No aplica
Tratamiento Estadístico	<p>Análisis de varianza simple de los resultados obtenidos para obtención de la precisión por niveles.</p> <p>Determinación de la exactitud (recuperación) en el Interlaboratorio y MRC.</p> <p>Determinación del límite de cuantificación</p> <p>Intervalo de trabajo validado</p> <p>Determinación de la incertidumbre de calibración y de la incertidumbre asociada al método.</p>

3.6 Realización

Registro de Datos

Los datos que se presentan a continuación están originalmente registra en los Anexos 1, 2, 3 y 4 que se ajuntan a continuación del documento.

3.7 Tratamiento estadístico de los datos obtenidos

Resumen de los resultados del tratamiento estadístico de los datos obtenidos en el proceso de validación (Tabla 1)

Tabla 1. Resultados Obtenidos del Tratamiento Estadístico.

	Interlaboratorio	MRC LGC	Muestra de pescado descompuesta	Muestra a base de péptidos de pescado fresco
Nivel:	5,81	6,31		
Media general:	5,82800	6,3315	7,0920	3,89800
DCMW:	0,00002	0,00009	0,00005	0,00002
DCMB:	0,00000	0,00182	0,00001	0,00025
SL2:	0,00000	0,00087	0,00000	0,00011
Sr:	0,00447	0,00946	0,00707	0,00483
SR:	0,00447	0,03092	0,00707	0,01169
% CVr:	0,07674	0,14937	0,09970	0,12392
% CVR:	0,07674	0,48833	0,09970	0,29991
%R:	100,30981	100,34073		

Límite de Cuantificación

Se tomará como límite de cuantificación el valor de menor concentración en unidades de pH, en el cual se realizó la revalidación y que es estable según los

objetivos planteados para la repetibilidad, reproducibilidad, exactitud e incertidumbre.

El Límite de Cuantificación tiene un a valor de: 3.9 unidades de pH

Precisión (Repetibilidad / Reproducibilidad)

La Repetibilidad /Reproducibilidad, definida por S_r y S_R , es un indicador que se utiliza en la determinación de incertidumbre del método.

La Repetibilidad/Reproducibilidad se puede presentar como un valor relativo, el indicador es $\%CV_r / \%CV_R$, este valor también se encuentra indicado en la tabla N° 1.

Exactitud

Estará en función de la recuperación y será función de la relación del valor observado/ valor esperado. Este valor también se encuentra indicado en la tabla No. 1

Luego de revisar estos valores, y revisando los objetivos de esta validación, se concluye que el porcentaje de recuperación si cumple con los objetivos planteados.

Intervalo de trabajo validado

El intervalo de trabajo validado esta entre 3.9 a 7 unidades de pH.

Incertidumbres Determinadas

La incertidumbre se ha determinado para cada nivel, a partir de los datos de la validación. Es importante hacer notar que la incertidumbre declarada en el formato PG0701, es la incertidumbre que se asociará a la medida como incertidumbre del método.

Tabla N° 2. Resultados de Cálculo de Incertidumbres

U relativa método	0,0456
U % método	4,5590

Declaración de método validado. Registros

De acuerdo a los resultados obtenidos se está cumpliendo con los objetivos de validación por tanto se puede declarar al método como validado.

Se encuentra realizada en el formato PG0701.

CAPITULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

Los resultados de la revalidación son aceptables ya que se cumplen con los objetivos de validación propuestos antes de realizar el diseño experimental.

El laboratorio tiene un método robusto para la determinación de pH.

4.2 RECOMENDACIONES

Los métodos de los ensayos que se encuentran acreditados deber ser revalidados ya que es importante conocer cómo cambia el valor de la incertidumbre; ya que desde las validaciones iniciales los componentes principales que contribuyen al cálculo de la incertidumbre presentan incrementos con respecto al tiempo y la frecuencia del uso.

BIBLIOGRAFIA

1. NORMA NTE-INEN ISO/IEC 17025:2005. Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración.
2. Guías EURACHEM para la Validación de Métodos.
3. Guía de Laboratorio para la Validación de Métodos y Temas Relacionados. (The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics.).
4. Criterios Generales del SAE y ENAC para la Acreditación de Ensayos y Calibración según la Norma ISO/IEC:17025.
5. Guía para la Determinación de la Incertidumbre en Métodos Analíticos.
6. (VIM) International Vocabulary of Metrology- Basic and General concepts and associated terms
7. ISO 9000:-2, Sistemas de Gestión de la Calidad-Fundamentos y Vocabulario.
8. ISO 9001:2000, Sistemas de Gestión de la Calidad-Requisitos.
9. Manual de Calidad del CE.SE.C.CA.
10. Normas INEN.181.Conservas Envasadas de Pescado.
11. AOAC 19th Edición 2012, Método Oficial 937.07 Capítulo 35.1.01 y Método Oficial 981.12 Capitulo. 42.1.04