

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



VALIDACIÓN DEL MÉTODO TITRIMÉTRICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE YODO
EN SAL Y EL MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE
NITRITOS EN PRODUCTOS CÁRNICOS

TRABAJO DE GRADO EN MODALIDAD PRÁCTICA PROFESIONAL SUPERVISADA

PRESENTADO POR

SOFÍA LYNNETH MORÁN RIVAS

PARA OPTAR AL GRADO DE

LICENCIADA EN QUÍMICA Y FARMACIA

ABRIL 2024

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMÉRICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO JUAN ROSA QUINTANILLA

SECRETARIO GENERAL

LICENCIADO PEDRO ROSALÍO ESCOBAR CASTANEDA

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

DECANA

MAESTRA NANCY ZULEYMA GONZÁLEZ SOSA

SECRETARIA

LICENCIADA EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCIÓN DE PROCESOS DE GRADO

DIRECTORA GENERAL

Maestra Katia Lissette Martínez de Palacios

LABORATORIO DE ALIMENTOS Y TOXICOLOGÍA DEL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

Licenciada Cindy Rebeca Martínez Linares

TRIBUNAL EVALUADOR

ASESORA

Maestra Rosa Mirian Rivas de Lara

ASESOR

Licenciado Ulises Oswaldo Guardado Castillo

TUTOR INTERNO

Licenciada Corina Ivette Interiano Ramírez

AGRADECIMIENTOS

Mi profundo agradecimiento a la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador por haberme brindado la oportunidad de realizar el programa de Prácticas Profesionales Supervisadas y así avanzar en mi proceso de graduación y lograr la meta final de ser Licenciada en Química y Farmacia.

Al Laboratorio de Alimentos y Toxicología del Instituto Nacional de Salud, por abrirme sus puertas, proporcionarme los recursos necesarios para llevar a cabo este proyecto y por haberme dado la invaluable oportunidad de aprender y crecer en ese entorno laboral tan especializado. La experiencia que he adquirido en mi estadía por parte del personal ha sido fundamental para mi formación académica y profesional, por lo que estaré eternamente agradecida con aquellos que me dieron una cálida bienvenida, me apoyaron y estuvieron en la disposición de compartir su conocimiento.

A mi tutora interna Licda. Corina Interiano, por su guía y ayuda en el proceso de realización y finalización del trabajo escrito y por ofrecer sugerencias que han mejorado la calidad de mi trabajo.

Y de manera especial a mi tutora externa Licda. Cindy Martínez, quien me ha acompañado en todo momento de este proceso, le agradezco por su paciencia, por su tiempo, por responder a mis preguntas y por la generosidad de haber compartido su experiencia y sabiduría que han contribuido significativamente a mi aprendizaje.

DEDICATORIAS

Le dedico este trabajo en primer lugar a Dios, por haberme dado la vida, salud y perseverancia que me han permitido llegar hasta este momento tan importante de mi formación profesional; y a la Virgen María que ha sido mi auxilio en los momentos más difíciles de mi vida y de mi carrera.

A mi madre, Silvia Rivas de Morán, quien es el amor incondicional más grande que conozco, tu amor y fe en mí han sido el impulso que he necesitado en cada desafío que he superado; a mi padre, Xavier Morán, que con tu experiencia has tratado siempre de guiarme, protegerme y aconsejarme. A ustedes les debo gran parte de lo soy, cada éxito que tengo es resultado también de su trabajo y sacrificio y esta no es la excepción, esto es de ustedes.

A mis hermanos Mariam Morán y Xavier Morán, ustedes han influido en mí más de lo que se imaginan, han sido la compañía más grande en mi vida y en este camino, mi motivación y mi consuelo.

A mis segundos padres, mis tíos Ana Isabel de López y Roberto López, me han amado y velado por mí desde el día uno como si fuera su hija, sin su ayuda todo esto tampoco hubiese sido posible.

A mi abuelita Miriam Cabrera, tenerte ha sido muy importante en mi vida, me motivaste cuando más lo necesité con tus mensajes, oraciones o los recordatorios de lo orgullosa que has estado siempre de mí.

Y a mis amigos de la vida y de la universidad, que me quedaría corta si los mencionara a todos, fueron esa bocanada de aire fresco cuando estábamos al límite, vivieron junto a mi toda esta montaña rusa de experiencias, preocupaciones, de miedos y de alegrías; y por eso y por todo lo vivido, cada uno forma parte de la historia del otro.

ÍNDICE GENERAL

Pág. N°

RESUMEN

CAPÍTULO I.

1.0 INTRODUCCIÓN

11

CAPÍTULO II.

2.0 OBJETIVOS

CAPÍTULO III.

3.0 MARCO TEÓRICO

16

3.1 Fortificación de Alimentos

16

3.1.1 Especificaciones técnicas de la Sal

16

3.1.2 Normativa de la Sal

16

3.1.3 Fortificación de Sal

17

3.1.4 Deficiencia de Yodo

17

3.1.5 Exceso de Yodo

19

3.1.6 Titrimetría

20

3.2 Aditivos Alimentarios

21

3.2.1 Nitritos en productos cárnicos

21

3.2.2 Impacto en la salud

22

3.2.3 Normativa para Aditivos Alimentarios

23

3.2.4 Espectrofotometría UV

25

3.3 Validación

25

3.3.1 La importancia de Validar un método analítico

25

3.3.2 Clasificación del método

26

3.3.3 Parámetros de una validación

27

3.3.4 Descripción de los parámetros a evaluar para un método normalizado modificado	28
3.3.5 Criterios de aceptación de los parámetros a evaluar en los métodos normalizados modificados	29
CAPÍTULO IV.	
4.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	32
CAPÍTULO V.	
5.0 CONCLUSIONES	67
CAPÍTULO VI.	
6.0 RECOMENDACIONES	69
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°		Pág. N°
1	Especificaciones sensoriales y fisicoquímicas de la sal yodada	16
2	Máximos niveles tolerables de yodo	20
3	Lista de aditivos (Nitritos) del RTCA 67.04.54:18 que no están adoptados por la norma CODEX STAN 192-1995	24
4	Norma general para los aditivos alimentarios (Nitritos) del CODEX STAN 192-1995	24
5	Parámetros a validar para métodos Normalizados Modificados	27
6	Cuadro resumen de los resultados para la Sal refinada	50
7	Cuadro resumen de los resultados para la Sal de mesa	52
8	Cuadro resumen de los resultados para la Muestra 1	53
9	Cuadro resumen de los resultados para la Muestra 2	55
10	Cuadro resumen de los resultados para la Muestra 3	56
11	Cuadro resumen de los resultados para la Muestra 4	57
12	Cuadro resumen de los resultados para la Muestra 5	59
13	Cuadro resumen de los resultados para la Muestra 6	60
14	Cuadro resumen de los resultados para la Muestra 7	62
15	Cuadro resumen de los resultados para la Muestra 8	63

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°	
1	Procedimiento para la determinación de yodo en sal por método titrimétrico
2	Procedimiento para la determinación de nitritos en productos cárnicos por método espectrofotométrico

RESUMEN

Cada día las personas consumen cantidades significativas de sal yodada a través de los alimentos, su importancia es tanta que en la actualidad es utilizada como un medio de prevención de afecciones de la tiroides; así mismo, los productos cárnicos se encuentran entre los grupos de alimentos mayormente consumidos y se les añade nitritos con el afán de preservarlos y conferir diversas cualidades sensoriales.

El problema principal radica en que tanto el exceso como la deficiencia de estos compuestos pueden tener impactos negativos en la salud de los consumidores; por lo tanto, el presente trabajo se enfoca en garantizar la seguridad alimentaria y la salud pública, validando el método titrimétrico y espectrofotométrico para cuantificar los niveles de yodo en la sal y nitritos en productos cárnicos.

Para lograr el objetivo, en primer lugar se llevó a cabo la redacción de dos protocolos de validación, para ello se definieron cada una de las partes y parámetros a evaluar en cada una de las validaciones. Posteriormente se realizaron las validaciones evaluando linealidad, exactitud, precisión, límite de detección, límite de cuantificación e incertidumbre de cada método; donde se utilizaron 8 muestras de productos cárnicos representativas al 50% de la categoría 8.0 del Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.54:18, y muestras de sal refinada y sal de mesa. Y por último se realizaron los resúmenes de los resultados de las validaciones para cada una de las matrices.

Los resultados obtenidos dentro de los criterios de aceptación, respaldan la implementación eficaz de las metodologías analíticas para la cuantificación del yodo en sal y de nitritos en productos cárnicos, contribuyendo así a mejorar la calidad y seguridad de los consumidores.

Por lo tanto, la validación de estos métodos es fundamental para garantizar la seguridad alimentaria y prevenir riesgos para la salud pública pues representan una herramienta efectiva para monitorear y controlar la presencia de estos compuestos en los alimentos.

Por consiguiente, se recomienda implementar de manera sistemática la validación de los métodos, con el fin de asegurar la calidad y seguridad de los productos que la población salvadoreña consume, además es sugerible continuar investigando y actualizando los métodos analíticos para mejorar la precisión y eficiencia de los métodos de validación existentes.

CAPÍTULO I

1.0 INTRODUCCIÓN

La seguridad alimentaria es una prioridad indiscutible en la sociedad contemporánea, su garantía requiere de entidades que empleen métodos analíticos confiables y precisos para evaluar la composición de productos de consumo cotidiano. En este contexto, el presente trabajo habla sobre la validación de dos métodos analíticos, el método titrimétrico para la cuantificación de yodo en sal y el método espectrofotométrico para la cuantificación de nitritos en productos cárnicos, ambos esenciales para el cumplimiento de la misión del Laboratorio de Alimentos y Toxicología del Instituto Nacional de Salud, la cual es realizar análisis especializados en muestras de alimentos, para la vigilancia en salud, protección e inocuidad alimentaria.

Por consiguiente, la validación del método titrimétrico para la cuantificación de yodo en sal se convierte en un componente fundamental para garantizar que este micronutriente esencial para el funcionamiento de la glándula tiroides esté presente en las concentraciones adecuadas, pues su deficiencia podría resultar en trastornos como el bocio, afectar el desarrollo cognitivo, entre otros.

Asimismo, la adición de nitritos en productos cárnicos se ha convertido en una técnica común, destinada no solo a realzar el color y sabor de estos productos, sino también a proporcionar una barrera contra bacterias perjudiciales, por lo que la validación del método espectrofotométrico para la cuantificación de nitritos en productos cárnicos busca asegurar que esta práctica se realice de manera controlada y segura, evitando los riesgos que podrían generar, incluidos los asociados con la formación de compuestos nitrosos potencialmente cancerígenos.

Por lo tanto, en las instalaciones del Laboratorio de Alimentos y Toxicología del Instituto Nacional de Salud, en un periodo de 6 meses que comprende de marzo a septiembre de 2023, se busca realizar en primer lugar, dos protocolos de validación donde se establezcan los parámetros a evaluar y los criterios por cumplir, basándose en la guía “G 9.6 Validación de Métodos Analíticos Fisicoquímicos Versión 2” del Organismo Salvadoreño de Acreditación. Posteriormente llevar a cabo las validaciones realizando titulaciones de muestras de sal yodada; y para el caso de las muestras de productos cárnicos obtener lecturas en el espectrofotómetro ultravioleta visible. Por último, con los resultados obtenidos efectuar los resúmenes donde se declara el cumplimiento o no de los criterios de cada parámetro. A través del cumplimiento de los objetivos (elaboración de los protocolos, realización de la validación y resumen de resultados) se busca tener evidencia de que, estos métodos analíticos son aptos para el fin previsto y que contribuyen al aseguramiento de la

calidad y seguridad alimentaria, teniendo un impacto positivo en la salud y bienestar de la población.

CAPÍTULO II

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Validar el método titrimétrico para la cuantificación de yodo en sal y el método espectrofotométrico para la cuantificación de nitritos en productos cárnicos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Elaborar los protocolos de validación para ambos métodos normalizados modificados, fundamentados en la Guía “G 9.6 Validación de Métodos Analíticos Fisicoquímicos Versión 2” del Organismo Salvadoreño de Acreditación.
- Realizar la validación del método Titrimétrico para la cuantificación de Yodo en sal.
- Llevar a cabo la validación del método Espectrofotométrico para la cuantificación de Nitritos en productos cárnicos.
- Presentar los resúmenes de los resultados de ambas validaciones, basadas en la Guía “G 9.6 Validación de Métodos Analíticos Fisicoquímicos Versión 2” del Organismo Salvadoreño de Acreditación.

CAPÍTULO III

3.0 MARCO TEÓRICO

3.1 Fortificación de Alimentos

La fortificación o enriquecimiento de alimentos es un proceso mediante el cual se añaden nutrientes esenciales a un alimento para mejorar su contenido nutricional. Su objetivo principal es prevenir deficiencias de nutrientes y mejorar la salud de la población, especialmente en aquellas áreas donde ciertos nutrientes son escasos en la dieta habitual.

Su efectividad radica en fortificar alimentos básicos que sean consumidos por la mayor parte de la población; por ejemplo, en El Salvador, según el Reglamento Técnico Salvadoreño (RTS 67.06.01:13), se permite la fortificación del azúcar, la sal, la harina de maíz nixtamalizado y de pastas alimenticias.¹

3.1.1 Especificaciones técnicas de la Sal.²

La Sal de calidad alimentaria es un producto cristalino que consiste predominantemente en cloruro de sodio que proviene del mar, depósitos subterráneos de sal mineral o de salmuera natural.

La Sal yodada es aquella a la cual se le adiciona yodo en forma de yodato de potasio, la cantidad que se añade se encuentra establecida en el Reglamento Técnico Salvadoreño (RTS 67.06.01:13).

3.1.2 Normativa de la Sal

De acuerdo al RTS 67.06.01:13, la sal yodada debe de cumplir con las especificaciones sensoriales y fisicoquímicas de la siguiente tabla:

Tabla N°1. Especificaciones sensoriales y fisicoquímicas de la sal yodada.²

Características	Descripción
Aspecto	Forma de cristales de granulación uniformes, de acuerdo con el tipo y exento de materias extrañas
Color	Blanco
Olor	Característico

Continuación de Tabla N°1

Sabor	Salado característico
Humedad máxima	8%
Cloruro de sodio (sal molida) mínimo, sobre la sustancia seca y deducida del anti humectante.	92%
Cloruro de sodio (sal refinada) mínimo, sobre la sustancia seca y deducida del anti humectante.	98.5%
Grado de turbiedad máximo (sal molida)	50%
Grado de turbiedad máximo (sal refinada)	25%
Contenido de yodo	Mínimo 20mg/Kg Máximo 60mg/Kg

3.1.3 Fortificación de Sal.²

La producción de la premezcla para la fortificación de la sal debe prepararse mezclando el yodato de potasio y sal seca en una proporción de 1:9 (1 parte de yodato de potasio y 9 partes de sal). Contiene aproximadamente 60 mg de yodo por kg de premezcla.

La fortificación de la sal con yodo para consumo humano y animal debe contener un mínimo de 20 mg de yodo/kg y máximo de 60 mg de yodo/kg de sal.

3.1.4 Deficiencia de Yodo

El yodo es un oligoelemento esencial para la síntesis de hormonas tiroideas, su deficiencia en el organismo puede ser causa de daño cerebral irreversible y retardo en el desarrollo psicomotor. Además, es la principal causa prevenible de alteraciones del desarrollo cognitivo.

3.1.4.1 Desórdenes por deficiencia de Yodo

Los desórdenes por deficiencia de yodo son causados por la falta de este en los alimentos. Los trastornos por carencia de yodo (TCY), son muy importantes debido a que alrededor de una cuarta

parte de la población del mundo consume cantidades insuficientes de yodo; sus consecuencias tienen un importante impacto en la persona y en la sociedad y además, de entre las principales enfermedades por carencia nutricional, los TCY son los más difíciles de controlar.

3.1.4.1.1 Bocio endémico

La hipertrofia de la glándula tiroides es la manifestación clínica de falta de yodo más obvia, y descrita con mayor frecuencia. Cuando los consumos alimentarios de yodo están por debajo de 50 μg por día en adultos, la tiroides empieza a compensar el déficit con una hipertrofia lenta a través del tiempo. Donde haya una carencia alimentaria de yodo, la tiroides casi siempre empieza a crecer durante la infancia, y de modo más notorio en la pubertad.³

Esto se debe a que la glándula tiroides secreta hormonas vitales para el crecimiento y metabolismo, esta glándula está constituida sobre todo por folículos llamados acinos. Cada acino produce hormonas tiroideas, las almacena y las deposita en el torrente circulatorio según sea su demanda.

La falta de yodo dietético hace cada vez más difícil que la tiroides pueda producir suficiente tiroxina (la hormona tiroidea principal), por lo que la glándula empieza a aumentar su tamaño para tratar de compensar y producir más tiroxina.

3.1.4.1.2 Hipotiroidismo

El hipotiroidismo, o tiroides hipoactiva, ocurre cuando la glándula tiroides no produce suficientes hormonas tiroideas para satisfacer las necesidades del cuerpo.

Si por cualquier motivo se produce muy poca hormona tiroidea, la tasa de metabolismo basal (TMB) se reduce y se presenta el estado de hipotiroidismo, que puede llevar a la condición clínica llamada mixedema. En el adulto esta enfermedad se caracteriza por aspecto de obeso, piel seca y algunas veces rostro en luna llena. Con frecuencia hay sobrepeso, pulso bajo y pereza.³

La diferencia entre el bocio endémico y el hipotiroidismo radica en que, las personas con bocio endémico por lo general están bien compensados y no presentan evidencia de hipo o hipertiroidismo. Se les considera eutiroides, pues tienen la función tiroidea normal a pesar de la hipertrofia de la tiroides.

Cabe destacar que el hipotiroidismo infantil es motivo de preocupación para los países en desarrollo, debido a la evidencia de ser causa de retardo mental y bajo crecimiento físico. En lugares con alta prevalencia de los TCY, gran número de niños no alcanzan a desarrollar su potencial intelectual debido a un rendimiento deficiente en su educación y aun coeficiente intelectual bajo; en el futuro, cuando esos niños sean adultos, no podrán aportar a la sociedad como lo habrían hecho si sus madres hubiesen consumido cantidades adecuadas de yodo.

3.1.4.1.3 Cretinismo endémico

La carencia del yodo durante el embarazo puede llevar al nacimiento de un niño cretino. El bebé puede parecer normal al nacer pero luego crece y se desarrolla con lentitud, es de tamaño pequeño, de lento en el aprendizaje y además, muchos de estos niños son sordomudos.

A medida que el niño crece puede tener la apariencia de un cretino, que se caracteriza por tener piel gruesa, características burdas, nariz aplastada, lengua larga y saliente y estrabismo común. A los dos años, el niño aún no puede caminar sin ayuda, y a los tres puede no estar capacitado para hablar o entender órdenes sencillas.³

El cretinismo se manifiesta de dos formas, la neurológica y la hipotiroidea. Las características de la forma neurológica incluyen déficit mental; la apariencia característica; incapacidad para caminar o hacerlo arrastrando los pies; dificultades para controlar movimientos exactos de las manos y pies (espasticidad); y algunas veces, pero no siempre, tiroides agrandada. Por otro lado, el cretino hipotiroideo por definición tiene niveles bajos de hormona tiroidea, tiene pulso lento, cara abotagada y piel gruesa; su crecimiento físico, edad ósea y desarrollo mental son muy retardados; y hay TMB baja.³

En ambas formas de cretinismo, el daño neurológico, el retardo mental y el enanismo, son irreversibles aun con tratamiento, se puede detener el empeoramiento pero no el daño permanente que se ocasionó durante el embarazo.

3.1.5 Exceso de Yodo

A dosis elevadas de yodo pueden producirse algunos de los mismos síntomas que la deficiencia de yodo, entre ellos bocio. Las dosis elevadas de yodo también pueden causar inflamación de la glándula tiroidea y cáncer de tiroides. Además, el consumo de una dosis muy elevada, por ejemplo

si se han consumido varios gramos, puede ocasionar ardor en la boca, la garganta y el estómago, fiebre, dolor de estómago, náuseas, vómitos, diarrea, pulso débil e incluso coma.

A continuación figuran los límites superiores diarios de consumo de yodo. Estos niveles no se aplican a persona que consumen yodo por motivos de salud.

Tabla N°2. Máximos niveles tolerables de yodo⁴

Grupo o población	Edad (años)	Máximo nivel tolerable de yodo (µg diarios)
Lactantes	0-1	No establecido
Niños y niñas	1-3	200
	4-8	300
	9-13	600
Adolescentes	14-18	900
Hombres y mujeres	19	1.100
Mujeres embarazadas	14-18	900
	19-50	1.100
Madres que amamantan	14-18	900
	19-50	1.100

3.1.6 Titrimetría

Es un análisis químico que consiste en la determinación de un determinado componente en solución, mediante la adición de un reactivo líquido de conocida fuerza, hasta que se alcanza un resultado determinado, como por ejemplo, un cambio de color.

La cantidad de yodo en solución se determina por una titulación colorimétrica con una solución patrón de tiosulfato de sodio, la cual reacciona con el yodo, desapareciendo el color azul.

3.2 Aditivos Alimentarios

Un aditivo alimentario es cualquier sustancia que no se consume normalmente como alimento por sí misma, ni se usa normalmente como ingrediente típico del alimento, tenga o no valor nutritivo, cuya adición intencional al alimento es para un fin tecnológico o inclusive organoléptico, ya sea en la fabricación, elaboración, tratamiento, envasado, empaque, transporte o almacenamiento.

No se incluyen como aditivos alimentarios a los contaminantes ni a las sustancias añadidas para mantener o mejorar las cualidades nutricionales.

3.2.1 Nitritos en productos cárnicos

La inocuidad, conservación y vida útil de los alimentos, juega un rol fundamental en estos tiempos para las industrias alimenticias. Por ello, durante años se ha buscado la manera de controlar y prolongar la vida útil de estos, de manera muy especial en el sector cárnico donde es de suma importancia reducir la carga microbiana alterante, la actividad de agua y el pH.

3.2.1.1 Nitrato y Nitrito de sodio

Desde hace siglos se utilizaba la adición de sal en la elaboración de productos cárnicos para la conservación de estos; la sal marina que se empleaba con dicho fin presentaba ciertos niveles de nitratos, por lo que su uso implicaba la adición indirecta de ellos a los productos cárnicos. La coloración característica que adquirirían los productos tratados con estas sales se asoció a la presencia de nitratos; sin embargo, posteriormente se observó que los nitratos no pertenecían como tales, sino que eran reducidos a nitritos por acción de las bacterias reductoras.⁵ Con esto se estableció que era la acción de los nitritos y no de los nitratos la responsable del color característicos de los productos cárnicos.

Los nitritos y nitratos son compuestos químicos inorgánicos derivados del nitrógeno, que se encuentran naturalmente en alimentos vegetales y son frecuentemente utilizados para la conservación de carnes, su efecto es evitar la presencia de microorganismos, estabilizar el color y favorecer el desarrollo de aromas.

El efecto de protección ejercido por los nitritos depende de numerosos factores, entre los que se encuentran el pH (su actividad aumenta al disminuir el pH), la temperatura, el potencial de óxido-

reducción, etc.

3.2.1.2 Acción Bactericida

Los nitritos han presentado una actividad bactericida y bacteriostática en función de las concentraciones que se emplean, teniendo acción tanto en las bacterias alterantes, así como en los microorganismos patógenos, destacando el comportamiento que tienen frente a *Clostridium botulinum*, al disminuir la producción de la toxina botulínica durante el almacenamiento de los productos cárnicos.⁶

El probable mecanismo en que actúan los nitritos contra las células vegetativas de este patógeno, se debería a la formación de un complejo entre los nitritos y las metalo-enzimas hierro-azufre de la bacteria,⁶ que son vitales en el metabolismo de energía y la síntesis de ADN, alterando así su disposición, haciendo inviable la célula.

3.2.2 Impacto en la salud

3.2.2.1 Cáncer

El cáncer es el riesgo de salud más importante que se ha asociado históricamente con el nitrato y el nitrito. Estos compuestos no son cancerígenos en sí mismos, pero tienen el potencial de reaccionar con otros compuestos dentro de los alimentos durante la cocción o en el tracto digestivo para formar compuestos N-nitrosos como las nitrosaminas.⁷

La exposición crónica y continua a dosis bajas de nitrosaminas en la dieta, se considera de importancia toxicológica para los seres humanos, porque pueden producir cáncer en diversos órganos y tejidos, entre ellos están los pulmones, el cerebro, el hígado, el riñón, la vejiga, el estómago, el esófago y el seno nasal.

3.2.2.2 Metahemoglobinemia

La toxicidad del nitrato en humanos se debe principalmente a que una vez reabsorbido ejercen en el organismo la misma acción que sobre la carne conservada,⁷ es decir, transforma la hemoglobina en metahemoglobina, lo que hace que sea incapaz de transportar oxígeno, resultando en cianosis. La cual es la coloración azulada de la piel debido a una oxigenación insuficiente de la sangre.

3.2.3 Normativa para Aditivos Alimentarios

De acuerdo al Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 67.04.54:18), la categoría de Alimento 08.0 es la correspondiente a la “Carne y productos cárnicos, incluidos los de aves de corral y caza”.

A continuación se describen las subcategorías de interés para la validación, contenidas en la categoría 08.0:

- 08.2 Productos cárnicos, de aves de corral y caza elaborados, en piezas enteras o en cortes
 - 08.2.1.1 Productos cárnicos, de aves de corral y caza elaborados, curados (incluidos los salados) y sin tratar térmicamente, en piezas enteras o en cortes.
 - 08.2.1.2 Productos cárnicos, de aves de corral y caza elaborados, curados (incluidos los salados), desecados y sin tratar térmicamente, en piezas enteras o en cortes.
 - 08.2.2 Productos cárnicos, de aves de corral y caza elaborados, tratados térmicamente en piezas enteras o en cortes.
- 08.3 Productos cárnicos, de aves de corral y caza picados y elaborados
 - 08.3.1.1 Productos cárnicos, de aves de corral y caza picados y elaborados, curados (incluidos los salados) desecados y sin tratar térmicamente.
 - 08.3.1.2 Productos cárnicos, de aves de corral y caza picados y elaborados, curados (incluidos los salados) y secos, y sin tratar térmicamente.
 - 08.3.3 Productos cárnicos, de aves de corral y caza picados, elaborados y congelados.

3.2.3.1 Dosis máxima de nitritos en productos cárnicos ^{8,9}

Las dosis máximas de uso se definen como la concentración más alta de un aditivo en la cual los organismos recocidos internacionalmente ya han determinado que es funcionalmente eficaz en el alimento y por lo tanto es inocua. A continuación, se muestran las tablas tomadas del RTCA 67.04.54:18 y del CODEX STAN 192-1995, donde se contempla la dosis máxima de Nitritos para algunas subcategorías de productos cárnicos:

Tabla N°3. Lista de aditivos (Nitritos) del RTCA 67.04.54:18 que no están adoptados por la norma CODEX STAN 192-1995. Fuente: Elaboración propia

Número de la categoría	Categoría de alimentos	Dosis Máxima (mg/kg)	Función
08.2.1.1	Productos cárnicos, de aves de corral y caza elaborados, curados (incluidos los salados) y sin tratamiento térmico, en piezas enteras o en cortes	200	Agentes de retención del color, sustancias conservadoras
08.2.1.2	Productos cárnicos, de aves de corral y caza elaborados, curados (incluidos los salados), desecados y sin tratar térmicamente, en piezas enteras o en cortes	200	
08.2.1.3	Productos cárnicos, de aves de corral y caza elaborados, fermentados y sin tratar térmicamente, en piezas enteras o en cortes	130	
08.2.3	Productos cárnicos, de aves de corral y caza elaborados, congelados, en pieza entera o en cortes	170	
08.4	Tripas Comestibles (por ejemplo para embutidos)	130	

Tabla N°4. Norma general para los aditivos alimentarios (Nitritos) del CODEX STAN 192-1995. Fuente: Elaboración propia

Número de la categoría	Categoría de alimentos	Dosis Máxima (mg/kg)	Función
08.2.2	Productos cárnicos, de aves de corral	80	Agentes de

	y caza elaborados, tratados térmicamente, en piezas enteras o en cortes		retención del color, sustancias conservadoras
08.3	Productos cárnicos, de aves de corral y caza picados y elaborados	80	

3.2.4 Espectrofotometría UV

Los espectrofotómetros son equipos ópticos que permiten evaluar la luz que es absorbida, transmitida o reflejada por un material para cada longitud de onda. Estos equipos son de gran importancia en el sector de la alimentación, pues se puede encontrar una amplia variedad de aplicaciones de esta técnica.

La espectrofotometría UV-visible es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución. Se basa en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas y a su vez que la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la concentración.

3.3 Validación

La validación es un proceso establecido para la obtención de pruebas documentadas y demostrativas de que un método de análisis es fiable y reproducible para proveer el resultado previsto dentro de intervalos o parámetros definidos y para el propósito requerido.¹⁰

Para que un resultado analítico concuerde con el propósito requerido, debe ser lo suficientemente confiable para que cualquier decisión basada en éste pueda tomarse con confianza.

3.3.1 La importancia de Validar un método analítico

Los diversos métodos que existen, pueden tener distintos tipos de objetivos, pero en la mayoría de los casos el propósito es estimar la concentración de una o de varias especies en una muestra analítica. Todas las implicaciones que giran en torno a la determinación cuantitativa de numerosas sustancias en distintas matrices, requieren que estos métodos analíticos sean los adecuados, y como se mencionaba anteriormente, que la confiabilidad del resultado generado sea conocida y

que la evidencia de todo esto se encuentre documentada correctamente.

La información que se genere durante una validación sirve para realizar una adecuada estimación de la incertidumbre; también establecer herramientas de control dentro del laboratorio; además, asegura el correcto funcionamiento del método a lo largo del tiempo; y, por último, contribuye a mejorar continuamente el desempeño de este.

Por lo tanto, producir resultados cuya confiabilidad sea conocida disminuye el riesgo de que se tomen decisiones incorrectas con base en información errónea. Entender el alcance de un resultado dado, permite evaluar si la información que contiene es lo suficientemente buena como para justificar la toma de una decisión. Por otro lado, usar métodos validados es un requisito para acreditar la competencia de los laboratorios de ensayo.

3.3.2 Clasificación del método

Se diferencian 3 tipos de métodos: método normalizado, método normalizado modificado y método no normalizado.

Para los métodos normalizados, el proceso de normalización asegura que se conozcan las características de desempeño, debido a que ya se han evaluado previamente si dichas características son lo suficientemente buenas para el propósito del método.¹¹ Esto quiere decir que los métodos normalizados ya se encuentran validados y están descritos en referencias reconocidas internacionalmente. En este caso, el laboratorio solo debe verificar que el método funciona bien cuando lo adapta a sus condiciones particulares de trabajo, es decir, que domina el ensayo y lo utiliza correctamente.

Los métodos normalizados modificados, se tratan de una modificación a un método de ensayo normalizado. El método titrimétrico y el espectrofotométrico han sido modificados para ser usados en un intervalo de concentraciones diferente al establecido y para considerar nuevas matrices, de esa forma comprobar que la modificación introducida en el método inicial no afecta la capacidad del laboratorio para proporcionar resultados confiables. En estos casos deben de validarse, pero se tiene la ventaja de que en la mayoría de las veces el alcance, la regulación o las decisiones del método normalizado son similares a las del modificado, y por lo tanto se pueden emplear los criterios de aceptación del método normalizado, y así simplificar el proceso.

Finalmente, los métodos no normalizados, estos poseen un nivel de dificultad significativo a diferencia de los primeros dos, pues se trata de métodos de ensayo que no se encuentran en referencias reconocidas internacionalmente. Comprenden el desarrollo de métodos nuevos, probablemente desde cero, en donde sus parámetros de desempeño se evalúan cada cierto tiempo hasta que el método satisface los requerimientos de su fin propuesto.

3.3.3 Parámetros de una validación

La confiabilidad de los resultados que genera un método puede evaluarse o entenderse a través de sus parámetros de desempeño, estos se seleccionan de acuerdo con los requerimientos del tipo de método que sea y deben estar especificados en función del alcance del método, es decir, su aplicación final.

Para este trabajo se presentan a continuación los parámetros a validar para los Métodos Normalizados Modificados:

Tabla N°5. Parámetros a validar para métodos Normalizados Modificados ¹⁰

Parámetros	Cualitativo	Cuantificación 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

+ Dependerá de la naturaleza del método, de la matriz o rango a validar.

3.3.4 Descripción de los parámetros a evaluar para un método normalizado modificado

3.3.4.1 Linealidad

La linealidad se evalúa con la determinación del intervalo lineal y el intervalo de trabajo.

El intervalo lineal es la capacidad de un método analítico para dar resultados que son directamente proporcionales a la concentración del analito de un intervalo dado.

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.¹⁰

3.3.4.2 Exactitud

La evaluación de la exactitud se fundamenta 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.

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

Para verificar la exactitud utilizando un material de referencia, se determina 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.¹⁰ El material de referencia ideal sería un material certificado de matriz natural, muy semejante a la muestra de interés.

3.3.4.3 Precisión

La precisión es medida mediante la repetibilidad, reproducibilidad y precisión intermedia.

La 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.

La 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.¹⁰

La 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 cedes con las cuales poder compararse.¹⁰

3.3.4.4 Límite de detección y límite de cuantificación

El límite de detección (LOD) es la concentración más baja del analito que puede ser detectada por el método a un nivel de confianza especificado. En cambio, el límite de cuantificación (LOQ) es el nivel más bajo en el cual el desempeño es aceptable para una aplicación típica.¹⁰

Estos parámetros se relacionan con la cantidad de analito requerida para dar un resultado significativo, ya sea cualitativo o cuantitativo. Un resultado “positivo” no es suficiente para que el analista considere detectado un analito; se precisa además, conocer el límite de detección en las condiciones del método; de lo contrario se puede incurrir en un falso positivo y llegar a suponer que el analito está presente en la muestra cuando de hecho no lo está.

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.

3.3.4.5 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.¹⁰ 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.

3.3.5 Criterios de aceptación de los parámetros a evaluar en los métodos normalizados modificados

3.3.5.1 Linealidad

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.

Intervalo de trabajo:

- $r \geq 0.98$
- El intervalo de confianza de la pendiente debe incluir la unidad

3.3.5.2 Exactitud

Se debe tomar en cuenta lo establecido en la referencia del método y, caso contrario, se sugieren las tablas del anexo de la referencia AOAC Guideline for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals. 2002.

3.3.5.3 Precisión

Se debe tomar en cuenta lo establecido en la referencia del método.

3.3.5.4 Límite de detección y Límite de cuantificación

No hay un límite de detección y cuantificación mínimo.

CAPÍTULO IV

4.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 ELABORACION DE PROTOCOLOS DE VALIDACIÓN

Los protocolos de validación comprenden una parte crucial para el desarrollo de las validaciones, cuyo propósito es proporcionar una guía clara y coherente de cómo se llevan a cabo.

En los protocolos presentados a continuación, se define toda la información necesaria para poder establecer un método titrimétrico y un método espectrofotométrico que permitan evaluar de manera confiable la cuantificación de yodo en sal y de nitritos en productos cárnicos respectivamente.

4.1.1 Protocolo de Validación del método titrimétrico para la cuantificación de yodo en Sal

Laboratorio Nacional de Salud Pública Laboratorio de Alimentos y Toxicología			
Protocolo de la Validación del método titrimétrico para la cuantificación de yodo en sal.			Página: X de Y
Código:		Fecha de emisión:	Cambio No:
Elaborado por:	Revisado por:	Aprobado por:	Versión No:
<p>1. Objetivo</p> <p>Establecer los parámetros de calidad necesarios para realizar la validación del Método Titrimétrico para la cuantificación de Yodo en Sal, a finde de proporcionar evidencias de que puede ser utilizado para los propósitos previstos. La validación será efectuada en las fechas comprendidas desde marzo 2023 a septiembre 2023.</p> <p>2. Alcance</p> <p>La validación del método titrimétrico para la cuantificación de yodo en sal es aplicable para muestras de sal yodada en el rango de concentración de 0.9-100 mg/Kg.</p> <p>3. Responsables</p> <p>La validación es responsabilidad de los analistas de la plataforma de fisicoquímica: analista responsable del análisis, analista sustituto, coordinadora de la plataforma de Fisicoquímico y</p>			

jefa de Laboratorio.

4. Parámetros a Estudiar

- Intervalo Lineal
- Intervalo de Trabajo
- Recuperación, Exactitud
- Repetibilidad como CV
- Precisión Intermedia como CV
- Incertidumbre del Resultado a Reportar
- Límite de Cuantificación del Método (LCM)
- Límite de Detección del Método (LDM)
- Rango de trabajo en muestras

5. Muestras

Mezcla de muestras de sal con un bajo contenido de yodo, con la cual se prepararán soluciones de diferentes concentraciones para elaboración de las curvas de calibración y fortificación de muestras.

6. Equipos y material involucrados en la validación

Nombre	Clasificación
Balanza analíticas	Equipo
Agitador magnético	Equipo
Refrigeradora	Equipo
Beaker de 50, 250, 400, 600 mL	Cristalería
Pipeta volumétrica de 5, 10, 15, 20, 25 mL	Cristalería

Para la operación de los equipos, ver Instrucción técnica de Operación y Calibración de Equipos.

7. Descripción del Método Analítico

El propósito de esta determinación es cuantificar el yodo presente en una muestra de sal, basándose en la reacción del ion yodato con el yoduro agregado posteriormente, en soluciones neutras o ligeramente ácidas, liberándose átomos de yodo por cada molécula de yoduro alcalino presente en las muestras.

SOLUCIÓN ESTÁNDAR UTILIZADA

Nombre	Marca	Lote	Vence	Concentración
Yodato de potasio	-	-	-	-

MEDIDAS DE SEGURIDAD PARA EL USO DE REACTIVOS

Consultar hojas de seguridad de los reactivos ubicadas en el laboratorio.

MATERIALES, INSTRUMENTACIÓN, PROCEDIMIENTO Y CÁLCULOS

- Instrucción Técnica de Operación y Calibración de Equipos
- Instrucción Técnica de Preparación de muestra
- Instrucción Técnica de Preparación de reactivos
- Sistema de gestión de calidad G 9.6 Validación de métodos analíticos fisicoquímicos.
- Reglamento Técnico Salvadoreño. Fortificación de Alimentos. Especificaciones. (Azúcar, sal, harina de maíz nixtamalizado y pastas alimenticias) (RTS 67.06.01:13).

8. Procedimiento para la determinación de los Parámetros a Evaluar

8.01 Intervalo Lineal

Muestras/Repeticiones	Participará un analista. Preparar cuatro curvas de calibración, cada una con seis puntos, los cuales incluyen el valor cero.
-----------------------	--

Calcular/Determinar	Graficar la concentración medida (eje y) en función de la concentración de las muestras de ensayo (eje x). Calcular las estadísticas de regresión apropiadas. Calcular y graficar los residuales (la diferencia entre el valor observado de “y” y el valor calculado de “y” pronosticado por la línea recta, para cada valor de “x”). La distribución aleatoria de residuales en torno a cero confirma la linealidad. Las tendencias sistemáticas indican la no linealidad.
---------------------	---

Criterios de aceptación:

- 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.

8.02 Intervalo de Trabajo

Muestras/Repeticiones	Participará un analista. Fortificación de Matriz a cinco niveles de concentración. Fortificar por triplicado.
Calcular/Determinar	Graficar la respuesta (eje y) en función de la concentración (eje x). Calcular las estadísticas de regresión apropiadas, calcular y graficar los residuales (diferencia entre el valor observado de “y” y el valor calculado de “y” pronosticado por la línea recta, para cada valor de “x”). La distribución aleatoria de residuales en torno a cero confirma la linealidad. Las tendencias sistemáticas indican la no linealidad o un cambio de varianza con el nivel.

Criterios de aceptación del Intervalo de trabajo: $r \geq 0.98$, El intervalo de confianza de la pendiente debe incluir la unidad.

8.03 Recuperación, Exactitud

Muestras/Repeticiones	Participará un analista. Fortificación de Matriz a tres niveles de concentración. Nivel bajo y alto por triplicado, nivel medio por sextuplicado.
Calcular/Determinar	Determinar el valor de Sesgo, error relativo porcentual o recuperación.

Criterios de aceptación Recuperación: 80-120%.

8.04 Precisión

Muestras	Fortificación de Matriz a tres niveles de concentración. Todos los niveles por sextuplicado.
Repeticiones	Participará un analista. El análisis se llevará a cabo bajo condiciones de Repetibilidad.
	Participarán dos analistas. El análisis se llevará a cabo bajo condiciones de Precisión Intermedia.
Calcular/Determinar	(REPETIBILIDAD) Determinar el coeficiente de variación porcentual de los resultados o del porcentaje de recobro obtenido.
	(PRECISIÓN INTERMEDIA) Determinar el coeficiente de variación porcentual de los resultados o del porcentaje de recobro obtenido y determinar el ANOVA de los datos.

Criterios de aceptación Recuperación: CV menor a 20%.

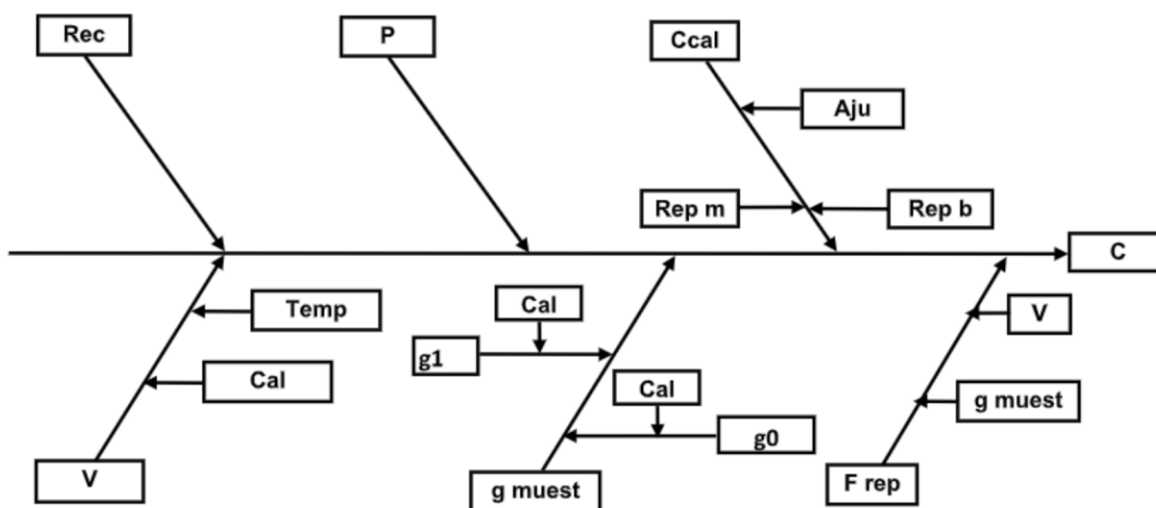
8.05 Incertidumbre del Resultado a Reportar

La estimación de la incertidumbre de los resultados de análisis se realizará siguiendo las recomendaciones dadas en Referencia 11.1 aplicando los siguientes criterios:

MENSURANDO

$$C = \frac{(C_{cal})(P)(V)(F_{rep})}{(g)(Rec)} \quad C_{cal} = \frac{(Abs - b)}{m}$$

FUENTES DE INCERTIDUMBRE



C	Concentración del analito en muestra
Ccal	Concentración del analito dada por la curva de calibración
P	Pureza del estándar analítico en tanto por uno
V	Volumen final de la solución de muestra
Frep	Factor de repetibilidad de todo el proceso analítico
g	Gramos de muestra analizada
Rec	Recuperación del analito expresada en tanto por uno
b	Intercepto de la curva de calibración
m	Pendiente de la curva de calibración
Área	Área
Rep m	Repetibilidad de la pendiente

Rep b	Repetibilidad del intercepto b
Cal	Calibración
Temp	Temperatura
Aju	Ajuste de la curva de calibración
g muestr	Cantidad de muestra analizada en gramos
g0	Lectura en la balanza al medir el peso del contenedor de la muestra
g1	Lectura en la balanza al medir la cantidad de muestra con el contenedor

La ecuación general para estimar la incertidumbre del resultado a reportar S_c , es:

$$S_c = C \sqrt{\left(\frac{S_{cal}}{C_{cal}}\right)^2 + \left(\frac{S_{Rep}}{F_{Rep}}\right)^2 + \left(\frac{SP}{P}\right)^2 + \left(\frac{SV}{V}\right)^2 + \left(\frac{S_g}{g}\right)^2 + \left(\frac{S_{Rec}}{Rec}\right)^2}$$

CUANTIFICACIÓN DE LAS FUENTES DE INCERTIDUMBRE

Incertidumbre estándar de la recuperación = Desviación estándar de la media de las recuperaciones

Incertidumbre estándar de la Repetibilidad = Desviación estándar relativa de las concentraciones encontradas en las muestras fortificadas.

Incertidumbre estándar de la pureza o concentración del estándar analítico: Viene especificada en el respectivo certificado

Incertidumbre estándar del Volumen V: Se tomarán en cuenta la incertidumbre por uso del instrumento a una temperatura diferente al de la calibración, y la incertidumbre por calibración reportada por el fabricante, la cual se considera con distribución triangular.

Criterios de aceptación Recuperación, El máximo valor de incertidumbre aceptado será 20%.

8.06 Limite de cuantificación (LCM)

El límite de cuantificación se calculará a partir de los datos experimentales del primer nivel

de concentración utilizado para precisión. Para obtener el límite se multiplicará por 10 la desviación estándar de los datos experimentales.

8.07 Límite de Detección del Método (LDM)

El límite de detección se calculará a partir de los datos experimentales del primer nivel de concentración utilizado para precisión. Para obtener el límite se multiplicará por 3 la desviación estándar de los datos experimentales.

9. Frecuencia de la Verificación o Validación

Cada vez que se haga una ampliación o modificación significativa del método.

10. Registros

Informe de Validación del Método Titrimétrico para la cuantificación de Yodo en Sal.

11. Referencias

- 11.1 AOAC 925.56 Edición 17, Cáp. 11 Pág. 32. 2000
- 11.2 Eurachem, Quantifying uncertainty in analytical measurement.
- 11.3 Procedimiento de Validación de Métodos analíticos, Laboratorio de Control de Calidad de Alimentos y Toxicología
- 11.4 OSA. Sistema de gestión de calidad G 9.6 Validación de métodos analíticos fisicoquímicos
- 11.5 Reglamento Técnico Salvadoreño. Fortificación de Alimentos. Especificaciones. (Azúcar, sal, harina de maíz nixtamalizado y pastas alimenticias) (RTS 67.06.01:13).
- 11.5 Instrucción Técnica de Preparación de Reactivos.

12. Responsables de la validación: _____

4.1.2 Protocolo de Validación de Método Espectrofotométrico para la cuantificación de Nitritos en productos cárnicos.

Laboratorio Nacional de Salud Pública Laboratorio de Alimentos y Toxicología			
Protocolo de Validación de Método Espectrofotométrico para la cuantificación de Nitritos en productos cárnicos.			Página: X de Y
Código:		Fecha de emisión:	Cambio No:
Elaborado por:	Revisado por:	Aprobado por:	Versión No:
<p>1. Objetivo</p> <p>Establecer los parámetros de calidad necesarios para la validación del Método Espectrofotométrico para la cuantificación de Nitritos en productos cárnicos, para proporcionar evidencias de que puede ser utilizado para los propósitos previstos. La validación será efectuada en las fechas comprendidas desde marzo 2023 a septiembre 2023.</p> <p>2. Alcance</p> <p>La validación del método espectrofotométrico para la cuantificación de nitritos en productos cárnicos es aplicable para alimentos del grupo 8.0 “Carne y productos cárnicos, incluidos los de aves de corral y caza”, comprendidos en el Reglamento Técnico Centroamericano “Alimentos y Bebidas Procesadas. Aditivos Alimentarios.” (RTCA 67.04.54:18).</p> <p>3. Responsables</p> <p>La validación es responsabilidad de los analistas de la plataforma de fisicoquímica: analista responsable del análisis, analista sustituto, coordinadora de la plataforma de Fisicoquímico y jefa de Laboratorio.</p> <p>4. Parámetros a Estudiar</p> <ul style="list-style-type: none"> - Intervalo Lineal - Intervalo de Trabajo 			

- Recuperación, Exactitud
- Repetibilidad como CV
- Precisión Intermedia como CV
- Incertidumbre del Resultado a Reportar
- Límite de Cuantificación del Método (LCM)
- Límite de Detección del Método (LDM)
- Rango de trabajo en muestras

5. Muestras

Muestras de productos cárnicos con los cuales se prepararán soluciones de diferentes concentraciones para elaboración de las curvas de calibración y fortificación de muestras.

6. Equipos y material involucrados en la validación

Nombre	Clasificación
Espectrofotómetro ultravioleta visible	Equipo
Baño de vapor de anillos	Equipo
Cámara de extracción de gases	Equipo
Balanza analítica	Equipo
Hot plate	Equipo
Pipeta volumétrica de 10 y 50 mL	Cristalería
Balón Volumétrico 500 y 50 ml	Cristalería

Para la operación de los equipos, ver Instrucción técnica de Operación y Calibración de Equipos.

7. Descripción del Método Analítico

El propósito de este método es la determinación de nitrito de sodio en muestras cárnicas, se basa en la cuantificación de nitrito al agregar solución de sulfanilamida y solución de alfa naftiletilendiamina, desarrollando una coloración rosa violácea, la cual permite leer la concentración de nitrito de sodio presente en la muestra en el espectrofotómetro UV a una longitud de onda de 540 nm.

SOLUCIÓN ESTÁNDAR UTILIZADA

Nombre	Marca	Lote	Vence	Concentración
Nitrito de sodio	-	-	-	-

MEDIDAS DE SEGURIDAD PARA EL USO DE REACTIVOS

Consultar hojas de seguridad de los reactivos ubicadas en el laboratorio.

MATERIALES, INSTRUMENTACIÓN, PROCEDIMIENTO Y CÁLCULOS

- Instrucción Técnica de Operación y Calibración de Equipos
- Instrucción Técnica de Preparación de muestra
- Instrucción Técnica de Preparación de reactivos
- Sistema de gestión de calidad G 9.6 Validación de métodos analíticos fisicoquímicos.
- Reglamento Técnico Centroamericano “Alimentos y Bebidas Procesadas. Aditivos Alimentarios.” (RTCA 67.04.54:18).

8. Procedimiento para la determinación de los Parámetros a Evaluar

8.01 Intervalo Lineal

Muestras/Repeticiones	Participará un analista. Preparar cuatro curvas de calibración, cada una con seis puntos, los cuales incluyen el valor cero.
Calcular/Determinar	Graficar la concentración medida (eje y) en función de la concentración de las muestras de ensayo (eje x). Calcular las

	estadísticas de regresión apropiadas. Calcular y graficar los residuales (la diferencia entre el valor observado de “y” y el valor calculado de “y” pronosticado por la línea recta, para cada valor de “x”). La distribución aleatoria de residuales en torno a cero confirma la linealidad. Las tendencias sistemáticas indican la no linealidad.
--	---

Criterios de aceptación:

- 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.

8.02 Intervalo de Trabajo

Muestras/Repeticiones	Participará un analista. Fortificación de Matriz a cinco niveles de concentración. Fortificar por triplicado.
Calcular/Determinar	Graficar la respuesta (eje y) en función de la concentración (eje x). Calcular las estadísticas de regresión apropiadas, calcular y graficar los residuales (diferencia entre el valor observado de “y” y el valor calculado de “y” pronosticado por la línea recta, para cada valor de “x”). La distribución aleatoria de residuales en torno a cero confirma la linealidad. Las tendencias sistemáticas indican la no linealidad o un cambio de varianza con el nivel.

Criterios de aceptación del Intervalo de trabajo: $r \geq 0.98$, El intervalo de confianza de la pendiente debe incluir la unidad.

8.03 Recuperación, Exactitud

Muestras/Repeticiones	Participará un analista. Fortificación de Matriz a tres niveles de
-----------------------	--

	concentración. Nivel bajo y alto por triplicado, nivel medio por sextuplicado.
Calcular/Determinar	Determinar el valor de Sesgo, error relativo porcentual o recuperación.

Criterios de aceptación Recuperación: 80-120%.

8.04 Precisión

Muestras	Fortificación de Matriz a tres niveles de concentración. Todos los niveles por sextuplicado.
Repeticiones	Participará un analista. El análisis se llevará a cabo bajo condiciones de Repetibilidad.
	Participarán dos analistas. El análisis se llevará a cabo bajo condiciones de Precisión Intermedia.
Calcular/Determinar	(REPETIBILIDAD) Determinar el coeficiente de variación porcentual de los resultados o del porcentaje de recobro obtenido.
	(PRECISIÓN INTERMEDIA) Determinar el coeficiente de variación porcentual de los resultados o del porcentaje de recobro obtenido y determinar el ANOVA de los datos.

Criterios de aceptación Recuperación: CV menor a 20%.

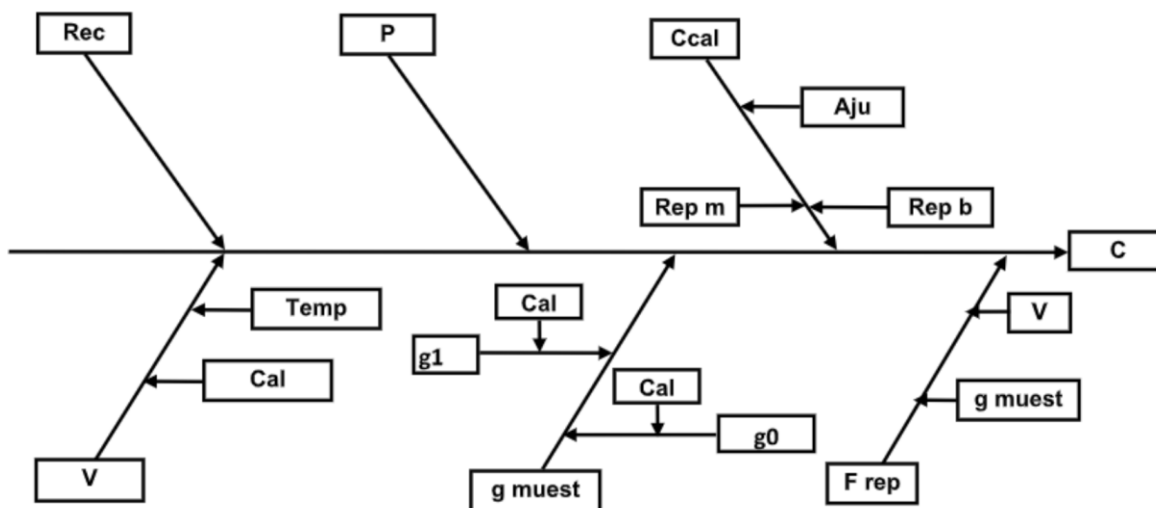
8.05 Incertidumbre del Resultado a Reportar

La estimación de la incertidumbre de los resultados de análisis se realizará siguiendo las recomendaciones dadas en Referencia 11.1 aplicando los siguientes criterios:

MENSURANDO

$$C = \frac{(C_{cal})(P)(V)(F_{rep})}{(g)(Rec)} \quad C_{cal} = \frac{(Abs - b)}{m}$$

FUENTES DE INCERTIDUMBRE



C	Concentración del analito en muestra
Ccal	Concentración del analito dada por la curva de calibración
P	Pureza del estándar analítico en tanto por uno
V	Volumen final de la solución de muestra
Frep	Factor de repetibilidad de todo el proceso analítico
g	Gramos de muestra analizada
Rec	Recuperación del analito expresada en tanto por uno
b	Intercepto de la curva de calibración
m	Pendiente de la curva de calibración
Área	Área
Rep m	Repetibilidad de la pendiente
Rep b	Repetibilidad del intercepto b
Cal	Calibración
Temp	Temperatura

Aju	Ajuste de la curva de calibración
g muestr	Cantidad de muestra analizada en gramos
g0	Lectura en la balanza al medir el peso del contenedor de la muestra
g1	Lectura en la balanza al medir la cantidad de muestra con el contenedor

La ecuación general para estimar la incertidumbre del resultado a reportar S_c , es:

$$S_c = C \sqrt{\left(\frac{S_{cal}}{C_{cal}}\right)^2 + \left(\frac{S_{Rep}}{F_{Rep}}\right)^2 + \left(\frac{SP}{P}\right)^2 + \left(\frac{SV}{V}\right)^2 + \left(\frac{Sg}{g}\right)^2 + \left(\frac{S_{Rec}}{Rec}\right)^2}$$

CUANTIFICACIÓN DE LAS FUENTES DE INCERTIDUMBRE

Incertidumbre estándar de la recuperación = Desviación estándar de la media de las recuperaciones

Incertidumbre estándar de la Repetibilidad = Desviación estándar relativa de las concentraciones encontradas en las muestras fortificadas.

Incertidumbre estándar de la pureza o concentración del estándar analítico: Viene especificada en el respectivo certificado

Incertidumbre estándar del Volumen V: Se tomarán en cuenta la incertidumbre por uso del instrumento a una temperatura diferente al de la calibración, y la incertidumbre por calibración reportada por el fabricante, la cual se considera con distribución triangular.

Criterios de aceptación Recuperación, El máximo valor de incertidumbre aceptado será 20%.

8.06 Limite de cuantificación (LCM)

El límite de cuantificación se calculará a partir de los datos experimentales del primer nivel de concentración utilizado para precisión. Para obtener el límite se multiplicará por 10 la desviación estándar de los datos experimentales.

8.07 Límite de Detección del Método (LDM)

El límite de detección se calculará a partir de los datos experimentales del primer nivel de concentración utilizado para precisión. Para obtener el límite se multiplicará por 3 la desviación estándar de los datos experimentales.

9. Frecuencia de la Verificación o Validación

Cada vez que se haga una ampliación o modificación significativa del método.

10. Registros

Informe de Validación del Método Espectrofotométrico para la cuantificación de Nitritos en Productos cárnicos.

11. Referencias

- 11.1 AOAC. 973.31, Cap. 39, 19th edition 1996
- 11.2 Eurachem, Quantifying uncertainty in analytical measurement.
- 11.3 Procedimiento de Validación de Métodos analíticos, Laboratorio de Control de Calidad de Alimentos y Toxicología
- 11.4 OSA. Sistema de gestión de calidad G 9.6 Validación de métodos analíticos fisicoquímicos
- 11.5 Reglamento Técnico Centroamericano “Alimentos y Bebidas Procesadas. Aditivos Alimentarios.” (RTCA 67.04.54:18).
- 11.6 Instrucción Técnica de Preparación de Reactivos.

12. Responsables de la validación: _____

4.1.3 Discusión de resultados de la elaboración de los protocolos de validación

La creación de los dos protocolos de validación han sido un componente esencial, contribuyendo

de manera significativa para llevar a cabo la evaluación de la calidad de los métodos empleados. Dichos protocolos proporcionaron una guía estructurada para llevar a cabo las pruebas exhaustivas de linealidad, exactitud, precisión, límite de detección, límite de cuantificación e incertidumbre, mostrando las especificaciones de cada uno de los parámetros. Es decir, estos documentos comprenden el primer paso para llevar a cabo una validación, ya que sin el desarrollo de estos no fuera posible. Además, la disponibilidad de estos protocolos puede facilitar la adopción y adaptación de las metodologías por parte del personal del laboratorio en futuras validaciones.

4.2 VALIDACIÓN DEL MÉTODO TITRIMÉTRICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DEL YODO EN SAL

La validación es la actividad indispensable realizada luego de la elaboración del protocolo de validación, con ella se busca evidenciar que el método titrimétrico satisface todos los requisitos y parámetros expuestos inicialmente en su protocolo. A continuación se exponen de manera general como se llevó a cabo la validación del método titrimétrico para la cuantificación de yodo en sal.

Como primer paso para realizar la titulación de yodo en sal, se realizó la preparación de la solución estándar de tiosulfato de sodio 0.005 N, ácido orto-fosfórico 85%, almidón soluble 0.6% y yoduro de potasio 10%.

Seguido de esto se pesó una muestra de 50.0 gramos de sal homogeneizada previamente, se disolvió en agua destilada en un Beaker con la ayuda del agitador magnético y se siguió un esquema de dilución (Ver Anexo N°1); teniendo lista la muestra se neutralizó agregando ácido orto-fosfórico, luego yoduro de potasio al 10% (desarrollando un color amarillo) y por último almidón al 0.6% como indicador (desarrolla un color azul). Se tituló la muestra de sal con la solución estándar de tiosulfato de sodio, añadiéndola gradualmente mientras se agitaba constantemente hasta que el indicador cambió de color.

Posteriormente se calculó la cantidad de yodo presente en la muestra de sal basándose en el volumen de la solución de tiosulfato de sodio utilizado y su concentración conocida.

Una vez realizado este proceso, se replicó las veces necesarias fortificando las muestras para poder obtener los datos de cada uno de los parámetros planteados en el protocolo de validación.

4.2.1 Discusión de resultados de la validación del método titrimétrico para la cuantificación de yodo en sal

El método titrimétrico para cuantificar yodo en sal se basó en una reacción química entre el yodo presente en la muestra de sal y la solución estándar de tiosulfato de sodio, que juntos forman al ion yoduro, por lo que la reacción alcanza un punto final cuando todo el yodo ha reaccionado y el exceso de tiosulfato de sodio es equivalente al yodo presente en la muestra.

El punto final se evidenció gracias al almidón que actúa como indicador formando un complejo azul con el yodo, por lo que, cuando hay una adición adicional de tiosulfato de sodio el color azul del complejo almidón-yodo desaparece, indicando que el yodo de la muestra que antes era “visible” reaccionó en su totalidad.

Por lo tanto, la titulación de yodo en sal presentó ser un procedimiento asequible y eficaz para poder determinar la cantidad de yodo presente en las muestras de sal, lo cual es crucial para garantizar la calidad y seguridad de este producto alimenticio.

4.3 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE NITRITOS EN PRODUCTOS CÁRNICOS

Luego de realizar el protocolo de validación correspondiente al método espectrofotométrico, se realizó la validación de la siguiente forma.

En primer lugar se seleccionan las muestras a utilizar, ya que según indica la guía de validación de métodos analíticos fisicoquímicos de la OSA, la validación se aplica en al menos el 50% del total de las subcategorías y de cada una de ellas 2 tipos de alimentos (teniendo un total 8 muestras).

Luego se realizó la preparación de la solución madre de nitritos 100 mg/L, solución de alfa naftiletilendiamina y solución de sulfanilamida. Seguido de esto se pesa la muestra que previamente fue cortada homogéneamente y se colocan en un baño de vapor por 2 horas.

Se trató una alícuota de la muestra añadiéndole agua, 2.5 mL de Sulfanilamida y 2.5 mL de alfa naftiletilendiamina, dejando reposar 5 y 15 minutos respectivamente (Ver Anexo N°2). Y por último se leyó la muestra junto con un blanco y un estándar en el espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 540 nm.

Una vez realizado este proceso, se replicó las veces necesarias fortificando las muestras para poder obtener los datos de cada uno de los parámetros planteados en el protocolo de validación.

4.3.1 Discusión de resultados de la validación del método espectrofotométrico para la cuantificación de nitritos en productos cárnicos

El método espectrofotométrico para la cuantificación de nitritos en productos cárnicos se basó en la cuantificación de nitritos al agregar solución de sulfanilamida y solución de alfa naftiletilendiamina para desarrollar una coloración rosada violácea con la cual permite leer la concentración de nitrito de sodio presente en la muestra en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm.

Cuando los reactivos son añadidos, se forman compuestos coloridos capaces de absorber luz en la longitud de onda específica dentro del rango UV-Vis. Esto es posible ya que el espectrofotómetro UV-Vis utiliza una fuente de luz de amplio espectro para irradiar la muestra; cuando la luz pasa a través de la muestra, parte de ella es absorbida por los compuestos coloridos formados por los nitritos. La cantidad de luz absorbida depende de la concentración de los compuestos coloridos, que a su vez está relacionada con la concentración de nitritos en la muestra.

El dato de las concentraciones obtenidas de cada muestra se obtiene en el programa del equipo, cuanto mayor sea la absorbancia medida, mayor será la concentración de nitritos en la muestra, y viceversa.

4.4 RESUMEN DE LOS RESULTADOS DE VALIDACIÓN

4.4.1 Resumen de los resultados de la Validación de yodo en sal

Tabla N°6. Cuadro resumen de los resultados para la Sal refinada

PARÁMETRO EVALUADO	LÍMITE ESTABLECIDO	RESULTADO OBTENIDO	OBSERVACIÓN
Linealidad Intervalo Lineal <ul style="list-style-type: none"> - Residuales - Intervalo del intercepto 	Aleatorios Debe contener el valor cero	Aleatorios Contiene el valor cero	Cumple Cumple

Continuación de Tabla N°6

Intervalo de Trabajo			
- Coeficiente de determinación	≥ 0.98	0.9998	Cumple
- Residuales	Aleatorios	Aleatorios	Cumple
- Intervalo de la pendiente	Debe contener el valor uno	Contiene el valor uno	Cumple
- Límite inferior del intervalo	LCM	2.4433 mg/Kg	
- Límite superior del intervalo	Concentración a Máxima Abs	102.5287 mg/Kg	
Recuperación, Exactitud (tanto por uno)			
Nivel 1 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 1 Analista 2	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 2 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 2 Analista 2	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 3 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 3 Analista 2	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Precisión intermedia como CV			
Nivel 1	$\leq 20\%$	5.85	Cumple
Nivel 2	$\leq 20\%$	2.19	Cumple
Nivel 3	$\leq 20\%$	0.86	Cumple
Repetibilidad como CV			
Analista 1 Nivel 1	$\leq 20\%$	1.06	Cumple
Nivel 2	$\leq 20\%$	0.36	Cumple
Nivel 3	$\leq 20\%$	0.22	Cumple
Analista 2 Nivel 1	$\leq 20\%$	0.44	Cumple
Nivel 2	$\leq 20\%$	1.02	Cumple
Nivel 3	$\leq 20\%$	0.43	Cumple
Incertidumbre del resultado a reportar	$\leq 30\%$	Todos los valores \geq LCM Tienen Incert. $\leq 30\%$	Cumple

Continuación de Tabla N°6

Lim. de Detección del Método (LDM)	< = 10 mg/L	0.7330 mg/Kg	Cumple
Lim. de Cuantificac. del método (LCM)	< = 30 mg/L	2.4433 mg/Kg	Cumple

Tabla N°7. Cuadro resumen de los resultados para la Sal de mesa

PARÁMETRO EVALUADO	LÍMITE ESTABLECIDO	RESULTADO OBTENIDO	OBSERVACIÓN
Linealidad			
Intervalo Lineal			
- Residuales	Aleatorios	Aleatorios	Cumple
- Intervalo del intercepto	Debe contener el valor cero	Contiene el valor cero	Cumple
Intervalo de Trabajo			
- Coeficiente de determinación	> = 0.98	0.9997	Cumple
- Residuales	Aleatorios	Aleatorios	Cumple
- Intervalo de la pendiente	Debe contener el valor uno	Contiene el valor uno	Cumple
- Límite inferior del intervalo	LCM	4.9987 mg/Kg	
- Límite superior del intervalo	Concentración a Máxima Abs	102.1298 mg/Kg	
Recuperación, Exactitud (tanto por uno)			
Nivel 1 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 1 Analista 2	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 2 Analista 1	0.8 a 1.2	0.9 1.0	Cumple
Nivel 2 Analista 2	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 3 Analista 1	0.8 a 1.2	0.9 0.9	Cumple
Nivel 3 Analista 2	0.8 a 1.2	0.9 1.0	Cumple

Continuación de Tabla N°7

Precisión intermedia como CV				
Nivel 1	< = 20%	6.27	Cumple	
Nivel 2	< = 20%	1.04	Cumple	
Nivel 3	< = 20%	1.89	Cumple	
Repetibilidad como CV				
Analista 1	Nivel 1	< = 20%	2.11	Cumple
	Nivel 2	< = 20%	0.50	Cumple
	Nivel 3	< = 20%	0.31	Cumple
Analista 2	Nivel 1	< = 20%	2.15	Cumple
	Nivel 2	< = 20%	0.31	Cumple
	Nivel 3	< = 20%	0.34	Cumple
Incertidumbre del resultado a reportar	< = 30%	Todos los valores >= LCM Tienen Incert. <=30%	Cumple	
Lim. de Detección del Método (LDM)	< = 10 mg/L	1.4996 mg/Kg	Cumple	
Lim. de Cuantificac. del método (LCM)	< = 30 mg/L	4.9987 mg/Kg	Cumple	

4.4.2 Resumen de los resultados de la Validación de nitritos en productos cárnicos

Tabla N°8. Cuadro resumen de los resultados para la Muestra 1

PARÁMETRO EVALUADO	LÍMITE ESTABLECIDO	RESULTADO OBTENIDO	OBSERVACIÓN
Linealidad			
Intervalo Lineal			
- Residuales	Aleatorios	Aleatorios	Cumple
- Intervalo del intercepto	Debe contener el valor cero	Contiene el valor cero	Cumple
Intervalo de Trabajo			
- Coeficiente de determinación	> = 0.98	0.9998	Cumple

Continuación de Tabla N°8

- Residuales	Aleatorios	Aleatorios	Cumple
- Intervalo de la pendiente	Debe contener el	Contiene el valor	Cumple
- Límite inferior del intervalo	valor uno	uno	
- Límite superior del intervalo	LCM	0.0145 mg/Kg	
	Concentración a	100.6523 mg/Kg	
	Máxima Abs		
Recuperación, Exactitud (tanto por uno)			
Nivel 1 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 1 Analista 2	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 2 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 2 Analista 2	0.8 a 1.2	0.9 1.0	Cumple
Nivel 3 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 3 Analista 2	0.8 a 1.2	0.9 0.9	Cumple
Precisión intermedia como CV			
Nivel 1	<= 20%	0.73	Cumple
Nivel 2	<= 20%	8.51	Cumple
Nivel 3	<= 20%	10.72	Cumple
Repetibilidad como CV			
Analista 1 Nivel 1	<= 20%	0.32	Cumple
Nivel 2	<= 20%	0.23	Cumple
Nivel 3	<= 20%	0.03	Cumple
Analista 2 Nivel 1	<= 20%	0.28	Cumple
Nivel 2	<= 20%	0.14	Cumple
Nivel 3	<= 20%	0.10	Cumple
Incertidumbre del resultado a reportar	<= 30%	Todos los valores >= LCM Tienen Incert. <=30%	Cumple
Lim. de Detección del Método (LDM)	<= 10 mg/L	0.0044 mg/Kg	Cumple
Lim. de Cuantificac. del método (LCM)	<= 30 mg/L	0.0145 mg/Kg	Cumple

Tabla N°9. Cuadro resumen de los resultados para la Muestra 2

PARÁMETRO EVALUADO	LÍMITE ESTABLECIDO	RESULTADO OBTENIDO	OBSERVACIÓN
Linealidad			
Intervalo Lineal			
- Residuales	Aleatorios	Aleatorios	Cumple
- Intervalo del intercepto	Debe contener el valor cero	Contiene el valor cero	Cumple
Intervalo de Trabajo			
- Coeficiente de determinación	≥ 0.98	0.9994	Cumple
- Residuales	Aleatorios	Aleatorios	Cumple
- Intervalo de la pendiente	Debe contener el valor uno	Contiene el valor uno	Cumple
- Límite inferior del intervalo	LCM	0.0558 mg/Kg	
- Límite superior del intervalo	Concentración a Máxima Abs	100.6523 mg/Kg	
Recuperación, Exactitud (tanto por uno)			
Nivel 1 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 1 Analista 2	0.8 a 1.2	0.9 1.0	Cumple
Nivel 2 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 2 Analista 2	0.8 a 1.2	0.9 0.9	Cumple
Nivel 3 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 3 Analista 2	0.8 a 1.2	0.9 0.9	Cumple
Precisión intermedia como CV			
Nivel 1	$\leq 20\%$	8.97	Cumple
Nivel 2	$\leq 20\%$	6.56	Cumple
Nivel 3	$\leq 20\%$	5.18	Cumple
Repetibilidad como CV			
Analista 1 Nivel 1	$\leq 20\%$	0.34	Cumple
Nivel 2	$\leq 20\%$	0.36	Cumple
Nivel 3	$\leq 20\%$	0.10	Cumple
Analista 2 Nivel 1	$\leq 20\%$	0.32	Cumple

Continuación de Tabla N°9

Nivel 2	< = 20%	0.28	Cumple
Nivel 3	< = 20%	0.11	Cumple
Incertidumbre del resultado a reportar	< = 30%	Todos los valores >= LCM Tienen Incert. <=30%	Cumple
Lim. de Detección del Método (LDM)	< = 10 mg/L	0.0167 mg/Kg	Cumple
Lim. de Cuantificac. del método (LCM)	< = 30 mg/L	0.0558 mg/Kg	Cumple

Tabla N°10. Cuadro resumen de los resultados para la Muestra 3

PARÁMETRO EVALUADO	LÍMITE ESTABLECIDO	RESULTADO OBTENIDO	OBSERVACIÓN
Linealidad			
Intervalo Lineal			
- Residuales	Aleatorios	Aleatorios	Cumple
- Intervalo del intercepto	Debe contener el valor cero	Contiene el valor cero	Cumple
Intervalo de Trabajo			
- Coeficiente de determinación	> = 0.98	0.9999	Cumple
- Residuales	Aleatorios	Aleatorios	Cumple
- Intervalo de la pendiente	Debe contener el valor uno	Contiene el valor uno	Cumple
- Límite inferior del intervalo	LCM	0.0846 mg/Kg	
- Límite superior del intervalo	Concentración a Máxima Abs	100.6523 mg/Kg	
Recuperación, Exactitud (tanto por uno)			
Nivel 1 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 1 Analista 2	0.8 a 1.2	0.9 1.0	Cumple

Continuación de Tabla N°10

Nivel 2 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple	
Nivel 2 Analista 2	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple	
Nivel 3 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple	
Nivel 3 Analista 2	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple	
Precisión intermedia como CV				
Nivel 1	< = 20%	13.59	Cumple	
Nivel 2	< = 20%	6.54	Cumple	
Nivel 3	< = 20%	4.44	Cumple	
Repetibilidad como CV				
Analista 1	Nivel 1	< = 20%	0.37	Cumple
	Nivel 2	< = 20%	0.18	Cumple
	Nivel 3	< = 20%	0.20	Cumple
Analista 2	Nivel 1	< = 20%	0.57	Cumple
	Nivel 2	< = 20%	0.14	Cumple
	Nivel 3	< = 20%	0.09	Cumple
Incertidumbre del resultado a reportar	< = 30%	Todos los valores >= LCM Tienen Incert. <=30%	Cumple	
Lim. de Detección del Método (LDM)	< = 10 mg/L	0.0254 mg/Kg	Cumple	
Lim. de Cuantificac. del método (LCM)	< = 30 mg/L	0.0846 mg/Kg	Cumple	

Tabla N°11. Cuadro resumen de los resultados para la Muestra 4

PARÁMETRO EVALUADO	LÍMITE ESTABLECIDO	RESULTADO OBTENIDO	OBSERVACIÓN
Linealidad			
Intervalo Lineal			
- Residuales	Aleatorios	Aleatorios	Cumple
- Intervalo del intercepto	Debe contener el valor cero	Contiene el valor cero	Cumple

Continuación de Tabla N°11

Intervalo de Trabajo - Coeficiente de determinación - Residuales - Intervalo de la pendiente - Límite inferior del intervalo - Límite superior del intervalo	≥ 0.98 Aleatorios Debe contener el valor uno LCM Concentración a Máxima Abs	0.9997 Aleatorios Contiene el valor uno 0.0367 mg/Kg 100.6523 mg/Kg	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	0.8 a 1.2 0.8 a 1.2 0.8 a 1.2 0.8 a 1.2 0.8 a 1.2 0.8 a 1.2	1.1 1.1 1.0 1.0 1.0 1.0 1.0 1.0 1.0 1.0 1.0 1.0	Cumple Cumple Cumple Cumple Cumple Cumple
Precisión intermedia como CV Nivel 1 Nivel 2 Nivel 3	$\leq 20\%$ $\leq 20\%$ $\leq 20\%$	5.48 2.72 0.45	Cumple Cumple Cumple
Repetibilidad como CV Analista 1 Nivel 1 Nivel 2 Nivel 3 Analista 2 Nivel 1 Nivel 2 Nivel 3	$\leq 20\%$ $\leq 20\%$ $\leq 20\%$ $\leq 20\%$ $\leq 20\%$ $\leq 20\%$	0.24 0.06 0.19 0.17 0.11 0.02	Cumple Cumple Cumple Cumple Cumple Cumple
Incertidumbre del resultado a reportar	$\leq 30\%$	Todos los valores \geq LCM Tienen Incert. $\leq 30\%$	Cumple

Continuación de Tabla N°11

Lim. de Detección del Método (LDM)	< = 10 mg/L	0.0110 mg/Kg	Cumple
Lim. de Cuantificac. del método (LCM)	< = 30 mg/L	0.0367 mg/Kg	Cumple

Tabla N°12. Cuadro resumen de los resultados para la Muestra 5

PARÁMETRO EVALUADO	LÍMITE ESTABLECIDO	RESULTADO OBTENIDO	OBSERVACIÓN
Linealidad			
Intervalo Lineal			
- Residuales	Aleatorios	Aleatorios	Cumple
- Intervalo del intercepto	Debe contener el valor cero	Contiene el valor cero	Cumple
Intervalo de Trabajo			
- Coeficiente de determinación	> = 0.98	1.0000	Cumple
- Residuales	Aleatorios	Aleatorios	Cumple
- Intervalo de la pendiente	Debe contener el valor uno	Contiene el valor uno	Cumple
- Límite inferior del intervalo	LCM	0.0785 mg/Kg	
- Límite superior del intervalo	Concentración a Máxima Abs	100.6523 mg/Kg	
Recuperación, Exactitud (tanto por uno)			
Nivel 1 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 1 Analista 2	0.8 a 1.2	0.9 0.9	Cumple
Nivel 2 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 2 Analista 2	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 3 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 3 Analista 2	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Precisión intermedia como CV			
Nivel 1	< = 20%	11.50	Cumple

Continuación de Tabla N°12

Nivel 2	< = 20%	1.32	Cumple	
Nivel 3	< = 20%	1.32	Cumple	
Repetibilidad como CV				
Analista 1	Nivel 1	< = 20%	0.25	Cumple
	Nivel 2	< = 20%	0.09	Cumple
	Nivel 3	< = 20%	0.09	Cumple
Analista 2	Nivel 1	< = 20%	0.13	Cumple
	Nivel 2	< = 20%	0.20	Cumple
	Nivel 3	< = 20%	0.07	Cumple
Incertidumbre del resultado a reportar	< = 30%	Todos los valores >= LCM Tienen Incert. <=30%	Cumple	
Lim. de Detección del Método (LDM)	< = 10 mg/L	0.0235 mg/Kg	Cumple	
Lim. de Cuantificac. del método (LCM)	< = 30 mg/L	0.0785 mg/Kg	Cumple	

Tabla N°13. Cuadro resumen de los resultados para la Muestra 6

PARÁMETRO EVALUADO	LÍMITE ESTABLECIDO	RESULTADO OBTENIDO	OBSERVACIÓN
Linealidad			
Intervalo Lineal			
- Residuales	Aleatorios	Aleatorios	Cumple
- Intervalo del intercepto	Debe contener el valor cero	Contiene el valor cero	Cumple
Intervalo de Trabajo			
- Coeficiente de determinación	> = 0.98	0.9999	Cumple
- Residuales	Aleatorios	Aleatorios	Cumple
- Intervalo de la pendiente	Debe contener el valor uno	Contiene el valor uno	Cumple

Continuación de Tabla N°13

- Límite inferior del intervalo	LCM	0.0676 mg/Kg	
- Límite superior del intervalo	Concentración a Máxima Abs	100.6523 mg/Kg	
Recuperación, Exactitud (tanto por uno)			
Nivel 1 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 1 Analista 2	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 2 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 2 Analista 2	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 3 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 3 Analista 2	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Precisión intermedia como CV			
Nivel 1	< = 20%	6.26	Cumple
Nivel 2	< = 20%	1.75	Cumple
Nivel 3	< = 20%	3.04	Cumple
Repetibilidad como CV			
Analista 1 Nivel 1	< = 20%	0.13	Cumple
Nivel 2	< = 20%	0.07	Cumple
Nivel 3	< = 20%	0.09	Cumple
Analista 2 Nivel 1	< = 20%	0.06	Cumple
Nivel 2	< = 20%	0.06	Cumple
Nivel 3	< = 20%	0.04	Cumple
Incertidumbre del resultado a reportar	< = 30%	Todos los valores >= LCM Tienen Incert. <=30%	Cumple
Lim. de Detección del Método (LDM)	< = 10 mg/L	0.0203 mg/Kg	Cumple
Lim. de Cuantificac. del método (LCM)	< = 30 mg/L	0.0676 mg/Kg	Cumple

Tabla N°14. Cuadro resumen de los resultados para la Muestra 7

PARÁMETRO EVALUADO	LÍMITE ESTABLECIDO	RESULTADO OBTENIDO	OBSERVACIÓN
Linealidad			
Intervalo Lineal			
- Residuales	Aleatorios	Aleatorios	Cumple
- Intervalo del intercepto	Debe contener el valor cero	Contiene el valor cero	Cumple
Intervalo de Trabajo			
- Coeficiente de determinación	≥ 0.98	0.9982	Cumple
- Residuales	Aleatorios	Aleatorios	Cumple
- Intervalo de la pendiente	Debe contener el valor uno	Contiene el valor uno	Cumple
- Límite inferior del intervalo	LCM	0.0793 mg/Kg	
- Límite superior del intervalo	Concentración a Máxima Abs	100.6523 mg/Kg	
Recuperación, Exactitud (tanto por uno)			
Nivel 1 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.1	Cumple
Nivel 1 Analista 2	0.8 a 1.2	1.1 1.1	Cumple
Nivel 2 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 2 Analista 2	0.8 a 1.2	1.1 1.1	Cumple
Nivel 3 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 3 Analista 2	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Precisión intermedia como CV			
Nivel 1	$\leq 20\%$	10.51	Cumple
Nivel 2	$\leq 20\%$	9.88	Cumple
Nivel 3	$\leq 20\%$	0.63	Cumple
Repetibilidad como CV			
Analista 1 Nivel 1	$\leq 20\%$	0.75	Cumple
Nivel 2	$\leq 20\%$	0.06	Cumple
Nivel 3	$\leq 20\%$	0.05	Cumple

Continuación de Tabla N°14

Analista 2	Nivel 1	$\leq 20\%$	0.35	Cumple
	Nivel 2	$\leq 20\%$	0.03	Cumple
	Nivel 3	$\leq 20\%$	0.10	Cumple
Incertidumbre del resultado a reportar		$\leq 30\%$	Todos los valores \geq LCM Tienen Incert. $\leq 30\%$	Cumple
Lim. de Detección del Método (LDM)		≤ 10 mg/L	0.0238 mg/Kg	Cumple
Lim. de Cuantificac. del método (LCM)		≤ 30 mg/L	0.0793 mg/Kg	Cumple

Tabla N°15. Cuadro resumen de los resultados para la Muestra 8

PARÁMETRO EVALUADO	LÍMITE ESTABLECIDO	RESULTADO OBTENIDO	OBSERVACIÓN
Linealidad			
Intervalo Lineal			
- Residuales	Aleatorios	Aleatorios	Cumple
- Intervalo del intercepto	Debe contener el valor cero	Contiene el valor cero	Cumple
Intervalo de Trabajo			
- Coeficiente de determinación	≥ 0.98	0.9999	Cumple
- Residuales	Aleatorios	Aleatorios	Cumple
- Intervalo de la pendiente	Debe contener el valor uno	Contiene el valor uno	Cumple
- Límite inferior del intervalo	LCM	0.0557 mg/Kg	
- Límite superior del intervalo	Concentración a Máxima Abs	100.6523 mg/Kg	

Continuación de Tabla N°15

Recuperación, Exactitud (tanto por uno)			
Nivel 1 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 1 Analista 2	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 2 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 2 Analista 2	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 3 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Nivel 3 Analista 2	0.8 a 1.2	1.0 1.0	Cumple
Precisión intermedia como CV			
Nivel 1	< = 20%	8.46	Cumple
Nivel 2	< = 20%	2.62	Cumple
Nivel 3	< = 20%	1.76	Cumple
Repetibilidad como CV			
Analista 1 Nivel 1	< = 20%	0.15	Cumple
Nivel 2	< = 20%	0.07	Cumple
Nivel 3	< = 20%	0.08	Cumple
Analista 2 Nivel 1	< = 20%	0.15	Cumple
Nivel 2	< = 20%	0.04	Cumple
Nivel 3	< = 20%	0.11	Cumple
Incertidumbre del resultado a reportar	< = 30%	Todos los valores >= LCM Tienen Incert. <=30%	Cumple
Lim. de Detección del Método (LDM)	< = 10 mg/L	0.0167 mg/Kg	Cumple
Lim. de Cuantificac. del método (LCM)	< = 30 mg/L	0.0557 mg/Kg	Cumple

4.4.3 Discusión de resultados de los resúmenes de los resultados de las validaciones

Respecto a las validaciones realizadas, todas las muestras sin importar si eran de sal yodada o de productos cárnicos, cumplieron con los requisitos de todos los parámetros. En primer lugar la linealidad, los intervalos de trabajo proporcionaron una incertidumbre aceptable y el “r” fue mayor

o igual a 0.98 para todas las matrices; el intervalo lineal demostró que en ambos métodos los resultados son directamente proporcionales a la concentración del analito en el intervalo de las curva de calibración diseñadas para cada uno, es decir que se obtuvieron comportamientos lineales en las gráficas de concentración vs respuesta analítica.

La exactitud, evaluada mediante comparaciones con estándares certificados, validó la capacidad de los métodos titrimétrico y espectrofotométrico para proporcionar resultados cercanos a los valores de referencia.

Mediante la repetibilidad y la precisión intermedia se evaluó la precisión de los métodos, cuyos resultados obtenidos ya sea por el mismo analista o por dos, se demostró que hay consistencia en las mediciones y que se tiene la capacidad de replicar resultados de manera confiable.

Los límites de detección y cuantificación han sido esenciales para evaluar y garantizar la sensibilidad y fiabilidad de los métodos analíticos, pues proporcionan una evaluación de la capacidad de los métodos de detectar trazas mínimas y cuantificar concentraciones prácticas de analitos.

Y por último, durante la validación del método se obtuvo la mayor parte de la información requerida para evaluar la incertidumbre, y aun teniendo en cuenta todos los efectos asociados con la realización de la validación, no fueron significativos como para afectar ningún resultado.

CAPÍTULO V

5.0 CONCLUSIONES

1. Las Prácticas Profesionales Supervisadas fueron una etapa fundamental en mi proceso de formación, durante ese periodo de tiempo tuve la oportunidad de aplicar a entornos reales los conocimientos teóricos adquiridos en la universidad; así como desarrollar habilidades prácticas que serán esenciales para mi futuro desempeño profesional.
2. La realización de los dos protocolos ha permitido identificar y establecer de manera precisa los parámetros analíticos óptimos para cada método, incluyendo la linealidad, exactitud, precisión, límite de detección, límite de cuantificación y la incertidumbre. Por lo tanto, estos protocolos proporcionan directrices para aplicaciones analíticas en sal y productos cárnicos y contribuyen a la estandarización de procesos.
3. La exitosa validación del método titrimétrico y espectrofotométrico demuestran su confiabilidad en la cuantificación de yodo en sal y de nitritos en productos cárnicos, respectivamente. Esta confirmación fortalece la confianza en la utilización de estas técnicas en el Laboratorio de Alimentos y Toxicología del Instituto Nacional de Salud.
4. La validación de estos métodos no solo tiene implicaciones para la calidad de los productos alimentarios, sino que también se traduce en beneficios directos para la salud pública; pues garantizar la presencia adecuada de yodo en sal ayuda a prevenir deficiencias nutricionales; y la adición controlada de nitritos en productos cárnicos minimiza los riesgos asociados al consumo de estos compuestos, fortaleciendo la salud de los consumidores.
5. La aplicabilidad de estos métodos en diversas matrices alimentarias de la misma categoría, confirma la capacidad de garantizar la precisión y exactitud en la cuantificación de yodo y nitritos, independientemente de la composición, características o complejidad de la muestra de sal yodada y de producto cárnico.

CAPÍTULO VI

6.0 RECOMENDACIONES

1. Al laboratorio de Alimentos y Toxicología, establecer un programa de monitoreo continuo para evaluar la precisión de los métodos titrimétrico y espectrofotométrico en el tiempo, para identificar las posibles desviaciones o cambios en las condiciones analíticas, logrando consistencia y confiabilidad de los métodos a lo largo del tiempo y en diversas condiciones de laboratorio, por medio de ajustes y mejoras si es necesario.
2. Al Instituto Nacional de Salud, compartir activamente los resultados de las validaciones con los demás laboratorios que este posea a su cargo, para fomentar el desarrollo y validación de métodos que contribuyan al control de la calidad de los productos que se comercialicen en El Salvador.
3. A la Facultad de Química y Farmacia, utilizar los trabajos de graduación de sus alumnos como un recurso didáctico, como base para discusiones o prácticas de laboratorio de diversas materias, o incluso, como inspiración para futuros proyectos de investigación. De esta manera, se valoraría el esfuerzo de los estudiantes y enriquecería el proceso de enseñanza y aprendizaje.
4. A la Dirección de Procesos de Grado, mantener un activa comunicación con sus estudiantes egresados, para estar al tanto del avance o retroceso que ellos pueden presentar, así como estar sabedores de las dificultades que se pueden tener en el camino.
5. A los analistas que den validar alguno de estos métodos analíticos, ampliar el alcance que pueda tener aumentando el número de matrices para validar, utilizando aquellas que no se mostraron en este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nuevas directrices de la Organización Mundial de la Salud sobre fortificación de alimentos y su impacto en la salud pública [Internet]. Alanrevista.org. [citado el 11 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://www.alanrevista.org/ediciones/2015/suplemento-1/art-168/>
2. Reglamento Técnico Salvadoreño “Fortificación de Alimentos. Especificaciones. (Azúcar, sal, harina de maíz nixtamalizado y pastas alimenticias)” (RTS 67.06.01:13)
3. Trastornos por carencia de yodo [Internet]. Fao.org. [citado el 11 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://www.fao.org/3/W0073S/w0073s0i.htm>
4. Yodo [Internet]. Nih.gov. [citado el 9 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Iodine-DatosEnEspanol/>
5. Segurondo Loza R, Lina Trigo OM, Céspedes Valeros L. Vigilancia de nitritos y nitratos presentes en salchichas expandidas en los mercados: Rodríguez y Villa Fátima de la ciudad de La Paz. RevCsFarm y Bioq [Internet]. 2020 [citado el 21 de noviembre de 2023];8(1):67–78. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2310-02652020000100006
6. Villamil-Galindo E, Piagentini AM. El uso de Nitratos y Nitritos en la Industria cárnica, lo bueno, lo malo y el modelado matemático para optimizar su uso. Una revisión [Internet]. Gov.ar. [citado el 21 de noviembre de 2023]. Disponible en: https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/167327/CONICET_Digital_Nro.b483f76d-e8f0-4854-b1f6-2896ea81f076_B.pdf?sequence=2&isAllowed=y
7. Londoño Pereira M, Gómez Ramírez BD. Nitratos y nitritos, la doble cara de la moneda. Rev Nutr Clin Metab [Internet]. 2021;4(1):110–9. Disponible en: https://revistanutricionclinicametabolismo.org/public/site/202_Revision_Londono.pdf
8. Reglamento Técnico Centroamericano “Alimentos y Bebidas Procesadas. Aditivos Alimentarios.” (RTCA 67.04.54:18) NORMA GENERAL PARA LOS ADITIVOS ALIMENTARIOS [Internet]. Fao.org. [citado el 21 de noviembre de 2023]. Disponible

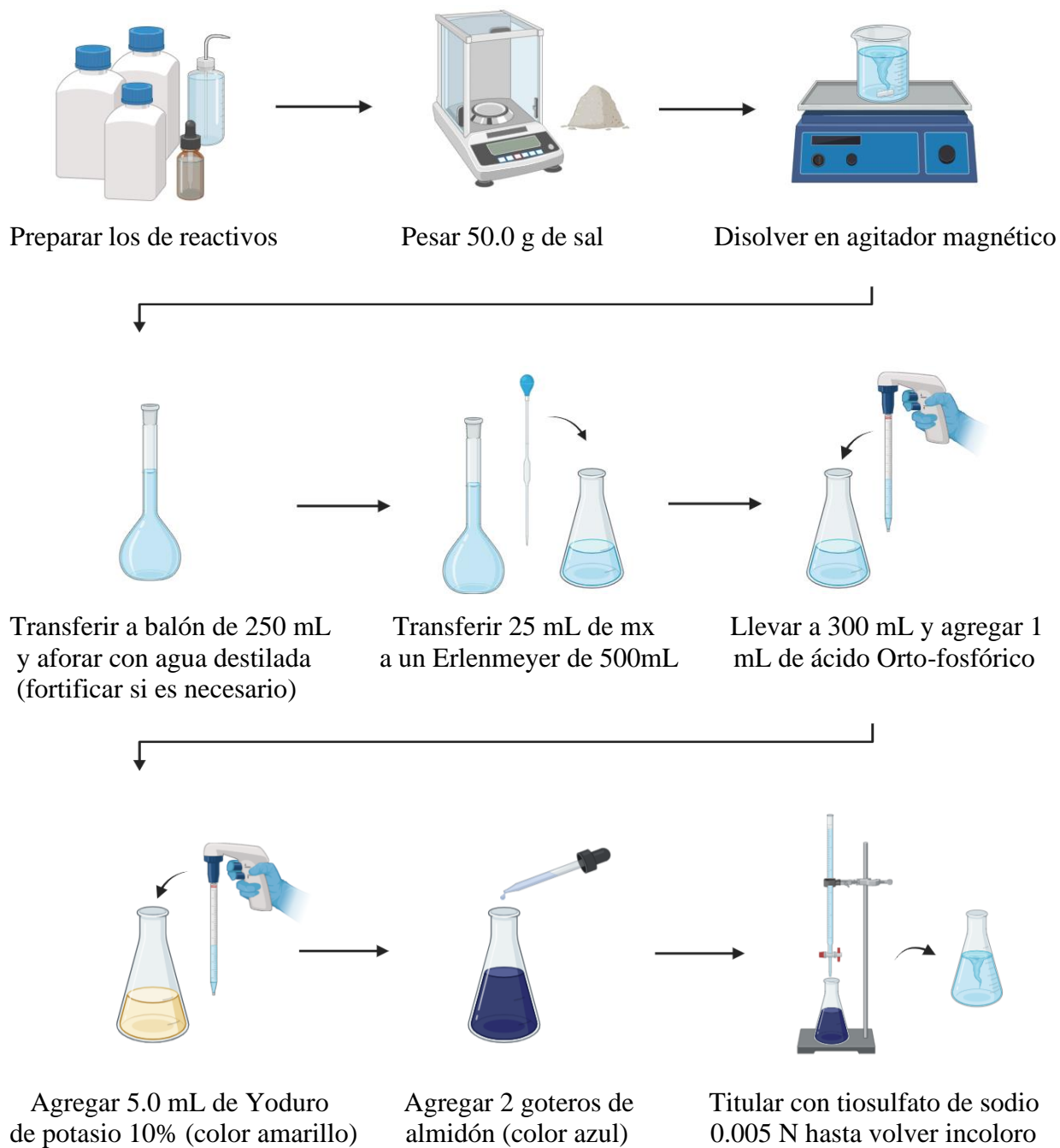
en: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B192-1995%252FCXS_192s.pdf

9. Métodos Analíticos Fisicoquímicos Versión G 9. 6. V. SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD [Internet]. Gob.sv. [citado el 4 de diciembre de 2023]. Disponible en: <https://www.osa.gob.sv/wp-content/uploads/2015/09/GUIA-VALIDACION-FQ-OSA-V2-vigencia-09-10-17.pdf>
10. Del M, González Márquez R, General D, Álvaro J, Aguilar B, Julieth E, et al. INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGÍA DE COLOMBIA [Internet]. Unido.org. [citado el 30 de noviembre de 2023]. Disponible en: https://hub.unido.org/sites/default/files/publications/Validacion-de-metodos-en-analisis-quimico-cuantitativo_compressed.pdf

ANEXOS

ANEXO N°1

PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE YODO EN SAL POR MÉTODO TITRIMÉTRICO. Fuente: Elaboración propia.



ANEXO N°2

PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE NITRITOS EN PRODUCTOS CÁRNICOS POR MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO. Fuente: Elaboración propia.

