

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE CADMIO EN
CHOCOLATE POR ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ÁTOMICA CON
ATOMIZACIÓN ELECTROTÉRMICA

TRABAJO DE GRADO EN MODALIDAD PRÁCTICA PROFESIONAL SUPERVISADA

PRESENTADO POR
TANIA GISELA DAVILA SANTAMARIA

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADA EN QUIMICA Y FARMACIA

MARZO, 2024

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

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 GONZALEZ SOSA

SECRETARIA

LICENCIADA EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCIÓN DE PROCESO DE GRADO

DIRECTORA GENERAL

Maestra Katia Lissette Martínez de Palacios

TRIBUNAL EVALUADOR

ASESOR DE ÁREA DE INDUSTRIA FARMACÉUTICA, COSMÉTICOS, VETERINARIA Y PRODUCTOS AFINES.

Maestro Eliseo Ernesto Ayala Mejía

ASESOR

Licenciado Henry Alfredo Hernández Contreras

TUTOR INTERNO

Maestro Luis David Alonzo Hernández

INSTITUCIÓN COLABORADORA

Instituto Nacional de Salud Laboratorio Nacional de Salud Pública Laboratorio de Alimentos y Toxicología

Licenciada Beatriz María Pérez Rivas

Licenciada Cindy Rebeca Martínez Linares

DEDICATORIAS

Este proyecto lo dedico a mis padres, Obdulio y Silvia, por su amor inquebrantable, apoyo constante y sacrificio incansable, este logro es tanto como suyo como mío. A mi amado David, tú has sido mi compañero, mi confidente y mi inspiración en cada paso de este viaje, tu amor y tu apoyo han sido mi mayor motivación.

A mi querida familia gracias por su paciencia, comprensión y ánimo constante. Su apoyo ha sido fundamental en cada desafío.

A mis maestros sus conocimientos, orientación y dedicación han sido esenciales para mi desarrollo académico. Les agradezco por compartir su sabiduría y ayudarme a crecer.

Mis amigos y compañeros ustedes han sido mi fuente de alegría, consuelo y apoyo inquebrantables. Gracias por estar conmigo durante este emocionante viaje.

Esta dedicatoria representa mi agradecimiento a todos aquellos que han contribuido de manera significativa a mi educación y crecimiento. Su amor y apoyo han hecho realidad este logro.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco en primer lugar a Dios por brindarme fortaleza, y la perseverancia para culminar mis estudios. Sin su guía, nada de esto habría sido posible.

A la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, por proporcionar un entorno de aprendizaje enriquecedor y oportunidades para el crecimiento académico.

A mis asesores Lic. Beatriz Pérez, Lic. Cindy Martínez y M.Sc. Luis Alonzo Hernández, por su orientación en la realización de este proyecto de investigación.

A todas las personas involucradas en la Universidad de El Salvador a los docentes, por su dedicación en la educación y compromiso con el crecimiento académico de los estudiantes.

Este logro es el resultado del apoyo, la guía y el esfuerzo conjunto de todas las personas e instituciones. Gracias por ser parte de mi trayecto académico y por ayudarme a alcanzar este hito en mi vida.

ÍNDICE GENERAL

Pág. N°

CAPITULO I

1.0 INTRODUCCION	13
------------------	----

CAPITULO II

2.0 OBJETIVO

2.1 Objetivo general	16
----------------------	----

2.2 Objetivos específicos	16
---------------------------	----

CAPITULO III

3.0 MARCO TEÓRICO	18
-------------------	----

3.1 Validación del método	18
---------------------------	----

3.1.1 Método	18
--------------	----

3.1.2 Clasificación del método	18
--------------------------------	----

3.1.3 Parámetros a validar para métodos normalizados modificados	19
--	----

3.1.4 Criterios de aceptación	21
-------------------------------	----

3.2 Aspectos generales sobre el cacao	22
---------------------------------------	----

3.2.1 Derivados del cacao	24
---------------------------	----

3.2.2 Productos a base de cacao	24
---------------------------------	----

3.3 Química del cadmio	25
------------------------	----

3.3.1. Efectos sobre la salud humana	26
--------------------------------------	----

3.3.2 Manifestaciones clínicas	27
--------------------------------	----

3.3.3 Manifestaciones clínicas por inhalación	27
---	----

3.3.4 Manifestaciones clínicas por ingestión	28
--	----

3.4 Cadmio en el cacao	28
------------------------	----

3.5 Niveles máximos permisibles	28
---------------------------------	----

3.6 Técnicas analíticas	29
3.6.1 Técnicas de espectrofotométrica de absorción atómica.	29
3.6.2 Componentes de un espectrofotómetro de absorción atómica	30
3.6.3 Digestión por microondas	31
3.6.5 Desventajas de la digestión con microondas	32
3.6.6 Espectroscopia de absorción atómica con horno de grafito	32
CAPITULO IV	
4.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS	35
PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA LA DETERMINACION DE CADMIO EN CHOCOLATE POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA CON ATOMIZACION ELECTROTERMICA	36
RESUMES DE INFORMES DE VALIDACION	47
CAPITULO V	
5.0 CONCLUSIONES	57
CAPITULO VI	
6.0 RECOMENDACIONES	59
BIBLIOGRAFIA	

INDICE DE FIGURAS

Figura N°	Pág. N°
1 Árbol de cacao	22
2 Diferentes tipos de chocolates	24

INDICE DE TABLAS

Tabla N°		Pág. N°
1	Criterios de aceptación de los parámetros	21
2	Parámetros de desempeño con su criterio de aceptación.	37
3	Equipos, instrumentos y materiales utilizados en la validación.	39
4	Reactivos de referencia en la validación.	39
5	Procedimiento para evaluar intervalo lineal.	40
6	Procedimiento para evaluar intervalo de trabajo.	41
7	Procedimiento para evaluar recuperación y exactitud	42
8	Procedimiento para evaluar precisión.	43
9	Procedimiento para evaluar límite de cuantificación	44
10	Procedimiento para evaluar incertidumbre.	44
11	Cuadro resumen muestra S1	48
12	Cuadro resumen muestra S2.	49
13	Cuadro resumen muestra S3	50
14	Cuadro resumen muestra S4.	51
15	Cuadro resumen muestra S5.	52
16	Cuadro resumen muestra S6.	53

ABREVIATURAS, SIGLAS USADAS Y GLOSARIO

ABREVIATURA	REFERENCIA
USP	Farmacopea de los Estados Unidos Americanos
OSA	Organismo Salvadoreño de Acreditación
FEUM	Farmacopea de Estados Unidos Mexicanos
EP	Farmacopea Britanica
BP	Farmacopea Britanica
JP	Farmacopea Japonesa
AOAC	Official Methods of Analysis of AOAC
EPA	Envivoromental Protection Agency
CIPAC	Collaborative International Pesticides Analytical Council
ASTM	American Society for Testing and Materials
ASHTO	American Association of State Highway and Transportation Officials
ISO	International Organization for Standardization
FDA	Food and Drug Administration
LOQ	Límite de Cuantificación
OMS	Organismo Mundial de la Salud
FAAS	Espectrometría de Absorción Atómica de Llama
AAS	Espectrometría de Absorción Atómica
GF-AAS	Espectrometría de Absorción Atómica con Horno de Grafito
HG-AFS	Espectrometría de Fluorescencia Atómica con Generación de Hidruros
DAAM	Digestión por Microondas
DAT	Digestión Acida

RESUMEN

El presente trabajo se centra en la validación de un método confiable para la determinación precisa de cadmio en chocolates, empleando espectrofotometría de absorción atómica con la técnica de horno de grafito. A través del análisis de una variedad de muestras de chocolate, se ha desarrollado un enfoque riguroso que garantiza resultados claros y confiables.

El análisis de cadmio en alimentos es crítico debido a los riesgos para la salud asociados con la ingesta de este metal pesado en cantidades excesivas. La falta de validación del método podría llevar a resultados inexactos, lo que podría tener graves consecuencias para la salud pública. Existen regulaciones y límites establecidos por las autoridades sanitarias en cuanto a los niveles permitidos de cadmio en alimentos. Para garantizar el cumplimiento de estas regulaciones, es necesario utilizar métodos de análisis validados que demuestren su precisión y exactitud.

Se realizó la verificación de los parámetros de desempeño del método analítico para determinar cadmio en chocolates, para lo cual se elaboró un protocolo, se cuantificó el cadmio en diferentes tipos de chocolates. En la validación de este método se realizó, definiendo los parámetros de desempeño: linealidad, precisión, exactitud, límite de cuantificación, límite de detección, obteniendo resultados satisfactorios para la cuantificación de cadmio por espectrometría de absorción atómica en cada uno de los parámetros, mostrando así que el método cumple con los parámetros establecidos.

Como parte de este proyecto se elaboró un resumen de la validación del método en el que se obtuvieron resultados satisfactorios que respaldaron la idoneidad del método. Estos hallazgos respaldan el método para su aplicación en la detección y control de cadmio en chocolates, lo que es esencial para garantizar la seguridad alimentaria y calidad del producto.

La validación exitosa del método para la cuantificación de cadmio en chocolates destaca su utilidad en el monitoreo de niveles de cadmio, respaldando su aplicación en el control de calidad. Este estudio tiene una relevancia significativa para el Laboratorio de Alimentos y Toxicología, donde es fundamental que el proceso de validación de un método analítico se lleve a cabo de manera rigurosa para garantizar la calidad y confiabilidad de los resultados de laboratorio.

CAPITULO I

1.0 INTRODUCCION

Las prácticas profesionales supervisadas representan una fase crucial en la formación académica y profesional, proporcionando a los estudiantes la oportunidad de aplicar y consolidar los conocimientos adquiridos en un entorno laboral real. En este contexto, se llevó a cabo la validación de un método para la cuantificación de cadmio en chocolate. El propósito principal de esta validación fue asegurar la fiabilidad y precisión del método, garantizando resultados confiables y reproducibles en la determinación del cadmio en muestras de laboratorio.

Esta validación se llevó a cabo durante un periodo de 6 meses, desde el 20 de marzo hasta el 20 de septiembre de 2023, en el Laboratorio de Alimentos y Toxicología, para permitir una evaluación exhaustiva de todas las etapas del proceso de validación y para asegurar la consistencia de los resultados a lo largo del tiempo.

El propósito de esta validación es resolver el problema de la falta de un método estandarizado y validado para la determinación precisa de cadmio en chocolate. La presencia de cadmio en alimentos, especialmente en productos como el chocolate, puede representar un riesgo para la salud pública si se consume en cantidades elevadas. Por lo tanto, contar con un método validado para la detección y cuantificación precisa de cadmio en chocolate es crucial para garantizar la seguridad alimentaria y el cumplimiento de las regulaciones establecidas por las autoridades sanitarias. Esta validación proporcionó al Laboratorio de Alimentos y Toxicología una herramienta confiable para monitorear y controlar los niveles de cadmio en chocolate, contribuyendo así a proteger la salud de los consumidores y mejorar la calidad de los productos alimenticios.

Otro motivo significativo para la validación de dicho método radica en la cuantificación precisa del cadmio en la matriz de chocolate, ya que las características particulares de cada muestra pueden afectar la eficacia del método analítico. La validación proporcionó certeza de que el método es aplicable de manera consistente a diferentes chocolates, mejorando así su versatilidad y utilidad en una variedad de contextos.

En el ámbito de la seguridad alimentaria, la cuantificación precisa del metal pesado, como el cadmio, es crucial para garantizar la calidad y la inocuidad de los productos consumidos por la población.

La metodología consistió en la preparación de muestras de chocolate, seguida de la digestión por microondas para liberar el cadmio presente. Posteriormente, se realizará la medición de cadmio

mediante espectrofotometría de absorción atómica, utilizando estándares de referencia para la calibración del equipo y la validación del método.

Para la realización de dicho método se llevó a cabo la técnica de espectrometría de absorción atómica con horno de grafito, en donde los datos se obtendrán de matrices de alimentos (chocolate en polvo, chocolate en barra y chocolate para untar), para la validación del procedimiento analítico implica análisis de datos estadísticos determinando los parámetros límite de detección, exactitud, precisión, límite de cuantificación, linealidad.

Los productos derivados del cacao son un producto consumido por la población, el cual tiene como materia prima principal el cacao. Se ha determinado que el cacao es capaz de absorber cadmio, el cual es un material pesado que se encuentra en el suelo y agua. Cuando el cacao contaminado con dicho metal es procesado para obtener chocolates, este contaminante perdura en el producto final.

Se realizó la recopilación de información documental y experimental para la validación del método analítico, en el cual se reunió información para la realización del producto final del proyecto, por lo tanto, el programa se desarrolló en tres etapas las cuales se reflejan en este informe.

Con la presentación del informe de validación, se demuestró una confiabilidad de la técnica, instrumentos y equipos utilizados en el Laboratorio de Alimentos y Toxicología garantizando que los chocolates que ingiere la población salvadoreña cumplen con los estándares de calidad, de igual forma, asegurando que el método es eficaz, fiable y reproducible.

CAPITULO II

2.0 OBJETIVO

2.1 Objetivo general

Validar el método para la determinación de Cadmio en chocolate por Espectrofotometría de Absorción Atómica con Atomización Electrotérmica.

2.2 Objetivos específicos

- 2.2.1 Elaborar protocolo de validación según guía G9.6 validación del Organismo Salvadoreño de Acreditación para establecer los parámetros y criterios de validación.
- 2.2.2 Realizar los parámetros de desempeño para la determinación de cadmio en chocolate por Espectrofotometría de absorción atómica con atomización electrotérmica.
- 2.2.3 Presentar un resumen informe de validación basado en la guía de validación del Organismo Salvadoreño de Acreditación (OSA).

CAPITULO III

3.0 MARCO TEÓRICO

3.1 Validación del método

En el contexto de la investigación, se entiende la validación como la verificación y presentación de pruebas tangibles que respaldan el cumplimiento de los criterios necesarios para un uso específico o una aplicación previamente establecida.

En la validación, se aborda la definición de las propiedades de desempeño y las restricciones inherentes a un método analítico. Además, se busca identificar las variables que pueden afectar estas características, comprendiendo los analitos susceptibles de ser determinados, las matrices en las cuales el método puede desplegarse y las interferencias que podrían influir en los resultados ⁽¹⁾.

3.1.1 Método

El análisis químico emerge como un componente esencial en el estudio detallado de las propiedades constituyentes de la materia, desempeñando un papel crucial en la resolución de cuestiones vinculadas a su composición. Este proceso analítico abarca una variedad de campos, siendo particularmente destacado en la vigilancia de la calidad tanto de las materias primas como de los productos finales.

3.1.2 Clasificación del método

- Método Normalizado

Un método normalizado, el cual se ejecuta de manera precisa de acuerdo con las directrices establecidas por organismos internacionales. Esta conformidad con normativas reconocidas confiere validez y fiabilidad a los resultados obtenidos mediante dicho método, consolidando su posición como un enfoque confiable y consistente en la realización de análisis evaluaciones.

Ejemplos de referencias reconocidas: USP, FEUM, EP, BP, JP, IP, AOAC, Standard Methods, EPA, CIPAC, ASTM, ASHTO, ISO, Codex Alimentarius, FDA, FAO, USDA.

- Método Normalizado modificado

Dentro del contexto de métodos de ensayo normalizados, surge una práctica innovadora que implica adaptaciones significativas. Estas modificaciones pueden incluir la elección de métodos de extracción alternativos, la aplicación del método en matrices no previamente consideradas, o la exploración de rangos diversos para su implementación. Estas variaciones destinadas a mejorar la versatilidad y aplicabilidad del método, destacan la importancia de la flexibilidad en los enfoques analíticos.

- Método no normalizado

Dentro del panorama de métodos de ensayo, se distingue una respectiva única que involucra la utilización de un método no normalizado, carente de respaldo en referencias aceptadas a nivel internacionalmente. Esta particularidad resalta la necesidad de explorar enfoques analíticos no convencionales y destaca la importancia de evaluar la validez y confiabilidad de métodos que pueden no seguir los estándares internacionales establecidos⁽¹⁾.

3.1.3 Parámetros a validar para métodos normalizados modificados

Parámetros utilizados en esta investigación para validar el método normalizado modificado según la Organización Salvadoreña de Acreditación son los siguientes:

- Linealidad

Dentro del análisis de la linealidad de un método analítico, se destaca la importancia de identificar tanto el intervalo lineal como el intervalo de trabajo. El límite inferior de este intervalo se encuentra asociado al límite de cuantificación (LOQ), mientras que el límite superior se establece en concentraciones que evidencian anomalías significativas en la sensibilidad analítica. Esta evaluación es esencial para comprender la validez y el rango de operación del método analítico en cuestión.

La noción de intervalo lineal se refiere a la habilidad esencial de un método para generar resultados que mantengan una relación directamente proporcional con la concentración del analito. Este concepto es fundamental

para comprender la capacidad de un método analítico en medir con precisión las concentraciones de analitos dentro de un rango de operación específicos.

- Exactitud

Dentro del análisis práctico de la exactitud de un método analítico, se destaca la importancia de comparar la media de los resultados obtenidos con valores conocidos. En este contexto, la determinación de la veracidad del método se lleva a cabo mediante la comparación con un valor de referencia establecido, proporcionando así una evaluación fundamentada en la precisión y fiabilidad del método en cuestión.

En el ámbito de las técnicas disponibles, resaltan dos enfoques esenciales: la verificación a través de los valores de referencia de un material caracterizado y la comparación con otro método que haya sido previamente caracterizado y validado.

Estas estrategias proveen herramientas valiosas para asegurar la precisión y confiabilidad de los resultados analíticos, permitiendo una evaluación rigurosa de los métodos utilizados.

- Precisión

El análisis de la precisión de un método analítico, se abordan distintos aspectos, entre ellos, la repetibilidad, que se enfoca en evaluar la variabilidad del método al realizar análisis repetidos sobre una misma muestra, bajo condiciones operativas idénticas, en un laboratorio específico y durante un periodo de tiempo breve. Estas consideraciones son esenciales para comprender la estabilidad y consistencia del método analítico en cuestión.

- Límite de Detección y Límite de Cuantificación

El límite de cuantificación representa la mínima cantidad que puede ser medida con precisión en una muestra dada, mientras que el límite de detección señala la cantidad más pequeña detectable, aunque no necesariamente susceptible de ser cuantificada con precisión.

- Incertidumbre

La incertidumbre representa un rango vinculado a un resultado de medición, indicando el intervalo de valores que pueden ser atribuidos de manera razonable a la magnitud bajo consideración. La evaluación de la incertidumbre debe contemplar todos los factores identificados que influyen en el resultado. Los efectos vinculados a cada factor de incertidumbre se combinan siguiendo protocolos consolidados.

3.1.4 Criterios de aceptación

Tabla N°1 Criterios de aceptación de los parámetros

Parámetros	Criterios de aceptación
Linealidad	<p>La evaluación del intervalo lineal se basa en dos criterios fundamentales: En primer lugar, se requiere un comportamiento lineal evidente al observar la relación entre la concentración y la respuesta analítica en la gráfica correspondiente. Este comportamiento lineal es esencial para garantizar la precisión y la fiabilidad de los resultados.</p> <p>Además, se establece la condición de que los datos aleatorios de confianza para el intercepto incluyan cero, especialmente al considerar concentraciones bajas en la curva. Esta medida se implementa con el objetivo de asegurar la validez de los resultados en situaciones donde las concentraciones son mínimas.</p> <p>$r \geq 0.98$</p> <p>Dentro del intervalo de confianza para la pendiente, es crucial que la unidad este incluida</p>
Exactitud	Requiere considerar cuidadosamente las directrices establecidas en el método de referencia.
Precisión	Implica considerar detenidamente las indicaciones establecidas en la referencia del método.
Límite de detección	A partir de la curva o tabla construida, determinar mediante inspección, la concentración mínima a la cual la prueba no es confiable.

Continuación de tabla N°1

Límite de cuantificación	En términos numéricos, el límite de cuantificación se caracteriza por ser más elevado y denota la cantidad mínima de analito que puede someterse a análisis con porcentajes aceptables de coeficiente de variación y recuperación. Aunque es posible detectar concentraciones más bajas, estas no pueden ser cuantificadas con precisión. Este aspecto resalta la importancia del límite de cuantificación como un umbral crucial que define la capacidad del método analítico para proporcionar mediciones cuantitativamente confiables en el rango específico de concentraciones.
Incertidumbre	Reportar la incertidumbre expandida con un factor de cobertura $k=2$ y un nivel de significancia del 95%

Fuente: Elaboración propia.

3.2 Aspectos generales sobre el cacao



Figura N° 1 Árbol de cacao
Fuente: el pilón⁽²⁾

Los granos de cacao, constituyentes esenciales en la producción de chocolate, provienen de las semillas extraídas del árbol *Teobroma cacao*, originario de la Región amazónica de América del Sur. Su consumo se extiende de manera significativa a nivel

mundial, desempeñando un papel central en diversas culturas y aplicaciones culinarias (3).

Con alturas que oscilan entre 4 y 8 metros, el árbol de cacao, cuya mayor densidad genética se localiza principalmente en América del Sur, es una fuente primordial de semillas utilizadas extensamente en la producción de chocolate y sus derivados. La importancia de este árbol trasciende su dimensión física, ya que sus productos no solo tienen un impacto significativo en la industria del cacao, sino que también desempeñan un papel crucial en diversas prácticas culinarias a nivel global.

El árbol de cacao se distingue por presentar una flor de delicada apariencia y un fruto cuya forma varía entre ovalada, alargada o esférica al alcanzar la madurez, exhibiendo colores que oscilan entre el dorado y el rojo. Este fruto, con dimensiones que van desde los 10 hasta los 26 centímetros y un peso que varía entre 500 y 2250 gramos, desempeña un papel fundamental en la obtención de las preciadas semillas de cacao, esenciales para la elaboración de chocolate y sus derivados.

En la anatomía del cacao, la mazorca, también conocida como el fruto, se presenta como una baya cuya parte externa está resguardada por un pericarpio o cáscara. Internamente, los granos o semillas están dispuestos en hileras alrededor de un eje central denominado placenta. Este diseño estructural no solo define la composición del fruto de cacao, sino que también influye directamente en el proceso de extracción de las semillas, vitales para la producción de chocolate y sus derivados (4).

Las almendras de cacao, de tonalidad marrón, presentan en su superficie exterior un mucílago blanco y dulce, comestible según los estudios (5), estas almendras son sometidas a procesos de transformación para obtener licor de chocolate, cacao en polvo y manteca de cacao, elementos esenciales que conforman los ingredientes primordiales del chocolate. Además, estos productos derivados contribuyen a una amplia variedad de elaboraciones, tales como bebidas de cacao, helados y productos de panadería, aportando un sabor característico y distintivo a estas delicias culinarias (6).

3.2.1 Derivados del cacao

- Cacao sin cáscara ni germen: Resulta de la limpieza y descascarado del cacao en grano.
- Cacao en pasta: Proviene de la desintegración del cacao sin cáscara ni germen, conservando todos sus componentes.
- Torta de prensado de cacao: Se obtiene al eliminar parcialmente la grasa del cacao en pasta mediante prensado.
- Polvillo de cacao: Representa una fracción del cacao en grano, generado como subproducto durante el aventamiento y la desgerminación.
- Manteca de cacao: La grasa derivada del cacao en grano, sin cáscara ni germen, así como del cacao en pasta, mediante métodos mecánicos. Es esencial que la manteca de cacao no contenga una cantidad de grasa de cáscara o germen superior a la presente en el grano completo ⁽⁴⁾.

3.2.2 Productos a base de cacao



Figura N° 2 Diferentes tipos de chocolates
Fuente: plataforma digital entorno turístico ⁽⁷⁾

El chocolate, siendo el producto insignia derivado del cacao, se manifiesta en diversas formas que abarcan:

- Chocolate Amargo: Elaborado con cacao y una mínima cantidad de azúcar, o incluso sin este componente.

- Chocolate de Taza: Disponible en variantes amargas, sin azúcar, con azúcar, y con leche y azúcar.
- Chocolate de Cubierta: Caracterizado por una proporción reducida de azúcar y una mayor presencia de manteca de cacao.
- Chocolate con Leche: Resulta de la combinación de pasta de cacao, azúcar y extracto seco de leche.
- Chocolate Compuesto: Constituido por proporciones variables de pasta de cacao, azúcar y elementos como almendras, nueces, entre otros.
- Licor de Cacao: Aunque no se consume directamente, se destaca como un ingrediente esencial en la elaboración de chocolate y productos de panadería⁽⁴⁾.

3.3 Química del cadmio

En la actualidad, el cadmio encuentra aplicación en diversos procesos industriales, entre ellos la manufactura de plásticos y vidrios. Estas operaciones representan uno de los principales mecanismos mediante los cuales el cadmio se libera al medio ambiente, contaminando el agua a través del suelo y propagándose a peces, animales y plantas dentro de la cadena trófica. Es por esta razón que la ingesta de alimentos contaminados se erige como una de las principales vías de exposición humana al cadmio⁽⁴⁾.

El cadmio se destaca como uno de los principales agentes tóxicos vinculados a la contaminación tanto ambiental como industrial, dado que exhibe cuatro características especialmente preocupantes para una sustancia tóxica:

- Provoca efectos adversos tanto en la salud humana como en el medio ambiente.
- Tiende a bioacumularse.
- Muestra persistencia en el entorno.
- Se desplaza a grandes distancias a través del viento y los cursos de agua, lo que contribuye a su distribución amplia y potencialmente perjudicial⁽⁸⁾.

3.3.1. Efectos sobre la salud humana

El Cadmio, al ser absorbido, conlleva principalmente efectos adversos como el daño renal y el desarrollo de enfisema pulmonar. La población más vulnerable incluye a mujeres con deficiencias nutricionales o bajos niveles de hierro, personas con trastornos renales, fetos y niños con reservas corporales de hierro insuficientes. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido un límite de ingesta semanal tolerable para el Cadmio en 2,5 µg/kg de peso corporal, señalando este valor como el máximo que el organismo puede consumir sin correr riesgos ⁽⁴⁾.

Si bien el Cadmio está presente en todos los alimentos, son los cultivos agrícolas, especialmente el arroz de regadío y el cacao, los que suelen representar la mayor fuente de ingesta. Grupos específicos, como los vegetarianos y aquellos con un consumo elevado de cereales, pueden estar más expuestos que la población general. La presencia de Cadmio en los cultivos se atribuye a su absorción desde el suelo, y la velocidad de absorción se ve afectada por diversos factores como el pH del suelo, salinidad, contenido de humus, especies y variedades vegetales, así como la presencia de otros elementos como el zinc ⁽⁸⁾.

En la evaluación de la toxicidad del cadmio en los seres humanos, el riñón se identifica como el órgano crítico y objetivo principal. Los efectos críticos se manifiestan principalmente a través de un incremento en la excreción de proteínas en la orina, como consecuencia de los daños en las células tubulares proximales. La gravedad de este efecto está directamente relacionada con la duración y la magnitud de la exposición al cadmio.

- El cadmio, considerado carcinógeno humano por inhalación, ha mostrado, según datos epidemiológicos laborales, afectar principalmente a los pulmones. Sin embargo, no se le atribuye la capacidad carcinogénica por ingestión.

- El hígado y los riñones son los principales órganos de almacenamiento del cadmio, con una lenta excreción y una vida media prolongada en el cuerpo humano, acumulándose en diversos tejidos con la edad.

- El tabaco representa una fuente significativa de absorción de cadmio en fumadores, impactando también a no fumadores mediante la exposición al humo secundario.
- Residentes cercanos a fuentes industriales con liberación de cadmio pueden enfrentar una exposición elevada a este metal.
- Personas con una dieta rica en mariscos y carnes de órganos marinos pueden tener una ingesta especialmente elevada de cadmio.
- La presencia de cadmio en los cultivos resulta de su absorción desde el suelo, y la velocidad de este proceso se ve influenciada por factores como el pH del suelo, salinidad, contenido de humus, especies y variedades vegetales, así como la presencia de otros elementos como el zinc ⁽⁸⁾.

3.3.2 Manifestaciones clínicas

Las expresiones clínicas asociadas a la exposición al cadmio se pueden categorizar según el tiempo y el modo de exposición, diferenciándolas en agudas y crónicas, así como aquellas debidas a la inhalación e ingestión, respectivamente.

En la población general, las intoxicaciones por cadmio, a menos que se relacionen con accidentes o contaminaciones masivas, como en el caso de alimentos, tienden a ser predominantemente crónicas. No obstante, en el ámbito ocupacional es común encontrar intoxicaciones que presentan características tanto agudas como crónicas. La sintomatología de las intoxicaciones por cadmio varía, y sus efectos en la salud se asemejan a los de cualquier sustancia peligrosa, dependiendo de factores como la dosis, la duración y el tipo de exposición, la presencia de otras sustancias químicas, así como las características y los hábitos individuales ⁽⁹⁾.

3.3.3 Manifestaciones clínicas por inhalación

La exposición a concentraciones elevadas de cadmio por inhalación puede generar un conjunto de síntomas inicialmente poco definidos, evolucionando posteriormente con la manifestación de fiebre, trastornos digestivos, dolor torácico, disnea y edema agudo de pulmón. Además, otro efecto común que se experimenta de manera inmediata o poco después de la exposición al cadmio es la irritación de la piel y los ojos. Los síntomas suelen tener un inicio retardado, manifestándose varias horas después de la exposición y generalmente persisten durante uno o dos días ⁽⁹⁾.

3.3.4 Manifestaciones clínicas por ingestión

La presencia de síntomas como náuseas, vómitos, dolores abdominales y cefalea señala la posible exposición al cadmio, especialmente cuando se ha ingerido agua o alimentos con concentraciones de cadmio de aproximadamente 15 ppm.

En casos más graves, se puede experimentar diarrea intensa con colapso. Además, existen riesgos potenciales que pueden manifestarse algún tiempo después de la exposición al cadmio y persistir durante meses o años, incluyendo el riesgo de cáncer y efectos en la salud reproductiva.

El cadmio ingresa al torrente sanguíneo mediante la absorción en el estómago o los intestinos, después de la ingestión de alimentos o agua, o mediante la absorción en los pulmones tras la inhalación.

En situaciones de dosis oral elevada, el cadmio libre atraviesa la mucosa para ingresar a la circulación sanguínea, acumulándose principalmente en el hígado y los riñones, donde representa entre el 0 y el 80% del cadmio presente en el organismo.

Por lo tanto, el cadmio tiene una propensión a acumularse y, con una exposición continua en el entorno, las concentraciones tisulares del metal tienden a aumentar a lo largo de toda la vida (9).

3.4 Cadmio en el cacao

La presencia acumulada de metales pesados en la planta de cacao emerge como el factor primordial que incide negativamente en la salud humana. Este vegetal tiene la capacidad de absorber metales pesados del suelo, concentrándolos especialmente en sus semillas (6).

Con base en un informe científico sobre el Cadmio en los alimentos, se determinó que la exposición alimentaria promedio al Cadmio en los países europeos se aproxima o incluso supera ligeramente la ingesta semanal tolerable de 2,5 µg/kg de peso corporal (10).

3.5 Niveles máximos permisibles

- El Codex Alimentarius, el estándar internacional de referencia para la seguridad alimentaria, establece límites máximos permisibles de cadmio en chocolates. Estos límites son fundamentales para garantizar la calidad y la seguridad de los productos que

consumimos. En el caso del cadmio, un metal pesado potencialmente tóxico, los límites máximos son especialmente importantes debido a su impacto en la salud pública. A continuación, se presentan los límites permisibles regulados por el Codex:

- En chocolates que contiene o declaran <30 % del total de sólidos de cacao sobre materia seca su límite es 0.3mg/Kg.

- En chocolates que contiene o declaran $\geq 30\%$ y $\leq 50\%$ del total de sólidos de cacao sobre materia seca su límite es 0.5 – 0.6 mg/Kg.

- Para el cacao en polvo 100% sólidos totales de cacao sobre la materia seca un 1.3-1.5 mg/Kg⁽¹¹⁾.

3.6 Técnicas analíticas

Se disponen de diversas metodologías para determinar la presencia de metales en alimentos, mayoritariamente fundamentadas en técnicas Electroquímicas y Espectroscópicas. Para la cuantificación de Cadmio en alimentos, las técnicas de detección comprenden la Espectrometría de Absorción Atómica de Llama (FAAS), Espectrometría de Absorción Atómica (AAS), Espectrometría de Absorción Atómica con Horno de Grafito (GF-AAS), Espectrometría de Fluorescencia Atómica con Generación de Hidruros (HG-AFS), Espectrometría de Emisión Óptica con Plasma acoplado Inductivamente (ICP-OES) y Espectrofotometría de Emisión de Plasma con Acoplamiento Inductivo⁽³⁾.

Ante las metodologías analíticas previamente expuestas para la determinación de metales pesados en alimentos, es crucial seleccionar una técnica específica para la evaluación de Cadmio en cacao; en este contexto, se enfocará en el estudio de la técnica Espectrometría de Absorción Atómica con Horno de Grafito.

3.6.1 Técnicas de espectrofotométrica de absorción atómica.

La técnica de espectroscopia de absorción consiste en la medición de la porción de luz de una longitud de onda específica que atraviesa una muestra. Dado que la muestra no emite luz por sí misma, se requiere la presencia de una fuente de radiación⁽⁸⁾.

En su mayoría, las fuentes generan luz con longitudes de onda no deseadas además de la deseada, a excepción de fuentes de radiofrecuencia y láseres. El uso

de un monocromador o filtro durante el paso de la luz permite seleccionar la longitud de onda para el análisis.

El principio fundamental de la espectroscopia se basa en que la radiación de una longitud de onda determinada es absorbida por átomos que poseen niveles energéticos cuya diferencia coincide con la energía de los fotones incidentes. La cantidad de fotones absorbidos se rige por la ley de Beer.

En la espectroscopia de absorción atómica (EEA), la muestra se nebuliza y atomiza en una llama utilizando un quemador, que actúa como una celda similar a las utilizadas en los métodos de colorimetría. A partir de la obtención de una curva de calibración, es posible medir la absorbancia de las soluciones problema e interpolar dichos valores en las curvas de calibración para obtener la concentración de las soluciones ⁽¹²⁾.

3.6.2 Componentes de un espectrofotómetro de absorción atómica

- La Fuente de radiación, emite una línea específica correspondiente a la necesaria para realizar una transición en los átomos del elemento analizado.
- El Nebulizador, mediante la aspiración de la muestra líquida, genera pequeñas gotas para lograr una atomización más eficiente.
- El Quemador, debido a la temperatura alcanzada en la combustión y la propia reacción de combustión, favorece la formación de átomos a partir de los componentes en solución.
- El Sistema óptico, se encarga de separar la radiación de longitud de onda de interés de todas las demás radiaciones que ingresan al sistema.
- El Detector o transductor transforma, en relación proporcional, las señales de intensidad de radiación electromagnética en señales eléctricas o de intensidad de corriente.
- El Amplificador o sistema electrónico, amplifica la señal eléctrica producida para que pueda ser procesada en el siguiente paso con circuitos y sistemas electrónicos comunes.

- El Sistema de lectura, convierte la señal de intensidad de corriente en una señal interpretable por el operario, por ejemplo, transmitancia o absorbancia. Este sistema de lectura puede adoptar la forma de una escala analógica, digital, graficador u otros formatos de datos que luego pueden ser procesados por una computadora, siendo finalmente evaluados ⁽⁶⁾.

En el proceso de determinación cuantitativa de elementos, se requiere generar una nube atómica a partir de una solución que contenga el elemento a analizar, cuyos átomos fundamentales forman parte de la mencionada nube. Simultáneamente, se hace pasar luz a través de esta nube atómica utilizando la longitud de onda correspondiente a la línea de resonancia del elemento que se desea cuantificar, y se mide la absorbancia. Los otros elementos presentes en la nube atómica no interfieren en la cuantificación, ya que ellos absorben en diferentes longitudes de onda ⁽¹²⁾.

3.6.3 Digestión por microondas

La Digestión Ácida Asistida por Microondas (DAAM) representa una variante dentro del proceso de digestión húmeda. En este método, la muestra se calienta mediante la energía del horno digestor de microondas, la cual es generada por un magnetrón con ondas de 2.54 GHz que se dispersan en el recipiente que contiene la muestra, facilitado por un agitador.

La utilización de recipientes cerrados en este procedimiento permite la aplicación de temperaturas elevadas sin la pérdida de reactivos y analitos, reduciendo los riesgos de contaminación por polvo a través del aire u otros agentes como microorganismos. Se ha observado que los ácidos más comúnmente empleados en la DAAM son el ácido nítrico (HNO_3), ácido clorhídrico (HCl) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), siendo su elección dependiente del origen específico de la muestra

La elevación de la temperatura de los ácidos por encima de su punto de ebullición se logra mediante la aplicación de presiones superiores a la atmosférica. En el contexto de la Digestión Ácida Asistida por Microondas (DAAM), se suelen emplear temperaturas que oscilan entre 180-220 °C, si bien

este parámetro puede ajustarse según la naturaleza específica del material a tratar⁽¹³⁾.

3.6.4 Ventajas de la digestión por microondas

La Digestión Ácida Asistida por Microondas (DAAM) presenta notables ventajas en comparación con las técnicas de digestión tradicionales. Entre estas ventajas destaca el menor tiempo requerido para la digestión de la muestra, gracias a la rapidez de calentamiento del horno de microondas, al mismo tiempo que proporciona control sobre los parámetros de presión y temperatura.

Esta técnica evita la pérdida de la muestra por volatilización, reduce el riesgo de contaminación del analito y posibilita el tratamiento simultáneo de múltiples muestras. Además, la DAAM facilita la descomposición de muestras complejas.

La Digestión Ácida Asistida por Microondas (DAAM) también ofrece la ventaja de reducir la contaminación, ya que demanda una menor cantidad de reactivos en comparación con otros métodos. Además, logra una descomposición más eficiente de la matriz, al tiempo que evita la exposición directa del personal encargado de la manipulación a gases tóxicos perjudiciales para la salud⁽¹³⁾.

3.6.5 Desventajas de la digestión con microondas

La principal desventaja o limitación asociada a la Digestión Ácida Asistida por Microondas (DAAM) se encuentra en el ámbito económico, ya que el equipo digestor de microondas tiene un valor monetario más elevado en comparación con la plancha calefactora utilizada en la Digestión Ácida Tradicional (DAT).

Asimismo, la DAAM implica una metodología más compleja en la manipulación de su equipo, lo que conlleva la necesidad de contar con un personal más capacitado para llevar a cabo su ejecución⁽¹³⁾.

3.6.6 Espectroscopia de absorción atómica con horno de grafito

La Espectrometría de Absorción Atómica con Horno de Grafito (GF-AAS), también conocida como atomización electrotérmica, ofrece la capacidad de trabajar con muestras de volumen muy reducido (inferior a 50 μL) o directamente con muestras orgánicas líquidas⁽⁴⁾.

Este método se fundamenta en la absorción de luz por parte de un elemento en estado atómico, siendo la longitud de onda específica para cada elemento. La medición se realiza mediante la atenuación de la intensidad de la luz debido a la absorción, donde la cantidad de radiación absorbida es proporcional a la cantidad de átomos del elemento presente.

La GF-AAS destaca por su buen límite de detección, alta sensibilidad y mínimas interferencias. Su capacidad para trabajar con volúmenes de muestra reducidos, así como los costos moderados de funcionamiento, lo convierten en el método más adecuado para la determinación de Cadmio en cacao ⁽⁶⁾.

CAPITULO IV

4.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

En el contexto de este proyecto, se llevó a cabo la validación del método para la determinación de cadmio en chocolate mediante espectrofotometría de absorción atómica, se sigue un protocolo riguroso para verificar la idoneidad y exactitud del método. Este proceso implica una serie de pasos metodológicos cruciales que abarcan, la definición de objetivos, la selección de muestras, equipos, reactivos y los parámetros de desempeño. Cada uno de estos pasos juega un papel crucial en el proceso de validación, garantizando la precisión y la reproducibilidad de los resultados obtenidos.

En este protocolo de validación, se empleará el método oficial AOAC 999.10 modificado por el Laboratorio de Alimentos y Toxicología como referencia principal. Este método, proporciona directrices detalladas para la determinación precisa de cadmio en alimentos. Se utilizarán muestras representativas de chocolate en polvo, barras de chocolate y chocolate para untar para abordar la variedad de formas en las que este producto puede estar presente en el mercado.

A continuación, se presenta el protocolo detallado que guiará el desarrollo de la validación del método para la determinación de cadmio en chocolate.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA LA DETERMINACION DE CADMIO EN CHOCOLATE POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA CON ATOMIZACION ELECTROTERMICA

1.0 Objetivo

Establecer los parámetros de calidad necesarios para la validación del Método Analítico: Determinación de Cadmio en chocolate por Espectrometría de Absorción Atómica con Vaporización Electrotérmica, para proporcionar idoneidad del ensayo que se emplea correctamente y puede ser utilizado para el propósito previsto. La evaluación de los parámetros de validación será efectuada en las fechas comprendidas desde marzo 2023 a septiembre 2023, bajo los lineamientos internos detallados en Procedimiento de selección y verificación de métodos de análisis Físicoquímicos (Procedimientos interno de El Laboratorio de Alimentos y Toxicología).

2.0 Alcance

La validación del método analítico para la Determinación de Cadmio por Espectrofotometría de Absorción Atómica con Atomización Electrotérmica es aplicable para Chocolates en el rango de concentración de 0.200 mg/Kg.

3.0 Responsable

La validación es responsabilidad de los analistas del área de fisicoquímico con el apoyo del bachiller Tania Dávila, pasante del Proyecto de Práctica Profesional Supervisada, coordinador de plataforma de Toxicología, Coordinador de Calidad, y jefe de Laboratorio.

4.0 Parámetros por estudiar

Método Normalizado Modificado por el Laboratorio de Alimentos y Toxicología, Ministerio de Salud.

Según lo establecido por el Organismo Salvadoreño de Acreditación (OSA), los parámetros a estudiar para un método Normalizado Modificado son:

Tabla N° 2 Parámetros de desempeño con su criterio de aceptación.

Parámetro	Criterio de Aceptación	Referencia
Linealidad (Intervalo Lineal e Intervalo de Trabajo)	<p>Intervalo Lineal: Coeficiente correlación $(r) \geq 0.995$ (Respuesta en función de la concentración). Datos aleatorios en el gráfico de residuales. El intervalo de confianza del intercepto debe incluir cero, a un nivel de confianza del 95%.</p> <p>Intervalo de Trabajo: Coeficiente correlación $(r) \geq 0.995$ (Concentración medida en función de Concentración teórica). El intervalo de confianza de la pendiente debe incluir la unidad, a un nivel de confianza del 99.9%.</p>	OSA. G 9.6 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS FISCOQUÍMICOS
Exactitud	<p>Porcentaje de Recobro $\pm 20\%$. Intervalo de Confianza del Porcentaje de Recobro debe incluir el 100%, a un nivel de significancia (α) de 0.05</p>	Criterio Interno de Laboratorio
Precisión (Repetibilidad / Precisión Intermedia)	<p>Repetibilidad: Coeficiente de Variación $(CV) \leq 10\%$</p> <p>Precisión Intermedia: Coeficiente de Variación $(CV) \leq 20\%$</p> <p>No hay diferencia significativa entre los grupos (ANOVA).</p>	<p>Criterio Interno de Laboratorio. IUPAC 2002. Harmonized Guidelines for Single-Laboratory Validation of Methods. Eurachem 2012. La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos.</p>

Continuación de tabla N°2

Límite de Cuantificación	Menor al primer punto de la curva de Calibración.	Criterio Interno de Laboratorio.
Incertidumbre	Máxima incertidumbre expandida relativa porcentual 20%.	

Fuente: Elaboración propia

5.0 Muestras

- Muestra de cocoa en polvo proporcionada por el Laboratorio. Durante el proceso de Validación la muestra se va a identificar bajo el código (S1).
- Muestra de cocoa en polvo proporcionada por el Laboratorio. Durante el proceso de Validación la muestra se va a identificar bajo el código (S2).
- Muestra de chocolate en barra proporcionada por el Laboratorio. Durante el proceso de Validación la muestra se va a identificar bajo el código (S3).
- Muestra de chocolate en barra proporcionada por el Laboratorio. Durante el proceso de Validación la muestra se va a identificar bajo el código (S4).
- Muestra de chocolate de untar proporcionada por el Laboratorio. Durante el proceso de Validación la muestra se va a identificar bajo el código (S5).
- Muestra de chocolate de untar proporcionada por el Laboratorio. Durante el proceso de Validación la muestra se va a identificar bajo el código (S6).

Preparar una serie de estándares analíticos de cadmio con concentraciones conocidas, siguiendo la curva de calibración. A las muestras preparadas según el procedimiento adecuado para el análisis, agregar a cada una la cantidad conocida de la solución preparada del estándar de cadmio.

6.0 Equipos, reactivos y materiales de referencia involucrados en la validación

6.1 Equipos, instrumentos, cristalería y materiales

Tabla N° 3 Equipos, instrumentos y materiales utilizados en la validación.

Equipos, instrumentos y materiales
Espectrofotómetro de Absorción Atómica, marca Perkin Elmer
Digestor de microondas, marca Milestone
Balanza Analítica Sartorius
Micropipeta Digital de Volumen Variable 50 µL – 1000 µL
Cabina de Bioseguridad, marca Labconco

Fuente: Elaboración propia.

6.2 Estándares, reactivos y solventes

Tabla N° 4 Reactivos de referencia en la validación.

Reactivo/Material de Referencia	Lote	Fecha de Vencimiento	Proveedor
Solución Estándar de Magnesio	B0190634	06//2026	N/A
Solución Estándar de Paladio	S2-MM710839	01/11/2026	N/A
Ácido Nítrico Concentrado 70%	22-a0562008	05/12/2026	RGH
Peróxido de Hidrogeno 30%	22G1361056	05/01/2029	FALMAR
Argón gaseoso	L01/081022021	08/10/2026	INFRASAL
Agua destilada	-----	-----	Laboratorio de Alimentos y Toxicología

Fuente: Elaboración propia.

7.0 Referencia del método analítico para validar

Método Oficial AOAC 999.10. Plomo, cadmio, zinc, cobre y hierro en alimentos por espectrofotometría de absorción atómica después de la digestión con microondas.

RTCA 67.04.54:10, “*Alimentos y bebidas procesadas. Aditivos alimentarios.*”.

8.0 Procedimiento para evaluar la determinación de los parámetros a evaluar

8.1 Intervalo lineal

Tabla N° 5 Procedimiento para evaluar intervalo lineal.

Muestras /Repeticiones	Participará un analista. Preparar cuatro curvas de calibración, cada una con cinco puntos, los cuales son los siguientes: nivel 1, nivel 2, nivel 3, nivel 4 y nivel 5
Preparación	<p><u>P. Calibración 1</u>: A partir de los estándares de cadmio se preparó una solución madre que posteriormente serviría para preparar el nivel 1.</p> <p><u>P. Calibración 2</u>: A partir de los estándares cadmio se preparó una solución madre que posteriormente serviría para preparar el nivel 2.</p> <p><u>P. Calibración 3</u>: A partir de los estándares de cadmio se preparó una solución madre que posteriormente serviría para preparar el nivel 3.</p> <p><u>P. Calibración 4</u>: A partir de los estándares de cadmio se preparó una solución madre que posteriormente serviría para preparar el nivel 4.</p> <p><u>P. Calibración 5</u>: A partir de los estándares de cadmio se preparó una solución madre que posteriormente serviría para preparar el nivel 5.</p>
Calcular /Determinar	Graficar la respuesta analítica (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.

Fuente: Elaboración propia

Criterios de aceptación:

- Datos aleatorios en el gráfico de residuales.

- Coeficiente correlación ($r \geq 0.995$) (respuesta en función de la concentración)
- El intervalo de confianza del intercepto debe incluir cero, a un nivel de confianza del 95%.

8.2 Intervalo de trabajo

Tabla N° 6 Procedimiento para evaluar intervalo de trabajo.

Muestras /Repeticiones	Participará un analista. Fortificación de Matriz a cinco niveles. Fortificar por triplicado. Determinar el valor de concentración de cadmio en la matriz.
Preparación	<p><u>Nivel 1:</u> Se adiciono un volumen de una solución madre previamente preparada a los 0.3 g de muestra de matriz pesada y se continuo con el tratamiento de la muestra según procedimiento (Método de Análisis para la Determinación de cadmio en alimentos por espectrofotometría de absorción atómica después de la digestión con microondas en Alimentos).</p> <p><u>Nivel 2:</u> Se adiciono un volumen de una solución madre previamente preparada a los 0.3 g de muestra de matriz pesada y se continuo con el tratamiento de la muestra según procedimiento interno (Método de Análisis para la Determinación de cadmio en alimentos por espectrofotometría de absorción atómica después de la digestión con microondas en Alimentos).</p> <p><u>Nivel 3:</u> Se adiciono un volumen de una solución madre previamente preparada a los 0.3 g de muestra de matriz pesada y se continuo con el tratamiento de la muestra según procedimiento interno (Método de Análisis para la Determinación de cadmio en alimentos por espectrofotometría de absorción atómica después de la digestión con microondas en Alimentos).</p> <p><u>Nivel 4:</u> Se adiciono un volumen de una solución madre previamente preparada a los 0.3 g de muestra de matriz pesada y se continuo con el tratamiento de la muestra según procedimiento interno (Método de Análisis para la Determinación de cadmio en alimentos por espectrofotometría de absorción atómica después de la digestión con microondas en Alimentos).</p>

Continuación de tabla N°6

	<u>Nivel 5</u> : Se adiciono un volumen de una solución madre previamente preparada a los 0.3 g de muestra de matriz pesada y se continuo con el tratamiento de la muestra según procedimiento interno (Método de Análisis para la Determinación de cadmio en alimentos por espectrofotometría de absorción atómica después de la digestión con microondas en Alimentos).
Calcular /Determinar	Graficar la concentración obtenida (eje y) en función de la concentración teórica (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.

Fuente: elaboración propia

Criterios de aceptación:

- El intervalo de confianza de la pendiente debe incluir la unidad, a un nivel de confianza del 99.9%.
- Coeficiente correlación $(r) \geq 0.995$ (concentración medida en función de concentración teórica).

8.3 Recuperación, exactitud

Tabla N° 7 Procedimiento para evaluar recuperación y exactitud.

Muestras /Repeticiones	Participará un analista. Fortificación de Matriz a tres niveles: nivel 1, nivel 3, nivel 5. Nivel bajo y alto por triplicado. Y nivel medio por sextuplicado.
Preparación	Utilizar las matrices fortificadas preparadas en 8.2 Intervalo de Trabajo. Para el nivel medio preparar tres fortificaciones más.
Calcular /Determinar	Determinar el valor de Sesgo, error relativo porcentual o recuperación; e Intervalo de Confianza de la recuperación.

Fuente: Elaboración propia

Criterios de aceptación recuperación:

- Porcentaje de Recobro $\pm 20\%$.
- Intervalo de Confianza del porcentaje de recobro debe incluir un recobro del 80%-120%, a un nivel de significancia (α) de 0.05

8.4 Precisión

Tabla N° 8 Procedimiento para evaluar precisión.

Muestras	Fortificación de Matriz en nivel 1, nivel 3 y nivel 5. Todos los niveles por sextuplicado.
Repeticiones	Participará un analista. El análisis se llevará a cabo bajo condiciones de Precisión Repetibilidad.
	Participarán dos analistas. El análisis se llevará a cabo bajo condiciones de Precisión Intermedia.
Preparación	Seguir preparación tal como se indica en 8.2 Intervalo de Trabajo.
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.

Fuente: Elaboración propia

Criterios de aceptación:

Repetibilidad:

- Coeficiente de variación (CV) $\leq 10\%$

Precisión Intermedia:

- Coeficiente de Variación (CV) $\leq 20\%$
- No hay diferencia significativa entre los grupos (ANOVA)

8.5 Límite de cuantificación del método

Tabla N° 9 Procedimiento para evaluar límite de cuantificación.

Muestras /Repeticiones	Participarán dos analistas. Fortificación de Matriz al nivel de concentración más bajo (nivel 1), 12 veces.
Preparación	Utilizar las matrices fortificadas preparadas en 8.4 Precisión.
Calcular /Determinar	Multiplicar por 10 la desviación estándar de los datos.

Fuente: Elaboración propia.

Criterios de aceptación:

- El límite de cuantificación del método debe ser menor al primer punto de la curva de Calibración (1.0 mg/kg).

8.6 Incertidumbre

Tabla N° 10 Procedimiento para evaluar incertidumbre.

Repeticiones	Utilizar la información obtenida en el proceso de confirmación o validación interna
Preparación	
Calcular /Determinar	<ul style="list-style-type: none"> a) Especificar el mensurando b) Identificar las fuentes de incertidumbre c) Cuantificar los componentes de la incertidumbre (u) d) Calcular la incertidumbre estándar combinada (u_c) e) Calcular la incertidumbre expandida (u_{exp}) <p>Reportar la incertidumbre expandida con un factor de cobertura $k=2$ y un nivel de significancia del 95%.</p>

Fuente: Elaboración propia.

8.6.1 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 del estándar analítico:** Se especifica en el respectivo certificado.

- **Incertidumbre estándar del Volumen V:** Se tomarán en cuenta la incertidumbre por uso del instrumento a una temperatura diferente a la de la calibración, y la incertidumbre por calibración reportada por el fabricante.

- **Incertidumbre por Curva de Calibración:** Se elaborarán cuatro curvas de calibración con cinco puntos, con los siguientes niveles: nivel 1, nivel 2, nivel 3, nivel 4 y nivel 5.

Criterios de aceptación:

- Máxima incertidumbre expandida relativa porcentual 20%.

9.0 Frecuencia de la verificación o revalidación

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

10.0 Registros

Registrar los resultados obtenidos en el Informe de validación del procedimiento de medición “Determinación de cadmio en chocolate por Espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica”

11.0 Bibliografía

- Guía de Validación de Métodos Analíticos Fisicoquímicos, OSA.
- Procedimiento de Validación de Métodos analíticos, Laboratorio de Control de Calidad de Alimentos y Toxicología.

12.0 Responsables de la validación

Analista 1

Analista 2

Coordinadora de Plataforma
Fisicoquímico

Aprobado por:

Coordinadora de Calidad

Jefa de Laboratorio

FIN DE DOCUMENTO

RESUMES DE INFORMES DE VALIDACION

La validación del método para la determinación de cadmio en chocolate por espectrofotometría de absorción atómica implica la evaluación de varios parámetros que garantizan la precisión de los resultados obtenidos.

Los parámetros evaluados incluyen la linealidad del método, la precisión, límite de cuantificación y límite de detección. Cada uno de estos parámetros desempeña un papel fundamental en la determinación de la capacidad del método para detectar y cuantificar el cadmio de manera precisa y consistente en muestras de chocolate.

Los límites establecidos para cada parámetro garantizan que los resultados obtenidos cumplan con los estándares de calidad y precisión requeridos para aplicaciones analíticas en seguridad alimentaria.

A continuación, se presentan los seis cuadros resúmenes de la validación, que destacan los límites establecidos y los valores obtenidos para cada parámetro evaluado, proporcionando una visión detallada de la precisión y fiabilidad del método para la determinación de cadmio en chocolate.

Tabla N° 11 Cuadro resumen muestra S1

PARAMETRO EVALUADO	LIMITE ESTABLECIDO	RESULTADO OBTENIDO	OBSERVACION
Linealidad			
Intervalo Lineal			
Residuales	Aleatorios.	Aleatorios.	Cumple
Intervalo del intercepto	Debe contener el valor cero	Contiene el valor cero	Cumple
Intervalo de Trabajo			
Coefficiente de determinación	≥ 0.98	0.9984	Cumple
Residuales	Aleatorios.	Aleatorios.	Cumple
Intervalo de la pendiente	Debe contener el valor re	Contiene el valor uno	Cumple
Límite inferior del Intervalo	LCM	0.0739 mg/Kg	
Límite Superior del Intervalo	Concentración a Máxima Abs	1.0081 mg/Kg	
Recuperación, Exactitud (tanto por uno)			
Nivel 1 Analista 1	0.8 a 1.2	0.9 1.1	Cumple
Nivel 1 Analista 2	0.8 a 1.2	0.9 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	1.0 1.0	Cumple
Nivel 3 Analista 1	0.8 a 1.2	0.8 1.0	Cumple
Nivel 3 Analista 2	0.8 a 1.2	0.9 1.0	Cumple
Precisión intermedia como CV			
Nivel 1	$\leq 20\%$	3.55	Cumple
Nivel 2	$\leq 20\%$	1.62	Cumple
Nivel 3	$\leq 20\%$	4.73	Cumple
Repetibilidad como CV			
Analista 1 Nivel 1	$\leq 20\%$	1.02	Cumple
Nivel 2	$\leq 20\%$	0.76	Cumple
Nivel 3	$\leq 20\%$	0.45	Cumple
Analista 2 Nivel 1	$\leq 20\%$	1.20	Cumple
Nivel 2	$\leq 20\%$	0.49	Cumple
Nivel 3	$\leq 20\%$	1.31	Cumple
Incertidumbre del resultado a reportar	$\leq 30\%$	Todos los valores \geq LCM tienen Incert. $\leq 30\%$	Cumple
Lím. de Detección del Método (LDM)	≤ 0.25 mg/Kg	0.0222 mg/Kg	Cumple
Lím. de Cuantific. del Método (LCM)	≤ 0.75 mg/Kg	0.0739 mg/Kg	Cumple

Fuente: Elaboración propia

Tabla N° 12 Cuadro resumen muestra S2.

PARAMETRO EVALUADO	LIMITE ESTABLECIDO	RESULTADO OBTENIDO	OBSERVACION	
Linealidad				
Intervalo Lineal				
Residuales	Aleatorios.	Aleatorios.	Cumple	
Intervalo del intercepto	Debe contener el valor cero	Contiene el valor cero	Cumple	
Intervalo de Trabajo				
Coefficiente de determinación	≥ 0.98	0.9972	Cumple	
Residuales	Aleatorios.	Aleatorios.	Cumple	
Intervalo de la pendiente	Debe contener el valor uno	Contiene el valor uno	Cumple	
Límite inferior del Intervalo	LCM	0.0603 mg/Kg		
Límite Superior del Intervalo	Concentración a Máxima Abs	0.8881 mg/Kg		
Recuperación, Exactitud (tanto por uno)				
Nivel 1 Analista 1	0.8 a 1.2	0.9	1.0	Cumple
Nivel 1 Analista 2	0.8 a 1.2	0.8	1.3	Cumple
Nivel 2 Analista 1	0.8 a 1.2	0.9	1.0	Cumple
Nivel 2 Analista 2	0.8 a 1.2	0.9	1.1	Cumple
Nivel 3 Analista 1	0.8 a 1.2	0.8	1.2	Cumple
Nivel 3 Analista 2	0.8 a 1.2	0.9	1.1	Cumple
Precisión intermedia como CV				
Nivel 1	$\leq 20\%$	9.62	Cumple	
Nivel 2	$\leq 20\%$	8.60	Cumple	
Nivel 3	$\leq 20\%$	9.24	Cumple	
Repetibilidad como CV				
Analista 1	Nivel 1	$\leq 20\%$	2.37	Cumple
	Nivel 2	$\leq 20\%$	2.00	Cumple
	Nivel 3	$\leq 20\%$	1.49	Cumple
Analista 2	Nivel 1	$\leq 20\%$	3.32	Cumple
	Nivel 2	$\leq 20\%$	2.70	Cumple
	Nivel 3	$\leq 20\%$	2.13	Cumple
Incertidumbre del resultado a reportar		$\leq 30\%$	Todos los valores \geq LCM tienen Incert. $\leq 30\%$	Cumple
Lím. de Detección del Método (LDM)	≤ 0.25 mg/Kg	0.0181 mg/Kg	Cumple	
Lím. de Cuantific. del Método (LCM)	≤ 0.75 mg/Kg	0.0603 mg/Kg	Cumple	

Fuente: Elaboración propia.

Tabla N° 13 Cuadro resumen muestra S3.

PARAMETRO EVALUADO	LIMITE ESTABLECIDO	RESULTADO OBTENIDO	OBSERVACION	
Linealidad				
Intervalo Lineal				
Residuales	Aleatorios.	Aleatorios.	Cumple	
Intervalo del intercepto	Debe contener el valor cero	Contiene el valor cero	Cumple	
Intervalo de Trabajo				
Coefficiente de determinación	≥ 0.98	0.9957	Cumple	
Residuales	Aleatorios.	Aleatorios.	Cumple	
Intervalo de la pendiente	Debe contener el valor uno	Contiene el valor uno	Cumple	
Límite inferior del Intervalo	LCM	0.0321 mg/Kg		
Límite Superior del Intervalo	Concentración a Máxima Abs	0.9135 mg/Kg		
Recuperación, Exactitud (tanto por uno)				
Nivel 1 Analista 1	0.8 a 1.2	0.9	1.1	Cumple
Nivel 1 Analista 2	0.8 a 1.2	0.9	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	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	1.0	1.1	Cumple
Precisión intermedia como CV				
Nivel 1	$\leq 20\%$	3.85		Cumple
Nivel 2	$\leq 20\%$	6.42		Cumple
Nivel 3	$\leq 20\%$	10.51		Cumple
Repetibilidad como CV				
Analista 1	Nivel 1	$\leq 20\%$	1.45	Cumple
	Nivel 2	$\leq 20\%$	1.19	Cumple
	Nivel 3	$\leq 20\%$	0.86	Cumple
Analista 2	Nivel 1	$\leq 20\%$	1.32	Cumple
	Nivel 2	$\leq 20\%$	2.23	Cumple
	Nivel 3	$\leq 20\%$	1.01	Cumple
Incertidumbre del resultado a reportar		$\leq 30\%$	Todos los valores \geq LCM tienen Incert. $\leq 30\%$	Cumple
Lím. de Detección del Método (LDM)		≤ 0.25 mg/Kg	0.0096 mg/Kg	Cumple
Lím. de Cuantific. del Método (LCM)		≤ 0.75 mg/Kg	0.0321 mg/Kg	Cumple

Fuente: Elaboración propia.

Tabla N° 14 Cuadro resumen muestra S4.

PARAMETRO EVALUADO	LIMITE ESTABLECIDO	RESULTADO OBTENIDO	OBSERVACION
Linealidad			
Intervalo Lineal			
Residuales	Aleatorios.	Aleatorios.	Cumple
Intervalo del intercepto	Debe contener el valor cero	Contiene el valor cero	Cumple
Intervalo de Trabajo			
Coefficiente de determinación	≥ 0.98	0.9992	Cumple
Residuales	Aleatorios.	Aleatorios.	Cumple
Intervalo de la pendiente	Debe contener el valor uno	Contiene el valor uno	Cumple
Límite inferior del Intervalo	LCM	0.0385 mg/Kg	
Límite Superior del Intervalo	Concentración a Máxima Abs	0.8527 mg/Kg	
Recuperación, Exactitud (tanto por uno)			
Nivel 1 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0 1.2	Cumple
Nivel 1 Analista 2	0.8 a 1.2	1.1 1.1	Cumple
Nivel 2 Analista 1	0.8 a 1.2	0.9 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	0.9 0.9	Cumple
Nivel 3 Analista 2	0.8 a 1.2	0.9 0.9	Cumple
Precisión intermedia como CV			
Nivel 1	$\leq 20\%$	4.70	Cumple
Nivel 2	$\leq 20\%$	5.28	Cumple
Nivel 3	$\leq 20\%$	2.57	Cumple
Repetibilidad como CV			
Analista 1 Nivel 1	$\leq 20\%$	1.91	Cumple
Nivel 2	$\leq 20\%$	2.11	Cumple
Nivel 3	$\leq 20\%$	0.44	Cumple
Analista 2 Nivel 1	$\leq 20\%$	1.00	Cumple
Nivel 2	$\leq 20\%$	1.18	Cumple
Nivel 3	$\leq 20\%$	0.61	Cumple
Incertidumbre del resultado a reportar	$\leq 30\%$	Todos los valores \geq LCM tienen Incert. $\leq 30\%$	Cumple
Lím. de Detección del Método (LDM)	≤ 0.25 mg/Kg	0.0115 mg/Kg	Cumple
Lím. de Cuantific. del Método (LCM)	≤ 0.75 mg/Kg	0.0385 mg/Kg	Cumple

Fuente: Elaboración propia.

Tabla N° 15 Cuadro resumen muestra S5.

PARAMETRO EVALUADO	LIMITE ESTABLECIDO	RESULTADO OBTENIDO	OBSERVACION	
Linealidad				
Intervalo Lineal				
Residuales	Aleatorios.	Aleatorios.	Cumple	
Intervalo del intercepto	Debe contener el valor cero	Contiene el valor cero	Cumple	
Intervalo de Trabajo				
Coefficiente de determinación	≥ 0.98	0.9954	Cumple	
Residuales	Aleatorios.	Aleatorios.	Cumple	
Intervalo de la pendiente	Debe contener el valor uno	Contiene el valor uno	Cumple	
Límite inferior del Intervalo	LCM	0.0586 mg/Kg		
Límite Superior del Intervalo	Concentración a Máxima Abs	0.8886 mg/Kg		
Recuperación, Exactitud (tanto por uno)				
Nivel 1 Analista 1	0.8 a 1.2	1.0	1.2	Cumple
Nivel 1 Analista 2	0.8 a 1.2	0.9	1.1	Cumple
Nivel 2 Analista 1	0.8 a 1.2	1.1	1.1	Cumple
Nivel 2 Analista 2	0.8 a 1.2	1.1	1.1	Cumple
Nivel 3 Analista 1	0.8 a 1.2	0.9	1.0	Cumple
Nivel 3 Analista 2	0.8 a 1.2	1.0	1.0	Cumple
Precisión intermedia como CV				
Nivel 1	$\leq 20\%$	3.04		Cumple
Nivel 2	$\leq 20\%$	1.82		Cumple
Nivel 3	$\leq 20\%$	9.55		Cumple
Repetibilidad como CV				
Analista 1	Nivel 1	$\leq 20\%$	0.96	Cumple
	Nivel 2	$\leq 20\%$	0.59	Cumple
	Nivel 3	$\leq 20\%$	0.78	Cumple
Analista 2	Nivel 1	$\leq 20\%$	1.47	Cumple
	Nivel 2	$\leq 20\%$	0.52	Cumple
	Nivel 3	$\leq 20\%$	0.64	Cumple
		$\leq 30\%$	Todos los valores \geq LCM tienen Incert. $\leq 30\%$	Cumple
Incertidumbre del resultado a reportar				
Lím. de Detección del Método (LDM)	≤ 0.25 mg/Kg	0.0176 mg/Kg		Cumple
Lím. de Cuantific. del Método (LCM)	≤ 0.75 mg/Kg	0.0586 mg/Kg		Cumple

Fuente: Elaboración propia.

Tabla N° 16 Cuadro resumen muestra S6.

PARAMETRO EVALUADO	LIMITE ESTABLECIDO	RESULTADO OBTENIDO	OBSERVACION	
Linealidad				
Intervalo Lineal				
Residuales	Aleatorios.	Aleatorios.	Cumple	
Intervalo del intercepto	Debe contener el valor cero	Contiene el valor cero	Cumple	
Intervalo de Trabajo				
Coefficiente de determinación	≥ 0.98	0.9987	Cumple	
Residuales	Aleatorios.	Aleatorios.	Cumple	
Intervalo de la pendiente	Debe contener el valor uno	Contiene el valor uno	Cumple	
Límite inferior del Intervalo	LCM	0.0602 mg/Kg		
Límite Superior del Intervalo	Concentración a Máxima Abs	0.9764 mg/Kg		
Recuperación, Exactitud (tanto por uno)				
Nivel 1 Analista 1	0.8 a 1.2	0.7	1.1	Cumple
Nivel 1 Analista 2	0.8 a 1.2	0.8	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	0.9	1.0	Cumple
Nivel 3 Analista 1	0.8 a 1.2	0.9	1.0	Cumple
Nivel 3 Analista 2	0.8 a 1.2	0.9	0.9	Cumple
Precisión intermedia como CV				
Nivel 1	$\leq 20\%$	8.35	Cumple	
Nivel 2	$\leq 20\%$	1.83	Cumple	
Nivel 3	$\leq 20\%$	1.70	Cumple	
Repetibilidad como CV				
Analista 1	Nivel 1	$\leq 20\%$	2.12	Cumple
	Nivel 2	$\leq 20\%$	0.49	Cumple
	Nivel 3	$\leq 20\%$	0.60	Cumple
Analista 2	Nivel 1	$\leq 20\%$	2.78	Cumple
	Nivel 2	$\leq 20\%$	0.93	Cumple
	Nivel 3	$\leq 20\%$	0.73	Cumple
Incertidumbre del resultado a reportar		$\leq 30\%$	Todos los valores \geq LCM tienen Incert. $\leq 30\%$	Cumple
Lím. de Detección del Método (LDM)		≤ 0.25 mg/Kg	0.0181 mg/Kg	Cumple
Lím. de Cuantific. del Método (LCM)		≤ 0.75 mg/Kg	0.0602 mg/Kg	Cumple

Fuente: Elaboración propia.

4.1 Discusión de resultados

El producto final de este proyecto se siguió un protocolo de validación para evaluar el rendimiento del método de cuantificación de cadmio en chocolate. Este protocolo incluyó la evaluación de múltiples parámetros claves para garantizar la calidad y confiabilidad de los resultados.

Los parámetros de desempeño, que incluyen límite de detección, límite de cuantificación, exactitud, precisión y linealidad, se evalúan exhaustivamente. Los resultados obtenidos cumplen con los estándares aceptables de validación.

Se determinaron los límites de detección y los límites de cuantificación del método. Estos valores indican la capacidad del método para detectar y cuantificar bajas concentraciones de cadmio en las muestras de productos derivados de cacao. Los resultados muestran que el método es capaz de detectar y cuantificar cadmio de manera confiable.

La exactitud del método se evaluó comparando los resultados obtenidos con valores de referencia conocidos. La precisión se evaluó mediante la repetición de análisis de las mismas muestras. Los resultados demuestran que el método es preciso y proporciona valores exactos y confiables.

Se evaluó la linealidad del método a través de análisis de estándares (estándares de cadmio) con diferentes concentraciones. La relación entre la concentración de cadmio y la lectura del instrumento fue lineal, lo que indica la capacidad del método para proporcionar resultados proporcionales a la concentración del analito.

Es importante destacar que los resultados obtenidos en los resúmenes de las seis muestras evaluadas demuestran de manera consistente cumplir con los límites establecidos en todos los parámetros evaluados. En el cuadro resumen de validación que se observa en la tabla N°11, la muestra nombrada como S1, podemos ver que cumple con todos los parámetros por lo tanto el método es confiable en este caso para la muestra de cacao en polvo S1, y así podemos ver en los siguientes cinco cuadros resúmenes que cada uno de los parámetros se cumplen. Este hallazgo sugiere que el método validado es adecuado para su aplicación en la determinación de cadmio en una amplia variedad de muestras de chocolates, incluyendo chocolate en polvo, barras de chocolate y chocolate para untar.

Los resultados de la validación del método de cuantificación de cadmio en chocolates, por espectrometría de absorción atómica con atomización electrotrémica son satisfactorios. Estos

resultados respaldan la eficacia y confiabilidad del método, lo que garantiza la precisión en la determinación de cadmio en productos derivados de cacao. Estos hallazgos son de gran importancia para garantizar la calidad y seguridad de los productos consumidos por la población.

CAPITULO V

5.0 CONCLUSIONES

- 5.1 La evaluación de los parámetros de desempeño, como la linealidad, precisión, límites de detección y cuantificación, ha arrojado resultados satisfactorios. La linealidad confirmó la proporcionalidad entre la concentración de cadmio y la respuesta del instrumento, estableciendo así un rango de trabajo coherente.
- 5.2 La precisión del método, evaluada a través de la repetibilidad, cumplió con los criterios establecidos, demostrando una consistencia. Asimismo, los límites de detección y cuantificación fueron establecidos a niveles sensibles, permitiendo la identificación y cuantificación precisa incluso de concentraciones bajas de cadmio en las muestras analizadas.
- 5.3 El protocolo de validación del método para la determinación de cadmio en chocolate por espectrometría electrotermica ha sido un proceso riguroso y detallado que ha arrojado resultados prometedores, demostrando la precisión del método en muestras de chocolate.
- 5.4 Los resultados obtenidos durante la validación han demostrado la idoneidad y confiabilidad del método, cumpliendo con los objetivos predefinidos y estableciendo una base sólida para su implementación en el análisis rutinario de muestras de productos derivados del cacao.
- 5.5 La validación exitosa del método destaca su utilidad en el monitoreo de niveles de cadmio en productos de cacao, respaldando su aplicación en el control de calidad y la seguridad alimentaria.
- 5.6 La implementación de este método en el Laboratorio de Alimentos y Toxicología refuerza la capacidad de la institución para realizar análisis precisos y confiables, contribuyendo así a garantizar el cumplimiento de los estándares regulatorios y la protección de la salud pública.

CAPITULO VI

6.0 RECOMENDACIONES

- 6.1 Para el personal de Laboratorio de Alimentos y Toxicología, fomentar una estrecha colaboración entre los estudiantes y los supervisores, quienes, con su experiencia y conocimientos en el campo, pueden ofrecer orientación especializada sobre los aspectos técnicos y metodológicos del proceso de validación.
- 6.2 Para el personal de Laboratorio de Alimentos y Toxicología, es fundamental que el proceso de validación de un método analítico se lleve a cabo de manera rigurosa para garantizar la calidad y confiabilidad de los resultados de laboratorio.
- 6.3 Al Laboratorio de Alimentos y Toxicología reducir el valor de la incertidumbre asociada con el análisis de cadmio en chocolate para mejorar la confiabilidad de los resultados.
- 6.4 Al Laboratorio de Alimentos y Toxicología, ajustar los parámetros instrumentales, como la temperatura del horno, corriente de la lámpara, el tiempo de atomización, para maximizar la sensibilidad y minimizar las interferencias.
- 6.5 Para la Universidad Nacional de El Salvador, establecer un sistema de supervisión y desempeño de los estudiantes en las prácticas profesionales por parte de la institución educativa. Esto puede incluir visitas periódicas al lugar asignado el proyecto.

BIBLIOGRAFIA

1. Organismo Salvadoreño de acreditacion OSA. Procedimientos de acreditación.
2. Pílon E. El cacao, cultivo clave para el posconflicto en Colombia según gremio Colombia; 21 de enero de 2016.
3. Araujo-Abad S, Tapia W, Villamarin A. Verificación del método analítico de espectroscopía de absorción atómica con horno de grafito para la cuantificación de cadmio en almendra de cacao (*Theobroma cacao*). La Granja: Revista de Ciencias de la Vida. 2020 marzo; 31(1).
4. Flores Marcani EV. Validación del método de análisis de cadmio en cacao (*theobroma cacao* L.) por espectroscopía de absorción atómica con horno de grafito La Paz-Bolivia: Universidad Mayor De San Andrés: Proyecto de grado ; 2019.
5. Haiat S BJMJCPEJ. Cacao y Chocolate: seducción y terapéutica. Asociación médica. 2012 julv- sep.; 57(3).
6. Aurajo S TWVA. Verificación del método analítico de espectroscopía de absorción atómica con horno de grafito para la cuantificación de cadmio en la almendra de cacao (*Theobroma cacao*). La granja. 2020; marzo-agosto; 31(1).
7. Plataforma digital et. Artículos de gastronomía y entología; 27 de agosto de 2020.
8. Robledo Vélez M, Castaño Puerta A. Validación de la metodología para el análisis de los metales de cadmio y plomo en agua tratada por absorción atómica con horno de grafito en el laboratorio de análisis de aguas y alimnetos de la Universidad de Pereira: Trabajo de grado; 2012.
9. Pérez García PE, Azcona Cruz I. Estudios sobre los posibles efectos en la salud humana y el medio ambiente en América Latina y el Caribe del comercio de productos que contienen cadmio, plomo y mercurio. Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas. 2012 julio-septiembre; 17(3).
10. Niñ Bernal ID. Cuantificación de cadmio en cacao proveniente del occidente de Boyacá por la técnica analítica de voltamperometría Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia : Proyecto de grado ; 2015.
11. Codex Alimentarius Commission. Codex Committee on Contaminants in Foods; 2021.

12. Marquez Martinez. Manual de prácticas del espectrofotometro de absorcion atomica GBC 932 AA Universidad Veracruzana ; 2009.
13. Torres Heras A. Comparación bibliográfica de la eficiencia del método de digestión ácida tradicional y asistida por microondas en la preparación de muestras Facultad De ciencias Químicas Y De La Salud, Machala, Ecuador; 2020.
14. Beltrán E HKRA. Determinación de cadmio en chocolate de mesa comercializado en la zona metropolitana de San Salvador [Tesis de grado]. Universidad de El Salvador; 2017.
15. Rodríguez N SJIFPM. Desarrollo y validación de un método analítico para la determinación de cadmio en cocoa en polvo y preparada con leche. Aplicación en productos del mercado local. INNOTECH [Internet]. 2023 abril; e633 (Disponible en: <https://ojs.latu.org.uy/index.php/INNOTECH/article/view/633>).