



UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

“CALIBRACIÓN Y VALIDACIÓN DEL EQUIPO MILKOSCAN FT1 PARA LA DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS EN LECHE CRUDA EN LA INDUSTRIA DE LÁCTEOS SAN ANTONIO C.A”

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTORA:

ANA SOFÍA PAUTA ZARUMA

DIRECTORA:

DRA. DIANA LIGIA ASTUDILLO NEIRA, MST

ASESORA:

DRA. MARITZA DEL ROSARIO MARTÍNEZ LEÓN, MST

CUENCA – ECUADOR

2015

RESUMEN

La presente tesis surge de la necesidad de utilizar el Equipo MilkoScan FT1 para realizar el análisis de leche cruda, como medida de control de calidad. Se trata de un equipo fabricado basándose en la tecnología del analizador de FTIR del MilkoScan FT120 de FOSS.

El estudio se realizó en la Empresa de Lácteos San Antonio ubicada en el Parque Industrial de la Ciudad de Cuenca. El objetivo del proyecto fue calibrar y validar el equipo MilkoScan FT1 en los análisis de materia grasa, sólidos totales, sólidos no grasos y densidad relativa a 20°C en leche cruda.

Se utilizaron 80 muestras de leche cruda para la calibración. Para la regresión se usó el modelo de cuadrados mínimos parciales, obteniéndose un coeficiente de correlación (r) de 0.999 y un error estándar de predicción (EEP) de 0.009 para materia grasa; r de 0.996 y EEP de 0.147 para sólidos totales; r de 0.990 y EEP de 0.061 para sólidos no grasos; r de 0.993 y EEP de 0.633 para densidad relativa a 20°C.

En la validación se analizaron 80 muestras de leche cruda. La validación demostró que el método analítico empleado era lineal, preciso, exacto, sensible, robusto en el intervalo de concentraciones estudiadas.

Tanto el proceso de validación como el desarrollo de procedimientos analíticos, se realizaron con el fin de cumplir con los requisitos técnicos señalados en la Norma ISO/IEC: 17025 para la acreditación del Laboratorio de Bromatología.

Palabras clave: Calibración, Validación de métodos analíticos, Parámetros de desempeño, MilkoScan FT1.

ABSTRACT

This thesis arises from the need to use the equipment MilkoScan FT1 for analysis of raw milk, as a measure of quality control. It is a manufactured equipment technology based on FTIR analyzer from FOSS MilkoScan FT120.

The study was conducted in San Antonio Dairy Company located in the Industrial Park of the City of Cuenca. The project objective was to calibrate and validate the equipment MilkoScan FT1 in analyzes of fat, total solids, nonfat solids and specific gravity at 20 ° C in raw milk.

For calibration were used 80 raw milk samples. For the regression was used the partial least squares model, obtaining a correlation coefficient (r) of 0.999 and a standard error of prediction (EEP) to fat 0.009; a r of 0.996 and 0.147 of EEP to total solids; a r of 0.990 and 0.061 of EEP to non-fat solids; r of 0.993 and 0.633 EEP to relative density at 20 ° C.

In the validation were analyzed 80 raw milk samples. The validation showed that the analytical method used was linear, precise, accurate, sensitive, robust in the concentration range studied.

Both the validation process and the development of analytical procedures were performed in order to meet the technical requirements specified in ISO / IEC 17025 accreditation for Food Science Laboratory.

Keywords: Calibration, Validation of Analytical Methods, Performance Parameters, MilkoScan FT1.



ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CONTENIDO	4
ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE ECUACIONES Y FÓRMULAS	8
ÍNDICE DE TABLAS	9
ÍNDICE DE ANEXOS	11
AGRADECIMIENTO Y DEDICATORIA	14
INTRODUCCIÓN	15
OBJETIVOS	17
MARCO TEÓRICO	18
1. CALIBRACIÓN DE EQUIPOS DE LABORATORIO.	18
1.1. REQUISITOS METROLÓGICOS.	18
1.2. CONCEPTO DE CALIBRACIÓN.	19
1.3. PROCESO DE CALIBRACIÓN.	19
1.4. CALIBRACIÓN UNIVARIANTE.	20
2. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS.	21
2.1. CONCEPTO DE VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO.	21
2.2. ¿POR QUÉ SE DEBE VALIDAR?	21
2.3. ¿QUÉ SE DEBE VALIDAR?	22
2.4. TIPOS DE VALIDACIÓN.	22
2.5. VALIDACIÓN EN LA NORMA ISO/ IEC 17025:2005.	22
2.6. TÉCNICAS UTILIZADAS PARA LA VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS.	24
2.7. PROCEDIMIENTO DE VALIDACIÓN.	24
2.7.1. ESTABLECER PLAN DE VALIDACIÓN.	24
2.7.2. ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO DE MEDICIÓN.	25
2.7.3. DESARROLLO DE PRUEBAS DE PARÁMETROS DE VALIDACIÓN.	25
2.7.4. EVALUAR RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN.	26
2.7.5. INFORME DE VALIDACIÓN.	26



2.8. CRITERIOS PARA LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS FISCOQUÍMICOS.	27
2.9. PARÁMETROS DE VALIDACIÓN.	32
2.9.1. LINEALIDAD.	32
2.9.2. EXACTITUD.	33
A. VERACIDAD.	33
B. PRECISIÓN.	34
2.9.3. ROBUSTEZ.	35
2.9.4. SENSIBILIDAD.	35
2.9.5. INCERTIDUMBRE.	36
A. MEDICIÓN DE LA INCERTIDUMBRE.	36
B. FUENTES DE INCERTIDUMBRE.	36
C. COMPONENTES DE LA INCERTIDUMBRE.	37
3. PARÁMETROS FISCOQUÍMICOS DE LA LECHE.	37
3.1. PRINCIPALES COMPONENTES DE LA LECHE.	37
3.2. PARÁMETROS FISCOQUÍMICOS DE LA LECHE CRUDA.	38
3.3. PARÁMETROS FISCOQUÍMICOS VALIDADOS.	38
3.3.1. MATERIA GRASA.	38
3.3.2. DENSIDAD RELATIVA.	40
3.3.3. SÓLIDOS TOTALES.	41
3.3.4. SÓLIDOS NO GRASOS.	41
4. MILKOSCAN FT1.	41
4.1. Uso.	41
4.2. TECNOLOGÍA.	42
4.2.1. TECNOLOGÍA DE INFRARROJO POR TRANSFORMADA DE FOURIER.	43
4.2.2. INTERFERÓMETRO: EL MOTOR DE UN SISTEMA DE FTIR.	45
4.3. CALIBRACIÓN DEL MILKOSCAN FT1.	45
MATERIALES Y MÉTODOS	46
1. TIPO DE ESTUDIO.	46
2. UNIVERSO.	46
2. MANEJO DE DATOS.	46
3. MUESTREO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA.	47
4. TOMA DE LA MUESTRA.	47



5. FLUJOGRAMA DE TRABAJO.	47
6. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS.	49
7. MÉTODOS DE ANÁLISIS OFICIALES.	49
8. METODOLOGÍA DEL EQUIPO MILKOSCAN FT1.	52
9.1. FUNDAMENTO.	52
9.2. CARACTERÍSTICAS.	52
9.3. PARTES.	52
9.4. DESCRIPCIÓN.	53
9.5. PRINCIPIO DE FUNCIONAMIENTO.	55
10. SISTEMA DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS.	56
10.1. ELECCIÓN DE PARÁMETROS DE VALIDACIÓN.	56
10.2. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS.	58
10.3. DISEÑO ESTADÍSTICO.	58
10.3.1. LINEALIDAD.	58
10.3.2. EXACTITUD.	65
10.3.3. PRECISIÓN.	66
10.3.4. SENSIBILIDAD.	68
10.3.5. ROBUSTEZ.	69
10.3.6. INCERTIDUMBRE.	69
RESULTADOS Y ANÁLISIS	71
1. PROCESAMIENTO DE RESULTADOS.	71
2. ANÁLISIS DE RESULTADOS DE VALIDACIÓN.	72
2.1. LINEALIDAD.	72
2.2. EXACTITUD.	78
2.3. PRECISIÓN.	80
2.4. SENSIBILIDAD.	84
2.5. ROBUSTEZ.	87
2.6. INCERTIDUMBRE.	89
CONCLUSIONES	90



RECOMENDACIONES	92
BIBLIOGRAFÍA	93
GLOSARIO	99
LISTA DE SIGLAS	101
LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	102
ANEXOS	104

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. ILUSTRACIÓN GRÁFICA DEL MODELO DE REGRESIÓN LINEAL UNIVARIANTE.	20
FIGURA 2. COMPROBACIÓN DE LA LINEALIDAD DE UN MÉTODO MEDIANTE (A) EL COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE LA RECTA Y (B) LA DESVIACIÓN VERTICAL DE LOS DATOS.	32
FIGURA 3. PRECISIÓN Y SUS DIFERENTES TIPOS DE ESTUDIO.	34
FIGURA 4. MODELO DE LA ESTRUCTURA DEL GLÓBULO DE GRASA DE LA LECHE.	39
FIGURA 5. MILKO SCAN FT1.	42
FIGURA 6. INTERACCIÓN DE LA RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA CON LA MATERIA.	44
FIGURA 7. ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO. LA ESPECTROSCOPIA FT-IR EMPLEA LA RADIACIÓN MIR.	44
FIGURA 8. FLUJOGRAMA GENERAL DE TRABAJO 1.	47
FIGURA 9. FLUJOGRAMA GENERAL DE TRABAJO 2.	48
FIGURA 10. BUTIRÓMETRO GERBER.	49
FIGURA 11. EJEMPLO DE LECTURA SOBRE LA ESCALA DEL BUTIRÓMETRO.	50
FIGURA 12. UNIDAD DEL ANALIZADOR Y SOFTWARE DEL EQUIPO MILKO SCAN FT1.	53
FIGURA 13. UNIDAD DEL ANALIZADOR.	53
FIGURA 14. PARTES EXTERNAS DE LA UNIDAD DEL ANALIZADOR.	54
FIGURA 15. CUBIERTA DELANTERA DE LA UNIDAD DEL ANALIZADOR.	54
FIGURA 16. PIEZAS INTERNAS DETRÁS DE LA CUBIERTA DELANTERA.	55
FIGURA 17. FLUJOGRAMA GENERAL DEL DESARROLLO DE LOS PARÁMETROS DE DESEMPEÑO EN LA VALIDACIÓN DEL EQUIPO MILKO SCAN FT1.	58



ÍNDICE DE ECUACIONES Y FÓRMULAS

(1). ECUACIÓN DE LA RECTA DE REGRESIÓN. _____	59
(2). FÓRMULA PARA HALLAR EL INTERCEPTO DE LA RECTA DE REGRESIÓN EN EL EJE DE LAS ORDENADAS. _____	59
(3). FÓRMULA PARA HALLAR LA PENDIENTE DE LA RECTA DE REGRESIÓN. _____	59
(4). FÓRMULA PARA EL CÁLCULO DE LOS VALORES RESIDUALES. _____	60
(5). FÓRMULA PARA HALLAR EL COEFICIENTE DE CORRELACIÓN. _____	61
(6). FÓRMULA PARA HALLAR EL VALOR DE T DE REGRESIÓN. _____	61
(7). FÓRMULA PARA HALLAR LA VARIANZA DEL INTERCEPTO “B”. _____	62
(8). FÓRMULAS PARA HALLAR LA DESVIACIÓN ESTÁNDAR Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR RELATIVA DEL INTERCEPTO. _____	62
(9). FÓRMULA PARA HALLAR LOS LÍMITES DE CONFIANZA DEL INTERCEPTO. _____	62
(10). FÓRMULA PARA HALLAR LA VARIANZA DE LA PENDIENTE. _____	63
(11). FÓRMULA PARA HALLAR LA VARIANZA DEL ERROR EXPERIMENTAL TOTAL. _____	63
(12). FÓRMULA PARA HALLAR LA DESVIACIÓN ESTÁNDAR Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR RELATIVA DE LA PENDIENTE. _____	63
(13). FÓRMULA PARA HALLAR LOS LÍMITES DE CONFIANZA DE LA PENDIENTE _____	63
(14). FÓRMULA PARA EL CÁLCULO DEL PORCENTAJE DE LINEALIDAD. _____	64
(15). EXPRESIÓN PARA EL CÁLCULO DE G_{EXP} . _____	66
(16). FÓRMULA PARA EL CÁLCULO DEL VALOR DE T_{EXP} PARA EL ENSAYO DE REPRODUCIBILIDAD. _____	68

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. DATOS QUE DEBEN ANOTARSE EN EL REGISTRO DE MANTENIMIENTO DEL INSTRUMENTO. _____	18
TABLA 2. PARÁMETROS DE DESEMPEÑO PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS. ____	26
TABLA 3. PARÁMETROS DE DESEMPEÑO SEGÚN EL TIPO DE MÉTODO. _____	28
TABLA 4. CLASIFICACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO POR TIPO DE PRUEBA. _____	28
TABLA 5. PARÁMETROS DE DESEMPEÑO SEGÚN EL TIPO DE PRUEBA. _____	29
TABLA 6. EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE DESEMPEÑO. _____	30
TABLA 7. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE DESEMPEÑO. _____	31
TABLA 8. PRINCIPALES COMPONENTES DE LA LECHE. _____	37
TABLA 9. REQUISITOS FISICOQUÍMICOS DE LA LECHE CRUDA. _____	38
TABLA 10. VALOR DE LOS PARÁMETROS PARA RECEPCIÓN DE LECHE CRUDA EN LA INDUSTRIA DE LÁCTEOS SAN ANTONIO C.A. _____	46
TABLA 11. CUADRO DE MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS. _____	49
TABLA 12. PARTES EXTERNAS DE LA UNIDAD DEL ANALIZADOR. _____	54
TABLA 13. PIEZAS INTERNAS DETRÁS DE LA CUBIERTA DELANTERA. _____	55
TABLA 14. RESULTADOS DE LA CALIBRACIÓN DEL EQUIPO MILKO SCAN FT1. _____	72
TABLA 15. RESULTADOS DEL ENSAYO DE LINEALIDAD PARA MATERIA GRASA. _____	73
TABLA 16. RESULTADOS DEL ENSAYO DE LINEALIDAD PARA DENSIDAD RELATIVA A 20°C. _____	74
TABLA 17. RESULTADOS DEL ENSAYO DE LINEALIDAD PARA SÓLIDOS TOTALES. _____	75
TABLA 18. RESULTADOS DEL ENSAYO DE LINEALIDAD PARA SÓLIDOS NO GRASOS. _____	76
TABLA 19. PRUEBA T DE STUDENT PARA LA LINEALIDAD DEL MÉTODO ANALÍTICO. _____	77
TABLA 20. LÍMITES DE CONFIANZA DEL INTERCEPTO Y PENDIENTE. _____	77
TABLA 21. ANOVA PARA LA LINEALIDAD DEL MÉTODO ANALÍTICO. _____	78
TABLA 22. PORCENTAJE DE LINEALIDAD Y COEFICIENTE DE VARIACIÓN DE LOS FACTORES RESPUESTA. _____	78
TABLA 23. DATOS DEL ENSAYO DE EXACTITUD PARA MATERIA GRASA Y DENSIDAD RELATIVA A 20°C. _____	79
TABLA 24. DATOS DEL ENSAYO DE EXACTITUD PARA SÓLIDOS TOTALES Y SÓLIDOS NO GRASOS. _____	79
TABLA 25. RESULTADO DE % DE ERROR SISTEMÁTICO ABSOLUTO. _____	79
TABLA 26. PRUEBA DE T DE STUDENT PARA LA EXACTITUD DEL MÉTODO ANALÍTICO. _____	80
TABLA 27. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE COCHRAN PARA LA EXACTITUD DEL MÉTODO. _____	80
TABLA 28. COEFICIENTES DE VARIACIÓN DE LA REPETIBILIDAD. _____	83



TABLA 29. COEFICIENTES DE VARIACIÓN DE LA REPRODUCIBILIDAD. _____	83
TABLA 30. RESULTADOS DE REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD PARA MATERIA GRASA Y DENSIDAD RELATIVA. _____	81
TABLA 31. RESULTADOS REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD PARA SÓLIDOS TOTALES Y SÓLIDOS NO GRASOS. _____	82
TABLA 32. PRUEBA DE F DE FISHER Y T DE STUDENT PARA REPRODUCIBILIDAD. _____	84
TABLA 33. VALOR DE LA PENDIENTE DE LAS RECTAS DE REGRESIÓN. _____	84
TABLA 34. RESULTADOS DEL ENSAYO DE SENSIBILIDAD PARA MATERIA GRASA Y DENSIDAD RELATIVA A 20°C. _____	85
TABLA 35. RESULTADOS DEL ENSAYO DE SENSIBILIDAD PARA SÓLIDOS TOTALES Y SÓLIDOS NO GRASOS. _____	86
TABLA 36. DATOS OBTENIDOS PARA EL ENSAYO DE ROBUSTEZ. _____	87
TABLA 37. RESULTADOS DEL ENSAYO DE ROBUSTEZ. _____	88
TABLA 38. PRUEBA T DE STUDENT PARA ENSAYO DE ROBUSTEZ. _____	88
TABLA 39. RESULTADO DE LA COMPETENCIA DEL LABORATORIO. _____	89
TABLA 40. RESULTADO DE LA INCERTIDUMBRE. _____	89

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. TABLA DE DATOS 1 DE LA CALIBRACIÓN DEL MILKO SCAN FT1. _____	104
ANEXO 2. TABLA DE DATOS 2 DE LA CALIBRACIÓN DEL MILKO SCAN FT1. _____	105
ANEXO 3. DATOS DE VALIDACIÓN: LINEALIDAD. _____	106
ANEXO 4. DATOS DE VALIDACIÓN: EXACTITUD. _____	107
ANEXO 5. DATOS DE VALIDACIÓN: SENSIBILIDAD. _____	108
ANEXO 6. RESULTADOS DE LINEALIDAD: MATERIA GRASA Y DENSIDAD RELATIVA A 20°C. _	109
ANEXO 7. RESULTADOS DE LINEALIDAD: SÓLIDOS TOTALES Y SÓLIDOS NO GRASOS. ____	110
ANEXO 8. RESULTADOS DE EXACTITUD: MATERIA GRASA Y DENSIDAD RELATIVA A 20°C. _	111
ANEXO 9. RESULTADOS DE EXACTITUD: SÓLIDOS TOTALES Y SÓLIDOS NO GRASOS. _____	111
ANEXO 10. INFORME DE VALIDACIÓN DEL EQUIPO MILKO SCAN FT1 EN LA DETERMINACIÓN DE MATERIA GRASA DE LECHE CRUDA. _____	112
ANEXO 11. INFORME DE VALIDACIÓN DEL EQUIPO MILKO SCAN FT1 EN LA DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA A 20°C DE LECHE CRUDA. _____	115
ANEXO 12. INFORME DE VALIDACIÓN DEL EQUIPO MILKO SCAN FT1 EN LA DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES EN LA LECHE CRUDA. _____	118
ANEXO 13. INFORME DE VALIDACIÓN DEL EQUIPO MILKO SCAN FT1 EN LA DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS NO GRASOS EN LECHE CRUDA. _____	121
ANEXO 14. TABLA DE CORRECCIÓN DE LA DENSIDAD USANDO LACTODENSÍMETRO CALIBRADO A 15°C. _____	124
ANEXO 15. TABLA F: F DISTRIBUCIÓN (A: 0,05). _____	125
ANEXO 16. TABLA PARA PRUEBA DE HOMOGENEIDAD DE LA VARIANZA DE COCHRAN (P: 0,05). _____	125
ANEXO 17. TABLA DE T DE STUDENT. _____	126
ANEXO 18. NTE INEN 9:2012. _____	127
ANEXO 19. NTE INEN 11: 1984. _____	130
ANEXO 20. NTE INEN 12: 1973. _____	133
ANEXO 21. NTE INEN 14: 1984. _____	137



CLÁUSULA DE DERECHO DE AUTOR

Universidad de Cuenca.

Cláusula de Derechos de Autor.



Yo, Ana Sofía Pauta Zaruma, autora de la tesis “CALIBRACIÓN Y VALIDACIÓN DEL EQUIPO MILKOSCAN FT1 PARA LA DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS EN LECHE CRUDA EN LA INDUSTRIA DE LÁCTEOS SAN ANTONIO C.A”; reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímico Farmacéutico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autora.

Cuenca, 5 de Mayo del 2015.

Ana Sofía Pauta Zaruma

C.I: 030220254-4



CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL

Universidad de Cuenca.

Cláusula de Propiedad Intelectual.



Yo Ana Sofía Pauta Zaruma, autora de la tesis “CALIBRACIÓN Y VALIDACIÓN DEL EQUIPO MILKOSCAN FT1 PARA LA DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS EN LECHE CRUDA EN LA INDUSTRIA DE LÁCTEOS SAN ANTONIO C.A.”; certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 5 de Mayo del 2015.

Ana Sofía Pauta Zaruma

C.I: 030220254-4



AGRADECIMIENTO Y DEDICATORIA

En primer lugar quiero agradecer a Dios por haberme dado la oportunidad y las herramientas necesarias para lograr esta meta en mi vida.

Quiero agradecerle a mí: directora Dra. Diana Astudillo Neira y asesora Dra. Maritza Martínez por su constante dedicación y por el apoyo que me ha dado siempre que lo he necesitado.

También quiero agradecer al Ing. Juan Romero Jefe de Planta e Ing. Paúl Cárdenas Gerente de Control de Calidad de la Industria de Lácteos San Antonio C.A por su colaboración y por haberme dado la oportunidad de desarrollar mi tesis en las instalaciones de dicha empresa. De igual manera a todo el personal del Laboratorio de Bromatología de la Industria de Lácteos San Antonio: Dra. Estrella Ortiz (Jefa del Laboratorio), BQF. Leyde Gavilánez, Ing. Rosa Ochoa, Ing. Juan Morales, BQF. Jandry Neira, BQF. Juan Vásquez y BQF. Juan Illescas; por sus constantes ayudas a la largo de dicho proceso.

A mis Padres, mi hermana Diana, a mis Abuelitos Rubios y Tíos por su apoyo incondicional y por brindarme la oportunidad de estudiar; y también a mis amigos que han compartido durante este tiempo, los buenos y malos momentos.

Esta tesis esta dedicada con todo cariño para mi hermano, David.

Sofía

INTRODUCCIÓN

La calidad de los productos de una empresa es de suma importancia tanto para su prestigio como para su desarrollo económico.

La exigencia de los mercados y la toma de conciencia de sus derechos por parte de los consumidores, obliga a las empresas manufactureras a enfrentar escenarios cada día más competitivos. Esta demanda en la calidad así como en la necesidad de optimizar los procesos productivos ha hecho necesario que se dispongan de métodos analíticos rápidos y fiables.

En la elaboración de cualquier tipo de producto se debe utilizar una serie de procedimientos o métodos analíticos que garanticen su calidad y que aseguren que poseen la formulación adecuada.

Atendiendo a esta necesidad, diversas instituciones como la Agencia de Alimentos y Medicamentos (FDA), la Organización Internacional de Normalización (ISO), las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y los Buenos Procedimientos de Laboratorio (GLP) han venido formulando diferentes programas y parámetros para lograr el aseguramiento de la calidad de los diferentes productos que elaboran las empresas.

Actualmente hay un gran interés en la estandarización de los sistemas de aseguramiento de calidad en los laboratorios, puesto que la aceptación y credibilidad de sus resultados depende de la identificación de las fuentes de variabilidad, de su control y de la documentación que así lo demuestre. Lo cual es resultado en buena medida de la globalización del mercado de bienes y servicios.

En diciembre de 1999, se publicó la norma internacional ISO/IEC 17025, que establece los requisitos administrativos y técnicos que debe cumplir un laboratorio de pruebas y/o calibración para obtener reconocimiento internacional; dentro del contexto de la Organización Mundial del Comercio.



Una de las herramientas con las que se cuenta para asegurar la calidad de los productos y procedimientos es la validación de los mismos, por lo cual, la adopción de un nuevo método analítico debe estar soportado por suficientes datos de laboratorio y una validación bien documentada. La validación de los métodos analíticos y la calibración del equipo son elementos importantes de la garantía de calidad de los laboratorios.

La validación y verificación de métodos analíticos tiene por objeto asegurar de que los resultados obtenidos responden a los fines previstos mientras que la calibración y verificación del funcionamiento de los instrumentos y equipo pretende garantizar que funcionen correctamente. La validación de un sistema analítico, denominada también frecuentemente prueba de la conveniencia del sistema, se centra en controlar el funcionamiento combinado del método y el equipo en los procedimientos de análisis ordinarios.

Por lo cual dichas instituciones recomiendan que los métodos analíticos sean sometidos a estudio, o validación, con el objeto de demostrar que los datos obtenidos con dichos métodos son aceptables para el fin que se pretende. Las exigencias de validación de estos métodos analíticos, a efectos del cumplimiento de normas; incluyen estudios de exactitud, precisión, linealidad, selectividad, especificidad, sensibilidad, rango, límite de detección, límite de cuantificación, robustez, aplicabilidad e incertidumbre.

El proceso de validación exige el tratamiento estadístico para el manejo y análisis de los datos, permitiendo juicios con criterio que llevan a una correcta evaluación.

OBJETIVOS

General:

- ✓ Calibrar y Validar el Equipo MILKOSCAN FT1 para la determinación de parámetros fisicoquímicos en leche cruda para cumplir con los estándares de competencia técnica requeridos por la Norma ISO/IEC 17025.

Específicos:

1. Aplicar los métodos de ensayo validados en la empresa para la determinación de materia grasa, densidad relativa a 20°C, sólidos totales y sólidos no grasos en muestras consideradas como patrón para la validación y calibración del equipo MilkoScan FT1.
2. Calibrar el equipo MilkoScan FT1 para la determinación de materia grasa, densidad relativa a 20°C, sólidos totales y sólidos no grasos con las muestras consideradas patrón.
3. Efectuar la validación de la determinación de materia grasa, densidad relativa a 20°C, sólidos totales y sólidos no grasos en el equipo MilkoScan FT1 con las muestras consideradas patrón.
4. Cumplir con los criterios para la validación de métodos fisicoquímicos establecidos por guías y normas internacionales.

MARCO TEÓRICO

1. CALIBRACIÓN DE EQUIPOS DE LABORATORIO.

En un laboratorio que mantenga un sistema de gestión de la calidad, todos los aspectos del trabajo analítico y los posibles errores instrumentales deben controlarse por medio de procedimientos periódicos de mantenimiento y calibración preventivos.

El funcionamiento de los instrumentos y el equipo de laboratorio pueden alterarse con el paso del tiempo, ya sea a corto plazo, debido a las fluctuaciones del entorno, o a largo plazo, debido al envejecimiento de los componentes mecánicos, ópticos o electrónicos. Los pequeños cambios pueden pasar desapercibidos e inducir a error en los resultados obtenidos. También es posible que un equipo nuevo no haya sido controlado o sometido a pruebas antes de la entrega para establecer si cumple las especificaciones (Naciones Unidas, 2010).

1.1. Requisitos metrológicos.

Tabla 1. Datos que deben anotarse en el registro de mantenimiento del instrumento.

Denominación del equipo.
Nombre del fabricante, modelo y/o tipo.
Número de serie.
Fecha de recepción del equipo en el laboratorio.
Condición en que se recibió (nuevo, usado).
Información detallada sobre los controles del cumplimiento de las especificaciones pertinentes de calibración o estándares analíticos.
Fecha en que entro en servicio el equipo en el laboratorio.
Ubicación actual en el laboratorio.
Copia de las instrucciones de manejo del fabricante.
Definición de los criterios que se utilizarán para juzgar el buen funcionamiento.
Actividades de mantenimiento realizadas y posterior control del funcionamiento.
Historial de daños, problemas de funcionamiento, modificaciones o reparaciones de los instrumentos y de los posteriores controles de funcionamiento.
Frecuencia de los controles del cumplimiento de los criterios del buen funcionamiento.

(Naciones Unidas, 2010)

El laboratorio debe disponer de un programa y unos procedimientos establecidos de calibración de su equipo. Algunos proveedores de instrumentos y/o equipos pueden encargarse de certificar la calibración a través de un contrato ordinario de mantenimiento (ISO 9000, 2000).

Las exigencias actuales en materia de garantía de la calidad y buenas prácticas de laboratorio obligan llevar un registro de cada instrumento y/o equipo para todos los controles y procedimientos de calibración que se lleven a cabo y las medidas correctivas adoptadas (AEC, 2011).

1.2. Concepto de calibración.

Es la operación de comparar la salida de un equipo de medida frente a la salida de un patrón de exactitud conocida cuando la misma entrada (magnitud medida) es aplicada a ambos instrumentos (Gómez Ruiz & Alonso, 2010).

La calibración se puede expresar por medio de una declaración, una función, un diagrama, una curva o una tabla. En algunos casos puede consistir en una corrección aditiva o multiplicativa de la indicación con la incertidumbre de medición asociada (Duffau, y otros, 2010).

1.3. Proceso de calibración.

Los métodos instrumentales de análisis suelen ser métodos comparativos o relativos. Por tanto, para obtener la concentración del analito presente en una muestra, es necesario realizar la comparación fisicoquímica, con la de un conjunto de patrones de composición conocida a través de lo que se llama proceso de calibración. Es por ello que la calibración, como etapa integrante del proceso analítico, es de gran importancia y solo se puede obtener una buena exactitud en los resultados, si se aplican buenos métodos de calibración (Villareal, 2012).

El proceso de calibración consta de dos etapas:

- a. **Etapas de calibración:** En ella se establece el modelo que relaciona la variable dependiente (señal analítica) con la variable independiente (concentración).
- b. **Etapas de predicción:** Consiste en obtener las variables independientes, es decir, las concentraciones, de una o más muestras problema a partir del valor obtenido para la variable dependiente (Villareal, 2012).

1.4. Calibración univariante.

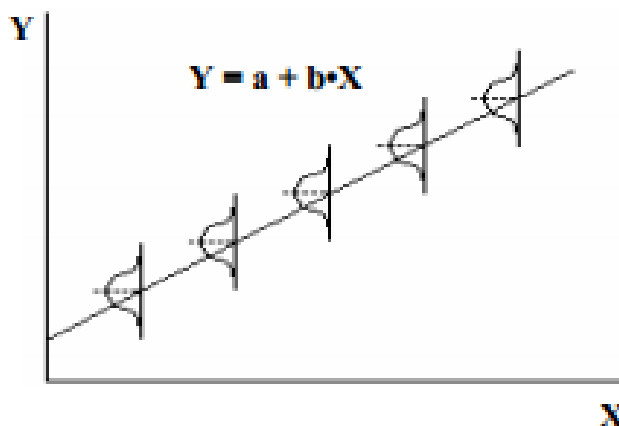
Dentro del campo de la Química Analítica los modelos de calibración más utilizados son de regresión univariante. Estos modelos se caracterizan por la existencia de una variable independiente (concentración) que se relaciona con la variable dependiente (señal instrumental) mediante una relación lineal.

La relación funcional que se establece entre ambas variables, se ajusta a un modelo matemático del tipo:

$$y = m \cdot x + b$$

(1). Ecuación de la recta de calibración.

Donde “y” es la variable dependiente, “x” la independiente, y **m** y **b** dos parámetros estimados a partir de los datos experimentales (Fuentes Navart & Bosch Ojeda, 2008).



(Asecal, 2010)

Figura 1. Ilustración gráfica del modelo de regresión lineal univariante.

El modelo que ajusta los valores experimentales por medio del algoritmo gaussiano de hacer mínimo el cuadrado de los residuales, es el más frecuentemente usado para el establecimiento de la ecuación de la función del calibrado (Stone & Ellis, 2006).

La aplicación de este algoritmo implica el cumplimiento de determinadas condiciones que pueden garantizar la validez del modelo de regresión univariante, siendo estas condiciones las siguientes:

- ✓ La existencia de la aleatoriedad de las muestras.
- ✓ La relación entre la variable independiente y la variable dependiente será lineal en todo el rango de aplicabilidad (linealidad).
- ✓ Los errores se tienen que producir únicamente en la medida de la señal instrumental.
- ✓ Los errores en la respuesta, deben presentar una distribución normal. De esta forma, se establece una única desviación estándar como representativa de la dispersión de la señal analítica para todo el rango lineal de concentración del analito. A esta condición se le denomina homogeneidad de varianza u homocedasticidad (Asecal, 2010).

2. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS.

Se define como método analítico a la adaptación específica de una técnica analítica para un propósito de medición seleccionado. Antes de ser usado, es necesario comprobar que dicho método cumple unos determinados requisitos que dependerán de la aplicación que se le quiere dar. Este proceso de verificación se conoce como validación y debe establecer las características de funcionamiento y limitaciones del método, así como la identificación de las influencias que podrían cambiar dichas características (USPXXII, 2000).

2.1. Concepto de validación de un método analítico.

Es un procedimiento para establecer por medio de estudios laboratoriales una base de datos que demuestren científicamente que un método analítico tiene las características de desempeño (exactitud, precisión, especificidad, límite de detección, límite de cuantificación, linealidad, sensibilidad, robustez e incertidumbre) adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas (Rodríguez B. E., 2011).

2.2. ¿Por qué se debe validar?

- ✓ Suministrar resultados altamente confiables.
- ✓ Asegurar que la metodología analítica aplicada es exacta, reproducible y robusta bajo rangos especificados.
- ✓ Parte integral del sistema de control de calidad.
- ✓ Requerimiento de las BPM, GLP, FAO, FDA, ISO/IEC 17025 (Asecal, 2010).

2.3. ¿Qué se debe validar?

En un laboratorio de análisis debe validarse todo equipo o procedimiento que influya en la calidad final del resultado, así tenemos:

- ✓ Pruebas analíticas, equipos, sistemas y servicios de establecimientos (como aire, agua, vapor) y procesos (como el de fabricación, limpieza esterilización, llenado estéril, liofilización, etc.).
- ✓ Los métodos de análisis (se considera aquella que no están comprendidos en obras oficiales como: AOAC, USP, BP, ISO, etc.).
- ✓ Todo cambio o modificación importante que se efectúe en el método, equipo o técnica de análisis del producto (Martí Veciana, 2000).

2.4. Tipos de validación.

2.4.1. Validación Prospectiva: Se realiza sobre un proceso antes de que sea implementado.

2.4.2. Validación Retrospectiva: Se realiza sobre el análisis de ensayos ya elaborados.

2.4.3. Validación Simultánea: Se produce cuando es imposible completar la validación antes de la puesta en el mercado del producto.

2.4.4. Revalidación: Se realiza cuando un método validado ha sido modificado en alguno de los pasos del procedimiento establecido, o se ha variado alguno de los instrumentos, reactivo o material empleado originalmente (Asecal, 2010).

2.5. Validación en la norma ISO/ IEC 17025:2005.

La norma internacional ISO/IEC 17025: “Requisitos generales relativos a la competencia de los laboratorios de ensayo y/o calibración”, fue producida como resultado de experiencias extensivas en el implemento de la guía ISO/IEC 25:1990 y de la EN 45001:1989, por la cual ambas fueron reemplazadas.

La norma contiene todos los requisitos que los laboratorios de calibración y/o ensayo deben cumplir en caso de que deseen demostrar que operan bajo un sistema de gestión de calidad, que tienen competencia técnica y que son capaces de generar resultados técnicamente válidos (Gómez Ruiz & Alonso, 2010).

En esta norma internacional se especifican los requisitos generales para llevar a cabo las calibraciones y/o ensayos incluyendo toma de muestras (muestreo). Esta se refiere a la calibración y/o ensayo utilizando métodos normalizados, no normalizados y métodos desarrollados en el laboratorio (Hilario & Carbonell, 2006).

La norma se aplica a todos los organismos que efectúan calibraciones y/o ensayos. Eso incluye, por ejemplo: laboratorios de primera, segunda o tercera generación e igualmente laboratorios en los cuales la calibración y/o ensayo forma parte de la inspección o verificación de productos.

Está compuesta (además de los capítulos generales de alcance, referencias normativas, términos y definiciones) de dos capítulos centrales dedicados a:

- ✓ **Requisitos de gestión**, que consta de los temas de organización y gestión, sistema de calidad, control de documentos, servicio al cliente, quejas, control de ensayos/calibraciones no conformes, acciones correctoras y preventivas, control de expedientes y auditorías internas.
- ✓ **Requisitos técnicos**, con los temas personal, acomodación y condiciones medioambientales, métodos de ensayo/calibración y validación de métodos/equipos (Leiva Guzmán, 2006).

Con respecto a la validación de métodos analíticos la norma ISO/IEC 17025 menciona en sus elementos lo siguiente:

- ✓ La validación es la confirmación mediante examen y la aportación de evidencias objetivas que demuestren el cumplimiento de ciertos requisitos para el uso específico previsto.
- ✓ El laboratorio debe validar los métodos no normalizados, los métodos diseñados/desarrollados internamente, los métodos normalizados (utilizados fuera de su campo de aplicación previsto) y las aplicaciones y modificaciones de métodos normalizados, con el fin de comprobar que son apropiados para el uso previsto.
- ✓ El rango y la exactitud de los valores que se pueden obtener con los métodos validados, evaluados para su uso previsto; deben ser los adecuados para satisfacer las necesidades de los clientes (Leiva Guzmán, 2006).

2.6. Técnicas utilizadas para la validación de los métodos analíticos.

- ✓ Uso de patrones o materiales de referencia.
- ✓ Comparación con métodos oficiales.
- ✓ Comparaciones interlaboratorios.
- ✓ Evaluación de la incertidumbre (Asecal, 2010).

2.7. Procedimiento de validación.

En un laboratorio se debería asumir que la validación es el primer paso a realizar cuando se adopta un método analítico de rutina; y es responsabilidad del laboratorio asegurar que esté validado adecuadamente, aún cuando se trate de un método “estándar” y ampliamente probado (Clavijo Díaz, 2002).

Entre los pasos a considerar en el proceso de validación tenemos:

- a. Establecer el plan de validación.
- b. Estandarización del método de medición.
- c. Desarrollo de pruebas de parámetros de validación.
- d. Evaluar resultados de la validación.
- e. Informe de validación.

2.7.1. Establecer plan de validación.

Se entiende como Plan de Validación, a un documento (tipo protocolo) en el cual se definen previamente a la experiencia; las pruebas o parámetros de validación necesarios y el diseño experimental a desarrollar en base a los requerimientos del método.

El “Plan de Validación” deberá contener:

- ✓ Alcance de la validación (método, muestras y requerimientos del método).
- ✓ Diseño experimental: Establecer la(s) muestra(s) a ser analizada(s): testigos reactivos, blanco, material certificado, material control, etc.
- ✓ El (los) parámetro(s) y prueba(s) a desarrollar. En caso de que la prueba no sea una convencional, sino diseñada por el responsable, también deberá indicarse en el documento.
- ✓ Criterios de aceptabilidad para cada parámetro de validación.

- ✓ Analista(s) responsable de realizar la(s) prueba(s) analítica(s).
- ✓ Materiales, insumos y equipos necesarios para desarrollar la validación.
- ✓ Responsable de la validación, fecha o tiempo programado para realizar la validación.
- ✓ Cualquier modificación realizada al plan de validación, durante el proceso, debe quedar debidamente documentada (Asecal, 2010).

2.7.2. Estandarización del método de medición.

En todas las etapas: los reactivos, materiales, instrumentos y equipos a utilizarse; deben quedar perfectamente definidos y conocidos por el personal que va realizar las determinaciones. Si es necesario se puede escribir un procedimiento interno.

Se dice que un proceso de medición esta “normalizado” cuando no existe errores sistemáticos de ningún tipo, ni errores aleatorios de causas especiales. Es decir, que la medición siempre se hace de la misma forma. Para lograr esto se requiere que exista:

- ✓ Un procedimiento de medición escrito.
- ✓ Personal capacitado.
- ✓ Medio ambiente controlado.
- ✓ Trazabilidad.
- ✓ Control de instrumentos y/o equipos de medición (Asecal, 2010).

2.7.3. Desarrollo de pruebas de parámetros de validación.

Para el desarrollo de las pruebas de validación, los analistas a cargo deberán conocer el procedimiento de método de ensayo y el número de ensayos o mediciones a realizar de acuerdo a lo establecido en el plan de validación.

Los resultados obtenidos en cada prueba deben ser registrados y almacenados.

Los ensayos o mediciones se aplicarán con el fin de poder realizar las siguientes pruebas de parámetros de validación:

Tabla 2. Parámetros de desempeño para validación de métodos analíticos.

Selectividad	Linealidad	Sensibilidad	Límites
Exactitud	Precisión	Robustez	Aplicabilidad

(Leiva Guzmán, 2006)

El analista y/o responsable de la validación deberá con los resultados obtenidos de cada prueba realizar los cálculos matemáticos, comparativos y/o estadísticos correspondientes a cada ensayo para lo cual podrá utilizar un software estadístico (como: Excel) (Jurado , 2008).

2.7.4. Evaluar resultados de la validación.

De cada parámetro de validación se deberá evaluar si los resultados de las pruebas aplicadas son satisfactorios, es decir, si cumplen con los criterios de aceptabilidad establecidos en el plan.

Es importante que la evaluación de la validación sea realizada por una persona que conozca tanto el método a validarse como de herramientas estadísticas, que permitan obtener información y conclusiones sobre el desempeño del método analítico (Universidad de Chile, 2004).

2.7.5. Informe de validación.

El responsable de la validación, deberá realizar un informe en el cual presentará los resultados, análisis estadístico de cada parámetro y las conclusiones de la validación. Además debe presentar la declaración de la aplicabilidad del método analítico.

Este informe deberá ser revisado por una tercera persona que tenga conocimiento en el área, y que no haya formado parte del proceso de validación.

Concluido el procedimiento de validación el personal de aseguramiento de calidad emitirá un certificado de validación, que unido al protocolo y el informe final se archivarán durante el tiempo de vida del producto (Duffau, y otros, 2010).

2.8. Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos.

La implementación de estos criterios permitirá llevar a cabo actividades de validación de métodos no normalizados o confirmación (validación parcial) de métodos normalizados que involucren mediciones fisicoquímicas y físicas cuantitativas y cualitativas, para asegurar que estos se puedan aplicar correctamente antes de utilizarlos para los ensayos analíticos.

Se aplica a los métodos fisicoquímicos: volumétricos, gravimétricos, potenciométricos, espectrofotométricos, cromatográficos y pruebas físicas empleadas en el análisis de agua, alimentos, fármacos, materias primas, producto terminado, entre otras (Vega Rodríguez, 2011).

2.8.1. Criterio 1: Clasificar el método como Normalizado o no Normalizado conforme a lo siguiente:

Método Normalizado:

- ✓ Método establecido por Normas Oficiales (INEN).
- ✓ Métodos Oficiales de la AOAC, EPA, USP, BP, ASTM, ISO, Codex Alimentarius, FDA, FAO, USDA.

Método no Normalizado es aquel:

- ✓ Desarrollado por el laboratorio (método propio).
- ✓ Método obtenido de publicaciones científicas (Journals, tesis, etc).
- ✓ Método normalizado modificado, ampliado o usado fuera de su alcance (Vega Rodríguez, 2011).

2.8.2. Criterio 2: Considerar los siguientes parámetros de desempeño de acuerdo al tipo de método.

Tabla 3. Parámetros de desempeño según el tipo de método.

Parámetro	Métodos normalizados			Métodos no normalizados
	FQ	Físicos		FQ y Físicos
	químicos	Cuantitativos	Cualitativos	químicos
Linealidad				
Limite de detección				
Limite de cuantificación				
Veracidad				
Precisión				
Incertidumbre				
Sensibilidad				
Selectividad				
Robustez				

(Vega Rodríguez, 2011)

2.8.3. Criterio 3: Clasificar el método analítico por tipo de prueba.

Tabla 4. Clasificación del método analítico por tipo de prueba.

TIPO DE PRUEBA	METODOLOGÍA		
Espectrofotométrica	E. UV – Visible. Turbiedad.	Absorción Atómica (AA). Plasma inductivante acoplado (ICP).	
Cromatográfica	C. de Líquidos (HPLC). C. de Gases (GC).	C. de Líquidos – Masas (HPLC – MS) C. de Gases – Masas (GC – MS)	
Potenciométrica	pH.	Ión selectivo	Conductimetría
Volumétrica	Valoraciones por titulación (manual y automática).		
Gravimétrica	Pérdida por secado.	Residuo de ignición.	
Física (Cuantitativa)	Materia extraña. Densidad relativa. Disolución. Desintegración.	Polarimetría. Osmolaridad. Color. Viscosidad.	Espectrometría de IR. Variación de volumen. Uniformidad de dosis. Temperatura de fusión. Rotación óptica.
Física (Cualitativa)	Pruebas de límites de cloruros, hierro, fluoruros, etc. Metales pesados. Inhibidores (formaldehído, oxidantes, etc.).		

(Vega Rodríguez, 2011)

2.8.4. **Criterio 4:** Establecer los parámetros finales de desempeño con base al tipo de prueba.

Tabla 5. Parámetros de desempeño según el tipo de prueba.

Parámetro de desempeño		Tipo de prueba					
		E	C	P	V	G	F
Linealidad		SI	SI	SI	SI	SI	SI
Límite de detección		SI ^a	SI ^a	NO	NO	NO	SI ^b
Límite de cuantificación		SI ^a	SI ^a	SI ^a	SI ^a	SI ^a	NO
Veracidad	Recuperación	SI	SI	NO	SI	SI	SI
	Sesgo	SI	SI	SI	SI	SI	SI
Precisión	Repetibilidad	SI	SI	SI	SI	SI	SI ^c
	Reproducibilidad	SI	SI	SI	SI	SI	SI ^c
Incertidumbre		SI	SI	SI	SI	SI	SI ^c
Sensibilidad		SI ^d	SI ^d	SI ^{d,e}	SI ^e	SI ^d	SI
Selectividad		SI ^d	SI ^d	SI ^{d,e}	SI	SI	SI ^b
Robustez		SI ^d	SI ^d	SI ^d	SI ^d	SI ^d	SI ^d
E: Espectrofotométrica. C: Cromatográficas. P: Potenciométrica. V: Volumétrica. G: Gravimétrica. F: Física.		SI^a: Solo para análisis a nivel de trazas. SI^b: Solo métodos cualitativos. SI^c: Solo métodos cuantitativos. SI^d: Solo aplica para métodos no normalizados. SI^e: Solo para el análisis de aniones y cationes para ión selectivo.					

(Vega Rodríguez, 2011)

2.8.5. Criterio N° 5. Evaluar los parámetros de desempeño como se detalla en las siguientes tablas:

Tabla 6. Evaluación de los parámetros de desempeño.

Parámetro	Muestras	Repeticiones	Calcular/determinar
Linealidad	-Mínimo 5 niveles de concentración.	-Cada nivel por triplicado.	-Calcular "m" y "r". -Elaborar gráfico de residuales (aleatoriedad).
LD (pruebas cualitativas)	-Mínimo 5 niveles de concentración.	-10 repeticiones por nivel.	-Elaborar tabla de respuesta de resultados positivos y negativos con respecto a la concentración.
Limite de detección y cuantificación	-Mínimo 5 niveles de concentración.	-Cada nivel por triplicado.	-Calcular "m", DE_m . - Estimar los límites (LD y LC).
Exactitud	-Mínimo 5 niveles de concentración.	-Cada nivel por triplicado.	-Calcular % de Recuperación. -Calcular el sesgo (concentración añadida menos la recuperada) y reportar en intervalo.
Precisión	-Tres niveles de concentración.	-Cada nivel por sextuplicado.	-Calcular el $\%CV_R$ y $\%CV_r$.
Sensibilidad	-Tres niveles de concentración.	-Cada nivel por triplicado.	-Graficar. -Calcular "m".
Selectividad	-Blancos de muestras o muestras adicionadas con cantidades conocidas de interferencias.		-Evaluar si la presencia de las interferencias, impurezas o productos de degradación.
Robustez	-Concentración equivalente al nivel medio estimado en el intervalo de trabajo - 8 muestras por duplicado.		-Identificar 4 a 7 factores que puedan tener un efecto significativo en el desempeño del método y variar ligeramente cada uno de ellos.
Incertidumbre	-No aplica.		-Utilizar la información obtenida de validación.

(Vega Rodríguez, 2011)

2.8.6. Criterio N° 6. Criterios de aceptación.

Tabla 7. Criterios de aceptación de los parámetros de desempeño.

Parámetro	Criterio de aceptación			
Linealidad	-Comportamiento lineal en la gráfica de concentración vs respuesta analítica. -Datos aleatorios en el gráfico de residuales. -Pendiente: valor cercano a 1. -Coeficiente de correlación: $r \geq 0,98$.			
LC práctico	Nivel inferior estimado en el intervalo de trabajo.			
LC estimado	Menor o igual al nivel inferior estimado en el intervalo de trabajo.			
Exactitud	Recuperación para contenido en alimentos y aguas.		Recuperación para residuos y contaminantes en alimentos y aguas.	
	Concentración del analito.	Criterio de aceptación.	Concentración del analito.	Criterio de aceptación.
	0,1 a 1%	90 a 108%	<1 µg/Kg	50 a 120 %
	1 a 10%	92 a 105%	1 a 10 µg/Kg	60 a 120 %
	10 a 99%	95 a 102%	10 a 100 µg/Kg	70 a 120 %
100%	98 a 101%	0,1 a 100 mg/Kg	70 a 110 %	
Precisión	Concentración/Prueba.		Repetibilidad.	Reproducibilidad.
	Para contenido en alimentos y aguas.			
	0,1 a 1%		$CV_r \leq 3\%$	$CV_R \leq 6\%$
	1 a 10%		$CV_r \leq 2\%$	$CV_R \leq 4\%$
	10 a 99%		$CV_r \leq 1,5\%$	$CV_R \leq 3\%$
	100%		$CV_r \leq 1\%$	$CV_R \leq 2\%$
	Para residuos y contaminantes en alimentos y aguas.			
	<1 µg/Kg		$CV_r \leq 35\%$	$CV_R \leq 53\%$
	1 a 10 µg/Kg		$CV_r \leq 30\%$	$CV_R \leq 45\%$
	10 a 100 µg/Kg		$CV_r \leq 20\%$	$CV_R \leq 32\%$
0,1 a 100 mg/Kg		$CV_r \leq 15\%$	$CV_R \leq 23\%$	
100 a 1000 mg/Kg		$CV_r \leq 10\%$	$CV_R \leq 16\%$	
Para productos farmacéuticos.				
Cromatográfica.		$CV_r \leq 2\%$	$CV_R \leq 2\%$	
Volumétrica.		$CV_r \leq 2\%$	$CV_R \leq 2\%$	
Espectrofotométrica.		$CV_r \leq 3\%$	$CV_R \leq 3\%$	
Robustez	Si $DE_d < DE$ el conjunto de factores no influye en el resultado y por tanto el método es robusto.			

(Vega Rodríguez, 2011)

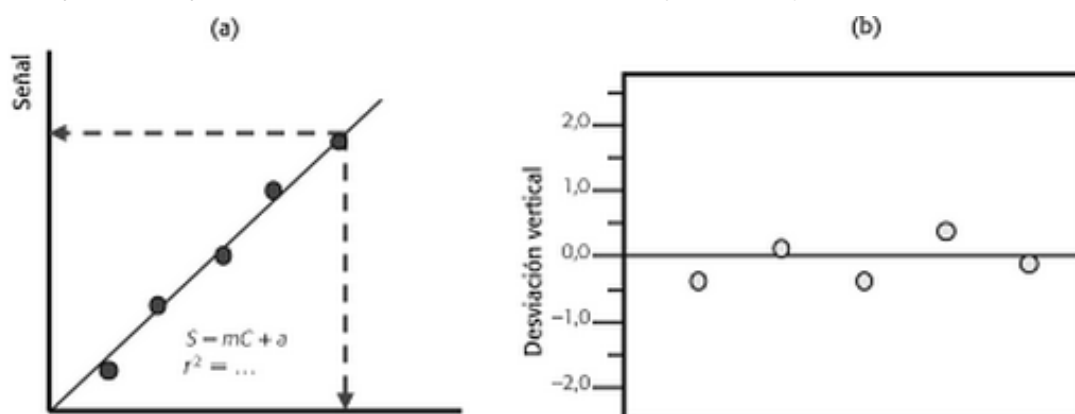
2.9. Parámetros de Validación.

2.9.1. Linealidad.

Es la capacidad del método analítico para generar resultados directamente proporcionales a la concentración o cantidad del analito en un rango definido. Se determina mediante el tratamiento matemático de los resultados obtenidos en el análisis del analito a diferentes cantidades o concentraciones (Castillo Aguilar Beatriz, 1996).

Los estimadores de regresión para un nivel de significación (α) dado (en la mayoría de trabajos químicos $\alpha = 0,05$) son:

- a. **Coefficiente de correlación (r).** Muchos autores plantean que para que el método se considere lineal, el coeficiente de correlación debe ser mayor que 0,99. Sin embargo, otros autores consideran que la mejor forma de indicar la linealidad del método estudiado será realizar una prueba estadística de t de Student (Villareal, 2012).
- b. **Desviación vertical de los datos:** Otra forma de comprobar la linealidad es mediante un gráfico que represente la desviación vertical de los datos experimentales respecto a los datos calculados con la línea recta obtenida por mínimos cuadrados. Si las desviaciones verticales son sistemáticamente positivas o negativas en determinadas regiones, entonces quizá los datos experimentales se ajusten mejor a una curva en vez de una recta (LTI, 2014).



(Asecal, 2010)

Figura 2. Comprobación de la linealidad de un método mediante (a) el coeficiente de correlación de la recta y (b) la desviación vertical de los datos.

- c. Pendiente (conocida también como coeficiente de regresión).** Indica la sensibilidad de calibración o del método y se expresa en unidades de respuesta sobre unidades de concentración o cantidad del analito (QuimiNet, 2008).
- d. Intercepto.** Es el estimador que se relaciona con la presencia de interferencias o errores sistemáticos. El intervalo de confianza del intercepto debe incluir al cero para cumplir con el requisito de proporcionalidad (Riu & Boqué, 2002).

2.9.2. Exactitud.

La exactitud expresa la cercanía de un resultado al valor verdadero. La validación de un método busca cuantificar la exactitud probable de los resultados evaluando tanto los efectos sistemáticos como los aleatorios sobre los resultados (Suárez Pérez, 2001).

Normalmente, la exactitud se estudia en dos componentes: la “veracidad” y la “precisión”.

a. Veracidad.

Es una expresión de que tan cercana se encuentra la media de un conjunto de resultados (producidos por el método) respecto del valor real. La veracidad se constituye en una medida de error sistemático. El sesgo o “bias” es la medida cuantitativa de la veracidad, y es la diferencia entre el valor esperado de los resultados de prueba y un valor de referencia aceptado (AOAC, 2005).

En función de su error relativo, los métodos pueden considerarse en términos generales como muy exactos ($Er < 1\%$), moderadamente exactos ($Er = 1 - 5\%$) o poco exactos ($Er > 5\%$) (García Martínez, Fernández Segovia, & Fuentes López, 2009).

Existen varias formas de evaluar la veracidad de un método como son:

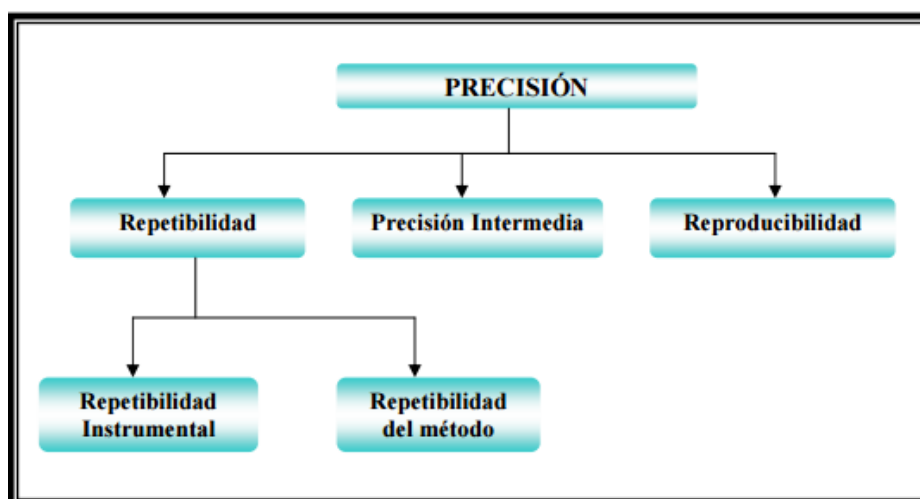
- ✓ Análisis de: material de referencia, muestras fortificadas con el analito de interés o análisis de muestras sintéticas (material de referencia interno).
- ✓ Comparación del método propuesto con un método de referencia.
- ✓ Ejercicios interlaboratorios (Martí Veciana, 2000).

En este caso se recomienda realizar una prueba G (Prueba de Cochran) de homogeneidad de varianza y si se demuestra que las varianzas son homogéneas, entonces se puede afirmar que el factor cantidad o concentración de la muestra no influye en la determinación (Stone & Ellis, 2006).

b. Precisión.

Refleja la medida en que los valores de una serie repetida de ensayos analíticos que se realizan sobre una muestra homogénea son semejantes entre sí. Aunque la USP expresa que la precisión es la expresión del grado de la reproducibilidad, la Norma Británica incluye la repetibilidad y la reproducibilidad (Rodríguez B. E., 2011).

La precisión engloba diferentes tipos de estudio:



(Rodríguez B. E., 2011)

Figura 3. Precisión y sus diferentes tipos de estudio.

b.1. Repetibilidad.

Estudia la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra en las mismas condiciones operativas (por un mismo analista, con los mismos aparatos y reactivos, etc.) en un mismo laboratorio y en un periodo de tiempo corto. La repetibilidad se expresa matemáticamente por el coeficiente de variación de una serie de medidas (Stone & Ellis, 2006).

b.2. Precisión Intermedia.

Estudia la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra pero en diferentes condiciones operativas (diferentes analistas, aparatos, días, etc.) y en un mismo laboratorio (Stone & Ellis, 2006).

b.3. Reproducibilidad.

Estudia la variabilidad del método bajo condiciones operativas diferentes y en distintos laboratorios. La reproducibilidad de dicho método de análisis se determina analizando una serie de alícuotas procedentes de lotes homogéneos en diferentes laboratorios, diferentes analistas y utilizando condiciones operativas y ambientales distintas pero siguiendo el procedimiento descrito en el método.

Se expresa con los mismos parámetros matemáticos que la repetibilidad. El coeficiente de variación en el estudio de la reproducibilidad debe ser igual o mayor que el obtenido en el estudio de repetibilidad para la misma cantidad o concentración debido a la mayor fuente de error que existe en la reproducibilidad (Clavijo Díaz, 2002).

2.9.3. Robustez.

Es la capacidad de un método analítico para no ser afectado por pequeños pero deliberados cambios en las condiciones experimentales. El estudio de la robustez del método analítico trata de evaluar como la variación aleatoria de las condiciones experimentales repercuten en la variabilidad de los resultados obtenidos, expresada como desviación estándar absoluta, desviación estándar relativa o coeficiente de variación de los mismos.

Para evaluar la robustez del método hay que identificar cuales son los factores experimentales críticos en dicho método (como por ejemplo diferentes laboratorios, reactivos, analistas, equipos, temperaturas de ensayo, etc). A continuación, se lleva a cabo un estudio multivariante mediante el cual es posible conocer cual de los factores bajo estudio ejerce una influencia más significativa (Gómez Ruiz & Alonso, 2010).

2.9.4. Sensibilidad.

Mide la capacidad de un método para distinguir pequeñas diferencias en la concentración del analito. Los factores que determinan la sensibilidad son la pendiente de la recta de calibrado y la precisión, de manera que si dos métodos tienen igual precisión será más sensible el que tenga una recta con mayor pendiente (USPXXII, 2000).

2.9.5. Incertidumbre.

La Guía EURACHEM define incertidumbre como el parámetro asociado con el resultado de una medida que caracteriza la dispersión de los valores que se pueden atribuir razonablemente al analizado. Según el VIM (Vocabulario Internacional de Metrología), el analizado, también llamado mesurando, es “la magnitud sujeta a medida”. Por tanto un analizado se refiere al analito o a la propiedad fisicoquímica que estamos determinando. Sin embargo, el analizado o mesurando debe interpretarse correctamente para considerar todas las fuentes de incertidumbre (EURACHEM, 2003)

El parámetro de incertidumbre puede ser, por ejemplo, una desviación estándar (o múltiplo dado de ella) o la amplitud de un intervalo de confianza. La incertidumbre de la medición no implica duda acerca de la validez de una medición; por el contrario, implica un incremento de la confianza en la validez del resultado de una medición (Jurado , 2008).

a. Medición de la incertidumbre.

Los laboratorios de análisis deben establecer y aplicar procedimientos de estimación de la incertidumbre de las mediciones. Esto se debe a que el cálculo del valor de la incertidumbre aumenta la garantía de que los resultados y conclusiones obtenidos con los métodos y programas analíticos aplicados.

Cualquier medición que hagamos entrañará un cierto grado de incertidumbre, por lo que el intervalo de incertidumbre que se fije será el rango dentro del cual se situará el valor real con un determinado grado de confianza. Normalmente se utiliza un grado de confianza del 95%. (Naciones Unidas, 2010).

b. Fuentes de Incertidumbre.

La incertidumbre de las mediciones, por lo general, tiene muchas fuentes.

La incertidumbre se calcula estimando los errores que se producen en las distintas etapas del análisis, por ejemplo, la etapa preanalítica, la homogeneización, el pesaje, el pipeteado, la inyección, la extracción, la derivación, la recuperación y las curvas de calibración (Jurado , 2008).

c. Componentes de la Incertidumbre.

En la estimación de la incertidumbre puede ser necesario tomar cada fuente de incertidumbre y tratarla por separado para obtener la contribución de esa fuente.

1. Incertidumbre estándar. Este componente está expresado como una desviación estándar.

2. Incertidumbre estándar combinada. Para un resultado de la medición (y), la incertidumbre total o incertidumbre estándar combinada es una estimación de la desviación estándar igual a la raíz cuadrada positiva del total de la varianza obtenida por la combinación de todos los componentes de la incertidumbre.

3. Incertidumbre expandida (U). Provee un intervalo dentro del cual el valor del analito es dado con un alto nivel de confianza. La incertidumbre expandida se obtiene multiplicando la incertidumbre estándar combinada por un factor k. La elección del factor k es en el nivel de confianza deseado (para un nivel de confianza del 95%, k es igual a 2) (Jurado , 2008).

3. PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS DE LA LECHE.

3.1. Principales componentes de la leche.

Tabla 8. Principales componentes de la leche expresados en valores medios por litro de leche.

AGUA	875 g		
GLÚCIDOS	48 g	MINERALES	9 g
- Lactosa.	48 g	De los cuales:	
MATERIA GRASA	36 g	- Ácido cítrico.	1,6 g
De la cual:		- Potasio.	1,4 g
- Lípidos simples.	35 g	- Calcio.	1,3 g
- Fosfolípidos.	0,5 g	- Cloruro.	1,2 g
- Sustancias liposolubles insaponificables.	0,5 g	- Fósforo.	1,0 g
SUSTANCIAS NITROGENADAS	33 g	- Sodio.	0,6 g
De las cuales:		- Azufre.	0,3 g
- Proteínas.	31,4 g	- Magnesio.	0,1 g
- Sustancias nitrogenadas no proteicas.	1,6 g		

(Romero del Castillo & Mestres Lagárriga, 2004)

3.2. Parámetros fisicoquímicos de la leche cruda.

Según la NTE INEN 9:2012 los requisitos fisicoquímicos que tiene que cumplir la leche cruda son:

Tabla 9. Requisitos fisicoquímicos de leche cruda.

Densidad Relativa (20°C)	1,028 – 1,032
Materia Grasa (% m/m)	Mínimo 3,0
Acidez titulable como Acido Láctico (% m/m)	0,13 – 0,17
Sólidos Totales (% m/m)	Mínimo 11,2
Sólidos no Grasos (% m/m)	Mínimo 8,2
Cenizas (% m/m)	Mínimo 0,65
Punto de congelación(°C)	-0,536 a -0,512
Proteínas (% m/m)	Mínimo 2,9
Ensayo de la reductasa (horas)	Mínimo 3
Reacción de estabilidad proteica	Negativo
Presencia de Conservantes	Negativo
Presencia de Neutralizantes	Negativo
Presencia de Adulterantes	Negativo
Grasas vegetales	Negativo
Suero de leche	Negativo
Prueba de Brucelosis	Negativo
Residuos de medicamentos veterinarios	Negativo

(INEN 9, 2012)

3.3. Parámetros Fisicoquímicos Validados.

3.3.1. Materia Grasa.

La materia grasa es un componente muy importante de la leche por sus implicaciones tecnológicas (fabricación de natas, mantequillas, etc.) y nutricionales (Alais, 2000).

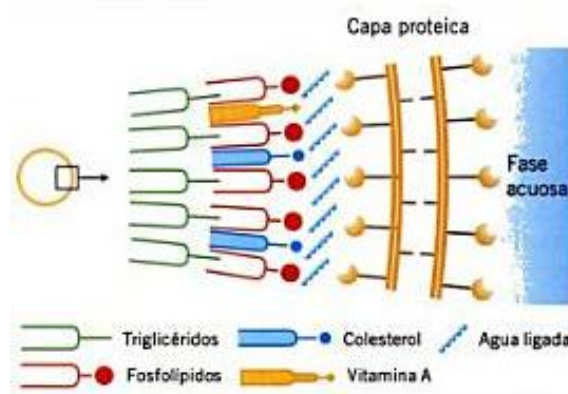
La calidad de la leche comercial y de sus derivados elaborados en la industria láctea, depende directamente de la calidad del producto original o materia prima, y posteriormente, de las condiciones de transporte, conservación y manipulación en la planta de producción (DGPA, 2005).

La determinación del contenido en grasa de la leche es muy importante en el control de calidad de la industria de lácteos, tanto para conocer su contenido nutricional como para pactar precios y detectar adulteraciones fraudulentas (aguado, desnatado...) que pueden provocar cambios en el valor nutricional, alteraciones de las características organolépticas e incluso poner en peligro la salubridad del producto (Millares de Torre, 2003).

Ha de recordarse que la leche es un ejemplo de emulsión de grasa en agua. La materia grasa constituye el segundo componente mayoritario, tras la lactosa. Comúnmente los lípidos de la leche se denominan “grasa” de la leche (Gil, 2010).

Estructura.

La materia grasa se encuentra en la leche en forma de pequeños glóbulos esféricos emulsionados en el suero de la leche. El tamaño de los glóbulos varía entre 2 y 10 μ m de diámetro dependiendo de factores como la especie, la raza, el periodo de lactación, etc. En la Figura 4 recoge un esquema de la estructura del glóbulo de grasa. Esta estructura asegura la estabilidad de la emulsión. En el centro del glóbulo se sitúan el colesterol, las vitaminas liposolubles, los triglicéridos insaturados y los de bajo peso molecular (que son líquidos a temperatura ambiente). Rodeado a estos se sitúan los triglicéridos sólidos, fosfolípidos y proteínas, de forma que retienen a los triglicéridos líquidos. Asociados a la membrana se encuentran también proteínas de carácter enzimático (xantina oxidasa y fosfatasa alcalina) y metales como hierro y cobre. En definitiva, el glóbulo de grasa es una masa de triglicéridos envueltos en una membrana lípidoproteica (Gil, 2010).



(Gil, 2010)

Figura 4. Modelo de la estructura del glóbulo de grasa de la leche.

La estabilidad de estos glóbulos se debe a tres factores principales:

- ✓ La presencia de una capa de fosfolípidos en la membrana con la parte apolar orientada hacia el interior y la polar hacia la fase acuosa, estabilizando el glóbulo.
- ✓ La membrana posee globulinas con propiedades aglutinantes (esenciales para el proceso de montado de natas).
- ✓ Los glóbulos están cargados negativamente, con lo que se asegura la repulsión electrostática de los diferentes grupos (Gil, 2010).

3.3.2. Densidad relativa.

Densidad relativa es la relación entre la densidad de una sustancia y la densidad del agua destilada, considerando ambas a una temperatura determinada.

Cuando se habla de densidad de la leche se hace referencia en realidad a su peso específico, puesto que es este el que se mide y no la densidad absoluta. Efectivamente, la definición de densidad es la medida de la masa de una unidad de volumen de una sustancia, y esta es verdaderamente difícil de medir, sobre todo en condiciones útiles en la rutina diaria de una industria lechera (Gil, 2010).

El peso específico es, como indica su nombre, la determinación del peso de un volumen determinado de una sustancia, en comparación con el peso del mismo volumen de agua, a una temperatura previamente fijada. Para ello, se llena una probeta con leche y se acondiciona a 20°C, manteniendo la emulsión de la fase grasa por agitación mecánica suave. Una vez alcanzada la temperatura, se introduce un densímetro (flotador de vidrio que lleva en la parte inferior un contrapeso, y en la parte superior una regleta graduada, calibrado en origen y sometido a recalibraciones periódicas durante su vida útil) que, una vez en equilibrio en el líquido, dará el peso específico de la muestra por lectura directa en la regleta superior (Gil, 2010).

El peso específico de la leche entera, con una materia grasa de unos 36 g/L y unos sólidos no grasos de 85 g/L, es aproximadamente 1.030 g/L y es el resultado ponderado de las aportaciones de las distintas sustancias en solución, en dispersión coloidal y en emulsión.



La materia grasa pura tiene un peso específico de 0.93 g/L, es decir, muy inferior al del agua a 20°C, que puede considerarse prácticamente igual a 1g/L (0,998 g/L), por lo que, a la hora de considerar el significado del peso específico de la leche, hay que tener en cuenta sobre todo la concentración de materia grasa. Una vez descontado este efecto, las sustancias que mas afectan al peso específico o son la lactosa, las sales minerales disueltas y las proteínas (Gil, 2010).

3.3.3. Sólidos totales.

Es el producto resultante de la desecación de la leche mediante procedimientos normales (INEN 14, 1984).

El porcentaje promedio de sólidos totales está representado por la materia grasa en emulsión, las proteínas en suspensión coloidal; y la lactosa, vitaminas, sales y otros componentes orgánicos e inorgánicos en solución (Universidad de Zulia, 2008).

3.3.4. Sólidos No Grasos.

Son los sólidos totales a excepción de la grasa. Ellos son: proteínas, azúcares, vitaminas, enzimas y materia mineral.

La determinación de sólidos totales (ST) y sólidos no grasos (SNG) es de importancia para:

- ✓ Determinar si una muestra cumple con los requisitos legales establecidos.
- ✓ Dicho valores combinados con la información lactométrica y otras pruebas complementarias permite establecer si una leche se encuentra adulterada.
- ✓ Establecer el rendimiento de la leche para la elaboración de productos lácteos (queso, yogurt, leche en polvo, etc).
- ✓ Tener valores de referencia para la selección genética de los rebaños (Romero del Castillo & Mestres Lagárriga, 2004).

4. MILKOSCAN FT1.

4.1. Uso.

El analizador MilkoScan FT1 está dedicado al análisis de leche líquida. Permite controlar y estandarizar los productos lácteos líquidos, al tiempo que realiza una detección de anomalías.



(Dairy Foods, 2014)

Figura 5. MilkoScan FT1.

Es ideal para:

- El control rápido en la plataforma, lo que permite optimizar la separación, el pago justo y la detección de anomalías.
- La estandarización de la leche para aprovechar al máximo las materias primas (leche cruda) y conseguir unos productos de calidad constante.
- La supervisión de la calidad de los productos finales.

Se utiliza para el análisis de diversos parámetros de la leche, entre los que incluye: materia grasa, proteína, lactosa, sólidos totales, sólidos no grasos, punto crioscópico, acidez total, densidad, ácido cítrico, caseína, urea, sacarosa, glucosa y fructosa (FOSS, 2011).

4.2. Tecnología.

Unidad FTIR de fabricación específica para operaciones de análisis fiables.

El MilkoScan FT1 se ha fabricado basándose en la tecnología demostrada y ampliamente utilizada del analizador FTIR del MilkoScan FT120. Por este motivo es una plataforma sólida para el análisis de leche líquida, que emplea la tecnología de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR).

El interferómetro FTIR analiza el espectro infrarrojo medio completo.

Es un producto de laser de clase I, que tiene un láser totalmente protegido por su contenedor. En condiciones normales de uso, no existe riesgo de radiación.

Su uso generalizado se debe principalmente a que permite realizar análisis cuantitativos de multicomponentes en muestras, con un mínimo de preparación. Esta metodología, además, se caracteriza por ser no destructiva, rápida, no emplear reactivos químicos, disminuir el error del operador y requerir menos mano de obra que los métodos tradicionales empleados en el laboratorio. Sin embargo, se debe tener presente que es un método secundario, lo cual significa que debe ser calibrado y posteriormente validado contra otras metodologías (Zossi, Ruiz, & Sorol, 2010).

También se debe mencionar que presenta algunas desventajas, entre las cuales se destacan: el alto costo de los equipos, la competencia técnica que debe poseer el operador y el tiempo requerido para desarrollar una base de datos que permita obtener ecuaciones de calibración robustas, que originen predicciones confiables.

También se trata de una solución de FTIR muy sólida, que se puede usar en laboratorio y ofrece una buena repetibilidad y sensibilidad. La precisión y repetibilidad de los resultados son equiparables (o superiores) a las de los métodos químicos, pero sin los largos tiempos de pruebas.

El rendimiento es conforme a la AOAC (Association of Analytical Chemists) y la IDF (International Dairy Federation) (FOSS, 2011).

4.2.1. Tecnología de infrarrojo por transformada de Fourier.

Fundamento.

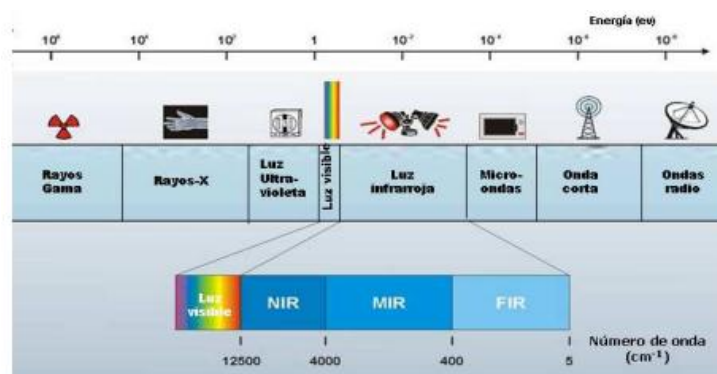
Cuando la materia es expuesta a la radiación electromagnética, ésta puede ser absorbida, transmitida, reflejada, dispersada, o bien puede producirse fotoluminiscencia. Este último término es utilizado para designar diferentes efectos como fluorescencia, fosforescencia y dispersión Raman (Universidad de Valparaíso, 2010).



(Rodríguez, Gatti, Otheguy, & Vega, 2010)

Figura 6. Interacción de la radiación electromagnética con la materia.

Cuando la luz incidente interactúa con la materia y es absorbida surge lo que se conoce como espectroscopía de absorción, que puede ser ultravioleta (UV), visible (V), o espectroscopía de absorción infrarroja (IR), según la energía de la luz incidente (LTI, 2014).



(Jimaré , Bosch Ojeda, & Sánchez Rojas, 2008)

Figura 7. Espectro electromagnético. La espectroscopía FT-IR emplea la radiación MIR.

La espectroscopía infrarroja media (MIR) se basa entonces, en la absorción de luz infrarroja (4000 a 400 nm) por parte de las moléculas. Esta absorción produce la excitación de los estados vibracionales, estiramientos y balanceos y estados rotacionales de algunas moléculas, que poseen una frecuencia de vibración en el rango infrarrojo del espectro electromagnético (LTI, 2014).

FTIR es una técnica de espectroscopía vibracional que se ha utilizado para la identificación en campo de sustancias desconocidas durante más de 10 años (Rodríguez, Gatti, Otheguy, & Vega, 2010).

4.2.2. Interferómetro: El motor de un sistema de FTIR.

Un interferómetro convencional funciona mediante la división de la luz IR de una fuente espectral en dos haces y reflejando un haz a partir de un espejo fijo y el otro a partir de un espejo móvil. El espejo móvil introduce un retardo de tiempo que genera una mezcla de interferencia constructiva y destructiva cuando se recombinan los haces. La exploración de esta señal en función de la posición del espejo produce un interferograma, que se puede reconstruir en un espectro de IR empleando matemática transformada de Fourier (Smith Detection, 2014).

El término espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier se origina en el hecho de que una transformada de Fourier se requiere para convertir los datos brutos en el espectro real (Docsetools, 2014).

4.3. Calibración del MilkoScan FT1.

El MilkoScan FT1 es suministrado con una calibración básica o más correctamente llamado "Modelo de Predicción". Estos modelos son hechos gracias al análisis de muestras alrededor del mundo. Este modelo predictivo relaciona el valor del parámetro fisicoquímico que se obtiene con equipo con el valor obtenido por el método oficial. Luego el software de calibración del equipo, calcula y emite un valor (FOSS, 2011).

Cuando realizamos la instalación del MilkoScan FT1 podría haber pequeñas diferencias con la Calibración Global, razón por la cual es necesario realizar un ajuste de la calibración de manera local. El ajuste se efectúa mediante un juego de muestras. En cada colección de muestras se incluirá los espectros infrarrojos del producto local y la química de la referencia valorada para esta muestra por métodos oficiales emitidos en la guía del equipo Milkoscan FT1 (FOSS Analytical A/S, 2011).

En el proceso de calibración se pone en correlación los espectros infrarrojos proporcionados por el equipo y la química de referencia obtenida por métodos oficiales, mediante una ecuación que se obtiene por un método de regresión lineal (FOSS, 2011).

FOSS proporciona un software básico para la calibración para leche, crema y suero. El ajuste de la calibración se debe realizar para asegurar el óptimo funcionamiento del sistema, en cuanto al análisis de sus productos (FOSS, 2011).

MATERIALES Y MÉTODOS

1. TIPO DE ESTUDIO.

- ✓ Analítico, Prospectivo, Experimental.

2. UNIVERSO.

Leche cruda de 40 proveedores de la Empresa de Lácteos San Antonio C.A “NUTRILECHE” procedentes de 5 provincias: las cuales incluyen Cañar, Azuay, Loja, Morona Santiago y Chimborazo.

2. MANEJO DE DATOS.

3.1. Criterio de inclusión.

- ✓ Leche cruda que se recibió en la Industria de Lácteos San Antonio entre las 8 am hasta las 4 pm.

3.2. Criterios de exclusión.

- ✓ Leche cruda de proveedores que llegaron fuera del horario establecido.
- ✓ Leche cruda que no cumplió con requisitos establecidos por el laboratorio de Bromatología (Tabla 10).

Tabla 10. Valor de los parámetros para recepción de leche cruda en la Industria de Lácteos San Antonio C.A.

Parámetro	Criterio de aceptación
pH (muestra sin calentar).	6,60 – 6,80
pH a 20 ± 2°C.	6,60 – 6,74
Acidez a 20 ± 2°C.	12,15 – 14,4 °D
Antibióticos, adulterantes.	Ausencia
Recuento de células somáticas.	7x10 ⁵ células somáticas/mm ³

Fuente: Cortesía de la Industria de Lácteos San Antonio C.A.

3. MUESTREO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA.

Se efectuó un muestreo no probabilístico de tipo accidental o casual, de muestras que se analizaron entre las 8 am a 4 pm.

Se analizaron un total de 80 muestras de leche cruda para efectuar la calibración del equipo. De igual manera se analizaron 80 muestras de leche cruda para efectuar la validación del equipo.

4. TOMA DE LA MUESTRA.

Personal calificado de la empresa receptó los camiones cisterna y realizó la toma de la muestra. El laboratorista encargado de la recepción de la materia prima recibió las muestras y realizó los análisis de plataforma (Tabla 10) y aprobó las muestras que cumplieron con todos los criterios establecidos por la empresa.

Volumen de muestra: 500 ml de leche cruda del mismo proveedor como mínimo.

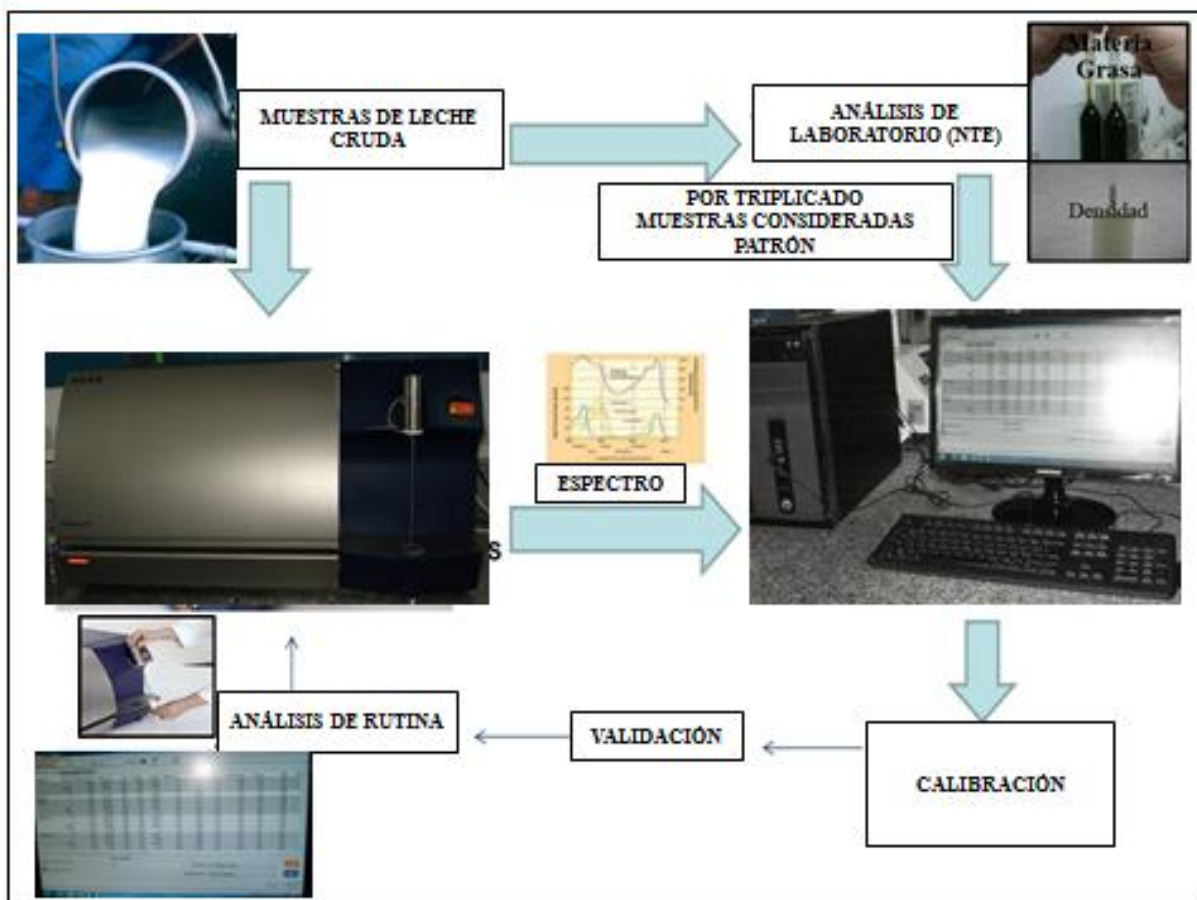
5. FLUJOGRAMA DE TRABAJO.



Fuente: Autora.

Figura 8. Flujoograma general de trabajo 1.

NOTA: La determinación de los parámetros fisicoquímicos según NTE INEN 9:2012 se efectuó por triplicado para considerar dichas muestras como PATRÓN, en primera instancia para la calibración del equipo y posteriormente para la validación. La calibración se efectuó en 10 días (8 muestras por día). En cambio la validación se desarrolló por un mes (20 muestras por semana). Para la calibración las muestras se analizaron por cuadruplicado por el equipo MilkoScan FT1, en cambio para la validación se siguió el esquema de la Figura 17.



Fuente: Autora.

Figura 9. Flujograma general de trabajo 2.

6. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS.

Tabla 11. Cuadro de materiales, reactivos y equipos.

Materiales	Reactivos	Equipos
-Probeta de 250 cm ³ . -Pipeta aforada de 10, 1 y 10,94 cm ³ . -Lactodensímetro. -Recipientes plásticos.	-Ácido sulfúrico Gerber. -Alcohol amílico Gerber. -Agua destilada. -Solución de encerado (S-6060) para el Equipo MilkoScan FT1. -Solución de limpieza (S-470) para el Equipo MilkoScan FT1.	-Centrífuga Funke Gerber. -Baño María Funke Gerber. -MiloScan FT1 de FOSS. -Termómetro digital.

Fuente: Autora.

7. MÉTODOS DE ANÁLISIS OFICIALES.

8.1. MÉTODO DE ANÁLISIS OFICIAL PARA DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE MATERIA GRASA EN LECHE: Método Gerber (NTE INEN 12:1973).

Fundamento.

El método Gerber consiste en separar la materia grasa dentro de un recipiente medidor, llamado butirómetro, de dimensiones estandarizadas, medir el volumen e indicarlo en un tanto por ciento en masa. El butirómetro debe estar completamente limpio y sobre todo libre de restos de grasa. Un volumen determinado de muestra es tratado en un butirómetro con ácido sulfúrico y alcohol amílico (NMX-F-3878, 1982).

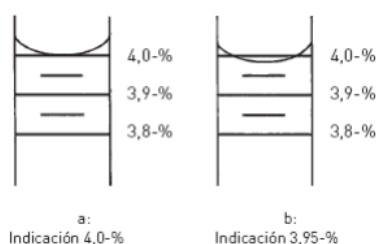


(García Martínez, Fernández Segovia, & Fuentes López, 2009)

Figura 10. Butirómetro Gerber.

Este proceso se lleva a cabo por medio del ácido sulfúrico Gerber (ácido sulfúrico concentrado de densidad (20°C) 1.815 ± 0.003 g/mL). El ácido sulfúrico oxida e hidroliza los componentes orgánicos de la envoltura protectora de los glóbulos de grasa, las fracciones de las albúminas de leche y la lactosa. Por otra parte, la adición de alcohol amílico (2-metilbutanol, 3-metilbutanol) facilita la separación de la materia grasa y, al final, resulta una línea divisoria clara entre la materia grasa y la solución ácida. Mediante centrifugación la grasa es separada en el vástago graduado del butirómetro, donde se lee directamente el contenido en grasa expresado en gramos/100 g de muestra (Gil, 2010).

Leer el resultado en valores medios de escala, es decir, con un error de 0,05%. Los butirómetros de leche no permiten resultados más exactos. Si el menisco toca la marca de la graduación de la escala, el resultado leído es válido, así en Figura 12 a, el resultado de la medición sería 4%. Si el menisco está entre marcas de graduación, se toma el valor inferior, en la Figura 12 b el resultado sería 3,95% (NMX-F-3878, 1982).



(García Martínez, Fernández Segovia, & Fuentes López, 2009)

Figura 11. Ejemplo de lectura sobre la escala del butirómetro.

Se trata de un método de rutina empleado comúnmente en las industrias lácteas, de ejecución rápida y muy precisa. Puede aplicarse a la leche y derivados lácteos, como la nata, el yogur, el queso o el helado de crema (Norma ISO 2446, 2008).

8.2. MÉTODO DE ANÁLISIS OFICIAL PARA DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA A 20°C DE LA LECHE: Método del Lactodensímetro (NTE INEN 11:1984).

Fundamento.

El método se basa en el uso de un densímetro graduado adecuadamente (INEN 11, 1984).

La densidad de la leche no es un valor constante, por estar determinada por dos factores opuestos y variables:

1. Concentración de los elementos disueltos y en suspensión; la densidad varía proporcionalmente a esta concentración.
2. Proporción de materia grasa; teniendo esta una densidad inferior a 1, la densidad global de la leche varía de manera inversa al contenido graso.

La densidad varía también con la temperatura por esta razón se hace uso de los termolactodensímetros y las tablas de corrección de densidad.

La densidad de la leche recién ordeñada es inestable y se eleva un poco con el tiempo. El aumento es del orden de 0,001 pero en este caso debe también tener su parte el desprendimiento de los gases contenidos (Alais, 2000).

8.3. MÉTODO DE ANÁLISIS OFICIAL PARA DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES EN LECHE CRUDA: Método para calcular el contenido de Sólidos Totales en la leche a partir de su densidad y contenido de Materia Grasa (NTE INEN 14:1984).

Cuando se conoce el contenido de materia grasa y la densidad de la leche, el contenido de sólidos totales puede calcularse directamente mediante la siguiente ecuación:

$$ST = 250(d_{20} - 1) + 1,22MG + 0,72$$

Siendo:

- ✓ **ST:** Contenido de sólidos totales (%m/m).
- ✓ **d₂₀:** Densidad relativa a 20°C.
- ✓ **MG:** Contenido de grasa (%m/m).

Este método de cálculo da resultados comparables con los obtenidos al aplicar el método de ensayo descrito en esta norma; sin embargo, presenta la desventaja de no permitir el cálculo del contenido de cenizas (INEN 14, 1984).

8.4. MÉTODO DE ANÁLISIS OFICIAL PARA DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS NO GRASOS EN LECHE CRUDA: Método para calcular el contenido de Sólidos No Grasos en la leche cruda a partir de contenido en Sólido Totales y Materia Grasa (NTE INEN 14:1984).

Se puede determinar aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{SNG} = \text{ST} - \text{MG}$$

Donde:

- ✓ **SNG:** Sólidos no grasos (%m/m).
- ✓ **ST:** Sólidos totales (%m/m).
- ✓ **MG:** Materia grasa (%m/m).

8. METODOLOGÍA DEL EQUIPO MILKOSCAN FT1.

9.1. FUNDAMENTO.

MilkoScan FT1 efectúa el análisis de diversos parámetros fisicoquímicos de la leche cruda (materia grasa, ST, SNG, densidad, acidez, entre los principales) mediante la tecnología de infrarrojo transformada de Fourier (FTIR).

9.2. CARACTERÍSTICAS.

Es un producto de láser de clase I. En condiciones normales de uso, no existe riesgo de radiación.

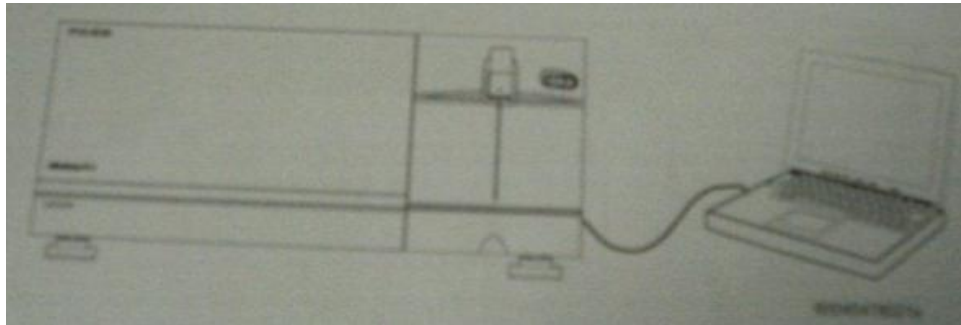
El láser integrado es de clase 3B con las siguientes especificaciones:

- ✓ **Tipo:** Láser de Helio-Neón.
- ✓ **Salida máxima de laser:** 5mV.
- ✓ **Longitud de onda emitida:** 632,8nm.

9.3. PARTES.

El sistema consta de dos partes vitales:

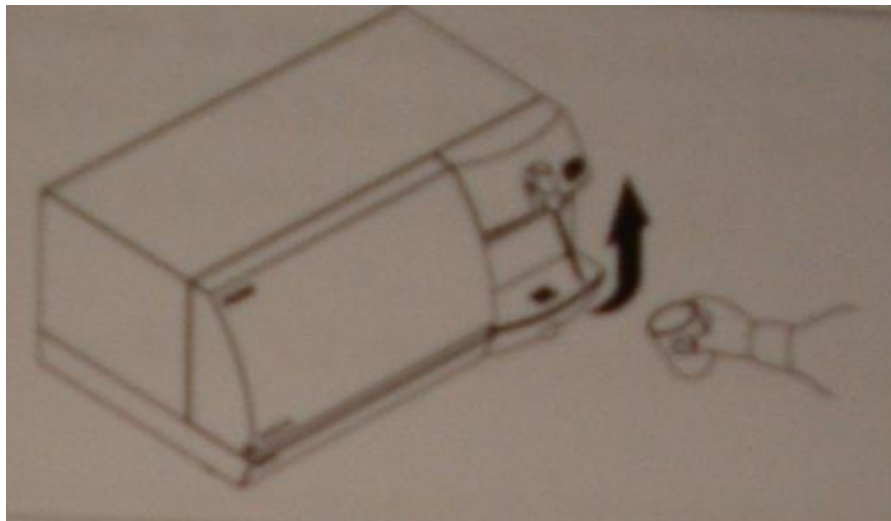
- a. La unidad del analizador y b. El software de MilkoScan FT1.



(FOSS, 2011)

Figura 12. Unidad del analizador y Software del Equipo MilkoScan FT1.

a. Unidad del analizador.



(FOSS, 2011)

Figura 13. Unidad del analizador.

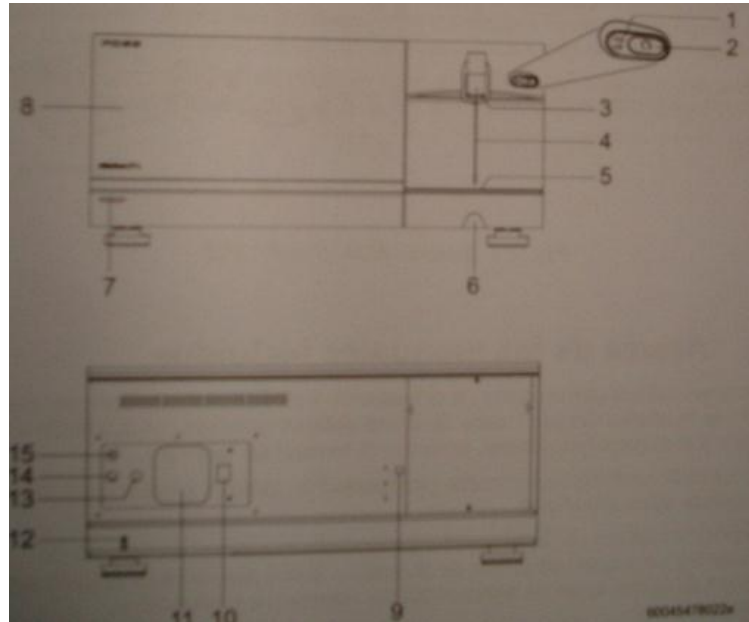
9.4. DESCRIPCIÓN.

El instrumento posee 3 LED de estado situados en la parte delantera. Las Luces LED indican lo siguiente:

- ✓ **LED verde en:** listo para el análisis.
- ✓ **LED verde en:** el instrumento ya está analizando o en modo de almacenamiento, el PC está arrancando o se ha producido algún fallo de funcionamiento.
- ✓ **LED rojo en:** encendido.

Partes externas:

Figura 14. Partes externas de la unidad del analizador.

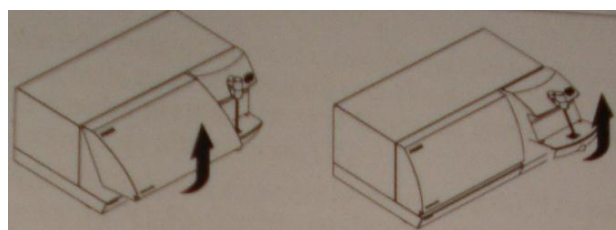


(FOSS, 2011)

Tabla 12. Partes externas de la unidad del analizador.

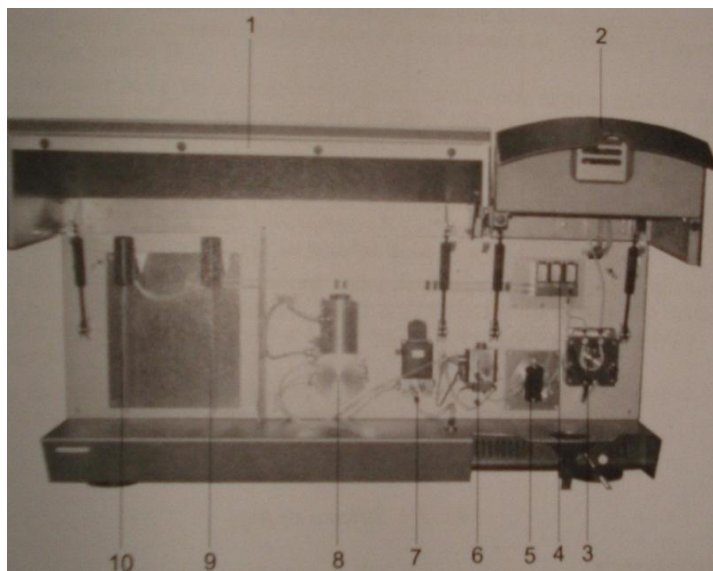
1. LED: listo para el análisis.	6. Salida de residuos.	11. Filtro de aire.
2. Botón de inicio.	7. LED: encendido.	12. Conector de tierra.
3. LED: analizando.	8. Cubierta frontal.	13. Cable de alimentación.
4. Pipeta.	9. Conector USB.	14. Encendido/apagado.
5. Estante de muestras.	10. Selector de tensión.	15. Fusible térmico.

(FOSS, 2011)



(FOSS, 2011)

Figura 15. Cubierta delantera de la unidad del analizador.

Partes internas.**Figura 16.** Piezas internas detrás de la cubierta delantera.

(FOSS, 2011)

Tabla 13. Piezas internas detrás de la cubierta delantera.

1. Cubierta derecha	6. Válvula unidireccional
2. Bomba peristáltica	7. Regulador de presión
3. Válvulas	8. Bomba de alta presión
4. Intercambiador de calor	9. Pipeta: líquido de encerado
5. Cubierta izquierda	10. Pipeta: líquido limpio.

(FOSS, 2011)

9.5. PRINCIPIO DE FUNCIONAMIENTO.

Cuando hay una muestra bajo la pipeta y el analizador se pone en marcha, ocurren 4 sucesos:

1. La pipeta empieza a vibrar para mantener el filtro limpio.
2. La bomba peristáltica empieza a bombear.
3. La bomba de alta presión empieza a bombear.
4. La válvula de derivación se abre para que los residuos puedan salir del sistema.

Se requiere una presión alta para bombear el líquido a través de intercambiador de calor, especialmente cuando se trata de productos de elevada viscosidad. Esta presión se consigue por la bomba peristáltica, que funciona como una bomba reforzadora de presión para la bomba de alta presión. Cuando pasa por el intercambiador de calor, la muestra se calienta a 40°C a partir de una temperatura inicial de entre 5 y 39°C. Es posible medir muestras individuales de hasta 55°C, pero si se coloca una serie de muestras calientes, el interferómetro se sobrecalentará y lo cual provocará una avería. Una vez calentada la muestra, esta pasa al intercambiador de calor. Aquí la muestra se homogeniza en el homogeneizador integrado de dos fases, en el cual existe una presión de 200 bares. Dicha presión aumenta por acción de la bomba de alta presión. Luego de pasar por el homogeneizador, la muestra recorre el filtro en la línea y sale por la válvula de derivación, para llegar al contenedor de residuos. Así se limpia la muestra anterior del sistema y se expulsa las partículas del filtro en la línea. El 85% de muestra pasa por aquí y el resto sigue esta ruta:

- ✓ La válvula de derivación se cierra. Esto significa que el líquido de muestra pasa por el filtro en la línea y se dirige a la cubeta. En el filtro en la línea, se eliminan todas las partículas que podrían dañar la cubeta.
- ✓ Posteriormente la muestra pasa por el regulador de presión y se dirige hacia la zona de desecho. Esto dura hasta que toda la muestra restante haya sido bombeada por todo el sistema y el análisis finalice (FOSS Analytical A/S, 2011).

10. SISTEMA DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS.

10.1. ELECCIÓN DE PARÁMETROS DE VALIDACIÓN.

Para el cumplimiento de la Norma ISO/IEC 17025 es necesario verificar que los requisitos relacionados a la calidad de las medidas, puedan satisfacerse utilizando el método de análisis propuesto. Los parámetros seleccionados para esta verificación, así como los objetivos establecidos para cada uno de los métodos validados se definen a continuación:

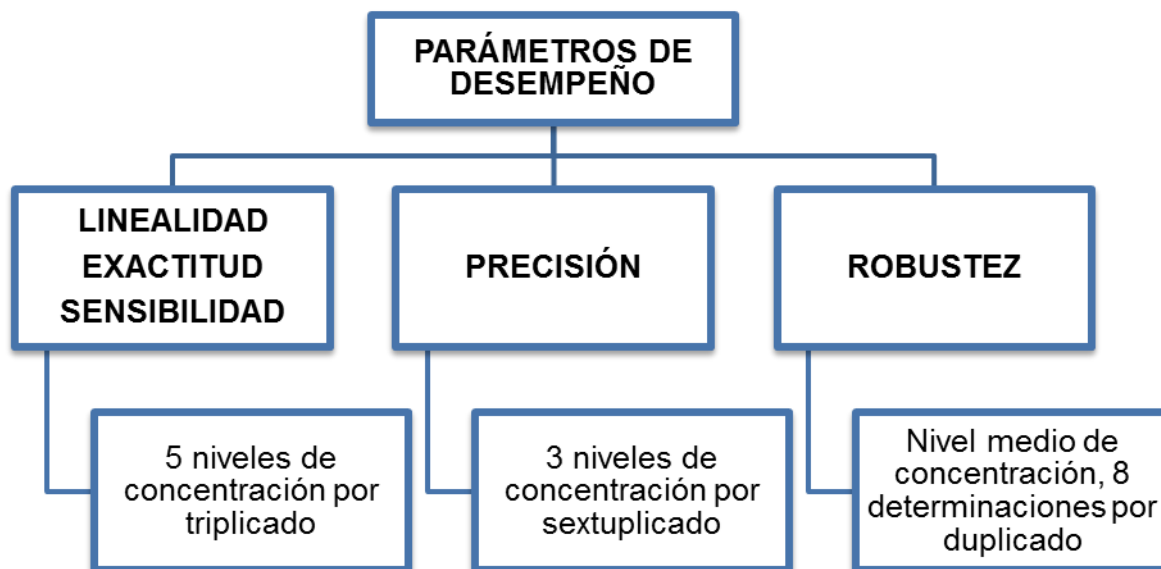
Tabla 3.4: Objetivos de la validación.

PARÁMETRO	OBJETIVO ESTABLECIDO	
Linealidad	$y = mx + b; r \geq 0,98$ $R^2 \geq 0,98$ $m \approx 1; b \approx 0$ Datos aleatorios en el gráfico de residuales. %Linealidad $\approx 100\%$ $CV_f \leq 5\%$ Test t de Student para "r" $p=0,05; y\ gl = n - 2$ $t_{regresión} > t_{tab}$	Prueba de linealidad de la pendiente $(p = 0,05; n-2 = gl)$ $m \approx 1, (t_{exp} > t_{tab})$ $IC_m: m \pm t_{tab} * DE_m$ Prueba de proporcionalidad del intercepto $(p = 0,05; n-2 = gl)$ $b \approx 0, (t_{exp} < t_{tab}).$ $IC_b: b \pm t_{tab} * DE_b$
Exactitud	$y = mx + b; r \geq 0,98; R^2 \geq 0,98$ $m \approx 1; b \approx 0$ $\%E \leq 1,5\%.$	Prueba t de Student $(p = 0,05; n - 1 = gl)$ $t_{exp} < t_{tab}$ Prueba G de Cochran $G_{exp} < G_{tab}$
Precisión (Repetibilidad)	Coefficiente de Variación de la Repetibilidad (CV_r): Materia grasa y Sólidos no grasos: $CV_r \leq 2\%$ Sólidos totales: $CV_r \leq 1,5\%$ Densidad : $CV_r \leq 3\%$	
Precisión Reproducibilidad (Precisión Intermedia)	Coefficiente de Variación de la Reproducibilidad(CV_R): Materia grasa y Sólidos no grasos: $CV_R \leq 4\%$ Sólidos totales: $CV_R \leq 3\%$ Densidad: : $CV_R \leq 6\%$	Fischer(F) y Student(t) entre días: <ul style="list-style-type: none"> $F_{exp} < F_{tab}$ $t_{exp} < t_{tab}$
Sensibilidad	<ul style="list-style-type: none"> Pendiente de la recta (m): valor cercano a 1 	
Robustez	$DE_d < DE$ <ul style="list-style-type: none"> DE_d: Desviación estándar de las diferencias DE: Desviación estándar. 	

(Vega Rodríguez, 2011)

NOTA: Los parámetros de desempeño se seleccionaron en base a los criterios de validación de métodos fisicoquímicos tratados en el marco teórico de esta tesis.

10.2. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS.



Fuente: Autora.

Figura 17. Flujograma general del desarrollo de los parámetros de desempeño en la validación del Equipo MilkoScan FT1.

10.3. DISEÑO ESTADÍSTICO.

El diseño estadístico, incluye un conjunto de procedimientos matemáticos para el cálculo de los parámetros de validación seleccionados. Tanto el modelo experimental como el modelo estadístico, usado para la obtención de estos parámetros se describen en los apartados siguientes, para cada método validado.

10.3.1. LINEALIDAD.

Para los casos de análisis de materia grasa, densidad relativa a 20° C, sólidos totales y sólidos no grasos, la linealidad se determinó obteniendo las mediciones del procedimiento analítico de una serie muestras de concentraciones diferentes. Se graficó la respuesta de la medición (eje y) contra la concentración de las muestras usadas como patrón (eje x), y se calculó la recta de regresión, el coeficiente de regresión (r) y el de determinación (R^2) por el método de mínimos cuadrados.

Cálculo de la recta de regresión.

(1). Ecuación de la recta de regresión.

$$y = mx + b$$

Donde:

- ✓ **y**: Respuesta de la medición.
- ✓ **x**: Concentración del analito.
- ✓ **m**: Pendiente.
- ✓ **b**: Intercepto.

(2). Fórmula para hallar el intercepto de la recta de regresión en el eje de las ordenadas.

$$b = \frac{\sum y - m \sum x}{n}$$

(3). Fórmula para hallar la pendiente de la recta de regresión.

$$m = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

INTERPRETACIÓN ESTADÍSTICA DE LA REGRESIÓN LINEAL.

Antes de realizar los test estadísticos propuestos posteriormente se debe realizar un Análisis de varianza de la regresión lineal: ($F_{\text{exp}} < F_{\text{tab}}$). (Suárez, Arévalo, Linares, Ustariz, & Hernández, 2009)

Se realizó la interpretación estadística de la regresión lineal, a través del cálculo de:

- a) Gráfico de residuales.
- b) Cálculo del coeficiente de correlación (r).
- c) Límite de confianza del intercepto (b).
- d) Límite de confianza de la pendiente (m).
- e) Coeficiente de variación de los factores respuesta.
- f) Cálculo del % de linealidad.

a. Gráfico de residuales.

Como medida de verificación de la linealidad se calculó y graficó los valores residuales mediante la siguiente ecuación:

(4). Fórmula para el cálculo de los valores residuales.

$$VR = \hat{y}_i - y_i$$

Donde:

- ✓ **VR:** Valores residuales.
- ✓ \hat{y}_i : Valor predicho por la recta de regresión.
- ✓ y_i : Valores observados de “y”.

A su vez, el valor predicho (\hat{y}_i) para cada concentración de la curva, se calculó utilizando la recta de regresión obtenida, de la siguiente manera:

$$\hat{y}_i = m\mu + b$$

Donde μ es el valor de “x”, es decir, la concentración conocida del analito a la cual están asociadas las lecturas observadas de “y” (y_i) con las que se elaboró la recta de regresión.

Como hemos visto anteriormente, el residual de cada punto experimental es la distancia vertical de cada punto a la recta de regresión.

Un **gráfico de residuales** no es nada más que una representación de la coordenada x de cada punto experimental respecto a su valor residual. Para poder considerar que un modelo de línea recta es válido, en el gráfico de residuales se debe observar que:

1. El número de residuales positivos es aproximadamente igual al número de residuales negativos.
2. Los residuales están distribuidos aleatoriamente.
3. Todos los residuales deben tener aproximadamente el mismo valor absoluto.
4. Los residuales no muestran tendencias (Riu & Boqué, 2002).

b. Cálculo del coeficiente de correlación (r).

Se determinó para evaluar el ajuste al modelo lineal propuesto: $y = mx + b$

Y refleja el grado de relación o ligazón entre las concentraciones (x) y su respuesta (y).

(5). Fórmula para hallar el coeficiente de correlación.

$$r = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\left[\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n} \right] \left[\sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n} \right]}$$

El valor de:

- ✓ **r = 1** Indica una recta perfectamente lineal.
- ✓ **r = -1** Indica una recta perfectamente lineal negativa.
- ✓ **r = 0** Indica que no hay correlación entre x e y.

Coefficiente de determinación (R^2): Indica el grado de ajuste de la ecuación ($R^2 = r^2$).

Sin embargo el mejor indicativo del modelo lineal no es “r”, sino un test estadístico:

Test estadístico para el coeficiente de correlación “r”.

En el cual se calcula el valor de $t_{\text{regresión}}$ (test de regresión) con n-2 grados de libertad y un intervalo de confianza de 95% ($p = 0,05$) se compara con el valor de t_{tab} (t tabulado) para el nivel de confianza requerido.

(6). Fórmula para hallar el valor de t de regresión.

$$t_{\text{regresión}} = \frac{r * \sqrt{(n - 2)}}{\sqrt{(1 - r^2)}}$$

- ✓ **Hipótesis nula (H_0):** No correlación entre “x” e “y” ($r=0$).
- ✓ **Hipótesis alterna (H_1):** $r \neq 0$.

Criterio de aceptación: El valor de $t_{\text{regresión}}$ debe ser mayor a t_{tab} . La hipótesis nula se rechaza, existiendo una correlación lineal significativa. Por lo tanto $r \approx 1$.

c. Límite de confianza del intercepto (b).

Este valor se calculó en función de su Varianza (DE_b^2)

(7). Fórmula para hallar la Varianza del intercepto “b”.

$$DE_b^2 = DE_m^2 * \frac{(\sum x)^2}{N}$$

(8). Fórmulas para hallar la desviación estándar y desviación estándar relativa del intercepto.

$$DE_b = \sqrt{DE_b^2}$$

$$DE_{b,relativa}(\%) = \frac{DE_b * 100}{b}$$

(9). Fórmula para hallar los Límites de Confianza del intercepto.

$$b = b \pm t_{tab} * DE_b$$

Determinación del test estadístico del intercepto “b”.

Se realiza estableciendo una comparación entre “t_{exp}” y “t_{tab}”.

$$t_{exp} = \frac{|b|}{DE_b}$$

t_{tab}: Es el valor obtenido en la tabla de distribución de Student, con las siguientes condiciones:

- ✓ n-2 Grados de libertad.
- ✓ Probabilidad de cometer error (p) de 0,05, es decir un grado de confianza del 95%.

Test de hipótesis para el intercepto “b”.

- ✓ **Hipótesis nula (H₀):** “b” es igual a cero (b = 0).
- ✓ **Hipótesis alterna (H₁):** “b” es significativamente diferente de cero (b ≠ 0).

Criterio de aceptación: Debe cumplirse que: t_{exp} es menor que t_{tab}, según las condiciones mencionadas. Entonces el valor de “b” es aceptable, ya que existe una correlación lineal significativa. Se acepta la hipótesis nula.

d. Límite de confianza de la pendiente (m).

Este valor se calculó en función de su Varianza (DE_m^2).

(10). Fórmula para hallar la Varianza de la pendiente.

$$DE_m^2 = \frac{DE_{xy}^2}{\sum x^2 - \frac{(\sum y)^2}{n}}$$

(11). Fórmula para hallar la Varianza del error experimental total.

$$DE_{xy}^2 = \frac{\sum y^2 - b \sum y - m \sum xy}{n - 2}$$

(12). Fórmula para hallar la desviación estándar y desviación estándar relativa de la pendiente.

$$DE_m = \sqrt{DE_m^2}$$

$$DE_{mrelativa}(\%) = \frac{DE_m * 100}{m}$$

(13). Fórmula para hallar los Límites de Confianza de la pendiente.

$$m = m \pm t_{tab} * DE_m$$

t_{tab} : Es el valor obtenido en la tabla de distribución de Student, con las siguientes condiciones:

- ✓ n-2 grados de libertad.
- ✓ Probabilidad de cometer error (p) de 0,05, es decir un grado de confianza del 95%.

Determinación del test estadístico de la pendiente “m”.

Se realiza estableciendo una comparación entre “ t_{exp} ” y “ t_{tab} ”

$$t_{exp} = \frac{|m|}{DE_m}$$

t_{tab} : Es el valor obtenido en la tabla de distribución de Student, con las siguientes condiciones:

- ✓ $n-2$ Grados de libertad.
- ✓ Probabilidad de cometer error (p) de 0,05, es decir un grado de confianza del 95%.

Test de hipótesis para la pendiente “ m ”.

- ✓ **Hipótesis nula (H_0):** “ m ” es igual a cero ($m = 0$).
- ✓ **Hipótesis alterna (H_1):** “ m ” es significativamente diferente de cero ($m \neq 0$).

Criterio de aceptación: El valor de: t_{exp} es mayor que t_{tab} . Entonces la hipótesis nula se rechaza. Por lo tanto $m \neq 0$.

e. Coeficiente de variación de los factores respuesta.

- Se calcularon los factores de respuesta (F) según la expresión:

$$F = \frac{y}{x}$$

Donde:

- ✓ **y:** Respuesta analítica (MilkoScan FT1).
- ✓ **x:** Cantidad de analito (Método Oficial, NTE).

Con estos resultados se determinó el valor medio, la desviación estándar (DE_f) y el coeficiente de variación de los factores respuesta (CV_f). El CV_f debe ser menor que 5 % para considerar al método analítico lineal (Suárez Perez, Izquierdo Castro, & Milian Sánchez, 2009).

f. Cálculo del porcentaje de linealidad.

El % de linealidad se calculó a partir de la pendiente de la recta de regresión y su desviación estándar según:

(14). Fórmula para el cálculo del porcentaje de linealidad.

$$\%Linealidad = \left(1 - \frac{DE_m}{m}\right) * 100$$

- ✓ **DE_m**: Desviación estándar de la pendiente.
- ✓ **m**: Pendiente de la recta de regresión.

10.3.2. EXACTITUD.

El procedimiento directo se realizó mediante análisis repetitivos (4 réplicas de cada nivel) del método sobre distintas muestras de diferentes concentraciones del analito.

a. Cálculo del porcentaje de error.

Se comparó el promedio de los valores obtenidos (concentración calculada) con el valor de referencia (concentración conocida), y se calculó el sesgo o porcentaje de error como se expresa a continuación:

$$E_a = \bar{\alpha} - \mu \qquad \%E = \frac{E_a}{\mu} \times 100$$

Donde:

- ✓ **E_a**: Error absoluto sistemático.
- ✓ **$\bar{\alpha}$** : Media de las concentraciones calculadas.
- ✓ **μ** : Concentración conocida.

El porcentaje de error (%E) no debe ser mayor que el $\pm 1,5\%$.

b. Prueba de t de Student para muestras emparejadas.

La prueba de t de Student se realiza para evaluar el sesgo, determinándose de esta manera la exactitud del método.

Criterio de aceptación: El valor de t_{exp} debe ser menor al obtenido en tablas t_{tab} para $n-1 = \mathbf{gl}$ y $\mathbf{p} = 0,05$. Al cumplirse lo anterior, se acepta la H_0 : Sesgo = 0, es decir el sesgo es estadísticamente igual a cero, por lo cual el método analítico es exacto.

c. Prueba de G de Cochran.

Además, se realizó la prueba G de Cochran, para determinar si el factor concentración tiene alguna influencia en los resultados. El valor de G_{exp} se calculó mediante la siguiente expresión:

(15). Expresión para el cálculo de G_{exp} .

$$G_{exp} = \frac{DE_{max}^2}{DE_1^2 + DE_2^2 + DE_3^2 + \dots}$$

G_{tab} ($p = 0,05$; $k=$; $n=$).

Donde:

- ✓ **DE_{max}**: Desviación estándar máxima.
- ✓ **DE_{1,2,3}**: Desviación del nivel 1, 2, 3....
- ✓ **K**: Grupo experimentales.
- ✓ **n**: Determinaciones por grupo.

Criterio de aceptación: Si $G_{exp} < G_{tab}$ las varianzas de las concentraciones de los niveles estudiados son equivalentes, o lo que es igual, el factor concentración no influye en la variabilidad de los resultados.

10.3.3. PRECISIÓN.

a. Cálculo del coeficiente de repetitividad y reproducibilidad.

Para realizar comparaciones se utilizaron los coeficientes de variación de la repetitividad y reproducibilidad respectivamente.

El coeficiente de variación de la repetitividad expresado en porcentaje se calculó de la siguiente manera:

$$\%CV_r = \frac{DE_r}{\bar{\alpha}_l} * 100$$

Mientras que el coeficiente de reproducibilidad se determina de la siguiente manera:

$$\%CV_R = \frac{DE_R}{\bar{\alpha}_l} * 100$$

Se reportaron los valores máximos de $\% CV_R$ y el máximo $\% CV_r$ de todas las concentraciones.

b. Prueba de análisis de varianza (Prueba de Fisher).

La precisión se estimó haciendo un análisis de varianza ANOVA, con los resultados obtenidos de los valores residuales de las líneas de ajustes por mínimos cuadrados, mediante la prueba de Fisher o prueba F.

De no existir diferencia significativa según la prueba F con un nivel de significancia del 5%, se establece que el método es repetible en el rango de concentraciones de trabajo.

$$F_{exp} = \frac{DE_1^2}{DE_2^2}$$

Tal que $F \geq 1$

Donde:

- ✓ **DE₁²**: Varianza del analista 1, o del día 1.
- ✓ **DE₂²**: Varianza del analista 2, o del día 2.

El valor de F_{exp} se comparó con F_{tab} para $p = 0,05$; $F_1 = n-1$ grados de libertad del numerador y $F_2 = n - 1$ grados de libertad del denominador.

Una vez que se tienen los valores de F_{exp} y F_{tab} se confirmó una de las hipótesis que se establecen a continuación:

- ✓ **Ho (varianzas iguales)**: si $F_{exp} < F_{tab}$ se confirma la hipótesis nula, es decir que no existen diferencias estadísticas entre las rectas de regresión que se compararon.
- ✓ **H1 (varianzas diferentes)**: si $F_{exp} > F_{tab}$ se confirma la hipótesis alternativa, es decir que existen diferencias estadísticas significativas entre las curvas de calibración que se compararon.

Criterio de aceptación: Si $F_{exp} < F_{tab}$ no existe diferencia significativa entre la precisión por reproducibilidad alcanzada por el analista en dos días de trabajo.

c. Prueba t de Student.

Para decidir si las medias muestrales $\bar{\alpha}_1$ y $\bar{\alpha}_2$ difieren significativamente se tomó la hipótesis nula $H_0: \bar{\alpha}_1 = \bar{\alpha}_2$.

Primero se comprueba que $DE_1^2 = DE_2^2$ mediante la prueba F de Fisher.

(16). Fórmula para el cálculo del valor de t_{exp} para el ensayo de reproducibilidad.

$$t_{exp} = \frac{|\bar{\alpha}_1 - \alpha_2|}{\sqrt{\left[\frac{(n_1 - 1)DE_1^2 + (n_2 - 1)DE_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \right] * \left[\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right]}}$$

Donde:

- ✓ $\bar{\alpha}_1$ y $\bar{\alpha}_2$: Valores de las medias de los análisis de las series 1 y 2, respectivamente.
- ✓ n_1 y n_2 : Número de determinaciones de las series 1 y 2, respectivamente.
- ✓ DE_1^2 y DE_2^2 : Valores de las varianzas de las series 1 y 2, respectivamente.

Criterio de aceptación: Si $t_{exp} < t_{tab}$ se acepta la hipótesis nula, es decir, las dos medias son estadísticamente iguales ($p= 0.05$, $n_1 + n_2 - 2= gl$).

Se utilizó para comprobar si los valores obtenidos por el analista en los dos días en que realizaron los análisis eran homogéneos.

10.3.4. SENSIBILIDAD.

En cualquier punto de la recta de regresión lineal, la sensibilidad se expresó por:

$$S = \frac{\Delta y}{\Delta C}$$

Donde:

- ✓ **S:** Sensibilidad.
- ✓ Δy : Cambio en la respuesta de la medición.
- ✓ ΔC : Cambio en la concentración de analito.

Las dimensiones de S dependen de las dimensiones de “y” y “c”. En las rectas de regresión lineal del tipo $y = mx + b$, la pendiente m es la sensibilidad.

Posteriormente se determinó la pendiente de la recta por medio del método de los mínimos cuadrados. El valor de la pendiente tiene que ser mayor a 1, indicativo del grado de sensibilidad del método.

10.3.5. ROBUSTEZ.

a. Cálculo de la desviación estándar.

Para que el método sea considerado como robusto se debe cumplir con:

$$DE_d < DE$$

- ✓ **DE_d**: Desviación estándar de las diferencias.
- ✓ **DE**: Desviación estándar.

Además como medida de verificación se recomienda aplicar una prueba t de Student (material de referencia).

10.3.6. INCERTIDUMBRE.

Usando los datos provenientes de la validación: También es posible usar datos adquiridos en un proceso de validación, pero antes el laboratorio debe demostrar su competencia con el método, tal y como lo determinan los siguientes criterios. El laboratorio debe reportar una desviación estándar para reproducibilidad (interlaboratorios) o precisión intermedia (intralaboratorio), como un estimado de la incertidumbre estándar combinada bajo las siguientes condiciones:

- ✓ El estudio de validación debe incluir todas las fuentes de incertidumbre (incluyendo preparación de la muestra y analistas diferentes).
- ✓ El laboratorio debe tener un sesgo aceptable.
- ✓ El laboratorio debe tener una repetibilidad aceptable.

Para demostrar la competencia con el método, el laboratorio debe calcular la desviación estándar del laboratorio (DE_L) como la diferencia cuadrática entre reproducibilidad y repetibilidad del estudio de validación.

$$DE_L = \sqrt{DE_R^2 - DE_r^2}$$



El laboratorio se considera competente si:

- a. Su sesgo debe ser menor a dos veces la desviación estándar del laboratorio ($S < 2 * DE_L$).
- b. La repetibilidad debe ser menor a $\sqrt{F} * DE_r$, donde DE_r es la repetibilidad dada por un estudio colaborativo en caso de haberse realizado. F debe tomarse de una tabla estadística usando los grados de libertad apropiados y bajo un 95% de confianza, sin embargo, el laboratorio puede usar un estimado de 1,5.

Si el estudio de validación no incluye todos los pasos del método, entonces las incertidumbres estándares de estos pasos deben añadirse al DE_R usando el método de sumas cuadradas. El estimado de la incertidumbre combinada (usualmente DE_R) es expandido usando la siguiente fórmula:

$$U = k * DE_R$$

RESULTADOS Y ANÁLISIS

1. PROCESAMIENTO DE RESULTADOS.

Los resultados de las mediciones fueron almacenados en una base de datos con el programa Microsoft Excel 2010. Posteriormente los datos fueron procesados en el paquete estadístico SPSS v.19.0 para Windows. Para evaluar la posibilidad de aplicar el Análisis de Varianza (ANOVA) de una vía y detectar las diferencias entre las medias de valores de grupos dependientes, se analizaron previamente las condiciones de homogeneidad de varianzas y el ajuste de los datos a una distribución normal. Para ello se emplearon las pruebas de Levene y Shapiro-Wilk respectivamente. La prueba de Levene considera como hipótesis nula que las muestras presentan varianzas iguales y como alternativa que al menos una de las varianzas es diferente de las demás. Se rechaza la hipótesis nula cuando el valor de $p < 0,05$ (5 %). El test de Shapiro-Wilk se emplea bajo la hipótesis nula de que los datos siguen una distribución normal y la alternativa de que esta condición no se cumple. Se rechaza nuevamente la hipótesis nula cuando el valor de significancia es menor al 5 %.

Además se aplicó la prueba de Grubbs cuyos resultados permitieron comprobar el supuesto de homogeneidad de los datos, y ayudó a la decisión sobre si un dato es o no atípico. Este es un supuesto importante para poder aplicar el análisis de varianza simple a un conjunto de muestras.

Los datos y los resultados de los análisis experimentales se encuentran en los Anexos, los mismos que se utilizaron para realizar los cálculos matemáticos y estadísticos en base a los modelos descritos para determinar los contrastes de significación y los parámetros de validación de los métodos.

Para el análisis de resultados en la “Calibración y Validación del Equipo MilkoScan FT1 en la determinación de parámetros fisicoquímicos en leche cruda en la Industria de Lácteos San Antonio C.A”, se ha empleado tablas y gráficos estadísticos.

Los 80 datos que se obtuvieron para la Calibración del Equipo MilkoScan FT1 en las determinaciones de materia grasa, densidad relativa a 20°C, sólidos totales y sólidos no grasos en leche cruda; fueron procesados por el programa estadístico del Software del equipo MilkoScan FT1. Para la regresión el equipo utilizó el modelo de cuadrados mínimos parciales. Dicha calibración fue efectuada por el Técnico responsable del equipo. Los resultados obtenidos de la calibración se pueden observar en la Tabla 14.

Tabla 14. Resultados de la calibración del equipo MilkoScan FT1.

Componente Primario	Pendiente	Intercepto	EEP	r
Materia Grasa	1,003	0,147	0,009	0,999
Sólidos Totales	0,998	0,030	0,147	0,996
Sólidos No Grasos	0,987	0,167	0,061	0,990
Densidad relativa a 20°C	1,034	0,189	0,633	0,993

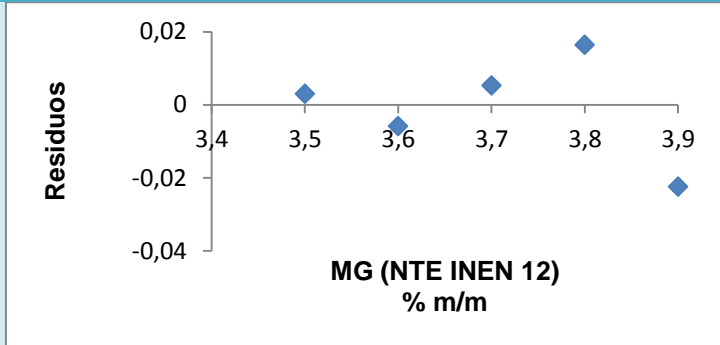
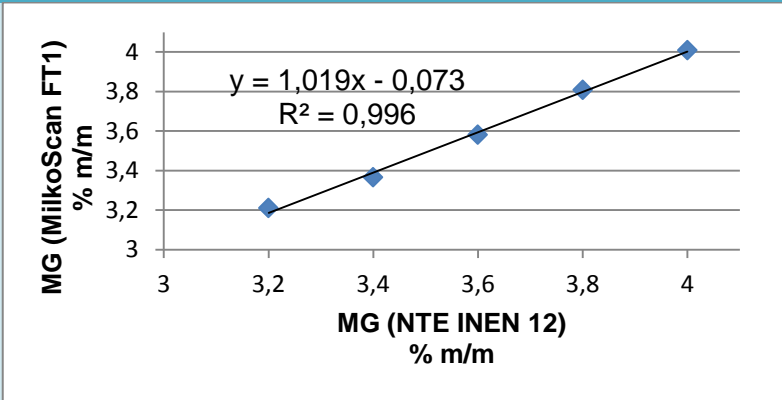
Fuente: Cortesía Industria de Lácteos San Antonio.

2. ANÁLISIS DE RESULTADOS DE VALIDACIÓN.

2.1. LINEALIDAD.

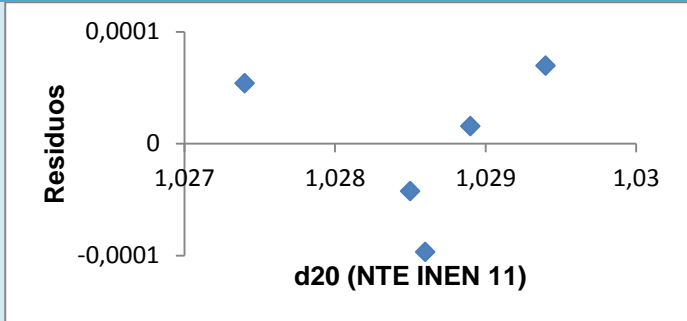
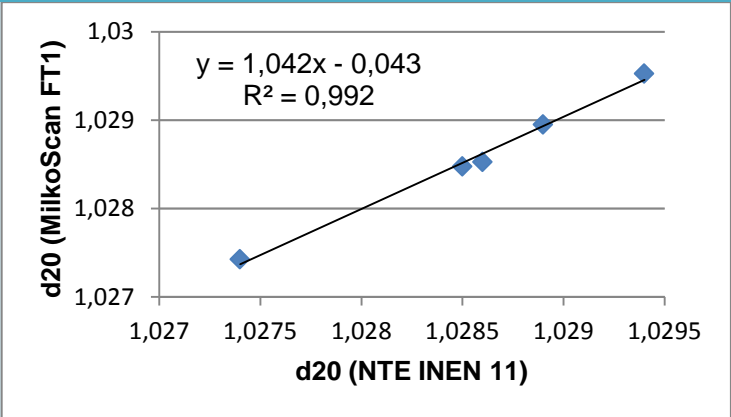
En la **Tabla 15a; 16a; 17a y 18a** se tabularon los datos para efectuar el ensayo de linealidad del método analítico en la determinación de los 4 parámetros fisicoquímicos en leche cruda. En las figuras de las **Tablas 15c; 16c; 17c y 18c** aparece la representación gráfica de la recta de regresión lineal, donde se pudo determinar visualmente la existencia de linealidad del método analítico en la determinación de los 4 parámetros fisicoquímicos de leche cruda. Además en la gráficas de residuales (**Tabla 15b; 16b; 17b y 18b**), se logró observar que no existen tendencias sistemática, lo cual da una prueba de linealidad en el rango especificado para el método que se validó. En las **Tablas 15d; 16d; 17d y 18d** se muestra las principales características de la rectas de regresión lineal que se obtuvieron en el ensayo de linealidad del método analítico.

Tabla 15. Resultados del ensayo de linealidad para materia grasa: a) Datos, b) Gráfica de Residuales; c) Recta y d) Datos de la regresión lineal.

a. Datos.				b. Gráfica de Residuales.																									
<table border="1"> <thead> <tr> <th>° N</th> <th>PROVEEDOR</th> <th>MG INEN</th> <th>MG (FT1)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>ASITIMBAY V</td> <td>3,2</td> <td>3,21</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>VALLEJO K</td> <td>3,4</td> <td>3,365</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>ECOLAC</td> <td>3,6</td> <td>3,58</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>ROBLES D</td> <td>3,8</td> <td>3,807</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>ROBLES F</td> <td>4</td> <td>4,007</td> </tr> </tbody> </table>				° N	PROVEEDOR	MG INEN	MG (FT1)	1	ASITIMBAY V	3,2	3,21	2	VALLEJO K	3,4	3,365	3	ECOLAC	3,6	3,58	4	ROBLES D	3,8	3,807	5	ROBLES F	4	4,007		
° N	PROVEEDOR	MG INEN	MG (FT1)																										
1	ASITIMBAY V	3,2	3,21																										
2	VALLEJO K	3,4	3,365																										
3	ECOLAC	3,6	3,58																										
4	ROBLES D	3,8	3,807																										
5	ROBLES F	4	4,007																										
c. Recta de regresión lineal.				d. Características de la recta de regresión lineal.																									
				<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">Materia Grasa</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Ecuación de la recta</td> <td>$y = 1,019x - 0,073$</td> </tr> <tr> <td>Coefficiente de correlación (r)</td> <td>0,998</td> </tr> <tr> <td>Coefficiente de determinación (R²)</td> <td>0,996</td> </tr> <tr> <td>Pendiente</td> <td>1,019</td> </tr> <tr> <td>Intercepto</td> <td>-0,074</td> </tr> <tr> <td>n</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>Número de repeticiones</td> <td>4</td> </tr> </tbody> </table>		Materia Grasa		Ecuación de la recta	$y = 1,019x - 0,073$	Coefficiente de correlación (r)	0,998	Coefficiente de determinación (R ²)	0,996	Pendiente	1,019	Intercepto	-0,074	n	5	Número de repeticiones	4								
Materia Grasa																													
Ecuación de la recta	$y = 1,019x - 0,073$																												
Coefficiente de correlación (r)	0,998																												
Coefficiente de determinación (R ²)	0,996																												
Pendiente	1,019																												
Intercepto	-0,074																												
n	5																												
Número de repeticiones	4																												

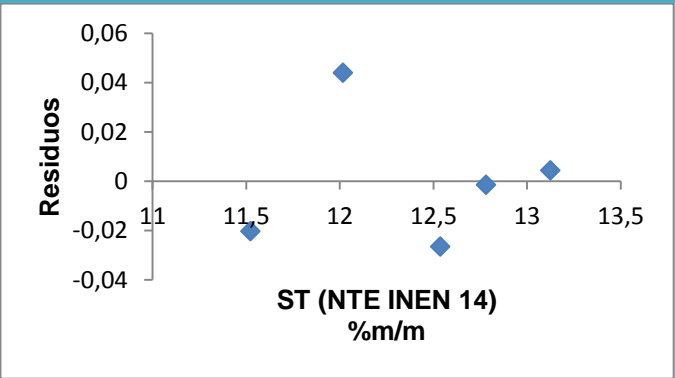
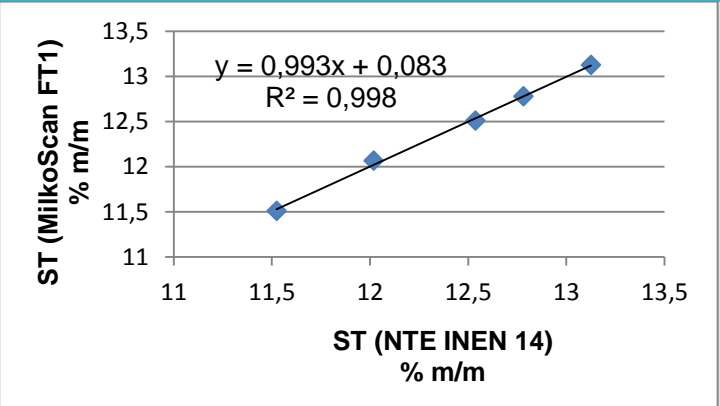
Fuente: Autora.

Tabla 16. Resultados del ensayo de linealidad para densidad relativa a 20°C: a) Datos, b) Gráfica de Residuales; c) Recta y d) Datos de regresión lineal.

a. Datos.				b. Gráfica de Residuales.																	
° N	PROVEEDOR	DENSIDAD INEN	d20 (FT1)																		
1	ASITIMBAY V	1,0274	1,0274																		
2	VALLEJO	1,0285	1,0284																		
3	ECOLAC	1,0286	1,0285																		
4	ROBLES D	1,0289	1,0289																		
5	ROBLES F	1,0294	1,0295																		
c. Recta de regresión lineal.				d. Características de la recta de regresión lineal.																	
				<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>d20</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Ecuación de la recta</td> <td>$y = 1,042x - 0,043$</td> </tr> <tr> <td>Coefficiente de correlación (r)</td> <td>0,996</td> </tr> <tr> <td>Coefficiente de determinación (R²)</td> <td>0,992</td> </tr> <tr> <td>Pendiente</td> <td>1,042</td> </tr> <tr> <td>Intercepto</td> <td>-0,043</td> </tr> <tr> <td>n</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>Número de repeticiones</td> <td>4</td> </tr> </tbody> </table>			d20	Ecuación de la recta	$y = 1,042x - 0,043$	Coefficiente de correlación (r)	0,996	Coefficiente de determinación (R²)	0,992	Pendiente	1,042	Intercepto	-0,043	n	5	Número de repeticiones	4
	d20																				
Ecuación de la recta	$y = 1,042x - 0,043$																				
Coefficiente de correlación (r)	0,996																				
Coefficiente de determinación (R²)	0,992																				
Pendiente	1,042																				
Intercepto	-0,043																				
n	5																				
Número de repeticiones	4																				

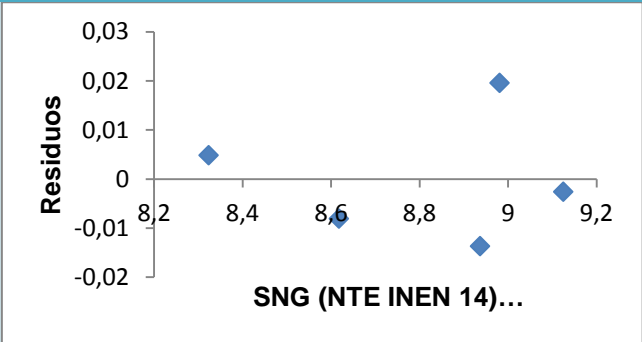
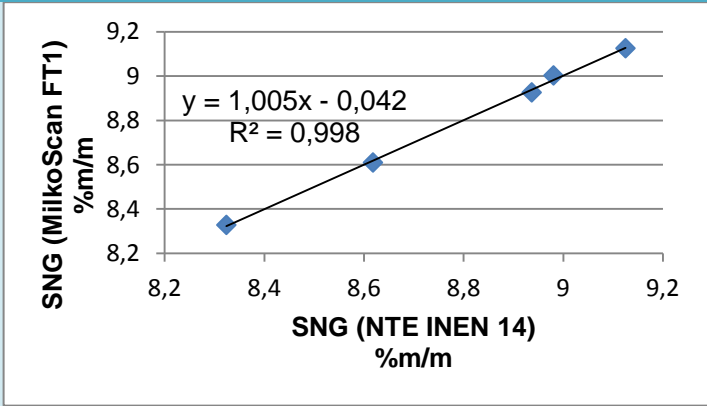
Fuente: Autora.

Tabla 17. Resultados del ensayo de linealidad para sólidos totales: a) Datos, b) Gráfica de Residuales; c) Recta y d) Datos de regresión lineal.

a. Datos.				b. Gráfica de Residuales.																									
<table border="1"> <thead> <tr> <th>° N</th> <th>PROVEEDOR</th> <th>ST (INEN 14)</th> <th>ST (FT1)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>ASITIMBAY V</td> <td>11,524</td> <td>11,51</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>VALLEJO</td> <td>12,018</td> <td>12,065</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>ECOLAC</td> <td>12,537</td> <td>12,51</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>ROBLES D</td> <td>12,781</td> <td>12,778</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>ROBLES F</td> <td>13,125</td> <td>13,125</td> </tr> </tbody> </table>				° N	PROVEEDOR	ST (INEN 14)	ST (FT1)	1	ASITIMBAY V	11,524	11,51	2	VALLEJO	12,018	12,065	3	ECOLAC	12,537	12,51	4	ROBLES D	12,781	12,778	5	ROBLES F	13,125	13,125		
° N	PROVEEDOR	ST (INEN 14)	ST (FT1)																										
1	ASITIMBAY V	11,524	11,51																										
2	VALLEJO	12,018	12,065																										
3	ECOLAC	12,537	12,51																										
4	ROBLES D	12,781	12,778																										
5	ROBLES F	13,125	13,125																										
c. Recta de regresión lineal.				d. Características de la recta de regresión lineal.																									
				<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Sólidos Totales</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Ecuación de la recta</td> <td>y = 0,993x + 0,083</td> </tr> <tr> <td>Coefficiente de correlación (r)</td> <td>0,999</td> </tr> <tr> <td>Coefficiente de determinación (R²)</td> <td>0,998</td> </tr> <tr> <td>Pendiente</td> <td>0,993</td> </tr> <tr> <td>Intercepto</td> <td>0,083</td> </tr> <tr> <td>n</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>Número de repeticiones</td> <td>4</td> </tr> </tbody> </table>			Sólidos Totales	Ecuación de la recta	y = 0,993x + 0,083	Coefficiente de correlación (r)	0,999	Coefficiente de determinación (R²)	0,998	Pendiente	0,993	Intercepto	0,083	n	5	Número de repeticiones	4								
	Sólidos Totales																												
Ecuación de la recta	y = 0,993x + 0,083																												
Coefficiente de correlación (r)	0,999																												
Coefficiente de determinación (R²)	0,998																												
Pendiente	0,993																												
Intercepto	0,083																												
n	5																												
Número de repeticiones	4																												

Fuente: Autora.

Tabla 18. Resultados del ensayo de linealidad para sólidos no grasos: a) Datos, b) Gráfica de Residuales; c) Recta y d) Datos de regresión lineal.

a. Datos.				b. Gráfica de Residuales.																									
<table border="1"> <thead> <tr> <th>° N</th> <th>PROVEEDOR</th> <th>SNG (INEN 14)</th> <th>SNG (FT1)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>ASITIMBAY V</td> <td>8,324</td> <td>8,328</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>VALLEJO</td> <td>8,618</td> <td>8,61</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>ECOLAC</td> <td>8,937</td> <td>8,925</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>ROBLES D</td> <td>8,981</td> <td>9,003</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>ROBLES F</td> <td>9,125</td> <td>9,125</td> </tr> </tbody> </table>				° N	PROVEEDOR	SNG (INEN 14)	SNG (FT1)	1	ASITIMBAY V	8,324	8,328	2	VALLEJO	8,618	8,61	3	ECOLAC	8,937	8,925	4	ROBLES D	8,981	9,003	5	ROBLES F	9,125	9,125		
° N	PROVEEDOR	SNG (INEN 14)	SNG (FT1)																										
1	ASITIMBAY V	8,324	8,328																										
2	VALLEJO	8,618	8,61																										
3	ECOLAC	8,937	8,925																										
4	ROBLES D	8,981	9,003																										
5	ROBLES F	9,125	9,125																										
c. Recta de regresión lineal.				d. Características de la recta de regresión lineal.																									
				<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Sólidos no Grasos</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Ecuación de la recta</td> <td>$y = 1,005x - 0,042$</td> </tr> <tr> <td>Coefficiente de correlación (r)</td> <td>0,999</td> </tr> <tr> <td>Coefficiente de determinación (R²)</td> <td>0,998</td> </tr> <tr> <td>Pendiente</td> <td>1,005</td> </tr> <tr> <td>Intercepto</td> <td>-0,042</td> </tr> <tr> <td>n</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>Número de repeticiones</td> <td>4</td> </tr> </tbody> </table>			Sólidos no Grasos	Ecuación de la recta	$y = 1,005x - 0,042$	Coefficiente de correlación (r)	0,999	Coefficiente de determinación (R²)	0,998	Pendiente	1,005	Intercepto	-0,042	n	5	Número de repeticiones	4								
	Sólidos no Grasos																												
Ecuación de la recta	$y = 1,005x - 0,042$																												
Coefficiente de correlación (r)	0,999																												
Coefficiente de determinación (R²)	0,998																												
Pendiente	1,005																												
Intercepto	-0,042																												
n	5																												
Número de repeticiones	4																												

Fuente: Autora.

Uno de los criterios elegidos en este estudio para evaluar la linealidad de las metodologías fue el índice de correlación “r”. En la **Tablas 15d; 16d; 17d y 18d** aparecen el resultado obtenido para este parámetro, los cuales fueron superiores a 0,99. Este resultado demuestra que se cumplió el criterio establecido ($> 0,98$). Sin embargo, el mejor indicador para evaluar el modelo lineal es una prueba estadística, t de Student, en el cual se calcula un valor t experimental (t_{exp}) con n-2 grados de libertad y se compara con un tabulado (t_{tab}) para el nivel de confianza requerido (95% o $p = 0.05$).

Como se muestra en las Tabla 19, la prueba t para un nivel de confianza del 95% y n-2 grados de libertad indican que estadísticamente hay proporcionalidad entre la concentración y la respuesta analítica para el rango de materia grasa (3,2 a 4 % m/m), densidad relativa a 20°C (1,0274 a 1,0294), sólidos totales (11,524 a 13,125 %m/m) y sólidos no grasos (8,324 a 9,125%m/m).

También muestra que la pendiente es estadísticamente diferente a cero y el intercepto no es estadísticamente diferente de dicho valor. Todo lo anterior indica que para el modelo lineal propuesto, los errores sistemáticos no afectan la linealidad del método.

Tabla 19. Prueba t de Student para la linealidad del método analítico.

Parámetro	Ho	t_{exp}				t_{tab}	Concepto
		MG	d20	ST	SNG		
Intercepto	Ho: b = 0	0,257	0,347	0,119	0,093	3,182	Se acepta la Ho.
Pendiente	Ho: m = 0	28,654	19,226	39,290	43,498	3,182	Se rechaza la Ho.
Correlación	Ho: r = 0	28,654	19,226	39,290	43,498	3,182	Se rechaza la Ho.

Fuente: Autora.

Se cumplió la prueba de proporcionalidad ya que los límites de confianza del intercepto de los método incluyeron el cero, por lo que el intercepto no fue significativo.

Tabla 20. Límites de confianza del intercepto y pendiente.

Límites de confianza	MG	d20	ST	SNG
Intercepto	-0,074 ± 0,795	-0,043 ± 0,346	-0,026 ± 0,440	-0,042 ± 1,262
Pendiente	1,019 ± 0,084	1,042 ± 0,128	0,993 ± 0,059	1,005 ± 0,054

Fuente: Autora.

Los resultados del análisis de varianza (ANOVA), indican que no hay dispersión estadísticamente significativa entre los resultados de las réplicas de las distintas concentraciones, corroborando el cumplimiento de la linealidad de la metodología.

Tabla 21. ANOVA para la linealidad del método analítico.

Parámetro	F _{exp}	F _{tab}
Materia Grasa	0,001	2,866
Densidad Relativa a 20°C	0,004	2,866
Sólidos Totales	0,003	2,866
Sólidos No Grasos	0,002	2,866

Fuente: Autora.

Además otros aspectos que pueden asegurar la linealidad del método incluyen el cálculo del porcentaje de linealidad y el coeficiente de variación de los factores respuesta.

Tabla 22. Porcentaje de linealidad y coeficiente de variación de los factores respuesta.

	MG	d20	ST	SNG	Criterio de Aceptación
% Linealidad	96,510%	94,799%	97,454%	97,701%	≈ 100%
% CV _f	0,590%	0,007%	0,232%	0,146%	≤ 5%

Fuente: Autora.

De los resultados anteriores puede señalarse que: existe una correlación lineal en la metodología analítica, por lo tanto es lineal dentro de las concentraciones estudiadas.

2.2. EXACTITUD.

En la Tabla 23 y 24 se muestran los datos obtenidos para la determinación de la exactitud de los 4 parámetros fisicoquímicos. En este caso se analizaron 6 muestras por triplicado por el Método Oficial, obteniéndose el mismo resultado en la muestra. En cambio la muestra se analizó en el equipo MilkoScan FT1 4 veces.

Tabla 23. Datos del ensayo de exactitud para materia grasa y densidad relativa a 20°C.

Materia Grasa				Densidad Relativa a 20°C			
° N	PROVEEDOR	INEN	FT1	° N	PROVEEDOR	INEN	FT1
6	SALAMEA P	3,45	3,46	6	SALAMEA P	1,0275	1,0275
7	OJEDA J	3,5	3,472	7	OJEDA J	1,028	1,0279
8	GLORIA	3,55	3,552	8	SALAMEA J	1,0281	1,0280
9	CARPIO	3,6	3,6	9	GLORIA	1,0283	1,0282
10	VIÑANZACA S	3,65	3,65	10	VIÑANZACA S	1,0294	1,0293
11	SALAMEA J	3,7	3,692	11	CARPIO	1,0299	1,0299

Fuente: Autora.

Tabla 24. Datos del ensayo de exactitud para sólidos totales y sólidos no grasos.

Sólidos Totales				Sólidos No Grasos			
° N	PROVEEDOR	INEN	FT1	° N	PROVEEDOR	INEN	FT1
6	SALAMEA P	11,804	11,802	6	SALAMEA P	8,354	8,36
7	OJEDA J	11,99	11,985	7	OJEDA J	8,49	8,485
8	GLORIA	12,126	12,132	8	SALAMEA J	8,559	8,582
9	SALAMEA J	12,259	12,26	9	GLORIA	8,576	8,57
10	VIÑANZACA S	12,523	12,52	10	VIÑANZACA S	8,873	8,877
11	CARPIO	12,587	12,59	11	CARPIO	8,987	9,04

Fuente: Autora.

Tabla 25. Resultado de % de Error sistemático absoluto.

	MG	d20	ST	SNG
% Error absoluto sistemático máximo	0,391%	0,003%	0,027%	0,294%
Criterio de aceptación	≤ 1,5%			

Fuente: Autora.

Se puede evidenciar que el valor máximo de los errores obtenidos cumple con el criterio de aceptación, por lo cual son considerados válidos.

Para evaluar si cumple con los requisitos fijados se realizó un test estadístico ó t Student, efectuando varias determinaciones y calculando el t_{exp} que se compara con el t_{tab} para $n-1$ grados de libertad en el nivel de confianza escogido (95%).

Si t_{exp} resulta menor que t_{tab} , el método tiene la exactitud requerida para este nivel de confianza; es decir, el sesgo (s) es estadísticamente igual a cero. De modo que se pueda afirmar que la técnica fue exacta y no se afectó por errores sistemáticos de forma significativa.

Tabla 26. Prueba de t de Student para la exactitud del método analítico.

Parámetro	Ho	t_{exp}	t_{tab}	Resultado
Materia Grasa	Ho: s = 0	0,462	2,571	Se acepta la hipótesis nula
Densidad Relativa a 20° C	Ho: s = 0	0,566	2,571	Se acepta la hipótesis nula
Sólidos Totales	Ho: s = 0	0,085	2,571	Se acepta la hipótesis nula
Sólidos No Grasos	Ho: s = 0	1,392	2,571	Se acepta la hipótesis nula

Fuente: Autora.

Adicionalmente se evaluó la influencia de la concentración de analito en la varianza (DE^2) de los resultados a través de la prueba de G de Cochran. Como la $G_{exp} < G_{tab}$, las varianzas de los niveles de concentración evaluados, fueron equivalentes. Es decir, no influyó el factor concentración en la exactitud del método.

Tabla 27. Resultados de la prueba G de Cochran para la exactitud del método.

	MG	d20	ST	SNG
G_{exp}	0,462	0,360	0,477	0,526
G_{tab}	0,532			
Criterio de aceptación ($\alpha=0,05;k= 6;n= 4$)	$G_{exp} < G_{tab}$			

Fuente: Autora.

2.3. PRECISIÓN.

REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD (EN TÉRMINOS DE PRECISIÓN INTERMEDIA).

Tabla 28. Resultados de repetibilidad y reproducibilidad (precisión intermedia) obtenidos para materia grasa y densidad relativa a 20°C.

Materia Grasa							
Repetibilidad				Reproducibilidad (Precisión Intermedia)			
PROVEEDOR	CAMPOVERDE	TUTUPALI	SALAMEA	PROVEEDOR	ENCALADA	ROBLES D	STA MARIA
° N Repetición	MILKOSCAN FT1			Día	MILKOSCAN FT1		
1	3,39	3,6	3,7	1	3,5	3,69	3,88
2	3,4	3,61	3,71		3,51	3,69	3,87
3	3,4	3,61	3,7		3,51	3,69	3,89
4	3,39	3,6	3,7	2	3,5	3,7	3,9
5	3,4	3,61	3,71		3,5	3,7	3,9
6	3,4	3,61	3,7		3,5	3,7	3,9
MEDIA	3,397	3,607	3,703	MEDIA	3,503	3,695	3,89
DE	0,005	0,005	0,005	DE	0,005	0,005	0,013
% CV	0,152	0,143	0,139	% CV	0,147	0,148	0,325
Densidad Relativa a 20°C							
Repetibilidad				Reproducibilidad (Precisión Intermedia)			
PROVEEDOR	CAMPOVERDE	TUTUPALI	SALAMEA	PROVEEDOR	ENCALADA	ROBLES D	STA MARIA
° N Repetición	MILKOSCAN FT1			Día	MILKOSCAN FT1		
1	1,028	1,0284	1,029	1	1,0277	1,0298	1,0302
2	1,0279	1,0286	1,0298		1,028	1,0298	1,0301
3	1,0279	1,0286	1,029		1,0279	1,0299	1,0301
4	1,028	1,0287	1,0287	2	1,0281	1,0299	1,0302
5	1,0279	1,0287	1,0289		1,0278	1,0299	1,0302
6	1,0279	1,0288	1,0287		1,0278	1,0298	1,0303
MEDIA	1,028	1,029	1,029	MEDIA	1,028	1,0298	1,030
D.E	0,000	0,001	0,001	DE	0,001	0,001	0,001
% CV	0,005	0,013	0,039	% CV	0,014	0,005	0,007

Fuente: Autora.

Tabla 29. Resultados repetibilidad y reproducibilidad (precisión intermedia) obtenido para sólidos totales y sólidos no grasos.

Sólidos Totales							
Repetibilidad				Precisión Intermedia			
PROVEEDOR	CAMPOVERDE	TUTUPALI	SALAMEA	PROVEEDOR	ENCALADA	ROBLES D	STA MARIA
° N Repetición	MILKOSCAN FT1			D	MILKOSCAN FT1		
1	11,82	12,25	12,4	1	12	12,73	12,95
2	11,82	12,26	12,42		12	12,75	12,95
3	11,81	12,26	12,42		12	12,75	12,94
4	11,81	12,26	12,42		12	12,75	12,96
5	11,81	12,26	12,43		12,01	12,74	12,97
6	11,81	12,26	12,41		11,99	12,74	12,97
MEDIA	11,813	12,258	12,417	MEDIA	12	12,743	12,956
DES. ESTA	0,005	0,004	0,010	DE	0,006	0,008	0,012
% CV	0,044	0,033	0,083	% CV	0,052	0,064	0,093
Sólidos no Grasos							
Repetibilidad				Precisión Intermedia			
PROVEEDOR	CAMPOVERDE	TUTUPALI	SALAMEA	PROVEEDOR	ENCALADA	ROBLES D	STA MARIA
° N Repetición	MILKOSCAN FT1			D	MILKOSCAN FT1		
1	8,41	8,66	8,78	1	8,44	9,03	9,05
2	8,42	8,65	8,78		8,45	9,03	9,02
3	8,42	8,65	8,78		8,44	9,05	9,03
4	8,41	8,65	8,78		8,44	9,05	9,03
5	8,41	8,65	8,77		8,43	9,02	9,03
6	8,42	8,65	8,78		8,42	9,02	9,04
MEDIA	8,415	8,651	8,778	MEDIA	8,437	9,033	9,033
DE	0,005	0,004	0,004	DE	0,010	0,014	0,010
% CV	0,065	0,047	0,046	% CV	0,122	0,151	0,114

Fuente: Autora.

La repetibilidad de los métodos se estimó mediante la determinación de los %CV para 3 niveles de concentración: bajo, medio y alto. Se reportaron % CV bajos, inferiores al criterio de aceptación establecido como límite, por lo que los métodos cumplen con los criterios de aceptación establecidos y es suficientemente repetible.

Tabla 30. Coeficientes de variación de la repetibilidad del método analítico validado.

Parámetro	MG	d20	ST	SNG
% CV _r	0,152%	0,039%	0,083%	0,065%
Criterio de aceptación	≤ 2%	≤ 3%	≤ 1,5%	≤ 2%

Fuente: Autora.

Lo que indica que la metodología desarrollada es precisa. Es decir hay un alto grado de concordancia en el ensayo cuando el método se aplica repetidamente a múltiples alícuotas de una muestra homogénea.

Para la reproducibilidad en términos de precisión intermedia también los valores del % CV fueron inferiores al criterio de aceptación, de modo que los errores aleatorios no repercutieron apreciablemente. Lo que indica que las metodologías analíticas desarrolladas son precisas. Es decir hay un alto grado de concordancia en el ensayo cuando los métodos se aplican repetidamente a múltiples alícuotas de una muestra homogénea.

Tabla 31. Coeficientes de variación de la Reproducibilidad (Precisión Intermedia).

Parámetro	MG	d20	ST	SNG
% CV _R	0,325%	0,014%	0,093%	0,151%
Criterio de aceptación	≤ 4%	≤ 6%	≤ 3%	≤ 4%

Fuente: Autora.

En el caso de la Reproducibilidad el análisis se complementó con las pruebas de Fischer y de la t de Student. En el análisis la F_{exp} fue menor que la F_{tab} , por lo que no existieron diferencias significativas entre las precisiones del analista, independientemente del día en que se efectuó el ensayo.

Los valores de las t_{exp} resultaron menores que las t_{tab} en cada caso, por lo que no existieron diferencias significativas entre los valores medios obtenidos por el analista en dos días diferentes. El conjunto de estos resultados permitió asegurar que estos fueron homogéneos, lo que ratificó la precisión del método en estudio.

Tabla 32. Prueba de F de Fisher y t de Student.

Parámetro	Ho	t/F_{exp}				t/F_{tab}	Resultado
		MG	d20	ST	SNG		
F de Fisher	Ho: $\mu d = 0$.	1,146	1,040	1,031	1,034	3,507	Se acepta Ho
t de Student	Ho: $\bar{\alpha}1 = \bar{\alpha}2$	1,793	0,921	1,333	1,154	2,306	Se acepta Ho

Fuente: Autora.

2.4. SENSIBILIDAD.

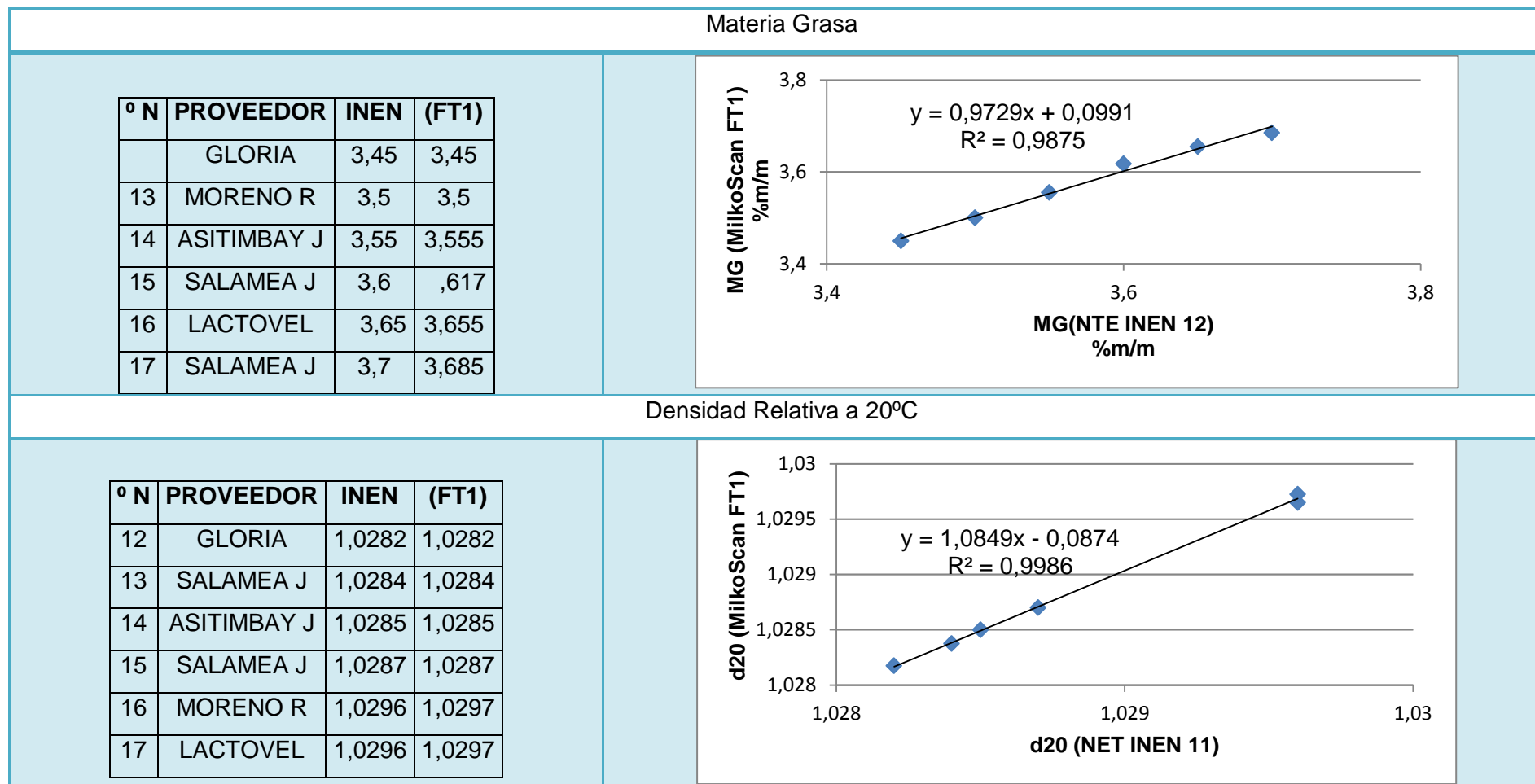
En la **Tabla 34 y 35** aparecen los resultados obtenidos en el ensayo de sensibilidad para la validación del Equipo MilkoScan FT1 en la determinación de los 4 parámetros fisicoquímicos de la leche cruda. La sensibilidad del método esta determinada por el valor de la pendiente de la recta obtenida por medio del método de los mínimos cuadrados.

Tabla 33. Valor de la pendiente de las rectas de regresión.

	MG	d20	ST	SNG
Sensibilidad de la calibración (m)	0,973	1,085	1,006	1,001
Criterio de aceptación	≈ 1			

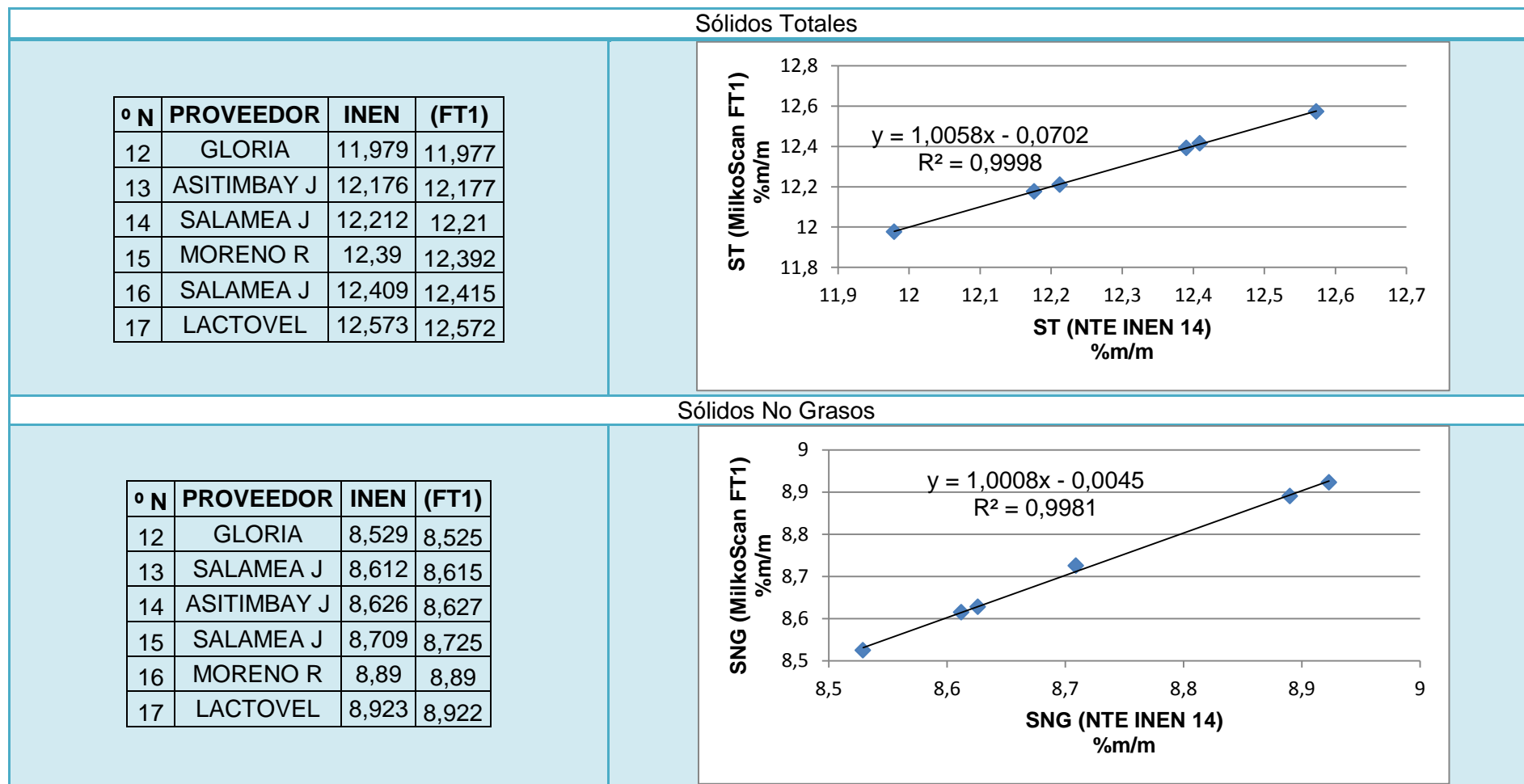
Fuente: Autora.

Tabla 34. Resultados del ensayo de sensibilidad para materia grasa y densidad relativa a 20°C.



Fuente: Autora.

Tabla 35. Resultados del ensayo de sensibilidad para sólidos totales y sólidos no grasos.



Fuente: Autora.

2.5. ROBUSTEZ.

En la Tabla 36 se puede observar los resultados de robustez para la determinación los 4 parámetros fisicoquímicos de leche cruda, tanto por el método oficial como por el equipo MilkoScan FT1. Para realizar el ensayo de robustez se modificó solo la variable temperatura; obteniéndose 8 grupos de ensayo, los cuales se realizaron por duplicado.

Tabla 36. Datos obtenidos para el ensayo de robustez.

Materia Grasa.				Densidad relativa a 20°C.			
° N	PROVEEDOR		INEN 11	° N	PROVEEDOR		INEN 11
60	MONGE MANUEL		3,8	60	MONGE MANUEL		1,0298
Temperatura				Temperatura			
8 ° C	12 ° C	16 ° C	20 ° C	8 ° C	12 ° C	16 ° C	20 ° C
3,8	3,82	3,79	3,8	1,0299	1,0299	1,0297	1,0298
3,8	3,81	3,8	3,8	1,0298	1,0299	1,0298	1,0299
24 ° C	28 ° C	32 ° C	36 ° C	24 ° C	28 ° C	32 ° C	36 ° C
3,82	3,79	3,81	3,81	1,0299	1,0299	1,0298	1,0298
3,82	3,8	3,81	3,82	1,0298	1,0299	1,0298	1,0298
Sólidos Totales.				Sólidos No Grasos.			
° N	PROVEEDOR		INEN 14	° N	PROVEEDOR		INEN 14
60	MONGE MANUEL		12,867	60	MONGE MANUEL		9,017
Temperatura				Temperatura			
8 ° C	12 ° C	16 ° C	20 ° C	8 ° C	12 ° C	16 ° C	20 ° C
12,87	12,88	12,86	12,87	9	9,01	9,01	9,02
12,87	12,89	12,87	12,87	9,01	9,01	9,01	9,02
24 ° C	28 ° C	32 ° C	36 ° C	24 ° C	28 ° C	32 ° C	36 ° C
12,87	12,88	12,89	12,89	9,02	9,03	9,03	9,03
12,88	12,88	12,89	12,88	9,01	9,03	9,01	9,03

Fuente: Autora.

En la Tabla 37 constan los resultados de desviación estándar que determinan que el método del MilkoScan FT1 para la determinación de los 4 parámetros fisicoquímico en leche cruda es robusto, ya que al variar la temperatura de alícuotas de la misma muestra en un intervalo de 8 a 32 ° C, dichos resultados no variaron significativamente.

Tabla 37. Resultados del ensayo de robustez.

PARÁMETROS	MG	d20	ST	SNG
DE _d : desviación estándar de las diferencias	0,004	2,672 x 10 ⁻⁵	0,003	0,004
DE: Desviación estándar	0,010	5,176 x 10 ⁻⁵	0,008	0,009
Criterio de aceptación: DE _d < DE	Se cumple			

Fuente: Autora.

Al cumplirse con el criterio de DE_d < DE se puede concluir que el método es robusto frente a cambios de temperatura de la muestra. Además se aplicó una prueba de t de Student, para un nivel de confianza de 95% con n1+n2-2 grados de libertad.

Tabla 38. Prueba t de Student para ensayo de Robustez.

Ho	t _{exp}				t _{tab}	Criterio de aceptación
	MG	d20	ST	SNG		
Ho: MCR = $\bar{\alpha}$	1,784	2,049	0,423	0,153	2,365	Se acepta la Ho

Fuente: Autora.

2.6. INCERTIDUMBRE.

Para el cálculo de la incertidumbre también es posible usar datos adquiridos en un proceso de validación, pero antes el laboratorio debe demostrar su competencia.

Tabla 39. Resultado de la competencia del laboratorio.

Parámetro	MG	d20	ST	SNG
DE_R	0,0126	0,001	0,012	0,014
DE_r	0,0052	0,001	0,010	0,006
Desviación estándar del laboratorio (DE_L)	0,0115	$5,477 \times 10^{-5}$	0,006	0,013
Criterio de aceptación Sesgo < $2 * DE_L$ y DE_r < $\sqrt{F} * DE_r$	SE CUMPLE			

Fuente: Autora.

Una vez cumplido los criterios establecidos se puede determinar el estimado de la incertidumbre combinada es expandido.

Tabla 40. Resultado de la incertidumbre.

	MG	d20	ST	SNG	Criterio de aceptación
DE_R	0,013	0,001	0,012	0,014	< 1 %
k	2				
U	0,025	0,001	0,0242	0,027	

Fuente: Autora.

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se desarrolló, calibró y validó una técnica analítica por Espectroscopia de Infrarrojo Medio Transformada de Fourier (FTIR) proporcionada por el equipo MilkoScan FT1 para la determinación de materia grasa, densidad relativa a 20°C, sólidos totales y sólidos no grasos en leche cruda, la cual figura en normas establecidas por la Asociación Internacional de Químicos Analíticos Oficiales Internacional (AOAC Internacional), llegando a las siguientes conclusiones:

1. El Equipo MilkoScan FT1 fue calibrado en la determinación de materia grasa, sólidos totales, sólidos no grasos y densidad relativa a 20°C mediante la ejecución del Software de calibración del equipo. Para la regresión se utilizó el modelo de cuadrados mínimos parciales, obteniéndose un Coeficiente de Correlación (r) de 0.999 y un error estándar de predicción (EEP) de 0.009 para materia grasa; un r de 0.996 y EEP de 0.147 para sólidos totales, un r de 0.990 y EEP de 0.061 para sólidos no grasos; un r de 0.993 y EEP de 0.633 para densidad relativa a 20°C. Cumpliendo con lo estipulado por la AOAC Internacional.
2. Se validó la metodología para determinación de materia grasa, sólidos totales, sólidos no grasos y densidad relativa a 20°C en leche cruda utilizando la tecnología FTIR brindada por el equipo MilkoScan FT1, mediante los resultados obtenidos de los parámetros de desempeño:

LINEALIDAD: Los residuales no mostraron tendencia sistemática. El coeficiente de correlación lineal (r) y el coeficiente de determinación (R^2) fueron mayores a 0,98. El coeficiente de variación de los factores de respuesta (F) fue menor al 5%. Se demostró que la pendiente de la recta de regresión lineal es estadísticamente distinta de cero, ya que al realizar la prueba t de Student se obtuvo un valor t_{exp} mayor a t_{tab} . Para el caso del test de proporcionalidad, los límites de confianza para el intercepto incluyen al cero y al aplicar la prueba de t de Student se determinó que el intercepto es estadísticamente igual a cero al obtener un t_{exp} menor a t_{tab} .

EXACTITUD: El % de Error (%E) se encontró dentro del $\pm 1,5\%$. En la prueba t de Student se obtuvo t_{exp} menor a t_{tab} , lo cual indicó que no existían diferencias significativas entre el valor obtenido del equipo y el de referencia. En la prueba G de Cochran, se obtuvo G_{exp} menor G_{tab} , lo que indicó que el factor concentración no tenía ninguna influencia en los resultados.

PRECISIÓN: Los coeficientes de variación de la repetibilidad fueron: $\leq 2\%$ para materia grasa y sólidos no grasos, $\leq 3\%$ para densidad relativa a 20°C y $\leq 1,5\%$ para sólidos totales. De igual manera los coeficientes de variación de la reproducibilidad fueron: $\leq 4\%$ para materia grasa y sólidos no grasos, $\leq 6\%$ para densidad relativa a 20°C y $\leq 3\%$ para sólidos totales. El análisis de reproducibilidad se complementó con las prueba de Fischer y t de Student, en ambos casos se obtuvieron valores experimentales menores a los obtenidos en tablas ($t_{exp} < t_{tab}$ y $F_{exp} < F_{tab}$), demostrándose así que el método analítico no varía cuando era aplicado por un mismo analista a una misma muestra pero en diferentes días.

SENSIBILIDAD: La valor de la pendiente fue cercana a la unidad.

ROBUSTEZ: El factor evaluado fue un cambio en la temperatura de la muestra. La desviación estándar de las diferencias (desviación estándar entre cada grupo de ensayo) fue menor a la desviación estándar total, con lo cual se demostró que no existían diferencias significativas entre cada grupo de estudio. Con la prueba t de Student se demostró la no existencia de diferencias significativa entre los valores obtenidos por el equipo y el de referencia ya que t_{exp} fue menor a t_{tab} .

INCERTIDUMBRE: Este valor se calculó gracias a los valores obtenidos de la validación del método. Tras demostrar la competencia del laboratorio, el resultado obtenido fue menor al 1% (valor de referencia del laboratorio de la Empresa de Lácteos San Antonio).

De lo anteriormente expuesto se demuestra que la metodología analítica del equipo MilkoScan FT1 es lineal, precisa, exacta, robusta y sensible en las concentraciones analizadas; por tanto, es confiable para utilizarla para el análisis de leche cruda en los 4 parámetros fisicoquímicos mencionados.

RECOMENDACIONES

- ✓ La validación de métodos analíticos se podría efectuar con menor cantidad de muestras y por más tiempo.
- ✓ Algunas organizaciones internacionales como la AOAC Internacional recomiendan utilizar un mayor número de niveles de concentración para los estudios de linealidad, exactitud y precisión.
- ✓ Se debería analizar niveles de concentración proporcionales, es decir que tengan igual intervalo de concentración para los estudios de Linealidad, Exactitud, Sensibilidad y Precisión en los siguientes parámetros fisicoquímicos: Materia Grasa, Sólidos Totales y Sólidos no Grasos.
- ✓ En los ensayos de precisión se debería trabajar conjuntamente con otro analista, para obtener resultados que confirmen la reproducibilidad de los resultados; o incluso se podría trabajar en conjunto con un laboratorio acreditado.
- ✓ Se debería identificar otros factores externos que puedan inferir en los resultados proporcionados por el equipo MilkoScan FT1.

BIBLIOGRAFÍA

1. AEC. (2011). Asociación Española para la Calidad. Recuperado el 25 de Marzo de 2015, de Normas ASTM: <http://www.aec.es/web/guest/centro-conocimiento/normas-astm>.
2. Alais, C. (2000). Ciencia de la leche. México, DF: Cía. Editorial.
3. Amador Hernández, J., López Martínez, L., López de Alba, P., Caldera, A., Estela, J., & Cerda, V. (1999). Boletín de la Sociedad Chilena de Química. Recuperado el 30 de Enero de 2015, de determinación simultánea de seis hidrocarburos policíclicos aromáticos en medio micelar por regresión de mínimos cuadrados parciales (pls-1) utilizando espectros de fluorescencia de ángulo variable lineal: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0366-16441999000300007](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0366-16441999000300007&lng=es&tlng=es)
4. AOAC. (2005). AOAC Internacional. Recuperado el 25 de Marzo de 2015, de AOAC Latina: <http://www.aoaclatina.com.ar/>.
5. Ares, J. L., de Vera, M. E., Garrido, A., & Serradilla, J. M. (2010). Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. Recuperado el 2 de Abril de 2015, de La Espectroscopía de Infrarrojo Cercano aplicada al análisis de contenido de proteína y caseína total en leche de cabra: http://www.juntadeandalucia.es/export/drupaljda/1337165056La_Espectroscopia_de_infrarrojo_cercano_aplicada_al_analisis_del_contenido_de_proteina_y_casexna.pdf
6. Asecal. (2010). Validación y Cálculo de la Incertidumbre de Métodos de Ensayo.
7. Castillo Aguilar Beatríz, G. H. (1996). Revista Cubana de Farmacia. Recuperado el 31 de Diciembre de 2014, de Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75151996000100009
8. Clavijo Díaz, A. (2002). Fundamentos de Química Analítica. Equilibrio iónico y análisis químico. (U. N. Colombia, Ed.) Bogotá, Colombia: Unibiblos.

9. CODEX. (2000). "Norma General del Codex para el uso de términos lecheros". Codex Stan 206.
10. COVENIN 2534:2000. (2000). ISO/IEC 17025:1999. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. Norma.
11. COVENIN ISO 9000. (2000). Sistemas de gestión de la calidad. Fundamentos vocabulario. Norma.
12. Dairy Foods. (2014). Dairy Foods. Recuperado el 10 de Marzo de 2015, de Adulteration screening made easier with new models for the FOSS MilkoScan™ FT1: <http://www.dairyfoods.com/articles/90573-adulteration-screening-made-easier-with-new-models-for-the-foss-milkoscan-ft1>
13. DGPA. (2005). Aspectos nutricionales y tecnológicos de la leche. Recuperado el 26 de Septiembre de 2014, de Dirección General de Promoción Agraria: [http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con3_uibd.nsf/7AE7E7AB111562710525797D00789424/\\$FILE/Aspectosnutricionalesytecnol%C3%B3gicosdelaleche.pdf](http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con3_uibd.nsf/7AE7E7AB111562710525797D00789424/$FILE/Aspectosnutricionalesytecnol%C3%B3gicosdelaleche.pdf)
14. Docsetools. (2014). Docsetools. Recuperado el 10 de Marzo de 2015, de Espectroscopía transformada de Fourier: http://docsetools.com/articulos-noticias-consejos/article_134954.html
15. Duffau, B., Rojas, F., Guerrero, I., Roa, L., Rodríguez, L., Soto, M., y otros. (2010). Instituto de Salud Pública de Chile. Recuperado el 21 de Enero de 2015, de Validación de metodos y determinación de la incertidumbre de medición: http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento_tecnico/2010/12/Guia%20T%C3%A9cnica%201%20validaci%C3%B3n%20de%20M%C3%A9todos%20y%20determinaci%C3%B3n%20de%20la%20incertidumbre%20de%20la%20medici%C3%B3n_1.pdf
16. FOSS. (2011). MilkoScan FT1: Software Manual. Hillerod, Dinamarca.
17. FOSS. (2011). MilkoScan FT1: Spare Parts Manual. Hillerod, Dinamarca.



18. FOSS. (2011). MilkoScan™ FT1. Recuperado el 19 de Octubre de 2014, de Estandarización de la leche con detección de anomalías: [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/MilkoScan%20FT1AbrochureES%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/MilkoScan%20FT1AbrochureES%20(1).pdf)
19. FOSS Analytical A/S. (2011). MilkoScan FT1: Manual del usuario. (FOSS, Ed.) Hillerod, Dinamarca.
20. Franklin, B. (2011). El libro blanco de la leche y los productos lácteos. México: <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/390/3/03%20AGI%20259%20REVISI%C3%93N%20DE%20LITERATURA.pdf>.
21. Fuentes Navart, M., Bosch Ojeda, C., & Sánchez Rojas, F. (2008). Sociedad Química de México. Recuperado el 2 de Marzo de 2015, de Aplicación de la Espectroscopía del Infrarrojo Medio en Química Analítica de Procesos: <http://www.bsqm.org.mx/PDFS/V2/N3/1-Fuentes%20Navarta.pdf>
22. García Martínez, E., Fernández Segovia, I., & Fuentes López, A. (2009). Universidad Politécnica de Valencia. Recuperado el 10 de Marzo de 2015, de Departamento de Tecnología de Alimentos: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/30627/Grasa%20leche-%202013.pdf?sequence=1>
23. Gil, A. (2010). Tratado de Nutrición: Composición y calidad nutritiva de los alimentos (Segunda ed.). Madrid, España: Editorial Médica Panamericana.
24. Gómez Ruiz, S., & Alonso, S. (2010). Análisis Instrumental (Primera ed.). (L. Bello, Ed.) La Coruña, España: Netbiblo, S.L.
25. Hilario, A., & Carbonell, P. (2006). Departamento de Ingeniería de Sistemas y Automática. Recuperado el 13 de Enero de 2015, de Cuaderno Técnico: Calibración de equipos de medida industrial según ISO 9000: http://www.ceautomatica.es/old/actividades/jornadas/XXI/documentos/ja00_012/ja00_012.pdf
26. INEN 11. (1984). Leche: Determinación de la densidad relativa. Recuperado el 18 de Octubre de 2014, de <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.0011.1984.pdf>

27. INEN 14. (1984). INEN. Recuperado el 18 de Octubre de 2014, de NTE INEN 0014 (1984) (Spanish): Leche. Determinación de sólidos totales y cenizas: <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.0014.1984.pdf>
28. INEN 9. (2012). NTE INEN 9:2012. Quito: Disponible en: <http://www.inen.gob.ec/images/pdf/nte/9-5.pdf>.
29. Jimaré , B., Bosch Ojeda, C., & Sánchez Rojas, F. (2008). Real Sociedad Española de Química. Recuperado el 2 de Abril de 2015, de Química analítica de procesos: Aplicaciones de la espectrometría de absorción en el infrarrojo cercano al análisis de biocombustibles y al análisis de alimentos: [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Dialnet-QuimicaAnaliticaDeProcesos-2996497%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Dialnet-QuimicaAnaliticaDeProcesos-2996497%20(1).pdf)
30. Jurado , J. M. (2008). Departamento de Química Analítica . Recuperado el 15 de Febrero de 2015, de Aplicación de Microsoft Excel a la Química Analítica: validación de métodos analíticos: <http://personal.us.es/jmjurado/docs/AQAEXCEL.pdf>
31. Leiva Guzmán, A. (2006). Materiales de referencia y comparaciones interlaboratorio. Fundacion Centro Nacional del Medio Ambiente.
32. LTI. (2014). Laboratorio de Técnicas Instrumentales UVA. Recuperado el 25 de Marzo de 2015, de Espectroscopía de absorción atómica: <http://laboratoriotecnicasinstrumentales.es/analisis-quimicos/espectroscopa-de-absorcin-atmica>
33. Martí Veciana, A. (2000). Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales de España. Recuperado el 15 de Marzo de 2015, de NTP 547: Evaluación de riesgos por agentes químicos. El método analítico: aspectos básicos: http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/501a600/ntp_547.pdf
34. Millares de Torre, S. (2003). Calidad de la leche. Lima.
35. NMX-F-3878. (1982). Normas Mexicanas. Recuperado el 10 de Marzo de 2015, de Alimentos. Leche Fluida. Determinación de grasa: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-387-1982.PDF>

36. Norma ISO 2446. (2008). Leche. Determinación del contenido de grasa.
37. QuimiNet. (2008). QuimiNet. Recuperado el 25 de Marzo de 2015, de Buenas Prácticas de Laboratorio: <http://www.quiminet.com/articulos/que-son-las-buenas-practicas-de-laboratorio-blp-glp-17174.htm>
38. Rodríguez Benavídes, G., & Blanco Sáenz, R. (2001). Revista Costarricense de Ciencias Médicas. Recuperado el 28 de Diciembre de 2014, de Aseguramiento de la calidad analítica y norma ISO 17025: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0253-29482001000100009&script=sci_arttext
39. Rodríguez, G., Gatti, P., Otheguy, L., & Vega, O. (2010). Medición de los componentes nutricionales de la leche humana proveniente del Banco de Leche Humana del Hospital Materno Infantil R. Sardá. (L. B. Aires, Ed.) Recuperado el 2 de Abril de 2015, de Comparación de metodologías analíticas de referencia, instrumentales por infrarrojo y de rutina por crematocrito: <http://www.inti.gob.ar/tecnointi/CD/info/pdf/331.pdf>
40. Romero del Castillo , R., & Mestres Lagárriga, J. (2004). Productos lácteos. Tecnología. Madrid.
41. Soledad Rodríguez, B. E. (2011). La Validación en la Empresa. Madrid, España.
42. Stone, D., & Ellis, J. (2006). Analytical Chemistry (Sexta ed.).
43. Suárez Perez, Y., Izquierdo Castro, A., & Milian Sánchez, J. M. (2009). Validación de un método cromatográfico para la cuantificación de mefenesina en tabletas de producción nacional. Revista Cubana de Farmacia, 43(2).
44. Suárez, R., Arévalo, E., Linares, L., Ustaríz, F., & Hernández, G. (2009). Validación de un método analítico para determinación de magnesio eritrocitario. (U. d. Andes, Ed.) Avances en Química, 4(2), 53 - 62.
45. Tablas Estadísticas. (2011). Recuperado el 11 de Marzo de 2015, de <http://www4.ujaen.es/~mpfrias/TablasInferencia.pdf>
46. Universidad de Chile. (2004). Materiales de Referencia y Comparaciones. Santiago de Chile: CENMA.



47. Universidad de Valparaíso. (2010). Universidad de Valparaíso. Recuperado el 25 de Marzo de 2015, de Farmacopea de Chile: <http://farmacopea.cl/que-es-una-farmacopea/>
48. Universidad de Zulia. (2008). Facultad de Ciencias Veterinarias. Recuperado el 10 de Marzo de 2015, de Cátedra de ciencias y tecnología de la leche, determinación de grasa y sólidos totales en leche y derivados: http://www.revistavirtualpro.com/files/ti27_200512.pdf
49. USPXXII. (2000). Métodos Analíticos Validación. México. Comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 73-123.
50. Vega Rodríguez, G. (2011). Comisión de Control de Analítico y Ampliación de Cobertura. Recuperado el 4 de Febrero de 2015, de Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/cvfq032011.pdf>
51. Villareal, L. (2012). Validación de Métodos de Ensayo y Estimación de la incertidumbre de medida. Curso – Taller dictado por el DPEC.
52. Zossi, S., Ruíz, R. M., & Sorol, N. (2010). Revista industrial y agrícola de Tucumán. Recuperado el 19 de Diciembre de 2014, de Espectroscopía por infrarrojo cercano (NIRS). Su aplicación en análisis de jugos de caña de azúcar: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-30182010000100001

GLOSARIO

- ✓ **Adecuabilidad del sistema:** Verificación de que el sistema opera con base a criterios que permitan asegurar la confiabilidad de los resultados de un método analítico.
- ✓ **Certificación:** Procedimiento por el que un organismo de certificación reconoce oficialmente que un organismo, persona o producto cumple determinadas especificaciones.
- ✓ **Control de calidad:** Sistema general de procedimientos y procesos de laboratorio encaminados a controlar la calidad de los resultados analíticos de un laboratorio.
- ✓ **Criterios de aceptación:** Condiciones que han de cumplirse para que una operación, proceso o artículo, como un componente del equipo, se considere satisfactorio o que se ha completado de forma satisfactoria.
- ✓ **Desviación estándar (o típica):** Dato estadístico que muestra la extensión o dispersión de las puntuaciones en una distribución de éstas. Se aplica a toda clase de mediciones repetidas, por ejemplo, entre lotes, dentro de un mismo lote, en la repetibilidad y en la reproducibilidad.
- ✓ **Eficacia:** Capacidad de lograr el efecto que se desea o se espera.
- ✓ **Eficiencia:** Capacidad de disponer de alguien o de algo para conseguir un efecto determinado.
- ✓ **Estándares:** Que sirve como tipo de modelo, norma, patrón o referencia.
- ✓ **Error:** Acción considerada incorrecta o equivocada.
- ✓ **Error aleatorio:** Componente del error total de una medición que varía de forma impredecible. Ello hace que los distintos resultados queden a ambos lados del valor promedio.
- ✓ **Error sistemático:** Componente del error total de una medición que varía de forma constante. Ello hace que todos los resultados sean erróneos en el mismo sentido.
- ✓ **Error total:** Suma de errores aleatorios y sistemáticos. especificación: Exposición de requisitos, normalmente por escrito.
- ✓ **Factor de cobertura:** Número mayor que uno por lo que una combinación de incertidumbre en la medición estándar se multiplica a obtener una incertidumbre expandida de medida. Un factor de cobertura suele ser simbolizada k .

- ✓ **Intervalo de confianza:** Probabilidad de que la media de una población, esté dentro de cierta región en el promedio experimental de las mediciones.
- ✓ **Intervalo de trabajo:** Intervalo comprendido entre las concentraciones superior e inferior (incluyendo dichas concentraciones) y para las que se ha demostrado que el analito es cuantificado con un nivel satisfactorio de repetibilidad, recuperación y linealidad.
- ✓ **Muestra analítica:** Porción del material a evaluar de acuerdo al método analítico.
- ✓ **Nivel de significancia (α):** Es el nivel de significación utilizado para calcular el nivel de confianza. El nivel de confianza es igual a 100% ($1 - \alpha$), es decir, un alfa (α) de 0,05 indica un nivel de confianza de 95%.
- ✓ **Parámetros:** Variable que, en una familia de elementos, sirve para identificar cada uno de ellos mediante su valor numérico.
- ✓ **Parámetros de desempeño:** Parámetro específico a estudiar en un protocolo de validación.
- ✓ **Procedimiento:** Forma especificada de realizar una actividad. A efectos de la garantía de calidad, los procedimientos deben consignarse por escrito. Forma establecida de realizar una actividad o proceso.
- ✓ **Procedimientos normalizados de trabajo:** Procedimientos consignados por escrito en los que se describe cómo realizar ciertas actividades de laboratorio.
- ✓ **Protocolo de validación:** Descripción de pruebas específicas para demostrar que un proceso da resultados que cumplen con los criterios preestablecidos de manera consistente.
- ✓ **Prueba de la conveniencia del sistema:** Validación de un sistema analítico. Se hace una prueba para comprobar el funcionamiento del sistema y si un determinado método analítico cumple las especificaciones de funcionamiento que constan en la documentación.
- ✓ **Recabar:** Almacenar información necesaria para luego procesarla, entenderla, estudiarla, etc.

LISTA DE SIGLAS

- ✓ **AA:** Espectrometría de absorción atómica.
- ✓ **AOAC:** Asociación de Químicos Analíticos Oficiales.
- ✓ **ASTM:** Sociedad Americana para Pruebas y Materiales.
- ✓ **BP:** Farmacopea Británica.
- ✓ **BPL:** Buenas Prácticas de Laboratorio.
- ✓ **BPM:** Buenas Prácticas de Manufactura.
- ✓ **EPA:** Agencia de Protección del Medioambiente
- ✓ **FAO:** Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- ✓ **FDA:** Agencia de Alimentos y Medicamentos.
- ✓ **GC:** Cromatografía de Gases.
- ✓ **HPLC:** Cromatografía Líquida de Alta Eficacia.
- ✓ **ICH:** Conferencia Internacional de Armonización.
- ✓ **ICP:** Plasma Inductivante Acoplado.
- ✓ **INEN:** Instituto Ecuatoriano de Normalización.
- ✓ **IR:** Infrarrojo.
- ✓ **ISO:** Organización Internacional de Normalización.
- ✓ **IUPAC:** Unión Internacional de Química Pura y Aplicada.
- ✓ **NTE:** Norma Técnica Ecuatoriana.
- ✓ **USDA:** Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América.
- ✓ **USP:** Farmacopea de los Estados Unidos de América.
- ✓ **VIM:** Vocabulario Internacional de Metrología.

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

- ✓ **b**: Intercepto con el eje “y”.
- ✓ **%CV_R**: Coeficiente de variación de la Reproducibilidad.
- ✓ **%CV_r**: Coeficiente de variación de la Repetibilidad.
- ✓ **DE**: Desviación estándar.
- ✓ **DE_{x/y}**: Desviación estándar ponderada.
- ✓ **DE_m**: Desviación estándar de la pendiente.
- ✓ **DE_b**: Desviación estándar del intercepto.
- ✓ **DE_d**: Desviación estándar del intercepto.
- ✓ **DE²**: Varianza.
- ✓ **d₂₀**: Densidad relativa a 20 ° C.
- ✓ **e**: Error absoluto .
- ✓ **E**: Error relativo.
- ✓ **EEP**: Error estándar de predicción.
- ✓ **f**: Factor de relación entre respuesta analítica y concentración.
- ✓ **f_{y/x}**: Factor respuesta.
- ✓ **FQ**: Físicoquímico.
- ✓ **FT**: Transformada de Fourier.
- ✓ **FTIR**: Espectroscopia por Transformada de Fourier.
- ✓ **G**: Test estadístico de la prueba de homogeneidad de varianza de Cochran.
- ✓ **gl**: Grados de libertad.
- ✓ **Ho**: Hipótesis nula.
- ✓ **H1**: Hipótesis alternativa.
- ✓ **IC**: Intervalo de confianza.
- ✓ **k**: Factor de cobertura



- ✓ **LC:** Límite de cuantificación.
- ✓ **LD:** Límite de detección.
- ✓ **m:** Pendiente.
- ✓ **MG:** Materia grasa de leche cruda.
- ✓ **MCP:** Muestras considerada como patrón.
- ✓ **n:** Número de datos.
- ✓ **r:** Coeficiente de correlación.
- ✓ **R²:** Coeficiente de determinación.
- ✓ **ST:** Sólidos Totales de leche cruda.
- ✓ **SNG:** Sólidos no grasos de leche cruda.
- ✓ **t_{exp}:** Valor experimental de t de Student.
- ✓ **t_{tab}:** Valor de t de Student obtenido en tablas.
- ✓ **µg:** Microgramo.
- ✓ **x:** Variable independiente.
- ✓ **ā:** Media aritmética.
- ✓ **y:** Variable dependiente.
- ✓ **∑:** Sumatoria.
- ✓ **||:** Valor absoluto.

ANEXOS

Anexo 1. Tabla de datos 1 de la calibración del MilkoScan FT1.

Nº	MUESTRA	MG INEN	MG FT1	d20 INEN	d20 FT1	ST INEN	ST FT1	SNF INEN	SNF FT1
1	GLORIA	3,55	3,55	1,0282	1,0279	12,101	11,59	8,551	7,98
2	MONGE	3,8	3,78	1,0292	1,0282	12,656	12,03	8,856	8,1
3	ROBLES F	3,6	3,69	1,0292	1,0289	12,412	11,79	8,812	8,21
4	CASTILLO	3,6	3,65	1,0302	1,0297	12,662	12,12	9,062	8,67
5	TUTUPALI	3,65	3,73	1,027	1,0269	11,923	11,54	8,273	8,08
6	STA. MARÍA	3,9	3,99	1,0287	1,0278	12,653	12,13	8,753	8,24
7	3 DE MAYO	3,9	3,81	1,0296	1,0282	12,878	12,32	8,978	8,35
8	GARCÍA M	3,45	3,58	1,028	1,0276	11,929	11,43	8,479	7,99
9	CARPIO	3,6	3,65	1,0296	1,0286	12,512	11,98	8,912	8,34
10	SIGUEN. E	3,5	3,5	1,0276	1,0274	11,89	11,32	8,39	8,09
11	SALAMEA P	3,4	3,45	1,028	1,0276	11,868	11,43	8,468	7,93
12	TORRES	3,5	3,33	1,0282	1,0269	12,04	11,26	8,54	7,88
13	GARCÍA J	3,5	3,56	1,0282	1,0271	12,04	11,23	8,54	7,85
14	CUENCA	3,95	3,77	1,029	1,0281	12,789	11,95	8,839	8,29
15	FLORES	3,5	3,54	1,0282	1,0271	12,04	11,27	8,54	7,73
16	GLORIA	3,5	3,52	1,028	1,0274	11,99	11,57	8,49	8,05
17	VALLEJO	3,4	3,4	1,0282	1,0281	11,918	12,21	8,518	7,92
18	MONGE	3,9	3,85	1,0292	1,0304	12,778	12,64	8,878	8,44
19	VIÑANSACA	3,8	3,85	1,0318	1,0306	13,306	12,17	9,506	8,59
20	TUTUPALI	3,8	3,72	1,0282	1,0289	12,406	11,79	8,606	8,16
21	ROBLES D	4	3,45	1,029	1,0293	12,85	11,59	8,85	8,16
22	UNOLARC	3,4	3,36	1,0312	1,0314	12,668	11,67	9,268	8,55
23	OCHOA M	4,1	3,86	1,0304	1,0311	13,322	12,37	9,222	8,39
24	STA. MARÍA	3,6	3,58	1,03	1,03	12,612	12	9,012	8,49
25	ROBLES F	3,7	3,42	1,0292	1,0293	12,534	11,75	8,834	8,25
26	MARQUINA	3,6	3,55	1,0288	1,0284	12,312	11,39	8,712	8,09
27	SIGUENC. T	3,5	3,52	1,0282	1,0269	12,04	11,32	8,54	7,85
28	SIGUENC. E	3,6	3,55	1,0292	1,0278	12,412	11,49	8,812	7,99
29	SALAMEA J	3,7	3,82	1,0284	1,0278	12,334	11,78	8,634	8,04
30	CARPIO	3,8	3,76	1,0302	1,0296	12,906	12,13	9,106	8,48
31	CALLE R	3,8	3,79	1,0292	1,0281	12,656	11,88	8,856	8,18
32	CASTRO	4,1	4	1,0292	1,0272	13,022	12,2	8,922	8,27
33	GLORIA	3,45	3,57	1,0292	1,027	12,229	11,53	8,779	8,03
34	ENCALADA	3,4	3,51	1,0282	1,026	11,918	11,13	8,518	7,69
35	LACTOVEL	3,7	3,69	1,029	1,0277	12,484	11,79	8,784	8,19
36	TORRES	3,6	3,57	1,029	1,0267	12,362	11,34	8,762	7,85
37	CUENCA	3,9	3,91	1,0302	1,0287	13,028	12,24	9,128	8,44
38	GARCÍA J	3,6	3,57	1,0286	1,0277	12,262	11,59	8,662	8,11
39	SALAMEA P	3,7	3,54	1,0284	1,0268	12,334	11,32	8,634	7,88

Fuente: Autora.

Anexo 2. Tabla de datos 2 de la calibración del MilkoScan FT1.

Nº	MUESTRA	MG INEN	MG FT1	d20 INEN	d20 FT1	ST INEN	ST FT1	SNF INEN	SNF FT1
40	CAMPOVERDE	3,4	3,45	1,0284	1,0267	11,968	11,42	8,568	8,04
41	GLORIA	3,45	3,51	1,0282	1,0264	11,979	11,36	8,529	7,91
42	MORENO	3,6	3,635	1,0292	1,0278	12,412	11,702	8,812	8,125
43	MARQUINA	3,55	3,57	1,0294	1,028	12,401	11,557	8,851	8,04
44	CARPIO	3,45	3,472	1,0288	1,028	12,129	11,377	8,679	7,98
45	ORELLANA	3,7	3,742	1,0284	1,0275	12,334	11,71	8,634	8,0325
46	CAMPOV.	3,4	3,407	1,0282	1,0275	11,918	11,432	8,518	8,05
47	FLORES	3,5	3,55	1,0284	1,0264	12,09	11,262	8,59	7,8075
48	VALLEJO	3,4	3,31	1,0284	1,0265	11,968	11,165	8,568	7,74
49	GLORIA	3,6	3,697	1,0294	1,0286	12,462	11,912	8,862	8,26
50	VIÑA. S	4	3,93	1,03	1,0295	13,1	12,355	9,1	8,475
51	ROBLES F	4	3,99	1,0298	1,0291	13,05	12,327	9,05	8,4
52	MONGE	4	4,01	1,029	1,0284	12,85	12,27	8,85	8,315
53	TUTUPALI	3,75	3,682	1,0282	1,0273	12,345	11,427	8,595	7,8325
54	SALAM. P	3,8	3,78	1,0292	1,0285	12,656	11,875	8,856	8,1925
55	SIGUEN. T	3,6	3,63	1,0282	1,0271	12,162	11,532	8,562	8,0175
56	LACTOVEL	3,6	3,585	1,03	1,0289	12,612	11,84	9,012	8,3075
57	CALLE R	3,8	3,81	1,0292	1,0277	12,656	11,855	8,856	8,1325
58	GARCÍA M	3,65	3,652	1,029	1,0285	12,423	11,767	8,773	8,2025
59	GARCÍA J	3,8	3,78	1,0284	1,0295	12,456	12,17	8,656	8,4725
60	MARQUINA	3,6	3,595	1,028	1,0279	12,112	11,57	8,512	8,0575
61	CARPIO	3,8	3,735	1,03	1,0300	12,856	12,23	9,056	8,645
62	SALA. J	3,65	3,66	1,0306	1,0285	12,823	11,83	9,173	8,285
63	ORELLANA	3,7	3,682	1,0288	1,0275	12,434	11,637	8,734	8,025
64	AGUAIZA	3,8	3,815	1,03	1,0301	12,856	12,325	9,056	8,575
65	CUENCA R	3,9	3,912	1,0302	1,0278	13,028	12,29	9,128	8,4775
66	SALAMEA P	3,75	3,6	1,028	1,0266	12,295	11,372	8,545	7,9
67	FLORES O	3,8	3,73	1,028	1,0266	12,356	10,254	8,556	7,7325
68	VIÑANSACA	3,7	3,73	1,0288	1,0292	12,434	12,185	8,734	8,545
69	VALLEJO	3,5	3,455	1,0282	1,0266	12,04	11,427	8,54	7,94
70	STA. MARÍA	3,9	3,852	1,0292	1,0286	12,778	12,155	8,878	8,375
71	TUTUPALI	3,8	3,782	1,0272	1,0268	12,156	11,49	8,356	7,81
72	UNOLARC	3,6	3,577	1,0282	1,0265	12,162	11,487	8,562	8,0225
73	CALLE R	3,7	3,677	1,0292	1,0272	12,534	11,725	8,834	8,1575
74	LACTOVEL	3,65	3,645	1,302	1,0285	12,723	11,837	9,073	8,295
75	MORENO R	3,95	3,952	1,03	1,0281	13,039	12,197	9,089	8,355
76	OJEDA J	3,95	3,942	1,0278	1,0278	12,489	12,17	8,539	8,355
77	GLORIA	3,6	3,577	1,029	1,0271	12,362	11,467	8,762	7,96
78	MARQUINA	3,6	3,586	1,0284	1,0266	12,212	11,33	8,612	7,835
79	FLORES O	3,6	3,535	1,029	1,0263	12,362	11,267	8,762	7,7925
80	VIÑANSACA	3,6	3,582	1,0298	1,0295	12,562	11,995	8,962	8,475

Fuente: Autora.

Anexo 3. Datos de Validación: Linealidad.

° N	MG INEN	MGMILKOSCAN FT1				D20INEN	D20MILKOSCAN FT1			
1	3,2	3,21	3,21	3,21	3,21	1,0276	1,0274	1,0278	1,0278	1,0274
2	3,4	3,37	3,36	3,36	3,37	1,0286	1,0286	1,0285	1,0285	1,0283
3	3,6	3,58	3,58	3,58	3,58	1,0297	1,0301	1,03	1,03	1,0302
4	3,8	3,81	3,8	3,81	3,81	1,0297	1,0297	1,0296	1,0299	1,0299
5	4	4	4,02	4	4,01	1,0301	1,0302	1,0301	1,0304	1,0306
21	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	1,0274	1,0263	1,027	1,0267	1,0268
22	3,6	3,59	3,59	3,59	3,59	1,028	1,0278	1,0279	1,0277	1,0279
23	3,7	3,69	3,71	3,71	3,69	1,0294	1,0292	1,0292	1,0293	1,0292
24	3,8	3,82	3,82	3,8	3,8	1,0295	1,0295	1,0296	1,0295	1,0295
25	3,9	3,87	3,87	3,87	3,87	1,0296	1,0296	1,0296	1,0297	1,0297
26	4	3,97	3,98	3,98	3,98	1,0296	1,0298	1,0295	1,0295	1,0296
27	4,1	4,11	4,11	4,1	4,11	1,0304	1,0305	1,0304	1,0304	1,0304
41	3,45	3,45	3,45	3,45	3,46	1,0278	1,0278	1,0276	1,0278	1,0276
42	3,5	3,47	3,48	3,47	3,47	1,028	1,0277	1,0278	1,028	1,028
43	3,55	3,53	3,53	3,53	3,53	1,0284	1,028	1,0281	1,028	1,028
44	3,6	3,58	3,58	3,56	3,57	1,0288	1,029	1,029	1,0288	1,029
45	3,65	3,66	3,66	3,65	3,65	1,0288	1,0286	1,0289	1,0288	1,0286
46	3,7	3,7	3,7	3,7	3,7	1,03	1,03	1,0304	1,0303	1,0304
61	3,5	3,53	3,53	3,52	3,53	1,0274	1,027	1,0271	1,0275	1,0273
62	3,55	3,56	3,56	3,56	3,56	1,028	1,0278	1,028	1,0283	1,0281
63	3,6	3,57	3,58	3,57	3,57	1,0288	1,0289	1,0289	1,0289	1,0287
64	3,65	3,65	3,65	3,64	3,65	1,0289	1,0287	1,0289	1,0291	1,0289
65	3,7	3,7	3,69	3,7	3,69	1,0294	1,0297	1,0296	1,0296	1,0296
66	3,75	3,75	3,75	3,75	3,75	1,0297	1,0296	1,0299	1,0298	1,0296
	ST(INEN)	ST(MILKOSCAN FT1)				SNG(INEN)	SNG(MILKOSCAN FT1)			
1	11,524	11,5	11,51	11,51	11,52	8,324	8,32	8,33	8,33	8,33
2	12,018	12,06	12,08	12,06	12,06	8,618	8,61	8,61	8,6	8,62
3	12,537	12,5	12,52	12,51	12,51	8,937	8,92	8,92	8,93	8,93
4	12,781	12,77	12,78	12,78	12,78	8,981	9	9,01	8,99	9,01
5	13,125	13,2	13,1	13,1	13,1	9,125	9,13	9,11	9,12	9,14
21	11,84	11,86	11,88	11,88	11,88	8,34	8,33	8,32	8,34	8,33
22	12,112	12,07	12,07	12,07	12,07	8,512	8,5	8,5	8,5	8,5
23	12,584	12,55	12,55	12,55	12,55	8,884	8,9	8,9	8,9	8,9
24	12,731	12,74	12,74	12,75	12,74	8,931	9,01	9	9	9
25	12,878	12,86	12,84	12,85	12,86	8,978	9,02	9,03	9,02	9,02
26	13	12,95	12,96	12,97	12,97	9	9,03	9,04	9,04	9,03
27	13,322	13,31	13,32	13,3	13,32	9,222	9,32	9,32	9,29	9,3
41	11,99	11,97	11,99	11,97	11,99	8,451	8,47	8,48	8,48	8,47
42	12,001	11,99	12	12	12	8,49	8,51	8,52	8,51	8,52
43	12,029	12,02	12,04	12,02	12,03	8,579	8,64	8,63	8,62	8,65
44	12,312	12,25	12,25	12,25	12,24	8,712	8,69	8,69	8,69	8,68
45	12,373	12,37	12,37	12,36	12,36	8,723	8,72	8,72	8,73	8,72
46	12,734	12,63	12,62	12,63	12,62	9,034	8,99	8,99	8,99	9
61	11,901	11,88	11,89	11,91	11,9	8,351	8,36	8,34	8,34	8,35
62	12,112	12,08	12,08	12,08	12,08	8,59	8,62	8,62	8,62	8,63
63	12,19	12,16	12,17	12,18	12,17	8,612	8,58	8,58	8,57	8,58
64	12,398	12,4	12,39	12,39	12,39	8,748	8,75	8,76	8,76	8,75
65	12,645	12,65	12,65	12,64	12,65	8,895	8,92	8,91	8,92	8,91
66	12,659	12,67	12,67	12,66	12,67	8,959	8,96	8,97	8,96	8,97

Fuente: Autora.

Anexo 4. Datos de Validación: Exactitud.

° N	MG	MG				D20	D20			
	INEN	MILKOSCAN FT1				INEN	MILKOSCAN FT1			
6	3,45	3,45	3,45	3,47	3,47	1,0275	1,0275	1,0274	1,0276	1,0276
7	3,5	3,48	3,47	3,47	3,47	1,028	1,0279	1,0279	1,0279	1,028
8	3,55	3,55	3,56	3,55	3,55	1,0281	1,0281	1,0282	1,028	1,028
9	3,6	3,6	3,6	3,6	3,6	1,0283	1,0283	1,0283	1,0283	1,0282
10	3,65	3,65	3,65	3,65	3,65	1,0294	1,0293	1,0294	1,0293	1,0294
11	3,7	3,69	3,69	3,69	3,7	1,0299	1,0299	1,03	1,03	1,03
28	3,35	3,34	3,34	3,35	3,36	1,0277	1,0277	1,0278	1,0276	1,0276
29	3,45	3,46	3,47	3,46	3,47	1,0283	1,0281	1,0283	1,0284	1,0282
30	3,55	3,56	3,57	3,55	3,55	1,0288	1,0287	1,0286	1,0287	1,0287
31	3,65	3,68	3,67	3,68	3,68	1,029	1,029	1,0291	1,0291	1,029
32	3,75	3,75	3,74	3,73	3,74	1,0292	1,029	1,0292	1,0292	1,029
47	3,5	3,49	3,49	3,49	3,49	1,0282	1,0278	1,0277	1,0277	1,0277
48	3,55	3,56	3,56	3,55	3,57	1,0286	1,0283	1,0283	1,0284	1,0278
49	3,6	3,57	3,58	3,58	3,58	1,0286	1,0284	1,0282	1,0281	1,0281
50	3,65	3,67	3,67	3,67	3,68	1,0288	1,0285	1,0287	1,029	1,0287
51	3,7	3,72	3,72	3,72	3,72	1,03	1,0302	1,0302	1,0303	1,0303
67	3,45	3,43	3,43	3,44	3,43	1,0285	1,0285	1,0286	1,0285	1,0285
68	3,5	3,51	3,52	3,51	3,52	1,0286	1,0286	1,0287	1,0286	1,0287
69	3,55	3,56	3,56	3,56	3,56	1,0287	1,0286	1,0286	1,0287	1,0288
70	3,6	3,59	3,6	3,58	3,59	1,0288	1,0286	1,0286	1,0291	1,0289
71	3,65	3,66	3,66	3,66	3,66	1,0298	1,0297	1,0299	1,0299	1,0299
72	3,7	3,7	3,7	3,7	3,7	1,0302	1,0301	1,0302	1,0301	1,0301
	ST	ST				SNG	SNG			
	INEN	MILKOSCAN FT1				INEN	MILKOSCAN FT1			
6	11,804	11,79	11,81	11,81	11,81	8,354	8,35	8,36	8,36	8,37
7	11,99	11,96	11,95	11,95	11,96	8,49	8,48	8,5	8,48	8,48
8	12,126	12,12	12,15	12,14	12,13	8,559	8,58	8,58	8,59	8,58
9	12,259	12,25	12,27	12,25	12,27	8,576	8,57	8,57	8,57	8,57
10	12,523	12,51	12,53	12,51	12,53	8,873	8,87	8,88	8,88	8,88
11	12,587	12,54	12,54	12,55	12,55	8,987	9,05	9,04	9,04	9,03
28	11,854	11,86	11,87	11,86	11,86	8,404	8,41	8,41	8,41	8,41
29	11,882	11,89	11,89	11,88	11,88	8,532	8,53	8,54	8,53	8,53
30	12,301	12,33	12,32	12,32	12,31	8,745	8,73	8,73	8,74	8,73
31	12,473	12,46	12,47	12,48	12,47	8,751	8,76	8,76	8,77	8,75
32	12,495	12,49	12,48	12,49	12,49	8,823	8,82	8,82	8,81	8,84
47	12,04	12,04	12,07	12,03	12,04	8,54	8,56	8,54	8,54	8,55
48	12,201	12,21	12,21	12,19	12,21	8,651	8,64	8,64	8,64	8,65
49	12,262	12,21	12,21	12,22	12,22	8,662	8,66	8,66	8,65	8,67
50	12,434	12,42	12,44	12,43	12,42	8,734	8,76	8,77	8,78	8,78
51	12,673	12,66	12,66	12,64	12,66	9,023	9,02	9,02	9,01	9,03
67	12,079	12,1	12,1	12,1	12,11	8,629	8,62	8,65	8,63	8,64
68	12,226	12,22	12,23	12,23	12,23	8,637	8,63	8,63	8,62	8,62
69	12,237	12,24	12,24	12,24	12,23	8,676	8,67	8,67	8,68	8,67
70	12,373	12,37	12,38	12,38	12,38	8,723	8,74	8,75	8,75	8,76
71	12,54	12,53	12,52	12,49	12,53	8,984	8,98	8,98	8,98	8,99
72	12,684	12,61	12,61	12,62	12,62	9,04	9,03	9,05	9,03	9,02

Fuente: Autora.

Anexo 5. Datos de Validación: Sensibilidad.

° N	MG INEN	MG MILKOSCAN FT1				D20 INEN	D20 MILKOSCAN FT1				
12	3,45	3,45	3,45	3,45	3,45	1,0282	1,0276	1,0279	1,028	1,0278	
13	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	1,0284	1,0284	1,0283	1,0284	1,0282	
14	3,55	3,55	3,55	3,56	3,56	1,0285	1,0284	1,0284	1,0286	1,0286	
15	3,6	3,62	3,61	3,62	3,62	1,0287	1,0291	1,029	1,0292	1,0289	
16	3,65	3,65	3,65	3,66	3,66	1,0296	1,0297	1,0297	1,0296	1,0296	
17	3,7	3,68	3,67	3,7	3,69	1,0296	1,0299	1,0298	1,0299	1,0299	
33	3,55	3,54	3,54	3,54	3,53	1,0283	1,0283	1,0287	1,0283	1,0285	
34	3,65	3,63	3,63	3,63	3,63	1,0284	1,0284	1,0287	1,0287	1,0286	
35	3,75	3,73	3,73	3,73	3,73	1,0285	1,0286	1,0286	1,0289	1,0288	
36	3,85	3,86	3,85	3,86	3,87	1,0288	1,029	1,0288	1,0287	1,0289	
37	3,95	3,92	3,92	3,96	3,97	1,0299	1,0298	1,0297	1,0296	1,0299	
52	3,65	3,64	3,66	3,64	3,65	1,0282	1,0282	1,0283	1,0282	1,0279	
53	3,7	3,72	3,72	3,71	3,71	1,0291	1,0293	1,0292	1,0292	1,0293	
54	3,75	3,74	3,74	3,75	3,73	1,0294	1,0294	1,0294	1,0293	1,0292	
55	3,8	3,77	3,77	3,78	3,76	1,0294	1,0296	1,0297	1,0298	1,0294	
56	3,85	3,83	3,85	3,84	3,83	1,0298	1,03	1,0299	1,0298	1,0298	
57	3,9	3,87	3,87	3,86	3,87	1,0298	1,0298	1,0297	1,03	1,0297	
58	3,95	3,95	3,96	3,95	3,96	1,0299	1,0303	1,0303	1,0302	1,0303	
59	4	3,98	3,97	3,96	3,97	1,0302	1,0305	1,0307	1,0304	1,0307	
73	3,45	3,44	3,43	3,43	3,44	1,0271	1,0268	1,0269	1,0269	1,0269	
74	3,5	3,47	3,48	3,49	3,49	1,0283	1,028	1,0279	1,0281	1,0278	
75	3,55	3,56	3,56	3,56	3,56	1,0289	1,0295	1,0288	1,0293	1,0292	
76	3,6	3,64	3,63	3,62	3,62	1,029	1,029	1,0289	1,0289	1,0289	
77	3,65	3,63	3,64	3,64	3,63	1,0292	1,0291	1,0291	1,029	1,029	
78	3,7	3,68	3,69	3,69	3,69	1,0293	1,0292	1,0292	1,0293	1,0292	
79	3,75	3,74	3,73	3,74	3,75	1,0302	1,0302	1,0303	1,0303	1,0304	
80	3,8	3,8	3,81	3,81	3,8	1,0303	1,0306	1,0302	1,0304	1,0304	
° N	ST INEN	ST MILKOSCAN FT1				SNG INEN	SNG MILKOSCAN FT1				
12	11,979	11,98	11,98	11,98	11,99	8,529	8,52	8,52	8,51	8,52	
13	12,176	12,2	12,21	12,23	12,22	8,612	8,61	8,61	8,62	8,63	
14	12,212	12,21	12,21	12,21	12,21	8,626	8,63	8,64	8,63	8,64	
15	12,39	12,42	12,41	12,41	12,44	8,709	8,7	8,71	8,71	8,71	
16	12,409	12,4	12,41	12,41	12,41	8,89	8,94	8,93	8,94	8,93	
17	12,573	12,55	12,55	12,55	12,56	8,923	8,92	8,93	8,93	8,93	
33	12,176	12,18	12,17	12,17	12,18	8,62	8,68	8,67	8,67	8,68	
34	12,273	12,23	12,25	12,23	12,24	8,623	8,66	8,67	8,67	8,66	
35	12,37	12,35	12,37	12,36	12,37	8,626	8,64	8,67	8,66	8,66	
36	12,739	12,77	12,75	12,79	12,82	8,789	8,87	8,88	8,87	8,86	
37	12,892	12,89	12,88	12,88	12,9	9,042	9,11	9,11	9,11	9,11	
52	12,284	12,26	12,27	12,27	12,28	8,584	8,58	8,59	8,58	8,58	
53	12,523	12,54	12,54	12,53	12,52	8,845	8,84	8,85	8,85	8,85	
54	12,631	12,63	12,64	12,65	12,65	8,873	8,88	8,88	8,87	8,88	
55	12,645	12,65	12,64	12,65	12,65	8,881	8,88	8,88	8,89	8,88	
56	12,867	12,85	12,85	12,86	12,87	8,917	8,92	8,92	8,9	8,9	
57	12,928	12,9	12,91	12,91	12,91	9,078	9,06	9,07	9,08	9,07	
58	13,014	13,1	13	12,99	13	9,114	9,12	9,13	9,12	9,11	
73	11,704	11,71	11,71	11,7	11,71	8,254	8,22	8,22	8,21	8,21	
74	12,065	12,07	12,08	12,09	12,07	8,565	8,56	8,56	8,56	8,56	
75	12,351	12,35	12,37	12,36	12,36	8,748	8,75	8,75	8,76	8,75	
76	12,362	12,34	12,32	12,32	12,34	8,762	8,71	8,71	8,71	8,71	
77	12,398	12,29	12,29	12,29	12,29	8,801	8,79	8,79	8,79	8,79	
78	12,62	12,64	12,62	12,63	12,64	8,87	8,93	8,93	8,92	8,92	
79	12,809	12,75	12,76	12,73	12,74	9,106	9,11	9,1	9,11	9,11	
80	12,906	12,99	12,97	12,97	12,96	9,109	9,2	9,22	9,23	9,21	

Fuente: Autora.

Anexo 6. Resultados de linealidad: Materia Grasa y Densidad Relativa a 20°C.

Materia grasa en leche cruda			Criterio de aceptación
Semana 2	Semana 3	Semana 4	
$y = 0,9884x + 0,0377$ $r=0,9976$; $R^2=0,9951$ $m=0,9883$; $b=0,0377$ Residuales aleatorios $CV_F=0,3868\%$ %Linealidad: 96,8752% F de Fisher $F_{exp}(1,0187) < F_{tab}(4,38737)$ Test estadístico "r" $t_r(32,002) > t_{tab}(2,571)$ Prueba de linealidad de la pendiente $t_{exp}(32,002) > t_{tab}(2,571)$ IC m: $0,9883 \pm 0,0622$ Prueba de proporcionalidad del intercepto $t_{exp}(0,121) < t_{tab}(2,571)$ IC b: $0,0377 \pm 0,6257$	$y = 1,0171x - 0,0671$ $r=0,9951$; $R^2=0,9903$ $m = 1,017$; $b=-0,067$ Residuales aleatorios $CV_F= 0,2862\%$ %Linealidad: 95,0397% F de Fisher $F_{exp}(1,0448) < F_{tab}(5,19216)$ Test estadístico "r" $t_r(20,259) > t_{tab}(2,776)$ Prueba de linealidad de la pendiente $t_{exp}(20,160) > t_{tab}(2,776)$ IC m: $1,017 \pm 0,1076$ Prueba de proporcionalidad del intercepto $t_{exp}(0,152) < t_{tab}(2,776)$ IC b: $-0,067 \pm 0,9420$	$y = 0,9829x + 0,063$ $r=0,9989$; $R^2=0,9977$ $m = 0,9829$; $b=0,0630$ Residuales aleatorios $CV_F=0,1288\%$ %Linealidad: 97,6235% F de Fisher $F_{exp}(1,0329) < F_{tab}(5,19216)$ Test estadístico "r" $t_r(42,079) > t_{tab}(2,776)$ Prueba de linealidad de la pendiente $t_{exp}(42,079) > t_{tab}(2,776)$ IC m: $0,9829 \pm 0,0498$ Prueba de proporcionalidad del intercepto $t_{exp}(0,304) < t_{tab}(2,776)$ IC b: $0,0630 \pm 0,4422$	$y = mx + b$; $r \geq 0,98$ $R^2 \geq 0,98$; $m \approx 1$ $b \approx 0$ Residuales aleatorios %Linealidad $\approx 100\%$ $CV_f \leq 5\%$ F de Fisher ($F_{exp} < F_{tab}$) Test estadístico para el "r" $p=0,05$; $y n - 2$ gl $t_r > t_{tab}$ (Correlación lineal significativa) Prueba de linealidad de la pendiente $m \approx 1$ ($t_{exp} > t_{tab}$).t alta, IC m: $m \pm t_{tabla} * S_m$ Prueba de proporcionalidad del intercepto $b \approx 0$ ($t_{exp} < t_{tab}$). IC b: $b \pm t_{tabla} * S_b$ Debe incluir el cero ($\alpha = 0,05$; $n-2 = gl$)
Densidad Relativa a 20°C			
$y = 1,036x - 0,037$ $r=0,9983$; $R^2=0,9966$ $m = 1,036$; $b=-0,0370$ Residuos aleatorios $CV_F= 0,0072\%$ %Linealidad: 97,3811% F de Fisher $F_{exp}(1,0769) < F_{tab}(4,38737)$ Test estadístico "r" $t_r(38,184) > t_{tab}(2,571)$ Prueba de linealidad de la pendiente $t_{exp}(38,184) > t_{tab}(2,571)$ IC m: $1,036 \pm 0,0547$ Prueba de proporcionalidad del intercepto $t_{exp}(0,501) < t_{tab}(2,571)$ IC b: $-0,0370 \pm 0,1489$	$y = 1,0412x - 0,0424$ $r=0,9980$; $R^2=0,9961$ $m = 1,0412$; $b=-0,0424$ Residuos aleatorios $CV_F=0,0059\%$ %Linealidad: 96,8633% F de Fisher $F_{exp}(1,0884) < F_{tab}(5,19216)$ Test estadístico "r" $t_r(31,881) > t_{tab}(2,776)$ Prueba de linealidad de la pendiente $t_{exp}(31,881) > t_{tab}(2,776)$ IC m: $1,0412 \pm 0,0696$ Prueba de proporcionalidad del intercepto $t_{exp}(0,515) < t_{tab}(2,776)$ IC b: $-0,0424 \pm 0,1754$	$y = 0,995x + 0,0051$ $r=0,9984$; $R^2=0,9968$ $m = 0,9950$; $b=0,0051$ Residuos aleatorios $CV_F=0,0045\%$ %Linealidad: 97,1541% F de Fisher $F_{exp}(1,0068) < F_{tab}(5,19216)$ Test estadístico "r" $t_r(35,139) > t_{tab}(2,776)$ Prueba de linealidad de la pendiente $t_{exp}(35,139) > t_{tab}(2,776)$ IC m: $0,9950 \pm 0,0604$ Prueba de proporcionalidad del intercepto $t_{exp}(0,072) < t_{tab}(2,776)$ IC b: $0,0051 \pm 0,1521$	

Fuente: Autora.

Anexo 7. Resultados de linealidad: Sólidos Totales y Sólidos No Grasos.

Sólidos Totales			Criterio de aceptación
Semana 2	Semana 3	Semana 4	
$y = 0,9934x + 0,0815$ $r=0,9999$; $R^2=0,9998$; $m = 0,9934$ $b=0,0815$ Residuos aleatorios $CVF=0,0615\%$ %Linealidad: 99,3898% F de Fisher $F_{exp}(1,0132) < F_{tab}(4,38737)$ Test estadístico “r” $t_r(163,885) > t_{tab}(2,571)$ Prueba de linealidad de la pendiente $t_{exp}(163,885) > t_{tab}(2,571)$ IC m: 0,9934 ± 0,0122 Prueba de proporcionalidad del intercepto $t_{exp}(0,402) < t_{tab}(2,571)$ IC b: 0,0815 ± 0,4084	$y = 1,0036x - 0,0429$ $r=0,9999$; $R^2=0,9999$ $m = 1,0036$; $b=-0,0429$ Residuos aleatorios $CVF=0,0195\%$ %Linealidad: 99,5703% F de Fisher $F_{exp}(1,0073) < F_{tab}(5,19216)$ Test estadístico “r” $t_r(232,756) > t_{tab}(2,776)$ Prueba de linealidad de la pendiente $t_{exp}(232,747) > t_{tab}(2,776)$ IC m: 0,9922 ± 0,0092 Prueba de proporcionalidad del intercepto $t_{exp}(0,332) < t_{tab}(2,776)$ IC b: 1,0036 ± 0,2756	$y = 1,002x - 0,0264$ $r=0,9999$; $R^2=0,9998$ $m = 1,0020$; $b=-0,0264$ Residuos aleatorios $CVF=0,0339\%$ %Linealidad: 99,3172% F de Fisher $F_{exp}(1,0043) < F_{tab}(5,19216)$ Test estadístico “r” $t_r(146,460) > t_{tab}(2,776)$ Prueba de linealidad de la pendiente $t_{exp}(146,460) > t_{tab}(2,776)$ IC m: 1,0020 ± 0,0146 Prueba de proporcionalidad del intercepto $t_{exp}(0,128) < t_{tab}(2,776)$ IC b: -0,0264 ± 0,4405	$y = mx + b$; $r \geq 0,98$ $R^2 \geq 0,98$; $m \approx 1$; $b \approx 0$ Residuales aleatorios %Linealidad $\cong 100\%$ $CV_f \leq 5\%$ F de Fisher ($F_{exp} < F_{tab}$) Test estadístico para el “r” $p=0,05$; $y n - 2$ gl $t_r > t_{tab}$ (Correlación lineal significativa) Prueba de linealidad de la pendiente $m \approx 1$ ($t_{exp} > t_{tab}$), t alta, IC m: $m \pm t_{tabla} * S_m$ Prueba de proporcionalidad del intercepto $b \approx 0$ ($t_{exp} < t_{tab}$). IC b: $b \pm t_{tabla} * S_b$ Debe incluir el cero ($\alpha = 0,05$; $n-2 = gl$)
Sólidos no Grasos			
$y = 1,0019x - 0,0148$ $r=0,9994$; $R^2=0,9989$ $m = 1,0019$; $b=-0,0148$ Residuos aleatorios $CVF=0,1164\%$ %Linealidad: 98,5031% F de Fisher $F_{exp}(1,0049) < F_{tab}(4,38737)$ Test estadístico “r” $t_r(66,806) > t_{tab}(2,571)$ Prueba de linealidad de la pendiente $t_{exp}(66,806) > t_{tab}(2,571)$ IC m: 1,0019 ± 0,0302 Prueba de proporcionalidad del intercepto $t_{exp}(0,0421) < t_{tab}(2,571)$ IC b: -0,0148 ± 0,7066	$y = 0,9954x + 0,0359$ $r=0,9999$; $R^2=0,9998$ $m = 0,9954$; $b=0,0359$ Residuos aleatorios $CVF=0,0315\%$ %Linealidad: 99,3922% F de Fisher $F_{exp}(1,0090) < F_{tab}(5,19216)$ Test estadístico “r” $t_r(164,528) > t_{tab}(2,776)$ Prueba de linealidad de la pendiente $t_{exp}(164,516) > t_{tab}(2,776)$ IC m: 0,9954 ± 0,0129 Prueba de proporcionalidad del intercepto $t_{exp}(0,279) < t_{tab}(2,776)$ IC b: 0,0359 ± 0,2738	$y = 1,0056x - 0,0419$ $r=0,9993$; $R^2=0,9986$ $m = 1,0056$; $b=-0,0419$ Residuos aleatorios $CVF=0,0954\%$ %Linealidad: 98,1056% F de Fisher $F_{exp}(1,0126) < F_{tab}(5,19216)$ Test estadístico “r” $t_r(52,788) > t_{tab}(2,776)$ Prueba de linealidad de la pendiente $t_{exp}(52,788) > t_{tab}(2,776)$ IC m: 1,0056 ± 0,0406 Prueba de proporcionalidad del intercepto $t_{exp}(0,103) < t_{tab}(2,776)$ IC b: -0,0419 ± 0,8660	

Fuente: Autora.

Anexo 8. Resultados de exactitud: Materia Grasa y Densidad Relativa a 20°C.

Materia Grasa			Criterio de aceptación
Semana 2	Semana 3	Semana 4	
$y = 0,9975x + 0,0164$ $r=0,9957$; $R^2=0,9914$ $m=0,9975$; $b=0,0164$ $\%E = 0,3753\%$ F de Fisher $F_{exp}(1,0036) < F_{tab}(6,38823)$ Prueba t de Student $t_{exp}(1,1703) < t_{tab}(2,776)$ Prueba de Cochran $G_{exp}(0,661) < G_{tab}(0,693)$ $(\alpha=0,05; k=5; n=4)$	$y = 1,015x - 0,0555$ $r=0,9930$, $R^2=0,9860$ $m=1,015$; $b=-0,0555$ $\%E = -0,1431\%$ F de Fisher $F_{exp}(1,0448) < F_{tab}(6,38823)$ Prueba t de Student $t_{exp}(0,3514) < t_{tab}()$ Prueba de Cochran $G_{exp}(0,148) < G_{tab}(0,693)$ $(\alpha=0,05; k=5; n=4)$	$y = 0,98x + 0,0757$ $r=0,9952$, $R^2 = 0,9905$ $m=0,98$; $b=0,0757$ $\%E = 0,2138\%$ F de Fisher $F_{exp}(1,0313) < F_{tab}(5,05034)$ Prueba t de Student $t_{exp}(1,1191) < t_{tab}(2,571)$ Prueba de Cochran $G_{exp}(0,191) < G_{tab}(0,532)$ $(\alpha=0,05; k=6; n=4)$	$y = mx + b$ $r \geq 0,98$; $R^2 \geq 0,98$ $m \approx 1$ $b \approx 0$ $\%E < \pm 1,5\%$. F de Fisher $F_{exp} < F_{tab}$ Prueba de la t de Student $p = 0,05$; y $n-1 =$ Grados de libertad $t_{exp} < t_{tab}$ Prueba de Cochran $G_{exp} < G_{tab}$
Densidad Relativa a 20°C			
$y = 0,9812x + 0,0193$ $r=0,9936$; $R^2=0,9872$ $m=0,9812$; $b=0,0193$ $\%E = 0,0061\%$ F de Fisher $F_{exp}(1,0255) < F_{tab}(6,38823)$ Prueba t de Student $t_{exp}(1,6334) < t_{tab}(2,776)$ Prueba de Cochran $G_{exp}(0,5) < G_{tab}(0,693)$ $(\alpha=0,05; k=5; n=4)$	$y = 0,9706x + 0,0302$ $r=0,9987$; $R^2=0,9974$ $m=0,9706$; $b=0,0302$ $\%E = 0,0024\%$ F de Fisher $F_{exp}(1,0587) < F_{tab}(6,38823)$ Prueba t de Student $t_{exp}(0,0006) < t_{tab}(2,776)$ Prueba de Cochran $G_{exp}(0,4) < G_{tab}(0,693)$ $(\alpha=0,05; k=5; n=4)$	$y = 0,9697x + 0,0312$ $r=0,9980$; $R^2=0,9961$ $m=0,9697$; $b=0,0312$ $\%E = 0,045\%$ F de Fisher $F_{exp}(1,0593) < F_{tab}(5,05034)$ Prueba t de Student $t_{exp}(0,2111) < t_{tab}(2,571)$ Prueba de Cochran $G_{exp}(0,4737) < G_{tab}(0,532)$ $(\alpha=0,05; k=6; n=4)$	


Fuente: Autora.

Anexo 9. Resultados de Exactitud: Sólidos Totales y Sólidos no Grasos.

Sólidos Totales			Criterio de aceptación
Semana 2	Semana 3	Semana 4	
$y = 0,9941x + 0,0704$ $r=0,9999$; $R^2=0,9997$ $m=0,9941$; $b=0,0673$ $\%E = 0,006\%$ F de Fisher $F_{exp}(1,0116) < F_{tab}(6,38823)$ Prueba t de Student $t_{exp}(0,7695) < t_{tab}(2,776)$ Prueba de Cochran $G_{exp}(0,361) < G_{tab}(0,693)$ $(\alpha=0,05; k=5; n=4)$	$y = 1,0009x - 0,0134$ $r=0,99974934$; $R^2=0,9995$ $m=1,0009$; $b=-0,0134$ $Z=0,0415\%$ F de Fisher $F_{exp}(1,0023) < F_{tab}(6,38823)$ Prueba t de Student $t_{exp}(1,0196) < t_{tab}(2,776)$ Prueba de Cochran $G_{exp}(0,672) < G_{tab}(0,693)$ $(\alpha=0,05; k=5; n=4)$	$y = 1,0071x - 0,0874$ $r=0,9994$; $R^2=0,9989$ $m=1,0071$; $b=-0,0874$ $\%E = 0,0399\%$ F de Fisher $F_{exp}(1,0154) < F_{tab}(5,05034)$ Prueba de la t de Student (%R) $t_{exp}(0,0511) < t_{tab}(2,571)$ Prueba de Cochran $G_{exp}(0,398) < G_{tab}(0,532)$ $(\alpha=0,05; k=6; n=4)$	$y = mx + b$ $r \geq 0,98$; $R^2 \geq 0,98$ $m \approx 1$ $b \approx 0$ $\%E < \pm 1,5\%$. F de Fisher $F_{exp} < F_{tab}$ Prueba de la t de Student $p = 0,05$; y $n-1 =$ Grados de libertad $t_{exp} < t_{tab}$ Prueba de Cochran $G_{exp} < G_{tab}$
Sólidos no Grasos			
$y = 0,9846x + 0,1337$ $r=0,9990$; $R^2=0,9980$ $m=0,9846$; $b=0,1337$ $\%E = 0,0715\%$ F de Fisher $F_{exp}(1,0294) < F_{tab}(6,38823)$ Prueba t de Student $t_{exp}(0,1485) < t_{tab}(2,776)$ Prueba de Cochran $G_{exp}(0,5708) < G_{tab}(0,693)$ $(\alpha=0,05; k=6; n=4)$	$y = 0,9918x + 0,0778$ $r=0,9947$; $R^2=0,9893$ $m=0,9918$; $b=0,0778$ $\%E = 0,024\%$ F de Fisher $F_{exp}(1,0057) < F_{tab}(6,38823)$ Prueba t de Student $t_{exp}(0,7771) < t_{tab}(2,1318)$ Prueba de Cochran $G_{exp}(0,4) < G_{tab}(0,693)$ $(\alpha=0,05; k=5; n=4)$	$y = 0,9974x + 0,0202$ $r=0,9984$; $R^2=0,9969$ $m=0,9974$; $b=0,0202$ $\%E = 3,75 \times 10^{-5}\%$ F de Fisher $F_{exp}(1,0020) < F_{tab}(5,05034)$ Prueba t de Student $t_{exp}(0,6270) < t_{tab}(2,571)$ Prueba de Cochran $G_{exp}(0,474) < G_{tab}(0,532)$ $(\alpha=0,05; k=6; n=4)$	

Fuente: Autora.

Anexo 10. Informe de validación del Equipo MilkoScan FT1 en la determinación de
Materia Grasa de Leche Cruda.

INDUSTRIA DE LÁCTEOS SAN ANTONIO C.A.	INFORME DE VALIDACIÓN DEL EQUIPO MILKOSCAN FT1	
Nº Validación: 1		
IDENTIFICACIÓN DEL MÉTODO DE ENSAYO VALIDADO		
Nombre del método validado: Espectroscopía de IR transformada de Fourier proporcionada por el Equipo MilkoScan FT1 para la determinación de materia grasa de leche cruda.		
Nombre del método de referencia: Método de Gerber (NTE INEN 12: 1987)		
Tipo Método: Cualitativo <input type="checkbox"/> Cuantitativo <input type="checkbox"/> Normalizado <input type="checkbox"/> Normalizado modificado <input type="checkbox"/> No Normalizado <input type="checkbox"/> Nuevo <input type="checkbox"/>		
Analito: Materia Grasa Unidades: %m/m Matriz: Leche Cruda	Responsable Validación: Ana Sofía Pauta Zaruma Firma: Fecha:	
IDENTIFICACIÓN DE EQUIPOS EMPLEADOS		
Equipos Involucrados:		
Nombre: MilkoScan FT1 Marca: FOSS Modelo: FT1 Nº Identificación: 200102522 Año: 2014 País: Dinamarca	Nombre: Centrifuga Marca: ELICROM Modelo: Funke Gerber Código: EILB201 Año: 2005 País: Alemania	Nombre: Baño María Marca: ELICROM Modelo: Funke Gerber Año: 2005 País: Alemania
Patrones: Muestras de leche cruda analizadas de manera repetitiva por métodos oficiales validados por el laboratorio (Método Gerber dictado por la NTE INEN 12:1987).		
PARÁMETROS DE VALIDACIÓN		
Pruebas realizadas: Selectividad <input type="checkbox"/> Robustez <input type="checkbox"/> Linealidad <input type="checkbox"/> Sensibilidad <input type="checkbox"/> Límites <input type="checkbox"/> Exactitud: Veracidad <input type="checkbox"/> Precisión <input type="checkbox"/> Otros: Incertidumbre		
1 de 3		

Fuente: Autora.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS EXPERIMENTALES REALIZADAS			
Linealidad			
Descripción: Este ensayo se efectuó 4 veces. Se analizaron como mínimo 5 niveles de concentración. Además las muestras se analizaron 4 veces por el equipo MilkoScan FT1.			
Tipo de calibración: Calibración Externa <input type="checkbox"/> Calibración en matriz <input type="checkbox"/> Calibración externa estándar interno (SI) <input type="checkbox"/> Calibración en matriz estándar interno (SI) <input type="checkbox"/>			
Ecuación de la recta:	$y = 1,018x + 0,074$	Intervalos de confianza : IC _m máx.: 1,027 min: 1,010 IC _b máx.: 0,721 min: 0,867	
	Valor obtenido	Criterio de Aceptabilidad	
Rango lineal		3,2 a 4,2	
Coefficiente de correlación	0,998	≥ 0,98	
Sensibilidad			
Descripción: Los ensayos se efectuaron por semana. Se analizaron como mínimo 5 niveles de concentración. Las muestras se analizaron 4 veces por el equipo MilkoScan FT1.			
	Valor obtenido	Criterio de Aceptabilidad	
pendiente, m:	1,019	≈ 1	
EXACTITUD			
Precisión			
Descripción: El ensayo para repetibilidad se efectuó la primera semana de la validación. En cambio el de precisión intermedia se efectuó la segunda semana. Se analizaron tres niveles de concentración. Las muestras se analizaron 6 veces por el equipo MilkoScan FT1.			
Precisión en condiciones de Repetibilidad			
Nivel/concentración (unidades)	DE_r	% CV_r	Criterio de Aceptabilidad
Bajo: 3,4 % m/m	0,005	0,152	≤ 2%
Medio: 3,6% m/m	0,005	0,143	≤ 2%
Alto: 3,7% m/m	0,005	0,139	≤ 2%
Precisión en condiciones de Reproducibilidad (Precisión Intermedia)			
Nivel/concentración (unidades)	DE_r	% CV_r	Criterio de Aceptabilidad
Bajo: 3,5 % m/m	0,005	0,147	≤ 4%
Medio: 3,7% m/m	0,005	0,148	≤ 4%
Alto: 3,9% m/m	0,013	0,325	≤ 4%
2 de 3			

Fuente: Autora.



Veracidad

Descripción:
 Los ensayos se efectuaron cada semana durante un mes. Se analizaron como mínimo 5 niveles de concentración. Las muestras se analizaron 4 veces por el equipo MilkoScan FT1.

	Valor obtenido (unidades)	Criterio de Aceptabilidad
% Error	0,394 %	$\leq \pm 1,5 \%$
t-Student, t_{exp} :	0,695	
t-Student, t_{tab} :	2,571	$t_{exp} < t_{tab}$

Robustez

Descripción:
 El ensayo se efectuó la tercera semana de la validación. En el análisis se modificó la temperatura (°C) de la muestra en 8 niveles. Cada nivel se analizó por duplicado por el equipo MilkoScan FT1.

Variable:
 Temperatura en ° C (Δt): 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32 y 36 ° C.

	Valor obtenido (unidades)	Criterio de Aceptabilidad
DE	0,0099	DE d < DE
DE _d	0,0037	Cumple

Incertidumbre

	Valor obtenido (unidades)	Criterio de Aceptabilidad
U	0,0253	< 1%

APLICABILIDAD


Analito	Materia Grasa	Unidades	% m/m
Rango de trabajo	3,2 – 4,2	Matriz	Leche Cruda

Revisado por:	Validación:	Firma	Fecha
Nombre:	Acceptada <input type="checkbox"/>		
Cargo:	Rechazada <input type="checkbox"/>		

OBSERVACIONES

.....

Anexo 11. Informe de validación del Equipo MilkoScan FT1 en la determinación de la Densidad Relativa a 20°C de Leche Cruda.

INDUSTRIA DE LÁCTEOS SAN ANTONIO C.A.	INFORME DE VALIDACIÓN DEL EQUIPO MILKOSCAN FT1	
Nº Validación: 2		
IDENTIFICACIÓN DEL MÉTODO DE ENSAYO VALIDADO		
Nombre del método validado: Espectroscopia de IR transformada de Fourier proporcionada por el Equipo MilkoScan FT1 para la determinación de la Densidad Relativa a 20°C de Leche Cruda.		
Nombre del método de referencia: Método del Lactodensímetro (NTE INEN 11)		
Tipo Método: Cualitativo <input type="checkbox"/> Cuantitativo <input type="checkbox"/> Normalizado <input type="checkbox"/> Normalizado modificado <input type="checkbox"/> No Normalizado <input type="checkbox"/> Nuevo <input type="checkbox"/>		
Parámetro: Densidad relativa a 20°C Unidades: no tiene Matriz: Leche Cruda	Responsable Validación: Ana Sofía Pauta Z. Firma: Fecha:	
IDENTIFICACIÓN DE EQUIPOS EMPLEADOS		
Equipos Involucrados:		
Nombre: MilkoScan FT1 Marca: FOSS Modelo: FT1 Código: CAN FT1 Año: 2014 País: Dinamarca	Nombre: Lactodensímetro Marca: ELICROM Modelo: Funke Gerber Año: 2012 País: Alemania (Berlín)	Nombre: Baño María Marca: ELICROM Modelo: Funke Gerber Año: 2005 País: Alemania
Patrones: Muestras de leche cruda analizadas de manera repetitiva por métodos oficiales validados por el laboratorio.		
PARÁMETROS DE VALIDACIÓN		
Pruebas realizadas: Selectividad <input type="checkbox"/> Robustez <input type="checkbox"/> Linealidad <input type="checkbox"/> Sensibilidad <input type="checkbox"/> Límites <input type="checkbox"/> Exactitud: Veracidad <input type="checkbox"/> Precisión <input type="checkbox"/> Otros: Incertidumbre		
<p style="text-align: center;">1 de 3</p>		

Fuente: Autora.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS EXPERIMENTALES REALIZADAS			
Linealidad			
Descripción: Este ensayo se efectuó 4 veces. Se analizaron como mínimo 5 niveles de concentración. Además las muestras se analizaron 4 veces por el equipo MilkoScan FT1.			
Tipo de calibración: Calibración Externa <input type="checkbox"/> Calibración en matriz <input type="checkbox"/> Calibración externa estándar interno (SI) <input type="checkbox"/> Calibración en matriz estándar interno (SI) <input type="checkbox"/>			
Ecuación de la recta:	$y = 1,041x + 0,043$	Intervalos de confianza : IC_m máx.: 1,170 min: 0,915 IC_b máx.: 0,303 min: - 0,390	
	Valor obtenido	Criterio de Aceptabilidad	
Rango lineal		1,0274 a 1,0294	
Coefficiente de correlación r	0,992	≥ 0,98	
Sensibilidad			
Descripción: Los ensayos se efectuaron por semana. Se analizaron como mínimo 5 niveles de concentración. Las muestras se analizaron 4 veces por el equipo MilkoScan FT1.			
	Valor obtenido	Criterio de Aceptabilidad	
pendiente, m:	1,0849	≈ 1	
EXACTITUD			
Precisión			
Descripción: El ensayo para repetibilidad se efectuó la primera semana de la validación. En cambio el de precisión intermedia se efectuó la segunda semana. Se analizaron tres niveles de concentración. Las muestras se analizaron 6 veces por el equipo MilkoScan FT1.			
Precisión en condiciones de Repetibilidad			
Nivel/concentración (unidades)	DE_r	% CV_r	Criterio de Aceptabilidad
Bajo: 1,0278	0,0001	0,005	≤ 3%
Medio: 1,0286	0,0001	0,013	≤ 3%
Alto: 1,0289	0,0004	0,040	≤ 3%
Precisión en condiciones de Reproducibilidad (Precisión Intermedia)			
Nivel/concentración (unidades)	DE_r	% CV_r	Criterio de Aceptabilidad
Bajo: 1,0278	0,0001	0,014	≤ 6%
Medio: 1,0286	0,00001	0,005	≤ 6%
Alto: 1,0289	0,00001	0,007	≤ 6%
2 de 3			

Fuente: Autora.



Veracidad

Descripción:
 Los ensayos se efectuaron cada semana durante un mes. Se analizaron como mínimo 5 niveles de concentración. Las muestras se analizaron 4 veces por el equipo MilkoScan FT1.

	Valor obtenido (unidades)	Criterio de Aceptabilidad
% Error	0,004 %	$\leq \pm 1,5 \%$
t-Student, t_{exp} :	0,567	
t-Student, t_{tab} :	2,571	$t_{exp} < t_{tab}$

Robustez

Descripción:
 El ensayo se efectuó la tercera semana de la validación. En el análisis se modificó la temperatura (°C) de la muestra en 8 niveles. Cada nivel se analizó por duplicado por el equipo MilkoScan FT1.

Variable:
 Temperatura en ° C (Δt): 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32 y 36 ° C.

	Valor obtenido (unidades)	Criterio de Aceptabilidad
DE	0,00003	DE d < DE
DE _d	0,00005	Cumple

Incertidumbre

	Valor obtenido (unidades)	Criterio de Aceptabilidad
U	0,0003	< 1%

APLICABILIDAD

Parámetro	Densidad	Unidades	
Rango de trabajo	1,0263 – 1,0303	Matriz	Leche Cruda


Revisado por:	Validación:	Firma	Fecha
Nombre:	Aceptada <input type="checkbox"/>		
Cargo:	Rechazada <input type="checkbox"/>		

OBSERVACIONES

.....

Fuente: Autora.

Anexo 12. Informe de validación del Equipo MilkoScan FT1 en la determinación de sólidos totales en la leche cruda.

INDUSTRIA DE LÁCTEOS SAN ANTONIO C.A.	INFORME DE VALIDACIÓN DEL EQUIPO MILKOSCAN FT1	
Nº Validación: 3		
IDENTIFICACIÓN DEL MÉTODO DE ENSAYO VALIDADO		
Nombre del método validado: Espectroscopia de IR transformada de Fourier proporcionada por el Equipo MilkoScan FT1 para la determinación de Sólidos Totales en Leche Cruda.		
Nombre del método de referencia: Fórmula proporcionada por la NTE INEN 14.		
Tipo Método: Cualitativo <input type="checkbox"/> Cuantitativo <input type="checkbox"/> Normalizado <input type="checkbox"/> Normalizado modificado <input type="checkbox"/> No Normalizado <input type="checkbox"/> Nuevo <input type="checkbox"/>		
Analito: Sólidos Totales Unidades: % m/m Matriz: Leche Cruda	Responsable Validación: Ana Sofía Pauta Zaruma Firma: Fecha:	
IDENTIFICACIÓN DE MATERIALES, INSUMOS O EQUIPOS EMPLEADOS		
Equipos Involucrados:		
Nombre: MilkoScan FT1 Marca: FOSS Modelo: FT1 Nº Identificación: 200102522 Código: CAN FT1 Año: 2014 País: Dinamarca	Nombre: Lactodensímetro Marca: ELICROM Modelo: Funke Gerber Nº Identificación: Año: País: Alemania (Berlín)	Nombre: Baño María Marca: ELICROM Modelo: Funke Gerber Nº Identificación: Año: País: Alemania
Patrones: Muestras de leche cruda analizadas de manera repetitiva por métodos oficiales validados por el laboratorio.		
PARÁMETROS DE VALIDACIÓN		
Pruebas realizadas: Selectividad <input type="checkbox"/> Robustez <input type="checkbox"/> Linealidad <input type="checkbox"/> Sensibilidad <input type="checkbox"/> Límites <input type="checkbox"/> Exactitud: Veracidad <input type="checkbox"/> Precisión <input type="checkbox"/> Otros: Incertidumbre		
1 de 3		

Fuente: Autora.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS EXPERIMENTALES REALIZADAS			
Linealidad			
Descripción: Este ensayo se efectuó 4 veces. Se analizaron como mínimo 5 niveles de concentración. Además las muestras se analizaron 4 veces por el equipo MilkoScan FT1.			
Tipo de calibración: Calibración Externa <input type="checkbox"/> Calibración en matriz <input type="checkbox"/> Calibración externa estándar interno (SI) <input type="checkbox"/> Calibración en matriz estándar interno (SI) <input type="checkbox"/>			
Ecuación de la recta:	$y = 0,993x + 0,083$	Intervalos de confianza : IC_m máx.: 1,053 min: 0,934 IC_b máx.: 2,033 min: -1,8621	
	Valor obtenido	Criterio de Aceptabilidad	
Rango lineal	11, 524 – 13,125 % m/m		
Coefficiente de correlación r	0,999	≥ 0,98	
Sensibilidad			
Descripción: Los ensayos se efectuaron por semana. Se analizaron como mínimo 5 niveles de concentración. Las muestras se analizaron 4 veces por el equipo MilkoScan FT1.			
	Valor obtenido	Criterio de Aceptabilidad	
pendiente, m:	1,006	≈ 1	
EXACTITUD			
Precisión			
Descripción: El ensayo para repetibilidad se efectuó la primera semana de la validación. En cambio el de precisión intermedia se efectuó la segunda semana. Se analizaron tres niveles de concentración. Las muestras se analizaron 6 veces por el equipo MilkoScan FT1.			
Precisión en condiciones de Repetibilidad			
Nivel/concentración (unidades)	DE_r	% CV_r	Criterio de Aceptabilidad
Bajo: 3,4 % m/m	0,005	0,044	≤ 1,5%
Medio: 3,6% m/m	0,004	0,033	≤ 1,5%
Alto: 3,7% m/m	0,01	0,083	≤ 1,5%
Precisión en condiciones de Reproducibilidad (Precisión Intermedia)			
Nivel/concentración (unidades)	DE_r	% CV_r	Criterio de Aceptabilidad
Bajo: 3,5 % m/m	0,006	0,053	≤ 3%
Medio: 3,7% m/m	0,008	0,064	≤ 3%
Alto: 3,9% m/m	0,012	0,093	≤ 3%
2 de 3			


Fuente: Autora.



Veracidad			
Descripción: Los ensayos se efectuaron cada semana durante un mes. Se analizaron como mínimo 5 niveles de concentración. Las muestras se analizaron 4 veces por el equipo MilkoScan FT1.			
	Valor obtenido (unidades)		Criterio de Aceptabilidad
% Error	0,030 %		$\leq \pm 1,5 \%$
t-Student, t_{exp} :	0,085		
t-Student, t_{tab} :	2,571		$t_{exp} < t_{tab}$
Robustez			
Descripción: El ensayo se efectuó la tercera semana de la validación. En el análisis se modificó la temperatura (°C) de la muestra en 8 niveles. Cada nivel se analizó por duplicado por el equipo MilkoScan FT1.			
Variable: Temperatura en ° C (Δt): 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32 y 36 ° C.			
	Valor obtenido (unidades)		Criterio de Aceptabilidad
DE	0,003		DE d < DE
DE _d	0,008		Cumple
Incertidumbre			
	Valor obtenido (unidades)		Criterio de Aceptabilidad
U	0,024		< 1%
APLICABILIDAD			
Analito	Sólidos Totales	Unidades	% m/m
Rango de trabajo	11,524 – 13,322	Matriz	Leche Cruda
Revisado por:	Validación:	Firma	Fecha
Nombre:	Aceptada <input type="checkbox"/> Rechazada <input type="checkbox"/>		
Cargo:.			
OBSERVACIONES			
.....			
3 de 3			

Fuente: Autora.

Anexo 13. Informe de validación del Equipo MilkoScan FT1 en la determinación de sólidos no grasos en leche cruda.

INDUSTRIA DE LÁCTEOS SAN ANTONIO C.A.	INFORME DE VALIDACIÓN DEL EQUIPO MILKOSCAN FT1		
Nº Validación: 4			
IDENTIFICACIÓN DEL MÉTODO DE ENSAYO VALIDADO			
Nombre del método validado: Espectroscopia de IR transformada de Fourier proporcionada por el Equipo MilkoScan FT1 para la determinación de Sólidos Totales en Leche Cruda.			
Nombre del método de referencia: Fórmula proporcionada por la NTE INEN 14.			
Tipo Método: Cualitativo <input type="checkbox"/> Cuantitativo <input type="checkbox"/> Normalizado <input type="checkbox"/> Normalizado modificado <input type="checkbox"/> No Normalizado <input type="checkbox"/> Nuevo <input type="checkbox"/>			
Analito: Sólidos No Grasos Unidades: % m/m Matriz: Leche Cruda	Responsable Validación: Ana Sofía Pauta Zaruma Firma: Fecha:		
IDENTIFICACIÓN EQUIPOS EMPLEADOS			
Equipos Involucrados:			
Nombre: MilkoScan FT1 Marca: FOSS Modelo: FT1 Nº Identificación: 200102522 Código: CAN FT1 Año: 2014 País: Dinamarca	Nombre: Lactodensímetro Marca: ELICROM Modelo: Funke Gerber Nº Identificación: Año: 2012 País: Alemania (Berlín)	Nombre: Baño María Marca: ELICROM Modelo: Funke Gerber Nº Identificación: Año: 2005 País: Alemania	
Patrones: Muestras de leche cruda analizadas de manera repetitiva por métodos oficiales validados por el laboratorio.			
PARÁMETROS DE VALIDACIÓN			
Pruebas realizadas: Selectividad <input type="checkbox"/> Robustez <input type="checkbox"/> Linealidad <input type="checkbox"/> Sensibilidad <input type="checkbox"/> Límites <input type="checkbox"/> Exactitud: Veracidad <input type="checkbox"/> Precisión <input type="checkbox"/> Otros: Incertidumbre			
1 de 3			

Fuente: Autora.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS EXPERIMENTALES REALIZADAS			
Linealidad			
Descripción: Este ensayo se efectuó 4 veces. Se analizaron como mínimo 5 niveles de concentración. Además las muestras se analizaron 4 veces por el equipo MilkoScan FT1.			
Tipo de calibración: Calibración Externa <input type="checkbox"/> Calibración en matriz <input type="checkbox"/> Calibración externa estándar interno (SI) <input type="checkbox"/> Calibración en matriz estándar interno (SI) <input type="checkbox"/>			
Ecuación de la recta:	$y = 1,005x + 0,042$	Intervalos de confianza : IC_m máx.: 1,049 min: 0,951 IC_b máx.: 1,219 min: -1,219	
	Valor obtenido	Criterio de Aceptabilidad	
Rango lineal	8,324 – 9,125 % m/m		
Coefficiente de correlación r	0,999	≥ 0,98	
Sensibilidad			
Descripción: Los ensayos se efectuaron por semana. Se analizaron como mínimo 5 niveles de concentración. Las muestras se analizaron 4 veces por el equipo MilkoScan FT1.			
	Valor obtenido	Criterio de Aceptabilidad	
pendiente, m:	1,0008	≈ 1	
EXACTITUD			
Precisión			
Descripción: El ensayo para repetibilidad se efectuó la primera semana de la validación. En cambio el de precisión intermedia se efectuó la segunda semana. Se analizaron tres niveles de concentración. Las muestras se analizaron 6 veces por el equipo MilkoScan FT1.			
Precisión en condiciones de Repetibilidad			
Nivel/concentración (unidades)	DE_r	% CV_r	Criterio de Aceptabilidad
Bajo: 3,4 % m/m	0,005	0,065	≤ 2%
Medio: 3,6% m/m	0,004	0,047	≤ 2%
Alto: 3,7% m/m	0,004	0,046	≤ 2%
Precisión en condiciones de Reproducibilidad (Precisión Intermedia)			
Nivel/concentración (unidades)	DE_r	% CV_r	Criterio de Aceptabilidad
Bajo: 3,5 % m/m	0,010	0,122	≤ 4%
Medio: 3,7% m/m	0,014	0,151	≤ 4%
Alto: 3,9% m/m	0,010	0,114	≤ 4%

2 de 3

Fuente: Autora.



Veracidad			
Descripción: Los ensayos se efectuaron cada semana durante un mes. Se analizaron como mínimo 5 niveles de concentración. Las muestras se analizaron 4 veces por el equipo MilkoScan FT1.			
	Valor obtenido (unidades)		Criterio de Aceptabilidad
% Error	0,294 %		$\leq \pm 1,5 \%$
t-Student, t_{exp} :	1,392		
t-Student, t_{tab} :	2,571		$t_{exp} < t_{tab}$
Robustez			
Descripción: El ensayo se efectuó la tercera semana de la validación. En el análisis se modificó la temperatura (°C) de la muestra en 8 niveles. Cada nivel se analizó por duplicado por el equipo MilkoScan FT1.			
Variable: Temperatura en ° C (Δt): 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32 y 36 ° C.			
	Valor obtenido (unidades)		Criterio de Aceptabilidad
DE	0,0038		DE d < DE
DE _d	0,0093		Cumple
Incertidumbre			
	Valor obtenido (unidades)		Criterio de Aceptabilidad
U	0,027		< 1%
APLICABILIDAD			
Analito	Sólidos No Grasos	Unidades	% m/m
Rango de trabajo	8,32 , 9,32	Matriz	Leche Cruda
Revisado por:	Validación:	Firma	Fecha
Nombre:	Aceptada <input type="checkbox"/> Rechazada <input type="checkbox"/>		
Cargo:			
OBSERVACIONES			
.....			
3 de 3			

Fuente: Autora.

Anexo 14. Tabla de corrección de la densidad usando lactodensímetro calibrado a 15°C.


nutri ASISTENCIA TECNICA PECUARIA SUPERVISION DE CAMPO 

TABLA DE CORRECCION DE LA DENSIDAD USANDO TERMOLACTODENSIMETRO CALIBRADO A 15°C

		PESO O DENSIDAD DE LA LECHE															
		20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
TEMPERATURA °C	0	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
	1	17,2	18,2	19,2	20,2	21,2	22,2	23,2	24,2	25,2	26,2	27,2	28,2	29,2	30,2	31,2	32,2
	2	17,4	18,4	19,4	20,4	21,4	22,4	23,4	24,4	25,4	26,4	27,4	28,4	29,4	30,4	31,4	32,4
	3	17,6	18,6	19,6	20,6	21,6	22,6	23,6	24,6	25,6	26,6	27,6	28,6	29,6	30,6	31,6	32,6
	4	17,8	18,8	19,8	20,8	21,8	22,8	23,8	24,8	25,8	26,8	27,8	28,8	29,8	30,8	31,8	32,8
	5	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33
	6	18,2	19,2	20,2	21,2	22,2	23,2	24,2	25,2	26,2	27,2	28,2	29,2	30,2	31,2	32,2	33,2
	7	18,4	19,4	20,4	21,4	22,4	23,4	24,4	25,4	26,4	27,4	28,4	29,4	30,4	31,4	32,4	33,4
	8	18,6	19,6	20,6	21,6	22,6	23,6	24,6	25,6	26,6	27,6	28,6	29,6	30,6	31,6	32,6	33,6
	9	18,8	19,8	20,8	21,8	22,8	23,8	24,8	25,8	26,8	27,8	28,8	29,8	30,8	31,8	32,8	33,8
	10	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
	11	19,2	20,2	21,2	22,2	23,2	24,2	25,2	26,2	27,2	28,2	29,2	30,2	31,2	32,2	33,2	34,2
	12	19,4	20,4	21,4	22,4	23,4	24,4	25,4	26,4	27,4	28,4	29,4	30,4	31,4	32,4	33,4	34,4
	13	19,6	20,6	21,6	22,6	23,6	24,6	25,6	26,6	27,6	28,6	29,6	30,6	31,6	32,6	33,6	34,6
	14	19,8	20,8	21,8	22,8	23,8	24,8	25,8	26,8	27,8	28,8	29,8	30,8	31,8	32,8	33,8	34,8
	15	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
	16	20,2	21,2	22,2	23,2	24,2	25,2	26,2	27,2	28,2	29,2	30,2	31,2	32,2	33,2	34,2	35,2
	17	20,4	21,4	22,4	23,4	24,4	25,4	26,4	27,4	28,4	29,4	30,4	31,4	32,4	33,4	34,4	35,4
	18	20,6	21,6	22,6	23,6	24,6	25,6	26,6	27,6	28,6	29,6	30,6	31,6	32,6	33,6	34,6	35,6
	19	20,8	21,8	22,8	23,8	24,8	25,8	26,8	27,8	28,8	29,8	30,8	31,8	32,8	33,8	34,8	35,8
	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
	21	21,2	22,2	23,2	24,2	25,2	26,2	27,2	28,2	29,2	30,2	31,2	32,2	33,2	34,2	35,2	36,2
	22	21,4	22,4	23,4	24,4	25,4	26,4	27,4	28,4	29,4	30,4	31,4	32,4	33,4	34,4	35,4	36,4
	23	21,6	22,6	23,6	24,6	25,6	26,6	27,6	28,6	29,6	30,6	31,6	32,6	33,6	34,6	35,6	36,6
	24	21,8	22,8	23,8	24,8	25,8	26,8	27,8	28,8	29,8	30,8	31,8	32,8	33,8	34,8	35,8	36,8
	25	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37
	26	22,2	23,2	24,2	25,2	26,2	27,2	28,2	29,2	30,2	31,2	32,2	33,2	34,2	35,2	36,2	37,2
	27	22,4	23,4	24,4	25,4	26,4	27,4	28,4	29,4	30,4	31,4	32,4	33,4	34,4	35,4	36,4	37,4
	28	22,6	23,6	24,6	25,6	26,6	27,6	28,6	29,6	30,6	31,6	32,6	33,6	34,6	35,6	36,6	37,6
	29	22,8	23,8	24,8	25,8	26,8	27,8	28,8	29,8	30,8	31,8	32,8	33,8	34,8	35,8	36,8	37,8
	30	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38

LECHE AGUADA
 LECHE NORMAL
 LECHE DESCREMADA

Fuente: Industria de Lácteos San Antonio C.A.

Anexo 15. Tabla F: F distribución ($\alpha: 0,05$).

F crítico	Grados de libertad del numerador										
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	20	
Grados de libertad del denominador	1	161.44622	199.49948	215.70668	224.58335	230.16037	233.98752	236.76694	238.88424	240.54316	241.88193
	2	18.51276	19.00003	19.16419	19.24673	19.29629	19.32949	19.35314	19.37087	19.38474	19.39588
	3	10.12796	9.55208	9.27662	9.11717	9.01343	8.94067	8.88673	8.84523	8.81232	8.78549
	4	7.70865	6.94428	6.59139	6.38823	6.25607	6.16313	6.09421	6.04103	5.99880	5.96435
	5	6.60788	5.78615	5.40945	5.19216	5.05034	4.95029	4.87586	4.81833	4.77246	4.73506
	6	5.98737	5.14325	4.75706	4.53369	4.38737	4.28386	4.20667	4.14681	4.09901	4.05996
	7	5.59146	4.73742	4.34683	4.12031	3.97152	3.86598	3.78705	3.72572	3.67667	3.63653
	8	5.31764	4.45897	4.06618	3.83785	3.68750	3.58058	3.50046	3.43810	3.38812	3.34717
	9	5.11736	4.25649	3.86254	3.63309	3.48166	3.37376	3.29274	3.22959	3.17890	3.13727
	10	4.96459	4.10282	3.70827	3.47805	3.32584	3.21718	3.13547	3.07166	3.02038	2.97824
	11	4.84434	3.98231	3.58743	3.35669	3.20388	3.09461	3.01233	2.94798	2.89622	2.85362
	12	4.74722	3.88529	3.49030	3.25916	3.10587	2.99612	2.91335	2.84857	2.79638	2.75339
	13	4.66719	3.80557	3.41053	3.17912	3.02543	2.91527	2.83210	2.76691	2.71436	2.67102
	14	4.60011	3.73889	3.34389	3.11225	2.95825	2.84773	2.76420	2.69867	2.64579	2.60216
	15	4.54307	3.68232	3.28738	3.05557	2.90130	2.79046	2.70663	2.64080	2.58763	2.54371
	16	4.49400	3.63372	3.23887	3.00692	2.85241	2.74131	2.65720	2.59109	2.53767	2.49351
	17	4.45132	3.59154	3.19677	2.96471	2.81000	2.69866	2.61430	2.54796	2.49429	2.44992
	18	4.41386	3.55456	3.15991	2.92775	2.77285	2.66130	2.57672	2.51016	2.45628	2.41170
	19	4.38075	3.52189	3.12735	2.89511	2.74006	2.62832	2.54354	2.47677	2.42270	2.37793
	20	4.35125	3.49283	3.09839	2.86608	2.71089	2.59898	2.51401	2.44707	2.39282	2.34787
	21	4.32479	3.46679	3.07247	2.84010	2.68478	2.57271	2.48758	2.42046	2.36605	2.32095
	22	4.30094	3.44336	3.04912	2.81671	2.66127	2.54906	2.46377	2.39650	2.34193	2.29669
	23	4.27934	3.42213	3.02800	2.79554	2.64	2.52766	2.44223	2.37481	2.32011	2.27472
	24	4.25968	3.40283	3.00879	2.77629	2.62065	2.50819	2.42263	2.35508	2.30024	2.25474
	25	4.24170	3.38520	2.99124	2.75871	2.60299	2.49041	2.40473	2.33706	2.28210	2.23648
	26	4.22520	3.36901	2.97516	2.74260	2.58679	2.47411	2.38831	2.32053	2.26545	2.21972
	27	4.21001	3.35413	2.96035	2.72777	2.57189	2.45911	2.37321	2.30531	2.25013	2.20430
	28	4.19598	3.34039	2.94668	2.71407	2.55812	2.44526	2.35926	2.29127	2.23598	2.19004
	29	4.18297	3.32766	2.93403	2.70140	2.54538	2.43244	2.34634	2.27825	2.22288	2.17685
	30	4.17089	3.31583	2.92228	2.68963	2.53355	2.42052	2.33435	2.26616	2.21070	2.16458

(Duffau, y otros, 2010)

Anexo 16. Tabla para prueba de homogeneidad de la varianza de Cochran ($p: 0,05$).

k	n													
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	17	37	145	1000
2	0.998	0.975	0.939	0.905	0.877	0.853	0.833	0.815	0.801	0.788	0.734	0.660	0.581	0.500
3	0.966	0.870	0.797	0.745	0.707	0.677	0.653	0.633	0.616	0.602	0.546	0.474	0.403	0.333
4	0.906	0.767	0.684	0.628	0.589	0.559	0.536	0.517	0.501	0.488	0.436	0.372	0.309	0.250
5	0.841	0.683	0.598	0.544	0.506	0.478	0.456	0.438	0.424	0.411	0.364	0.306	0.251	0.200
6	0.780	0.616	0.532	0.480	0.444	0.418	0.398	0.381	0.368	0.336	0.313	0.261	0.211	0.166
7	0.727	0.561	0.480	0.430	0.397	0.372	0.353	0.338	0.352	0.315	0.275	0.227	0.183	0.142
8	0.679	0.515	0.437	0.391	0.350	0.336	0.318	0.304	0.292	0.282	0.246	0.202	0.161	0.125
9	0.638	0.477	0.402	0.358	0.328	0.306	0.290	0.276	0.265	0.256	0.222	0.182	0.144	0.111
10	0.602	0.445	0.373	0.331	0.302	0.282	0.266	0.254	0.243	0.235	0.203	0.165	0.130	0.100

(Tablas Estadísticas)

Anexo 17. Tabla de t de Student.

2 colas	80%	90%	95%	98%	99%
$\alpha/2$	0.10	0.05	0.025	0,01	0,0015
ν					

1 cola	90%	95%	97.5%	99%	99,5%
α	0.10	0.05	0.025	0,01	0,0015
ν					
1	3.078	6.314	12.706	31.821	63.657
2	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925
3	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841
4	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604
5	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032
6	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707
7	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499
8	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355
9	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250
10	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169
11	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106
12	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055
13	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012
14	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977
15	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947
16	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921
17	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898
18	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878
19	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861
20	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845
21	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831
22	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819
23	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807
24	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797
25	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787
26	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779
27	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771
28	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763
29	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756
30	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750
40	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704
60	1.296	1.671	2.000	2.390	2.660
120	1.289	1.658	1.980	2.358	2.617
∞	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576

(Duffau, y otros, 2010)

Anexo 18. NTE INEN 9:2012.

Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria	LECHE CRUDA REQUISITOS	NTE INEN 9:2012 Quinta revisión 2012-01
<p style="text-align: center;">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir la leche cruda de vaca, destinada al procesamiento.</p> <p style="text-align: center;">2. ALCANCE</p> <p>2.1 Esta norma se aplica únicamente a la leche cruda de vaca. La denominación de leche cruda se aplica para la leche que no ha sufrido tratamiento térmico, salvo el de enfriamiento para su conservación, ni ha tenido modificación alguna en su composición.</p> <p style="text-align: center;">3. DEFINICIONES</p> <p>3.1 Para efectos de esta norma se adoptan las siguientes definiciones:</p> <p>3.1.1 <i>Leche.</i> Producto de la secreción mamaria normal de animales bovinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños diarios, higiénicos, completos e ininterrumpidos, sin ningún tipo de adición o extracción, destinada a un tratamiento posterior previo a su consumo.</p> <p>3.1.2 <i>Leche cruda.</i> Leche que no ha sido sometida a ningún tipo de calentamiento, es decir su temperatura no ha superado la de la leche inmediatamente después de ser extraída de la ubre (no más de 40°C).</p> <p style="text-align: center;">4. DISPOSICIONES GENERALES</p> <p>4.1 La leche cruda se considera no apta para consumo humano cuando:</p> <p>4.1.1 No cumple con los requisitos establecidos en el Capítulo 5 de la presente norma.</p> <p>4.1.2 Es obtenida de animales cansados, deficientemente alimentados, desnutridos, enfermos o manipulados por personas afectadas de enfermedades infectocontagiosas.</p> <p>4.1.3 Contiene sustancias extrañas ajenas a la naturaleza del producto como: conservantes (formaldehído, peróxido de hidrógeno, hipocloritos, cloraminas, dicromato de potasio, lactoperoxidasa adicionada), adulterantes (harinas, almidones, sacarosa, cloruros, suero de leche, grasa vegetal), neutralizantes, colorantes y residuos de medicamentos veterinarios, en cantidades que superen los límites indicados en la tabla 1.</p> <p>4.1.4 Contiene calostro, sangre, o ha sido obtenida en el período comprendido entre los 12 días anteriores y los 7 días posteriores al parto.</p> <p>4.1.5 Contiene gérmenes patógenos o un conteo microbiano superior al máximo permitido por la presente norma, toxinas microbianas o residuos de pesticidas, y metales pesados en cantidades superiores al máximo permitido.</p> <p>4.2 La leche cruda después del ordeño debe ser enfriada, almacenada y transportada hasta los centros de acopio y/o plantas procesadoras en recipientes apropiados autorizados por la autoridad sanitaria competente.</p> <p>4.3 En los centros de acopio la leche cruda debe ser filtrada y enfriada, a una temperatura inferior a 10°C con agitación constante</p> <p>4.4 Los límites máximos de pesticidas serán los que determine el Codex Alimentarius CAC/MRL 1 (Continúa)</p>		

4.5 Los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios para la leche serán los que determine el Codex Alimentario CAC/MRL 2.

5. REQUISITOS

5.1 Requisitos específicos

5.1.1 Requisitos organolépticos (ver nota 1)

5.1.1.1 *Color.* Debe ser blanco opalescente o ligeramente amarillento.

5.1.1.2 *Olor.* Debe ser suave, lácteo característico, libre de olores extraños.

5.1.1.3 *Aspecto.* Debe ser homogéneo, libre de materias extrañas.

5.1.2 Requisitos físicos y químicos

5.1.2.1 La leche cruda, debe cumplir con los requisitos físico-químicos que se indican en la tabla 1.

TABLA 1. Requisitos fisicoquímicos de la leche cruda.

REQUISITOS	UNIDAD	MIN.	MAX.	MÉTODO DE ENSAYO
Densidad relativa: a 15 °C A 20 °C	•	1,029 1,028	1,033 1,032	NTE INEN 11
Materia grasa	% (fracción de masa) ⁴	3,0	•	NTE INEN 12
Acidez titulable como ácido láctico	% (fracción de masa)	0,13	0,17	NTE INEN 13
Sólidos totales	% (fracción de masa)	11,2	•	NTE INEN 14
Sólidos no grasos	% (fracción de masa)	8,2	•	•
Cenizas	% (fracción de masa)	0,65	•	NTE INEN 14
Punto de congelación (punto crioscópico) **	°C °H	-0,535 -0,555	-0,512 -0,530	NTE INEN 15
Proteínas	% (fracción de masa)	2,9	•	NTE INEN 16
Ensayo de reductasa (azul de metileno)***	h	3	•	NTE INEN 018
Reacción de estabilidad proteica (prueba de alcohol)	Para leche destinada a pasteurización: No se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 68 % en peso o 75 % en volumen; y para la leche destinada a ultrapasteurización: No se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 71 % en peso o 78 % en volumen			NTE INEN 1500
Presencia de conservantes ¹⁾	•	Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de neutralizantes ²⁾	•	Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de adulterantes ³⁾	•	Negativo		NTE INEN 1500
Grasas vegetales	•	Negativo		NTE INEN 1500
Suero de Leche	•	Negativo		NTE INEN 2401
Prueba de Brucelosis	•	Negativo		Prueba de anillo PAL (Ring Test)
RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS ⁵⁾	ug/l	***	MRL, establecidos en el CODEX Alimentarius CAC/MRL 2	Los establecidos en el compendio de métodos de análisis identificados como idóneos para respaldar los LMR del codex ⁶⁾

Diferencia entre el contenido de sólidos totales y el contenido de grasa.

** °C= °H - t, donde t= 0,9656

*** Aplicable a la leche cruda antes de ser sometida a enfriamiento

1) Conservantes: formaldehído, peróxido de hidrógeno, cloro, hipocloritos, cloraminas, lactoperoxidasa adicionada y dióxido de cloro.

2) Neutralizantes: orina, carbonatos, hidróxido de sodio, jabones.

3) Adulterantes: Harina y almidones, soluciones azucaradas o soluciones salinas, colorantes, leche en polvo, suero de leche, grasas vegetales.

4) *Fracción de masa de B, W₂: Esta cantidad se expresa frecuentemente en por ciento, %. La notación "% (m/m)" no deberá usarse*.

5) Se refiere a aquellos medicamentos veterinarios aprobados para uso en ganado de producción lechera.

6) Establecidos por el comité del Codex sobre residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos

NOTA 1. Se podrán presentar variaciones en estas características, en función de la raza, estación climática o alimentación, pero estas no deben afectar significativamente las características sensoriales indicadas.

5.1.3 *Contaminantes.* El límite máximo para contaminantes es el que se indica en la tabla 2.

TABLA 2. Límites máximo para contaminantes

Requisito	Límite máximo (LM)	Método de ensayo
Plomo, mg/kg	0,02	ISO/TS 6733
Aflatoxina M1, µg/kg	0,5	ISO 14674

5.1.4 *Requisitos microbiológicos.* La leche cruda debe cumplir con los requisitos especificados en la tabla 3.

TABLA 3. Requisitos microbiológicos de la leche cruda tomada en hato

Requisito	Límite máximo	Método de ensayo
Recuento de microorganismos aeróbios mesófilos REP, UFC/cm ³	1,5 x 10 ⁶	NTE INEN 1529-5
Recuento de células somáticas/cm ³	7,0 x 10 ⁵	AOAC – 978.26

5.2 *Requisitos complementarios.* El almacenamiento, envasado y transporte de la leche cruda debe realizarse de acuerdo a lo que señala el Reglamento de leche y productos lácteos del Ministerio de Salud Pública.

6. INSPECCIÓN

6.1 *Muestreo.* El muestreo debe realizarse de acuerdo con la NTE INEN 4.

6.2 *Aceptación o rechazo.* Se acepta el producto si cumple con los requisitos indicados en esta norma, caso contrario se rechaza.

(INEN 9, 2012)

Anexo 19. NTE INEN 11: 1984.

Norma Técnica Ecuatoriana	LECHE. DETERMINACION DE LA DENSIDAD RELATIVA	INEN 11 Primera Revisión
<p style="text-align: center;">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece los métodos para determinar la densidad relativa de la leche,</p> <p style="text-align: center;">2. ALCANCE</p> <p>2.1 Esta norma se aplica a cualquier tipo de leche que se presente en el estado líquido,</p> <p>2.2 En esta norma se describen el método del lactodensímetro y el método del picnómetro.</p> <p style="text-align: center;">3. TERMINOLOGIA</p> <p>3.1 Densidad relativa. Es la relación entre la densidad de una sustancia y la densidad del agua destilada, consideradas ambas a una temperatura determinada.</p> <p style="text-align: center;">4. DISPOSICIONES GENERALES</p> <p>4.1 Para determinar la densidad relativa de la leche, podrá usarse cualquiera de los dos métodos descritos en esta norma. En casos de discrepancia o de litigio, deberá usarse el método del picnómetro.</p> <p>4.2 El lactodensímetro deberá calibrarse periódicamente contra soluciones patrón de densidad conocida.</p> <p style="text-align: center;">5. METODO DEL LACTODENSIMETRO</p> <p>5.1 Fundamento</p> <p>5.1.1 El método se basa en el uso de un densímetro graduado adecuadamente.</p> <p>5.2 Instrumental</p> <p>5.2.1 <i>Lactodensímetro</i>, con temperatura de referencia 20°C y provisto de graduaciones de 0,001 u otras que permitan una aproximación mayor a la misma temperatura.</p> <p>5.2.2 <i>Probeta de 250 cm³</i>, de medidas que permitan libre movimiento al lactodensímetro.</p> <p>5.2.3 <i>Termómetro</i>. Graduado en grados Celsius y con divisiones no mayores de 0,5°C. El termómetro puede estar incorporado en el lactodensímetro.</p> <p style="text-align: right;">(Continúa)</p>		

5.2.4 Baño de agua, con regulador de temperatura, ajustado a una temperatura comprendida entre 15°C y 25°C (preferiblemente 20°C), con precisión de $\pm 0,5^\circ\text{C}$.

5.3 Preparación de la muestra

5.3.1 Llevar la muestra a una temperatura aproximadamente igual a la del baño de agua (ver 5.2.4) y mezclarla mediante agitación suave hasta que esté homogénea, cuidando que no haya separación de grasa por efecto de la agitación.

5.3.2 Si se forman grumos de crema y éstos no se dispersan, calentar la muestra en baño María hasta 35°-40°C, mezclando cuidadosamente e incorporando cualquier partícula de crema adherida al recipiente, y enfriar rápidamente hasta 18° - 20°C. Si quedan partículas blancas o grumos de grasa adheridos a las paredes del recipiente, la determinación no dará resultados exactos.

5.4 Procedimiento

5.4.1 Manteniendo inclinada la probeta para evitar la formación de espuma, verter la muestra hasta llenar la probeta completamente.

5.4.2 Introducir la probeta en el baño de agua, en tal forma que el nivel de agua quede de 1 cm a 3 cm por debajo del borde de la probeta.

5.4.3 Luego de estabilizar la temperatura de la leche con una variación máxima de $\pm 0,5^\circ\text{C}$, determinar su valor mediante el termómetro y registrarlo como t. Sumergir suavemente el lactodensímetro hasta que esté cerca de su posición de equilibrio e imprimirle un ligero movimiento de rotación para impedir que se adhiera a las paredes de la probeta. Durante la inmersión debe desbordarse la leche de tal manera que la zona de lectura del lactodensímetro quede por encima del plano superior de la probeta.

5.4.4 Esperar que el lactodensímetro quede en completo reposo y, sin rozar las paredes de la probeta, leer la medida de la graduación correspondiente al menisco superior y registrar su valor como d (ver nota I).

5.5 Cálculos

5.5.1 La densidad relativa a [20/20°C] de la leche, se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$d_{20} = d + 0,0002 (t - 20)$$

Siendo:

d_{20} = densidad relativa a 20/20°C;

d = densidad aparente a t°C (ver 5.4.4);

t = temperatura de la muestra durante la determinación, en °C, (ver 5.4.3).

NOTA 1. Al realizar la lectura debe tenerse en cuenta que algunos lactodensímetros indican sólo las milésimas de la densidad relativa (supuesta mayor de 1,0); en tales casos, un valor, digase por ejemplo, 27, de la escala debe interpretarse como 1,027.

(Continúa)

APENDICE X

TRANSFORMACION DE DENSIDADES RELATIVAS DETERMINADAS O EXPRESADAS A TEMPERATURAS DIFERENTES DE 2° C

X.1 Para transformar a d_{20} una densidad relativa determinada o expresada a t° C puede usarse la siguiente expresión:

$$d_{20} = d_t + 0,0002 (t - 20)$$

Siendo:

d_{20} = densidad relativa a 20/20° C;

d_t = densidad relativa a t° C;

t = temperatura de referencia de la densidad relativa que debe transformarse, en °C.

X.2 Ejemplo: Utilizando un lactodensímetro se determina la densidad relativa a 15,6/15,6° C de una muestra de leche fresca, encontrándose un valor de 1,032, calcular la densidad relativa a 20/20° C.

$$d_{20} = 1,032 + 0,0002 (15,6 - 20) = 1,032 - 0,0009 = 1,031$$

(Continua)

(INEN 11, 1984)

Anexo 20. NTE INEN 12: 1973.

Norma Técnica Ecuatoriana	LECHE. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE GRASA	INEN 12 1973-06
<p style="text-align: center;">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma tiene por objeto establecer los métodos para determinar el contenido de grasa de la leche.</p> <p style="text-align: center;">2. ALCANCE</p> <p>2.1 Esta norma se aplica a los siguientes tipos de leche:</p> <ul style="list-style-type: none">a) Leche fresca.b) Leche homogeneizada (pasteurizada o esterilizada).c) Leche descremada o semidescremada. <p>2.2 En esta norma se describen el método de Gerber y el método de Röse-Gottlieb.</p> <p style="text-align: center;">3. TERMINOLOGIA</p> <p>3.1 <i>Contenido de grasa de la leche.</i> Es la cantidad, expresada en porcentaje de masa, de sustancias, principalmente grasas, extraídas de la leche mediante procedimientos normalizados.</p> <p>3.2 Otros términos relacionados con esta norma están definidos en la norma INEN 3.</p> <p style="text-align: center;">4. DISPOSICIONES GENERALES</p> <p>4.1 Para determinar el contenido de grasa en los productos considerados por esta norma, podrá usarse cualquiera de los dos métodos descritos en esta norma. En casos de discrepancia o litigio deberá usarse el método de Röse-Gottlieb.</p> <p>4.2 Las pipetas aforadas y los butirómetros, usados para aplicar el método de Gerber, deberán estar debidamente estandarizados e inspeccionados</p> <p style="text-align: right;">(Continúa)</p>		

5. METODO DE GERBER

5.1 Resumen

5.1.1 Separar, mediante acidificación y centrifugación, la materia grasa contenida en el producto analizado, y determinar el contenido de grasa mediante lectura directa en un butirómetro estandarizado.

5.2 Instrumental

5.2.1 *Pipeta aforada de 10 cm³*, de seguridad, para ácido sulfúrico,

5.2.2 *Pipeta aforada de 1 cm³*, para alcohol amílico.

5.2.3 *Pipeta aforada de 10,94 cm³*, para medir la muestra.

5.2.4 *Butirómetros Gerber*, para leche y para leche descremada, (ver **A.1**),

5.2.5 *Centrífuga*, con velocidad de 1100 ± 100 r/min.

5.2.6 *Baño de agua*, con regulador de temperatura, ajustado a $65^\circ \pm 2^\circ$ C.

5.2.7 *Baño María*.

5.3 Reactivos

5.3.1 *Acido sulfúrico*, concentrado para análisis, con densidad $1,815 \pm 0,003$ g/cm³ a 20°C.

5.3.2 *Alcohol amílico*, compuesto principalmente de 3-metil-butanol y 2-metil-butanol y prácticamente exento de alcoholes amílicos secundarios o terciarios y furtural; deberá tener una densidad de $0,811 \pm 0,002$ g/cm³ a 20°C.

5.3.3 *Agua destilada*.

5.4 Preparación de la muestra

5.4.1 Llevar la muestra a una temperatura de aproximadamente 20°C, y mezclarla mediante agitación suave hasta que esté homogénea, cuidando que no haya separación de grasa por efecto de la agitación

5.4.2 Si se forman grumos de crema y éstos no se dispersan, calentar la muestra en baño María hasta 35°-40°C, mezclando cuidadosamente e incorporando cualquier partícula de crema adherida al recipiente, y enfriar rápidamente hasta 18°-20°C. Si quedan partículas blancas o grumos de grasa adheridos a las paredes del recipiente, la determinación no dará resultados exactos.

5.5 Procedimiento

5.5.1 Para la determinación del contenido de grasa en la leche fresca u homogeneizada (pasteurizada o esterilizada) debe usarse el butirómetro Gerber para leche, mientras que para la leche descremada debe usarse el butirómetro Gerber para leche descremada.

5.5.2 Verter 10 cm³, exactamente medidos, de ácido sulfúrico en el butirómetro respectivo, cuidando de no humedecer con ácido el cuello del butirómetro.

(Continúa)

5.5.3 Invertir lentamente, tres o cuatro veces, la botella que contiene la muestra preparada, y pipetear $10,94 \text{ cm}^3$ de leche, de tal manera que el borde inferior del menisco coincida con la línea de calibración de la pipeta después de limpiar con papel absorbente la parte exterior de su punta de descarga. Luego, sosteniendo la pipeta con su punta pegada al borde inferior del cuello del butirómetro, descargar cuidadosamente la leche en el mismo hasta que el menisco se detenga, dejar transcurrir 3 segundos y frotar la punta de la pipeta contra la base del cuello del butirómetro.

5.5.4 Verter 1 cm^3 , exactamente medido, de alcohol amílico en el butirómetro, cuidando de no humedecer con el alcohol el cuello del butirómetro, El alcohol amílico debe añadirse siempre después de la leche.

5.5.5 Tapar herméticamente el cuello del butirómetro y agitar en una vitrina de protección, invirtiendo lentamente al butirómetro dos o tres veces durante la operación, hasta que no aparezcan partículas blancas.

5.5.6 Inmediatamente después de la agitación, centrifugar el butirómetro con su tapa colocada hacia afuera. Si no hay un número suficiente de butirómetros para llenar completamente la centrífuga, colocarlos simétricamente, equilibrándolos con uno que contenga igual volumen de agua en caso de ser necesario. Una vez que la centrífuga alcanza la velocidad necesaria, continuar la centrifugación durante un tiempo no menor de 4 min ni mayor de 5 min, a tal velocidad.

5.5.7 Retirar el butirómetro de la centrífuga y colocarlo, con la tapa hacia abajo, en el baño de agua a $65^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ durante un tiempo no menor de 4 min ni mayor de 10 min, manteniendo la columna de grasa completamente sumergida en el agua.

5.5.8 Luego, dependiendo del tipo de leche analizada, proceder de acuerdo con 5.5.9, 5.5.10 ó 5.5.11.

5.5.9 *Leche fresca.* Antes de proceder a la lectura, colocar el nivel de separación entre el ácido y la columna de grasa sobre la marca de una graduación principal de la escala; esto se consigue presionando o alojando adecuadamente la tapa del butirómetro. Leer las medidas correspondientes a la parte inferior del menisco de grasa y al nivel de separación entre el ácido y la columna de grasa; la diferencia entre las dos lecturas da el contenido de grasa de la leche. Al realizar las lecturas, debe mantenerse la escala en posición vertical y el punto de lectura al mismo nivel de los ojos. La lectura del menisco debe aproximarse a 0,05%, (ver 5.5.12).

5.5.10 *Leche homogenizada (pasteurizado o esterilizada).* Realizar una primera lectura de acuerdo con lo indicado en 5.5.9. Luego, ajustar la tapa si es necesario e, inmediatamente. Repetir por segunda vez la centrifugación, el calentamiento a $65^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ y la lectura. Si la segunda lectura difiere de la primera, repetir por tercera vez la centrifugación, el calentamiento a $65^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ y la lectura; la medida válida corresponde a la segunda o tercera lectura, según el caso, (ver 5.5.12).

5.5.11 *Leche descremada.* Repetir por segunda vez la centrifugación y el calentamiento a $65^\circ \pm 2^\circ\text{C}$, y realizar la lectura de acuerdo con lo indicado en 5.5.9, (ver 5.5.12).

5.5.12 *Instrucciones adicionales.* Si existe formación de una capa esponjosa o no definida en la base de la columna de grasa, debe repetirse el ensayo teniendo cuidado de añadir el volumen correcto de alcohol amílico y de disolver completamente cualquier partícula blanca de la leche. Si la columna de grasa presenta una coloración muy oscura que dificulta la lectura, o hay carbonización en la interfase, debe repetirse el ensayo luego de verificar la densidad del ácido sulfúrico. El butirómetro debe lavarse perfectamente al final de la operación (ver A.1).

(Continúa)

ANEXO A

A.1 LIMPIEZA DE LOS BUTIROMETROS

A.1.1 Es conveniente limpiar los butirómetros mientras están calientes para mayor facilidad de la limpieza.

A.1.2 Quitar los tapones y, luego de verter el ácido en una cápsula, lavar los butirómetros llenándolos parcialmente con una solución a 40°-50°C de carbonato de sodio o fosfato trisódico al 2% (o con algún detergente adecuado) y agitándolos enérgicamente para conseguir la limpieza de la ampolla graduada. Repetir la operación tres o cuatro veces.

A.1.3 Enjuagar inmediatamente con agua caliente, dos o tres veces, con agitación enérgica y, finalmente, aclararlos con agua fría y colocarlos, con el cuello hacia abajo, en una gradilla para que goteen y se sequen.

A.1.4 Inmediatamente antes de usar los butirómetros es indispensable verificar que se encuentren completamente secos.

A.2 DETERMINACION DE PEROXIDOS EN EL ÉTER DIETILICO

A.2.1 Para determinar la presencia de peróxidos en el éter dietílico, agregar a 10 cm³ de éter, contenidos en una pequeña probeta provista de tapón de vidrio esmerilado y previamente lavada con éter, 1 cm³ de solución de yoduro de potasio al 10%, recién preparada. Agitar bien y dejar en reposo durante un minuto. No debe aparecer coloración amarilla en ninguna de las capas.

A.2.2 El éter dietílico puede mantenerse exento de peróxidos añadiéndole tiras de zinc formadas de una lámina que previamente ha sido sumergida en una solución, diluida y acidificada, de sulfato de cobre durante 1 minuto y luego lavada en agua. Deben usarse aproximadamente 80 cm² de lámina de zinc para cada litro de éter, y debe cortarse la lámina en tiras de una longitud suficiente para llegar desde el fondo hasta, por lo menos, la mitad del envase.

(Continua)

(INEN 12, 1973)

Anexo 21. NTE INEN 14: 1984.

Norma Técnica Ecuatoriana	LECHE. DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES Y CENIZAS	INEN 14 Primera Revisión
<p style="text-align: center;">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece el método para determinar el contenido de sólidos totales y cenizas de la leche.</p> <p style="text-align: center;">2. ALCANCE</p> <p>2.1 Esta norma se aplica a los siguientes tipos de leche:</p> <ul style="list-style-type: none">a) Leche fresca.b) Leche homogenizada (pasteurizada o esterilizada).c) Leche descremada o semidescremada. <p style="text-align: center;">3. TERMINOLOGIA</p> <p>3.1 Sólidos totales de la leche. Es el producto resultante de la desecación de la leche mediante procedimientos normales.</p> <p>3.1 Cenizas de la leche. Es el producto resultante de la incineración de los sólidos totales de la leche mediante procedimientos normalizados.</p> <p>3.2 Otros términos relacionados con esta norma se definen en la Norma INEN 3.</p> <p style="text-align: center;">4. RESUMEN</p> <p>4.1 Se deseca, mediante evaporación, una cantidad determinada de leche y se pesa el residuo, que corresponde a los sólidos totales de la leche.</p> <p>4.2 Se incineran a $530^{\circ} \pm 20^{\circ}\text{C}$ los sólidos totales de la leche, y se pesa el residuo que corresponde a las cenizas de la leche.</p> <p style="text-align: center;">5. INSTRUMENTAL</p> <p>5.1 Balanza analítica. Sensible al 0,1 mg.</p> <p>5.2 Cápsula de platino de otro material inalterable a las condiciones del ensayo, de fondo plano, con diámetro de 50 - 60 mm y altura de 20 - 25 mm.</p> <p>5.3 Baño María</p> <p style="text-align: right;"><i>(Continúa)</i></p>		

5.4 Estufa, con ventilación y regulador de temperatura, ajustada a $103^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$.

5.5 Desecador, con cloruro de calcio anhidro u otro deshidratante adecuado.

5.6 Muffa, con regulador de temperatura, ajustada a $530^{\circ} \pm 20^{\circ} \text{C}$.

6. PREPARACION DE LA MUESTRA

6.1 Llevar la muestra a una temperatura aproximada de 20°C y mezclarla mediante agitación suave hasta que esté homogénea, cuidando que no haya separación de grasa por efecto de la agitación.

6.2 Si se forman grumos de crema y éstos no se dispersan, calentar la muestra en baño María hasta $35^{\circ} - 40^{\circ} \text{C}$, mezclando cuidadosamente e incorporando cualquier partícula de crema adherida al recipiente; enfriarla rápidamente hasta $18^{\circ} - 20^{\circ} \text{C}$. Si quedan partículas blancas o grumos de grasa adheridos a las paredes del recipiente, la determinación no dará resultados exactos.

7. PROCEDIMIENTO

7.1 La determinación realizar por duplicado sobre la misma muestra preparada.

7.2 Lavar cuidadosamente y secar la cápsula en la estufa ajustada a $103^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ durante 30 min. Dejar entriar en el desecador y pesar con aproximación al 0,1 mg .

7.3 Invertir lentamente, tres o cuatro veces, la botella que contiene la muestra preparada; inmediatamente, transferir a la cápsula y pesar con aproximación al 0,1 mg aproximadamente 5 g de muestra.

7.4 Colocar la cápsula en el baño María a ebullición durante 30 min, cuidando que su base quede en contacto directo con el vapor.

7.5 Transferir la capsula a la estufa ajustada a $103^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ y calentar durante 3 h.

7.6 Dejar entriar la cápsula (con los sólidos totales) en el desecador y pesar con aproximación al 0,1 mg. Repetir el calentamiento por periodos de 30 min, enfriando y pesando hasta que no haya disminución en la masa, (ver 7.10).

7.7 Colocar la cápsula (con los sólidos totales) cerca de la puerta de la muffa abierta y mantenerla allí durante unos pocos minutos para evitar pérdidas por proyección de material que podrían ocurrir si la cápsula se introduce directamente en la muffa.

7.8 Introducir la cápsula en la muffa a $530^{\circ} \pm 20^{\circ} \text{C}$ hasta obtener cenizas libres de partículas de carbón (esto se obtiene al cabo de 2 ó 3 h).

(Continua)

7.9 Sacar la cápsula (con las cenizas), dejar enfriar en el desecador y pesar con aproximación al 0,1 mg. Repetir la incineración por periodos de 30 min, enfriando y pesando hasta que no haya disminución en la masa.

7.10 Cuando sea necesario determinar únicamente las cenizas y no el contenido de sólidos totales, deben omitirse los pasos indicados en 7.6.

8. CALCULOS

8.1 El contenido de sólidos totales de la leche se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$S = \frac{m_1 - m}{m_2 - m} \times 100$$

Siendo:

S = contenido de sólidos totales, en porcentaje de masa;

m = masa de la cápsula vacía, en g;

m₂ = masa de la cápsula con la leche (antes de la desecación), en g;

m₁ = masa de la cápsula con los sólidos totales (después de la desecación), en g.

8.2 Cuando se determine únicamente el contenido de sólidos lácteos no grasos, deberá restarse del porcentaje de sólidos totales el porcentaje del contenido de grasa.

8.3 La cantidad de cenizas de la leche se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$C = \frac{m_3 - m}{m_2 - m} \times 100$$

Siendo:

C = cantidad de cenizas de la leche, en porcentaje de masa;

m = masa de la cápsula vacía, en g;

m₂ = masa de la cápsula con la leche (antes de la desecación), en g

m₃ = masa de la cápsula con las cenizas (después de la incineración), en g.

9. ERRORES DE MÉTODO

9.1 Para los sólidos totales, la diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder de 0,05%; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

9.2 Para las cenizas, la diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder de 0,01%, en caso contrario, debe repetirse la determinación (ver 7.10),

10. INFORME DE RESULTADOS

10.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de cada una de las dos determinaciones.

10.2 En el informe de resultados, debe indicarse el método usado y el resultado obtenido para cada caso. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el o los resultados.

10.3 Deben incluirse todos los detalles necesarios para la completa identificación de la muestra.

(Continúa)

APENDICE Y

MÉTODO PARA CALCULAR EL CONTENIDO DE SÓLIDOS TOTALES EN LA LECHE A PARTIR DE SU DENSIDAD Y DE SU CONTENIDO DE GRASA

Y.1 Cuando se conoce el contenido de grasa y la densidad de la leche, el contenido de sólidos totales puede calcularse directamente mediante la siguiente ecuación:

$$S = 250(d_{20} - 1) + 1,22G + 0,72$$

Siendo:

S = contenido de sólidos totales, en porcentaje de masa.

d_{20} = densidad relativa a 20°/20°C.

G = contenido de grasa, en porcentaje de masa.

Y.2 Este método de cálculo da resultados comparables con los obtenidos al aplicar el método de ensayo descrito en esta norma; sin embargo, presenta la desventaja de no permitir el cálculo del contenido de cenizas.

(INEN 14, 1984)