



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ  
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

**CARRERA DE AGROINDUSTRIA**

**INFORME DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR  
PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA  
AGROINDUSTRIAL**

**MECANISMO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**TEMA:**

**VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE PROTEÍNA TOTAL EN PRODUCTOS  
ALIMENTICIOS (CHIFLES, PAN DE ALMIDÓN Y CHORIZOS) EN EL  
LABORATORIO CESECCA**

**AUTORAS:**

**ARLETH ARIANNA ANCHUNDIA VEGA  
NAHOMI DAYANNA GUZMÁN BURBANO**

**TUTOR:**

**ING. CARLOS ALBERTO JADÁN PIEDRA, Ph. D**

**CALCETA, OCTUBRE DE 2023**

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo **ARLETH ARIANNA ANCHUNDIA VEGA**, con cédula de ciudadanía 0804534394 y **NAHOMI DAYANNA GUZMÁN BURBANO**, con cédula de ciudadanía 1351531262, declaramos bajo juramento que el Trabajo de Integración Curricular titulado: **VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE PROTEÍNA TOTAL EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS (CHIFLES, PAN DE ALMIDÓN Y CHORIZOS) EN EL LABORATORIO CESECCA** es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, concedemos a favor de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos, conservando a nuestro favor todos los derechos patrimoniales de autores sobre la obra, en conformidad con el Artículo 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación.

---

**ARLETH A. ANCHUNDIA VEGA**  
CC: 0804534394

---

**NAHOMI D. GUZMÁN BURBANO**  
CC: 1351531262

## AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

**ARLETH ARIANNA ANCHUNDIA VEGA** , con cédula de ciudadanía 0804534394 y **NAHOMI DAYANNA GUZMÁN BURBANO**, con cédula de ciudadanía 1351531262, autorizamos a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, la publicación en la biblioteca de la institución el Trabajo de Integración Curricular titulado: **VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE PROTEÍNA TOTAL EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS (CHIFLES, PAN DE ALMIDÓN Y CHORIZOS) EN EL LABORATORIO CESECCA**, cuyo contenido, ideas y criterios son de nuestra exclusiva responsabilidad y total autoría.



---

**ARLETH A. ANCHUNDIA VEGA**  
CC: 0804534394



---

**NAHOMI D. GUZMÁN BURBANO**  
CC: 1351531 262

## **CERTIFICACIÓN DE TUTOR**

**ING. CARLOS ALBERTO JADÁN PIEDRA, Ph. D.**, certifica haber tutelado el Trabajo de Integración Curricular titulado: **VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE PROTEÍNA TOTAL EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS (CHIFLES, PAN DE ALMIDÓN Y CHORIZOS) EN EL LABORATORIO CESECCA**, que ha sido desarrollado por **ARLETH ARIANNA ANCHUNDIA VEGA** y **NAHOMI DAYANNA GUZMÁN BURBANO**, previa la obtención del título de Ingeniera Agroindustrial, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS DE GRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

---

**ING. CARLOS ALBERTO  
JADÁN PIEDRA, Ph. D.  
TUTOR  
CC: 0102917952**

## **APROBACIÓN DEL TRIBUNAL**

Los suscritos integrantes del Tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el Trabajo de Integración Curricular titulado: **VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE PROTEÍNA TOTAL EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS (CHIFLES, PAN DE ALMIDÓN Y CHORIZOS) EN EL LABORATORIO CESECCA**, que ha sido desarrollado por **ARLETH ARIANNA ANCHUNDIA VEGA** y **NAHOMI DAYANNA GUZMÁN BURBANO**, previo a la obtención del título de Ingeniera Agroindustrial, de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS DE GRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

---

**ING. DENNYS LENIN  
ZAMBRANO VELÁSQUEZ, Mgtr.  
CC: 1310342769  
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

---

**ING. RAMÓN TOBÍAS  
RIVADENEIRA GARCÍA, Mgtr.  
CC: 1307433951  
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

---

**ING. JOSÉ FERNANDO  
ZAMBRANO RUEDAS, Mgtr  
CC: 1310828460  
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

## AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, que nos dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día.

A mi madre Gladys Vega, quien con su amor y esfuerzo me ha brindado todo su apoyo y me ha permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, gracias por cada día confiar y creer en mí, por siempre impulsarme a perseguir mis metas y nunca abandonarlas frente a las adversidades, por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y superación, por siempre estar a mi lado apoyándome incondicionalmente en todos mis proyectos, sin su apoyo este trabajo nunca se habría escrito y, por eso, este logro también es el suyo.

A mi padre Serafín Anchundia, quien, aunque no está físicamente presente, sus enseñanzas siguen guiándome día a día. Este logro es en su honor, porque fue gracias a su amor y dedicación que aprendí a nunca rendirme.

A mis hermanos Karen Loor y Josthyn Anchundia, por brindarme su cariño y apoyo incondicional y por siempre estar conmigo en todo momento.

A Dios por las oportunidades que ha puesto en mi camino, en las cuales una de ellas ha sido culminar esta nueva etapa profesional.

Al Ing. Fernando Veloz Párraga, Mg director del Centro de Servicios para el Control de Calidad (CE.SE.C.CA) por haber aceptado realizar mi tesis en el laboratorio, a los analistas por su buena disposición, dirección, apoyo y necesidades técnicas dentro del mismo.

Y en general a mis amigos y a todas las personas especiales que me acompañaron en esta etapa, aportando a mi formación tanto profesional y como ser humano.

**ARLETH A. ANCHUNDIA VEGA**

## **AGRADECIMIENTO**

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día.

A mis padres Mariana Burbano y Fabricio Guzmán, por el apoyo y la confianza que depositaron en mí, gracias en especial a mi madre, mi guía, que ha dado todo su esfuerzo, dedicación y tiempo, por ser mi apoyo incondicional y siempre estar cuando más lo necesite en esta etapa de mi vida, a mi hermana Shaylee Guzmán por brindarme su amor y cariño.

A mi abuelita Olga Mera principalmente por su amor hacia mi persona, por su fortaleza, por sus sabios consejos y sobre todo por inculcarme excelentes valores a lo largo de mi vida.

A mi tía Luzmila Burbano, por la muestra de persistencia y firmeza que la caracterizan, por su ayuda incondicional brindada, sobre todo por el valor mostrado para salir adelante frente a las situaciones que nos presenta la vida, ha sido fuente de inspiración y un ejemplo a seguir.

A mis profesores muchas gracias por brindarnos parte de sus conocimientos e inculcarnos sus buenos consejos para la vida diaria.

Al Ing. Fernando Veloz Párraga, Mg director del Centro de Servicios para el Control de Calidad (CE.SE.C.CA) que me brindó la oportunidad de realizar mi Tesis bajo su dirección, apoyo y confianza, a los analistas por su buena disposición y necesidades técnicas dentro del laboratorio.

En general a todas las personas que de una u otra manera contribuyeron para que mi meta sea culminada con éxito, y a Dios por darme la fuerza y esa valentía de hacer de mis sueños una realidad.

**NAHOMI D. GUZMÁN BURBANO**

## **DEDICATORIA**

Esta tesis está dedicada con todo mi corazón a mi madre Gladys Vega, quien ha sido un pilar fundamental para que este logro fuera realizado, pues sin ella no lo habría logrado, además de ser mi luz en momentos oscuros y por depositar en mí su fortaleza, sabiduría y amor incondicional en cada momento de mi vida.

**ARLETH A. ANCHUNDIA VEGA**

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo con todo cariño y esfuerzo a mi madre Mariana Burbano quien ha sido la persona que me ha apoyado incondicionalmente para la culminación de mi carrera Universitaria, además de ser quien me ha guiado, acompañado, escuchado, comprendido y ayudado durante todo el transcurso de mi vida, y a quien considero el mejor ejemplo que he tenido.

**NAHOMI D. GUZMÁN BURBANO**

## CONTENIDO GENERAL

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN .....	iii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR .....	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	v
AGRADECIMIENTO .....	vi
AGRADECIMIENTO .....	vii
DEDICATORIA .....	viii
DEDICATORIA .....	ix
CONTENIDO GENERAL.....	x
CONTENIDO TABLAS .....	xiii
CONTENIDO DE FIGURAS.....	xiv
CONTENIDO DE FÓRMULAS.....	xiv
RESUMEN .....	xv
ABSTRACT.....	xvi
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES.....	17
1.1    PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	17
1.2    JUSTIFICACIÓN.....	18
1.3    OBJETIVOS.....	18
1.3.1    OBJETIVO GENERAL .....	18
1.3.2    OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	18
1.4    IDEA A DEFENDER .....	19
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO .....	20
2.1    PROTEÍNAS .....	20
2.2    FUNCIONES DE LAS PROTEÍNAS .....	20

<b>2.3</b>	<b>CONTENIDO DE NITRÓGENO .....</b>	<b>20</b>
<b>2.4</b>	<b>MÉTODO KJELDAHL .....</b>	<b>21</b>
2.4.1	DIGESTIÓN .....	21
2.4.2	DESTILACIÓN .....	21
2.4.3	VALORACIÓN.....	22
<b>2.5</b>	<b>CATALIZADOR METÁLICO UTILIZADO.....</b>	<b>22</b>
2.5.1	CATALIZADOR DE KJELDAHL (SULFATO DE COBRE Y SELENIO)22	
<b>2.6</b>	<b>REACTIVOS .....</b>	<b>22</b>
2.6.1	ÁCIDO SÚLFURICO .....	22
2.6.2	HIDRÓXIDO DE SODIO.....	23
2.6.3	ÁCIDO BÓRICO.....	23
2.6.4	ÁCIDO CLORHÍDRICO.....	23
<b>2.7</b>	<b>INDICADORES .....</b>	<b>23</b>
2.7.1	ROJO METILO .....	23
2.7.2	VERDE BROMOCRESOL.....	24
<b>2.8</b>	<b>NORMA NTE INEN ISO 17025/IEC .....</b>	<b>24</b>
<b>2.9</b>	<b>VALIDACIÓN.....</b>	<b>24</b>
2.9.1	EXACTITUD .....	25
2.9.2	PRECISIÓN.....	25
2.9.3	LÍMITE DE DETECCIÓN.....	26
2.9.4	LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN .....	26
2.9.5	RANGO O INTERVALO DE TRABAJO.....	26
2.9.6	INCERTIDUMBRE.....	27
2.9.7	BLANCOS .....	27
2.9.8	RECUPERACIÓN.....	27

2.10	REQUISITOS DE LA VALIDACIÓN .....	28
2.11	IMPORTANCIA DE LA VALIDACIÓN DE UN MÉTODO .....	28
2.12	OBJETIVOS DE VALIDACIÓN .....	28
2.13	MATRICES A EVALUAR .....	29
2.13.1	CHIFLES .....	29
2.13.2	PAN DE ALMIDÓN .....	29
2.13.3	CHORIZO .....	29
<b>CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO .....</b>		<b>30</b>
3.1	UBICACIÓN .....	30
3.2	DURACIÓN .....	30
3.3	MÉTODOS .....	31
3.3.1	DESCRIPTIVO .....	31
3.3.2	BIBLIOGRÁFICO .....	31
3.4	TÉCNICAS .....	31
3.4.1	LISTA DE VERIFICACIÓN (CHECK LIST) .....	31
3.5	POBLACIÓN Y MUESTRA .....	31
3.6	VARIABLES EN ESTUDIO .....	32
3.6.1	VARIABLE INDEPENDIENTE .....	32
3.6.2	VARIABLE DEPENDIENTE .....	32
3.7	PROCEDIMIENTO .....	32
3.8	MUESTREO .....	40
3.9	ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	40
<b>CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>		<b>41</b>
4.1	CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNA EN LAS MATRICES ESTABLECIDAS Y DETERMINACIÓN DEL INTERVALO DE TRABAJO .....	41

<b>4.2 ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)</b> .....	<b>42</b>
<b>4.3 EFECTO MATRIZ</b> .....	<b>45</b>
<b>4.4 INCERTIDUMBRE</b> .....	<b>48</b>
<b>CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....	<b>51</b>
<b>5.1 CONCLUSIONES</b> .....	<b>51</b>
<b>5.2 RECOMENDACIONES</b> .....	<b>51</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>52</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>58</b>

## CONTENIDO TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Criterios de Evaluación de la lista de verificación SAE. ....	<b>33</b>
<b>Tabla 2.</b> Objetivos de validación .....	<b>34</b>
<b>Tabla 3.</b> Planificación del desarrollo de los análisis para las matrices establecidas. ....	<b>36</b>
<b>Tabla 4.</b> Equipos, materiales y reactivos para la determinación de proteína. ....	<b>37</b>
<b>Tabla 5.</b> Cuantificación de proteína de cada matriz .....	<b>41</b>
<b>Tabla 6.</b> Análisis de varianza matriz (chifle). ....	<b>43</b>
<b>Tabla 7.</b> Análisis de varianza matriz (pan de almidón). ....	<b>43</b>
<b>Tabla 8.</b> Análisis de varianza matriz (chorizos). ....	<b>43</b>
<b>Tabla 9.</b> Análisis de varianza del chifle con respecto al analista 1. ....	<b>44</b>
<b>Tabla 10.</b> Análisis de varianza del chifle con respecto al analista 2.....	<b>44</b>
<b>Tabla 11.</b> Análisis de varianza del pan de almidón con respecto al analista 1. ....	<b>44</b>
<b>Tabla 12.</b> Análisis de varianza del pan de almidón con respecto al analista 2. ....	<b>44</b>
<b>Tabla 13.</b> Análisis de varianza del chorizo con respecto al analista 1. ....	<b>45</b>
<b>Tabla 14.</b> Análisis de varianza del chorizo con respecto al analista 2. ....	<b>45</b>
<b>Tabla 15.</b> Datos de cada matriz y la recuperación. ....	<b>45</b>
<b>Tabla 16.</b> Matrices fortificadas y diluidas.....	<b>46</b>
<b>Tabla 17.</b> Desviación estándar de la recuperación .....	<b>47</b>
<b>Tabla 18.</b> Similitud entre matrices .....	<b>47</b>

**Tabla 19.** Incertidumbre estándar relativa del método. .... 49

**Tabla 20.** Incertidumbre expandida del método. .... 49

## **CONTENIDO DE FIGURAS**

**Figura 1.** Mapa satelital de la ubicación del Laboratorio CESECCA..... 30

## **CONTENIDO DE FÓRMULAS**

[ 1 ] ..... 39

[ 2 ] ..... 48

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como finalidad validar el método de proteína total en productos alimenticios como: chifles (rango bajo), pan de almidón (rango medio) y chorizos (rango alto). Se realizó un diagnóstico situacional en el área fisicoquímica del laboratorio mediante una lista de verificación según la norma INEN-ISO 17025 para verificar si cumple en el desarrollo de análisis con respecto a la normativa, posteriormente se plantearon los objetivos de validación que se deben cumplir previo a la validación, se realizaron los análisis de proteína ejecutando 200 análisis incluyendo los blancos durante 5 días corridos, con respecto a la cuantificación de proteína se recolectaron los datos de los tres rangos establecidos que comprende del 0,82% a 1,34%; 6,05% a 6,54% y 11,41% a 12,98% para las matrices antes mencionadas, mediante el análisis de varianza se midió la homogeneidad de las muestras de cada matriz entre y dentro de grupos en base a los límites de repetibilidad y reproducibilidad, debido a que el F calculado de cada matriz es menor al valor crítico para F cuyo valor es de 2,12402. Por otra parte, se calculó un efecto matriz mediante la prueba t student para medir la probabilidad que existe entre matrices dando como resultado que si existe similitud entre cada una de ellas. Finalmente, se efectuó la incertidumbre mediante un diagrama de Ishikawa donde se plantearon todas las aportaciones inherentes al método de cada matriz, dando un resultado inferior al objetivo de validación el cual debe ser menor o igual a 25%.

**Palabras clave:** validación, método Kjeldahl, incertidumbre, objetivos de validación, efecto matriz.

## ABSTRACT

The purpose of this research was to validate the total protein method in food products such as: chifles (low range), starch bread (medium range) and chorizos (high range). A situational diagnosis was made in the physicochemical area of the laboratory by means of a checklist according to INEN-ISO 17025 standard to verify if it complies in the development of analysis with respect to the regulations, then the validation objectives that must be met prior to validation were raised, the protein analysis was performed by executing 200 analyses including blanks during 5 running days, with respect to the quantification of protein data were collected from the three established ranges ranging from 0.82% to 1.34%; 6.05% to 6.54% and 11.41% to 12.98% for the aforementioned matrices. By means of the analysis of variance, the homogeneity of the samples of each matrix between and within groups was measured based on the repeatability and reproducibility limits, since the F calculated for each matrix is less than the critical value for F, whose value is 2.12402. On the other hand, a matrix effect was calculated by means of the t student test to measure the probability that exists between matrices, giving as a result that there is similarity between each one of them. Finally, the uncertainty was determined by means of an Ishikawa diagram where all the contributions inherent to the method of each matrix were considered, giving a result lower than the validation objective, which must be less than or equal to 25%.

**Key Words:** validation, Kjeldahl method, uncertainty, validation objectives, matrix effect.

# **CAPÍTULO I. ANTECEDENTES**

## **1.1 PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

Los laboratorios acreditados son organizaciones reconocidas que brindan mediciones, calibraciones, ensayos e inspecciones confiables y técnicamente competentes, legalmente válidas a nivel nacional e internacional, para esto deben contar con la implementación de la norma NTE INEN-ISO 17025/IEC (Pimentel y Zevallos, 2018).

En la provincia de Manabí se encuentra el Centro de Servicios para el Control de Calidad (CESECCA), laboratorio acreditado que ofrece servicios de análisis fisicoquímicos y microbiológicos en agua, harinas y productos del mar al sector público y privado, está regulado por el Servicio de Acreditación Ecuatoriana (SAE) bajo la norma NTE INEN-ISO 17025/IEC.

Actualmente este laboratorio ve la necesidad de extender los análisis en nuevas matrices para proporcionar un servicio completo a la comunidad, en especial a pequeños emprendimientos que inician en la comercialización y exportación de productos distintos a la pesca como chifles, pan de almidón y chorizos, y que al no contar con un laboratorio que trabaje con las matrices indicadas deben enviar muestras para análisis a provincias cercanas, dificultando la gestión de estas empresas. Entre los principales análisis requeridos se encuentra el de proteína por el método Kjeldahl.

Es por ello que el presente trabajo tiene como objetivo validar el método Kjeldahl para proteína total bajo la norma NTE INEN-ISO 17025/IEC en las matrices: chifles, pan de almidón y chorizos en el laboratorio CESECCA. Acorde a los antecedentes indicados se plantea la siguiente pregunta:

¿Será posible ampliar el método Kjeldahl para determinar proteína total en matrices como chifles, pan de almidón y chorizo en el laboratorio CESECCA de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí?

## **1.2 JUSTIFICACIÓN**

El Servicio de Acreditación Ecuatoriana (SAE), es el organismo que valida los laboratorios en Ecuador por un tiempo de 5 años, hasta su renovación. Hoy en día existen más de 170 laboratorios acreditados en el país, en diversos campos como calibración, ensayos e inspecciones.

En Manabí, nuevas empresas de alimentos y en especiales de aquellos no convencionales necesitan el apoyo de un laboratorio acreditado que asegure resultados exactos y precisos, permitiendo con ello llevar a cabo procesos de constitución legal a nivel nacional, así como de exportación.

Por lo cual la implementación de un método validado para matrices como chifles, pan de almidón y chorizos se justifica debido al crecimiento de industrias en este sector, cuyas ventas han pasado de ser locales a nacionales y en ocasiones a nivel internacional, dando lugar a un incremento de la producción que requiere un análisis de un mayor número de muestras que actualmente no pueden ser procesadas en la provincia, se espera además, que más empresas de los sectores indicados extiendan sus ventas incrementando aún más la necesidad de contar con un método Kjeldahl validado.

## **1.3 OBJETIVOS**

### **1.3.1 OBJETIVO GENERAL**

Validar el método de proteína total (Kjeldahl) en los productos alimenticios: chifles, pan de almidón y chorizos, en el laboratorio CESECCA de la ciudad de Manta.

### **1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Realizar un diagnóstico situacional dentro del laboratorio CESECCA para el cumplimiento de los requisitos bajo la norma NTE INEN ISO 17025/2018 para la ampliación de matrices establecidas.

- Analizar el contenido de proteína total en las matrices establecidas para la validación de resultados según los procedimientos específicos desarrollados mediante la norma NTE INEN-ISO 17025/IEC.
- Verificar mediante análisis estadístico el comportamiento de los resultados e incertidumbre del método para el cumplimiento y aseguramiento de la validez de los resultados.

#### **1.4 IDEA A DEFENDER**

La ampliación del método Kjeldahl para determinar proteína total en matrices como chifles, pan de almidón y chorizos garantizará la validez de los resultados para la obtención de la acreditación en el laboratorio CESECCA de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.

## **CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO**

### **2.1 PROTEÍNAS**

Son moléculas complejas esenciales para la estructura y función celular, se forman a partir de la unión de aminoácidos agrupados en largas cadenas que se mantienen estables por enlaces peptídicos (Zenteno, 2019).

Una proteína dietética es aquella que es digerible, no tóxica, y sensiblemente aceptable, un factor importante es su efecto sobre las propiedades físicas-químicas y tecnológicas de los alimentos, además del valor nutricional que aportan (Zumbado, 2020).

### **2.2 FUNCIONES DE LAS PROTEÍNAS**

Realizan innumerables funciones en el organismo, son los principales componentes estructurales de las células y tejidos, para su correcto funcionamiento, donde forman, reparan y mantienen los tejidos, ya sean funciones estructurales, enzimáticas, de transporte o de movimiento, también realizan funciones metabólicas activas como la función homeostática, hormonal, o función inmunológica, el crecimiento, regeneración y mantenimiento del organismo dependen de las funciones de las proteínas (Cardona, 2020).

### **2.3 CONTENIDO DE NITRÓGENO**

Vilches, García y Raigón (2018) mencionan que el contenido en proteínas está determinado por el contenido de nitrógeno total, para la determinación del contenido de nitrógeno a diferentes tipos de muestras como en alimentos, bebidas, fertilizantes, piensos, etc., se lo realiza por el método Kjeldahl, el cual está dividido en tres fases: en la primer etapa tenemos la digestión, la cual consiste en romper los enlaces de nitrógeno, para así convertir todo el nitrógeno orgánico en iones de amonio, la segunda etapa, corresponde a la destilación, el nitrógeno se desprende en forma de amoniaco y este es recogido sobre un exceso conocido de ácido clorhídrico o sulfúrico patrón o

sobre una disolución de ácido bórico, esto influye para llevar a cabo la siguiente etapa de valoración, con un ácido, como solución absorbente, estas variantes se evalúan de acuerdo con los estándares internacionales (López et al., 2023).

## **2.4 MÉTODO KJELDAHL**

Este método determina el contenido de nitrógeno y a partir de este se estima el porcentaje de proteína de una muestra en estudio. El método tiene en cuenta tres fases fundamentales: digestión, destilación y titulación (Zenteno, 2019).

A continuación, se describen los fundamentos de cada una de las etapas:

### **2.4.1 DIGESTIÓN**

Proain Tecnología Agrícola, (2020) sostiene que la muestra en estudio es homogeneizada y pesada para ser colocada en un tubo de digestión Kjeldahl al cual se le adiciona ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) concentrado y un catalizador ( $K_2SO_4 + CuSO_4 + Se$ ) para acelerar la reacción. La mezcla preparada es colocada en el bloque digestor, a una temperatura entre  $350^{\circ}C$  y  $420^{\circ}C$ , en este proceso de calentamiento se oxida el carbono de la muestra, el dióxido de carbono se desprende y el nitrógeno es transformado en sulfato de amonio ( $(NH_4)_2SO_4$ ), transformando la muestra oscura (por el proceso de digestión) en una solución translúcida, normalmente color verde esmeralda, finalizando el proceso de digestión.

### **2.4.2 DESTILACIÓN**

Este proceso tiene el propósito de neutralizar y separar por destilación el amoníaco ( $NH_3$ ) de la solución de sulfato de amonio ( $(NH_4)_2SO_4$ ) generada en el proceso anterior (digestión). Para este proceso se neutraliza, adicionando agua destilada e Hidróxido de sodio ( $NaOH$ ) (que transforma el amonio ( $NH_4$ ) en amoníaco ( $NH_3$ ), en el tubo de digestión, posteriormente se continúa con la destilación, en donde el amoníaco separado ( $NH_3$ ) es recibido en un matraz con ácido bórico ( $H_3BO_3$ ) que contiene el

indicador. El proceso culmina al producirse el viraje del indicador al reaccionar el amoníaco generado ( $\text{NH}_3$ ) con el exceso de ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) (Admin, 2022).

### **2.4.3 VALORACIÓN**

En esta etapa el ácido clorhídrico es colocado en una bureta para la valoración hasta alcanzar el punto de cambio del destilado, de verde a morado, de acuerdo al indicador. Si se observa este color, la titulación ha finalizado, quedando únicamente la realización de los cálculos (Rua, s.f).

## **2.5 CATALIZADOR METÁLICO UTILIZADO**

### **2.5.1 CATALIZADOR DE KJELDAHL (SULFATO DE COBRE Y SELENIO)**

Sáez, García y Martín (2019) indican que favorecen en la etapa de digestión de las muestras, ya que acelera la oxidación y completa la digestión, lo que da como resultado una determinación uniforme de nitrógeno. Por otra parte, García et al., (2013) mencionan que estos catalizadores suelen estar incorporados por diferentes componentes como: cobre, óxido de titanio y óxido de selenio, el selenio y cobre son los catalizadores elegidos, pero de manera usual se emplea como catalizador una mezcla de sulfato de potasio ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ): Sulfato de Cobre ( $\text{CuSO}_4$ ): Selenio (Se).

## **2.6 REACTIVOS**

### **2.6.1 ÁCIDO SÚLFURICO**

Es un ácido inorgánico fuerte, con un aspecto viscoso incoloro, también conocido como sulfato de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), es oxidante, altamente corrosivo, abrasivo, deshidratante y puede dañar seriamente el tejido humano al tener contacto y sufrir irritaciones nasales al exponerse a grandes cantidades, al tener contacto con el agua, este provoca una reacción altamente exotérmica, la cual puede causar explosiones, es utilizado para la descomposición de compuestos que contienen nitrógeno, para el control de calidad de diferentes tipos de productos, es uno de los 20 productos químicos más importantes en la industria química (Vanegas, 2020).

## **2.6.2 HIDRÓXIDO DE SODIO**

El (NaOH), con una fisonomía sólida inodora de color blanco cristalino, es producido por el proceso cloro-álcali y emite gases nocivos al medio ambiente, es un químico altamente soluble en presencia de agua, el cual aumenta su temperatura, libera calor y sube su concentración, pueden reaccionar de forma muy violenta o incluso explosiva con ciertos compuestos orgánicos o minerales como: ácidos fuertes, hidroquinona, cloroformo, fósforo, cetonas, ácido clorhídrico y anhídridos, ya que es una base fuerte que todavía es conocida como soda cáustica, es utilizado para liberar el amoníaco dentro del proceso de determinación de nitrógeno total, para diferentes tipos de productos alimenticios, es un compuesto muy importante en el ambiente químico y en la producción industrial (Auxcense, 2020).

## **2.6.3 ÁCIDO BÓRICO**

El ( $H_3BO_3$ ) es un compuesto blanco, inodoro y soluble en agua, tiene propiedades inusuales y una amplia variedad de aplicaciones que lo convierten en un compuesto muy valioso en varios campos (Pharmacius, 2021).

## **2.6.4 ÁCIDO CLORHÍDRICO**

El (HCl) es un líquido amarillento y humeante con un fuerte olor característico. Su concentración es de aproximadamente 32% en el ámbito industrial y 37% en los laboratorios (Unipar, 2022).

## **2.7 INDICADORES**

### **2.7.1 ROJO METILO**

Es un compuesto utilizado como indicador ácido-base en determinaciones analíticas, posee un rango de transición de pH 4,5 – 6,2; este indicador permite determinar los cambios producidos en una reacción (Baena, 2020).

### **2.7.2 VERDE BROMOCRESOL**

Se usa con frecuencia como indicador de cambio de color, actúa en un rango de pH específico (3.8 a 5.4), es apropiado para sus múltiples usos (Parada, 2021).

## **2.8 NORMA NTE INEN ISO 17025/IEC**

La norma INEN ISO 17025 constituye la base técnico-metodológica para la acreditación de los laboratorios, entre ellos los que realizan análisis fisicoquímicos y microbiológicos, por la importancia y alcance de esta norma internacional, es imprescindible contar con laboratorios acreditados, fortaleciendo así la economía local. La calibración de los instrumentos de medición son la base objetiva e indispensable en el proceso de evaluación de la conformidad de un servicio (Vásquez, 2020).

## **2.9 VALIDACIÓN**

Existen varias definiciones de validación, de las cuales mencionaremos tres:

- 1) Según la guía de validación de la OAE: “Validación es la confirmación mediante el suministro de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos del método para una utilización o aplicación específica prevista” (Servicio de Acreditación Ecuatoriano [SAE], 2022).
- 2) Citada por la norma ISO 17025: “La validación es la confirmación, a través del examen y el aporte de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto” (Organización Internacional de Normalización [ISO], 2005).
- 3) De acuerdo al manual del EURACHEM: “La validación de un método es el proceso de definir una necesidad analítica y confirmar que el método en cuestión tiene capacidades de desempeño consistentes con las que requiere la aplicación” (Eurachem, 2005).

Usando estas tres definiciones anteriores, podemos concluir que el propósito de la validación es confirmar que un método es adecuado para lograr el propósito para el cual fue diseñado.

Buenas Prácticas para Laboratorios Nacionales de Control Farmacéutico [BPLNCF], (2002) menciona que la validación de un método analítico, involucra un procedimiento que sobrelleva estudios de laboratorio, para conseguir una base de datos, el cual evidencian estadísticamente que el método tiene criterios de desempeño (exactitud, precisión [repetibilidad y reproducibilidad], límite de detección, límite de cuantificación, rango o intervalo de trabajo e incertidumbre) ideales para cumplir con los requisitos de las aplicaciones analíticas proyectadas.

### **2.9.1 EXACTITUD**

Indica la proximidad de un resultado al valor verdadero. La validación del método examina la exactitud probable de los resultados evaluando los efectos sistemáticos y aleatorios sobre estos Eurachem (2005). De acuerdo a la SAE (2022) la exactitud es el grado de concordancia existente entre el resultado del ensayo y el valor aceptado como referencia.

### **2.9.2 PRECISIÓN**

Es una medida de qué tan cerca están los resultados unos de otros, usualmente se expresan como medidas de desviación estándar, calculada a partir de los resultados obtenidos por Eurachem (2005). Es el grado de concordancia entre los resultados de muestras individuales de muestras homogéneas, debe evaluarse dentro de los rangos cuantitativos especificados en el método, que reflejan la variabilidad de la aplicación del método en diferentes condiciones (López, 2020).

La precisión se divide en dos parámetros: repetibilidad y reproducibilidad.

#### **2.9.2.1 REPETIBILIDAD**

Observa la variabilidad metodológica a través de una serie de análisis de la misma muestra, en diferentes condiciones de trabajo, implica el mismo procedimiento de medición, el mismo observador, el mismo analista, el mismo lugar, con los mismos equipos y reactivos, repetido por un corto de tiempo (Bustamante, 2022).

### **2.9.2.2 REPRODUCIBILIDAD**

Analiza la variabilidad de los métodos de investigación en diferentes condiciones operativas, utilizando diferentes equipos, empleando igual método, pero ejecutados en diferentes momentos por diferentes analistas y en diferentes laboratorios (Bustamante, 2022).

### **2.9.3 LÍMITE DE DETECCIÓN**

Se define como la cantidad o concentración mínima de un analito que se puede detectar de forma fiable mediante un método analítico determinado, pero no puede cuantificarse, el límite de detección sería la concentración de valor mínimo obtenido al medir una muestra a la presencia del analito que podríamos distinguir de la concentración obtenida de la muestra de ausencia de analito (Bustamante, 2022).

### **2.9.4 LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN**

Es la cantidad menor con incertidumbre asociada que se puede cuantificar para un nivel de confianza determinado Mamani (2020). La concentración más baja del analito que se puede determinar con un nivel de precisión de repetibilidad y veracidad, con una exactitud razonable en las condiciones de prueba especificadas (Eurachem, 2005).

### **2.9.5 RANGO O INTERVALO DE TRABAJO**

Está determinado por la concentración más baja y más alta en la que se puede analizar una matriz en donde se ha demostrado precisión y exactitud Eurachem (2005). Así mismo, Cabrera (2021) establece que es el intervalo en donde el método da resultados con buena precisión y exactitud e incertidumbre aceptable. En el transcurso de la validación del método, se debe evaluar el rango de trabajo establecido dentro del procedimiento documentado sobre el cual el método produce una respuesta lineal a la concentración.

### **2.9.6 INCERTIDUMBRE**

La incertidumbre de la medición es un parámetro que expresa el intervalo de posibles valores en función del resultado de la medición. Todos los efectos reconocidos que afectan el resultado se tienen en cuenta en la estimación de la incertidumbre de medición; la incertidumbre asociada con cada efecto es combinadas de acuerdo a procedimientos bien establecidos, es decir la incertidumbre del método se calcula estimando los errores que ocurren en las diferentes etapas del análisis (Eurachem, 2005).

### **2.9.7 BLANCOS**

El análisis de un blanco es esencial para un buen programa de control o garantía de calidad de un laboratorio, permiten detectar errores del sistema, que luego pueden eliminar o reducir su impacto en los resultados de las pruebas. Un ensayo en blanco es simplemente una muestra que no contiene el analito de interés (valor medido), o un ensayo sin muestra, es decir, todos los pasos del procedimiento se realizan utilizando únicamente reactivos Delgado (2019), cuyo valor obtenido debe ser restado del valor de la muestra con analito, reduciendo así los valores considerados como ruido del método.

### **2.9.8 RECUPERACIÓN**

Bustamante (2022) expresa que es la relación entre la cantidad del analito a medir y la cantidad de la muestra, la cantidad del analito a medir se determina con la cantidad total original como valor estándar, por otra parte, Eurachem (2005), indica que la recuperación de muestras o matrices en blanco suele ser mejor que la de las muestras convencionales con una unión de analitos más fuertes.

## **2.10 REQUISITOS DE LA VALIDACIÓN**

Eurachem, (2005) menciona que existen ciertos requisitos de personal y equipo de trabajo para la validación de métodos, entre estos:

- El equipo requerido para la validación debe estar funcional y calibrado.
- El personal debe ser técnicamente competente en las áreas requeridas.

## **2.11 IMPORTANCIA DE LA VALIDACIÓN DE UN MÉTODO**

Las validaciones de métodos analíticos son de gran importancia debido a su alto grado de seguridad, para la obtención de resultados precisos y veraces, dentro de las especificaciones y los atributos de calidad previamente establecidos, la comunidad analítica ha determinado las principales especificaciones y requisitos de un laboratorio por medio de la norma ISO/IEC 17025, es decir esta es la guía que se debe cumplir para validar y posteriormente, acreditar un método analítico, ya que un método validado otorga un carácter legal a nivel internacional de los resultados obtenidos Bustamante (2022).

## **2.12 OBJETIVOS DE VALIDACIÓN**

Match (s.f) cita que está diseñado para demostrar la capacidad de facilitar, de manera continua y repetible un producto consistente que cumpla con las especificaciones de calidad, además para Manzanera (2019) los objetivos de validación, se distribuyen en dos rangos sencillos, los cuales son, objetivos de trabajo y sus procesos proyectados para lograrlos y estos objetivos suelen estar sujetos a métodos de control de calidad que se definirán en el plan de gestión correspondiente, el papel de la validación es revisar el plan de manejo para asegurar que se hayan establecido los estándares apropiados y verificar que se hayan implementado los resultados del control de calidad.

## **2.13 MATRICES A EVALUAR**

### **2.13.1 CHIFLES**

Según Mora, (2020) es un snack elaborado a base de plátanos verdes fritos en aceite vegetal, que pasan por un proceso de selección hasta convertirlos en tajadas o chips, de carácter crocante, en el que se añaden sal y son empacados en polímeros de grado alimentario. Entre las propiedades nutricionales más importantes del plátano se encuentran las vitaminas, los carbohidratos, la fibra, el almidón y el potasio, que son fuente de nutrientes necesarios para el funcionamiento del organismo, por otra parte, en la investigación realizada por Suastegui (2021) menciona con respecto a la composición nutricional del chifle de plátano verde, que contiene un 2% de proteínas y 60% de carbohidratos totales.

### **2.13.2 PAN DE ALMIDÓN**

Pozo (2020) indica que cuyas propiedades mejoran la textura, agregan viscosidad, y mantienen resistencia a los procesos, tienen características que alargan la vida de los productos alimenticios, influyen en la absorción de agua, y en fluidos viscoelásticos de productos como el pan, pastas, postres, y otros productos que contienen harinas y almidones los cuales aseguran su calidad.

### **2.13.3 CHORIZO**

Instituto Ecuatoriano de Normalización [INEN] 1217, (2013) indica que es un producto elaborado con carne de animales de abasto, solas o en mezcla, ¡adicionada de condimentos y embutidas en tripas naturales o artificiales; puede ser fresco, madurado, escaldado, ahumado o no. Por otra parte, Pérez et al, (2020) menciona que el chorizo, es fuente de energía, el cual aporta grandes cantidades de grasas y proteínas a la dieta, el valor nutricional de este alimento depende de los ingredientes utilizados en su elaboración, de acuerdo con Matovelle (2016) este embutido proporciona 21, 18 g de proteína y 29,30 g de grasa, el alto contenido de proteína en este tipo de alimento influye en su calidad.

## CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

### 3.1 UBICACIÓN

La presente investigación se realizó en el Laboratorio del Centro de Servicios para el Control de Calidad (CESECCA) de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí (ULEAM), ubicada en la Av. Circunvalación, Manta-Ecuador, geográficamente localizado en las siguientes coordenadas: Latitud 0° 57' 05" S y longitud 80° 44' 45" W (Google Earth, 2022).



Figura 1. Mapa satelital de la ubicación del Laboratorio CESECCA.

*Fuente.* (Google Earth, 2022)

### 3.2 DURACIÓN

La investigación planteada tuvo una duración aproximada de nueve meses.

### **3.3 MÉTODOS**

#### **3.3.1 DESCRIPTIVO**

Este método se utilizó para la exposición narrativa, numérica y gráfica, bien detalladas y exhaustivas de la realidad que se estudia, producida por las observaciones directas del investigador para describir y establecer datos alcanzados a través de análisis estadísticos que cumplan y aseguren la validez de los resultados, es una información congruente con los hechos, y la información obtenida es consistente con los requerimientos de la disciplina metodológica (Abreu, 2014).

Por lo antes expuesto, con este método se describió el procedimiento adecuado para la determinación de proteína total en las matrices: chifles, pan de almidón y chorizo, por medio de la recopilación de datos cuantificables que se pueden analizar.

#### **3.3.2 BIBLIOGRÁFICO**

Con este método se obtuvo los conocimientos necesarios mediante artículos científicos, libros, revistas y normas técnicas para llevar a cabo el proceso del análisis de proteína por método Kjeldahl.

### **3.4 TÉCNICAS**

#### **3.4.1 LISTA DE VERIFICACIÓN (CHECK LIST)**

Fue diseñada para la realización de actividades repetitivas, que permitió controlar el cumplimiento de lista de requisitos según la norma NTE INEN-ISO 17025/IEC, con el fin de que el operador o inspector no olvide ningún punto importante (ver anexo 1).

### **3.5 POBLACIÓN Y MUESTRA**

En la determinación de proteína para la ampliación de matrices (chifles, pan de almidón y chorizo) por el método Kjeldahl, se desarrolló en base a tres rangos (bajos, medios y altos).

Para la realización de este análisis se utilizó 100 g de muestra para cada una de las matrices establecidas, con respecto al rango bajo en proteína se trabajó con un snack de plátano de la marca “Chiflazos”, dentro del rango medio se usó pan de almidón de yuca industrializados de la marca “Facundo”, y en lo que respecta al rango alto se evaluó con chorizos de la marca “La Europea”, cabe resaltar que las muestras de cada una de las matrices proceden de un mismo empaque.

### **3.6 VARIABLES EN ESTUDIO**

El laboratorio CESECCA utilizó como indicador de aseguramiento de la validez de los resultados el uso de materiales de referencias certificados (MRC) entre ellos el FAPAS por sus siglas en inglés (Food Analysis Performance Assessment Scheme) (Programa de Evaluación de Rendimiento en el Análisis de Alimentos) el cual proporciona una medida de precisión y es ampliamente utilizado para validaciones y verificaciones de métodos debido a su alto grado de confianza.

#### **3.6.1 VARIABLE INDEPENDIENTE**

- Validación del ensayo de proteína por el método Kjeldahl.

#### **3.6.2 VARIABLE DEPENDIENTE**

- Aseguramiento de la validez de los resultados.
- Ampliación del alcance de matrices de validación.

### **3.7 PROCEDIMIENTO**

**FASE 1:** Realizar un diagnóstico situacional dentro del laboratorio CESECCA para el cumplimiento de los requisitos bajo la norma NTE INEN 17025/2018 para la ampliación de matrices establecidas.

- En esta etapa se realizó un diagnóstico situacional interno en el laboratorio CESECCA en el área fisicoquímica, mediante una ficha técnica realizada en base a los requisitos generales que se deben cumplir dentro del laboratorio

estipulados por la norma NTE INEN ISO/IEC 17025, versión 2006, los cuales fueron revisados y acondicionados a la nueva versión 2018 completando así el diagnóstico del laboratorio para el desarrollo de las validaciones en las diferentes matrices (chifles, pan de almidón, chorizos) establecidas.

- A continuación, en la tabla 1 se presentan los criterios de evaluación de la lista de verificación SAE, como una de los requisitos importantes que se deben evaluar dentro de la ficha técnica.

**Tabla 1.** Criterios de Evaluación de la lista de verificación SAE.

Respuesta.	CRITERIO
SI/NO	-
DI	Sistemática Definida documentalmente e Implantada eficazmente
DNI	Sistemática Definida documentalmente pero No Implantada eficazmente.
NDA	Sistemática No Definida documentalmente, pero existen Actuaciones que pretenden resolver la cuestión
NDNA	No se ha Definido sistemática alguna Ni se realizan Actuaciones relativas a la cuestión
NA	No es de Aplicación en el laboratorio

*Fuente.* SAE, 2016

**Elaborado por:** Las autoras

**FASE 2.** Analizar el contenido de proteína total en las matrices establecidas para la validación de resultados según los procedimientos específicos desarrollados mediante la norma NTE INEN-ISO 17025/IEC.

- Se utilizó un método de análisis validado internacionalmente (Asociación de Comunidades Analíticas [AOAC], 2016) para el análisis de proteína total en las matrices estudiadas.
- Se fijaron los objetivos de validación que fueron establecidos de acuerdo a las necesidades analíticas del laboratorio CESECCA, tomando como referencias

los métodos de la norma NTE INEN ISO 17025/IEC el cual especifica los requisitos y alcances que deben cumplir los métodos para su validación.

- A continuación, en la tabla 2 se describen los objetivos de validación propuestos para determinar proteína total en las matrices establecidas.

**Tabla 2.** Objetivos de validación

<b>Parámetro</b>	<b>Objetivos de validación</b>
Selectividad/Especificidad	No aplica
Linealidad/Función respuesta	No aplica
Límite de Detección del método	0,1%
Límite de Cuantificación del método	$\geq 1$ % proteína
Precisión (repetibilidad y/o reproducibilidad)	Cvr: $\leq 10\%$ ; CVR: $\leq 10\%$
Incertidumbre	$\%U(K=2) \leq 25\%$
Exactitud	$90\% < R < 110\%$
Intervalo de trabajo	1-12% Proteína

**Fuente.** Laboratorio CESECCA

- Se ejecutaron los blancos para indicar que son las muestras compuestas únicamente por los reactivos que son utilizados para el proceso analítico (ver anexo 4)
- Una vez establecidos los objetivos de validación se procedió con el inicio de los análisis, los cuales se llevaron a la práctica por dos analistas diferentes, que fueron considerados en el laboratorio CESECCA para realizar las validaciones, efectuando cinco réplicas diarias por cada muestra (150 análisis) incluyendo los blancos (50 análisis), durante cinco días seguidos, es decir 200 análisis en la semana, como se detalla en la tabla 3.
- Se realizó la repetibilidad para dar la más pequeña variación en los resultados, este control es una medida de la variabilidad en los resultados cuando una medición se lleva a cabo por un solo analista utilizando el mismo equipo en un corto plazo de tiempo.

- Así mismo, se ejecuta la reproducibilidad para dar concordancia de resultados cuando los análisis se llevan a cabo en el mismo laboratorio, utilizando diferentes equipos, empleando igual método, pero ejecutados en diferentes momentos por diferentes analistas.
- De igual manera se efectúa la recuperación ya que esta permite determinar si las matrices muestran diferencias significativas en sus resultados o si por el contrario no difiere.

**Tabla 3.** Planificación del desarrollo de los análisis para las matrices establecidas.

**PLANIFICACIÓN DEL DESARROLLO DE LOS ANÁLISIS**

Matrices	Analista 1					Analista 2					Subtotal
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	
<b>Chifles (rango bajo)</b>	5 análisis	50 pruebas por matriz									
<b>Pan de almidón (rango medio)</b>	5 análisis	50 pruebas por matriz									
<b>Chorizo (rango alto)</b>	5 análisis	50 pruebas por matriz									
<b>Blancos</b>	5 análisis	50 pruebas por matriz									
<b>Total</b>	20 pruebas diarios	<b>200 pruebas</b>									

*Fuente.* Las autoras

- A continuación, en la tabla 4 se detallan los equipos, materiales y reactivos que se utilizaron en el procedimiento para la determinación de proteína por el método Kjeldahl.

**Tabla 4.** Equipos, materiales y reactivos para la determinación de proteína.

Equipos	Materiales	Reactivos
		Agua
Balanza analítica	Espátula	
	Papel libre de nitrógeno	
		Pastilla Kjeldahl
Equipo Digestor Kjeldahl	Tubo de digestión	Ácido sulfúrico (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )
		Carbonato de sodio (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )
		Hidróxido de sodio (NaOH)
	Matraz erlenmeyer	Ácido bórico (H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> )
		Indicador mixto
(Para titulación)	Bureta, soporte digital	Ácido clorhídrico (HCl)

**Fuente.** Las autoras.

- Descripción del proceso para determinación de proteína por el método Kjeldahl:
  1. Preparación de los reactivos:
    - Para el Ácido bórico al 4% se procedió a pesar 80 g para 2 L de agua destilada (ver anexo 7-A)
    - Para el Hidróxido de sodio al 45% se procedió a pesar 900 g para cada 2 L de agua destilada (ver anexo 7-B), la solución se la realizó mientras se mantenía el recipiente en baño de agua fría.

- Para el ácido clorhídrico al 0.1 N, se procedió a pesar 16,6 g para cada 2 L de agua destilada y luego fue valorada.
2. Preparación de la muestra:
- En una procesadora se trituró el producto hasta que quedó lo más homogéneo posible (ver anexo 8)
3. Se verificó la balanza analítica con el uso de pesas calibradas.
4. Procedimiento para la determinación de nitrógeno total por el método Kjeldahl:
- Digestión:
- Se pesó la muestra en papel libre nitrógeno (ver anexo 9-A) de 0,9999 a 1,1000 g máximo de muestra (en función del contenido de proteína del producto) y se transfirió a un tubo de vidrio Büchi.
  - Se añadió al tubo con muestra una pastilla Kjeldahl (selenio o mezcla de sulfato de cobre y selenio) (ver anexo 9-B) catalizador que favorece el paso de digestión.
  - Se adicionó 15 mL de ácido sulfúrico concentrado al 95-98% (ver anexo 9-C).
  - Posteriormente, se colocaron los tubos de digestión con las muestras en el equipo Digestor Kjeldahl (ver anexo 9-D) a 350°C durante un tiempo de 30 minutos, adquiriendo un color verde característico al culminar la etapa de digestión (ver anexo 9-E).
- Destilación:
- Seguidamente, se dejó enfriar la muestra a temperatura ambiente, después de enfriar se adicionan al tubo de digestión 30 mL de agua destilada en cada tubo de muestra (ver anexo 9-F)
  - Se añadió 75 mL de ácido bórico en un matraz erlenmeyer de 250 ml (ver anexo 9-G) y 1 cm de indicador mixto (verde de bromocresol y rojo de metilo) (ver anexo 9-H). Se ubicó el erlenmeyer en el destilador teniendo la precaución de que ésta quede sumergido dentro de la disolución de ácido bórico, posteriormente se colocó el tubo con la muestra en el lado izquierdo del destilador (ver anexo 9-I)

- Una vez colocado el tubo de muestra y el erlenmeyer con el ácido bórico, se dosificó 80 mL de hidróxido de sodio (ver anexo 9-J) para alcalinizar fuertemente el medio y así desplazar el amoníaco de las sales amónicas. El amoníaco liberado es arrastrado por el vapor de agua inyectado en el contenido del tubo durante la destilación, y se recoge sobre una disolución de ácido bórico (al 4 % p/v), la destilación debe prolongarse el tiempo suficiente, aproximadamente de 5 a 10 minutos (ver anexo 9-K).
- Valoración:
- El destilado obtenido se lo valora por medio de una volumetría ácido-base, utilizando una solución estandarizada de ácido clorhídrico (HCl) 0,1N (ver anexo 9-L), y como indicador una disolución alcohólica de una mezcla de rojo de metilo y azul de metileno, hasta que la solución vire de rojo naranja a azul violeta (ver anexo 9-M).
  - Finalmente, se calcula el porcentaje de proteína aplicando la siguiente ecuación:

$$\%Proteína = \text{factor de nitrógeno} \times \text{factor de proteína} \frac{(A - B) \times N}{m} \quad [ 1 ]$$

Siendo:

A = Consumo de ácido clorhídrico (HCl) empleado en la valoración de la muestra.

B = Consumo de ácido clorhídrico (HCl) empleado en la valoración del blanco.

N = Normalidad de la solución de ácido clorhídrico (HCl).

m = Masa de la muestra en gramos.

Factor de nitrógeno = 1,4007

Factor de proteína = 6,25

**FASE 3.** Verificar mediante análisis estadístico el comportamiento de los resultados e incertidumbre del método para el cumplimiento y aseguramiento de la validez de los resultados.

- Se empleó la herramienta Microsoft Excel, con este programa se organiza y se calculan datos en una hoja de cálculo, se utilizaron pruebas estadísticas como ANOVA y t de student.
- El análisis de varianza se utilizó para medir la homogeneidad de las muestras de cada matriz (chifles, pan de almidón y chorizo) entre y dentro de grupos y el efecto de la variabilidad entre el analista A y analista B y de acuerdo a esto sale criterio de la repetibilidad y la reproducibilidad.
- La prueba t de student examinó las diferencias entre las muestras de las matrices ya mencionadas para que tengan distribución normal y homogeneidad en sus varianzas, cada matriz es un nivel (bajo, medio y alto), en donde sale un rango de validación.

### **3.8 MUESTREO**

Para la adquisición de las muestras, se empleó un muestreo no probabilístico por conveniencia donde las muestras de los empaques se seleccionan porque es una manera sencilla de reclutar, para asegurar la validación de los métodos, el laboratorio CESECCA plantea que los análisis se realicen de la siguiente manera: cinco réplicas diarias por cada muestra incluyendo los blancos durante cinco días seguidos, es decir 200 análisis en la semana y estuvieron a cargo por dos analistas.

### **3.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

En esta investigación se utilizó la herramienta Microsoft Excel aplicando pruebas estadísticas, en el cual se determinó el Análisis de varianza (ANOVA) para medir la homogeneidad entre y dentro de grupos de cada matriz, de la misma manera se realizó un efecto matriz mediante la t de student para determinar la probabilidad de la similitud entre matrices.



1	12,00	12,44	12,88	12,08	12,46	11,91	12,25	12,16	12,36	12,68
2	12,14	12,24	12,98	12,36	12,47	11,91	12,10	12,42	12,74	12,35
3	12,15	12,01	12,03	12,36	12,46	12,00	12,29	12,19	12,54	12,48
4	12,65	12,24	11,41	12,46	12,35	11,85	12,23	12,24	11,76	12,84
5	12,09	12,28	12,14	12,33	12,36	12,30	12,73	11,89	12,66	12,72

*Fuente.* Las autoras.

En el trabajo de titulación de Ángeles, (2020) realizó una validación del Método AOAC 990.03 (Dumas) armonizado a Kjeldahl en el análisis de proteína en harina de pescado, en el cual seleccionaron ocho niveles de concentración de harina de pescado con tres analistas diferentes y cada uno por quintuplicado, indicando que obtuvieron valores mínimos en el intervalo de cuantificación de proteína en cada una de sus niveles.

Por otra parte, Salazar, (2016) en su trabajo de titulación, realizó una implementación del método Kjeldahl para la determinación de proteína, para diferentes matrices en el laboratorio ECUACHEMLAB CÍA. LTDA, seleccionaron tres niveles de matrices realizados por dos analistas diferentes en cinco días corridos de la semana, indicando que obtuvieron valores amplios en el intervalo de cuantificación de proteínas en las matrices de cárnicos y derivados, cereales y derivados, lácteos y derivados, lo que favorece la capacidad de confiabilidad del análisis.

## 4.2 ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)

Las estimaciones de repetibilidad (mismo analista, mismo lugar y en un intervalo pequeño de tiempo) y reproducibilidad (mismo analista, mismo lugar y en diferentes días). Se utilizó el análisis de varianza ANOVA para el cálculo de la variabilidad del sistema de medición y para cuantificar la variación de datos debido a las interacciones entre niveles (repeticiones) y grupos (días). Esta prueba estadística sirve para medir la homogeneidad de las muestras, y para analizar si las medias y las varianzas dentro y entre grupos son significativamente diferentes (Cabrera, 2021).

Cabe mencionar que estos coeficientes de repetibilidad, reproducibilidad y recuperación forman parte de los objetivos de validación que se establecen en los laboratorios de alimentos cuando quieren validar un método analítico.

Los datos obtenidos y analizados por el ANOVA indican que todos los grupos son uniformes y que no existen diferencias significativas en ninguna de las matrices establecidas durante las mediciones realizadas en los cinco días corridos de la semana, debido a que el F calculado de cada matriz es menor al valor crítico para F cuyo valor es de 2,12402 como se observa en las siguientes tablas:

**Tabla 6.** Análisis de varianza matriz (chifle).

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,183938	9	0,020437556	1,645535874	0,135335776	2,124029264
Dentro de los grupos	0,4968	40	0,01242			
<b>Total</b>	<b>0,680738</b>	<b>49</b>				

**Tabla 7.** Análisis de varianza matriz (pan de almidón).

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,187072	9	0,020785778	1,612425551	0,144744928	2,124029264
Dentro de los grupos	0,51564	40	0,012891			
<b>Total</b>	<b>0,702712</b>	<b>49</b>				

**Tabla 8.** Análisis de varianza matriz (chorizos).

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1,233202	9	0,137022444	1,606980947	0,146349017	2,124029264
Dentro de los grupos	3,41068	40	0,085267			
<b>Total</b>	<b>4,643882</b>	<b>49</b>				

Por medio del estadístico F que se muestra en las tablas de ANOVA y su comparación con el valor crítico de F, se afirma que el método es preciso en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad al 95% de confianza para cada matriz y para los dos analistas. Esta afirmación es posible debido a que los valores calculados de F en cada tabla de ANOVA son menores que el valor crítico correspondiente a 2,124029264.

A continuación, en las siguientes tablas se muestran el análisis de varianza de las diferentes matrices con respecto a cada analista, en el cual indica que no existe variabilidad en analistas ni en días.

**Tabla 9.** Análisis de varianza del chifle con respecto al analista 1.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,115096	4	0,028774	2,1260529	0,11520562	2,8660814
Dentro de los grupos	0,27068	20	0,013534			
<b>Total</b>	<b>0,385776</b>	<b>24</b>				

**Tabla 10.** Análisis de varianza del chifle con respecto al analista 2.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,06548	4	0,01637	1,44790377	0,25515365	2,8660814
Dentro de los grupos	0,22612	20	0,011306			
<b>Total</b>	<b>0,2916</b>	<b>24</b>				

**Tabla 11.** Análisis de varianza del pan de almidón con respecto al analista 1.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,06548	4	0,01637	1,44790377	0,25515365	2,8660814
Dentro de los grupos	0,22612	20	0,011306			
<b>Total</b>	<b>0,2916</b>	<b>24</b>				

**Tabla 12.** Análisis de varianza del pan de almidón con respecto al analista 2.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,06548	4	0,01637	1,44790377	0,25515365	2,8660814
Dentro de los grupos	0,22612	20	0,011306			
<b>Total</b>	<b>0,2916</b>	<b>24</b>				

**Tabla 13.** Análisis de varianza del chorizo con respecto al analista 1.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0,06548	4	0,01637	1,44790377	0,25515365	2,8660814
Dentro de los grupos	0,22612	20	0,011306			
<b>Total</b>	<b>0,2916</b>	<b>24</b>				

**Tabla 14.** Análisis de varianza del chorizo con respecto al analista 2.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0,06548	4	0,01637	1,44790377	0,25515365	2,8660814
Dentro de los grupos	0,22612	20	0,011306			
<b>Total</b>	<b>0,2916</b>	<b>24</b>				

En un trabajo de titulación realizada por Salazar, (2016) implementaron el método Kjeldahl para la determinación de proteína para diferentes matrices, en el cual los valores obtenidos para el estadístico F son inferiores en los tres casos al valor crítico, por tanto, a un 95% de confianza el método es reproducible y preciso en condiciones de repetibilidad para las matrices de cárnicos y derivados, cereales y derivados, lácteos y derivados.

### 4.3 EFECTO MATRIZ

El estudio del efecto matriz se lo realizó por medio de una prueba t de student para comprobar la similitud entre las tres matrices las cuales fueron chifles, pan de almidón y chorizos, para esto se tomaron 15 datos, cinco de cada matriz, el cual se calculó la recuperación en donde cada dato se lo divide para el promedio de cada matriz como se detalla en la tabla 9.

**Tabla 15.** Datos de cada matriz y la recuperación.

<b>Datos originales para el análisis de matrices</b>			
<b>Matrices</b>	<b>Chifle</b>	<b>Pan de almidón</b>	<b>Chorizo</b>

	1,11	6,43	12,46
	1,22	6,49	12,47
<b>Condición inicial</b>	1,18	6,49	12,46
	1,17	6,5	12,35
	1,15	6,5	12,36
<b>Promedio</b>	1,17	6,48	12,42
	0,95	0,99	1,00
	1,05	1,00	1,00
<b>Recuperación</b>	1,01	1,00	1,00
	1,00	1,00	0,99
	0,99	1,00	1,00

**Fuente.** Las autoras.

Ya obtenida la recuperación de las matrices, la condición inicial de cada matriz se las llevó a un mismo nivel ya sea el nivel bajo, medio o alto, de modo que se llevó al punto medio entre las tres matrices, el cual fue el pan de almidón, el chifle se lo fortifica con una disolución de urea por ser un rango bajo y así poder aumentar su concentración a diferencia del chorizo que se lo diluye en agua para bajarle la concentración de proteína y así llegar al punto medio con el fin de alcanzar un mismo nivel como se puede observar en la tabla 10.

**Tabla 16.** Matrices fortificadas y diluidas

<b>Matrices</b>	<b>Chifle</b>	<b>Pan de almidón</b>	<b>Chorizo</b>
	6,50	6,43	6,55
	6,55	6,49	6,53
<b>Muestra Fortificada/Diluida con UREA</b>	6,49	6,49	6,58
	6,53	6,5	6,49
	6,55	6,5	6,49

**Fuente.** Las autoras.

Para comparar la similitud que existe entre cada matriz, se calcula la desviación estándar (sd) para luego calcular la varianza de la recuperación (sd<sup>2</sup>), que es la desviación al cuadrado como se observa en la tabla 11.

**Tabla 17.** Desviación estándar de la recuperación

	Chifle	Pan de almidón	Chorizo
<b>Sd</b>	0,03451	0,00455	0,00480
<b>Sd2</b>	0,00119	0,00002	0,00002

*Fuente.* Las autoras.

Ya obtenida las desviaciones estándar de las matrices se calcula la probabilidad que existe en cada matriz dividiendo la varianza de una matriz con otra como se detalla en la tabla 12, cada uno de estos valores deben ser menor a la distribución inversa el cual es el valor crítico para F y este se obtuvo mediante un análisis de varianza de las muestras que se alcanzaron a un mismo nivel, se calculó con una probabilidad de 0,05 y 2 grados de libertad dando como resultado 3,88529 (ver anexo 10), dicho esto se comprueba que si existe similitud (ver anexo 11) entre matrices debido a que los valores calculados de las matrices son inferiores a la distribución inversa.

**Tabla 18.** Similitud entre matrices

	Chifle	Pan de almidón	Chorizo
<b>Chifle</b>	1,000	1,115	1,949
<b>Pan de almidón</b>	1,115	1,000	1,747
<b>Chorizo</b>	1,949	1,747	1,0000

*Fuente.* Las autoras

En el trabajo de titulación de Carmona, (2015) realizó un estudio comparativo de técnicas de extracción para la determinación de micotoxinas en alimentos el cual determinó el efecto matriz a tres muestras de arroz blanco, el cual primero fortificó dando lugar de que no existe un efecto matriz, sin embargo, al diluir las muestras en agua se determinó que sí hubo. Por otra parte, Ramírez et al. (2018) en su investigación realizaron un efecto matriz mediante un t de student a diferentes tipos de aguas obteniendo que si existe un efecto matriz debido a que se comprobó la igualdad en cada muestra analizadas. De igual manera en la investigación de Rodríguez, (2019) determinaron un efecto matriz a aguas naturales y aguas potables mediante la prueba

estadística t dando lugar que no existe un efecto matriz, debido a microorganismos o a la adición de químicos que pudo existir en una de las muestras.

#### 4.4 INCERTIDUMBRE

La determinación de la incertidumbre es la base fundamental de una validación y este se define por medio de la normativa INEN-ISO/IEC 17025 como un requisito necesario para la presentación de resultados de análisis cuantitativos.

Para la incertidumbre de medida asociada a las estimaciones se plantean todas las aportaciones inherentes al método, para esto se hizo un diagrama de Ishikawa (ver anexo 5) en el cual se establecieron aportaciones que hubo durante la validación, se evaluó utilizando contribuciones de Tipo A, Incertidumbres volumétricas (balanzas, pipeta, probeta, bureta digital, dispense) e incertidumbre de sesgo (ver anexo 6).

Angeles (2020) menciona que la incertidumbre de las mediciones normalmente tiene muchos componentes. La incertidumbre del método se calcula estimando los errores en las diferentes etapas del análisis, por ejemplo, la homogeneización de la muestra, el pesaje, la calibración del equipo, lectura, etc.

Una vez obtenida las contribuciones que aportan incertidumbre, se determina la incertidumbre estándar del método mediante la siguiente ecuación:

$$PROTEÍNA\ TOTAL = \sqrt{SR^2 + u(SP)^2 + \Delta^2 + \left(\frac{S\Delta}{\sqrt{n}}\right)^2 + u(Cref)^2} \quad [ 2 ]$$

Siendo:

SR = Desviación estándar de reproducibilidad

u(SP) = Desviación de patrones

$\Delta$  = Sesgo

$S\Delta / \sqrt{n}$ = Sesgo del material de referencia/estimación de la incertidumbre

$C_{ref}$ = Incertidumbre de coeficiente de dilatación térmica.

Aplicada la ecuación para calcular las incertidumbres estándar de cada matriz se obtuvo una incertidumbre de 0,11419 para el chifle; 0,03625 para el pan de almidón y con respecto al chorizo 0,04305 como se observa en la tabla 13.

**Tabla 19.** Incertidumbre estándar relativa del método.

Factor	Chifle 1,22	Pan de almidón 6,26	Chorizo 12,01
Incertidumbre del método	0,11416	0,03625	0,04305

*Fuente.* Las autoras.

Obtenidas las incertidumbres estándar relativa de cada matriz, se utiliza un factor de cobertura (k) que es igual a 2 para obtener las incertidumbres expandidas, dicho esto se realiza el cálculo multiplicando cada uno de los resultados por el factor de cobertura, debido a los grados de libertad con el objetivo de alcanzar un nivel de confianza del 95%, para comprobar si las incertidumbres cumplen con el criterio de aceptación establecido por el laboratorio siendo menores o iguales al 25% de cada matriz, esto se confirma transformándolos en porcentaje dando como resultado un 22,832 % para el chifle, para el pan de almidón 7,25% y para el chorizo 8,61% como se detalla en la tabla 14.

**Tabla 20.** Incertidumbre expandida del método.

Factor	Chifle 1,22	Pan de almidón 6,26	Chorizo 12,01
Incertidumbre expandida del método relativa	0,22832	0,0725	0,0861
Porcentaje de la incertidumbre expandida del método	22,832	7,25	8,61

*Fuente.* Las autoras.

En el trabajo de titulación de Salazar, (2016) obtuvo una incertidumbre relativa de 0,014 para lácteos y derivados, para cereales y derivados de 0,021; para cárnicos y derivados de 0,03. En lo que respecta a la incertidumbre expandida para cárnicos y derivados constituye un 3,0%, para cereales y derivados un 2,1% y para lácteos y derivados un 1,4%, estos valores no son similares a la actual investigación debido a los criterios de aceptación propuestos por el laboratorio antes de realizar la validación concluyendo que si se encuentran dentro de los establecido.

# **CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## **5.1 CONCLUSIONES**

- Se realizó un diagnóstico situacional interno al laboratorio CESECCA donde se comprobó que si cumple con todos los requisitos de la norma NTE INEN ISO 17025/2018 para la realización de los análisis en las matrices establecidas.
- Se verificó la validez del método a través del cumplimiento de precisión (repetibilidad y reproducibilidad), exactitud e incertidumbre, indicando que todos los grupos son homogéneos y que no existen diferencias significativas en ninguna de las matrices.
- De acuerdo al efecto matriz mediante la prueba t de student se comprobó que si existe similitud entre cada matriz.
- En base a los factores de incertidumbre de cada matriz si cumple con el objetivo de validación dando como resultado valores inferiores al  $\leq 25\%$ .
- Se da por cumplida la validación mediante el método Kjeldahl para proteína total en las matrices establecidas debido a que, si cumple con cada uno de los objetivos propuestos previo a la validación, demostrando así la confiabilidad del método.

## **5.2 RECOMENDACIONES**

- Continuar con la metodología y criterios propuestos para la validación de métodos analíticos en diferentes matrices, con la finalidad de que el laboratorio CESECCA amplie sus servicios a otras matrices.
- Verificar si el método de análisis o el equipo y reactivos a utilizar cumplen con las especificaciones de rendimiento.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abreu, J. (2014). *El método de la investigación* [Archivo PDF].  
[http://www.spentamexico.org/v9-n3/A17.9\(3\)195-204.pdf](http://www.spentamexico.org/v9-n3/A17.9(3)195-204.pdf)
- Admin, (2022). Método Kjeldahl. *Química fácil*.  
<https://quimicafacil.net/tecnicas-de-laboratorio/metodo-kjeldahl/>
- Ángeles, J. (2020). *Validación del Método AOAC 990.03 (Dumas) armonizado a Kjeldahl en el análisis de proteína en harina de pescado* [Tesis de grado, Universidad Nacional Pedro Ruis Gallo].  
[https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/8771/Angeles\\_Millones\\_Jonathan\\_Jose.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/8771/Angeles_Millones_Jonathan_Jose.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Asociación de Comunidades Analíticas [AOAC] (2016). Proteína (cruda) en alimentos para animales, Forraje (tejido vegetal), cereales y semillas oleaginosas [Archivo PDF].  
<https://img.21food.cn/img/biaozhun/20100108/177/11285182.pdf>
- Auxcense, C. (2020). *Estabilización de un Suelo Granular con Mezclas de Polvo de Vidrio – Cal de Carburo - Hidróxido de Sodio (NaOH)* [Tesis de Grado, Universidad Federal de Rio Grande do Sul]. UNIVERSIDAD FEDERAL DE RIO GRANDE DO SUL.  
<https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/213507/001117809.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Baena, D. (2020). *Degradación catalítica y toxicidad de los colorantes rojo ponceau y naranja de metilo empleando la cepa bacteriana 1ms* [Tesis de grado, Universidad de Cartagena].  
<https://repositorio.unicartagena.edu.co/handle/11227/11659>
- Buenas Prácticas para Laboratorios Nacionales de Control Farmacéutico [BPLNCF], (2002). *Validación de métodos analíticos*. [Archivo PDF].  
[https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2008/13\\_Modulo\\_VALIDACION\\_de\\_Metodos\\_Fisicoqcos.pdf](https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2008/13_Modulo_VALIDACION_de_Metodos_Fisicoqcos.pdf)
- Bustamante, A. (2022). *Validación del método Kjeldahl para determinación del contenido de proteína en harinas y derivados de cereales de origen andino (quinua y amaranto)* [Tesis de Grado, Escuela Superior Politécnica del Litoral].  
<https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/56481/1/T-110370%20%20ANA%20CRISTINA%20BUSTAMANTE%20GAVILANES%20>

MAG%c3%8dSTER%20EN%20GESTI%c3%93N%20INTEGRAL%20DE%20LABORATORIOS%20DE%20QUIMICA.pdf

Cabrera, S. (2021). *Validación de métodos de ensayo para materia flotante, cloro residual, cloruros, alcalinidad, TPH, aceites y grasas en agua-suelo* [Tesis de grado, Universidad Central del Ecuador].  
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/23461/1/UCE-FIGEMPA-CABRERA%20SANDY.pdf>

Cardona, F. (2020). *Proteínas y aminoácidos en alimentos. Alteraciones*.  
<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/147154/Cardona%20-%20PROTE%c3%8dNAS%20Y%20AMINO%c3%81CIDOS%20EN%20ALIMENTOS.%20ALTERACIONES..pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Carmona, R. (2015). *Estudio comparativo de técnicas de extracción para la determinación de micotoxinas en alimentos* [Tesis de grado, Universidad de Jaén]. <https://crea.ujaen.es/handle/10953.1/2401>

Delgado, O. (2019). *Cómo realizar aseguramiento de la calidad empleando blancos de laboratorio. SGB LAB*.  
<https://sgc-lab.com/analisis-blancos-laboratorio/#:~:text=%C2%BFQu%C3%A9%20es%20un%20blanco%20de,procedimiento%20solo%20con%20los%20reactivos.>

Eurachem. (2005). *Métodos Analíticos Adecuados a su Propósito. Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Temas Relacionados. Revista Eurachem*, 1, 1-56.  
[https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV\\_guide\\_2nd\\_ed\\_ES.pdf](https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_ES.pdf)

García, E., Fernández, I y Fuentes, A. (2013). *Aplicación de la determinación de proteínas de un alimento por el método Kjeldahl, valoración con una base fuerte* [Tesis de grado, Universidad Politécnica de Valencia].  
<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/29832/proteinas%20medio%20b%c3%a1sico-%202013.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Google Earth. (2022). *Ubicación del laboratorio CESECCA (Centro de Servicios para el Control de la Calidad)*.  
[https://earth.google.com/web/search/Laboratorio+CESECCA+\(Centro+De+Servicios+Para+El+Control+De+La+Calidad\),+Manta/@-0.95147506,-80.74605738,54.92892591a,108.67190619d,35y,-68.98647345h,44.99397414t,0r/data=CrsBGpABEokBCiUweDkwMmJIMTZhZ](https://earth.google.com/web/search/Laboratorio+CESECCA+(Centro+De+Servicios+Para+El+Control+De+La+Calidad),+Manta/@-0.95147506,-80.74605738,54.92892591a,108.67190619d,35y,-68.98647345h,44.99397414t,0r/data=CrsBGpABEokBCiUweDkwMmJIMTZhZ)

GRIMDU2M2I6MHgzMDkxMmM1MTZhNjUyZDhkGZGALJ9Ac-6\_IXUrOki-L1TAKk5MYWJvcMf0b3JpbyBDRVNFQ0NBICHdZW50cm8gRGUgU2VydmljaW9zIFBhcmEgRWwgQ29udHJvbCBEZSBMYSBDYWxpZGFkKSwgTWFudGEYASABliYKJAm-iyMGDWPuvxHel\_PTiJbuvxkCPtprpy9UwCGQxJA4ATBUwA

Instituto Ecuatoriano de Normalización [INEN], (2013). *Carne y productos cárnicos definiciones*.

<https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte-inen-1217-2.pdf>

López, M. (2020). *Validación del método Kjeldahl para la determinación de nitrógeno total en suelos agrícolas del departamento de la paz* [Tesis de Grado, Universidad Mayor de San Andrés].

<https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/25691/T-2844.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

López, M., Lopez, A y Yujra, E. (2023). Evaluación de los parámetros de calidad para la determinación de nitrógeno total en suelos. *Revista De Investigación E Innovación Agropecuaria Y De Recursos Naturales*, 10(1), 37–43.

<https://doi.org/10.53287/tuov3244ge80j>

Mamani, J. (2020). *Validación del método analítico Kjeldahl para la determinación de nitrógeno mineral en suelos* [Tesis de grado, Universidad Mayor de San Andrés].

<https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/24908/T-2776.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Manzanera, I. (2019). *Validación*.

<https://www.praxisframework.org/es/knowledge/assurance>

Match, C (s.f). Validaciones de procesos de producción. *Qualipahrma*.

<https://www.qualipharmagroup.com/validaciones/validaciones-procesos-produccion#:~:text=El%20objetivo%20de%20la%20validaci%C3%B3n,a%20unas%20especificaciones%20de%20calidad>

Matovelle, D. (2016). *Optimización del uso de la harina de quinua (chenopodium quinoa) como sustituyente parcial de proteína en la elaboración del chorizo ahumado*. [Tesis de grado, Universidad de Cuenca].

<https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/23733/1/Tesis.pdf>

Mora, J. (2020). *Elaboración de chifles de plátano verde (musa paradisiaca) enriquecidos con polvo de cúrcuma (curcuma longa) como ingrediente antioxidante* [Tesis de grado, Universidad Agraria del Ecuador].

<https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/MORA%20SUAREZ%20JENNIFFER%20PAOLA.pdf>

Organización Internacional de Normalización [ISO], (2005). Norma Internacional ISO/IEC 17025. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración.

<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso-iec:17025:ed-2:v1:es>

Parada, I. (2021). Cómo preparar el indicador de pH verde de bromocresol.

*YuBrain*.

<https://www.yubrain.com/ciencia/quimica/como-preparar-el-indicador-de-ph-verde-de-bromocresol/>

Pérez, J., Pérez, C., Pontaza, I., Torres, D., Ariza, J., Valdez, I y Ramírez, E.

(2020). Revisión de la composición nutrimental y aditivos de los chorizos comerciales. *Educación y Salud Boletín Científico Instituto de Ciencias de la Salud Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*, 8(16), 135-139.

<https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/ICSA/article/view/5356/7211>

Pharmacius, (2021). Ácido bórico, Que es y usos. *Dietetica y Nutricion*.

<https://www.pharmacius.com/blog/dietetica-y-nutricion/acido-borico-que-es-usos-y-donde-comprarlo/>

Pimentel, K, y Zeballos, M. (2018). *Importancia de los laboratorios acreditados y su relación con el comercio exterior* [Tesis de grado, Universidad de Guayaquil].

<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/35692/1/IMPORTANCIA%20DE%20LOS%20LABORATORIOS%20ACREDITADOS%20Y%20SU%20RELACION%20CON%20EL%20COMERCIO%20EXTERIOR%20ECUATORIANO.pdf>

Pozo, O. (2020). *Desarrollo de una bebida a partir del almidón de yuca (Manihot esculenta) saborizada con maracuyá (Passiflora edulis)* [Tesis de grado, Universidad Politécnica Estatal del Carchi].

<http://190.15.129.74/bitstream/123456789/1003/1/023-%20POZO%20ORBE%20YAMILETH%20DANIELA.pdf>

Proain Tecnología Agrícola, (2020, noviembre 3). Aplicación del método

*kjeldahl*. *ProainShop*.

<https://proain.com/blogs/notas-tecnicas/aplicacion-del-metodo-kjeldahl#:~:text=El%20m%C3%A9todo%20es%20dividido%20en,%3A%20digesti%C3%B3n%20de%20destilaci%C3%B3n%20y%20titulaci%C3%B3n.&text=La%20muestra%20ya%20homogeneizada%20>

- Ramírez, S., Cruzata, R., Zorrilla, M., Jiménez, Y., Pérez, M., Cruz, Y., y Morera, E. (2018). Cuantificación de los contenidos de nitrato en aguas de pozo y aguas residuales con el empleo de electrodos selectivos. *Revista Cubana de Química*, 30(1), 131-142.  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2224-54212018000100011&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2224-54212018000100011&script=sci_arttext)
- Rodríguez, M. (2019). Desarrollo del método para analizar zinc, cobre y litio en aguas naturales y potables, estudiando el efecto matriz por espectrofotometría de absorción atómica en el L3C-EPMAPS [Tesis de grado, Universidad Central del Ecuador].  
<http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/18716>
- Rua, Leonardo. (s.f). Las etapas de digestión, destilación y titulación componen el método tradicional de determinación de nitrógeno. *Tecnal*.  
[https://tecnal.com.br/es/blog/86\\_las\\_etapas\\_de\\_digestion\\_destilacion\\_y\\_titulacion\\_componen\\_el\\_metodo\\_tradicional\\_de\\_determinacion\\_de\\_nitrogeno](https://tecnal.com.br/es/blog/86_las_etapas_de_digestion_destilacion_y_titulacion_componen_el_metodo_tradicional_de_determinacion_de_nitrogeno)
- Salazar, A. (2016). *Implementación del Método Kjeldahl para la determinación de proteína para diferentes matrices en el laboratorio ECUACHEMLAB CÍA. LTDA* [Tesis de grado, Universidad Técnica de Ambato].  
<http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/23816>
- Sáez, P., García, A y Martín, J. (2019). Una anotación sobre el método de Kjeldahl. *Real Academia Nacional de Farmacia*, 85(01), 14-19.  
[https://analesranf.com/articulo/8501\\_mrev01/](https://analesranf.com/articulo/8501_mrev01/)
- Servicio de Acreditación Ecuatoriano [SAE], (2016). *Lista de verificación de cumplimiento con los criterios de acreditación del SAE según la norma NTE INEN ISO/IEC 17025:2006 para laboratorios*.
- Servicio de Acreditación Ecuatoriano [SAE], (2022). *Guías r01 validación y/o verificación de métodos de ensayos en laboratorios clínicos*.  
<https://www.acreditacion.gob.ec/wp-content/uploads/2022/05/G03-R01-Guia-validacion-y-verificacion-metodos-ensayo-lab-clinicos.pdf>
- Suastegui, M. (2021). *Análisis del proceso de producción y comercialización de chifle en el cantón jipijapa* [Tesis de grado, Universidad Estatal del Sur de Manabí].  
<http://repositorio.unesum.edu.ec/bitstream/53000/3317/1/TESIS%20FINAL%20OMARLON%20SUASTEGUI%20GARCIA.pdf>

- Unipar. (2022). *Ácido clorhídrico*.  
<https://www.unipar.com/es/acido-cloridrico-es/#:~:text=El%20%C3%81cido%20Clorh%C3%ADrico%20es%20un,transporta%20en%20cisternas%20debidamente%20revestidas>.
- Vanegas, R. (2020). *Sistematización del proceso de gestión del cambio para el control del riesgo químico por manipulación del ácido sulfúrico en la empresa Colhilados* [Tesis de Grado, Corporación Universitaria Minuto De Dios].  
[https://repository.uniminuto.edu/bitstream/10656/16437/1/UVD%20T.SST\\_VanegasRuben\\_2020.pdf](https://repository.uniminuto.edu/bitstream/10656/16437/1/UVD%20T.SST_VanegasRuben_2020.pdf)
- Vásquez, J. (2020). *Análisis de la perspectiva de la acreditación conforme la norma ISO/IEC 17025 para el cumplimiento de los reglamentos técnicos ecuatorianos de alimentos* [Maestría, Universidad Andina Simón Bolívar].  
<https://repositorio.uasb.edu.ec/bitstream/10644/7931/1/T3415-MGCI-V%C3%A1squez-Analisis.pdf>
- Vilches, M., García, M y Raigón, M. (2018). Determinación de lisina y triptófano en muestras de chufa (*C. Esculentus L.*) de cultivo ecológico y convencional. *Sistemas agroalimentarios agroecológicos y cambio climático. Cooperativismo & Desarrollo*, 29(119), 1-33.  
[https://www.researchgate.net/profile/Ivan-Morales-Manzo/publication/351775292\\_OIDIO\\_Leveillula\\_taurica\\_Lev\\_Arn\\_ENFERMEDAD\\_EMERGENTE\\_POTENCIALMENTE\\_DANINA\\_EN\\_PIMIENTO\\_ECOLOGICO/links/60a8e540a6fdcc6d6266e4d6/OIDIO-Leveillula-taurica-Lev-Arn-ENFERMEDAD-EMERGENTE-POTENCIALMENTE-DANINA-EN-PIMIENTO-ECOLOGICO.pdf#page=557](https://www.researchgate.net/profile/Ivan-Morales-Manzo/publication/351775292_OIDIO_Leveillula_taurica_Lev_Arn_ENFERMEDAD_EMERGENTE_POTENCIALMENTE_DANINA_EN_PIMIENTO_ECOLOGICO/links/60a8e540a6fdcc6d6266e4d6/OIDIO-Leveillula-taurica-Lev-Arn-ENFERMEDAD-EMERGENTE-POTENCIALMENTE-DANINA-EN-PIMIENTO-ECOLOGICO.pdf#page=557)
- Zenteno, C. (2019). *Validación del método analítico para determinar proteína cruda en harina de quinua por MICRO KJELDAHL* [Maestría en bromatología, Universidad Mayor de San Andrés].  
<https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/25281/TM-1975.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Zumbado, H. (2020). *Análisis químico de los alimentos: métodos clásicos*. Editorial Universitaria del Ministerio de Educación Superior.  
[https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=GI\\_zDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP2&dq=An%C3%A1lisis+qu%C3%ADmico+de+los+alimentos:+m%C3%A9todos+cl%C3%A1sicos.&ots=BBxpNibGwT&sig=A8uJW7ByQIO5MBPZiuKHzVgGd5s#v=onepage&q=An%C3%A1lisis%20qu%C3%ADmico%20de%20los%20alimentos%3A%20m%C3%A9todos%20cl%C3%A1sicos.&f=false](https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=GI_zDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP2&dq=An%C3%A1lisis+qu%C3%ADmico+de+los+alimentos:+m%C3%A9todos+cl%C3%A1sicos.&ots=BBxpNibGwT&sig=A8uJW7ByQIO5MBPZiuKHzVgGd5s#v=onepage&q=An%C3%A1lisis%20qu%C3%ADmico%20de%20los%20alimentos%3A%20m%C3%A9todos%20cl%C3%A1sicos.&f=false)

## ANEXOS

### Anexo 1. Lista de verificación.

GUÍA DE OBSERVACIONES							
 <b>ESPAMMFL</b> ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ	 FACULTAD DE INGENIERÍA INDUSTRIAL <b>CESECCA</b>	<b>LABORATORIO CESECCA DE LA CIUDAD DE MANTA</b>					
<b>Nombre del evaluado:</b> Ing. Mario Zambrano, Mg Analista del área fisicoquímica del laboratorio				<b>Fecha:</b> 06/03/2023			
LISTA DE VERIFICACIÓN							
REQUISITOS	CUMPLIMIENTO						
	SI	NO	DI	DNI	NDA	NDNA	NA
REQUISITOS GENERALES QUE SE DEBEN CUMPLIR DENTRO DEL LABORATORIO BAJO LA NORMA NTE INEN ISO/IEC 17025:2018							
¿Está establecida en el Manual de Calidad la identidad jurídica del laboratorio?	X						
¿Se dispone de documentos (escrituras de constitución, decreto de creación) que definan la identidad legal del laboratorio?	X						
¿Se dispone de instrucciones actualizadas sobre el uso, manejo y transporte de los equipos y materiales de referencia que lo requieran, disponibles al personal del laboratorio?	X						
¿Se dispone de un listado actualizado de los equipos, material auxiliar y de referencia de que dispone el laboratorio para la realización de los ensayos/ calibraciones objeto de acreditación?	X						
¿Incluyen estas responsabilidades las de implementar, mantener y mejorar el Sistema de Gestión?	X						
¿Ha establecido el laboratorio medidas para garantizar la confidencialidad de la información obtenida de los ensayos y/o calibraciones, incluido un compromiso formal por escrito de respetar dichas medidas?	X						

¿Describe el Manual de Calidad la estructura de la documentación del Sistema?	X						
¿Están establecidas por escrito las políticas y objetivos del laboratorio en materia de calidad	X						
¿Se ha designado el personal autorizado para llevar a cabo la revisión y aprobación de los distintos documentos?	X						
¿Se mantiene un registro de las inspecciones/ verificaciones realizadas a los suministros, reactivos y productos consumibles para comprobar que se cumplen los requisitos establecidos?	X						
¿Existe un listado de la documentación de que disponga el laboratorio para la realización de ensayos/ calibraciones (normas, procedimientos), incluyendo fecha y número de revisión?	X						
¿Dispone el laboratorio de procedimientos/ normas de ensayo/ calibración para todos los trabajos incluidos en el alcance de la acreditación solicitada?	X						
En el caso de trabajar con normas, ¿se ha establecido la sistemática para adecuar su forma de trabajo a las nuevas revisiones de las mismas?	X						
¿Se ha establecido la sistemática (procedimiento de validación) para llevar a cabo la validación de los métodos?	X						
¿Cuenta el laboratorio con los equipos y materiales necesarios para la ejecución de los ensayos/ calibraciones?	X						
¿Se ha establecido la sistemática (procedimiento de validación) para llevar a cabo la validación de los métodos?	X						
¿Dispone el laboratorio de procedimientos adecuados para la estimación de la incertidumbre asociada a las calibraciones internas?	X						
¿Se dispone de un listado actualizado de los equipos, material auxiliar y de referencia de que dispone el laboratorio para la realización de los ensayos/ calibraciones objeto de acreditación?	X						
¿Ha comprobado el laboratorio que los diseños, calidades y precisiones de los equipos y software son los establecidos en los métodos de ensayo/ calibración?	X						
En caso de utilizar equipos o materiales alternativos, ¿existe un estudio comparativo?	X						

¿Se han identificado mediante etiqueta o similar los equipos que requieren calibración para indicar su estado de calibración?	X						
¿Se dispone de los materiales de referencia necesarios para la realización de los ensayos?	X						
¿Dispone el laboratorio de información completa de cada uno de los materiales de referencia utilizados?	X						
¿Se han establecido los criterios de aceptación y rechazo de los resultados de las calibraciones para cada uno de los equipos?	X						
¿Se llevan a cabo las calibraciones internas de acuerdo a instrucciones escritas adecuadas?	X						
¿Se conservan registros completos de las actividades de muestreo realizadas?	X						
¿Se dispone de documentos (¿escrituras de constitución, decreto de creación que definan la entidad legal o una parte definida de una entidad legal del laboratorio?	X						
¿Se tiene disponibilidad del personal, las instalaciones, el equipamiento, los sistemas y los servicios de apoyo necesarios para gestionar y realizar sus actividades de laboratorio?	X						
¿Son adecuadas las instalaciones y las condiciones ambientales para las actividades del laboratorio y no afectan adversamente a la validez de los resultados?	X						
¿Cuenta el laboratorio con un procedimiento para la manipulación, transporte, almacenamiento, uso y mantenimiento planificado del equipamiento para asegurar el funcionamiento apropiado y con el fin de prevenir contaminación o deterioro?	X						
¿El laboratorio usa métodos y procedimientos apropiados para todas las actividades de laboratorio y, cuando sea apropiado, para la evaluación de la incertidumbre de medición, así como también las técnicas estadísticas para el análisis de datos?	X						
¿Cuándo el cliente no especifica el método a utilizar, el laboratorio ha seleccionado un método apropiado e informado al cliente acerca del método elegido?	X						
Los resultados se deben revisar y autorizar antes de su liberación.	X						

Los resultados se deben suministrar de manera exacta, clara, inequívoca y objetiva, usualmente en un informe (por ejemplo, un informe de ensayo o un certificado de calibración o informe de muestreo), y deben incluir toda la información acordada con el cliente y la necesaria para la interpretación de los resultados y toda la información exigida en el método utilizado. Todos los informes emitidos se deben conservar como registros técnicos	X						
<b>EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA POR EL MÉTODO KJELDAHL</b>							
Digestor Kjeldahl	X						
Destilador Kjeldahl	X						
Balanza analítica	X						
Espátula	X						
Matraz erlenmeyer	X						
Papel libre de nitrógeno	X						
Bureta	X						
Probeta	X						
Soporte digital	X						
Tubos de digestión	X						
Pastilla Kjeldahl	X						
Ácido sulfúrico	X						
Ácido clorhídrico	X						
Ácido bórico	X						
Carbonato de sodio	X						
Indicador mixto	X						
Agua	X						

*Fuente.* Las autoras.

Revisado por:

Ing. Fernando Veloz, Mg  
**DIRECTOR CESECCA**

## **ANEXO 2.** Diagnóstico situacional en el laboratorio

CESECCA en el área fisicoquímica.



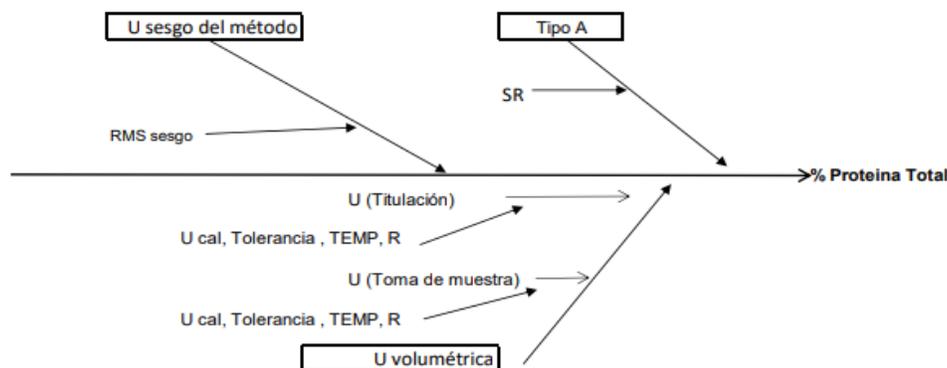
## **ANEXO 3.** Evaluación del equipo digestor para la determinación de proteína por el método Kjeldahl



### ANEXO 4. Resultados de los blancos

	DIAS REPLICAS	ANALISTA 1					ANALISTA 2				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
BLANCOS	1	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03
	2	0,03	0,04	0,04	0,03	0,03	0,04	0,03	0,04	0,03	0,03
	3	0,04	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03
	4	0,04	0,04	0,03	0,04	0,04	0,03	0,04	0,03	0,04	0,03
	5	0,03	0,03	0,04	0,04	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03	0,04

### ANEXO 5. Diagrama de Ishikawa



### ANEXO 6. Contribuciones de los equipos y materiales

Equipo:	u certificado	u T	u Resolución:	u Empuje	u dCl(Ccmáx-Ccmin)	u estándar
Probeta 100 mL QC-MV/132	0,003700	0,000000	0,577350		0,288675	0,645508
Pipeta de 10 mL QC-MV/136	0,001000	0,000000	0,057735		0,028868	0,064557
Dispensette mL QC-MV/135	0,001100	0,000000	0,057735		0,028868	0,064559
Bureta Digital QC-MV/200	0,003700	0,000000	0,005774		0,028868	0,029671
Balanza QC-EI/13	0,000210	0,000000	0,000058	0,000002	0,001155	0,001175

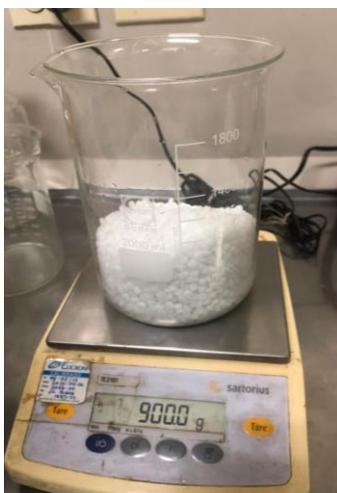
Equipo:	Cantidad usada durante el ensayo	u estándar	u relativa
Probeta 100 mL QC-MV/132	100	0,645508	0,006455
Pipeta de 10 mL QC-MV/136	10	0,064557	0,006456
Dispensette mL QC-MV/135	5	0,064559	0,012912
Dispensette mL QC-MV/135	1	0,064559	0,064559
Dispensette mL QC-MV/135	3	0,064559	0,021520
Pipeta de 10 mL QC-MV/136	5	0,064557	0,012911

## ANEXO 7. PREPARACIÓN DE REACTIVOS

### ANEXO 7-A. Preparación del ácido bórico



### ANEXO 7-B. Preparación del hidróxido de sodio



## ANEXO 8. PREPARACIÓN DE MUESTRAS

### ANEXO 8-A. Chifle



### ANEXO 8-B. Pan de almidón



### ANEXO 8-C. Chorizo



## **ANEXO 9. PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE NITRÓGENO TOTAL POR EL MÉTODO KJELDAHL**

### **ANEXO 9-A. Peso de la muestra**



**ANEXO 9-B.** Muestra colocada en el tubo de vidrio Büchi junto con la pastilla Kjeldahl



**ANEXO 9-C.** Adición del ácido sulfúrico



**ANEXO 9-D.** Digestión de las muestras en el equipo Digestor Kjeldahl



**ANEXO 9-E. Finalización de la etapa de digestión****ANEXO 9-F. Adición de agua destilada a cada tubo de digestión****ANEXO 9-G. Ácido bórico en un matraz Erlenmeyer**

**ANEXO 9-H.** Adición de 1 cm<sup>3</sup> de indicador mixto**ANEXO 9-I.** Erlenmeyer en el destilador y el tubo con la muestra en el lado izquierdo.**ANEXO 9-J.** Dosificación de la muestra con la adición del hidróxido de sodio.

**ANEXO 9-K.** Configuración para el proceso de destilación**ANEXO 9-L.** Recolección del amoníaco sobre la disolución de ácido bórico**ANEXO 9-M.** Valoración con ácido clorhídrico

### ANEXO 9-N. Viraje de la solución



### ANEXO 10. Análisis de varianza de las muestras alcanzadas a un mismo nivel

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,00649333	2	0,00324667	3,07255521	0,0836623	3,885293835
Dentro de los grupos	0,01268	12	0,00105667			
Total	0,01917333	14				

### ANEXO 11. Comparación de matrices

<b><i>Comparación de Matrices en base a la Distribución t de Student</i></b>			
	CHIFLE	PAN DE ALMIDON	CHORIZO
CHIFLE	Similar	Similar	Similar
PAN DE ALMIDON	Similar	Similar	Similar
CHORIZO	Similar	Similar	Similar

**ANEXO 12.** Certificado por parte del laboratorio al realizar el TIC.

**Uleam**  
UNIVERSIDAD LAICA  
ELOY ALFARO DE MANABÍ

*Laboratorio CE.SE.C.CA*

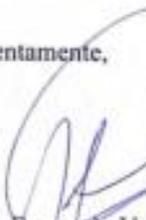
Manta, 31 de mayo del 2023.

## **CERTIFICADO**

A través del presente tengo a bien certificar que la **SRTA. ANCHUNDIA VEGA ARLETH ARIANNA** portador del número de cédula **080453439-4** realizó el proyecto tesis en el laboratorio del Centro de Servicios para el Control de la Calidad **CE.SE.C.CA** de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí con el tema: "Validación del método de proteína total en productos alimenticios (chifles, pan de almidón y chorizos) en el laboratorio CESECCA" realizado los días del 06 de marzo al 21 de abril del 2023, demostrando durante este tiempo responsabilidad, disciplina e interés en las tareas encomendadas.

Lo certifico en honor a la verdad, facultando a la interesada a dar al presente certificado el uso que convenga a sus intereses.

Atentamente,

  
Ing. Fernando Veloz Párraga, Mg  
DIRECTOR DEL CESECCA





Laboratorio CE.SE.C.CA

Manta, 31 de mayo del 2023.

## CERTIFICADO

A través del presente tengo a bien certificar que la **SRTA. GUZMÁN BURBANO NAHOMI DAYANNA** portador del número de cédula **135153126-2** realizó el proyecto tesis en el laboratorio del Centro de Servicios para el Control de la Calidad **CE.SE.C.CA** de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí con el tema: "Validación del método de proteína total en productos alimenticios (chifles, pan de almidón y chorizos) en el laboratorio CESECCA" realizado los días del 06 de marzo al 21 de abril del 2023, demostrando durante este tiempo responsabilidad, disciplina e interés en las tareas encomendadas.

Lo certifico en honor a la verdad, facultando a la interesada a dar al presente certificado el uso que convenga a sus intereses.

Atentamente,

  
Ing. Fernando Veloz Párraga, Mg  
DIRECTOR DEL CESECCA