

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA  
FACULTAD DE ECONOMÍA Y PLANIFICACIÓN**



**“VALIDACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE MINERALES:  
CALCIO, HIERRO, MAGNESIO, MANGANESO y ZINC, EN  
GALLETAS CON EL MÉTODO AOAC 985.35”**

**TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL  
PARA OPTAR EL TÍTULO DE  
INGENIERA ESTADÍSTICA E INFORMÁTICA**

**LESLIE LILIANA PALOMINO SALAZAR**

**LIMA – PERÚ**

**2021**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**FACULTAD DE ECONOMÍA Y PLANIFICACIÓN**

**“VALIDACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE MINERALES:  
CALCIO, HIERRO, MAGNESIO, MANGANESO y ZINC, EN  
GALLETAS CON EL MÉTODO AOAC 985.35”**

**PRESENTADO POR**

**LESLIE LILIANA PALOMINO SALAZAR**

**TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL PARA OPTAR EL  
TÍTULO DE INGENIERA ESTADÍSTICA E INFORMÁTICA**

**SUSTENTADA Y APROBADA ANTE EL SIGUIENTE JURADO**

.....  
**Dr. César Higinio Menacho Chiok**  
**Presidente**

.....  
**M.A. Fernando René Rosas Villena**  
**Asesor**

.....  
**Mg. Celso González Chavesta**  
**Miembro**

.....  
**Dr. Raphael Félix Valencia Chacón**  
**Miembro**

**Lima – Perú**  
**2021**

## **DEDICATORIA**

A mis padres, hermana y hermanos, quienes me apoyaron durante todos estos años en mi vida personal, académica y profesional.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios nuestro Divino Señor; al Divino Niño Jesús, al Señor de los Milagros y al Patrono San Isidro Labrador del Pueblo de Carampa - Victor Fajardo - Ayacucho, a todos ellos les agradezco desde el fondo de mi alma.

A mi familia por todo su apoyo incondicional en todo momento.

Al catedrático M.A. Fernando René Rosas Villena, por ser el asesor de mi Trabajo de Suficiencia Profesional, gracias a su apoyo, tiempo, orientación y paciencia, que me brindo en todo momento.

Gracias a todo el apoyo incondicional brindado por la Ing.Mg.Sc. Alejandrina Honorata Sotelo Méndez, directora ejecutiva del laboratorio de La Molina Calidad Total Laboratorios – UNALM, en el período de enero 2016 a enero 2021, gracias al conocimiento y a toda la experiencia adquirida durante los años que estuve laborando en la Oficina de Investigación y Desarrollo en el laboratorio, permitió el desarrollo y la culminación de mi Trabajo de Suficiencia Profesional.

A mis amistades y a todas aquellas personas que siempre me brindaron su apoyo en todo momento, para llevar a cabo el desarrollo y la culminación de mi trabajo.

## ÍNDICE GENERAL

I.	PRESENTACION.....	1
II.	INTRODUCCION .....	4
III.	OBJETIVOS .....	7
	3.1. Objetivo general .....	7
	3.2. Objetivos específicos.....	7
IV.	CUERPO DEL TRABAJO .....	8
	4.1. Funciones desempeñadas .....	8
	4.1.1. Funciones relacionadas con el proceso de validación .....	8
	4.1.2. Funciones relacionadas con los requisitos que exige INACAL .....	8
	4.1.3. Funciones relacionadas con la emisión de solicitudes e informes .....	9
	4.2. Puesta en práctica de lo aprendido en la carrera .....	9
	4.2.1. Definición .....	10
	4.2.2. Supuestos .....	10
	4.2.3. Aplicaciones del método de validación AOAC en otros productos alimenticios .....	29
	4.2.4. Validación de ensayo cuantitativo con el método AOAC 985.35 .....	30
	4.3. Contribución en la solución de situación problemática de la empresa.....	64
	4.4. La solución a la problemática empresarial .....	66
	4.4.1. Análisis de la contribución en términos de competencia y habilidades.....	66
	4.5. Nivel de beneficio obtenido por el centro laboral .....	68
V.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	69
	5.1. Conclusiones .....	69
	5.2. Recomendaciones.....	70
VI.	BIBLIOGRAFÍA .....	74

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1: Análisis de Varianza de un Diseño Factorial de dos Factores en Bloques Completos Aleatorizados.....	22
Tabla N° 2: Pruebas de comparación de medias de los efectos principales .....	26
Tabla N° 3: Pruebas de comparación de medias de los efectos simples .....	27
Tabla N° 4: Calcio .....	36
Tabla N° 5: Hierro .....	36
Tabla N° 6: Magnesio.....	36
Tabla N° 7: Manganeso .....	36
Tabla N° 8: Zinc .....	37
Tabla N° 9: Análisis de Variancia del Calcio.....	42
Tabla N° 10: Análisis de Variancia del Hierro.....	45
Tabla N° 11: Análisis de Variancia del Magnesio .....	47
Tabla N° 12: Análisis de Variancia del Manganeso transformado .....	54
Tabla N° 13: Linear Hypotheses: .....	56
Tabla N° 14: Linear Hypotheses: .....	56
Tabla N° 15: Temperaturas de cenizado de acuerdo a menor a mayor promedio.....	57
Tabla N° 16: Análisis de Variancia del Zinc transformado .....	63
Tabla N° 17: Robustez del Método a la Temperatura de Cenizado .....	64
Tabla N° 18: Nivel de beneficio .....	68

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1: Organigrama La Molina Calidad Total Laboratorios - UNALM.....	2
Figura N° 2: Gráfica de residuos contra el tiempo .....	18
Figura N° 3: Gráficos para probar los supuestos para el analito Calcio.....	37
Figura N° 4: Gráfico para la transformación para el analito Calcio.....	39
Figura N° 5: Gráficos para probar los supuestos para el analito Calcio transformado .....	40
Figura N° 6: Gráficos para probar los supuestos para el analito Hierro.....	43
Figura N° 7: Gráficos para probar los supuestos para el analito Magnesio .....	46
Figura N° 8: Gráficos para probar los supuestos para el analito Manganeso.....	49
Figura N° 9: Gráfico para la transformación del analito Manganeso.....	51
Figura N° 10: Gráficos para probar los supuestos para el analito Manganeso transformado.....	52
Figura N° 11: Gráficos para probar los supuestos para el analito Zinc.....	57
Figura N° 12: Gráfico para la transformación del analito Zinc.....	60
Figura N° 13: Gráficos para probar los supuestos para el analito Zinc transformado .....	61

## **I. PRESENTACION**

La Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM) es una institución de enseñanza superior regulada por la Ley Universitaria N° 30220, está orientada a la enseñanza, investigación y a la proyección social y extensión universitaria y está integrada por docentes, estudiantes y graduados.

La ley universitaria señala en su artículo 54 que las universidades están facultadas para poder constituir centros de producción de bienes y servicios teniendo como condición que estén relacionados con sus especialidades, áreas académicas o trabajos de investigación.

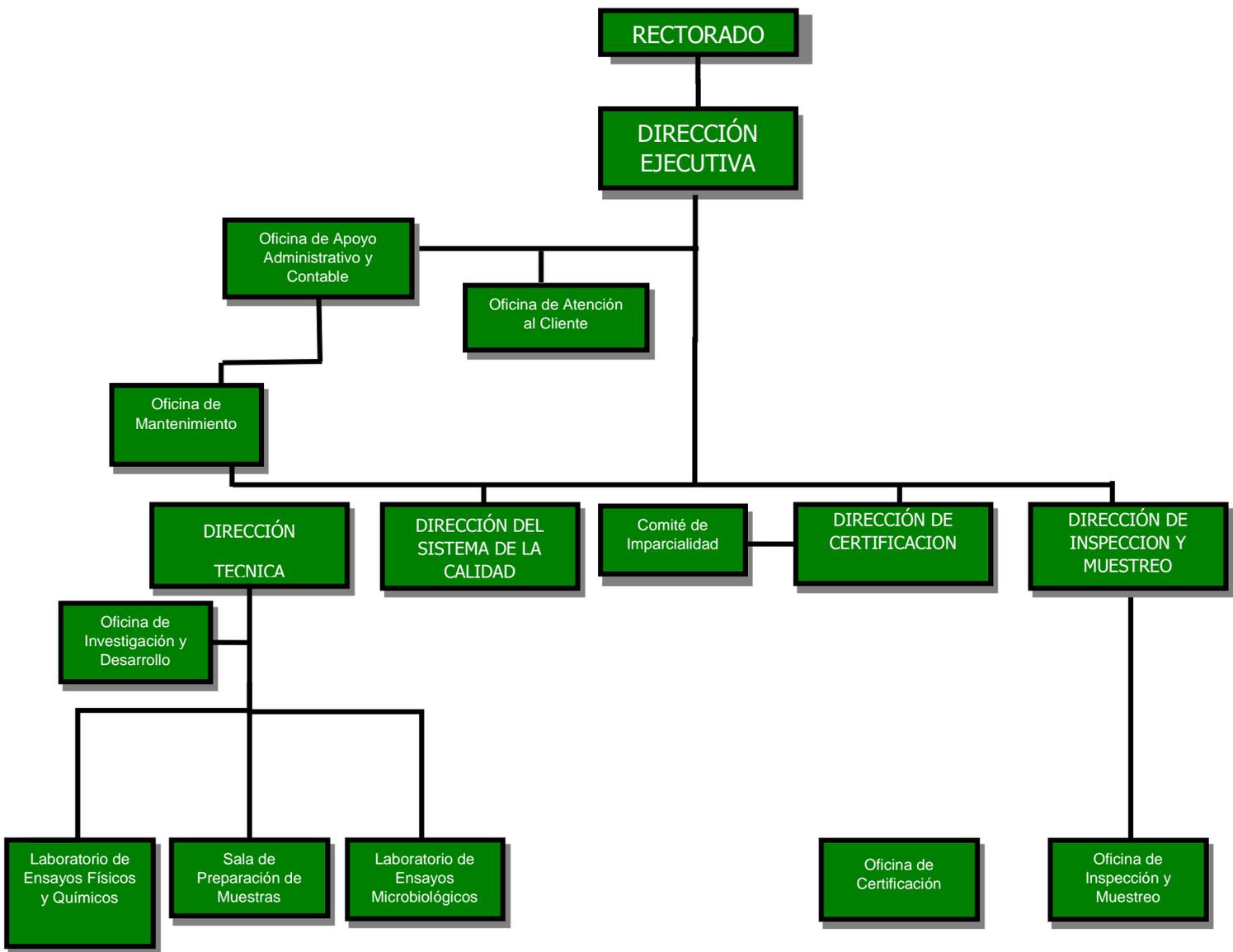
El Instituto de Certificación, Inspección y Ensayos La Molina Calidad Total Laboratorios se creó con Resolución N° 55278/UNA el 10 de marzo de 1995, teniendo como promotor a la Universidad Nacional Agraria La Molina.

Tiene como fin, realizar servicios de certificación, inspección y ensayos de laboratorio en cualquier campo de la actividad económica, asignándole las facultades necesarias para que desempeñe sus actividades y funciones con un elevado grado de autonomía, respecto a la gestión llevada a cabo en la organización universitaria.

Con fecha 27 de agosto del 2015, mediante Resolución N° 0257-2015-CU-UNALM, se modifica la denominación del instituto de La Molina Calidad Total Laboratorios a La Molina Calidad Total Laboratorios - Universidad Nacional Agraria La Molina Instituto de Certificación, Inspección y Ensayos (LMCTL-UNALM).

El tipo modelo de estructura organizacional que tiene actualmente LMCTL-UNALM es de tipo funcional (ver organigrama). Cuenta con cinco direcciones funcionales: (1) Dirección Ejecutiva, (2) Dirección Técnica, (3) Dirección del Sistema de la Calidad, (4) Dirección

Inspección y Muestreo, y (5) Dirección de Certificación. Realiza sus servicios en base al Sistema de Gestión de Calidad acreditado ante INACAL, la misma que considera las siguientes normas nacionales: NTP-ISO/IEC 17025:2017 “Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración”, NTP-ISO/IEC 17020:2012 “Requisitos para el Funcionamiento de los diversos tipos de Organismos que realizan Inspección” y NTP-ISO/IEC 17065:2013 “Requisitos para organismos que certifican productos, procesos y servicios”.



**Figura N° 1: Organigrama La Molina Calidad Total Laboratorios - UNALM**

FUENTE: LMCTL

Su infraestructura está diseñada para brindar servicios especializados, sus laboratorios están equipados con equipos modernos, su personal está conformado por profesionales altamente calificados y en constante capacitación. Asimismo, participa activamente en la definición y el desarrollo de normas técnicas peruanas, ya que nuestros profesionales pertenecen a los Comités Técnicos de INACAL, todos estos elementos mencionados y muchos otros más nos permiten optimizar los servicios solicitados por nuestros clientes.

Las funciones inherentes al cargo desempeñado como Jefa de la Oficina de Investigación y Desarrollo (OID) son las siguientes:

1. Organizar, dirigir, evaluar y controlar las actividades de la Oficina de Investigación y Desarrollo, con la finalidad de desarrollar y asegurar una adecuada gestión de los recursos puestos a su disposición.
2. Desarrollar, modificar, verificar y validar métodos de ensayo.
3. Dirigir en forma coordinada con la Dirección Técnica, la validación de métodos de ensayo.
4. Dirigir en forma coordinada con la Dirección Técnica y las Jefaturas del laboratorio, las actividades de cálculo de la incertidumbre de los métodos de ensayo.
5. Revisar los métodos analíticos en coordinación con la Dirección Técnica.
6. Asegurar la aplicación apropiada las técnicas, métodos analíticos y procedimientos, de forma de asegurar la validez, integridad y confiabilidad de los resultados.
7. Coordinar con los jefes de laboratorio el uso de las instalaciones y equipos para llevar a cabo sus investigaciones, pruebas para el cálculo de la incertidumbre, actividades relacionadas al aseguramiento de la validez de los resultados.
8. Establecer los procedimientos adecuados para el control de las operaciones y la aplicación de medidas correctivas, cuando lleve a cabo sus labores de investigación.
9. Velar por que se establezcan, conozcan y cumplan en su área las condiciones adecuadas de seguridad del trabajo durante el desarrollo de sus actividades.
10. Ejecutar las pruebas relacionadas al aseguramiento de la validez de los resultados de ensayos y la evaluación de la competencia técnica de los analistas y en base a dichos resultados presentar los informes correspondientes a la Dirección Técnica.
11. Coordinar con los proveedores de ensayos de aptitud e interlaboratorios los ensayos a realizarse.

## II. INTRODUCCION

La Molina Calidad Total Laboratorios (LMCTL–UNALM), es una institución que brinda servicios de certificación, inspección y ensayos de laboratorio basados en términos de confiabilidad, confidencialidad e imparcialidad que satisfagan las necesidades de nuestros clientes. Cuenta actualmente con la acreditación y el reconocimiento oficial de INACAL, de acuerdo con la normativa nacional para: Organismos de certificación de productos, de acuerdo a: NTP-ISO/IEC 17065:2013. “Requisitos para organismos que certifican productos, procesos y servicios”, Laboratorios de ensayo en las áreas de microbiológica, fisicoquímica y sensorial; de acuerdo a: NTP-ISO/IEC 17025:2017 “Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración” y Organismo de inspección y muestreo de acuerdo a: NTP-ISO/IEC 17020:2012 “Requisitos para el Funcionamiento de los diversos tipos de Organismo que realizan inspección”. Está autorizado para: Realizar la certificación de conformidad con valor oficial de productos en nuestros sectores acreditados, realizar análisis microbiológico, físico químico de productos en nuestros sectores acreditados y realizar actividades de inspección en los sectores acreditados.

LMCTL-UNALM realiza los siguientes ensayos: Ensayos Físico Químicos Acreditados, Ensayos Físico Químicos No Acreditados, Ensayos Microbiológicos Acreditados, Ensayos Microbiológicos No Acreditados, Ensayos de Inspección Acreditados, Ensayos de Inspección No Acreditados, Ensayos de Certificación Acreditados, y Ensayos de Certificación No Acreditados. También realiza servicios complementarios dirigidos a: (1) Tesistas de pregrado y posgrado: Análisis Físico Químico, Análisis Microbiológico, Análisis Sensoriales y Otros, (2) industria de alimentos: Análisis sensoriales de productos alimenticios, Pruebas de aceptabilidad, Ensayos para la obtención de registro sanitario nacional y de exportación de productos alimenticios, Ensayos para la elaboración de etiqueta nutricional, Aguas: Metales pesados, Colesterol en alimentos, Pruebas biológicas: Dosis letal media, Control microbiológico de ambientes, superficies inertes (utensilios y equipos)

y superficies vivas (manos de operarios) y (3) industria del papel y madera (Licitaciones): certificación de la calidad física (número de páginas, encuadernado, tipo de página, material de caratula etc.) y calidad gráfica (número de colores empleados, tipo de tinta, intensidad de tinta etc.), de acuerdo a normas técnicas nacionales o especificaciones del cliente, en: Libros (caratula, encuadernado, tipo de página, material de caratula, diarios, revistas y publicaciones periódicas al menos cuatro veces por semana, revistas y publicaciones periódicas públicas menos de cuatro veces por semana, pasta de papel, papel y cartón y artículos de papel y cartón, (4) certificación de calidad (acabado, contenido de humedad, número de elementos, tipo de madera etc.) de acuerdo a normas técnicas peruanas, en: industria de manufacturados de madera y muebles de oficina, vivienda, entre otros.

El proceso de validación que utiliza LMCTL-UNALM tiene como referencia, la validación hecha en el año 2016, al método AOAC 985.35 (2012) “Minerals in Infant Formula, Enteral Products, And Pet Food” y se realiza considerando el término del período de acreditación del Laboratorio.

En el proceso de la validación en la muestra galletas, en el método de ensayo AOAC 985.35 (2012), en el análisis de minerales: Calcio, Hierro, Magnesio, Manganeso y Zinc. El método es instrumental y se utiliza el equipo de absorción atómica.

En el procedimiento experimental se utiliza: (1) Equipos y materiales: Equipo de Absorción Atómica, marca AA240 FS, Mufla (calibrada a  $525^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ , Balanza Analítica, precisión 0,0001 g, Crisoles resistentes a  $600^{\circ}\text{C}$  y Material de vidrio, (2) Reactivos: Agua ( grado HPLC), Materiales de Referencia de: Calcio, Hierro, Magnesio, Manganeso y Zinc, Ácido nítrico (Ultrapuro), Oxido de Lantano ( $\text{La}_2\text{O}_3$ ) para uso de absorción atómica, Filtro libre de cenizas (opcional), (3) Preparación de la muestra y (4) Determinación.

El objetivo general de la memoria de trabajo de suficiencia profesional es validar la robustez del método para la determinación de minerales: Calcio, Hierro, Magnesio, Manganeso y Zinc, en galletas con el método AOAC 985.35.

La estructura interna de la memoria contiene los siguientes temas: (1) presentación, (2) introducción, (3) objetivos: general y específicos, (4) cuerpo del trabajo: funciones desempeñadas, puesta en práctica de lo aprendido en la carrera, contribución en la solución de situaciones problemáticas, análisis de la contribución en términos de competencias y habilidades y nivel de beneficio obtenido por el centro laboral, (5) conclusiones y recomendaciones, (6) referencias bibliográficas.

### **III. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo general**

Validar el método para la determinación de minerales: Calcio, Hierro, Magnesio, Manganeso y Zinc, en galletas con el método AOAC 985.35 en La Molina Calidad Total Laboratorios.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Describir la metodología de validación de los métodos para determinar minerales: Calcio, Hierro, Magnesio, Manganeso y Zinc, en galletas con el método AOAC 985.35 en La Molina Calidad Total Laboratorios.
- Determinar la robustez del método para la determinación de minerales: Calcio, Hierro, Magnesio, Manganeso y Zinc, en galletas con el método AOAC 985.35 en La Molina Calidad Total Laboratorios.

## **IV. CUERPO DEL TRABAJO**

### **4.1. Funciones desempeñadas**

Las funciones que realizo jefa Encargada de la Oficina de Investigación y Desarrollo (OID), de La Molina Calidad Total Laboratorio (LMCTL), son las siguientes:

#### **4.1.1. Funciones relacionadas con el proceso de validación**

1. Aplicación de la Norma Técnica Peruana NTP ISO/IEC 17025:2017 (Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración).
2. Aplicación de la Directriz para la Validación de Métodos de Ensayo. Código: DA-acr-20D, Versión: 00, Página: 1 de 7.
3. Elaboración del plan de validación del método AOAC 985.35 (2012).

#### **4.1.2. Funciones relacionadas con los requisitos que exige INACAL**

1. Participación en los ensayos de pruebas de aptitud, organizado por el INACAL o un laboratorio que se encuentra en el extranjero, tanto en los ensayos físico químicos, microbiológicos y aguas, los resultados que nuestros analistas reporten, serán enviados al laboratorio organizador de la prueba de aptitud, y luego este laboratorio emitirá un informe final en donde indique el valor del z-score, que obtuvo cada laboratorio que participo en la prueba de aptitud, y finalmente con el z-score que obtuvo nuestro laboratorio, se podrá concluir si nuestro analista es competente o no, en el ensayo(s) y en la matriz, en el que participo en la prueba de aptitud.
2. Programa la participación de LMCTL, en las pruebas de comparación de resultados con otro laboratorio acreditado ante INACAL, que se encuentra dentro o fuera de nuestro país, para así demostrar la competencia técnica de nuestros analistas, ya sea en los ensayos físicos químicos, microbiológicos y aguas.

3. Ejecución del plan de Validación del Método AOAC 985.35, o de otro método a validar.
4. Ejecución del Plan de Aseguramiento de la validez de los resultados en los ensayos físico químicos, microbiológicos y aguas.
5. Cálculo de la incertidumbre en los ensayos físico químico, microbiológico y aguas.
6. Control de las condiciones ambientales de los ambientes del laboratorio de: físico química, microbiología y aguas.

#### **4.1.3. Funciones relacionadas con la emisión de solicitudes e informes**

1. Elaboración mensual de los informes de condiciones ambientales de los ambientes del laboratorio de: físico química, microbiología y aguas.
2. Elaboración de las solicitudes de ensayo: físico químicos, microbiológicos y aguas, para participar en: prueba intralaboratorio, prueba de aptitud, plan de aseguramiento de la validez de los resultados, prueba de comparación de resultados, prueba de rutina, repetición de ensayo y muestra ciega.
3. Elaboración de los informes con los resultados y conclusiones finales, de los ensayos: físico químicos, microbiológicos y aguas, que se participó en: prueba intralaboratorio, prueba de aptitud, plan de aseguramiento de la validez de los resultados, prueba de comparación de resultados, prueba de rutina, repetición de ensayo y muestra ciega.
4. Elaboración del informe de la autorización de la competencia técnica de los analistas en los ensayos: físico químicos, microbiológicos y aguas.
5. Elaboración del informe final de la validación.
6. Elaboración del informe final del cálculo de la incertidumbre en los ensayos físico químicos, microbiológicos y aguas.

#### **4.2. Puesta en práctica de lo aprendido en la carrera**

Revisión Bibliográfica correspondiente a la aplicación de la técnica estadística del Diseño Factorial con Diseño de Bloques Completamente al Azar. Esta revisión comprende la revisión de literatura en los siguientes puntos:

### **4.2.1. Definición**

Según Gutiérrez y De la Vara (2012), por lo general, no es posible correr todos los tratamientos de un diseño factorial  $2^k$  bajo las mismas condiciones experimentales, es decir, durante la planeación del experimento aparece alguna restricción adicional que hace necesario considerar al menos un factor de bloque en el estudio.

El objetivo del experimento repartido en bloques es estudiar el efecto de los  $k$  factores sobre la respuesta y conocer la pertinencia de haberlo considerado.

Según Montgomery (2004), indica que la presencia de un factor perturbador puede hacer necesario que el experimento se corra en bloques. Indica la forma en que la formación de bloques puede incorporarse en un diseño factorial. Tiene en cuenta dentro de un bloque el orden en que se corren las combinaciones de los tratamientos está completamente aleatorizado. Por ejemplo, si el experimento factorial completo no pudo correrse en un día, cada día sería un bloque.

### **4.2.2. Supuestos**

#### **4.2.2.1. Supuestos de los Experimentos Factoriales**

Los experimentos factoriales como todos los diseños experimentales requieren del cumplimiento de supuestos para que se puedan aplicar. Los principales supuestos que se tiene que cumplir son: (1) distribución normal de los errores o de las observaciones de la variable en estudio, (2) homogeneidad de variancias y (3) independencia en los residuos.

Gutiérrez y De la Vara (2012), consideran que la validez de los resultados obtenidos en cualquier análisis de varianza queda supeditada a que los supuestos del modelo se cumplan. Estos supuestos son: normalidad, varianza constante (igual varianza de los tratamientos) e independencia. Esto es, la respuesta ( $Y$ ) se debe distribuir de manera normal, con la misma varianza en cada tratamiento y las mediciones deben ser independientes.

#### 4.2.2.2. Normalidad: Prueba de Shapiro-Wilks

Considérese una muestra aleatoria de datos  $x_1, x_2, \dots, x_n$  que procede de cierta distribución desconocida denotada por  $F(x)$ . y se quiere verificar si dichos datos fueron generados por un proceso normal, entonces sus hipótesis correspondientes son:

H<sub>p</sub>: Las observaciones provienen de una población con distribución normal

H<sub>a</sub>: Las observaciones no provienen de una distribución con distribución normal

En la prueba de Shapiro-Wilks, se consideran los siguientes pasos:

1. Se ordenan los datos de menor a mayor. Denotemos los datos ordenados por  $X_{(1)}, X_{(2)}, \dots, X_{(n)}$ .
2. De la tabla dada en el apéndice para este procedimiento se obtienen los coeficientes  $a_1, a_2, \dots, a_k$ , donde k es aproximadamente n/2.
3. Se calcula el estadístico W definido como:

$$W = \frac{1}{(n-1)S^2} \left[ \sum_{i=1}^k a_i (X_{(n-i+1)} - X_{(i)}) \right]^2$$

Donde  $S^2$  es la varianza muestral.

4. Por último, si el valor del estadístico es mayor que su valor crítico al nivel de significación  $\alpha$  seleccionado en la tabla del apéndice, se rechaza la normalidad de los datos.

#### 4.2.2.3. Normalidad: Prueba de Kolmogorov-Smirnov

Según García *et al.* (2013). Indican que la prueba de Kolmogorov-Smirnov, fue desarrollada en la década de los treinta del siglo XX, esta prueba permite al igual que la prueba Chi-cuadrada determinar la distribución de probabilidad de una serie de datos.

Una limitante de la prueba de Kolmogorov-Smirnov, consiste en que solamente se puede aplicar al análisis de variables continuas.

Sus hipótesis correspondientes son:

$H_0$ : Los datos siguen una distribución normal

$H_a$ : Los datos no siguen una distribución normal

En la prueba de Kolmogorov-Smirnov, se consideran los siguientes pasos:

1. Obtener al menos 30 datos de la variable aleatoria a analizar.
2. Calcular la media y la varianza de los datos.
3. Crear un histograma de  $m = \sqrt{n}$  intervalos, y obtener la frecuencia observada en cada intervalo  $O_i$ .
4. Calcular la probabilidad observada en cada intervalo  $PO_i = \frac{O_i}{n}$ , esto es, dividir la frecuencia observada  $O_i$  entre el número total de datos,  $n$ .
5. Acumular las probabilidades  $PO_i$  para obtener la probabilidad observada hasta el  $i$ -ésimo intervalo,  $POA_i$ .
6. Establecer de manera explícita la hipótesis nula, para esto se propone una distribución de probabilidad que se ajusta a la forma del histograma.
7. Calcular la probabilidad esperada acumulada para cada intervalo,  $PEA_i$ , a partir de la función de probabilidad propuesta.
8. Calcular el estadístico de prueba
$$c = \max |PEA_i - POA_i| \quad i = 1, 2, 3, \dots, k, \dots, m$$
9. Definir el nivel de significancia de la prueba  $\alpha$ , y determinar el valor crítico de la prueba,  $D_{\alpha, n}$  (consulta la tabla de valores críticos de la prueba de Kolmogorov-Smirnov).
10. Comparar el estadístico de prueba con el valor crítico. Si el estadístico de prueba es menor que el valor crítico no se puede rechazar la hipótesis nula.

#### 4.2.2.4. Normalidad: Prueba de Anderson-Darling

Según García *et al.* (2013). Mencionan que la prueba de Anderson-Darling, se dio a conocer en 1954. Esta prueba tiene como propósito corroborar si una muestra de variables aleatorias proviene de una población con una distribución de probabilidad específica. En realidad, se trata de una modificación de la prueba de Kolmogorov-Smirnov, aunque tiene virtud de detectar las discrepancias en los extremos de las distribuciones. La principal desventaja de la prueba de Anderson-Darling, consiste en que es necesario calcular los valores críticos para cada distribución. La prueba es muy sensible en los extremos de la distribución, por lo que debe usarse con mucho cuidado en distribuciones con el límite inferior acotado, y no es confiable para las distribuciones de tipo discreto.

Sus hipótesis correspondientes son:

$H_0$ : Los datos siguen una distribución normal

$H_a$ : Los datos no siguen una distribución normal

En la prueba de Anderson-Darling, se consideran los siguientes pasos:

1. Obtener  $n$  datos de la variable aleatoria a analizar.
2. Calcular la media y la varianza de los datos.
3. Organizar los datos en forma ascendente:  $Y_i \quad i = 1, 2, \dots, n$
4. Ordenar los datos en forma descendente.  $Y_{n+1-i} \quad i = 1, 2, \dots, n$
5. Establecer de manera explícita la hipótesis nula, al proponer una distribución de probabilidad.
6. Calcular la probabilidad esperada acumulada para cada número  $Y_i$ ,  $PEA(Y_i)$ , y la probabilidad esperada acumulada para cada número  $Y_{n+1-i}$ ,  $PEA(Y_{n+1-i})$ , a partir de la función de probabilidad propuesta.
7. Calcular el estadístico de prueba

$$A_n^2 = - \left[ n + \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (2i - 1) [\ln(PEA(Y_i)) + \ln(1 - PEA(Y_{n+1-i}))] \right]$$

8. Ajustar el estadístico de prueba de acuerdo con la distribución de probabilidad propuesta.
9. Definir el nivel de significancia de la prueba  $\alpha$ , y determinar su valor crítico,  $a_{\alpha,n}$ .
10. Comparar el estadístico de prueba con el valor crítico. Si el estadístico de prueba es menor que el valor crítico no se puede rechazar la hipótesis nula.

#### 4.2.2.5. Homogeneidad de Varianzas: Prueba de Bartlett

La prueba de Bartlett, se usará para evaluar, si más de 2 muestras presentan igualdad de varianzas (homocedasticidad), la contrastación de la homocedasticidad es indispensable en los datos, para luego realizar los análisis estadísticos correspondientes.

Gutiérrez y De la Vara (2012), consideran que se tienen k poblaciones o tratamientos independientes, cada uno con distribución normal ( $N(\mu_i, \sigma_i^2)$ ,  $i = 1, 2, \dots, k$ ), donde las varianzas son desconocidas.

Los supuestos que se tiene que cumplir son: las muestras provienen de distribución normal, las muestras son independientes y las muestras son tomadas al azar.

Gutiérrez y De la Vara (2012), consideran los siguientes pasos para aplicar la prueba de Bartlett son:

1. Planteamiento de las hipótesis

$$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \dots = \sigma_k^2 = \sigma^2$$

$$H_1: \sigma_i^2 \neq \sigma_j^2 \text{ para algún } i \neq j$$

2. Nivel de significación  $\alpha$

3. Se calcula el estadístico  $q$  definido como:

Donde:

Mediante un diseño completamente al azar se obtiene:

$k$  muestras aleatorias de tamaños  $n_i$  ( $i = 1, 2, \dots, k$ ).

Total de mediciones es  $N = n_1 + n_2 + \dots + n_k$ .

$S_i^2$ : varianza muestral del tratamiento  $i$ .

$$S_p^2 = \frac{\sum_{i=1}^k (n_i - 1) S_i^2}{N - k}$$

$$q = (N - k) \log_{10} S_p^2 - \sum_{i=1}^k (n_i - 1) \log_{10} S_i^2$$

$$c = 1 + \frac{1}{3(k-1)} \left( \sum_{i=1}^k (n_i - 1)^{-1} - (N - k)^{-1} \right)$$

$$X_0^2 = 2.3026 \frac{q}{c}$$

4. Finalmente, si el valor del estadístico  $X_0^2$  es mayor que su valor crítico  $X_{(\alpha, k-1)}^2$ , al nivel de significación  $\alpha$ , se rechaza la homogeneidad de varianzas.

La prueba de Bartlett que acabamos de describir es sensible a la falta de normalidad de las poblaciones de interés, por lo que debe comprobarse el cumplimiento de este supuesto (Gutiérrez y De la Vara, 2012).

#### 4.2.2.6. Homogeneidad de Variancias: Prueba de Levene

La prueba de Levene también es utilizada para probar la homogeneidad de variancias de  $K$  poblaciones a partir de  $K$  muestras extraídas aleatoriamente de dichas poblaciones.

Conover *et al.* (1981), citado por Kuehl (2001) compararon 56 pruebas y determinaron que la mejor es la prueba de Levene. Las hipótesis correspondientes a esta prueba son:

$$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \dots = \sigma_t^2$$

$H_1$ : *Algunas varianzas difieren*

En la prueba de Levene se consideran los siguientes pasos:

1. Calcular el análisis de varianza en un sentido para  $z_{ij}$ .
2. Se calcula el estadístico  $F_0$  definido como:

$$F_0 = \frac{CMT}{CME} = \frac{\sum_{i=1}^t r_i (\bar{z}_i - \bar{z})^2 / (t-1)}{\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^{r_i} (z_{ij} - \bar{z}_i)^2 / (N-t)}$$

3. Finalmente, si el valor del estadístico  $F_0$  es mayor que su valor crítico ( $F_{\alpha, (t-1), (N-t)}$ ), al nivel de significación  $\alpha$ , se rechaza la homogeneidad de varianzas.

#### 4.2.2.7. Homogeneidad de Variancias: Prueba F Máx

Hartley (1950), citado por Kuehl (2001), considera que existen varias pruebas estadísticas formales, son pruebas válidas de la homogeneidad de varianzas en los diseños totalmente aleatorizados cuando los tamaños de las muestras son iguales y las observaciones tienen una distribución normal. Una de las más sencillas es con estadístico de prueba F Máx la hipótesis nula probada con el estadístico F Máx es:

$$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \dots = \sigma_t^2$$

$H_1$ : *Algunas varianzas difieren*

La prueba de F Máx considera los siguientes pasos:

1. El estadístico de prueba  $F_0$  Máx, se calcula como la razón de la mayor varianza observada entre la menor, dentro de los grupos de tratamiento, es decir:

$$F_0 \text{ Máx} = \frac{\text{máx}(S_i^2)}{\text{mín}(S_i^2)}$$

Donde:

$máx(S_i^2)$  y  $mín(S_i^2)$  son las varianzas mayor y menor respectivas dentro de los grupos de tratamiento.

$F_\alpha Máx$  es el valor de la variable  $F Máx$  excedida, con una probabilidad  $\alpha$  para  $t$  grupos de tratamientos y  $v = (r - 1)$  grados de libertad para cada  $S_i^2$ .

2. Finalmente, si el valor del estadístico  $F_0 Máx$  es mayor que su valor crítico ( $F_\alpha Máx$ ), al nivel de significación  $\alpha$ , se rechaza la homogeneidad de varianzas.

#### 4.2.2.8. Independencia en los residuos: Prueba de Durbin-Watson

El supuesto de independencia significa que los resultados obtenidos en el experimento son independientes entre sí, esto significa que la elección de un resultado no condiciona a los resultados restantes.

Según Gutiérrez y De la Vara (2012), uno de los supuestos importantes sobre los residuos es que éstos son independientes. Para verificar tal suposición se suelen graficar los residuos contra el orden en el que se obtuvieron los datos. La suposición se cumple si los puntos en está gráfica no siguen ningún patrón bien definido, como alguna tendencia. Por el contrario, si el comportamiento de los puntos es aleatorio dentro de una banda horizontal, entonces el supuesto de independencia en los residuos.

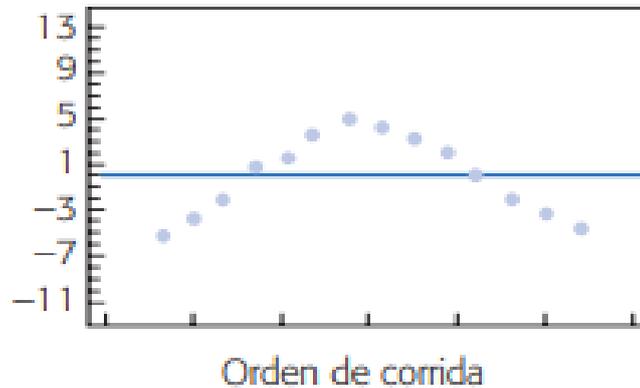
Considérese que esta prueba permite diagnosticar la presencia de correlación (autocorrelación) entre los residuos consecutivos (ordenados en el tiempo), que es una posible manifestación de la falta de independencia. La autocorrelación se presenta en experimentos en cuales cada medición tiene alguna contaminación de la medición inmediata anterior, lo cual contradice el supuesto de independencia. Sea  $\rho$  el parámetro que representa la correlación entre residuos consecutivos ( $\text{Corr}(e_t, e_{t-1}) = \rho; t = 2, 3, \dots, n$ ).

En la prueba de Durbin-Watson, las hipótesis correspondientes son:

$$H_0 : \rho = 0$$

$$H_1 : \rho > 0$$

Donde la alternativa se toma en el sentido mayor ( $>$ ) porque la autocorrelación positiva es la más frecuente en la práctica. En la gráfica de residuos contra el tiempo se observa autocorrelación positiva cuando los puntos caen encadenados como se muestra en la siguiente Figura:



**Figura N° 2: Gráfica de residuos contra el tiempo**

FUENTE: Gutiérrez y De la Vara (2012), Análisis y Diseño de Experimentos. pp. 70.

Por el contrario, cuando los puntos se van alternando de negativo a positivos la autocorrelación es negativa.

La prueba de Durbin-Watson considera los siguientes pasos:

1. Se calcula el estadístico  $d$ , para la hipótesis:

$$d = \frac{\sum_{i=2}^n (e_i - e_{i-1})^2}{\sum_i (e_i)^2}$$

Donde:

Los  $e_i, i = 1, 2, \dots, n$  son los residuos ordenados en el tiempo.

2. La decisión sobre la hipótesis dada, consiste en las siguientes reglas:

Si  $d < d_L$  Se rechaza  $H_0$

Si  $d < d_U$  No se rechaza  $H_0$

Si  $d_L \leq d \leq d_U$  Sin decisión

Donde  $d_L$  y  $d_U$ , son cotas que se leen en tablas dadas en el apéndice. Para entrar a las tablas se requiere el número de residuos  $n$ , el nivel de significación  $\alpha$  y  $p$ , que indica el número de variables explicativas o regresoras en el modelo.

En caso de interesar la hipótesis de autocorrelación negativa ( $H_1 : \rho < 0$ ), se utiliza el estadístico  $d' = 4 - d$ , donde  $d$  se calcula con la ecuación ya indicada. En caso de interesar la hipótesis bilateral con alternativa  $H_1 : \rho \neq 0$ , se combinan las dos pruebas unilaterales de tamaño  $\alpha$  de manera que la prueba bilateral tenga el tamaño deseado  $2\alpha$ .

La prueba de Durbin-Watson tiene el inconveniente de detectar sólo la estructura de correlación de residuos consecutivos. No detecta correlaciones entre residuos no consecutivos en el tiempo que también violan el supuesto de independencia. Este tipo de correlación ocurre en un experimento cuando la contaminación de una medición a otra no se refleja de inmediato, sino que actúa con retardo.

**Modelo Aditivo Lineal:**

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \gamma_k + \varepsilon_{ijk}$$

$i = 1, 2, \dots, p$        $p$ : Número de niveles del factor A

$j = 1, 2, \dots, q$        $q$ : Número de niveles del factor B

$k = 1, 2, \dots, b$        $b$ : Número de bloques

Donde:

$Y_{ijk}$  es la cuantificación de los minerales (Ca, Fe, Mg, Mn y Zn) en mg/kg obtenido con el  $i$ -ésima del factor A,  $j$ -ésima del factor B,  $k$ -ésimo del bloque.

$\mu$  es el efecto de la media general.

$\alpha_i$  es el efecto de la  $i$ -ésima del factor A.

$\beta_j$  es el efecto del  $j$ -ésima del factor B.

$(\alpha\beta)_{ij}$  es el efecto de la interacción en la  $i$ -ésima del factor A,  $j$ -ésima del factor B.

$\gamma_k$  es el efecto del  $k$ -ésimo bloque.

$\varepsilon_{ijk}$  es error experimental en el  $i$ -ésima del factor A,  $j$ -ésima del factor B,  $k$ -ésimo bloque.

#### 4.2.2.9. Metodología del Experimento Factorial

Según Ríos (2012), la metodología del Experimento Factorial toma en cuenta los siguientes pasos:

1. Formulación del problema.
2. Formulación de las hipótesis.
3. Selección del Diseño Experimental.
4. Estadísticos que se les aplicará, para asegurar que se satisfagan las condiciones necesarias para que sean válidos estos procedimientos.
5. Pruebas de comparación de medias de un experimento factorial DBCA.

Paso 1:

Formulación del problema: durante la validación del método de la AOAC 985.35, en la matriz galletas, se consideró la variación de la temperatura de cenizado, debido a que el tiempo del tratamiento es bastante largo y se estudió el efecto de este parámetro en los resultados finales. La temperatura de cenizado establecida por el método es de 525°C, por lo que se evaluaron otras dos temperaturas: 500 °C y 600 °C.

Paso 2:

1. Formulación de las Hipótesis: mediante la robustez, que significa pequeñas variaciones en el procedimiento, lo que se busca es determinar si existe una diferencia significativa con el cambio de temperatura en el cenizado en los resultados.
2. Selección del Diseño Experimental: se eligió un Diseño Factorial con Diseño de Bloques Completos al Azar.

Los factores que se estudiaron fueron:

El factor A

Niveles del factor A:  $a_1$ ,  $a_2$  y  $a_3$ .

El factor B

Niveles del factor B:  $b_1$ ,  $b_2$  y  $b_3$

Variable respuesta: Cuantificación en cada uno de los analitos, estos son: calcio hierro, magnesio, manganeso y zinc.

## Bloque

El modelo aditivo lineal es:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \gamma_k + \varepsilon_{ijk}$$

$$i = 1, 2, \dots, p \quad p: \text{Número de niveles del factor A}$$

$$j = 1, 2, \dots, q \quad q: \text{Número de niveles del factor B}$$

$$k = 1, 2, \dots, b \quad b: \text{Número de bloques}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  es la cuantificación de los minerales (Ca, Fe, Mg, Mn y Zn) en mg/kg obtenido con el  $i$ -ésima del factor A,  $j$ -ésima del factor B,  $k$ -ésimo del bloque.

$\mu$  es el efecto de la media general.

$\alpha_i$  es el efecto de la  $i$ -ésima del factor A.

$\beta_j$  es el efecto del  $j$ -ésima del factor B.

$(\alpha\beta)_{ij}$  es el efecto de la interacción en la  $i$ -ésima del factor A,  $j$ -ésima del factor B.

$\gamma_k$  es el efecto del  $k$ -ésimo bloque.

$\varepsilon_{ijk}$  es error experimental en el  $i$ -ésima del factor A,  $j$ -ésima del factor B,  $k$ -ésimo bloque.

3. Estadísticos que se les aplicará, para asegurar que se satisfagan las condiciones necesarias para que sean válidos estos procedimientos.

El Análisis de Varianza, es una de las técnicas estadísticas más empleadas, para los análisis de datos de los diseños experimentales, se usa con la finalidad para comprobar si existen diferencias significativas entre: el efecto principal de A (tipo de muestra), el efecto principal de B (Temperatura de cenizado), el efecto principal de AB (Tipo de muestra x Temperatura de cenizado) (Ríos, 2012).

**Tabla N° 1: Análisis de Varianza de un Diseño Factorial de dos Factores en Bloques Completos Aleatorizados**

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	$F_0$
Bloques	b-1	SC(Bloques)	CM(Bloques)=SC(Bloques)/ b-1	CM(Bloques)/(CM(Error))
A	p-1	SC(A)	CM(A)=SC(A)/ p-1	CM(A)/(CM(Error))
B	q-1	SC(B)	CM(B)=SC(B)/ q-1	CM(B)/(CM(Error))
AB	(p-1)(q-1)	SC(AB)	CM(AB)=SC(AB)/ (p-1)(q-1)	CM(AB)/(CM(Error))
Error	(pq-1)(b-1)	SC(Error)	CM(Error)=SC(Error)/(pq-1)(b-1)	
Total				

FUENTE: Guía del curso de Métodos Estadísticos para la Investigación I - UNALM (2019)

#### 4.2.2.10. Análisis de Varianza

Donde:

p: Número de niveles del factor A.

q: Número de niveles del factor B.

b: Número de bloques

$$SC(Total) = \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^q \sum_{k=1}^b Y_{ijk}^2 - \frac{Y_{...}^2}{pqb}$$

$$SC(Comb. AB) = \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^q \frac{Y_{ij.}^2}{b} - \frac{Y_{...}^2}{pqb}$$

$$SC(A) = \sum_{i=1}^p \frac{Y_{i..}^2}{qb} - \frac{Y_{...}^2}{pqb}$$

$$SC(B) = \sum_{j=1}^q \frac{Y_{.j.}^2}{pb} - \frac{Y_{...}^2}{pqb}$$

$$SC(AB) = SC(Comb. AB) - SC(A) - SC(B)$$

$$SC(Bloques) = \sum_{k=1}^b \frac{Y_{..k}^2}{pq} - \frac{Y_{...}^2}{pqb}$$

$$SC(Error) = SC(Total) - SC(Comb. AB) - SC(Bloques)$$

### Prueba de hipótesis de la interacción AB

1. Planteamiento de hipótesis

$$H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0, \quad i = 1, 2, \dots, p \quad ; j = 1, 2, \dots, q$$

$$H_1: (\alpha\beta)_{ij} \neq 0, \quad \text{para al menos algún } i, j$$

2. Nivel de significación  $\alpha$

3. Estadístico de prueba

Para el efecto de la interacción AB:

$$F_c = \frac{CM(AB)}{CM(Error)} \sim F_{crítico} = F_{(1-\alpha, gl(AB), gl(Error))}$$

4. Criterio de Decisión:

$F_c > F_{crítico}$  , entonces se rechaza  $H_0$ .

$F_c < F_{crítico}$  , entonces no se rechaza  $H_0$ .

5. Conclusión

$F_c > F_{crítico}$  , entonces se rechaza  $H_0$ . A un nivel de significación  $\alpha$ , existe suficiente evidencia estadística para afirmar existe interacción entre el factor A y el factor B, por lo tanto será necesario efectuar un análisis de efectos simples de los factores.

$F_c < F_{crítico}$  , entonces no se rechaza  $H_0$ . A un nivel de significación  $\alpha$ , no existe suficiente evidencia estadística para afirmar existe interacción entre el factor A y el factor B, por lo tanto será necesario efectuar un análisis de efectos principales de los factores.

Pruebas de hipótesis para los efectos principales:

## Efecto principal de A

1. Planteamiento de hipótesis

$$H_0: \alpha_i = 0, \quad i = 1, 2, \dots, p.$$

$$H_1: \alpha_i \neq 0, \quad \text{para al menos algún } i$$

2. Nivel de significación  $\alpha$

3. Estadístico de prueba

Para el efecto principal de A

$$F_c = \frac{CM(A)}{CM(Error)} \sim F_{crítico} = F_{(1-\alpha, gl(A), gl(Error))}$$

4. Criterio de Decisión:

$$F_c > F_{crítico}, \quad \text{entonces se rechaza } H_0.$$

$$F_c < F_{crítico}, \quad \text{entonces no se rechaza } H_0.$$

5. Conclusión

$F_c > F_{crítico}$ , entonces se rechaza  $H_0$ . A un nivel de significación  $\alpha$ , existe suficiente evidencia estadística para afirmar que al menos una de las muestras se obtiene diferencias en la cuantificación del analito.

$F_c < F_{crítico}$ , entonces no se rechaza  $H_0$ . A un nivel de significación  $\alpha$ , no existe suficiente evidencia estadística para afirmar que al menos una de las muestras se obtiene diferencias en la cuantificación del analito.

## Efecto principal de B

1. Planteamiento de hipótesis

$$H_0: \beta_j = 0, \quad j = 1, 2, \dots, q$$

$$H_1: \beta_j \neq 0, \quad \text{para al menos algún } j$$

2. Nivel de significación  $\alpha$
3. Estadístico de prueba

Para el efecto principal de B

$$F_c = \frac{CM(B)}{CM(Error)} \sim F_{crítico} = F_{(1-\alpha, gl(B), gl(Error))}$$

4. Criterio de Decisión:

$F_c > F_{crítico}$  , entonces se rechaza  $H_0$ .

$F_c < F_{crítico}$  , entonces no se rechaza  $H_0$ .

5. Conclusión

$F_c > F_{crítico}$  , entonces se rechaza  $H_0$ . A un nivel de significación  $\alpha$ , existe suficiente evidencia estadística para afirmar que al menos una de las temperaturas de cenizado se obtiene diferencias en la cuantificación del analito.

$F_c < F_{crítico}$  , entonces no se rechaza  $H_0$ . A un nivel de significación  $\alpha$ , no existe suficiente evidencia estadística para afirmar que al menos una de las temperaturas de cenizado se obtiene diferencias en la cuantificación del analito.

### **Prueba de Comparación de Tukey**

Esta prueba es apropiada para realizar todas las combinaciones de medias por pares los tratamientos. Si el experimento tiene  $t$  tratamientos, para determinar el número total de hipótesis a analizar, se calcula mediante:  $C_2^t$ .

Los supuestos que tiene que cumplir son:

1. Los errores son variables aleatorias independientes.
2. Los errores tienen distribución normal  $(0, \sigma^2)$ .
3. La prueba F del ANVA no es necesario que sea significativa.

**Tabla N° 2: Pruebas de comparación de medias de los efectos principales**

Prueba	Factor A	Factor B
Tukey	$S_d = \sqrt{\frac{CME}{qb}}$	$S_d = \sqrt{\frac{CME}{pb}}$

FUENTE: Guía del curso de Métodos Estadísticos para la Investigación I - UNALM (2019)

En la prueba de Tukey, se consideran los siguientes pasos:

### Efecto principal de A

1. Planteamiento de las hipótesis

$$H_0: \mu_i = \mu_j \quad \forall i \neq j \quad i, j = 1, 2, \dots, t$$

$$H_1: \mu_i \neq \mu_j$$

2. Nivel de significación  $\alpha$

3. Estadístico de prueba

$$ALS(T) = AES(T) \sqrt{\frac{CME}{qb}}$$

Donde:

ALS(T): Amplitud Límite Significativa de Tukey.

AES(T): Amplitud estudiantizada significativa de Tukey.

$$AES(T) = (\alpha, gl(t), gl(error))$$

4. Criterio de Decisión

$$|\bar{Y}_i - \bar{Y}_l| > ALS(T) \text{ entonces se rechaza } H_0$$

$$|\bar{Y}_i - \bar{Y}_l| < ALS(T), \text{ entonces no se rechaza } H_0.$$

## 5. Conclusión

### Efecto principal de B

#### 1. Planteamiento de las hipótesis

$$\begin{aligned} H_0: \mu_i &= \mu_j & \forall i \neq j & \quad i, j = 1, 2, \dots, t \\ H_1: \mu_i &\neq \mu_j \end{aligned}$$

#### 2. Nivel de significación $\alpha$

#### 3. Estadístico de prueba

$$ALS(T) = AES(T) \sqrt{\frac{CME}{pb}}$$

Donde:

ALS(T): Amplitud Límite Significativa de Tukey.

AES(T): Amplitud estudiantizada significativa de Tukey.  $AES(T) = (\alpha, gl(t), gl(error))$

#### 4. Criterio de Decisión

$$\begin{aligned} |\bar{Y}_i - \bar{Y}_l| &> ALS(T) \text{ entonces se rechaza } H_0 \\ |\bar{Y}_i - \bar{Y}_l| &< ALS(T), \text{ entonces no se rechaza } H_0. \end{aligned}$$

## 5. Conclusión

**Tabla N° 3: Pruebas de comparación de medias de los efectos simples**

Prueba	Factor A en $b_j$	Factor B en $a_i$
Tukey	$S_d = \sqrt{\frac{CME}{b}}$	$S_d = \sqrt{\frac{CME}{b}}$

FUENTE: Guía del curso de Métodos Estadísticos para la Investigación I - UNALM (2019)

## Efecto principal de A en $b_j$ (UNALM, 2019)

1. Planteamiento de las hipótesis

$$H_0: \mu_i = \mu_j \quad \forall i \neq j \quad i, j = 1, 2, \dots, t$$
$$H_1: \mu_i \neq \mu_j$$

2. Nivel de significación  $\alpha$

3. Estadístico de prueba

$$ALS(T) = AES(T) \sqrt{\frac{CME}{b}}$$

Donde:

ALS(T): Amplitud Límite Significativa de Tukey.

AES(T): Amplitud estudiantizada significativa de Tukey.

AES(T) =  $(\alpha, gl(t), gl(error))$

4. Criterio de Decisión

$$|\bar{Y}_i - \bar{Y}_l| > ALS(T), \text{ entonces se rechaza } H_0$$

$$|\bar{Y}_i - \bar{Y}_l| < ALS(T), \text{ entonces no se rechaza } H_0.$$

5. Conclusión

## Efecto principal de B en $\alpha_i$

1. Planteamiento de las hipótesis

$$H_0: \mu_i = \mu_j \quad \forall i \neq j \quad i, j = 1, 2, \dots, t$$
$$H_1: \mu_i \neq \mu_j$$

2. Nivel de significación  $\alpha$

3. Estadístico de prueba

$$ALS(T) = AES(T) \sqrt{\frac{CME}{b}}$$

Donde:

ALS(T): Amplitud Límite Significativa de Tukey.

AES(T): Amplitud estudiantizada significativa de Tukey.

AES(T) =  $(\alpha, gl(t), gl(error))$

4. Criterio de Decisión

$|\bar{Y}_i - \bar{Y}_l| > ALS(T)$  entonces se rechaza  $H_0$

$|\bar{Y}_i - \bar{Y}_l| < ALS(T)$ , entonces no se rechaza  $H_0$ .

5. Conclusión

#### 4.2.3. Aplicaciones del método de validación AOAC en otros productos alimenticios

##### Aplicación 1:

En un estudio realizado por Ramos (2018), en la determinación de ocho elementos minerales: sodio, potasio, calcio, magnesio, zinc, hierro, cobre y manganeso minerales en catorce especies de pescados continentales ecuatorianos se aplicó la prueba de espectrofotometría de absorción atómica de llama.

Se recolectaron las muestras de pescados en tres mercados de alto flujo comercial en el Ecuador Mercado Santa Clara en Quito, Mercado del Río en Babahoyo y Mercado la Mariscal en Puyo; las muestras se procesaron para obtener la porción comestible y se digestaron mediante un sistema cerrado asistido por microondas con ácido nítrico. Se analizó la información con las siguientes pruebas estadísticas: media, prueba estadística de Dixon, prueba de Rangos Múltiples.

### **Aplicación 2:**

En un estudio realizado por Dávila (2015), en la determinación de cinco elementos minerales: sodio, potasio, calcio, hierro y zinc en tres leguminosas: garbanzo, soya y dos variedades de maní, (maní caramelo o peruano y maní negro o virginia) se aplicó la prueba de absorción atómica de llama, En los parámetros estudiados se utilizaron los métodos descritos en la 18ª edición de Official Methods of Analysis of AOAC International (Association Of Official Analytical Chemists).

El estudio se inició con un muestro aleatorio simple en los principales mercados populares y supermercados de la ciudad de Quito. Las muestras fueron preparadas, digestadas por vía seca y analizadas por espectrofotometría de absorción atómica. Posteriormente se realizó el respectivo tratamiento estadístico: media aritmética, desviación estándar, Prueba T-Student, el Análisis de Varianza (ANOVA), la Prueba DHS de Tukey.

### **Aplicación 3:**

En un estudio ejecutado por Pavón (2014), en la de determinación de cuatro elementos minerales: calcio, hierro, sodio y potasio en cinco variedades de fréjol: canario, bayo, blanco, rojo y negro, se aplicó la prueba de espectrofotometría de absorción atómica de llama. En los parámetros estudiados se utilizaron los métodos descritos en la 18ª edición de Official Methods of Analysis of AOAC International (Association Of Official Analytical Chemists).

En el estudio se aplicó un muestreo aleatorio en cinco lugares diferentes de la ciudad de Quito: supermercados y mercados populares. En todos los parámetros analizados se utilizó únicamente fréjol de grano seco. Se determinó el contenido de humedad utilizando el método oficial 32.1.03, la determinación de hierro se realizó usando el método 999.10, mientras que, para la determinación de calcio, potasio y sodio se usó el método 985.35. En el tratamiento de la información se aplicaron las siguientes pruebas estadísticas: media, desviación estándar, prueba T de Student, análisis de varianza y prueba de Tukey.

#### **4.2.4. Validación de ensayo cuantitativo con el método AOAC 985.35**

Informe de Validación del Método AOAC 985.35 (2012):

## Contenido

1. Objetivos
2. Campo de aplicación
3. Diseño experimental
  - 3.1 Procedimiento experimental
  - 3.2 Preparación de la muestra
  - 3.3 Determinación
4. Robustez
  - 4.1 Efecto de la Temperatura de cenizado
5. Efecto de la longitud de onda. Conclusiones
6. Análisis Estadístico de la Robustez (Temperatura de Cenizado).

### 1. Objetivos

- a. Validar el método AOAC 985.35 (2012).
- b. Verificar la robustez (Efecto de Temperatura de cenizado) realizado en el estudio de validación del método analítico AOAC Official Method 985.35 “Minerals in Infant Formula, Enteral Products, and Pet Foods”., para la determinación de los minerales: Calcio, Hierro, Magnesio, Mangneso y Zinc, mediante la espectrofotometría de absorción atómica.
- c. Verificar la robustez del método con respecto al parámetro operacional del equipo de absorción atómica que es la longitud de onda.

### 2. Campo de aplicación

El presente método se ha validado para la determinación de Calcio, Hierro, Magnesio, Manganeso y Zinc por espectrometría de absorción atómica en la matriz Galletas.

### 3. Diseño experimental

Fundamento la matriz orgánica es llevado a digestión seca por cenizado en una mufla. El residuo es disuelto en ácido diluido y el analito es cuantificado por espectrofotometría de absorción atómica.

### 3.1. Procedimiento experimental

El experimento será realizado por el mismo analista empleando el mismo equipo, aparatos y reactivos químicos. Se dispuso de muestras – matrices estables, homogéneas y en la cantidad suficiente para ser utilizado a lo largo de estudio de validación. Se establecieron las siguientes condiciones.

#### 3.1.1. Equipos y Materiales

- Equipo de Absorción Atómica, marca AA240 FS.
- Mufla con control de temperatura en el rango de 250 a 600 °C (calibrada a 525 °C ± 10 °C).
- Balanza analítica con precisión de 0,0001 g.
- Crisoles resistentes a temperaturas de 600 °C.
- Material de vidrio tratado con remojo en ácido nítrico al 20% toda la noche y enjuagado con agua destilada o 18 MΩ de resistencia.

#### 3.1.2. Reactivos

- Agua grado HPLC, para la preparación de las soluciones estándar.
- Soluciones estándar de referencia certificados para absorción atómica.
- Ácido nítrico ultrapuro.
- Oxido de Lantano (La<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) de uso para absorción atómica.
- Filtro libre de ceniza (opcional).
- Solución de cloruro de Lantano, preparado según el método. La solución es estable por 6 meses a condiciones ambientales.

### 3.2. Preparación de la muestra

A fin de tener una muestra representativa, se muele y homogeneiza la muestra pasando por un tamiz N° 20. Se pesa una cantidad mayor o igual a 1,5 g de muestra tratada en un crisol tarado, dependiendo de la concentración del mineral presente en la muestra. Luego se procede como lo indica el método, el cual se describe a continuación. Se coloca la muestra en una plancha y secar hasta la formación de humo. Se coloca en la mufla a 525 °C (evitando la ignición) hasta obtener cenizas blancas. El tratamiento por lo general es largo, de 3 a 5 horas, pero debe ser menor de 8 horas. Se retira el crisol de la mufla y deja enfriar. Las cenizas deben ser blancas y libre de carbono. Si el residuo contiene aún partículas de carbono

(ceniza gris), se humedece con agua y agregar 0,5 a 3 mL de  $\text{HNO}_3$ . Se seca y retorna a la mufla a  $525\text{ }^\circ\text{C}$  por 1 a 2 horas. Se disuelven las cenizas con 5 mL de  $\text{HNO}_3$  1M, calentar en la plancha por 2 a 3 minutos para favorecer la disolución. Se transfiere la solución a una fiola de 50 mL y se lava el crisol con 2 porciones adicionales de  $\text{HNO}_3$  1M. Se lleva a volumen con  $\text{HNO}_3$  1M. Cuando sea necesario, se diluye hasta obtener una concentración dentro del rango de linealidad.

### 3.3. Determinación

Se agrega la solución  $\text{LaCl}_3$  a la dilución final tanto del estándar como la muestra para las determinaciones de Ca y Mg solamente. La concentración final de Lantano debe ser 0,1% en estas soluciones. Se prepararan los blancos para ver el efecto de reactivos y material de vidrio y son analizados durante las pruebas. Se preparan las curvas de calibración (Absorbancia vs. Concentración) para cada analito, empleando la longitud de onda, y tipo de flama (Automatizado). Se preparan las soluciones de calibración de acuerdo al rango de linealidad establecido. Se analizan estándares y muestras. Se determinan las concentraciones empleando la curva de calibración, considerando el tamaño de muestra y diluciones. Cada prueba se prepara independiente una de otra, es decir, que las soluciones estándar, preparación de las muestras, etc. son preparadas nuevamente en cada ensayo. Se efectuarán análisis por duplicado de las muestras, blancos, soluciones estándares (3 ó 4 niveles de concentración), muestras para la prueba de recuperación, etc.

## 4. Robustez

La robustez significa la resistencia del método al cambio de respuesta cuando se introducen pequeñas variaciones en el procedimiento. De esta manera, se pueden determinar los parámetros críticos en la ejecución del ensayo.

### **Diseño Factorial con Diseño de Bloques Completamente al Azar**

Durante la validación del método se consideró la variación de la temperatura de cenizado, debido a que el tiempo de tratamiento es bastante largo y se estudió el efecto de este parámetro en los resultados finales. La temperatura de cenizado establecida por el método es de  $525\text{ }^\circ\text{C}$ , por lo que se evaluaron otras dos temperaturas:  $500\text{ }^\circ\text{C}$  y  $600\text{ }^\circ\text{C}$ .

La aplicación del Experimento Factorial conducido en un DBCA, sigue los siguientes cinco pasos:

1. Formulación del problema.
2. Formulación de las hipótesis.
3. Selección del Diseño Experimental.
4. Estadísticos que se les aplicará, para asegurar que se satisfagan las condiciones necesarias para que sean válidos estos procedimientos.
5. Pruebas de comparación de medias de un experimento factorial DBCA.

Paso 1:

Formulación del problema: durante la validación del método de la AOAC 985.35, en la matriz galletas, se consideró la variación de la temperatura de cenizado, debido a que el tiempo del tratamiento es bastante largo y se estudió el efecto de este parámetro en los resultados finales. La temperatura de cenizado establecida por el método es de 525 °C, por lo que se evaluaron otras dos temperaturas: 500 °C y 600 °C.

Paso 2:

Formulación de las Hipótesis: mediante la robustez, que significa pequeñas variaciones en el procedimiento, lo que se busca es determinar si existe una diferencia significativa con el cambio de temperatura en el cenizado en los resultados.

Paso 3:

Se realizó el experimento con un arreglo factorial 3A3B en DBCA de 4 días, para evaluar el efecto en la cuantificación de los analitos con tres muestras ( $a_1$ ,  $a_2$  y  $a_3$ ) y tres temperaturas de cenizado ( $b_1=500$ ,  $b_2=525$  y  $b_3=600$  °C). Los resultados obtenidos (en mg/Kg) se presentan a continuación.

El factor A: tipo de muestra

Niveles del factor A:  $a_1$ ,  $a_2$  y  $a_3$ .

Donde  $a_1 = \text{código de muestra 1137}$

$a_2 = \text{código de muestra 1138}$

$a_3 = \text{código de muestra } 1139$

El factor B: Temperatura de cenizado.

Niveles del factor B:  $b_1, b_2$  y  $b_3$ .

Donde:  $b_1 = 500^\circ C$

$b_2 = 525^\circ C$

$b_3 = 600^\circ C$

Variable respuesta: Cuantificación en cada uno de los analitos estos son: calcio hierro, magnesio, manganeso y zinc.

Bloque: 4 días

El modelo aditivo lineal es:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \gamma_k + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

$i = 1, 2, \dots, p$        $p$ : Número de niveles del factor A ( $p = 3$ )

$j = 1, 2, \dots, q$        $q$ : Número de niveles del factor B ( $q = 3$ )

$k = 1, 2, \dots, b$        $b$ : Número de bloques ( $b = 4$ )

$Y_{ijk}$  es la cuantificación de los minerales (Ca, Fe, Mg, Mn y Zn) en mg/kg obtenido con el i-ésima muestra, j-ésima temperatura, k-ésimo día.

$\mu$  es el efecto de la media general.

$\alpha_i$  es el efecto de la i-ésima muestra.

$\beta_j$  es el efecto del j-ésima temperatura.

$(\alpha\beta)_{ij}$  es el efecto de la interacción en la i-ésima muestra, j-ésima muestra.

$\gamma_k$  es el efecto del k-ésimo día

$\varepsilon_{ijk}$  es error experimental en el i-ésima muestra, j-ésima temperatura, k-ésimo día.

Paso 4:

**Tabla N° 4: Calcio**

Día	a1=código de muestra 1137			a2=código de muestra 1138			a3=código de muestra 1139		
	b1=500	b2=525	b3=600	b1=500	b2=525	b3=600	b1=500	b2=525	b3=600
1	475.17	471.39	472.02	471.20	473.36	479.50	480.39	472.16	474.67
2	476.56	478.77	473.29	482.98	477.74	471.10	481.20	473.63	471.05
3	470.13	473.98	474.73	469.25	471.92	479.92	476.99	474.09	477.29
4	474.05	473.54	470.49	473.80	473.32	474.80	475.25	472.80	470.02

FUENTE: LMCTL

**Tabla N° 5: Hierro**

Día	a1=código de muestra 1137			a2=código de muestra 1138			a3=código de muestra 1139		
	b1=500	b2=525	b3=600	b1=500	b2=525	b3=600	b1=500	b2=525	b3=600
1	100.56	100.80	101.52	100.72	101.14	101.38	101.20	101.61	101.30
2	101.03	100.33	100.22	100.4	100.3	101.19	100.86	100.57	101.51
3	100.04	100.27	100.49	101.02	100.11	100.22	100.72	100.18	100.99
4	100.15	100.76	101.94	100.03	100.38	100.42	101.21	101.64	100.51

FUENTE: LMCTL

**Tabla N° 6: Magnesio**

Día	a1=código de muestra 1137			a2=código de muestra 1138			a3=código de muestra 1139		
	b1=500	b2=525	b3=600	b1=500	b2=525	b3=600	b1=500	b2=525	b3=600
1	525.56	530.12	526.46	528.96	530.25	526.20	525.94	524.61	528.96
2	526.12	526.29	525.07	524.07	525.26	519.52	526.81	524.36	523.86
3	521.44	526.61	528.84	522.15	529.10	523.97	522.34	527.55	529.09
4	525.55	525.51	525.85	526.48	526.38	526.13	527.55	526.62	521.95

FUENTE: LMCTL

**Tabla N° 7: Manganeso**

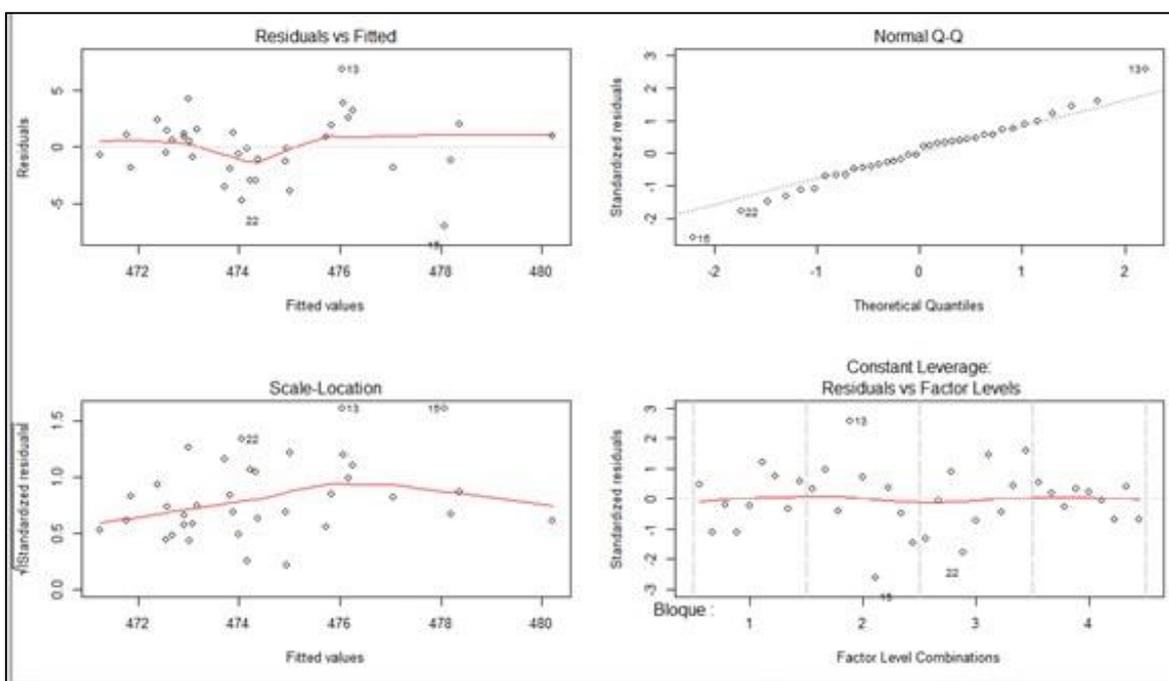
Día	a1=código de muestra 1137			a2=código de muestra 1138			a3=código de muestra 1139		
	b1=500	b2=525	b3=600	b1=500	b2=525	b3=600	b1=500	b2=525	b3=600
1	9.18	9.05	9.10	9.11	9.09	9.05	9.10	9.04	9.05
2	8.91	8.91	8.95	9.28	9.02	9.07	8.94	8.96	9.01
3	8.98	8.90	8.99	8.97	8.92	9.02	8.98	8.84	9.04
4	9.00	8.94	8.89	8.96	8.88	8.90	8.97	8.88	8.86

FUENTE: LMCTL

**Tabla N° 8: Zinc**

Día	a1=código de muestra 1137			a2=código de muestra 1138			a3=código de muestra 1139		
	b1=500	b2=525	b3=600	b1=500	b2=525	b3=600	b1=500	b2=525	b3=600
1	11.41	11.44	11.40	11.41	11.41	11.39	11.41	11.46	11.39
2	11.30	11.43	11.40	11.26	11.43	11.37	11.41	11.43	11.40
3	11.49	11.39	11.46	11.46	11.49	11.47	11.44	11.43	11.41
4	11.43	11.44	11.28	11.50	11.52	11.72	11.45	11.53	11.66

FUENTE: LMCTL



**Figura N° 3: Gráficos para probar los supuestos para el analito Calcio**

FUENTE: Elaboración propia.

**Interpretación de los gráficos:**

En la Figura N° 3 (Residuals vs Fitted), se puede observar que la variabilidad se va incrementando conforme los residuales ajustados van aumentando, no se observa el patrón tipo embudo, por lo que se puede sospechar el cumplimiento del supuesto de homogeneidad de varianzas. También se aprecia que la línea de regresión no paramétrica se mantiene alrededor de cero, de tal forma que se cumple con el supuesto de linealidad del modelo.

En la Figura N° 3 (Scale Location), se puede observar que no hay una tendencia creciente de la línea de regresión no paramétrica, ocasionada por las observaciones 15, 22 y 13. Esto

indica que se cumple con el supuesto de homogeneidad de varianzas.

En la Figura N° 3 (Normal Q-Q), se puede observar que los puntos se mantienen alrededor de la línea recta lo que haría sospechar del cumplimiento del supuesto de normalidad de los errores.

En la Figura N° 3 (Constant Leverage), se puede observar que las observaciones número 13, 15 y 22, se encuentran fuera de los límites de -2 y 2, esto indica que es un punto influyente u outlier, esto afectaría el cumplimiento del supuesto de homogeneidad de varianzas.

### **Supuestos:**

#### **1. Prueba de Normalidad de los errores:**

H<sub>0</sub>: Los errores se distribuyen normalmente.

H<sub>1</sub>: Los errores no se distribuyen normalmente.

Shapiro-Wilk normality test

data: ri

W = 0.98767, p-value = 0.9527

Conclusión: A un nivel de significación del 5%, no se rechaza la H<sub>0</sub>. Por lo tanto existe suficiente evidencia estadística para afirmar que se cumple con el supuesto de normalidad de los errores.

#### **2. Homogeneidad de varianzas**

H<sub>0</sub>: Los errores tienen varianza constante.

H<sub>1</sub>: Los errores no tienen varianza constante.

Non-constant Variance Score Test

Variance formula: ~ fitted.values

Chisquare = 4.088961, Df = 1, p = 0.043164

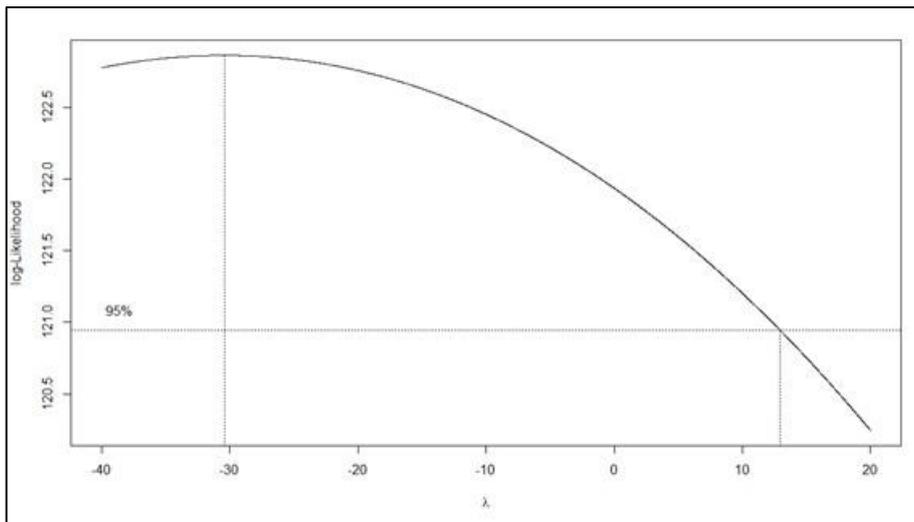
Conclusión: A un nivel de significación del 5%, se rechaza la H<sub>0</sub>. Por lo tanto existe

suficiente evidencia estadística para afirmar que no se cumple con el supuesto de homogeneidad de varianzas. Por lo tanto hay que hacer la transformación de Box y Cox.

**Método Analítico para encontrar  $\lambda$  (Transformación de Box Cox)**

El método de Box y Cox es la manera más popular para determinar la transformación que se aplicará a la variable respuesta. Este método está diseñado estrictamente para valores positivos de la respuesta y elige la transformación para encontrar el mejor ajuste de la respuesta de los datos. El método transforma la respuesta  $Y \rightarrow t_\lambda(Y)$  donde la familia de transformaciones indexada por  $\lambda$  es:

$$t_\lambda(Y) = \begin{cases} (Y^\lambda - 1) / \lambda, & \text{si } \lambda \neq 0 \\ \ln(Y), & \text{si } \lambda = 0 \end{cases}$$



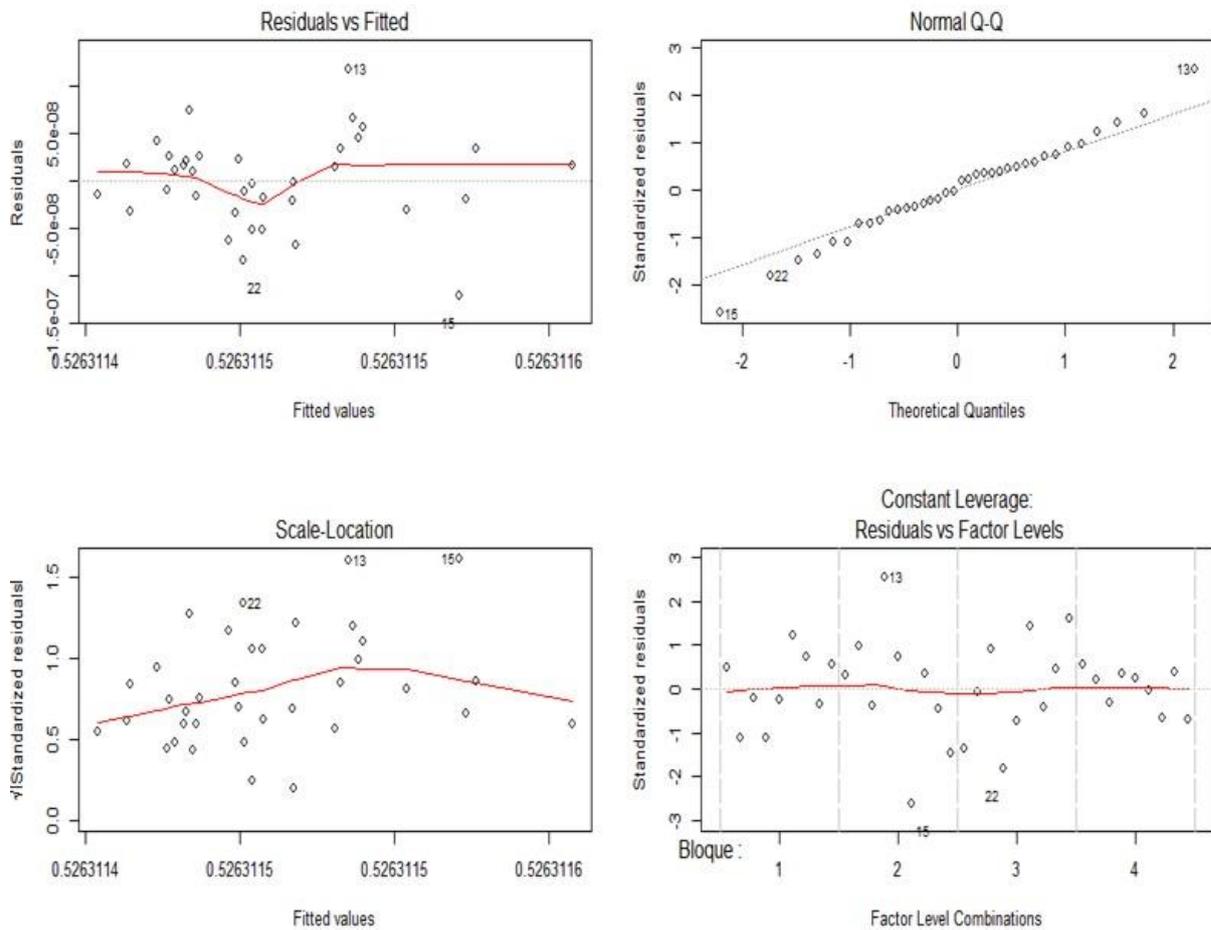
**Figura N° 4: Gráfico para la transformación para el analito Calcio**

FUENTE: Elaboración propia

La variable que se va a transformar va a ser la variable respuesta Cuantificación\_Calcio, ahora con la transformación de Box Cox, se va a definir como: Cuantificación\_Calcio1.

En donde Cuantificación\_Calcio1 va a ser igual a:

$$\text{Cuantificación\_Calcio1} = (\text{Cuantificación\_Calcio}^{-1.9} - 1) / (-1.9)$$



**Figura N° 5: Gráficos para probar los supuestos para el analito Calcio transformado**

FUENTE: Elaboración propia

**Interpretación de los gráficos:**

En la Figura N° 5 (Residuals vs Fitted), se puede observar que la variabilidad se va incrementando conforme los residuales ajustados van aumentando, no se observa el patrón tipo embudo, por lo que se puede sospechar el cumplimiento del supuesto de homogeneidad de varianzas. También se aprecia que la línea de regresión no paramétrica se mantiene alrededor de cero, de tal forma que se cumple con el supuesto de linealidad del modelo.

En la Figura N° 5 (Scale Location), se puede observar que no hay una tendencia creciente de la línea de regresión no paramétrica. Ocasionada por las observaciones 15, 22 y 13. Esto nos indica que se cumple con el supuesto de homogeneidad de varianzas.

En la Figura N° 5 (Normal Q-Q), se puede observar que los puntos se mantienen alrededor de la línea recta lo que haría sospechar del cumplimiento del supuesto de normalidad de los errores.

En la Figura N° 5 (Constant Leverage), se puede observar que las observaciones número 13, 15 y 22, se encuentran fuera de los límites de -2 y 2, esto nos indica que es un punto influyente u outlier, esto afectaría el cumplimiento del supuesto de homogeneidad de varianzas.

### **Supuestos:**

#### **1. Prueba de Normalidad de los errores:**

H<sub>0</sub>: Los errores se distribuyen normalmente.

H<sub>1</sub>: Los errores no se distribuyen normalmente.

Shapiro-Wilk normality test

data: ri

W = 0.98787, p-value = 0.9559

Conclusión: A un nivel de significación del 5%, no se rechaza la H<sub>0</sub>. Por lo tanto existe suficiente evidencia estadística para afirmar que se cumple con el supuesto de normalidad de los errores.

#### **2. Homogeneidad de varianzas**

H<sub>0</sub>: Los errores tienen varianza constante.

H<sub>1</sub>: Los errores no tienen varianza constante.

Non-constant Variance Score Test

Variance formula: ~ fitted.values

Chisquare = 0, Df = 1, p = 1

Conclusión: A un nivel de significación del 5%, no se rechaza la  $H_0$ . Por lo tanto existe suficiente evidencia estadística para afirmar que se cumple con el supuesto de homogeneidad de varianzas.

**Tabla N° 9: Análisis de Variancia del Calcio**

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Día	3	1.331e-14	4.436e-15	1.386	0.271
Muestra	2	3.680e-15	1.840e-15	0.575	0.570
Temperatura	2	5.950e-15	2.974e-15	0.929	0.409
Muestra:Temperatura	4	2.144e-14	5.360e-15	1.647	0.189
Residuals	24	7.683e-14	3.201e-15		

FUENTE: Elaboración propia.

Para el efecto de la interacción:

$$H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0 \quad i=1,2,3. \quad j=1,2,3.$$

$$H_1: (\alpha\beta)_{ij} \neq 0 \quad \text{para al menos algún } i,j.$$

Considerar: un nivel de significación  $\alpha=5\%$

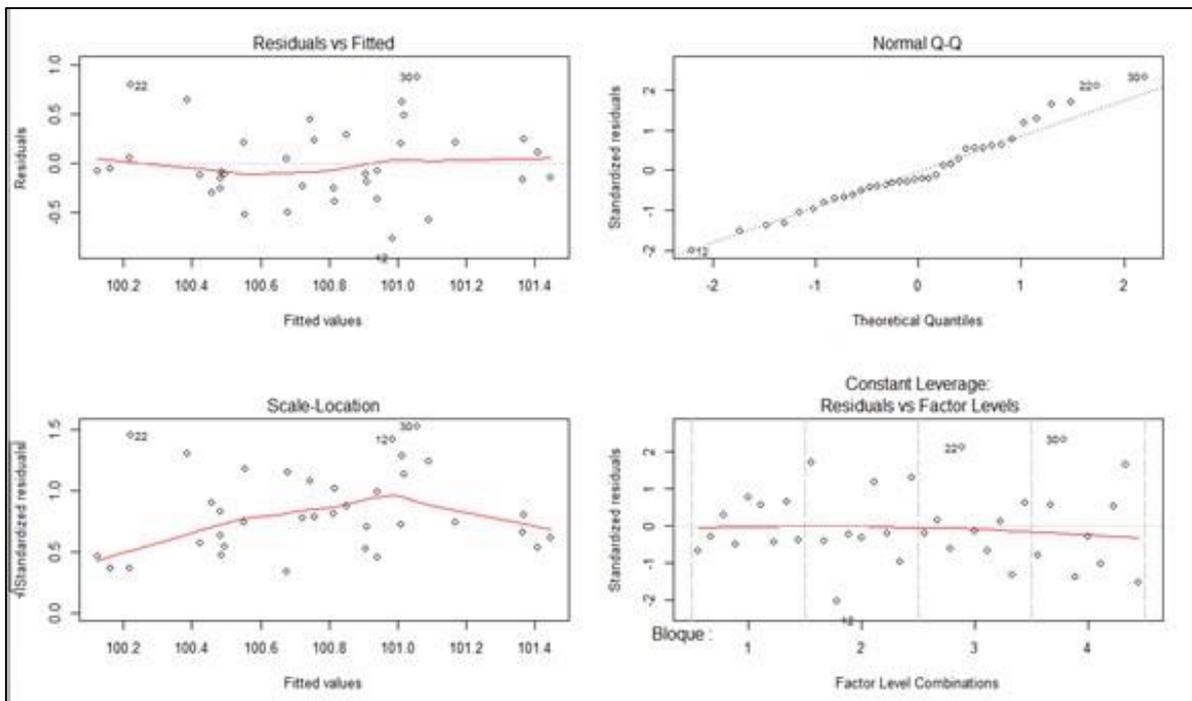
Criterio de decisión:  $P\text{-valor} = 0.189 > \alpha=5\%$ , no se rechaza la  $H_0$ .

Conclusión: Con un nivel de significación del 5%, no se rechaza la  $H_0$ . Por lo tanto, no existe suficiente evidencia estadística para afirmar que exista al menos un efecto de interacción entre la muestra y la temperatura de cenizado sobre la cuantificación del calcio, por lo tanto, será necesario efectuar un análisis de los efectos principales de los factores.

Para el factor muestra, el  $P\text{valor}=0.570 > \alpha=5\%$ , no se rechaza la  $H_0$ . Por lo tanto no existe suficiente evidencia estadística para afirmar que con al menos una de las muestras se obtiene diferencias en la cuantificación del calcio.

Para el factor temperatura, el  $P\text{valor}=0.409 > \alpha=5\%$ , no se rechaza la  $H_0$ . Por lo tanto no existe suficiente evidencia estadística para afirmar que con al menos una de las temperaturas

de cenizado se obtiene diferencias en la cuantificación del calcio. Por lo tanto el método es ROBUSTO.



**Figura N° 6: Gráficos para probar los supuestos para el analito Hierro**

FUENTE: Elaboración propia.

### Interpretación de los gráficos:

En la Figura N° 6 (Residuals vs Fitted), se puede observar que la variabilidad se va incrementando conforme los residuales ajustados van aumentando, no se observa el patrón tipo embudo, por lo que se puede sospechar el cumplimiento del supuesto de homogeneidad de varianzas. También se aprecia que la línea de regresión no paramétrica se mantiene alrededor de cero, de tal forma que se cumple con el supuesto de linealidad del modelo.

En la Figura N° 6 (Scale Location), se puede observar que no hay una tendencia creciente de la línea de regresión no paramétrica. Ocasionada por las observaciones 12, 22 y 30. Esto nos indica que se cumple con el supuesto de homogeneidad de varianzas.

En la Figura N° 6 (Normal Q-Q), se puede observar que los puntos se mantienen alrededor de la línea recta lo que haría sospechar del cumplimiento del supuesto de normalidad de los errores.

En la Figura N° 6 (Constant Leverage), se puede observar que las observaciones número 12, 22 y 30, se encuentran fuera de los límites de -2 y 2, esto nos indica que es un punto influyente u outlier, esto afectaría el cumplimiento del supuesto de homogeneidad de varianzas.

## **Supuestos:**

### **1. Prueba de Normalidad de los errores:**

$H_0$ : Los errores se distribuyen normalmente.

$H_1$ : Los errores no se distribuyen normalmente.

Shapiro-Wilk normality test

data: ri

W = 0.97078, p-value = 0.4472

Conclusión: A un nivel de significación del 5%, no se rechaza la  $H_0$ . Por lo tanto existe suficiente evidencia estadística para afirmar que se cumple con el supuesto de normalidad de los errores.

### **2. Homogeneidad de varianzas**

$H_0$ : Los errores tienen varianza constante.

$H_1$ : Los errores no tienen varianza constante.

Non-constant Variance Score Test

Variance formula: ~ fitted.values

Chisquare = 0.03244719, Df = 1, p = 0.85705

Conclusión: A un nivel de significación del 5%, no se rechaza la  $H_0$ . Por lo tanto existe suficiente evidencia estadística para afirmar que se cumple con el supuesto de homogeneidad de varianzas.

**Tabla N° 10: Análisis de Variancia del Hierro**

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Dia	3	2.169	0.7231	3.338	0.0361
Muestra	2	1.197	0.5986	2.763	0.0832
Temperatura	2	0.751	0.3756	1.734	0.1980
Muestra:Temperatura	4	0.321	0.0804	0.371	0.8269
Residuals	24	5.199	0.2166		

FUENTE: Elaboración propia.

Para el efecto de la interacción:

$$H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0 \quad i=1,2,3. \quad j=1,2,3.$$

$$H_1: (\alpha\beta)_{ij} \neq 0 \quad \text{para al menos algún } i,j.$$

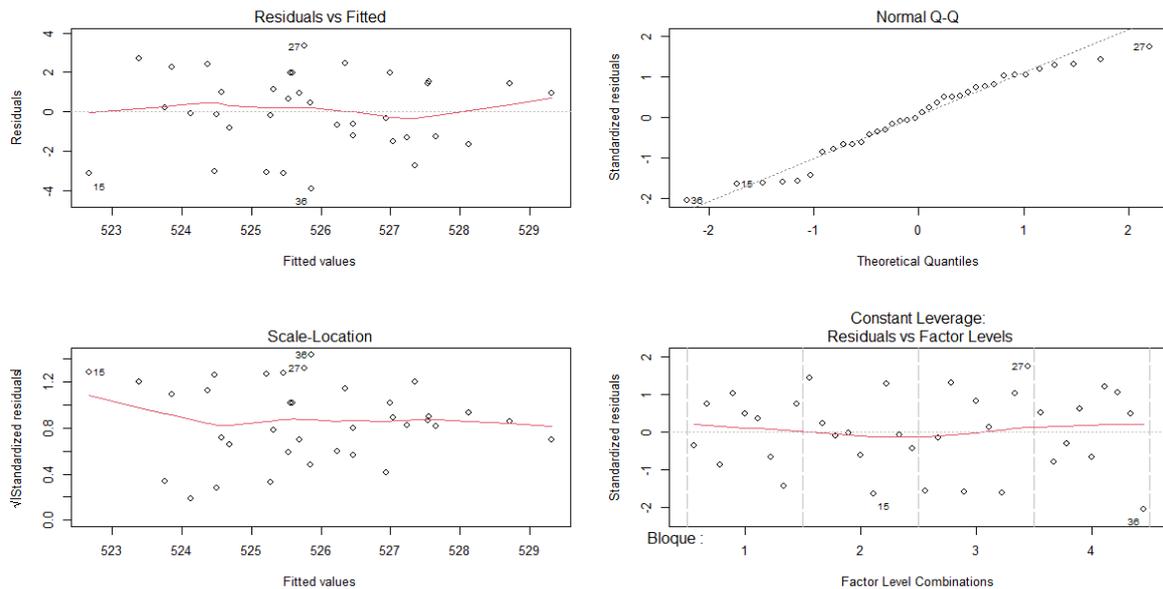
Considerar: un nivel de significación  $\alpha=5\%$

Criterio de decisión:  $P\text{-valor} = 0.8269 > \alpha=5\%$ , no se rechaza la  $H_0$

Conclusión: Con un nivel de significación del 5%, no se rechaza la  $H_0$ . Por lo tanto, no existe suficiente evidencia estadística para afirmar que exista al menos un efecto de interacción entre la muestra y la temperatura de cenizado sobre la cuantificación del hierro, por lo tanto, será necesario efectuar un análisis de los efectos principales de los factores.

Para el factor muestra, el  $P\text{valor}=0.0832 > \alpha=5\%$ , no se rechaza la  $H_0$ . Por lo tanto no existe suficiente evidencia estadística para afirmar que con al menos una de las muestras se obtiene diferencias en la cuantificación del hierro.

Para el factor temperatura, el  $P\text{valor}=0.1980 > \alpha=5\%$ , no se rechaza la  $H_0$ . Por lo tanto no existe suficiente evidencia estadística para afirmar que con al menos una de las temperaturas de cenizado se obtiene diferencias en la cuantificación del hierro. Por lo tanto el método es ROBUSTO.



**Figura N° 7: Gráficos para probar los supuestos para el analito Magnesio**

FUENTE: Elaboración propia.

### Interpretación de los gráficos:

En la Figura N° 7 (Residuals vs Fitted), se puede observar que la variabilidad se va incrementando conforme los residuales ajustados van aumentando, no se observa el patrón tipo embudo, por lo que se puede sospechar el cumplimiento del supuesto de homogeneidad de varianzas. También se aprecia que la línea de regresión no paramétrica se mantiene alrededor de cero, de tal forma que se cumple con el supuesto de linealidad del modelo.

En la Figura N° 7 (Scale Location), se puede observar que no hay una tendencia creciente de la línea de regresión no paramétrica. Ocasionada por las observaciones 15, 27 y 36. Esto nos indica que se cumple con el supuesto de homogeneidad de varianzas.

En la Figura N° 7 (Normal Q-Q), se puede observar que los puntos se mantienen alrededor de la línea recta lo que haría sospechar del cumplimiento del supuesto de normalidad de los errores.

En la Figura N° 7 (Constant Leverage), se puede observar que la observación número 36, se encuentra fuera de los límites de -2 y 2, esto nos indica que es un punto influyente u outlier, esto afectaría el cumplimiento del supuesto de homogeneidad de varianzas.

**Supuestos:**

**1. Prueba de Normalidad de los errores:**

H<sub>0</sub>: Los errores se distribuyen normalmente.

H<sub>1</sub>: Los errores no se distribuyen normalmente.

Shapiro-Wilk normality test

data: ri

W = 0.9613, p-value = 0.2357

Conclusión: A un nivel de significación del 5%, no se rechaza la H<sub>0</sub>. Por lo tanto existe suficiente evidencia estadística para afirmar que se cumple con el supuesto de normalidad de los errores.

**2. Homogeneidad de varianzas**

H<sub>0</sub>: Los errores tienen varianza constante.

H<sub>1</sub>: Los errores no tienen varianza constante.

Non-constant Variance Score Test

Variance formula: ~ fitted.values

Chisquare = 1.143628, Df = 1, p = 0.28489

Conclusión: A un nivel de significación del 5%, no se rechaza la H<sub>0</sub>. Por lo tanto existe suficiente evidencia estadística para afirmar que se cumple con el supuesto de homogeneidad de varianzas.

**Tabla N° 11: Análisis de Variancia del Magnesio**

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Dia	3	37.53	12.508	2.286	0.104
Muestra	2	1.12	0.558	0.102	0.903
Temperatura	2	18.81	9.405	1.719	0.201
Muestra:Temperatura	4	23.95	5.987	1.094	0.382
Residuals	24	131.32	5.471		

FUENTE: Elaboración propia.

Para el efecto de la interacción:

$$H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0 \quad i=1,2,3. \quad j=1,2,3.$$

$$H_1: (\alpha\beta)_{ij} \neq 0 \text{ para al menos algún } i,j.$$

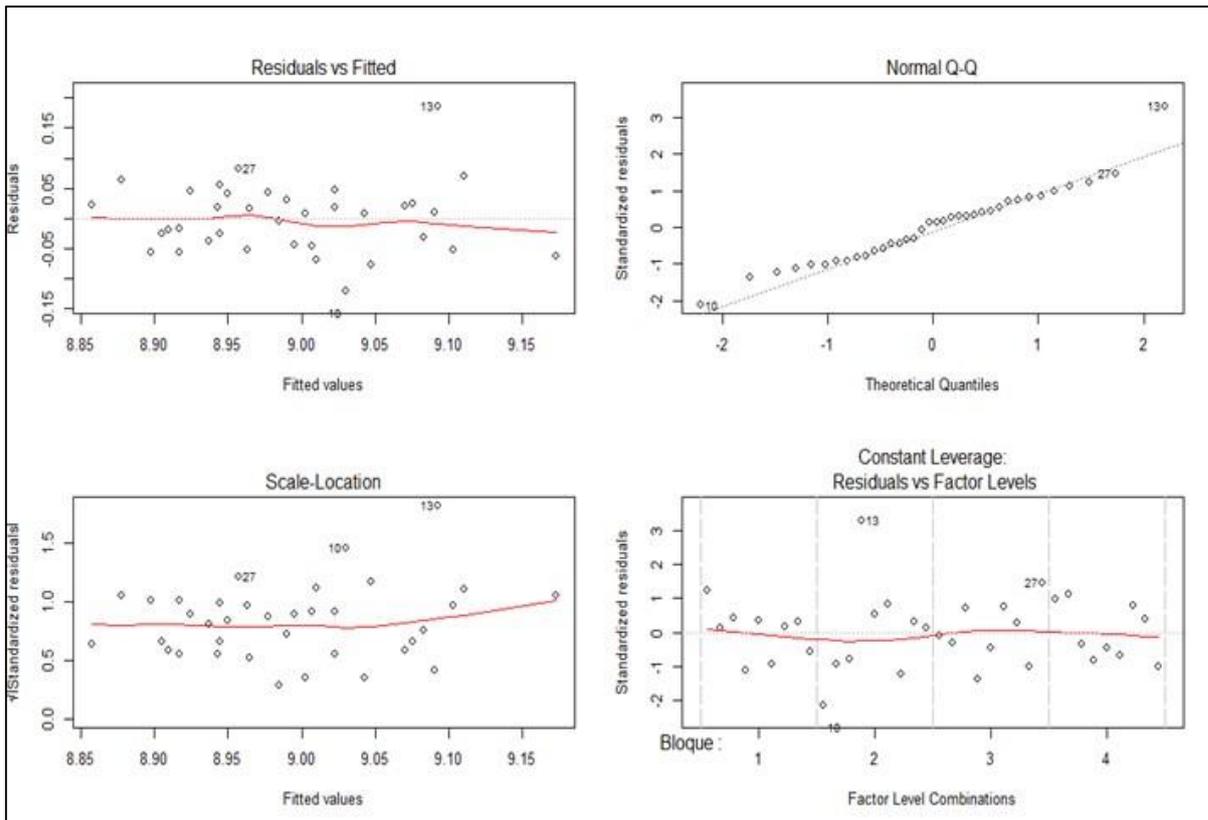
Considerar: un nivel de significación  $\alpha=5\%$

Criterio de decisión: P-valor = 0.382 >  $\alpha=5\%$ , no se rechaza la  $H_0$ .

Conclusión: Con un nivel de significación del 5%, no se rechaza la  $H_0$ . Por lo tanto no existe suficiente evidencia estadística para afirmar que exista al menos un efecto de interacción entre la muestra y la temperatura de cenizado sobre la cuantificación del magnesio, por lo tanto será necesario efectuar un análisis de los efectos principales de los factores.

Para el factor muestra, el Pvalor=0.903 >  $\alpha=5\%$ , no se rechaza la  $H_0$ . Por lo tanto no existe suficiente evidencia estadística para afirmar que con al menos una de las muestras se obtiene diferencias en la cuantificación del magnesio.

Para el factor temperatura, el Pvalor=0.201 >  $\alpha=5\%$ , no se rechaza la  $H_0$ . Por lo tanto no existe suficiente evidencia estadística para afirmar que con al menos una de las temperaturas de cenizado se obtiene diferencias en la cuantificación del magnesio. Por lo tanto el método es ROBUSTO.



**Figura N° 8: Gráficos para probar los supuestos para el analito Manganeso**

FUENTE: Elaboración propia.

### Interpretación de los gráficos:

En la Figura N° 8 (Residuals vs Fitted), se puede observar que la variabilidad se va incrementando conforme los residuales ajustados van aumentando, no se observa el patrón tipo embudo, por lo que se puede sospechar el cumplimiento del supuesto de homogeneidad de varianzas. También se aprecia que la línea de regresión no paramétrica se mantiene alrededor de cero, de tal forma que se cumple con el supuesto de linealidad del modelo.

En la Figura N° 8 (Scale Location), se puede observar que no hay una tendencia creciente de la línea de regresión no paramétrica. Ocasionada por las observaciones 10, 13 y 27. Esto nos indica que se cumple con el supuesto de homogeneidad de varianzas.

En la Figura N° 8 (Normal Q-Q), se puede observar que los puntos se mantienen alrededor de la línea recta lo que haría sospechar del cumplimiento del supuesto de normalidad de los errores.

En la Figura N° 8 (Constant Leverage), se puede observar que las observaciones número 10 y 13, se encuentran fuera de los límites de -2 y 2, esto nos indica que es un punto influyente u outlier, esto afectaría el cumplimiento del supuesto de homogeneidad de varianzas.

### **Supuestos:**

#### **1. Prueba de Normalidad de los errores:**

$H_0$ : Los errores se distribuyen normalmente.

$H_1$ : Los errores no se distribuyen normalmente.

Shapiro-Wilk normality test

data: ri

W = 0.95469, p-value = 0.1469

Conclusión: A un nivel de significación del 5%, no se rechaza la  $H_0$ . Por lo tanto existe suficiente evidencia estadística para afirmar que se cumple con el supuesto de normalidad de los errores.

#### **2. Homogeneidad de varianzas**

$H_0$ : Los errores tienen varianza constante.

$H_1$ : Los errores no tienen varianza constante.

Non-constant Variance Score Test

Variance formula: ~ fitted.values

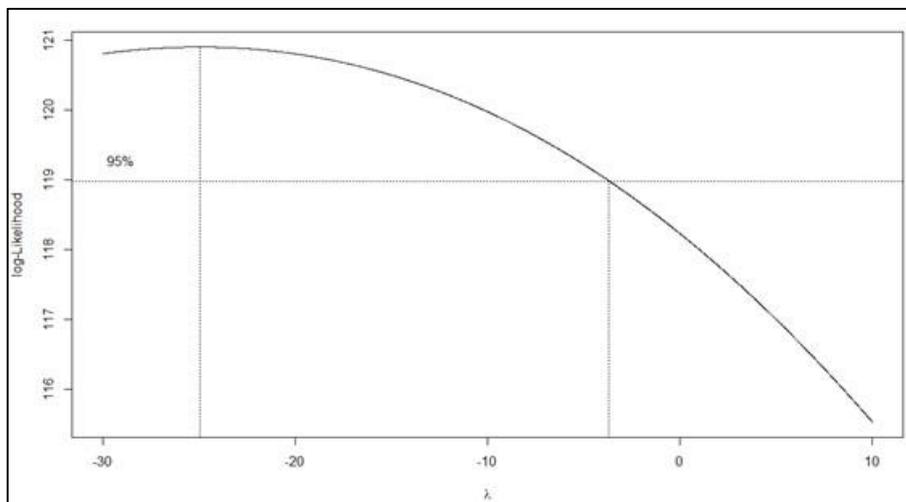
Chisquare = 4.672588, Df = 1, p = 0.030648

Conclusión: A un nivel de significación del 5%, se rechaza la  $H_0$ . Por lo tanto existe suficiente evidencia estadística para afirmar que no se cumple con el supuesto de homogeneidad de varianzas. Por lo tanto hay que hacer la transformación de Box y Cox.

### Método Analítico para encontrar $\lambda$ (Transformación de Box Cox)

El método de Box y Cox es la manera más popular para determinar la transformación que se aplicará a la variable respuesta. Este método está diseñado estrictamente para valores positivos de la respuesta y elige la transformación para encontrar el mejor ajuste de la respuesta de los datos. El método transforma la respuesta  $Y \rightarrow t_\lambda(Y)$  donde la familia de transformaciones indexada por  $\lambda$  es:

$$t_\lambda(Y) = \begin{cases} (Y^\lambda - 1) / \lambda, & \text{si } \lambda \neq 0 \\ \ln(Y), & \text{si } \lambda = 0 \end{cases}$$



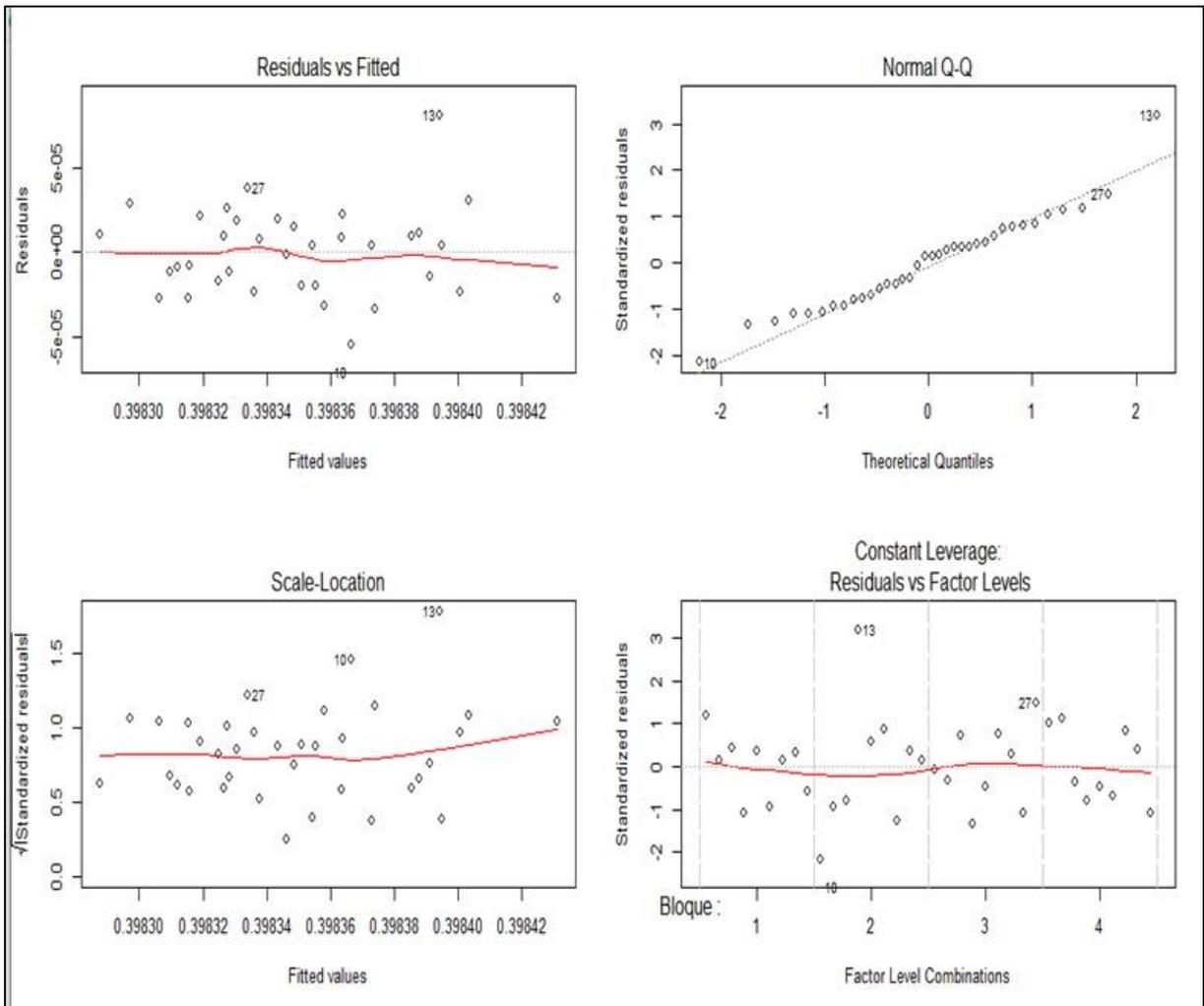
**Figura N° 9: Gráfico para la transformación del analito Manganeseo**

FUENTE: Elaboración propia.

La variable que se va a transformar va a ser la variable respuesta Cuantificación\_Manganeseo, ahora con la transformación de Box Cox, se va a definir como: Cuantificación\_Manganeseo1.

En donde Cuantificación\_Manganeseo1 va a ser igual a:

$$\text{Cuantificación\_Manganeseo1} = (\text{Cuantificación\_Manganeseo})^{(-2.5)-1}/(-2.5)$$



**Figura N° 10: Gráficos para probar los supuestos para el analito Manganeso transformado**

FUENTE: Elaboración propia.

**Interpretación de los gráficos:**

En la Figura N° 10 (Residuals vs Fitted), se puede observar que la variabilidad se va incrementando conforme los residuales ajustados van aumentando, no se observa el patrón tipo embudo, por lo que se puede sospechar el cumplimiento del supuesto de homogeneidad de varianzas. También se aprecia que la línea de regresión no paramétrica se mantiene alrededor de cero, de tal forma que se cumple con el supuesto de linealidad del modelo.

En la Figura N° 10 (Scale Location), se puede observar que no hay una tendencia creciente de la línea de regresión no paramétrica. Ocasionada por las observaciones 10, 13 y 27. Esto nos indica que se cumple con el supuesto de homogeneidad de varianzas

En la Figura N° 10 (Normal Q-Q), se puede observar que los puntos se mantienen alrededor de la línea recta lo que haría sospechar del cumplimiento del supuesto de normalidad de los errores.

En la Figura N° 10 (Constant Leverage), se puede observar que las observaciones número 10 y 13, se encuentran fuera de los límites de -2 y 2, esto nos indica que es un punto influyente u outlier, esto afectaría el cumplimiento del supuesto de homogeneidad de varianzas.

### **Supuestos:**

#### **1. Prueba de Normalidad de los errores:**

H<sub>0</sub>: Los errores se distribuyen normalmente.

H<sub>1</sub>: Los errores no se distribuyen normalmente.

Shapiro-Wilk normality test

data: ri

W = 0.95991, p-value = 0.2136

Conclusión: A un nivel de significación del 5%, no se rechaza la H<sub>0</sub>. Por lo tanto existe suficiente evidencia estadística para afirmar que se cumple con el supuesto de normalidad de los errores.

#### **2. Homogeneidad de varianzas**

H<sub>0</sub>: Los errores tienen varianza constante.

H<sub>1</sub>: Los errores no tienen varianza constante.

Non-constant Variance Score Test

Variance formula: ~ fitted.values

Chisquare = 3.475995, Df = 1, p = 0.062265

**Conclusión:** A un nivel de significación del 5%, no se rechaza la  $H_0$ . Por lo tanto existe suficiente evidencia estadística para afirmar que se cumple con el supuesto de homogeneidad de varianzas.

**Tabla N° 12: Análisis de Variancia del Manganeso transformado**

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Bloque	3	2.837e-08	9.456e-09	9.781	0.000212
Muestra	2	3.348e-09	1.674e-09	1.732	0.198374
Temperatura	2	7.730e-09	3.865e-09	3.998	0.031730
Muestra:Temperatura	4	8.160e-10	2.040e-10	0.211	0.929808
Residuals	24	2.320e-08	9.670e-10		

Fuente: Elaboración propia

Para el efecto de la interacción:

$$H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0 \quad i=1,2,3. \quad j=1,2,3.$$

$$H_1: (\alpha\beta)_{ij} \neq 0 \quad \text{para al menos algún } i,j.$$

Considerar: un nivel de significación  $\alpha=5\%$

Criterio de decisión:  $P\text{-valor} = 0.929808 > \alpha=5\%$ , no se rechaza la  $H_0$ .

**Conclusión:** Con un nivel de significación del 5%, no se rechaza la  $H_0$ . Por lo tanto no existe suficiente evidencia estadística para afirmar que exista al menos un efecto de interacción entre la muestra y la temperatura de cenizado sobre la cuantificación del manganeso, por lo tanto será necesario efectuar un análisis de los efectos principales de los factores.

Para el factor muestra, el  $P\text{valor} = 0.198374 > \alpha=5\%$ , no se rechaza la  $H_0$ . Por lo tanto no existe suficiente evidencia estadística para afirmar que con al menos una de las muestras se obtiene diferencias en la cuantificación del manganeso.

Para el factor temperatura, el Pvalor=0.031730 <  $\alpha=5\%$ , se rechaza la  $H_0$ . Por lo tanto existe suficiente evidencia estadística para afirmar que con al menos una de las temperaturas de cenizado se obtiene diferencias en la cuantificación del manganeso. Por lo tanto el método es NO ROBUSTO.

Dado que con al menos una de las temperaturas de cenizado se obtiene diferencias en la cuantificación del manganeso. Por lo tanto se va a aplicar la Prueba de Tukey-Cramer (Tukey HSD).

### Efecto principal de B en $\alpha_i$

1) Planteamiento de las hipótesis

$$H_0: \mu_i = \mu_j \quad \forall i \neq j \quad i, j = 1, 2, \dots, t$$

$$H_1: \mu_i \neq \mu_j$$

2) Nivel de significación  $\alpha$

3) Estadístico de prueba

$$ALS(T) = AES(T) \sqrt{\frac{CME}{b}}$$

Donde:

ALS(T): Amplitud Límite Significativa de Tukey.

AES(T): Amplitud estudentizada significativa de Tukey.

$$AES(T) = ( \alpha, gl(t), gl(error) )$$

4) Criterio de Decisión

$$|\bar{Y}_i - \bar{Y}_l| > ALS(T), \text{ entonces se rechaza } H_0.$$

$$|\bar{Y}_i - \bar{Y}_l| < ALS(T), \text{ entonces no se rechaza } H_0.$$

5) Conclusión:

Simultaneous Confidence Intervals

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts

Fit: aov(formula = Cuanti\_Manganeso1 ~ Bloque + Temperatura)

Quantile = 2.4578

95% family-wise confidence level

**Tabla N° 13: Linear Hypotheses**

	Estimate	lwr	upr
b2 - b1 == 0	-3.585e-05	-6.565e-05	-6.050e-06
b3 - b1 == 0	-1.657e-05	-4.637e-05	1.323e-05
b3 - b2 == 0	1.928e-05	-1.052e-05	4.908e-05

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Fuente: Elaboración propia.

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts

Fit: aov(formula = Cuanti\_Manganeso1 ~ Bloque + Temperatura)

**Tabla N° 14: Linear Hypotheses**

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
b2 - b1 == 0	-3.585e-05	1.212e-05	-2.957	0.0154
b3 - b1 == 0	-1.657e-05	1.212e-05	-1.366	0.3701
b3 - b2 == 0	1.928e-05	1.212e-05	1.599	0.2643

Considerar un nivel de significación  $\alpha=5\%$ .

Fuente: Elaboración propia.

Se ha encontrado diferencias significativas entre las siguientes comparaciones de medias de las temperaturas de cenizado:

- Entre las temperaturas de cenizado de 500°C y de 525°C.

A continuación se muestra un cuadro en donde están ordenados las temperaturas de cenizado de acuerdo a menor a mayor promedio, con respecto a cada temperatura de cenizado.

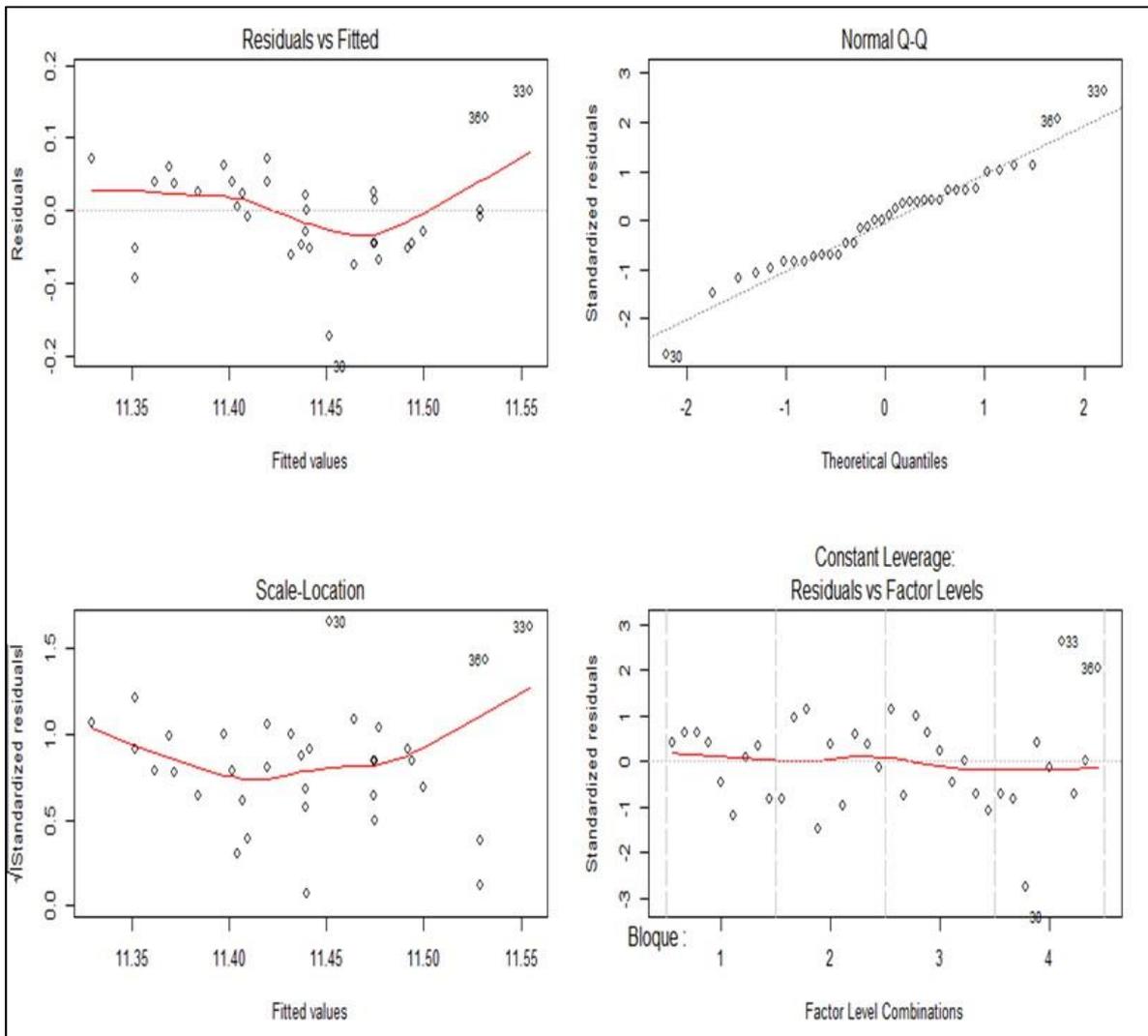
**Tabla N° 15: Temperaturas de cenizado de acuerdo a menor a mayor promedio**

b2=525°C	b3=600°C	b1=500°C
0.3983315	0.3983508	0.3983673

FUENTE: Elaboración propia.

No se ha encontrado diferencias significativas entre las siguientes comparaciones de medias de las temperaturas de cenizado:

- Entre las temperaturas de cenizado de 525°C y 600°C.
- Entre las temperaturas de cenizado de 500°C y 600°C.



**Figura N° 11: Gráficos para probar los supuestos para el analito Zinc**

FUENTE: Elaboración propia

### **Interpretación de los gráficos:**

En la Figura N° 11 (Residuals vs Fitted), se puede observar que la variabilidad se va incrementando conforme los residuales ajustados van aumentando, no se observa el patrón tipo embudo, por lo que se puede sospechar el cumplimiento del supuesto de homogeneidad de varianzas. También se aprecia que la línea de regresión no paramétrica se mantiene alrededor de cero, de tal forma que se cumple con el supuesto de linealidad del modelo.

En la Figura N° 11 (Scale Location), se puede observar que no hay una tendencia creciente de la línea de regresión no paramétrica. Ocasionada por las observaciones 30, 33 y 36. Esto nos indica que se cumple con el supuesto de homogeneidad de varianzas.

En la Figura N° 11 (Normal Q-Q), se puede observar que los puntos se mantienen alrededor de la línea recta lo que haría sospechar del cumplimiento del supuesto de normalidad de los errores.

En la Figura N° 11 (Constant Leverage), se puede observar que las observaciones número 30, 33 y 36, se encuentran fuera de los límites de -2 y 2, esto nos indica que es un punto influyente u outlier, esto afectaría el cumplimiento del supuesto de homogeneidad de varianzas.

### **Supuestos:**

#### **1) Prueba de Normalidad de los errores:**

H<sub>0</sub>: Los errores se distribuyen normalmente.

H<sub>1</sub>: Los errores no se distribuyen normalmente.

Shapiro-Wilk normality test

data: ri

W = 0.96903, p-value = 0.3995

Conclusión: A un nivel de significación del 5%, no se rechaza la H<sub>0</sub>. Por lo tanto existe

suficiente evidencia estadística para afirmar que se cumple con el supuesto de normalidad de los errores.

## 2) Homogeneidad de varianzas

H<sub>0</sub>: Los errores tienen varianza constante.

H<sub>1</sub>: Los errores no tienen varianza constante.

Non-constant Variance Score Test

Variance formula: ~ fitted.values

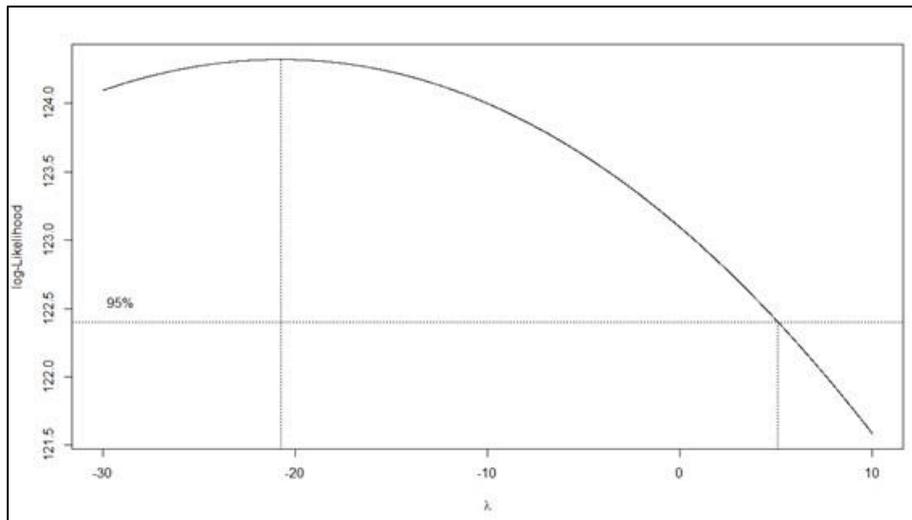
Chisquare = 4.058382, Df = 1, p = 0.043953

Conclusión: A un nivel de significación del 5%, se rechaza la H<sub>0</sub>. Por lo tanto existe suficiente evidencia estadística para afirmar que no se cumple con el supuesto de homogeneidad de varianzas. Por lo tanto hay que hacer la transformación de Box y Cox.

### Método Analítico para encontrar $\lambda$ (Transformación de Box Cox)

El método de Box y Cox es la manera más popular para determinar la transformación que se aplicará a la variable respuesta. Este método está diseñado estrictamente para valores positivos de la respuesta y elige la transformación para encontrar el mejor ajuste de la respuesta de los datos. El método transforma la respuesta  $Y \rightarrow t_{\lambda}(Y)$  donde la familia de transformaciones indexada por  $\lambda$  es:

$$t_{\lambda}(Y) = \begin{cases} (Y^{\lambda} - 1) / \lambda, & \text{si } \lambda \neq 0 \\ \ln(Y), & \text{si } \lambda = 0 \end{cases}$$



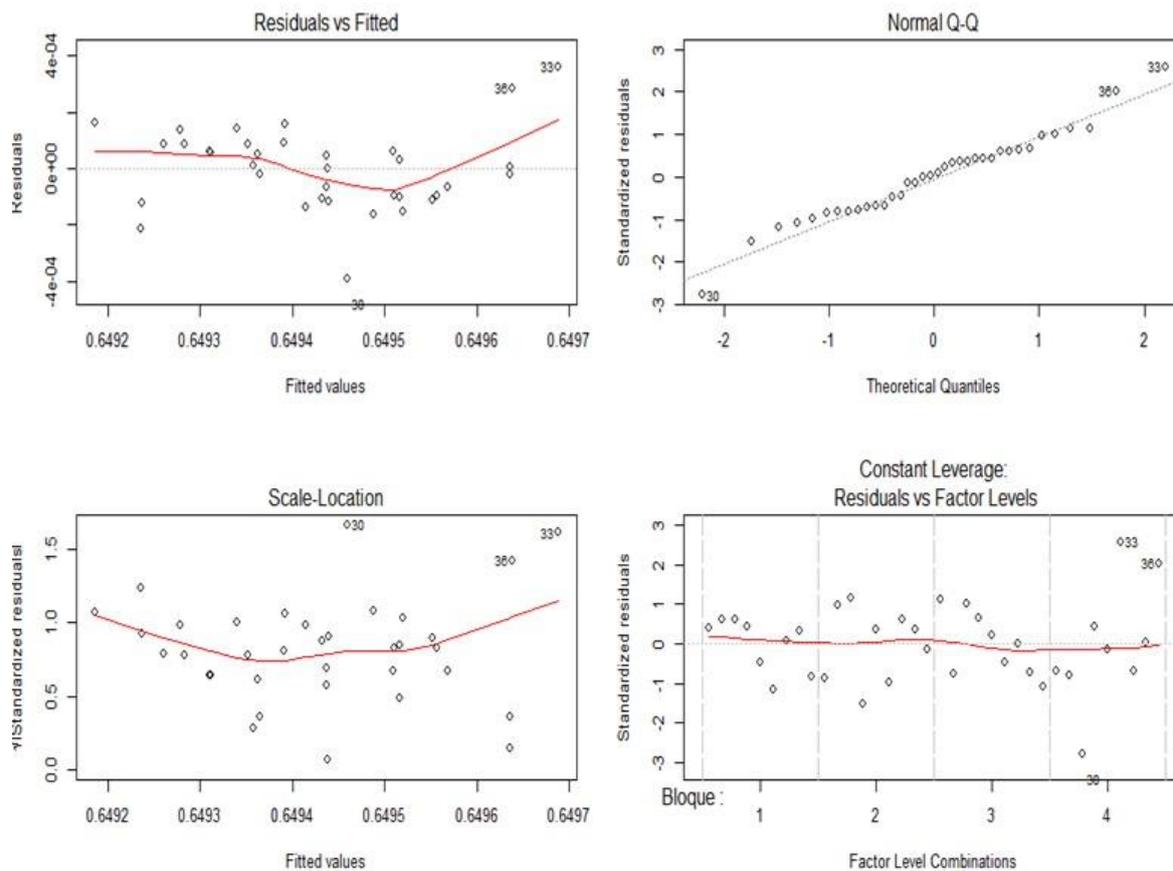
**Figura N° 12: Gráfico para la transformación del analito Zinc**

FUENTE: Elaboración propia

La variable que se va a transformar va a ser la variable respuesta Cuantificación\_Zinc, ahora con la transformación de Box Cox, se va a definir como: Cuantificación\_Zinc1.

En donde Cuantificación\_Zinc1 va a ser igual a:

$$\text{Cuantificación\_Zinc1} = (\text{Cuantificación\_Zinc}^{-1.5} - 1) / (-1.5)$$



**Figura N° 13: Gráficos para probar los supuestos para el analito Zinc transformado**

FUENTE: Elaboración propia

### Interpretación de los gráficos:

En la Figura N° 13 (Residuals vs Fitted), se puede observar que la variabilidad se va incrementando conforme los residuales ajustados van aumentando, no se observa el patrón tipo embudo, por lo que se puede sospechar el cumplimiento del supuesto de homogeneidad de varianzas. También se aprecia que la línea de regresión no paramétrica se mantiene alrededor de cero, de tal forma que se cumple con el supuesto de linealidad del modelo.

En la Figura N° 13 (Scale Location), se puede observar que no hay una tendencia creciente de la línea de regresión no paramétrica. Ocasionada por las observaciones 30, 33 y 36. Esto nos indica que se cumple con el supuesto de homogeneidad de varianzas.

En la Figura N° 13 (Normal Q-Q), se puede observar que los puntos se mantienen alrededor de la línea recta lo que haría sospechar del cumplimiento del supuesto de normalidad de los errores.

En la Figura N° 13 (Constant Leverage), se puede observar que las observaciones número 30, 33 y 36, se encuentran fuera de los límites de -2 y 2, esto nos indica que es un punto influyente u outlier, esto afectaría el cumplimiento del supuesto de homogeneidad de varianzas.

### **Supuestos:**

#### **1) Prueba de Normalidad de los errores:**

H<sub>0</sub>: Los errores se distribuyen normalmente.

H<sub>1</sub>: Los errores no se distribuyen normalmente.

Shapiro-Wilk normality test

data: ri

W = 0.97136, p-value = 0.4638

Conclusión: A un nivel de significación del 5%, no se rechaza la H<sub>0</sub>. Por lo tanto existe suficiente evidencia estadística para afirmar que se cumple con el supuesto de normalidad de los errores.

#### **2) Homogeneidad de varianzas**

H<sub>0</sub>: Los errores tienen varianza constante.

H<sub>1</sub>: Los errores no tienen varianza constante.

Non-constant Variance Score Test

Variance formula: ~ fitted.values

Chisquare = 3.250459, Df = 1, p = 0.071403

Conclusión: A un nivel de significación del 5%, no se rechaza la  $H_0$ . Por lo tanto existe suficiente evidencia estadística para afirmar que se cumple con el supuesto de homogeneidad de varianzas.

**Tabla N° 16: Análisis de Variancia del Zinc transformado**

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Bloque	3	3.694e-07	1.231e-07	4.165	0.0165
Muestra	2	8.590e-08	4.295e-08	1.453	0.2538
Temperatura	2	4.670e-08	2.333e-08	0.789	0.4657
Muestra:Temperatura	4	5.440e-08	1.360e-08	0.460	0.7642
Residuals	24	7.096e-07	2.957e-08		

FUENTE: Elaboración propia

Para el efecto de la interacción:

$$H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0 \quad i=1,2,3. \quad j=1,2,3.$$

$$H_1: (\alpha\beta)_{ij} \neq 0 \text{ para al menos algún } i,j.$$

Considerar: un nivel de significación  $\alpha=5\%$

Criterio de decisión:  $P\text{-valor} = 0.7642 > \alpha=5\%$ , no se rechaza la  $H_0$ .

Conclusión: Con un nivel de significación del 5%, no se rechaza la  $H_0$ . Por lo tanto no existe suficiente evidencia estadística para afirmar que exista al menos un efecto de interacción entre la muestra y la temperatura de cenizado sobre la cuantificación del zinc, por lo tanto será necesario efectuar un análisis de los efectos principales de los factores.

Para el factor muestra, el  $P\text{valor}=0.2538 > \alpha=5\%$ , no se rechaza la  $H_0$ . Por lo tanto no existe suficiente evidencia estadística para afirmar que con al menos una de las muestras se obtiene diferencias en la cuantificación del zinc.

Para el factor temperatura, el  $P_{\text{valor}}=0.4657 > \alpha=5\%$ , no se rechaza la  $H_0$ . Por lo tanto no existe suficiente evidencia estadística para afirmar que con al menos una de las temperaturas de cenizado se obtiene diferencias en la cuantificación del zinc. Por lo tanto el método es ROBUSTO.

**Tabla N° 17: Robustez del Método a la Temperatura de Cenizado**

<b>Elemento</b>	<b>Robustez del Método</b>
Calcio	Robusto
Hierro	Robusto
Magnesio	Robusto
Manganeso	No Robusto
Zinc	Robusto

FUENTE: Elaboración propia

Los resultados muestran que solo en los casos del Calcio, Hierro, Magnesio y Zinc la variación de temperatura de cenizado no afecta el resultado final. Para el caso de Manganeso, se debe trabajar cuidadosamente solo a la temperatura establecida por el método; es decir, a 525 °C para no obtener un resultado diferente al esperado.

#### **4.3. Contribución en la solución de situación problemática de la empresa**

La Molina Calidad Total Laboratorios cuenta con acreditación de Instituto Nacional de Calidad (INACAL) y tiene como objetivo realizar servicios de certificación, inspección y ensayos de laboratorio, para alimentos.

Actualmente brinda dos tipos de procesos de validación: Normalizado y No Normalizado. El proceso de validación normalizado, se realiza según el método de la AOAC 985.35, de acuerdo a la aplicación de la Norma NTP ISO/IEC 17025:2017 (Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración), y a la Directriz para Validación de Métodos de Ensayo. Código: DA-acr-20D, Versión: 00, Página: 1 de 7. Los procesos no normalizados se aplican cuando la LMCTL especifica sus propios parámetros dentro del proceso de validación (INACAL, 2017).

La problemática empresarial ocurre cuando se presentan por parte de INACAL alguna observación o no conformidad en el proceso de validación empleado por LMCTL en los ensayos para medir la concentración de minerales contenidos en un producto alimenticio. Se entiende como no conformidad el incumplimiento de un requisito, que se encuentra establecido en la Norma Técnica Peruana NTP ISO/IEC 17025:2017 “Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración” o en algunas de las directrices. Estas observaciones o no conformidades se detectan en las auditorías realizada por INACAL a LMCTL.

En la reunión de apertura de la auditoría de INACAL a LMCTL, nos encontramos reunidos los auditores, directores y todo el personal de las diferentes áreas involucradas que van a pasar la auditoría, el auditor líder da inicio a la auditoría.

En la reunión de cierre de la auditoría, nos encontramos reunidos todas las personas que estuvieron presente en la reunión de apertura, el auditor líder empieza a mencionar cada una de las observaciones y no conformidades halladas en la auditoría, así como la evidencia del incumplimiento, después emite un documento que es el registro y seguimiento de no conformidades, en donde menciona cada una de las observaciones y no conformidades.

INACAL, da un lapso de tiempo, con la finalidad que LMCTL, subsane cada una de las observaciones y no conformidades halladas el día de la auditoría, mediante el documento que es el registro y seguimiento de no conformidades, se va a dar respuesta a la no conformidad u observación, mediante el análisis de causa y las acciones correctivas propuestas, luego ese documento es enviado por la oficina de Dirección de Sistema de la Calidad (DSC) a INACAL, para que las propuestas sean evaluadas por un equipo evaluador, en donde van a indicar si aceptan o no, las propuestas de LMCTL, para subsanar la observación o no conformidad.

Si el equipo evaluador, no aprueba las acciones correctivas propuestas de LMCTL, entonces nuevamente, INACAL le da un lapso de tiempo, para que LMCTL, envíe otras acciones correctivas propuestas.

Si las acciones correctivas propuestas, son aceptadas por el equipo evaluador, entonces INACAL va a programar nuevamente una auditoría, para verificar la implementación de las acciones correctivas propuestas, si se evidencia que mediante esas propuestas se logra subsanar la no conformidad, entonces LMCTL, puede seguir ofreciendo sus servicios como laboratorio acreditado ante INACAL, mientras que si el equipo evaluador decide que no subsana la no conformidad, y que por ende continua abierta, entonces INACAL le va a aplicar una penalidad a LMCTL, la cual puede ser que ya no ofrezca dentro de sus servicios, algunos de los ensayos, porque para INACAL la no conformidad queda aún abierta, evidencia que LMCTL no es competente para la ejecución de ese ensayo que tiene relación con la no conformidad.

Si LMCTL sabiendo que ante INACAL, ya no es competente para la ejecución de ciertos ensayos, y sin embargo continua ofreciendo el servicio, la penalidad que podría recibir por parte de INACAL, sería el cierre definitivo de LMCTL.

#### **4.4. La solución a la problemática empresarial**

##### **4.4.1. Análisis de la contribución en términos de competencia y habilidades**

La contribución en términos de competencia y habilidades, se evidencian en 4 actividades dentro del proceso de validación, donde se aplican técnicas estadísticas:

- Aseguramiento de la validez de los resultados a través de las gráficas de carta control.
- Comparación de la ejecución de los ensayos a través de la precisión y la veracidad de dos analistas: analista 1 (autorizado ante INACAL) y el analista 2 (en proceso de autorización), mediante las pruebas estadísticas de F de Fisher y la t de Student (2 muestras independientes).
- Determinación de la curva de calibración se aplicó al análisis de regresión lineal simple.
- Determinación de la robustez en la temperatura de cenizado, es uno de los puntos del proceso de validación, a través del experimento factorial con dos factores en diseño de bloques completamente al azar.

### **Aplicación de las gráficas de cartas control**

Para desarrollar esta actividad, fue conveniente haber llevado el curso de Control Estadístico de la Calidad. Sin embargo, me fueron insuficientes los conocimientos adquiridos en la universidad respecto a la aplicación de las Normas Técnicas Peruanas (NTP), por esta razón me capacité en once cursos:

- Especialización profesional: Sistema de Gestión de la Calidad en Laboratorio ISO/IEC 17025:2017.
- Interpretación de la norma NTP ISO/IEC 17065:2013-Requisitos generales para los organismos que operan sistemas de certificaciones de productos.
- Interpretación de la NTP ISO/IEC 17025:2006 “Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración.
- Interpretación de la NTP ISO/IEC 17025:2005.
- Taller validación de métodos de ensayo de laboratorio.
- Interpretación de la NTP ISO/IEC 17020:2012 Criterios generales para el funcionamiento de los diversos tipos de organismos que realizan inspección.
- Actualización de la NTP ISO/IEC 17020:2012 y sus requisitos técnicos, herramientas estadísticas aplicadas al aseguramiento de los resultados y a la incertidumbre de la medición.
- Gestión de no conformidades acciones correctivas y preventivas.
- Interpretación de la NTP-ISO/IEC 17025:2017 – Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración”.
- Actualización de la NTP ISO/IEC 17020:2012 y sus requisitos técnicos.
- Aseguramiento de la calidad de ensayos microbiológicos.

### **Comparación de 2 Muestras (Analistas)**

Para desarrollar esta actividad, me fue suficiente los conocimientos adquiridos en el curso de Estadística General.

### **Determinación de la Curva de Calibración**

Para desarrollar esta actividad, me sirvieron y fueron suficientes los cursos de: Estadística General, Métodos Estadísticos para la Investigación I.

### **Determinación de la Robustez**

Para desarrollar esta actividad, me fueron útiles y suficientes los cursos de: Métodos Estadísticos para la Investigación I y Diseños Experimentales Avanzados.

#### **4.5. Nivel de beneficio obtenido por el centro laboral**

El nivel de beneficio obtenido por LMCTL-UNALM con el diseño e implementación de un proceso de validación de ensayo cuantitativo con el método AOAC 985.35 se mide a través del número de no conformidades y número de observaciones obtenidas por parte de la INACAL en el período 2015 – 2019.

**Tabla N° 18: Nivel de beneficio**

<b>Año</b>	<b>2015</b>	<b>2016</b>	<b>2017</b>	<b>2018</b>	<b>2019</b>
<b>Número de No Conformidades</b>	7	5	2	3	3
<b>Número de Observaciones</b>	0	0	0	5	2

FUENTE: LMCTL

## **V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **5.1. Conclusiones**

1. Se describió la metodología de validación del método de ensayo cuantitativos utilizando el Método AOAC 985.35 identificándose el parámetro de robustez el más crítico en La Molina Calidad Total Laboratorios.
2. La modificación de las temperaturas de cenizado: ( $500^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ ), ( $525^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ ) y ( $600^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ ) en la mufla para galletas se obtuvieron resultados similares en los minerales de calcio, hierro, magnesio y zinc, lo que significa que el método es robusto.
3. La modificación de las temperaturas de cenizado: ( $500^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ ), ( $525^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ ) y ( $600^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ ) en la mufla para galletas se obtuvieron resultados diferentes en el mineral de manganeso, lo que significa que el método es no robusto. Es decir, usar muflas calibradas a diferentes temperaturas.

### **5.2. Recomendaciones**

1. Se recomienda para este estudio realizar la validación de este método AOAC 985.35, considerando los otros parámetros de validación.
2. Se recomienda usar estadística bayesiana para evaluar los parámetros de validación del método AOAC 985.35.

## VI. BIBLIOGRAFÍA

- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (2012). *Minerals in infant formula, enteral products, and pet foods*. Official Method 985.35. (19th ed.). Chapter 50, pp. 15-17.
- Dávila, P. (2015). Determinación de sodio, potasio, hierro, cinc y calcio en tres leguminosas: garbanzo, soya y maní, por espectrofotometría de absorción atómica de llama. (Tesis licenciado). Quito, Ecuador: Pontificia Universidad Católica del Ecuador. 188 pp.
- García, E.; García, H.; Cárdenas, L. (2013). *Simulación y análisis de sistemas con ProModel*. (2da ed.). México: Pearson. pp. 65-66, 68.
- Gutiérrez, H.; De la Vara, R. (2012). *Análisis y diseño de experimentos*. (3ra ed.). México: McGraw-Hill. pp. 71,73,312-313.
- Instituto Nacional de Calidad (INACAL). (2017). Directriz para la validación de métodos de ensayo. Lima, Perú. pp. 3-5,7.
- Instituto Nacional de Calidad (INACAL). (2017). Norma Técnica Peruana NTP-ISO/IEC 17025:2017 “Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. Lima, Perú. pp. 11-12, 19, 23.
- Instituto Nacional de Calidad (INACAL). (2017). Directriz para la evaluación de la incertidumbre de la medición. Lima, Perú. pp. 15.

- Instituto Nacional de Calidad (INACAL). (2016). Directriz Criterios para la Trazabilidad de las Mediciones Lima, Perú. pp. 4 y 5.
- Kuehl, R. (2001). *Diseño de experimentos*. (2da ed.). México: Thompson. pp. 128, 131.
- Montgomery, D. (2004). *Diseño y análisis de experimentos*. (2da ed.). México: Limusa Wiley. pp. 207.
- Pavón, E. (2014). Determinación de calcio, hierro, sodio y potasio en cinco variedades de fréjol: canario, bayo, blanco, rojo y negro, por espectrofotometría de absorción atómica de llama. (Tesis licenciada). Quito, Ecuador: Pontificia Universidad Católica del Ecuador. 175 pp.
- Ramos, K. (2018). Determinación de minerales en pescados continentales ecuatorianos por espectrofotometría de absorción atómica de llama. (Tesis licenciada). Quito, Ecuador: Pontificia Universidad Católica del Ecuador. 68 pp.
- Ríos, C. (2012). *Estadística y diseño de experimentos*. (1ra ed.). Lima: EDUNI. pp. 196,199.
- Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). (2019). Guía del curso de Métodos Estadísticos para la Investigación I. Dpto. Académico de Estadística e Informática. Lima, Perú: UNALM. pp. 52, 66, 103, 167, 173.