



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ

**FACULTAD DE INGENIERÍA, INDUSTRIA Y ARQUITECTURA
CARRERA DE INGENIERÍA INDUSTRIAL**

**SISTEMATIZACIÓN DE EXPERIENCIAS PRÁCTICAS DE
INVESTIGACIÓN Y/O INTERVENCIÓN**

**PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO INDUSTRIAL**

**“Revalidación del análisis de histamina por el método fluorométrico en el
laboratorio CESECCA-ULEAM EP de la Universidad Laica Eloy Alfaro de
Manabí”**

Autor:

Aguayo Cedeño Kenia Nayely

Mendoza Saltos Milena Monserrate

Tutor de Titulación:

Ing. Angélica Indacochea Vásquez

Manta – Manabí – Ecuador

2024

UNIVERSIDAD LAICA “ELOY ALFARO” DE MANABÍ
FACULTAD DE INGENIERÍA INDUSTRIA Y ARQUITECTURA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**“REVALIDACIÓN DEL ANÁLISIS DE HISTAMINA POR EL MÉTODO
FLUOROMÉTRICO EN EL LABORATORIO CESECCA-ULEAM EP DE LA
UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ”**

Sometida a consideración del Honorable Consejo Directivo de la Facultad de Ingeniería, Industria y Arquitectura de la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí, como requisito para obtener el título de:

INGENIERO INDUSTRIAL

Aprobado por el Tribunal Examinador:

DECANO DE LA FACULTAD

DIRECTOR

JURADO EXAMINADOR

JURADO EXAMINADOR

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

En calidad de docente tutor(a) de la Facultad de Ingeniería, Industria y Arquitectura de la Universidad Laica "Eloy Alfaro" de Manabí, CERTIFICO:

Haber dirigido, revisado y aprobado preliminarmente el Trabajo de Integración Curricular bajo la autoría del estudiante **Aguayo Cedeño Kenia Nayely**, legalmente matriculado en la carrera de Ingeniería Industrial, período académico **2025-1**, cumpliendo el total de 384 horas, cuyo tema del proyecto es **"Revalidación del análisis de histamina por el método fluorométrico en el laboratorio CESECCA-ULEAM EP de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí"**.

La presente investigación ha sido desarrollada en apego al cumplimiento de los requisitos académicos exigidos por el Reglamento de Régimen Académico y en concordancia con los lineamientos internos de la opción de titulación en mención, reuniendo y cumpliendo con los méritos académicos, científicos y formales, y la originalidad de este, requisitos suficientes para ser sometida a la evaluación del tribunal de titulación que designe la autoridad competente.

Particular que certifico para los fines consiguientes, salvo disposición de Ley en contrario.



Ing. Angélica Indacochea Vásquez

TUTOR DE TITULACIÓN

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

En calidad de docente tutor(a) de la Facultad de Ingeniería, Industria y Arquitectura de la Universidad Laica "Eloy Alfaro" de Manabí, CERTIFICO:

Haber dirigido, revisado y aprobado preliminarmente el Trabajo de Integración Curricular bajo la autoría de la estudiante **Mendoza Saltos Milena Monserrate**, legalmente matriculado en la carrera de Ingeniería Industrial, período académico **2025-1**, cumpliendo el total de 384 horas, cuyo tema del proyecto es **"Revalidación del análisis de histamina por el método fluorométrico en el laboratorio CESECCA-ULEAM EP de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí"**.

La presente investigación ha sido desarrollada en apego al cumplimiento de los requisitos académicos exigidos por el Reglamento de Régimen Académico y en concordancia con los lineamientos internos de la opción de titulación en mención, reuniendo y cumpliendo con los méritos académicos, científicos y formales, y la originalidad de este, requisitos suficientes para ser sometida a la evaluación del tribunal de titulación que designe la autoridad competente.

Particular que certifico para los fines consiguientes, salvo disposición de Ley en contrario.



Ing. Angélica Indacochea Vásquez

TUTOR DE TITULACIÓN

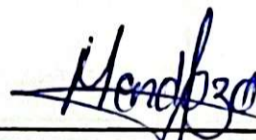
DECLARACIÓN DE AUTORÍA DE TESIS

Aguayo Cedeño Kenia Nayely y Mendoza Saltos Milena Monserrate estudiante de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Facultad de Ingeniería Industria y Arquitectura, Carrera de Ingeniería Industrial, libre y voluntariamente declaro que la responsabilidad del contenido del presente trabajo titulado **“Revalidación del análisis de histamina por el método fluorométrico en el laboratorio CESECCA-ULEAM EP de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí”**. Es una elaboración personal realizada únicamente con la dirección del tutor, Ing. Angélica Indacochea Vásquez y la propiedad intelectual de la misma pertenece a la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.



Aguayo Cedeño Kenia Nayely

C.I. 1350593495



Mendoza Saltos Milena Monserrate

C.I. 1316599743



Ing. Angélica Indacochea Vásquez

C.I. 1312176645

Dedicatoria Kenia Aguayo

Dedico este proyecto con amor a mi madre, por ser mi pilar fundamental, mi mayor ejemplo de fortaleza, por haber transformado cada sacrificio en oportunidad para mí, por haber renunciado a tanto para que yo pudiera llegar hasta aquí, gracias por tu fe en mi incluso cuando todo parecía ser difícil, a mi padre porque de alguna u otra manera estuvo presente.

A mi familia, quienes con su apoyo emocional y consejos me han guiado en cada paso de este camino, los amo.

A Dios, por darme la fortaleza y sabiduría para continuar, a todas las personas que caminaron a mi lado durante este proceso.

A mi querida amistad, mi persona y compañera en este camino, Milena, gracias por las horas de estudio, las risas compartidas, por el “yo te enseño amiga” cuando no entendía algo, y por ese “mentalízate” que siempre nos ha caracterizado, tener tu amistad es un regalo que espero me dure toda la vida. Este logro y esfuerzo es nuestro.

Dedicatoria Milena Mendoza

Dedico este proyecto en primer lugar a Dios, por darme las fuerzas suficientes para seguir adelante a pesar de cada obstáculo, por ayudarme a superarme cada día más, por llenarme de sabiduría y conocimiento en cada etapa de mi carrera.

A mis padres, mis pilares fundamentales de vida, dedico y agradezco de todo corazón cada palabra de aliento, por esos abrazos incondicionales, por ser mi más grande apoyo, gracias a ustedes soy la persona que soy y he podido llegar hasta aquí, gracias por enseñarme todo lo que me han brindado, por cada valor. Son mi ejemplo a seguir, los amo.

A mi abuela, mi segunda madre, que, aunque ya no esté presente sé que desde el cielo está orgullosa de mí y está a mi lado cuidándome. A cada una de las personas que me rodean, por sus consejos, por escucharme y comprenderme, por hacerme sentir parte de su vida, los aprecio eternamente.

A mi amistad más bonita que me ha dado la universidad y ahora compañera de tesis, mi amiga Kenia. Gracias por tanto esfuerzo para este proyecto, por todo este tiempo estudiando juntas, por superar cada adversidad, por esas risas únicas a cada momento, pero, sobre todo gracias por el apoyo emocional que me has brindado siempre, y sí, este logro es nuestro.

Reconocimiento

Queremos expresar nuestros más sinceros agradecimientos a todas las personas que nos han rodeado y brindado su apoyo a lo largo de nuestra carrera, gracias por aportar cada granito de arena para que se hiciera posible este proyecto.

En primer lugar, a la Ing. Angélica Indacochea nuestra tutora de tesis, agradecemos por valiosa orientación, paciencia y disposición para guiarnos en este proceso.

También extendemos nuestros agradecimientos al personal de laboratorio, al Ing. Fernando Veloz, director general, por brindarnos la oportunidad de desarrollar esta tesis y por la guía que nos ha brindado en esta etapa.

Al Ing. Jorge Loor, o como le decimos cariñosamente “cholo”, agradecemos de todo corazón por apoyarnos día a día, por sus enseñanzas, consejos, paciencia, pero sobre todo por siempre estar dispuesto y tener tiempo para ayudarnos en este arduo proceso, estamos seguras de que sin su ayuda esto no sería un éxito. Mas allá de su rol como analista agradecemos también por brindarnos su amistad y por hacernos reír cada día, estaremos eternamente agradecidas por todo, lo queremos.

Índice de Contenido

Certificado de Tutor	III
Declaración de Auditoria.....	IV
Dedicatoria Kenia Aguayo	V
Dedicatoria Milena Mendoza	VI
Reconocimiento	VII
ÍNDICE DE TABLA	XI
ÍNDICE DE FIGURA	XII
ÍNDICE DE ANEXO	XIII
Resumen Ejecutivo	XIV
Abstract.....	XV
Introducción	XVI
Planteamiento del problema	1
Formulación del problema.....	3
Preguntas directrices.....	3
Objetivos.....	4
Objetivo General	4
Objetivos Específicos	4
Justificación	5
Capítulo I	7
1 Fundamentación Teórica.....	7
1.1 Antecedentes Investigativos	7
1.2 Bases Teóricas.....	10
1.2.1 Histamina	10
1.2.1.1. Origen y naturaleza de la Histamina	11
1.2.1.2. Histamina en Productos Pesqueros.....	11
1.2.2 Método Fluorométrico.....	12
1.2.3 Revalidación.....	13

1.3	Marco legal y ambiental.....	14
1.4	Marco metodológico	15
1.4.1	Modalidad Básica de la Investigación.....	15
1.4.2	Enfoque	15
1.4.3	Nivel de investigación.....	16
1.4.4	Población de estudio	17
1.4.5	Tamaño de la muestra.....	17
1.4.6.	Técnicas de recolección de datos	17
1.4.7.	Plan de recolección de datos	18
1.4.8.	Procesamiento de la Información	20
Capítulo II	22
2.	Descripción de la experiencia	22
2.1.	Presentación de la organización/empresa en dónde se desarrolló la experiencia profesional	22
2.1.1.	Tipo de organización, fines, objetivos.....	22
2.1.2.	Estructura organizacional	23
2.1.3.	Descripción del área donde se desarrolla la experiencia	23
2.2.	Delimitación de la experiencia a sistematizar.....	24
2.3.	Métodos para la revalidación.....	24
2.3.1.	Métodos de referencia.....	24
2.4.	Objetivos de validación	25
2.5.	Tiempo o periodo de la experiencia	27
2.6.	Descripción del periodo de la experiencia. Periodización.....	27
2.6.1.	Visión general del desarrollo del proyecto.....	27
2.6.2.	Etapas desarrolladas: cuadro cronológico.....	28
Capítulo III	32
3.	Propuesta de Mejora.....	32

3.1.	Tratamiento estadístico de los resultados obtenidos	32
3.1.1.	Cálculos del Anova	32
3.1.2.	Estimación de los criterios de validación.....	36
3.2.	Estimación de incertidumbre	49
3.2.1.	Declaración del método	49
	Conclusiones	51
	Recomendaciones	52
	Bibliografía.....	53
	Anexo.....	56

ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1 Preguntas Frecuentes.....	19
Tabla 2 Objetivos de Validación.....	25
Tabla 3 Cuadro Cronológico.....	28
Tabla 4 Análisis de Varianza de Conserva de Atún.....	33
Tabla 5 Análisis de Varianza de Camarón.....	33
Tabla 6 Análisis de Varianza de Pescado Blanco.....	34
Tabla 7 Análisis de Varianza de Sardina.....	34
Tabla 8 Análisis de Varianza de Pescado precocido.....	35
Tabla 9 Análisis de Varianza de Pescado Crudo.....	35
Tabla 10 Resumen de los Análisis de Varianza de las matrices.....	36
Tabla 11 Estimación de los Criterios de Validación.....	38
Tabla 12 Estimación de los Criterios de Validación (Atún en Conserva).....	40
Tabla 13 Estimación de los Criterios de Validación (Camarón).....	41
Tabla 14 Estimación de los Criterios de Validación (Pescado Blanco).....	42
Tabla 15 Estimación de los Criterios de Validación (Sardina).....	44
Tabla 16 Estimación de los Criterios de Validación (Pescado Precocido).....	45
Tabla 17 Estimación de los Criterios de Validación (Pescado Crudo).....	46
Tabla 18 Resumen de Estimación de los Criterios de Validación.....	48
Tabla 19 Estimación de Incertidumbre.....	49

ÍNDICE DE FIGURA

Figura 1 Estructura Organizacional del laboratorio CESECCA.....	23
--	----

ÍNDICE DE ANEXO

Anexo 1 Declaración de Método Validado	56
Anexo 2 Dilución del reactivo OPT.....	57
Anexo 3 Solución madre e intermedia	57
Anexo 4 Muestras Fortificadas.....	58
Anexo 5 Peso de cada una de las muestras fortificadas.....	58
Anexo 6 Centrifugación de cada muestra	59
Anexo 7 Fase de reacción de las muestras	59
Anexo 8 Presupuesto.....	60
Anexo 9 Cronograma de Actividades.....	61

Resumen Ejecutivo

Esta investigación tiene como propósito principal revalidar el método analítico crítico para mejorar la seguridad alimentaria y la calidad de los productos pesqueros. Esto surge como respuesta al aumento de preocupación por los riesgos de intoxicación, que son causados por altos niveles de histamina en productos pesqueros mal manejados.

El análisis se va a enfocar en evaluar matrices representativas las cuales son: pescado crudo, camarón, conservas de atún, lomo precocido, sardina y pescado blanco, aplicando el método fluorométrico. Los resultados que vamos a obtener permitirán verificar la precisión y exactitud del método, también la incertidumbre de medición en diferentes contextos. Con esta investigación se busca contribuir al fortalecimiento de la industria pesquera ecuatoriana mediante la revalidación de métodos confiables y que cumplan los estándares internacionales.

Además, destacamos la importancia de garantizar la salud pública, proteger la competitividad de los productos en mercados globales y capacitar al personal técnico del laboratorio. Los resultados no solo aportarán al desarrollo técnico del laboratorio CESECCA-ULEAM EP, sino que también establecerán un referente para futuras investigaciones en el control de calidad alimentaria en Ecuador.

Palabras clave: histamina, método fluorométrico, seguridad alimentaria, revalidación, productos pesqueros

Abstract

The main purpose of this research is to revalidate the critical analytical method to improve food safety and the quality of fishery products. This is in response to growing concerns about the risks of food poisoning caused by high levels of histamine in poorly handled fishery products.

The analysis will focus on representative evaluation matrices: raw fish, shrimp, canned tuna, precooked loin, sardines, and whitefish, applying the fluorometric method. The results obtained will allow us to verify the precision and accuracy of the method, as well as the measurement uncertainty in different contexts. This research seeks to contribute to strengthening the Ecuadorian fishing industry by revalidating reliable methods that meet international standards.

In addition, we emphasize the importance of ensuring public health, protecting the competitiveness of products in global markets, and training laboratory technical staff. The results will not only contribute to the technical development of the CESECCA-ULEAM EP laboratory, but will also establish a benchmark for future research in food quality control in Ecuador.

Key words: histamine, fluorometric method, food safety, revalidation, fishery products.

Introducción

La histamina, es una amina biógena que está presente en productos pesqueros principalmente mal gestionados, el cual representa un riesgo grave para la salud pública al ser la principal causa de intoxicaciones escombroides. Este asunto adquiere importancia debido a la alta sensibilidad del compuesto a condiciones de almacenamiento inadecuadas, que favorecen su acumulación en pescados como el atún, la caballa y la sardina. Por esto, la detección exacta es un requisito esencial para asegurar la inocuidad alimentaria y salvaguardar a los consumidores.

En Ecuador, el sector pesquero es esencial para la economía, principalmente en la provincia de Manabí, una de las exportadoras de atún y sus derivados. Aunque existan normativas destinadas a reducir los riesgos, la detección de histamina se topa con desafíos grandes debido a las limitaciones en infraestructura, personal técnico y tecnologías actualizadas en los laboratorios locales. El laboratorio CESECCA-ULEAM EP juega un papel crucial en la supervisión, regulación y control de calidad, usando métodos como la fluorimetría para evaluar la seguridad de los productos pesqueros.

El método fluorométrico, famoso por su gran sensibilidad y rapidez, facilita la identificación de niveles bajos de histamina en diversas matrices de alimentos. No obstante, el crecimiento constante de las normativas internacionales y la exigencia de garantizar la confiabilidad de los resultados exigen la revalidación de este procedimiento analítico. Esto asegura que el método cumpla con estándares de precisión y sensibilidad, potenciando la habilidad técnica del laboratorio y optimizando la calidad de los análisis realizados.

Con este estudio buscamos revalidar el análisis de histamina a través del método fluorométrico en diversas matrices pesqueras. Con este procedimiento, esperamos contribuir a la optimización de los procedimientos de control de calidad alimentaria en el laboratorio CESECCA-ULEAM EP, también disminuir los peligros para la salud pública y garantizar la competitividad de los productos pesqueros en el Ecuador.

Planteamiento del problema

La aseguración de la calidad alimentaria ha adquirido una importancia fundamental en la industria pesquera, impulsada por el incremento en el consumo de productos marinos y la expansión del comercio internacional.

A nivel mundial, la detección y el control de histamina en productos pesqueros representan un desafío crucial para los países exportadores de pescado. Estudios recientes revelan que muchas naciones en desarrollo siguen enfrentando dificultades para establecer controles de calidad adecuados en sus cadenas de suministro pesquero. La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) ha advertido que la ausencia de infraestructuras y tecnologías avanzadas para la detección de histamina puede incrementar el riesgo de intoxicaciones alimentarias y comprometer la competitividad en los mercados internacionales.

En América Latina, la industria pesquera es fundamental para la economía y la seguridad alimentaria, pero también enfrenta serios desafíos en cuanto a la calidad de sus productos. Uno de los principales problemas es la contaminación por histamina, que puede surgir en pescados como el atún y la caballa si no se manejan adecuadamente. La histamina es una toxina que se genera por la descomposición de ciertos aminoácidos en pescados mal conservados, y su ingesta puede provocar reacciones tóxicas en los consumidores, conocidas como "intoxicaciones escombroides" (Biji, 2016). En muchos países latinoamericanos, la capacidad técnica y los recursos para implementar controles de calidad en toda la cadena de suministro son insuficientes, lo que incrementa el riesgo de contaminación y limita la competitividad en los mercados internacionales. Se han reportado brotes de intoxicación por histamina en diversos países de la región, lo que subraya la necesidad de implementar métodos de análisis más rigurosos y confiables para detectar esta sustancia en los productos del mar, según (FAO, 2022).

La industria pesquera es una de las principales fuentes de exportación. La costa ecuatoriana, con su gran producción de atún y otras especies, está bajo constante supervisión para asegurar que los productos cumplan con las normativas internacionales. No obstante, se ha observado la necesidad de fortalecer los

métodos analíticos y asegurar la capacitación del personal para garantizar un monitoreo eficiente de la histamina en los productos (Torres & Iriarte, 2013).

A nivel nacional, Ecuador ha avanzado en la implementación de normativas y procedimientos para el control de histamina en productos pesqueros destinados tanto para el consumo interno como para la exportación. El Instituto Nacional de Pesca (INP) ha realizado esfuerzos importantes en la modernización de laboratorios y la adopción de técnicas avanzadas de análisis, como el método fluorométrico. Sin embargo, la capacidad de los laboratorios a lo largo del país sigue siendo limitada, lo que ha provocado que algunos productos no cumplan con los estándares internacionales de seguridad alimentaria. Es por ello por lo que la validación y revalidación de estos métodos en laboratorios locales se vuelve esencial para mejorar la capacidad técnica y proteger la salud de los consumidores (INP, 2018).

A nivel estatal, en la provincia de Manabí, los laboratorios locales, como el CESECCA-ULEAM EP, juegan un papel crucial en la validación de métodos como el fluorométrico para garantizar la inocuidad de los productos pesqueros que se comercializan y exportan desde este puerto. La revalidación de estos métodos es esencial para asegurar que los productos cumplan con los estándares nacionales e internacionales (Mero, 2022).

La necesidad de revalidar el método fluorométrico para el análisis de histamina en este laboratorio surge de varias problemáticas identificadas. Uno de los principales problemas detectados en el laboratorio es la variabilidad en los resultados de los análisis de histamina. Sin una estandarización adecuada de los procedimientos y la calibración correcta de los equipos, los resultados obtenidos pueden no ser consistentes. (López, Sánchez, & Gómez, 2020). Asimismo, aunque el laboratorio cuenta con equipos para realizar análisis de histamina, no todos están optimizados ni calibrados correctamente. Esto puede afectar la sensibilidad y la especificidad del método, lo cual es fundamental para detectar concentraciones peligrosas de histamina. La falta de normativas estandarizadas en el laboratorio dificulta también la capacidad de cumplir con las regulaciones cada vez más estrictas sobre la seguridad alimentaria y el control de calidad en productos pesqueros, lo que puede tener implicaciones económicas para los productores y procesadores locales.

Otro desafío importante es la falta de recursos adecuados y equipos de última generación en el laboratorio. Aunque el CESECCA-ULEAM EP dispone de los equipos básicos necesarios para realizar el análisis de histamina, algunos de estos equipos no están optimizados para obtener los resultados más precisos, y la falta de calibración adecuada puede afectar la fiabilidad de los análisis (CESECCA-ULEAM EP, 2023).

Finalmente, la calidad y la seguridad de los productos pesqueros son esenciales para mantener la confianza del consumidor. Si los análisis de histamina no son válidos y confiables, esto puede afectar la percepción de los consumidores sobre la seguridad de los productos del mar en la región, lo que podría llevar a una disminución en la demanda y, en consecuencia, afectar la economía local.

Formulación del problema

- ¿Cómo impactará la revalidación del método de análisis de histamina y el cálculo de la incertidumbre de medición en las distintas matrices en el laboratorio CESECCA, para asegurar la validez y confiabilidad de sus resultados obtenidos?

Preguntas directrices

- ¿Cuáles son las matrices para realizar los análisis de histamina por el método fluorométrico que aseguren la confiabilidad del procedimiento?
- ¿Qué resultados estadísticos se obtienen a partir de los análisis de histamina realizados en las matrices definidas?
- ¿Cómo se puede estimar la incertidumbre del método fluorométrico para determinar las contribuciones relevantes en el desarrollo del procedimiento analítico?
- ¿Cómo se puede formalizar la validación del método fluorométrico para el análisis de histamina, garantizando que los procedimientos cumplan con los estándares de calidad establecido?

Objetivos

Objetivo General

- Revalidar el análisis de histamina por el método fluorométrico para el aseguramiento de la validez de los resultados en el área de cromatografía del laboratorio CESECCA-ULEAM EP de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.

Objetivos Específicos

- Definir las matrices para la realización de los análisis de histamina por fluorimetría que servirían para la revalidación del método
- Realizar los análisis de histamina en las matrices definidas para la obtención de los resultados de forma estadística.
- Estimar la incertidumbre del método para la definición de las contribuciones en el desarrollo del procedimiento analítico.
- Elaborar la declaración del método validado para la confirmación del aseguramiento de la validez del resultado del método de fluorimetría por histamina.

Justificación

La existencia de histamina en productos pesqueros supone un alto riesgo a la salud pública, ya que puede provocar graves intoxicaciones alimentarias si los niveles exceden los límites permitidos. La histamina es una toxina que, en cantidades altas, puede provocar serios problemas de salud pública.

El propósito que tenemos para esta investigación es verificar la eficacia y exactitud del método fluorométrico en el análisis de histamina. La revalidación favorece a toda la comunidad, principalmente a los consumidores de productos pesqueros, al disminuir el riesgo de exposición a niveles tóxicos de histamina. Además, esto ayudará a los productores y distribuidores del sector pesquero, dado que un correcto control de calidad adecuado incrementa la confianza del consumidor y el valor de los productos en el mercado.

Nuestra investigación es confiable y factible ya que se dio en el laboratorio CESECCA-ULEAM que dispone de los equipos requeridos y personal capacitado para realizar el análisis por el método fluorométrico. Además, la entidad tiene el acceso a productos pesqueros locales, lo cual facilita la recolección de muestras para efectuar las pruebas comparativas. Tenemos la necesidad de garantizar un control de calidad preciso y confiable en los productos pesqueros de Manabí, el cual es una región donde este sector es clave para la economía y el bienestar de la población. La problemática de la intoxicación por histamina requiere una estrategia preventiva y de alta precisión en la identificación, y la revalidación del método fluorométrico es fundamental para que alcancemos estos objetivos.

El estudio resuelve la problemática de la incertidumbre en los análisis de histamina, asegurando que los métodos utilizados sean precisos y se ajusten a los estándares nacionales e internacionales. La revalidación nos permite detectar y corregir posibles fallos en el procedimiento vigente, asegurando que las evaluaciones de histamina realizadas por el laboratorio sean confiables y efectivas. Esto contribuye a la prevención de intoxicaciones alimentarias y mejora la calidad de los productos pesqueros en el mercado.

En la actualidad, el laboratorio CESECCA utiliza el método fluorométrico para identificar histamina en productos pesqueros, un método que es conocido por su

habilidad para realizar análisis rápido y precisos. No obstante, en el transcurso del tiempo y las modificaciones en las normativas de calidad, resulta imprescindible realizar una revalidación de este método para garantizar que continúa siendo exacto, fiable y apropiado para los estándares vigentes.

Llevamos a cabo una serie de pruebas controladas en las que se aplicará el método fluorométrico vigente a muestras representativas de productos pesqueros locales. Se valorarán aspectos como precisión, exactitud y sensibilidad del método, a través de la comparación de los resultados logrados con los estándares de referencia y mediante ensayos repetitivos que faciliten la identificación de cualquier variación en los resultados.

Capítulo I

1 Fundamentación Teórica

1.1 Antecedentes Investigativos

(Chóez Delgado , 2023), en Guayaquil, Ecuador, realizó un estudio titulado "Determinación de los niveles de histamina en las especies de pescados más vendidos en el Mercado Saucos IX de Guayaquil", con el objetivo de analizar los niveles de histamina en las especies más comercializadas y evaluar el manejo de los mesones en términos de inocuidad alimentaria. Se identificaron especies como Albacora, Corvina, Dorado, Picuda, entre otras, mediante una encuesta y se midieron sus concentraciones de histamina. Los resultados mostraron que la Albacora y la Picuda presentaron niveles bajos de histamina, mientras que la Corvina y el Dorado mostraron concentraciones más elevadas, aunque el 98% de las muestras se encontraban por debajo de los 5 mg/kg, considerado seguro. En cuanto a los 34 mesones del mercado, el 77% cumplía con las normas de inocuidad, aunque aún faltaban implementos en algunos puntos. El estudio concluyó con recomendaciones para capacitar a los vendedores en el uso de materiales adecuados, además de sugerir investigaciones adicionales sobre histamina y otras aminas biógenas, como la cadaverina y putrescina, en especies de otros mercados de la ciudad.

(Zambrano Alcívar, 2020), en Manabí, Ecuador, desarrolló el "Programa de vigilancia ambiental para bacterias formadoras de histamina en la línea de atún precocido congelado de la empresa Marbelize S.A.", con el objetivo de implementar un sistema de control de bacterias formadoras de histamina en las etapas críticas de procesamiento del atún. Utilizando hisopos húmedos según la norma ISO 18593 (2018) y estudios previos de Gingerich et al. (2001), se identificaron cuatro etapas de riesgo: enfriamiento, acondicionamiento, limpieza y empaque. Se realizaron análisis microbiológicos, encontrando resultados atípicos en el 25% de los puntos de muestreo de superficies, principalmente en áreas como bandejas plásticas, balanzas de piso y zonas de preparación, enlatado y túneles de congelación, aunque no se detectaron anomalías en el aire. El programa establece límites de alerta y acción para controlar las bacterias en superficies y aire, utilizando el agar modificado de Niven's para el análisis e interpretación de los resultados. Se concluyó que el

programa debe ser revisado anualmente o cuando ocurran cambios en los procesos o equipos, con el fin de asegurar resultados consistentemente negativos y aplicar medidas correctivas cuando se superen los límites establecidos.

(Rivera Figueroa, 2020), en un estudio descriptivo observacional en la Universidad Nacional "José Faustino Sánchez Carrión", evaluó la "Determinación de histamina en muestras de pescado perico (*Coryphaena hippurus*) en la empresa pesquera Exalmar S.A. – Carquín". Se concluyó que el 18.7% de las muestras (3 de 8 puestos analizados) superaron el límite de 50 ppm permitido por la FDA, lo que representa un riesgo potencial para la salud del consumidor. Sin embargo, más del 80% de las muestras contenían niveles bajos de histamina, lo que indicaba que la mayoría del pescado comercializado en el mercado Modelo del Callao no era perjudicial. Las muestras con niveles elevados mostraron recurrencia en tres puestos específicos a lo largo de las semanas de muestreo. Se recomendó capacitar a los vendedores sobre el control de las condiciones de almacenamiento, especialmente manteniendo el pescado en hielo durante el transporte y almacenamiento, para preservar las características organolépticas y prevenir la formación de histamina. Además, se sugirió continuar la monitorización de histamina en otros mercados y especies, utilizando análisis rutinarios con el método ELISA para garantizar que los productos cumplan con los límites establecidos.

(Villalobos Meneses, 2022), en su trabajo titulado "Determinación de histamina en pescado por cromatografía líquida con detección ultravioleta" en la Universidad Nacional Campus Omar Dengo, realizó una revisión bibliográfica de diversas metodologías de análisis de histamina en pescado fresco, abarcando desde métodos semicuantitativos de bajo costo, pero baja sensibilidad hasta métodos cualitativos cromatográficos más costosos y validados. La investigación propuso y validó un método cuantitativo que no requiere derivatización post-columna, destacándose por su simplicidad, economía, sensibilidad y especificidad, en comparación con otras metodologías más caras como el método fluorométrico con pre o post derivatización. Adicionalmente, sugirió la posibilidad de aplicar esta metodología para determinar otras aminas biogénicas como putrescina o cadaverina, y recomendó optimizar las condiciones cromatográficas mediante la limpieza del sistema y la modificación del pH en la fase móvil. La metodología, que

utiliza una mezcla de Etanol 75% / HCl 0.1 N como disolvente, demostró una excelente recuperación de histamina en muestras de pescado fresco.

(Cedeño Mendoza, Vargas Zambrano, Talledo Solórzano, & Cuenca Nevárez, 2021), en su artículo titulado "Evaluación microbiológica de pescado fresco albacora (*Thunnus alalunga*) en el mercado central del cantón Chone" publicado en la Revista de las Agro Ciencias, llevaron a cabo un estudio en el mercado municipal del cantón Chone. El objetivo fue evaluar la calidad microbiológica del pescado albacora, encontrando que las muestras contenían aerobios mesófilos, enterobacterias, *Salmonella-Shigella*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* dentro de los límites establecidos por la normativa NTE INEN 183-2013, con excepción de *Escherichia coli* que excedió los niveles permitidos. Además, se detectaron niveles elevados de histamina, con una media de 7,0625 mg por cada 100 g, superando los límites normativos. Los autores recomiendan documentar la presencia de enterobacterias, las cuales son responsables de la formación de aminas biógenas en condiciones de temperaturas entre 20°C y 37°C, como las que se registran en el mercado de estudio (Cedeño Mendoza, Vargas Zambrano, Talledo Solórzano, & Cuenca Nevárez, 2021).

Basándonos en el análisis de las investigaciones que fueron previamente examinadas, podemos deducir que la existencia de histamina y otras bacterias dañinas en productos pesqueros, tales como: el atún, la albacora y otros, supone un peligro considerable para la salud de quien lo consume. Las diferentes investigaciones, coinciden en la importancia de establecer programas de monitoreo ambiental y microbiológico para regular los niveles de histamina en pescados frescos y procesados. La investigación nos enfatiza en la relevancia de emplear técnicas de análisis particulares, tales como la cromatografía líquida, ELISA y la utilización de medios de cultivo modificados, para identificar niveles altos de histamina y otras biogénicas aminas peligrosas. Adicionalmente, los estudios de Cedeño (2021) subrayan que la incorrecta gestión de la cadena de frío en los mercados locales puede intensificar la proliferación de las bacterias generadoras de histamina. En general, estos antecedentes nos indican la necesidad de una mayor formación para los manipuladores de alimentos, además de una supervisión constante y la aplicación de técnicas eficaces para evitar intoxicaciones alimentarias vinculadas a la histamina en productos pesqueros.

1.2 Bases Teóricas

1.2.1 Histamina

La histamina es una amina biogénica que se forma en los tejidos de los peces mediante la descarboxilación de histidina libre, un proceso facilitado por descarboxilasas exógenas producidas por microorganismos. Estas aminas biógenas se encuentran de manera natural en las branquias y el intestino de peces marinos vivos sin causarles daño; sin embargo, tras la muerte del pez, los mecanismos de defensa que inhiben el crecimiento bacteriano dejan de funcionar, lo que permite que las bacterias productoras de histamina proliferen. Generalmente, para prevenir la formación de histamina, se recomienda congelar los peces inmediatamente después de su muerte, especialmente aquellos expuestos a aguas o aire cálido, así como los atunes que generan calor en sus tejidos. En la industria, este proceso se realiza en buques pesqueros equipados con sistemas de congelación ultrarrápida, lo que permite mantener los niveles de histamina y microorganismos dentro de límites aceptables, al menos durante el almacenamiento en alta mar y el transporte a las plantas de procesamiento (Arízaga Collantes, Bonilla Revelo, & Ramos Guerrero, 2022).

La contaminación del pescado con histamina ocurre debido a un manejo inadecuado y a la producción de esta sustancia por acción bacteriana. A pesar de que el papel de la histamina como “toxina” en alimentos marinos en relación con el envenenamiento escombroideas no se comprende completamente, su detección y el cumplimiento de los niveles de tolerancia resultan útiles para fines de control. Otras especies de pescado que no pertenecen a los escómbridos, como el dorado (*Coryphaena* spp), la sardina (*Sardinella* spp) y la anchoveta (*Engraulis* spp), entre otras, también se encuentran implicadas en esta problemática debido a que presentan altos niveles de histidina libre (Barba , y otros, 2012).

La histamina es un tipo de amina biógena, vital y necesaria para la vida, que se forma en los alimentos –en todos, ya sean de origen animal o vegetal- por la acción de enzimas de los microorganismos a partir de los aminoácidos precursores. Esta histamina ingerida es usada por neuronas del sistema nervioso central que la sintetizan y liberan como neuromodulador, pero fuera del sistema nervioso central es un mediador de medios fisiológicos que se encuentra

fundamentalmente en células cebadas del tejido conectivo y basófilos (un tipo de leucocitos) de la sangre periférica (Roura, 2023).

1.2.1.1. Origen y naturaleza de la Histamina

La histamina se origina a partir de la histidina, la cual se convierte mediante la acción de la enzima histidind Descarboxilasa, que utiliza la vitamina B6 como cofactor. Este proceso ocurre en el aparato de Golgi, donde la histamina se almacena en los gránulos formando un complejo con los proteoglicanos (López F. M., 1999).

Las aminas biógenas, como la histamina, se generan en los alimentos a través de la acción de enzimas descarboxilasas producidas por microorganismos a partir de aminoácidos precursores. Esto contrasta con las aminas naturales o fisiológicas, que se originan durante procesos metabólicos en plantas y animales. La formación y cantidad de estas aminas biógenas pueden variar según la cepa de microorganismos y las condiciones ambientales en las que se desarrollan. Además, la posibilidad de diferentes rutas biosintéticas y la interacción de diversos tipos de microorganismos complican la determinación precisa de su origen en los alimentos ya que producen las enzimas descarboxilasas responsables de la formación de estas aminas pueden ser bacterias lácticas, enterobacterias y otros tipos de bacterias asociadas con la descomposición de alimentos (Duelo, 2013).

La histamina se produce debido a la proliferación de bacterias Gram negativas presentes de forma natural en el pescado, como *Morganella morganii*, *Raoultella planticola* y *Enterobacter aerogenes*. Estas bacterias son mesófilas, por lo que es fundamental controlar la temperatura para prevenir la formación de histamina. Se recomienda que los productos pesqueros con riesgo de generar histamina sean enfriados a menos de 4 °C inmediatamente después de su captura, especialmente cuando la temperatura del aire o del agua supera los 28,3 °C (Iriarte & Torres, 2013).

1.2.1.2. Histamina en Productos Pesqueros

La histamina es un compuesto biogénico que se produce a partir de la descarboxilación del aminoácido histidina, aborda la preocupación por la histamina como un contaminante en productos del mar, enfatizando su potencial efecto tóxico en la salud humana. Aunque se encuentra naturalmente en diversos alimentos, su acumulación en pescados y mariscos, especialmente cuando no se mantienen las

condiciones adecuadas de conservación, puede ser peligrosa (Gonzales & Noyola, 2014).

Para la detección de histamina en productos pesqueros, se han desarrollado varios métodos analíticos. Entre ellos, la fluorimetría se destaca por su alta sensibilidad y especificidad. Este método permite la cuantificación precisa de histamina incluso en concentraciones muy bajas, lo que lo convierte en una herramienta eficaz para el control de calidad en la industria pesquera. La fluorimetría se basa en la medición de la luz emitida por los compuestos fluorescentes en respuesta a una excitación lumínica, facilitando así la detección rápida de histamina en diversas matrices alimentarias (López & Martínez, 2018).

La acumulación de histamina es particularmente preocupante en condiciones de almacenamiento inadecuado, donde las bacterias pueden prosperar y producir este compuesto en cantidades peligrosas. La intoxicación por histamina, que puede manifestarse en síntomas como erupciones cutáneas, dolores de cabeza y en casos graves, reacciones anafilácticas, representa un riesgo significativo para la salud pública. Los métodos analíticos para la detección de histamina en productos pesqueros son fundamentales para garantizar la seguridad alimentaria. Existen varias técnicas que se han desarrollado para este propósito, cada una con sus ventajas y desventajas. La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es uno de los métodos más utilizados, ya que permite la separación y cuantificación precisa de la histamina en matrices complejas como el pescado. Este método, aunque eficaz, requiere equipos costosos y técnicos capacitados para su operación (García & Sánchez, 2016).

1.2.2 Método Fluorométrico

La fluorimetría tiene una sensibilidad aproximadamente 1000 veces mayor que la espectrofotometría, lo que la hace más propensa a errores. Cada error en las técnicas se amplifica por un factor de 1000; además de los errores de pipeteo, también se presentan otros errores en el análisis fluorométrico (Dharan, 2021).

El método fluorométrico es una técnica analítica que se basa en la propiedad de ciertos compuestos químicos de emitir luz (fluorescente) después de haber sido excitados por radiación electromagnética. Este fenómeno de fluorescencia ocurre cuando una sustancia absorbe energía de una fuente de luz, elevando los electrones

a un estado excitado. Posteriormente, los electrones regresan a su estado fundamental, liberando la energía absorbida en forma de luz de una longitud de onda mayor.

Este principio fundamental permite la identificación y cuantificación de compuestos en diversas matrices, como alimentos, productos biológicos y ambientales. El proceso de análisis fluorométrico comienza con la excitación de la muestra mediante una fuente de luz, que puede ser una lámpara de xenón o un láser. Esta luz de longitud de onda específica excita los electrones del analito presente en la muestra. Tras la excitación, se produce la emisión de luz fluorescente, que es recogida y medida por un fotodetector. La intensidad de la luz emitida se correlaciona directamente con la concentración del analito en la muestra, lo que permite su cuantificación precisa (Holler & Crouch, 2018).

El método fluorométrico se ha consolidado como una herramienta esencial en la cuantificación de compuestos biológicamente relevantes debido a su alta sensibilidad y especificidad. En particular, para la determinación de histamina, este método implica la derivatización del compuesto con o-ftalaldehído (OPA), lo que genera un producto fluorescente que puede ser cuantificado con precisión. Esta técnica permite detectar niveles muy bajos de histamina en muestras biológicas y alimentarias, lo que es crucial para estudios de seguridad alimentaria y respuestas alérgicas (Perez & Gómez, 2020).

1.2.3 Revalidación

La revalidación de métodos analíticos es un paso crítico cuando se introducen cambios significativos en el procedimiento o cuando hay una necesidad de confirmar que los resultados siguen siendo consistentes bajo nuevas condiciones. La revalidación de métodos analíticos es un proceso clave en el ámbito de los laboratorios, particularmente en aquellos que operan bajo normativas estrictas, como los laboratorios de control de calidad, farmacéuticos o alimentarios. Este proceso asegura que los métodos analíticos continúan proporcionando resultados válidos y fiables después de haber sido validados inicialmente. La revalidación puede ser necesaria en varias circunstancias, como cambios en los reactivos, equipos, operadores o condiciones ambientales (Martínez & Rodríguez, 2018).

La revalidación de métodos analíticos es un proceso crítico en los laboratorios de ensayo, especialmente en industrias reguladas como la farmacéutica y alimentaria. Este proceso asegura que un método analítico sigue cumpliendo con los criterios de desempeño establecidos tras cualquier modificación significativa en los procedimientos, equipos o reactivos. Según (Snyder, Kirkland, & Dolan, 2010), la revalidación implica una revisión exhaustiva de los parámetros analíticos que incluyen precisión, exactitud, linealidad, límite de detección y robustez. Estos parámetros son fundamentales para garantizar que los resultados obtenidos continúen siendo confiables y válidos en el contexto de nuevas condiciones de operación.

El autor (Miller & Miller, 2018) enfatizan que la revalidación no solo se aplica cuando hay cambios en el método, sino también como parte de un enfoque proactivo para la gestión de calidad en los laboratorios. Este enfoque es vital para asegurar que los métodos utilizados para analizar compuestos, como la histamina en productos alimenticios, cumplan con los estándares regulatorios y protejan la salud pública. Por lo tanto, la revalidación se convierte en un proceso continuo que forma parte integral de la calidad analítica y del cumplimiento normativo.

1.3 Marco legal y ambiental

Constitución de la república del Ecuador

La Constitución de Ecuador establece los derechos fundamentales de los ciudadanos, y varios artículos están relacionados con la salud pública, el derecho a la alimentación y el control de calidad en productos de consumo humano (Asamblea Nacional Constituyente, 2008)

- **Art. 32:** "La salud es un derecho que garantiza el Estado, cuya realización se vincula al ejercicio de otros derechos, entre ellos el derecho al agua, a la alimentación, a la educación física, a la cultura física, al trabajo, a la seguridad social, a los ambientes sanos y otros que sustentan el buen vivir."
- **Art. 361:** "Establece la responsabilidad del Estado en la regulación, control y planificación de la salud pública, promoviendo el acceso seguro a servicios y productos sanitarios."

Ley Orgánica de Salud

- **Art. 4** “El MSP tiene la facultad de normar y controlar las actividades de salud pública y asegurar el cumplimiento de las normativas sanitarias. Para el análisis de histamina en alimentos, esta ley implica que los laboratorios deben seguir estrictamente las disposiciones de vigilancia y control de seguridad alimentaria bajo los protocolos del MSP” (Ministerio de Salud Pública del Ecuador, 2023).

1.4 Marco metodológico

1.4.1 Modalidad Básica de la Investigación

Esta investigación se lleva a cabo de forma experimental y de campo. Esto implica que el estudio se realizará a través de pruebas controladas en el laboratorio CESECCA-ULEAM EP, donde se gestionará condiciones particulares para utilizar el método fluorométrico y valorar su efectividad en la identificación de histamina en productos pesqueros. Simultáneamente, se realizarán a cabo observaciones en el entorno real del laboratorio para garantizar que los resultados cumpla el régimen que demanda el laboratorio.

1.4.2 Enfoque

El enfoque de la investigación va a ser mixto, que va a conllevar el uso de métodos tanto cuantitativos como cualitativos. Al integrar ambos, lograremos una visión más completa y nos facilitará la toma de decisiones para la implementación del método en el laboratorio, cumpliendo con las exigencias regulatorias como a las necesidades del personal técnico.

Enfoque cuantitativo

El enfoque se centra en la recopilación y estudios de datos numéricos concretos a cerca de la concentración de histamina en productos pesqueros, utilizando el método fluorométrico. Los resultados que se obtendrán a partir de los ensayos experimentales se examinarán de manera estadística para determinar la precisión, la sensibilidad y la exactitud del método. Esto implica calcular el límite de detección y cuantificación del procedimiento, además de verificar la reproducibilidad y repetibilidad de los resultados en las diversas muestras. Este enfoque nos

posibilita evaluar el desempeño técnico del método y su conformidad con las exigencias de las normativas de detección de histamina.

Enfoque cualitativo

Además del enfoque cuantitativo, el enfoque cualitativo examinará elementos no numéricos, tales como la capacidad del método fluorométrico al contexto específico del laboratorio CESECCA-ULEAM EP y la opinión de los técnicos y profesionales que aplicarán en este procedimiento. Vamos a tomar en cuenta elementos como la facilidad de uso, el tiempo necesario para obtener resultados, y cualquier restricción técnica que pudiera afectar en su aplicación diaria. Este enfoque nos facilitará la identificación, comprensión y desafíos del método desde una perspectiva práctica y operativa.

1.4.3 Nivel de investigación

Descriptivo

En esta etapa, proporcionaremos una caracterización detallada del método fluorométrico para la hallar la detección de histamina, incluyendo su procedimiento, principios de funcionamiento, equipos necesarios y condiciones de laboratorio específicas. También, describiremos el contexto en el cual se emplea este método en el laboratorio CESECCA-ULEAM EP, considerando los tipos de muestras de productos pesqueros que vamos a analizar, las condiciones de almacenamiento y otros factores que puedan influir en los resultados de las pruebas. Este nivel descriptivo ofrece presentar una base sólida y completa sobre el método y su entorno de uso, simplificando la comprensión del estudio

Explicativo

En el nivel explicativo, el objetivo es identificar y analizar los factores que influyen en la precisión y efectividad del método fluorométrico. Exploraremos cómo las diferentes variables del procedimiento (tales como el tiempo de reacción, la temperatura, y la concentración de reactivos) influyen los resultados de la medición de histamina. Además, realizaremos por qué este método es adecuado o no en comparación con otros métodos alternativos. La investigación explicativa nos ayudará a entender las causas de cualquier variabilidad en los resultados y a justificar la importancia del método en la detección de histamina.

Comparación

Este nivel de investigación se enfocará en comparar los resultados que vamos a obtener del método fluorométrico con los obtenidos mediante otros métodos, si fuera posible, o con los valores de referencia que son aceptados en normativas internacionales.

1.4.4 Población de estudio

La población para esta investigación corresponde a las diferentes matrices que hemos escogido para la revalidación del método de detección de histamina mediante fluorimetría. Estas matrices incluyen pescado crudo, camarón, conservas de atún, lomo precocido, sardina y pescado blanco. Cada una de estas matrices nos simboliza una posible fuente de histamina, importante en el análisis de calidad y seguridad de los alimentos. La selección de esta población nos facilita una evaluación del método en un rango amplio de productos pesqueros, promoviendo su utilidad en diversas clases de alimentos procesados y no procesados.

1.4.5 Tamaño de la muestra

Para esta revalidación del análisis de histamina mediante el método fluorométrico en el laboratorio CESECCA-ULEAM EP, escogimos seis matrices de alimentos ya mencionadas anteriormente (pescado crudo, camarón, conservas de atún, lomo precocido, sardina y pescado blanco) estos son representantes de productos marinos donde es importante el estudio de histamina debido a la posible formación de la amina biógena en condiciones de conservación inadecuadas. Para asegurar la precisión, exactitud, reproducibilidad y repetibilidad del método, optamos por trabajar con tres niveles de concentración de histamina (bajo, medio y alto) que abarque el rango previsto en estas matrices.

Para cada matriz, llevaremos a cabo cinco repeticiones diarias durante cinco días, abarcando así posibles variaciones diarias y replicando en cada nivel de concentración. El número de muestras nos facilitará la evaluación estadística del rendimiento del método bajo diferentes condiciones, asegurando su confiabilidad en cada tipo de matriz que vamos a evaluar.

1.4.6. Técnicas de recolección de datos

La recolección de datos se llevará a cabo mediante técnicas analíticas de laboratorio usando fluorimetría para la cuantificación de histamina en las muestras. Este método permite la detección y cuantificación precisa de histamina en alimentos,

proporcionando datos confiables para el análisis estadístico. Adicionalmente, se emplearán un registro para la determinación de histamina.

1.4.7. Plan de recolección de datos

El plan de recolección de datos que vamos a utilizar para la revalidación del método de identificación de histamina por fluorimetría en diversas matrices alimentarias se organiza en varias etapas, asegurando precisión y control en cada fase.

1. Selección y preparación de muestras:

- **Selección:** Seleccionaremos de manera aleatoria muestras representativas de cada matriz alimentaria ya mencionadas anteriormente.
- **Preparación:** Estas muestras serán tratadas según protocolos establecidos, donde incluimos pasos para evitar la degradación de histamina durante el transporte y almacenamiento. La conservación de estas muestras se hará a temperaturas controladas, y emplearemos procedimientos de homogeneización para asegurar que las muestras sean representativas.

2. Aplicación del método de fluorimetría:

- **Estandarización del Proceso:** El análisis lo realizamos siguiendo el método fluorométrico que está estandarizado, incluyendo ajustes y calibración de los equipos para que así obtengamos mediciones precisas.
- **Control de calidad interno y externo:** Durante cada sesión de análisis, vamos a incluir controles de histamina de concentraciones conocidas para verificar la exactitud del método. Además, vamos a realizar pruebas en blanco para evitar contaminaciones cruzadas.
- **Procedimientos de duplicación y triplicación:** Cada muestra será analizada varias veces para evaluar la repetibilidad del método y reducir errores asociados a la variabilidad instrumental.

3. Registro de Resultados en Base de Datos:

- **Estructuración de los datos:** Los datos los vamos a registrar en una base de datos que está estructurada con categorías específicas para cada matriz y análisis. La base incluirá campos como tipo de muestra, fecha de análisis, valores de histamina detectados, y observaciones sobre el proceso.

4. Almacenamiento de muestras y documentación:

- **Conservación:** Las muestras que analizaremos se conservarán durante un tiempo predefinido, de acuerdo con las políticas del laboratorio y los requisitos del estudio, para posibles reanálisis si son necesarios.
- **Documentación detallada:** Todo este proceso, desde la preparación de la muestra hasta el análisis y almacenamiento, lo documentaremos en registros detallados que incluirá fechas, operadores responsables, y cualquier incidencia o ajuste realizado en el método de análisis.

Tabla 1

Preguntas Frecuentes.

N°	Preguntas Frecuentes	Explicación
1	¿Para qué?	Para revalidar el análisis de histamina mediante el método fluorométrico, para garantizar la precisión y confiabilidad en los resultados que obtendremos en el laboratorio CESECCA
2	¿De qué personas?	Personal técnico y académico del laboratorio.
3	¿Sobre qué aspectos?	Precisión, sensibilidad, y repetitividad del método fluorométrico para la detección de histamina, además del cumplimiento de normas técnicas internacionales.
4	¿Quién investiga?	Investigadoras: Aguayo Cedeño Kenia Nayely Mendoza Saltos Milena Monserrate
5	¿Cuándo?	Junio 2025
6	¿Dónde?	En el laboratorio CESECCA-ULEAM EP de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.

7	¿Cuántas veces?	Repeticiones necesarias para garantizar la validación del método (generalmente múltiples pruebas, según normas establecidas).
8	¿Qué técnica de recolección?	Análisis experimental basado en protocolos estandarizados y registro de datos. Los datos serán recopilados en una ficha técnica.
9	¿Con que?	Equipos de análisis fluorométrico, reactivos específicos para histamina, y hojas de registro de datos.
10	¿En qué situación?	Realizando experimentos en el laboratorio bajo condiciones controladas y documentando cada procedimiento.

1.4.8. Procesamiento de la Información

Esta investigación sigue un enfoque estadístico riguroso que va a asegurar la validez y fiabilidad de los resultados obtenidos mediante el método de fluorimetría. El proceso se llevará a cabo en las siguientes etapas:

1. Organización y estandarización de datos:

Realizaremos una verificación inicial de los datos registrados en la base de datos para identificar posibles resultados erróneos en los valores de histamina. Luego, todos los resultados de histamina se estandarizan en unidades homogéneas (ppm) para así facilitar las comparaciones entre matrices, considerando el peso de las muestras y otros factores relevantes.

2. Pruebas de repetitividad y reproducibilidad:

Examinaremos la variabilidad tanto dentro de las muestras como entre diferentes muestras de la misma matriz. Para ello, vamos a realizar pruebas de repetitividad y reproducibilidad mediante análisis de varianza (ANOVA) y se calculará el coeficiente de variación. También analizaremos el desempeño del equipo de fluorimetría a través de los resultados de las pruebas de control de

calidad, con el objetivo de ajustar los parámetros del equipo y asegurar una precisión constante en las mediciones.

3. Validación de resultados mediante comparación con métodos de referencia:

- **Comparación con estándares:** Realizaremos una comparación de los resultados obtenidos con los valores de referencia, utilizando pruebas de hipótesis para determinar si existen diferencias estadísticamente significativas.

4. Interpretación y presentación de resultados:

- **Análisis de tendencias y conclusiones:** Interpretaremos los resultados a partir de los análisis estadísticos, evaluando así si el método fluorométrico es efectivo y confiable para cada matriz que elegimos.
- **Informe de resultados:** Finalmente, redactaremos los resultados obtenidos, resaltando los niveles de precisión, repetitividad y validez del método de fluorimetría en la detección de histamina. Incluiremos recomendaciones para el uso del método en laboratorios de control de calidad alimentaria.

Capítulo II

2. Descripción de la experiencia

2.1. Presentación de la organización/empresa en dónde se desarrolló la experiencia profesional

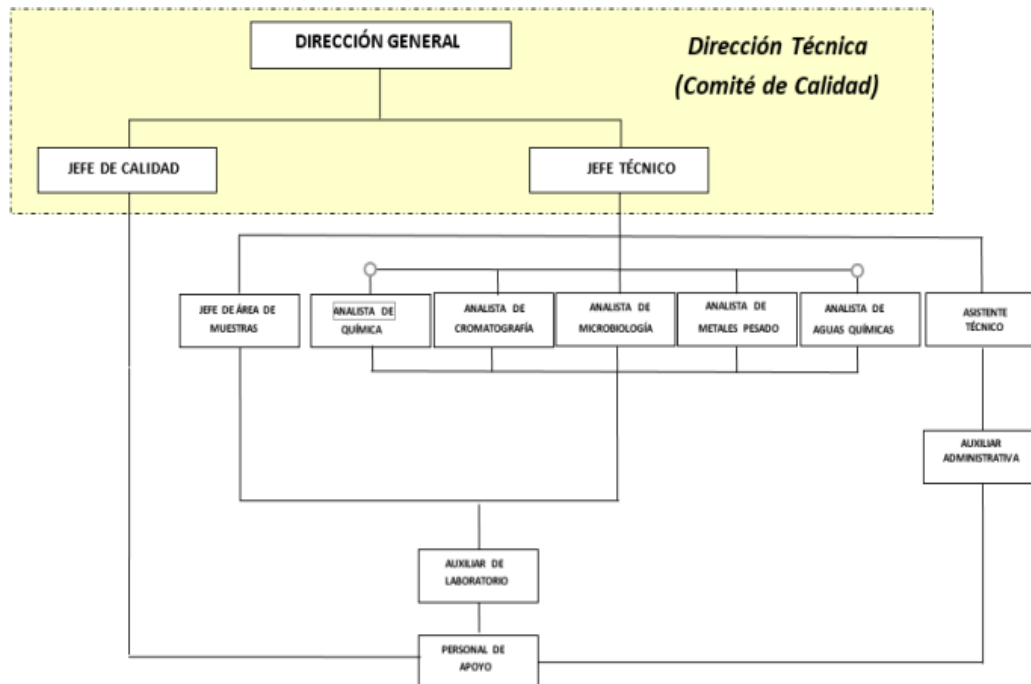
2.1.1. Tipo de organización, fines, objetivos

El Centro de Servicios para el Control de Calidad (CESECCA) es un laboratorio de alta tecnología que forma parte de la Facultad de Ingeniería Industrial de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Ecuador. Como constitución autónoma y acreditada por el Servicio de Acreditación Ecuatoriano (SAE), CESECCA se especializa en la realización de ensayos fisicoquímicos, cromatográficos, microbiológicos, química aguas, organolépticos y, metales pesados de alta precisión. Sus servicios abarcan un amplio espectro de análisis, incluyendo productos del mar, alimentos, aguas, efluentes industriales y muestras ambientales, contribuyendo así al desarrollo y la competitividad del sector productivo local y nacional.

El laboratorio se identifica por su compromiso con la excelencia, empleando métodos confiables basados en los estándares de las normas nacionales e internacionales, equipamiento de última generación y un equipo de profesionales que están altamente capacitados. Estos factores aseguran la entrega de resultados precisos y confiables, importantes para la toma de decisiones en materia de calidad y seguridad en diversas industrias.

Figura 1

Estructura Organizacional del laboratorio CESECCA



Nota. Fuente: Laboratorio CESECCA

2.1.2. Estructura organizacional

2.1.3. Descripción del área donde se desarrolla la experiencia

El lugar dónde desarrollamos la experiencia fue en el laboratorio CESECACA-ULEAM EP, este está vinculado a la Facultad de Ingeniería, Industria y Construcción de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí. En el área de cromatografía dónde empezamos a desarrollar los **análisis** previos para ser destinados a identificar y cuantificar componentes específicos en alimentos procesados y no procesados en diferentes matrices

En esta área se reciben las muestras para realizarle diferentes análisis tales como histamina, azúcares totales, sólidos solubles y grado alcohólico.

Indicando que, en esta misma área, se ha incluido últimamente un equipo de análisis de metales pesados, todo esto para ampliar las capacidades analíticas del laboratorio. El nuevo equipo va a permitir realizar análisis tales como: mercurio, cadmio, plomo y arsénico. Esta reciente implementación de análisis representa un avance en la competencia del laboratorio, puesto que va a permitir dar un rango más

amplio de servicios analíticos y contribuyendo a una evaluación más completa de la seguridad alimentaria.

2.2. Delimitación de la experiencia a sistematizar

Nuestra investigación corresponde a la experiencia obtenida durante el proceso de revalidación del método fluorométrico que empleamos para la determinación de histamina en productos derivados de la pesca. Este procedimiento lo desarrollamos en el laboratorio CESECCA-ULEAM EP, perteneciente a la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí. Aunque esta técnica analítica ya había sido validada con anterioridad, su reevaluación nos va a resultar necesaria con el objetivo de verificar periódicamente su fiabilidad y vigencia, considerando que ciertos factores pueden modificar el comportamiento del método y, gracias a esto comprometer la calidad de los resultados.

La decisión que tomamos para llevar a cabo esta revalidación fue gracias a diversas razones que podrían afectar la precisión y exactitud del análisis. Por ejemplo, el deterioro progresivo de los instrumentos a causa de su uso constante, las variaciones ambientales como la temperatura y la humedad del entorno en el que se realizan los análisis, y también la participación de diferentes analistas en la ejecución del protocolo. Cabe recalcar que este procedimiento exige la intervención de al menos dos profesionales calificados del laboratorio, con el fin de asegurar la reproducibilidad y consistencia del método analítico.

2.3. Métodos para la revalidación

2.3.1. Métodos de referencia

Nacional INEN 458

Según la norma (NTE INEN 458) establece el método para determinar la concentración de histamina en productos del mar, como son: pescado crudo, precocido y envasado. A estos productos se le agrega distintos reactivos hasta que se obtiene una sustancia fluorescente, la cual se mide usando fluorimetría.

Reactivos

- Preparación de la columna poner la resina preparada dentro de cada columna hasta que llegue a una altura de 8 cm mantener siempre el nivel de líquido a un centímetro sobre la parte superior de la resina la resina de las columnas se la

debe cambiar luego máximo de 10 determinaciones para asegurar La pureza de la ilusión para determinar cada determinación trabajar con cinco columnas.

- Para la preparación de las soluciones estándares de histamina pesar 169.1 mg de histamina 2HCl, en un matraz volumétrico de 100 cm³ diluirlo con HCl 0,1N, hasta el volumen de 100 cm³ de preferencia preparar soluciones frescas cada semana (1mgHM/cm³)
- Solución de o-Phthalicdicarboxaldehido (O.P.T) 0.1%. Disolver 100mg de OPT con metanol, hasta un volumen de 100 cm³ para almacenar hacerlo en una botella ámbar y refrigerar preparar semanalmente una solución fresca
- Solución intermedia pipetear un centímetro cúbico de la solución anterior y diluirla con HCl 0.1N, HASTA EL VOLUMEN DE 100 cm³ PREPARAR CADA SEMANA (10mgHM/ cm³)
- Preparación de las curvas

Internacional AOAC edición 23th 35.01.32 (977.13)

El objetivo de este método se basa principalmente en extraer la histamina del producto usando metanol al 75% (v/v). Luego de esto, se purifica mediante la columna de intercambio iónico. Posterior, se añade ftalaldehído orto-funcional (o-ftalaldehído, OPA) para que reaccione con la histamina formando un compuesto fluorescente. Por último, se mide la intensidad de fluorescencia para determinar la cantidad de histamina presente, usando los instrumentos de lectura externa.

2.4. Objetivos de validación

Tabla 2

Objetivos de Validación

Fijación de Objetivos	
PARÁMETRO	OBJETIVO ESTABLECIDO
Selectividad/Especificidad	De acuerdo a la experiencia el resultado del método puede ser afectado en el momento del aumento de temperaturas en la fase muestra, aumentando los niveles de histamina y en el momento de la lectura la concentración tiende a

	disminuir por acción de la luz afectando la fluorescencia de las muestras y de estándares.
Linealidad/ Función respuesta	Recta de calibrado $L=mP+Lo$
Límite de Detección del método	0.20
Límite de Cuantificación del método	1
Precisión (repetitividad y /o reproducibilidad)	CVr: $\leq 10\%$; CVR: $\leq 10\%$
Incertidumbre	$\%U(K=2) \leq 20\%$
Exactitud	90-%R-110%
Intervalo de trabajo	1 mg/100g hasta 15 mg/100g
Diseño experimental	
Muestras	<p>Se trabajó con seis matrices: atún enlatado, camarón, pescado blanco, sardina, pescado precocido y pescado crudo. Estas muestras fueron fortificadas previamente, con el objetivo de evaluar la recuperación y comportamiento del método bajo condiciones controladas.</p> <p>A cada una se les aplicó el mismo procedimiento de preparación:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Eliminar todas las partes no comestibles y/o interferentes en el análisis. • Se trituró en un triturador de alimentos hasta conseguir una pasta homogénea • Se fortificó cada una de las muestras añadiendo una cantidad conocida y controlada de la solución estándar

	Material de referencia: Atún enlatado (1mg/100g), camarón (2.70mg/100g), pescado blanco (5mg/100g), pescado precocido (12.5mg/100g) y pescado crudo (15mg/100g)
Submuestras	5 submuestras de cada concentración, tejido blanco y 5 de material de referencia en productos del mar (Lomo Atún Precocido, Conserva de Atún, Pescado Blanco Crudo, Sardina en Lata y Camarón)
Procesamiento	Se procesan 5 ensayos por concentración por tipo de muestra y por Analista a fin de determinar repetibilidad y reproducibilidad 5 concentraciones de materiales de referencia* 125 submuestras * 2 Analistas = 250
Lectura	Se obtiene una lectura por cada submuestra
Tratamiento estadístico	Análisis de varianza simple de los resultados obtenidos para obtención de la precisión por niveles. Determinación del límite de detección Determinación del límite de cuantificación Intervalo de trabajo validado Determinación de la incertidumbre de calibración y de la incertidumbre asociada al método en cada nivel.

2.5. Tiempo o periodo de la experiencia

Esta experiencia práctica conllevó un tiempo de 320 horas, iniciando desde el 19 de mayo de 2025 finalizando el 11 de julio de 2025, de lunes a viernes. Iniciando desde las 08h00 hasta las 17h00.

2.6. Descripción del periodo de la experiencia. Periodización

2.6.1. Visión general del desarrollo del proyecto

Nuestro proyecto inicia desde la necesidad técnica y normativa para que se realice una revalidación del método fluorométrico para el análisis de histamina en

productos pesqueros, dentro del laboratorio CESECCA-ULEAM EP. La cuál favorece al compromiso del laboratorio con la mejora continua y la garantía de calidad de los resultados analíticos que se entregan a los clientes, especialmente considerando que el método fue validado años anteriores y, desde entonces, han ocurrido diversas variaciones que podrían influir en su desempeño actual.

La revalidación la desarrollamos siguiendo una planificación que indica la revisión de los antecedentes del método, el ajuste de las condiciones operativas en función del equipo disponible, y la ejecución de pruebas analíticas para comprobar parámetros como precisión, exactitud, repetibilidad, reproducibilidad, entre otros. Este proceso es realizado por dos analistas capacitados con normativas internacionales que rigen el control de calidad en análisis de histamina.

Durante el desarrollo, tomaremos en cuenta factores como el estado de conservación del equipo instrumental, las condiciones ambientales del laboratorio, y la variabilidad natural de las muestras de productos pesqueros. Con el objetivo de asegurar y garantizar que los resultados dados por el laboratorio mantengan su validez científica y técnica, y sigan siendo útiles para los procesos de control sanitario y de calidad alimentaria.

A lo largo del proyecto se documentarán todos los procedimientos realizados, se analizarán los datos obtenidos, la visión integral del proceso permite no solo revalidar el método en condiciones actuales, sino también aumentar la capacidad operativa del laboratorio para responder a futuras exigencias analíticas.

2.6.2. Etapas desarrolladas: cuadro cronológico

Tabla 3

Cuadro Cronológico

Fecha de inicio	19/05/2025	Hora de entrada	08h00	Hora de salida	17h00	Fecha de finalización	04/07/2025
ACTIVIDADES							
Etapa 1 (semana 1): <i>Calibración de la curva</i>							
Preparación de la solución madre:							
<ul style="list-style-type: none"> • Pesar 0.1692g de patrón de histamina 							

- Añadir 10ml de ácido clorhídrico
- Disolver en agua destilada, agitar
- Aforar hasta 100ml en un matraz aforado

Preparación de la solución intermedia:

- Tomar 10ml de ácido clorhídrico
- 1ml de la solución madre preparada anteriormente
- Disolver en agua destilada hasta aforar

Para la curva de calibración:

Se preparan 6 estándares

- Para el primer estándar (2.5mg/100g): Añadir 0.5ml de la solución intermedia, 10ml de ácido clorhídrico y aforar con agua destilada
- Para el segundo estándar (5.00mg/100g): Añadir 1ml de la solución intermedia, 10ml de ácido clorhídrico y aforar con agua destilada
- Para el tercer estándar (7.5mg/100g): Añadir 1.5ml de la solución intermedia, 10ml de ácido clorhídrico y aforar con agua destilada
- Para el cuarto estándar (10.00mg/100g): Añadir 2ml de la solución intermedia, 10ml de ácido clorhídrico y aforar con agua destilada
- Para el quinto estándar (12.5mg/100g): Añadir 2.5ml de la solución intermedia, 10ml de ácido clorhídrico y aforar con agua destilada
- Para el sexto estándar (15.00mg/100g): Añadir 3ml de la solución intermedia, 10ml de ácido clorhídrico y aforar con agua destilada
- Preparación del blanco: Añadir 5ml de ácido clorhídrico (para sustituir la solución intermedia), 10ml de ácido clorhídrico

Luego en un matraz de 125ml para cada estándar tomar 5ml de la muestra, añadir 10ml de ácido clorhídrico, 3ml de hidróxido de sodio y 1ml de reactivo OPT (se pesa 0.1g y aforar en 100ml con metanol) y dejar reaccionar 4 minutos.

Posteriormente se añade 3ml de ácido orto fosfórico.

Calibración del equipo fluorométrico: Se coloca la muestra en los tubos de ensayo, meter en el equipo uno por uno de mayor a menor, la concentración debe

dar 1 luego de meter el blanco. Finalmente, se lee 5 veces cada muestra incluyendo el blanco, esto se realiza una vez al día por cinco días.

Etapa 2 (semana 2 a semana 7) **Fortificación de las matrices con sus respectivos análisis**

Se realiza la curva de calibración al equipo con 3 estándares antes de leer cada muestra de cada matriz. (5mg/100g; 10mg/100g; 15mg/100g) y su concentración debe dar 1

El proceso es igual para cada matriz, lo único diferente es la fortificación de cada una de estas. Para saber la concentración con la que se va a fortificar la muestra va a depender de los diferentes tipos de niveles establecidos para cada muestra, existe una fórmula la cual detalla lo siguiente:

$$m2 = \frac{m1C1 - m1C1_{MRI}}{C_{MRI} - C2}$$

C_{MRI}: Concentración del MRI

m1: masa (o en su defecto volumen) de la muestra que va a ser fortificada.

C1: Concentración promedio de la muestra que va a ser fortificada.

m2: Masa (o en su defecto volumen) del patrón o sustancia diluyente

C2: Concentración del patrón o sustancia diluyente.

Entonces:

- **Atún enlatado**: Nivel (1.00mg/100g), C_{MRI} de 10 ppm, se pesa 1.01g de solución madre para fortificar la muestra
- **Camarón**: Nivel (2.70mg/100g), C_{MRI} de 27 ppm, se pesa 2.77g de solución madre para fortificar la muestra
- **Pescado blanco**: Nivel (5mg/100g), C_{MRI} de 50 ppm, se pesa 5.26g de solución madre para fortificar la muestra
- **Sardina**: Nivel (8.00mg/100g), C_{MRI} de 80 ppm, se pesa 8.70g de solución madre para fortificar la muestra

- **Pescado precocido:** Nivel (12.5mg/100g), C_{MRI} de 125 ppm, se pesa 14.29g de solución madre para fortificar la muestra
- **Pescado Crudo:** Nivel (15.00mg/100g), C_{MRI} de 150 ppm, se pesa 17.65g de solución madre para fortificar la muestra

PROCESO:

- Se trituró 100g de la muestra hasta que quede una pasta homogénea, se fortifica añadiéndole la solución madre mediante una fórmula matemática en base al nivel; sabiendo que para cada muestra los niveles son diferentes, es decir que de eso depende cuando de solución madre se le añade a la muestra para fortificarla, luego se agita constantemente por 20 minutos aproximadamente
- Extracción: Pesar 1g de la muestra y añadir 10ml de metanol en un tubo Falcón
- Centrifugar en el equipo durante 4 minutos
- Añadir 1ml de la muestra en la columna cromatográfica, debajo de esta poner un matraz aforado de 50ml que tenga 5ml de ácido clorhídrico a la 1N, añadiendo agua destilada en la columna hasta aforar.
- Pipetear 5ml de la muestra en un matraz Erlenmeyer, añadir 10ml de ácido clorhídrico, 3ml de hidróxido de sodio, agregar el reactivo OPT y dejar reaccionar 4 minutos. Luego añadir 3ml ácido orto fosfórico.
- Se coloca la muestra en los tubos de ensayo, se coloca cada tubo en el equipo uno por uno para su lectura, incluyendo el blanco.

Etapa 3 (semana 8) *Cálculos respectivos*

- Cálculo del Anova para cada una de las matrices con los resultados de los análisis obtenidos para comparar el valor F calculado con el valor F de tabla
- Cálculo de la estimación de los criterios de validación a cada una de las muestras
- Cálculo de la estimación de la incertidumbre a cada una de las muestras

Capítulo III

3. Propuesta de Mejora

3.1. Tratamiento estadístico de los resultados obtenidos

3.1.1. Cálculos del Anova

Aplicamos un análisis de varianza (ANOVA). Este método nos permitió comparar las medias de varios grupos simultáneamente, con el fin de determinar si al menos uno de ellos difiere significativamente de los demás.

A continuación, se presentan los resultados obtenidos mediante el análisis estadístico de ANOVA, aplicado a las seis matrices seleccionadas de productos pesqueros tales como: atún en conserva, camarón, pescado blanco, sardina, pescado precocido y pescado crudo.

Estas tablas resumen las fuentes de variación, los grados de libertad, la suma de cuadrados, el promedio de los cuadrados, así como los valores de F, la probabilidad asociada y el valor para F de cada caso.

Estos datos nos ayudaran a interpretar la homogeneidad y/o variabilidad de los resultados y establecer conclusiones relevantes al comportamiento de las muestras.

Tabla 4*Análisis de Varianza de Conserva de Atún*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0,07552	5	0,015104	2,1139258 2	0,09853578 1	2,62065414 8
Dentro de los grupos	0,17148	24	0,007145			
Total	0,247	29				

Tabla 5*Análisis de Varianza de Camarón*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0,58515	5	0,11703	1,9476866 7	0,12347562 4	2,62065414 8
Dentro de los grupos	1,44208	24	0,060086667			
Total	2,02723	29				

Tabla 6*Análisis de Varianza de Pescado Blanco*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0,770186667	5	0,154037333	1,4459073 8	0,244190063	2,62065414 8
Dentro de los grupos	2,5568	24	0,106533333			
Total	3,326986667	29				
Total	8,441696667	29				

Tabla 7*Análisis de Varianza de Sardina*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	5,42567	5	1,085134	2,5273977 2	0,056572924	2,62065414 8
Dentro de los grupos	10,30436	24	0,429348333			
Total	15,73003	29				
Total	35,05509667	29				

Tabla 8*Análisis de Varianza de Pescado precocido*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	2,560266667	5	0,512053333	1,68300192	0,177046398	2,620654148
Dentro de los grupos	7,302	24	0,30425			
Total	9,862266667	29				
Total	26,33269667	29				

Tabla 9*Análisis de Varianza de Pescado Crudo*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	2,598666667	5	0,519733333	2,34642588	0,072028105	2,620654148
Dentro de los grupos	5,316	24	0,2215			
Total	7,914666667	29				

En la tabla a continuación se presenta un resumen de los valores de F calculado para cada tipo de muestra, los cuales se comparan con un valor crítico de F obtenido a partir de la tabla de distribución F, considerando un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ y los grados de libertad correspondientes.

Tabla 10

Resumen de los Análisis de Varianza de las matrices

Muestras	F calculado	Valor crítico para F
Atún en Conserva	2.11	
Camarón	1.95	
Pescado blanco	1.45	
Sardina	2.53	2.62
Pescado precocinado	1.68	
Pescado crudo	2.35	

En el análisis de varianza para las seis matrices el valor de F calculado para cada una fue de 2.11, 1.94, 1.45, 2.52, 1.68 y 2.34 con grados de libertad de g1: 5, gl2: 24 y α : 0.05.

Dado que los valores de F calculados $<$ F crítico indica que no existen diferencias significativas entre las muestras que se analizaron al nivel de confianza del 5%. Es decir, los niveles de histamina de estas matrices no presentan variaciones relevantes desde el punto de vista estadístico.

3.1.2. Estimación de los criterios de validación

Para comprobar el análisis de detección histamina, se realizó una evaluación basada en los datos recopilados por los dos analistas del laboratorio a diferentes niveles de concentración (bajo, medio y alto). Las matrices escogidas, se muestran los valores individuales que ambos analistas obtuvieron para calcular la desviación estándar promedio y aquellos factores necesarios para determinar la repetición y la reproducción del método.

En la siguiente tabla se presentan los resultados obtenidos por dos analistas del laboratorio CESECCA durante todo el proceso de revalidación del método. Cada analista realizó múltiples replicas que permitió evaluar la repetibilidad y reproducibilidad, estos valores constituyen la base para aplicar análisis estadísticos posteriores a los cálculos de varianza (ANOVA).

Tabla 11*Estimación de los Criterios de Validación*

NIVELES	ANALISTA 1			ANALISTA 2		
ATÚN EN CONSERVA	0,8800	0,8300	1,0800	0,8700	0,8300	0,8700
	0,8400	0,8000	0,8900	0,8000	0,8600	0,8800
	0,8600	0,9900	1,0200	1,0900	0,9500	1,0100
	0,9700	0,8900	1,0800	1,0600	1,0000	1,0200
	0,8000	0,8300	0,9800	1,0000	1,0000	0,9200
CAMARÓN	2,7600	2,8300	3,1400	2,6800	3,1300	3,2800
	2,3500	2,8100	2,6600	2,5200	2,9400	2,9200
	2,9200	3,0500	3,5700	2,7400	3,0300	3,1500
	2,7200	2,9900	3,2100	3,1000	3,3500	2,9500
	3,0900	2,5900	2,6500	2,8600	2,9600	3,1600
PESCADO BLANCO	5,0400	5,5800	5,0500	5,0000	5,2500	5,0100
	5,7600	5,4200	4,8200	5,3900	6,0400	5,5400
	5,7800	5,6300	5,3800	5,1600	5,1500	5,6100
	5,9600	5,2800	5,2900	5,6700	5,1000	5,7900
	4,9600	5,4600	4,9000	4,8700	5,6300	5,6000
SARDINA	8,4500	8,1100	8,0500	8,4500	8,0900	8,0800
	8,2300	8,8200	8,5900	8,9900	8,5200	8,0200
	8,5400	6,2300	8,8000	8,4200	7,8600	7,9300
	8,4900	7,8300	7,7900	8,0900	6,5600	7,2800
	9,5100	8,5500	8,3900	9,2300	7,4000	6,6900
PESCADO PRECOCIDO	12,6500	11,5900	12,4400	12,3500	13,0600	13,0100
	12,3100	12,0200	14,6700	12,6200	13,1200	12,8200

	12,6200	12,8600	12,1000	12,1600	12,6600	12,5200
	11,7100	12,3000	13,0700	13,2400	13,0100	13,1800
	13,0100	12,3500	12,8500	12,0200	13,0500	12,3300
PESCADO CRUDO	15,1000	14,3000	14,1000	15,7000	15,2000	15,1000
	14,9000	14,5000	14,1000	15,1000	14,9000	15,2000
	14,8000	15,5000	14,3000	15,6000	14,8000	14,1000
	15,3000	15,5000	15,2000	15,8000	14,1000	14,1000
	14,3000	15,1000	15,1000	15,1000	15,1000	14,6000

Mediante la tabla de estimación de los criterios de validación entre los analistas, a continuación, se presenta una serie de tablas individuales que muestra el cálculo final de estimación de los criterios de validación para cada matriz, con el fin de facilitar análisis más precisos con el fin de que cumplan los estándares establecidos como indica en la tabla de los objetivos de validación.

Tabla 12

Estimación de los Criterios de Validación (Atún en Conserva)

NIVEL 1,00						
ATÚN EN CONSERVA	0,8800	0,8300	1,0800	0,8700	0,8300	0,8700
	0,8400	0,8000	0,8900	0,8000	0,8600	0,8800
	0,8600	0,9900	1,0200	1,0900	0,9500	1,0100
	0,9700	0,8900	1,0800	1,0600	1,0000	1,0200
	0,8000	0,8300	0,9800	1,0000	1,0000	0,9200
Valor medio	0,87	0,87	1,01	0,96	0,93	0,94
Sr	0,0632	0,0756	0,0794	0,1246	0,0792	0,0711
$\sum(X-X_m)^2$	0,0160	0,0229	0,0252	0,0621	0,0251	0,0202
Varianza	0,0040	0,0057	0,0063	0,0155	0,0063	0,0051
Número total de datos:		30,00				
Número de grupos:		6				

Resultados	
Media general :	0,9300
DCMW:	0,0071
DCMB:	0,0151
SL2:	0,0013
Sr:	0,0845

SR:	0,0920
% CVr:	9,0890
% CVR:	9,8969
%R:	93,0000

Tabla 13

Estimación de los Criterios de Validación (Camarón)

NIVEL 2,70						
CAMARÓN	2,7600	2,8300	3,1400	2,6800	3,1300	3,2800
	2,3500	2,8100	2,6600	2,5200	2,9400	2,9200
	2,9200	3,0500	3,5700	2,7400	3,0300	3,1500
	2,7200	2,9900	3,2100	3,1000	3,3500	2,9500
	3,0900	2,5900	2,6500	2,8600	2,9600	3,1600
Valor medio	2,77	2,85	3,05	2,78	3,08	3,09
Sr	0,2756	0,1797	0,3925	0,2168	0,1672	0,1525
$\sum(X-Xm)^2$	0,3039	0,1291	0,6161	0,1880	0,1119	0,0931
Varianza	0,0760	0,0323	0,1540	0,0470	0,0280	0,0233
Número total de datos:		30,00				
Número de grupos:		6				

Resultados	
Media general :	2,9370
DCMW:	0,0601
DCMB:	0,1170
SL2:	0,0095
Sr:	0,2451
SR:	0,2638
% CVr:	8,3461
% CVR:	8,9811
%R:	108,7778

Tabla 14

Estimación de los Criterios de Validación (Pescado Blanco)

NIVEL 5,00						
PESCADO BLANCO	5,0400	5,5800	5,0500	5,0000	5,2500	5,0100
	5,7600	5,4200	4,8200	5,3900	6,0400	5,5400
	5,7800	5,6300	5,3800	5,1600	5,1500	5,6100
	5,9600	5,2800	5,2900	5,6700	5,1000	5,7900
	4,9600	5,4600	4,9000	4,8700	5,6300	5,6000
Valor medio	5,50	5,47	5,09	5,22	5,43	5,51

Sr	0,4639	0,1381	0,2422	0,3185	0,3974	0,2947
$\hat{\sigma}(X-X_m)^2$	0,8608	0,0763	0,2347	0,4059	0,6317	0,3474
Varianza	0,2152	0,0191	0,0587	0,1015	0,1579	0,0869
Número total de datos:	30,00					
Número de grupos:	6					

Resultados	
Media general :	5,3707
DCMW:	0,1065
DCMB:	0,1540
SL2:	0,0079
Sr:	0,3264
SR:	0,3383
% CVr:	6,0774
% CVR:	6,2991
%R:	107,4133

Tabla 15

Estimación de los Criterios de Validación (Sardina)

NIVEL 8,00						
SARDINA	8,4500	8,1100	8,0500	8,4500	8,0900	8,0800
	8,2300	8,8200	8,5900	8,9900	8,5200	8,0200
	8,5400	6,2300	8,8000	8,4200	7,8600	7,9300
	8,4900	7,8300	7,7900	8,0900	6,5600	7,2800
	9,5100	8,5500	8,3900	9,2300	7,4000	6,6900
Valor medio	8,64	7,91	8,32	8,64	7,69	7,60
Sr	0,4984	1,0132	0,4068	0,4630	0,7481	0,6013
$\sum(X-X_m)^2$	0,9935	4,1065	0,6619	0,8575	2,2387	1,4462
Varianza	0,2484	1,0266	0,1655	0,2144	0,5597	0,3616
Número total de datos:		30,00				
Número de grupos:		6				

Resultados	
Media general :	8,1330
DCMW:	0,4293
DCMB:	1,0851
SL2:	0,1093

Sr:	0,6552
SR:	0,7339
% CVr:	8,0566
% CVR:	9,0240
%R:	101,6625

Tabla 16

Estimación de los Criterios de Validación (Pescado Precocido)

NIVEL 12,50						
PESCADO PRECOCIDO	12,6500	11,5900	12,4400	12,3500	13,0600	13,0100
	12,3100	12,0200	14,6700	12,6200	13,1200	12,8200
	12,6200	12,8600	12,1000	12,1600	12,6600	12,5200
	11,7100	12,3000	13,0700	13,2400	13,0100	13,1800
	13,0100	12,3500	12,8500	12,0200	13,0500	12,3300
Valor medio	12,46	12,22	13,03	12,48	12,98	12,77
Sr	0,4871	0,4663	0,9920	0,4817	0,1832	0,3480
$\sum(X-Xm)^2$	0,9492	0,8697	3,9365	0,9281	0,1342	0,4843
Varianza	0,2373	0,2174	0,9841	0,2320	0,0336	0,1211
Número total de datos:		30,00				
Número de grupos:		6				

Resultados	
Media general :	12,6567
DCMW:	0,3043
DCMB:	0,5121
SL2:	0,0346
Sr:	0,5516
SR:	0,5821
% CVr:	4,3581
% CVR:	4,5995
%R:	101,2533

Tabla 17

Estimación de los Criterios de Validación (Prescado Crudo)

NIVEL 15,00						
PESCADO CRUDO	15,1000	14,3000	14,1000	15,7000	15,2000	15,1000
	14,9000	14,5000	14,1000	15,1000	14,9000	15,2000
	14,8000	15,5000	14,3000	15,6000	14,8000	14,1000
	15,3000	15,5000	15,2000	15,8000	14,1000	14,1000
	14,3000	15,1000	15,1000	15,1000	15,1000	14,6000
Valor medio	14,88	14,98	14,56	15,46	14,82	14,62
Sr	0,3768	0,5586	0,5459	0,3362	0,4324	0,5263
$\sum(X-Xm)^2$	0,5680	1,2480	1,1920	0,4520	0,7480	1,1080

Varianza	0,1420	0,3120	0,2980	0,1130	0,1870	0,2770
Número total de datos:	30,00					
Número de grupos:	6					

Resultados	
Media general :	14,8867
DCMW:	0,2215
DCMB:	0,5197
SL2:	0,0497
Sr:	0,4706
SR:	0,5208
% CVr:	3,1615
% CVR:	3,4983
%R:	99,2444

Tabla 18*Resumen de Estimación de los Criterios de Validación*

	ATUN EN CONSERVA	CAMARON	PESCAD O BLANCO	SARDINA	PESCADO PRECOCIDO	PESCAD O CRUDO
Nivel:	1	2,70	5,00	8	12,50	15,00
Media general:	0,93	2,94	5,37	8,13	12,66	14,89
DCMW:	0,01	0,06	0,11	0,43	0,30	0,22
DCMB:	0,02	0,12	0,15	1,09	0,51	0,52
SL2:	0,00	0,01	0,01	0,11	0,03	0,05
Sr:	0,08	0,25	0,33	0,66	0,55	0,47
SR:	0,09	0,26	0,34	0,73	0,58	0,52
% CVr:	9,09	8,35	6,08	8,06	4,36	3,16
%CVR:	9,90	8,98	6,30	9,02	4,60	3,50
%R:	93,00	108,78	107,41	101,66	101,25	99,24

LC:	0,93
------------	-------------

Los resultados que se obtuvieron de los parámetros de validación nos muestran que el método utilizado para detectar la histamina en los productos pesqueros cumple con los estándares de calidad que son establecidos en las reglas internacionales. Estos valores de precisión calculados que están expresados como %CVR y %CVR están en el rango aceptable, que nos indica una buena repetición del método.

Por otro lado, el porcentaje de recuperación %R muestra la precisión de más del 90% del procedimiento correspondiente, lo que asegura que ciertas concentraciones de histamina están dentro del rango establecido, gracias a esto el límite de cuantificación (LC) es del 0.93mg/kg, lo cual permite determinar los niveles bajos de histamina de acuerdo a los requisitos necesarios para controlar la calidad de los alimentos

Estos resultados aseguran la confiabilidad del método analítico, lo que lo hace adecuado para el uso en el análisis de histamina en el laboratorio.

3.2. Estimación de incertidumbre

La estimación de la incertidumbre se realizó para comprender el nivel de confianza de los resultados durante estos análisis. Este proceso permitió identificar las posibles variaciones en el método y garantizar resultados fiables y válidos para las matrices.

Tabla 19

Estimación de Incertidumbre

Muestras	Nivel	Incertidumbre	
		U (K=2)	%U (K=2)
Atún en Conserva	1.00	0.15003	15.0029
Camarón	2.70	-	-
Pescado blanco	5.00	0.17138	17.1386
Sardina	8.00	0.1652	16.5252
Pescado Precocido	12.50	0.10719	10.7189
Pescado crudo	15.00	0.14448	14.4483
	Global	N.A	17.1386

Los resultados que se obtuvieron mediante la estimación de la incertidumbre demuestran que el método aplicado para la detección de histamina en las diferentes matrices cumple con los criterios de aceptación establecidos, ya que todos los valores de %U(K=2) se encuentran por debajo del límite permitido del 20%, con un rango que va desde 10.7189% (pescado crudo) hasta 17.1386% (pescado blanco)

3.2.1. Declaración del método

La declaración del método se refiere al método de fluorimetría para la determinación de histamina utilizado en productos pesqueros. En este documento especifica los parámetros que se evaluaron durante el proceso de revalidación,

considerando tanto los factores estadísticos como los requerimientos técnicos para garantizar que el método es confiable. (Anexo 1)

Este método fue revalidado para la determinación de histamina por fluorimetría donde los resultados de precisión, tanto en cuanto a repetitividad como a reproducibilidad, estuvieron dentro de los límites aceptables. La exactitud dada en porcentaje de recuperación también se mantuvo dentro de los requisitos establecidos. El valor de incertidumbre se mantuvo por debajo del rango establecido, destacando en la tabla de objetivos de validación lo que corrobora que el método ofrece resultados fiables en situaciones reales del laboratorio.

Por último, el límite de cuantificación y el intervalo de trabajo establecido permite la implementación del método aplicada en las diferentes matrices establecidas. Estos resultados avalan la validez técnica del método permitiendo su aplicación habitual para el estudio de histamina en diferentes grupos alimenticios.

Conclusiones

Se definió seis matrices representativas del entorno pesquero los cuales fueron: atún en conserva, camarón, pescado blanco, sardina, pescado precocido y pescado crudo siendo seleccionadas por su alta frecuencia de consumo y comercialización, así como por el riesgo que presenta ante una mala conservación. Esto nos permitió realizar los análisis estadísticos respectivos en cada una de las matrices, fortificando cada una de las muestras teniendo en cuenta el rango de validación.

Se realizó los análisis de histamina aplicando el método fluorométrico, bajo condiciones controladas y repetitivas. A través de las pruebas diarias que realizaron los analistas durante cinco días consecutivos, y utilizando distintas concentraciones en cada matriz, aplicando cálculos estadísticos como el análisis de varianza ANOVA y la estimación de los criterios de validación. Los resultados evidenciaron que no existieron diferencias significativas entre los datos obtenidos y que cumplen con los estándares de la tabla 2 de los objetivos de validación.

Se estimó la incertidumbre para cada una de las seis matrices evaluadas (atún en conserva, camarón, pescado blanco, sardina, pescado precocido y pescado crudo), estimando las aportaciones de las incertidumbres de los materiales volumétricos, equipos isotérmicos, balanzas y el fluorómetro utilizado. El cálculo del $%U(K=2)$ dio valores por debajo del 20% en todas las muestras, cumpliendo con los límites establecidos de la tabla 2 de los objetivos de validación.

Se elaboró la declaración formal del método fluorométrico revalidado, en el cual se documentó los parámetros que se obtuvieron de acuerdo a los resultados estadísticos de cada una de las matrices. Esta declaración respalda técnicamente la vigencia del método dentro del laboratorio CESECCA y permite su aplicación continua bajo criterios de calidad, seguridad y trazabilidad.

Finalmente, la revalidación del método permitió comprobar que dicho procedimiento continúa siendo válido, confiable y fortalece la capacidad técnica del laboratorio, mejorando la calidad de los resultados emitidos y aportando significativamente la protección de salud pública y la competitividad del sector pesquero ecuatoriano.

Recomendaciones

Se recomienda ampliar el rango de validación del método fluorométrico, incluyendo otras matrices alimentarias que sean de poca comercialización que son susceptibles contener niveles significativos de histamina. Esto permitirá verificar la aplicabilidad del método en diferentes tipos de muestras aumentando su utilidad en entornos industriales.

Evaluar el estado técnico y funcional del equipo fluorométrico utilizado en el análisis, ya que este tiene más de diez años de uso y es recomendable verificar su desempeño mediante una revisión del sistema óptico. El desgaste del equipo puede influir en la sensibilidad, exactitud y precisión del método, comprometiendo la validez de los resultados obtenidos, teniendo en cuenta que el equipo tiene funciones limitadas, por ejemplo, el almacenamiento de la curva de calibración o datos de absorbancia de los estándares utilizados.

Por último, se recomienda considerar la validación de otros métodos analíticos que no estén acreditados por el Servicio de Acreditación Ecuatoriana SAE, pero que se usan frecuentemente en laboratorios o industrias. Esto puede incluir métodos aplicados en la determinación de otros compuestos como el grado alcohólico en bebida o acidez en aceites. Al incluir estos análisis, se fortalecerá la confianza en los resultados obtenidos, y se demostrará que el método fluorométrico es una alternativa válida frente a otras técnicas comunes. Todo esto contribuirá a aumentar la veracidad y utilidad práctica del método revalidado.

Bibliografía

- Arízaga Collantes, L. E., Bonilla Revelo, M., & Ramos Guerrero, L. (2022). EVALUACIÓN DE HISTAMINA EN PRODUCTOS. *ECUADOR ES CALIDAD: Revista Científica Ecuatoriana*, 1-9.
- Barba , G., Ramirez , J., Cortés, J., Sánchez, I., Ruelas, J., & Moreno, J. (2012). CONTENIDO DE HISTAMINA Y CALIDAD MICROBIOLÓGICA. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad de Sonora*, 1-10.
- Biji, K. B. (2016). Biogenic amines in seafood. *A review. Journal of Food Science and Technology*, 53-55.
- Cedeño Mendoza, A. L., Vargas Zambrano, P. A., Talledo Solórzano, M. V., & Cuenca Nevárez, G. J. (2021). Evaluación microbiológica de pescado fresco albacora (*Thunnus alalunga*) en el mercado central del cantón chone. *Revista de las agro ciencias*.
- CESECCA-ULEAM EP. (2023). *Informe sobre análisis de histamina y métodos utilizados*. Informe interno.
- Chóez Delgado , M. Á. (2023). *Determinación de los niveles de histamina en las especies de pescados más vendidos en el mercado sauces ix de guayaquil*. Guayaquil: Universidad Agraria Del Ecuador Facultad De Medicina Veterinaria Y Zootecnia Carrera De Medicina Veterinaria Y Zootecnia.
- Dharan, M. (2021). *Control de calidad en los laboratorios clínicos*. Barcelona, Bogotá, Buenos Aires, México: Editorial Reverté.
- Duelo, A. (08 de 10 de 2013). *Origen de la histamina en los alimentos*. Obtenido de ADD Adriana Duelo Dietista: <https://www.adrianaduelo.com/origen-de-la-histamina-en-los-alimentos/>
- FAO. (2022). The state of world fisheries and aquaculture. Towards blue transformation.
- García, M., & Sánchez, P. (2016). Métodos analíticos para la detección de histamina en alimentos. *Revista de Ciencias Agroalimentarias*, 275-284.

- Gonzales, M., & Noyola, A. (2014). Histamina en productos pesqueros: Un problema de salud pública. *Revista de Salud Pública*, 543-555.
- Holler, J., & Crouch, S. (2018). *Fundamentos de Química Analítica*. Boston, MA: Cengage Learning.
- INP, I. N. (2018). *Informe técnico sobre la calidad de los productos pesqueros en Ecuador*. Quito. Ecuador.
- Iriarte, M., & Torres, M. (2013). Incidencia de histamina y de bacterias indicadoras de calidad higiénica, en filetes, ruedas y trozos de pescado de especies pelágicas comercializadas en un mercado de pescado de la isla de Margarita (Venezuela). *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 1-10.
- López, A., Sánchez, M., & Gómez, R. (2020). Histamina en productos pesqueros: Análisis y riesgos en Ecuador. *Revista de Seguridad Alimentaria*, 75-82.
- López, F. M. (1999). *Alergia respiratoria en la infancia y adolescencia*. España: Springer-Verlag Ibérica: Segunda edición.
- López, J., & Martínez, C. (2018). Histamina y su análisis en productos pesqueros: Revisión de métodos. *Revista de Ciencias del Mar*, 112-120.
- Martínez, L., & Rodríguez, A. (2018). *Validación y revalidación de métodos analíticos en laboratorios*. Madrid, España.: Editorial Científica Internacional.
- Mero. (2022). *Resultados de investigación científica universitaria*. Revista Científica Multidisciplinaria SAPIENTIAE.
- Miller, J. C., & Miller, J. N. (2018). *Estadística y quimometría para la química analítica (7ª ed.)*. Harlow, Reino Unido.: Pearson.
- Perez, J., & Gómez, M. (2020). Métodos fluorométricos aplicados a la detección de histamina en alimentos. *Revista Científica de Métodos Analíticos.*, 45-58.
- Rivera Figueroa, M. E. (2020). "Determinación de histamina en muestras de pescado perico (*coryphaena hippurus*) en la empresa pesquera Exalmar s.a. – Carquín 2018". Universidad nacional "José Faustino Sánchez Carrión".

- Roura, N. (29 de 08 de 2023). *Alimentación baja en histamina*. Obtenido de Conasi Blog: <https://www.conasi.eu/blog/colaboradores-especiales/alimentacion-baja-en-histamina/?srsltid=AfmBOoq8X386sgkm5xSW3WYNceuAbKYLclxokrMXAdynvJGlaE7-SR2S>
- Snyder, L., Kirkland, J., & Dolan, J. (2010). *Introducción a la cromatografía líquida moderna (3ª ed.)*. Hoboken, NJ, EE. UU.: Wiley.
- Torres, M., & Iriarte, M. (2013). *Incidencia de histamina y de bacterias indicadoras de calidad higiénica, en filetes, ruedas y trozos de pescado de especies pelágicas comercializadas en un mercado de pescado de la isla de Margarita (Venezuela)*. Revista del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel".
- Villalobos Meneses, N. (2022). *Determinación de histamina en pescado por cromatografía*. UNIVERSIDAD NACIONAL Campus Omar Dengo.
- Zambrano Alcívar, M. A. (2020). *Programa de vigilancia ambiental para bacterias formadoras de histamina en línea de atún precocido congelado de la empresa Marbelize s.a.* Escuela superior politécnica agropecuaria Manabí Manuel Félix López.

Anexo

Anexo 1

Declaración de Método Validado



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ
FACULTAD DE INGENIERÍA INDUSTRIAL
CENTRO DE SERVICIOS PARA EL CONTROL DE LA CALIDAD
"CE.SE.C.C.A."

DECLARACION DE METODO VALIDADO

Fecha: Abril 2013
Página 1 de 1

DATOS GENERALES

ENSAYO	CODIGO	TIPO DE ENSAYO
Determinación de Histamina por Fluorometría	RV-PEE/CESECCA/CR/01	Cuantitativo

FUNCION DE RESPUESTA

	INSTRUMENTAL	DEL METODO
PENDIENTE (m)	1,00224	N.A.
INTERVALO DE CONFIANZA DE m	0,00363	N.A.
INTERSECCION L0	0,00049	N.A.
INTERVALO DE CONFIANZA DE L0	0,00308	N.A.

PRECISION, EXACTITUD, INCERTIDUMBRE

NIVEL	REPETIBILIDAD		REPRODUCIBILIDAD		EXACTITUD	INCERTIDUMBRE	
	Sr	%CVr	SR	%CVR	% RECUPERACION	U (K=2)	%U (k=2)
1.00	0.08	9.09	0.09	9.90	93.00	0.15003	15.0029
2.70	0.25	8.35	0.26	8.98	108.78	-	-
5.00	0.33	6.08	0.33	6.30	107.41	0.17138	17.1386
8.00	0.66	8.06	0.73	9.02	101.66	0.16525	16.5252
12.50	0.55	4.36	0.58	4.60	101.25	0.10719	10.7189
15.00	0.47	3.16	0.42	3.50	99.25	0.14448	14.4483
GLOBAL	N.A.	9.09	N.A.	9.90	10.78	N.A.	17.1386

LIMITE DE DETECCION	0.16 mg/100g
LIMITE DE CUANTIFICACION	1.0 mg/100g

SELECTIVIDAD / ESPECIFICIDAD

INTERFERENCIA CONOCIDAS: No Existe	
TIPO DE INTERFERENCIA: N.A.	CORRECCION: N.A.

INTERVALO DE TRABAJO VALIDADO:	1mg/100g A 15.00 mg/100g de Histamina
--------------------------------	---------------------------------------

CRITERIO DE ACEPTACION / RECHAZO

R2 >> 1m y L0 debe encontrarse entre los valores señalados arriba	
Exactitud: Recuperación entre 90 a 110 % Incertidumbre: %U = 17.1386%	
Precisión: Coeficiente de variación de la repetibilidad: CVr = 9.09% Coeficiente de variación de la reproducibilidad: CVR = 9.90%	
La diferencia (d) entre dos análisis de una misma muestra realizada en condiciones de repetibilidad deberá ser: $d \leq 2.8 * Sr$	
La diferencia (d) entre dos análisis de una misma muestra realizada en condiciones de reproducibilidad deberá ser: $d \leq 2.8 * SR$	

El presente método queda validado para su uso en el Laboratorio por las personas calificadas para ello de acuerdo a las características que se detallan en esta declaración

EL JEFE TECNICO DEL CESECCA

Firma:

Fecha: 02/07/2013

PG0701-02

NOTA: Se adjuntan hojas que componen el registro de validación identificado en el encabezamiento

Anexo 2

Dilución del reactivo OPT



Anexo 3

Solución madre e intermedia



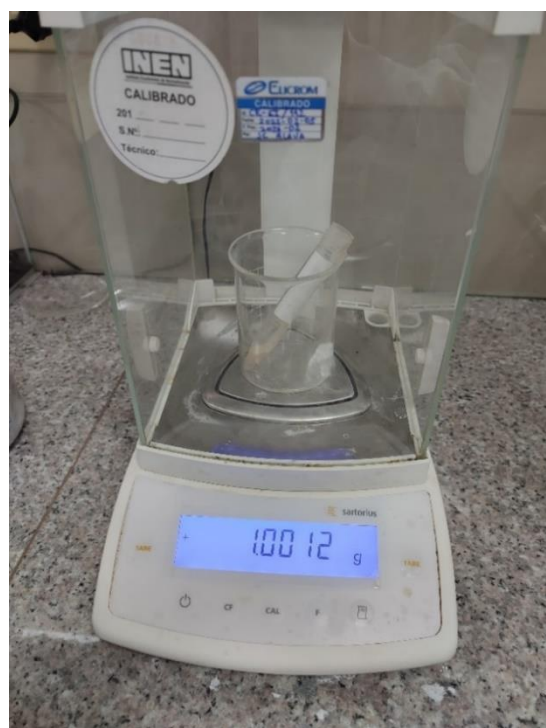
Anexo 4

Muestras Fortificadas



Anexo 5

Peso de cada una de las muestras fortificadas



Anexo 6

Centrifugación de cada muestra



Anexo 7

Fase de reacción de las muestras



Anexo 8

Presupuesto

PRESUPUESTO	
CONCEPTO	VALOR
1. Insumo de laboratorio	
OPT (Optaldehido) 99%, 5 gr	\$72.00
Histamina hidrocloreuro 99%, 5 gr	\$63.19
2. Equipos de protección	
Guantes, mascarilla, bata	\$60
3. Costos indirectos	
Transporte	\$100
Internet	\$50
Impresiones y papelería	\$70
Alimentación	\$200
TOTAL	\$615.19

Anexo 9

Cronograma de Actividades

Actividades	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5	Mes 6	Mes 7	Mes 8	Mes 9	Mes 10
	Nov 2024	Dic 2024	Ene 2025	Feb 2024	Marzo 2025	Abril 2025	Mayo 2025	Jun 2025	Jul 2025	Agos 2025
Revisión bibliográfica y teórica	■									
Definiciones de matrices y parámetros de análisis		■								
Selección y preparación de muestras							■			
Análisis fluorométrico inicial							■			
Análisis estadístico descriptivo								■		
Elaboración de informe técnico								■		
Revisión de informe y correcciones									■	
Presentación final y sustentación										■