



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**“DETERMINACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE UN MATERIAL DE
REFERENCIA CERTIFICADO EN MATRIZ LECHE FLUIDA ENTERA
UTILIZANDO DIFERENTES CONSERVANTES QUÍMICOS”**

JAVIER ANGEL PUGLIOTTI

**TESINA PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA DE LOS
ALIMENTOS**

TUTOR: Lic. MARÍA BELÉN PIROLA

CO- TUTOR: Bioq. GABRIELA COSTAMAGNA

2022

“DETERMINACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE UN MATERIAL DE REFERENCIA CERTIFICADO EN MATRIZ LECHE FLUIDA ENTERA UTILIZANDO DIFERENTES CONSERVANTES QUÍMICOS”

Javier Ángel Pugliotti

Este trabajo de Tesina es presentado como parte de los requisitos para optar al grado académico de Licenciado en Tecnología de los Alimentos, de la Universidad Nacional de Rosario. El mismo contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en INTI Lácteos Rafaela, Santa Fe durante el período comprendido entre noviembre de 2020 y febrero de 2022, bajo la dirección de Pirola María Belén y Costamagna Gabriela.



JAVIER PUGLIOTTI
Analista Lab. Materiales
de Referencia
INTI - Lácteos Rafaela



Lic. MARIA BELEN PIROLA
INTI - Lácteos Rafaela



Gabriela Costamagna
Jefa Depto. Materiales de Referencia

Defendida: _____ de 2022

ÍNDICE

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	5
RESUMEN	6
ABSTRACT	7
INTRODUCCIÓN	8
1. LECHE	8
1.1 Marco Legal	8
1.2 Marco Teórico	9
1.3 Composición química de la leche	9
1.4 Leche de Calidad	12
2. INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA INDUSTRIAL	14
2.1 Reseña histórica de la Institución	14
2.2 Laboratorio Materiales de Referencia	15
2.2.1 Definiciones y abreviaturas	15
3. CONSERVANTES	21
3.1 Características generales	21
3.2 Inicio y evolución de los conservantes para muestras de leche	23
OBJETIVOS	28
Objetivos Generales	28
Objetivos Específicos	28
MATERIALES Y MÉTODOS	29
1. PRODUCCIÓN DEL MATERIAL DE REFERENCIA CERTIFICADO	30
1.1. Selección de la materia prima (matriz)	30
1.2 Selección de la composición y definición de rango	30
1.3 Cantidad estimada	30
1.4 Uso de conservante y cantidad	31
1.5 Preparación, identificación y envasado	31

1.6 Estudio de homogeneidad	32
1.7 Almacenamiento.....	33
1.8 Caracterización	34
1.9 Asignación de valor e incertidumbre	37
1.10 Estudio de estabilidad.....	38
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
1. Caracterización de los conservantes químicos usados para fines analíticos	45
2. Validación de la invariabilidad de componentes de la leche de los MRC candidatos comparando el uso de azida de sodio y bronopol.....	52
3. Evaluación del estudio de estabilidad a largo plazo	54
3.1 Evaluación de los resultados para el Lote “D”	54
3.2 Evaluación de los resultados para el Lote “E”	59
3.3 Evaluación de los resultados para el Lote “F”	64
3.4 Evaluación de los resultados para el Lote “G”	69
CONCLUSIONES	75
BIBLIOGRAFÍA	76
ANEXO I (Tablas).....	78

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

ANOVA: Análisis de varianza de un factor

APPCC: Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control

AS: Azida de Sodio

BPG: Buenas Prácticas Ganaderas

BPM: Buenas Prácticas de Manufacturas

BR: Bronopol

C.A.A: Código Alimentario Argentino

CIPM-MRA: Acuerdo de Reconocimiento Mutuo de Patrones Nacionales de Medida y
Certificados de Calibración y Medición

CMC: Capacidades de Medición y Calibración

CONICET: Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas

DHIA: Dairy Herd Improvement Association

Elp: Estabilidad a largo plazo

ETAS: Enfermedades de Transmisión Alimentarias

FAO: Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

FTIR: Tecnología de infrarrojos de Fourier

g: gramo

INM: Instituto Nacional de Metrología

INTA: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

INTI: Instituto Nacional de Tecnología Industrial

l: litro

MR: Material de Referencia

MRC: Material de Referencia Certificado

OAA: Organismo Argentino de Acreditación

P: peso

POES: Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento

REDELAC: Red Argentina de Laboratorios Lácteos de Calidad Asegurada

SI: Sistema Internacional de Unidades

SICECAL: Sistema Centralizado de Calibración

VIM: Vocabulario Internacional de Metrología

RESUMEN

La leche es un alimento altamente perecedero y en ocasiones debe conservarse con fines analíticos para que su composición y calidad no cambien. Debido a esto, surgieron diferentes conservantes químicos, de los cuales, los más utilizados fueron dicromato de potasio, cloruro de mercurio, peróxido de hidrógeno, ácido bórico y formaldehído. A pesar de que muchos de ellos mostraron ser eficientes para su uso, no eran aptos para almacenarlos a largo plazo e implicaban un peligro para la salud y el medio ambiente. Posteriormente se recomendó el uso de nuevos conservantes como bronopol, azida de sodio y azidol.

INTI Lácteos, en la sede Rafaela, produce materiales de referencia y materiales de referencia certificados en diferentes matrices lácteas para la calibración y control de los equipos de los laboratorios lácteos. Éstos deben ser suficientemente estables para su uso previsto ya que los valores de las propiedades de interés pueden cambiar con el tiempo por diversas de razones, en diferentes grados y a distintas velocidades.

La estabilidad a largo plazo de los materiales de referencia se utiliza para determinar y asegurar el tiempo de vida de éstos, y está asociada a su comportamiento en el almacenamiento en las instalaciones del productor del material de referencia y del cliente en las condiciones prescritas.

Actualmente, el laboratorio utiliza bronopol como conservante en la producción del material de referencia certificado en matriz leche fluida entera. Este MRC tiene un período de vida útil de 29 días.

El presente trabajo tiene como objetivo establecer la vida útil del material de referencia certificado comparando dos conservantes químicos: azida de sodio y bronopol. Para ello, se produjeron cuatro lotes de material de referencia candidato y se realizó el estudio de estabilidad a largo plazo donde las propiedades analizadas fueron materia grasa y proteína.

ABSTRACT

Milk is a highly perishable type of food, and, in certain occasions, it needs to be preserved for analytical purposes so that its composition and quality do not change. Due to this, many chemical preservatives emerged, being potassium dichromate, mercuric chloride, hydrogen peroxide, boric acid and formaldehyde the ones most frequently used. Even though many of them proved to be efficient for their use, they were not suitable for long term conservation and meant a hazard to human health and the environment. Subsequently, the use of new preservatives such as bronopol, sodium azide and azidiol was recommended.

INTI Dairy, at the Rafaela headquarters, produces reference materials and certified reference materials in different dairy matrices for the calibrating and control of dairy laboratories equipment. These are have to be stable enough for their intended use since the values of the properties of interest may change in time for different reasons, in different degrees and different speeds.

The long-term stability of reference materials is used to determine and ensure lifetime and is associated with their behavior on storage at the reference material producer's and customer's facilities under the prescribed conditions.

Currently, the laboratory uses bronopol as a preservative in the production of the certified reference material in a fluid whole milk matrix. This MRC has a lifespan of 29 days.

This paper is focused on establishing the lifespan of the certified reference material by comparing two chemical preservatives: sodium azide and bronopol. In order to do so, four batches of the candidate reference material were produced and a long-term stability study was performed in which the analyzed properties were fat and protein.

INTRODUCCIÓN

1. LECHE

1.1 Marco Legal

De acuerdo con el artículo 554 (Res 22, 30.01.95) del Código Alimentario Argentino (C.A.A) la leche, es el producto obtenido por el ordeño total e ininterrumpido, en condiciones de higiene, de la vaca lechera en buen estado de salud y alimentación, proveniente de tambos inscriptos y habilitados por la Autoridad Sanitaria Bromatológica Jurisdiccional y sin aditivos de ninguna especie. La leche proveniente de otros animales deberá denominarse con el nombre de la especie productora.

El artículo 555 (Resolución Conjunta SPReI N°252/2014 y SAGyP N° 218/2014) establece que, “La leche destinada a ser consumida como tal o la destinada a la elaboración de leches y productos lácteos, deberá presentar las siguientes características físicas y químicas (tabla 1):

Tabla 1. Características físicas y químicas.

Requisito	Valores aceptados	Método de análisis
Densidad a 15°C	1,028 a 1,034	AOAC 18th Ed. 925.22
Materia grasa (*) (g/100cm ³)	Mín. 3,0	ISO 1211/IDF 001:2010
Extracto Seco No Graso (**) (g/100g)	Mín. 8,2	ISO 6731/IDF 021:2010
Acidez (g. Ácido láctico/100cm ³)	0,14 a 0,18	AOAC 18th Ed. 947.05
Descenso crioscópico	Máx. -0,512 °C (equivalente a -0,530°H)	ISO 5764 – IDF 108:2009
Proteínas Totales (N x 6,38) (**) (g/100g)	Mín. 2,9	ISO 8968 – 2 – IDF 020-2:2001

(*) En condiciones excepcionales podrá ser comercializada leche con un contenido graso inferior al 3% si la autoridad sanitaria provincial, previo estudio de evaluación, lo considera aceptable para su jurisdicción. En dicho caso el contenido de materia grasa deberá ser declarado en el rotulado con letras de buen tamaño realce y visibilidad.

(**) Podrá ser expresado en su equivalente en g/100cm³ tomando para la conversión el valor de densidad (a 15 °C) correspondiente.

Según el artículo 557, del mismo, la leche debe ser enfriada inmediatamente después del ordeño y mantenida a una temperatura no superior a 5 °C hasta su recepción por el consumidor (C.A.A, 2019).

1.2 Marco Teórico

La leche es un líquido de color blanco ligeramente amarillo producido por las glándulas mamarias de las hembras de los mamíferos con el fin de alimentar a sus crías en buen estado de salud y alimentación. Es un alimento natural que proporciona nutrientes esenciales a los seres humanos. Sin embargo, la leche apta para el consumo aparece días después de la parición de las vacas porque desde el momento del parto, y durante varios días, la vaca segrega un líquido llamado calostro. Éste no es leche, sino que es el alimento primordial para los terneros recién nacidos, y su composición es totalmente diferente a la de la leche que conocemos (MAGyP, 2015).

Con relación al sabor, la leche fresca, es ligeramente dulce debido a su alto contenido de lactosa; es suavemente salada a causa de la producción de cloruros al final de la lactancia y se advierte un sabor rancio y olor a jabón por hidrólisis de las grasas. Se considera además, que la leche absorbe los sabores procedentes de su alrededor como alimentos y utensilios (Mendez & Osuna, 2007).

1.3 Composición química de la leche

Desde el punto de vista fisicoquímico, la leche se considera una emulsión, es decir, una solución coloidal, donde las partículas en suspensión se dispersan en un disolvente (Freitas Moreira, 2014).

La leche está formada por agua, proteínas, materia grasa, lactosa y sales minerales.

El porcentaje de cada uno de estos componentes en la leche de vaca es aproximadamente 87,5 % de agua, 3,6 % de materia grasa, 3,3 % de proteínas, 4,9 % de lactosa y 0,7 % de sales minerales (Paez et al., 2005).

Según Taverna (2001) la leche tiene un pH cercano a la neutralidad y presenta una estructura compleja en cuanto a su composición ya que la materia grasa se encuentra en emulsión, las proteínas constituyen una suspensión, y los restantes componentes como lactosa, sustancias nitrogenadas, minerales, entre otros, están disueltos.

1.3.1 Agua

En cuanto a cantidad, el agua se considera el componente más importante de la leche porque en ella se disuelven, difunden o emulsionan todos los demás componentes. Está presente en mayor fracción en forma libre y en menor parte, ligada a los demás componentes. La cantidad

de agua en la leche está regulada por la cantidad de lactosa sintetizada por las células secretoras de la glándula mamaria (Freitas Moreira, 2014).

1.3.2 Materia grasa

La materia grasa se presenta en forma de glóbulos cuyo diámetro promedio varía entre 2,5 y 5 micrones. El 98% está constituida por triglicéridos (éster de glicerol y ácidos grasos) y cuenta con más de 150 ácidos grasos, muchos de los cuales son esenciales. La presencia, en la leche, de los ácidos linoleico y linolénico es sumamente importante ya que el organismo humano es incapaz de sintetizarlos y por lo tanto son constituyentes irremplazables de la dieta (Taverna, 2001).

La grasa es el componente de la leche que más varía y es más liviana que el agua. Por eso, cuando se la deja reposar, esa grasa sube a la superficie y forma lo que conocemos como nata o crema. Antes de tomar muestras, es sumamente necesario agitar la leche de modo que la fase grasa se mezcle con la fase acuosa para que los valores, que den como resultado esa muestra, se encuentren dentro de los normales. Además, la concentración de la materia grasa de la leche y su composición están sujetas a importantes variaciones, explicadas en gran medida, por factores alimenticios, fisiológicos, sanitarios y genéticos (Paez et al., 2005; Taverna, 2001).

1.3.3 Fracción nitrogenada

La fracción nitrogenada de la leche está compuesta principalmente de las proteínas verdaderas y el nitrógeno no proteico en donde la proteína verdadera representa alrededor del 95% de la fracción nitrogenada. Las proteínas más importantes de la leche son las caseínas. En leches producidas por vacas sanas, fundamentalmente sin mastitis, las caseínas representan el 80% de las proteínas verdaderas siendo relativamente constante a lo largo de la lactancia y entre razas lecheras. Sólo existe una reducción de este porcentaje durante los primeros días de la lactancia debido al contenido elevado en inmunoglobulinas en el calostro.

Existen varios tipos de caseínas, siendo las principales (80%) la α y la β . La caseína kappa (13%) participa activamente durante el proceso de coagulación de la leche. El resto de las proteínas se las conoce como proteínas solubles, de las cuales la β -lactoglobulina y la α -lactoalbúmina son las más representativas. Las mismas se caracterizan por tener un alto valor biológico y por ser termosensibles (se desnaturalizan ante el calor).

El nitrógeno no proteico está constituido mayoritariamente por la urea (25-75% del total de nitrógeno no proteico) siendo el de mayor variabilidad de esta fracción. El resto lo conforman compuestos residuales de los procesos de síntesis y aminoácidos libres.

En nuestro país, tanto los sistemas de calificación de la leche para su pago como los resultados del control lechero, informan el valor de la fracción nitrogenada (proteínas + nitrógeno no proteico) como proteína total (nitrógeno total por 6,38) (Taverna, 2001).

Se sostiene que la proporción de proteínas no varía demasiado para un mismo animal, pero sí es distinta según la genética, la raza, o el momento de la lactancia (Paez et al., 2005).

1.3.4 Lactosa

La lactosa es el principal hidrato de carbono de la leche. Es un disacárido compuesto por glucosa y galactosa que se encuentra exclusivamente en la leche de los mamíferos y su contenido es muy poco variable. Su concentración en la leche es relativamente constante y a diferencia de la concentración de grasa, el porcentaje de lactosa, es similar en todas las razas lecheras y no puede alterarse fácilmente con prácticas de alimentación (Infocarne, 2006; Taverna, 2001).

1.3.5 Sales minerales

Los minerales representan una pequeña fracción de los sólidos de la leche de gran importancia nutricional y tecnológica, en particular por los aportes de calcio y fósforo. En una leche sin alteraciones, el 65% del calcio, el 60% del magnesio y el 50% del fósforo están asociados a las caseínas. El sodio, el potasio y el cloruro están totalmente en solución. La leche contiene además oligoelementos como zinc, silicio, aluminio, hierro, entre otros (Taverna, 2001).

Los contenidos de lactosa y de sales minerales son más estables, y sólo se alteran en caso de que la vaca tenga alguna enfermedad (Paez et al., 2005).

1.3.6 Otros componentes

La leche contiene una gran cantidad de componentes en muy pequeñas concentraciones como gases disueltos y enzimas. También, es una fuente importante de vitaminas para el hombre. Las hidrosolubles (vitaminas del grupo B y C) están presentes en la fase acuosa mientras que las liposolubles (A,E y D) están asociadas a la materia grasa (Taverna, 2001).

1.4 Leche de Calidad

Según Ferrero (2006) se entiende por leche de calidad a la proveniente del ordeño de vacas sanas bien alimentadas, libre de olores, sedimentos, sustancias extrañas y que reúne las siguientes características: cantidad y calidad apropiada de componentes sólidos (grasa, proteína, lactosa y minerales); con un mínimo de carga microbiana; libre de bacterias causantes de enfermedad (brucelosis, tuberculosis, patógenos de mastitis y toxinas); libre de residuos químicos e inhibidores y con un mínimo de células somáticas.

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura ([FAO], 2017) afirma que la leche cruda de buena calidad no debe contener residuos ni sedimentos; no debe ser insípida ni tener color y olor anormales; debe tener un contenido de bacterias bajo; no debe contener sustancias químicas (por ejemplo, antibióticos y detergentes), y debe tener una composición y acidez normales.

La calidad de la leche comercial es uno de los pilares fundamentales en la industria láctea, que depende directamente de las características del producto original; por lo tanto, en un alto porcentaje la calidad del producto que llega al consumidor se debe al control sobre la leche cruda en el tambo.

Los riesgos involucrados en la modificación de las características de la leche pueden agruparse en:

- Anteriores al ordeño: condicionan la calidad original o natural de la leche y están relacionados con las enfermedades de los animales que afectan el hato lechero y que directa o indirectamente alteran la calidad de la leche, el estado fisiológico del animal (calostro y leche producidos por vacas de lactancias muy avanzadas) y el uso de sustancias químicas (medicamentos, hormonas, etc.) que se pueden transferir a la leche.
- Posteriores al ordeño: hacen referencia a la manipulación de la leche durante el ordeño, el ambiente, la conservación de la leche en el tanque y el transporte hacia la planta de procesamiento, lo que ocasiona degradación o alteración de la calidad original (Mendez & Osuna, 2007).

1.4.1 Calidad higiénica

La calidad higiénica hace referencia a todas aquellas prácticas de manejo a lo largo de toda la cadena láctea. La calidad de la materia prima actúa como condicionante fundamental de la calidad del producto final. Una excelente higiene en la materia prima debe considerarse aceptable si tiene una buena conservación, está exenta de agentes patógenos, tiene buena

aparición, alto valor nutritivo, y se encuentra limpia y libre de materias extrañas y suciedades. Por lo tanto, los requerimientos específicos incluyen la medición de: cantidad de bacterias, células somáticas, inhibidores, sedimentos, adición de sedimento, grasa, proteínas y residuos nocivos. Otro aspecto que evalúa la calidad de la leche cruda es el recuento de bacterias mesófilas aerobias; valores menores de 300000 Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por ml, es el indicador de la calidad higiénica (Mendez & Osuna, 2007).

1.4.2 Calidad sanitaria

La calidad sanitaria está relacionada con la puesta en práctica de planes de control y/o erradicación de infecciones que puedan significar riesgo para el consumidor, el personal del tambo y/o los animales. La leche, además de ser manejada higiénicamente, debe provenir de animales sanos y estar libre de residuos de medicamentos y en general de residuos tóxicos. Con respecto a la sanidad animal, los animales deben encontrarse libres de brucelosis, tuberculosis y enfermedades zoonóticas; sin alteraciones del aparato genital, inflamaciones y heridas perceptibles en la urbe. La buena calidad sanitaria referencia a la ausencia de microorganismos patógenos como *Salmonella*, *Coliformes totales*, *Coliformes fecales* y *Listeria monocytogenes*, entre otros, que son causantes de Enfermedades de Transmisión Alimentarias (ETAS) (Mendez & Osuna, 2007).

1.4.3 Calidad microbiológica

La calidad microbiológica es importante para evitar alteraciones físicas de la leche, lo que incide en la calidad de la materia prima que el productor entrega a la industria y por ende en el pago recibido. Además, altas cargas bacterianas inciden en la salud de los consumidores y pueden producir defectos de fabricación de numerosos productos lácteos. El recuento de células somáticas es un reconocido indicador de infección asociado con mastitis y afecta la producción de leche, la salud del rodeo y la calidad de los productos lácteos fabricados (Oliszewski et al., 2016).

El programa de pago por calidad también ha contribuido de manera importante a mejorar la calidad de las muestras, donde las fallas en las empresas que se adhieren al sistema de pago de calidad son menores que en las empresas no participantes. Esto reafirma la idea de que en estos casos, por existir un programa de pago basado en la calidad, la responsabilidad del transportista y las expectativas de los productores son aún mayores, lo cual es importante para la mejora de todo el proceso (Freitas Moreira, 2014).

2. INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA INDUSTRIAL

2.1 Reseña histórica de la Institución

El Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI) es un organismo público autárquico argentino que pertenece al Ministerio de desarrollo productivo. Fue creado en el marco del surgimiento de un conjunto de instituciones de ciencia y tecnología, como el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), concebidas con el fin de poner en movimiento, de manera planificada, la inversión pública, la ciencia y la tecnología. Mediante el Decreto Ley 17.138 del 27 de diciembre de 1957, se constituye el INTI como organismo descentralizado del Estado, con el fin de generar y transferir tecnología en el ámbito industrial. Inicia sus actividades con el objetivo de realizar investigaciones y estudios para mejorar las técnicas de elaboración y proceso de las materias primas y desarrollar el uso de materiales y materias primas de origen local y el aprovechamiento de subproductos. En la actualidad, el INTI está presente con nodos regionales y sectoriales en todo el país, que generan investigación y desarrollo en red, con el fin de acompañar e impulsar el crecimiento industrial en todo el país. El INTI es el máximo órgano técnico de la República Argentina en el campo de la Metrología. La ley 19511/72 y el Decreto 788/03 le otorgan la misión de realización y mantenimiento de los patrones de las unidades de medida, conforme al Sistema Internacional de Unidades (SI), así como su diseminación en los ámbitos de la metrología científica, industrial y legal, constituyendo la cúspide de la pirámide de trazabilidad metrológica en la República Argentina. Los Certificados de Calibración/Medición emitidos por el INTI garantizan la trazabilidad metrológica mediante los patrones nacionales de medida, realizados y mantenidos por el propio INTI.

Asimismo, el INTI es firmante del Acuerdo de Reconocimiento Mutuo de Patrones Nacionales de Medida y Certificados de Calibración y Medición (CIPM-MRA), redactado por el Comité Internacional de Pesas y Medidas, por el cual los institutos nacionales de metrología firmantes reconocen entre sí la validez de sus Certificados de Calibración y de Medición para el alcance cubierto por las Capacidades de Medición y Calibración (CMC). Las CMCs son aceptadas por los demás institutos mediante un complejo procedimiento, que incluye una serie de comparaciones internacionales, por un lado, por evaluaciones de pares periódicas por otro, y se encuentran soportadas por sistemas de gestión de la calidad basados en la Norma ISO/IEC 17025 y en la Norma ISO 17034 cuando corresponde. A la fecha, el

INTI posee cerca de 250 capacidades de medición, vinculadas a los servicios de calibración y medición más relevantes.

El centro de Investigaciones tecnológicas de la Industria láctea fue creado en el año 1968 en San Martín, provincia de Buenos Aires, siendo los promotores originales, el Centro de la Industria Lechera y la Junta Intercooperativa de Productores de Leche. Los actuales asociados son: Productores de Leche, asociaciones de pequeñas y medianas empresas lácteas, Asociación de Productores de Leche, proveedores de la industria láctea, organismos oficiales, y otras empresas y asociaciones privadas, interesadas en el cumplimiento del objetivo y finalidad de INTI-Lácteos.

En el año 1977 se manifiesta la necesidad de establecer una sede en la ciudad de Rafaela.

En 1983 se inauguran las instalaciones en Rafaela, cuyo objetivo es realizar asistencias técnicas para el desarrollo tecnológico de la cadena agropecuaria de la leche. El INTI - Centro de Investigaciones Tecnológicas de la Industria Láctea-Sede Rafaela, cuenta con una planta piloto para la investigación, desarrollo y elaboración de productos lácteos, laboratorio de microbiología, cromatografía, ensayos físicos y químicos, producción de materiales de referencia y un departamento de asistencia técnica y capacitación.

Con esta infraestructura INTI-Lácteos brinda un servicio integral de asistencia a la industria láctea y la implementación de herramientas para el aseguramiento de la calidad en: Buenas Prácticas Ganaderas (BPG), Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES), Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC), entre otros y en laboratorios (ISO 17025, 17043, 17034, etc.), y el trabajo en red en todo el país y en países latinoamericanos.

2.2 Laboratorio Materiales de Referencia

2.2.1 Definiciones y abreviaturas

Material de referencia (MR): Es un material suficientemente homogéneo y estable con respecto a propiedades cuantitativas y cualitativas, establecidas para ajustarse a su uso previsto en un procedimiento de medición como por ejemplo la calibración de un sistema de medición, la evaluación de un procedimiento de medición, la asignación de valores a otros materiales y el control de calidad.

Material de referencia certificado (MRC): Es un material de referencia caracterizado por un procedimiento metrológicamente válido, para una o más propiedades especificadas,

acompañado por un certificado que establece: a) el valor de la propiedad especificada, esto incluye una propiedad nominal o un atributo cualitativo como identidad o secuencia; b) su incertidumbre asociada, expresada como probabilidades o niveles de confianza; c) una declaración de su trazabilidad metrológica.

Material de referencia candidato: Es un material que se pretende producir como MR o MRC, es decir, todavía tiene que ser caracterizado y ensayado para asegurar que es adecuado para utilizar en un proceso de medición. Para ser un MR o MRC, el material candidato necesita ser investigado para determinar si es suficientemente homogéneo y estable con respecto a una o más propiedades especificadas, y si es adecuado para el uso al que se lo destina en el desarrollo de métodos de medición y ensayo que tienen por objetivo esas propiedades.

Trazabilidad: Propiedad de un resultado de medida por la cual el resultado puede relacionarse con una referencia mediante una cadena ininterrumpida y documentada de calibraciones, cada una de las cuales contribuye a la incertidumbre de medida (Vocabulario Internacional de Metrología [VIM]).

Condición de repetibilidad: Condición de medición, dentro de un conjunto de condiciones que incluye el mismo procedimiento de medida, los mismos operadores, el mismo sistema de medida, las mismas condiciones de operación y el mismo lugar, así como mediciones repetidas del mismo objeto o de un objeto similar en un periodo corto de tiempo (VIM).

Lote de producción / lote: Es la cantidad definida de material producido durante un solo ciclo de fabricación asegurando la homogeneidad del producto y que se pretende que tenga características y calidad uniforme. Cada lote de MR-MRC está constituido por varios sublotes.

Sublote: Es cada muestra candidata a MR-MRC que forma parte de un mismo lote y que difiere de otro sublote por su composición.

Homogeneidad: Se define como la uniformidad del valor de una propiedad especificada a través de toda una porción definida de un MR, como un lote de MR o una sola unidad del lote. Se pueden diferenciar dos tipos de homogeneidad:

- Homogeneidad “inter unidades”: Uniformidad de un valor de propiedad especificado entre las unidades de un material de referencia.
- Homogeneidad “intra unidad”: Uniformidad de un valor de propiedad especificado dentro de cada unidad de un material de referencia.

Estabilidad: Se define como la característica de un material de referencia, almacenado en condiciones especificadas, para mantener un valor de propiedad determinado dentro de ciertos límites y por un período de tiempo.

- Estabilidad en el transporte: Es la estabilidad de una propiedad de un material de referencia por un período de tiempo, en condiciones como las del transporte hasta el usuario del MR. Esta estabilidad se la denomina “estabilidad de corto plazo”.
- Estabilidad a largo plazo (Elp): Es la estabilidad de una propiedad de un material de referencia en un período extendido de tiempo.

Los laboratorios e industrias lácteas necesitan mantener confirmados, con trazabilidad demostrada y asegurada, sus equipos de medición. En el año 1990, INTI lácteos comenzó a desarrollar Materiales de Referencia surgiendo así, un sistema único conocido como Sistema Centralizado de Calibración (SICECAL). El laboratorio Nacional de Referencia y su Sistema Integrado conformado por el SICECAL y la Red Argentina de Laboratorios Lácteos de Calidad Asegurada (REDELAC), proveen a los laboratorios distintas herramientas y servicios para el aseguramiento de la validez de los resultados.

En su rol de Instituto Nacional de Metrología (INM), el INTI, a través del SICECAL, produce Materiales de referencia (MR) y Materiales de referencia certificados (MRC) en diferentes matrices lácteas, para la calibración y control de los equipos de los laboratorios lácteos y para la evaluación de métodos analíticos e instrumentales utilizados en la determinación de macrocomponentes, micronutrientes, recuento de células somáticas y microorganismos en leche, productos lácteos y derivados. Para su producción, en la sede de Rafaela, el laboratorio de Materiales de Referencia tiene implementado un sistema integrado de gestión de calidad que cumple con los requisitos de las normas ISO/IEC 17025:2017 e ISO 17034:2016:

- ISO/IEC 17025:2017: General requirements for the competence of testing and calibration laboratories”
- ISO 17034:2016: General requirements for the competence of reference material producers”

Para la implementación de los requisitos de la norma ISO 17034:2016, el laboratorio de Materiales de Referencia aplica las siguientes guías:

- ISO Guide 35: Reference materials - Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability
- ISO Guide 30:2016: Reference materials - Selected terms and definitions.
- ISO Guide 31: Reference materials – Contents of certificates and labels

El laboratorio está acreditado por el Organismo Argentino de Acreditación (OAA) en los métodos para ensayos, la determinación de macrocomponentes, micronutrientes, recuento de células somáticas y enumeración de microorganismos. Brinda, MR y MRC en diferentes matrices lácteas como: Leche fluida entera INTI-MRC001, Leche fluida descremada, Leche en polvo entera, Leche en polvo descremada, Leche UAT, Suero de Quesería, Recuento de Células Somáticas INTI-MRC002, Crema de Leche, Leche Control de Crioscopía, Soluciones de Cloruro de Sodio, Dulce de Leche, Fórmula infantil INTI-MRC015 y Enumeración de Microorganismos a 30°C.



Figura 1a



Figura 1b

Figuras 1 a y b: MRC en leche fluida entera INTI-MRC001-A2012



Figura 2a



Figura 2b

Figura 2. a) MRC en recuento de células somáticas INTI-MRC002-G1905. b) MR en soluciones de cloruro de sodio H1905

Los MR y MRC hacen posible la transferencia de los valores de magnitudes medidas o asignadas entre un lugar y otro. Ellos son ampliamente usados en los procesos de medición para: calibración de equipos o de un procedimiento de medición; establecimiento de la trazabilidad metrológica; validación de métodos; asignación de valores a otros materiales; control de la calidad de una medición o de un procedimiento de medición; y el mantenimiento de escalas convencionales.

La trazabilidad metrológica es un prerequisite para obtener resultados de mediciones comparables y compatibles. Es una propiedad de un resultado de una medición. Como el valor obtenido durante la caracterización de un MR (el valor de la propiedad) es un resultado de medición, puede tener este atributo también. Una característica clave de los valores de las propiedades de los MRC es que su trazabilidad metrológica esté bien establecida.

Los estudios de Homogeneidad y Estabilidad se realizan de acuerdo con los requerimientos de la Guía ISO 35. Un estudio de la homogeneidad es necesario en los proyectos de certificación de los lotes para demostrar que el lote de botellas (unidades) es suficientemente homogéneo y es necesario evaluar la variación del valor de la propiedad entre unidades (inter unidad) y la variabilidad dentro de cada unidad (intra unidad).

El estudio de estabilidad tiene como objetivo determinar el grado restante de la inestabilidad del MR candidato después de la producción, o para confirmar la estabilidad del material. Incluso materiales "estables" pueden mostrar inestabilidad para uno o más valores de propiedad.

La estabilidad de las propiedades de interés es una de las características clave de todos los MR y es importante que el valor de cada propiedad en estudio sea, en el momento del uso, consistente con el valor indicado en el certificado u otra documentación que acompaña al material. El valor de cada propiedad puede cambiar con el tiempo por una serie de razones, en diferentes grados, y a diferentes velocidades dependiendo de las condiciones. Tres conjuntos de condiciones son particularmente importantes: las condiciones durante el almacenamiento a largo plazo en las instalaciones del productor del MR, las condiciones durante el transporte a las instalaciones del usuario y las condiciones especificadas de almacenamiento y uso en las instalaciones del usuario.

Es conveniente que el productor de MR:

- a) evalúe mediante experimentación si es necesario, la estabilidad de todas las propiedades pertinentes de un material de referencia en las condiciones de almacenamiento propuestas y elegir las condiciones de pretratamiento, envasado, almacenamiento y transporte para mantener su estabilidad;
- b) establezca los consejos necesarios sobre el almacenamiento y el uso del material para mantener la estabilidad en las instalaciones del usuario;
- c) seleccione un esquema para monitorizar la estabilidad de los materiales mantenidos en el almacenamiento a largo plazo que permita la detección oportuna del cambio, teniendo en cuenta la posible tasa (velocidad) de cambio;
- d) cuando no se pueda garantizar la estabilidad de un valor certificado, tener en cuenta la incertidumbre declarada para un posible cambio en el valor antes del uso o, cuando el cambio con el tiempo pueda predecirse, proporcionar un medio para corregir el valor certificado y su incertidumbre para el cambio esperado en el tiempo.

Para obtener resultados confiables en un estudio de estabilidad se deben tener en cuenta los siguientes requisitos:

- a) seleccionar un subconjunto representativo de material.
- b) elegir un procedimiento de medición adecuado con suficiente precisión y selectividad.
- c) hacer las mediciones en condiciones adecuadas siguiendo un diseño experimental apropiado.
- d) el material en cuestión debe producirse en lotes repetitivos y
- e) realizar el análisis estadístico utilizando métodos estadísticos válidos.

3. CONSERVANTES

3.1 Características generales

La leche y los productos lácteos son muy perecederos y se deterioran rápidamente debido a alto contenido de humedad, por lo tanto, se añaden conservantes químicos a las muestras de leche para que la composición no cambie hasta el análisis. Se han realizado numerosos estudios que informaron los efectos de conservantes químicos en la composición de leche y productos lácteos conservados con fines analíticos.

La precisión del análisis de los componentes de la leche es muy importante para los productores de leche y las industrias lácteas. Muchos factores contribuyen a la variación de los parámetros analizados para fines de pago, de los cuales, el más significativo, es el método utilizado para la conservación de la muestra (Upadhyay et al., 2014).

El conservante para la leche puede definirse como cualquier compuesto químico o proceso que, cuando se aplica a la leche, previene las alteraciones causadas por el crecimiento de microorganismos y es capaz de inhibir, retardar o detener el proceso de fermentación, acidificación o descomposición (Upadhyay et al., 2014; Suvartan, 2013). Un conservante ideal asume y asegura la protección contra la rotura mecánica de los glóbulos de grasa (agitación), que da como resultado la formación de grasa libre, ya que la leche que contiene grasa libre no es adecuada para una extracción precisa de submuestra (Upadhyay et al., 2014). El medio ideal para preservar las muestras de leche durante varios días, antes del análisis de composición, es la refrigeración lo más cerca posible del punto de congelación sin congelar el producto. Esto minimiza el crecimiento de bacterias y todos los cambios químicos y físicos que siguen a dicho crecimiento. La formación de cristales de hielo generalmente conduce a la ruptura de las estructuras físicas en la leche y dificulta la extracción de porciones representativas (Zajác et al., 2016).

Características para tener en cuenta de los conservantes a utilizar en leche cruda para análisis (ICAR, 2020; Upadhyay et al., 2014):

1. Actividad de amplio espectro: debe actuar contra todo tipo de microorganismos en la leche. Cuanto más amplio sea el espectro del conservante, mejor será su utilidad.
2. Debe mantener las propiedades físicas y químicas de la leche desde el muestreo hasta el análisis, mantenidas en condiciones favorables de temperatura y transporte.
3. Niveles inhibidores mínimos eficientes: debe ser eficaz a bajas concentraciones en la leche para minimizar la dilución de la muestra, los costos y acelerar los procedimientos de manipulación.

4. Alta solubilidad en agua: debido a que la muestra de leche promedio tiene aproximadamente un 87% de agua, es importante que el conservante tenga la capacidad de actuar contra los microorganismos en la fase acuosa; la alta solubilidad en agua también asegura una fácil miscibilidad sin agitación excesiva.
5. Estabilidad: debe ser estable en la mayoría de las condiciones de almacenamiento.
6. Presencia de color: una cualidad deseable de un conservante de leche es que imparte algo de color a la muestra de leche tratada por motivos de identificación y seguridad.
7. Compatibilidad: debe ser tan eficaz en muestras de leche combinadas como en muestras frescas de vacas individuales u otros mamíferos y ser adecuado para muestras de leche con alto contenido de grasa y sin grasa.
8. Actividad de vida útil: debe ser eficaz durante un período de tiempo desde la etapa de muestreo hasta la etapa de análisis químico final en el laboratorio.
9. Toxicidad y desechabilidad: no debe ser alergénico y no debe mostrar toxicidad demostrable hacia los manipuladores u otras personas que entren en contacto con él. A pesar de su necesaria propiedad biocida, no debería ser un peligro para el medio ambiente después de su eliminación.
10. Economía: el costo debe ser mínimo y el conservante debe estar fácilmente disponible.
11. Capacidad de dispensación: la dispensación en forma sólida, como en tabletas, sería preferible a la forma líquida, debido a la dificultad inherente en la manipulación de líquidos y la mayor precisión en la dispensación de sólidos.
12. Debe permitir la realización de los análisis de referencia que facilita a los laboratorios la posibilidad de análisis comparativos.
13. No debe tener ningún efecto sobre los resultados del análisis con métodos de referencia y ningún o sólo un efecto limitado pero constante (se puede compensar mediante una calibración) sobre el método de referencia y las respuestas del método de rutina.

3.2 Inicio y evolución de los conservantes para muestras de leche

En el siguiente esquema se presentan los conservantes químicos que surgieron para la conservación de muestras leche cruda con fines analíticos (figura 3):

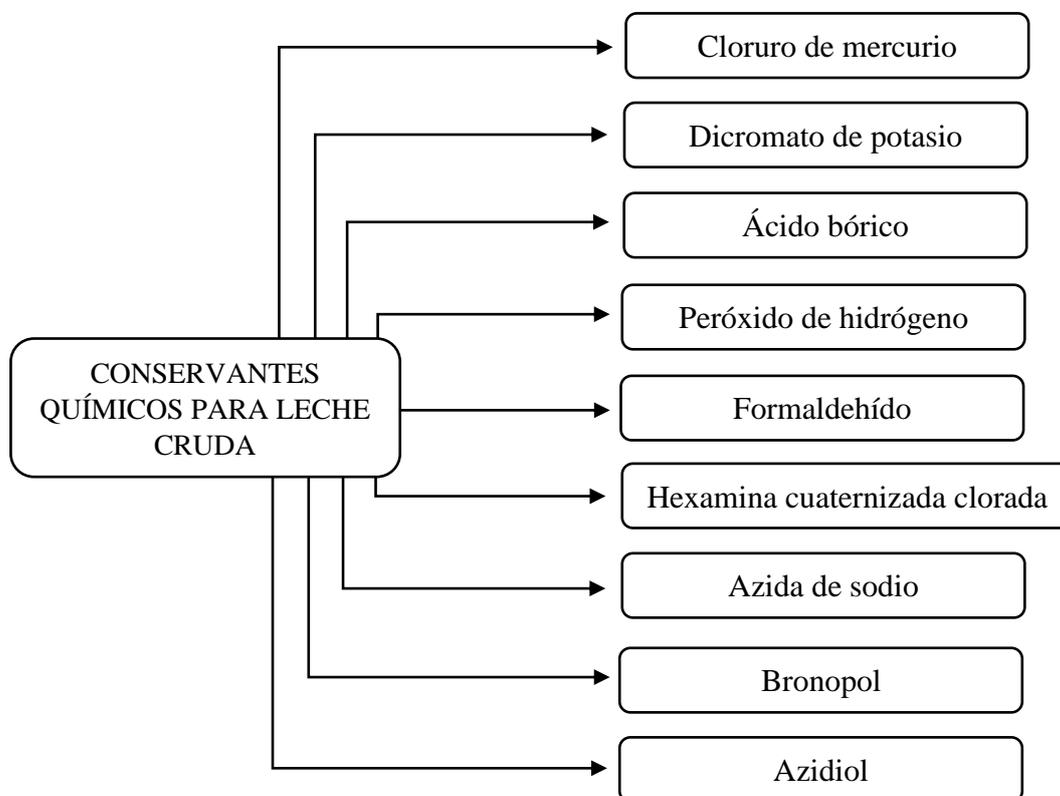


Figura 3: Esquema de los tipos de conservantes químicos para muestras de leche cruda

El desarrollo de análisis rápidos de laboratorio y la implementación de programas de mejora de la calidad de la leche, junto con el pago por calidad, requieren el uso de muestras seguras y representativas del volumen original. A lo largo de los años surgieron diferentes conservantes para la leche cruda, principalmente, para preservar sus características físico-químicas en el análisis de la composición y recuento de células somáticas (Castro, 2007). Los primeros conservantes químicos utilizados en los países desarrollados fueron dicromato de potasio, cloruro de mercurio, ácido bórico o combinaciones de éstos (Upadhyay et al., 2014).

La utilización de cloruro de mercurio se aprobó en Estados Unidos como conservante de muestras leche cruda, a pesar de su acción corrosiva y toxicidad. A fines de la década de 1960, se suspendió su uso debido a la percepción de los peligros ambientales después de su eliminación. Posteriormente, el dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) comenzó a adoptarse como conservante de elección en muestras de leche debido a las menores limitaciones en

comparación con otros conservantes, como el peróxido de hidrógeno y el formaldehído (Kroger, 1985). Sin embargo, en 1967, la FAO/OMS, llegó a la conclusión de que el uso de peróxido de hidrógeno fuera una alternativa aceptable para evitar el deterioro de la leche en las primeras fases de desarrollo bacterial siempre que se cumplan ciertas condiciones. Al presentar ciertas desventajas, como ocultar la calidad inferior de la leche producidas en condiciones de higiene deficientes, este método de conservación no obtuvo aceptación general (Nieto, 2004).

La mayoría de los conservantes utilizados en las décadas de 1970 y 1980 fueron probados, principalmente, para mantener la composición de la leche, ya que los programas para mejorar su calidad, como la Dairy Herd Improvement Association (DHIA) de Estados Unidos, buscaba, sobre todo, aumentar los niveles de grasas y proteínas en la leche, garantizando así mejores precios. Este hecho está directamente relacionado con el gran interés económico de las industrias lácteas, ya que estos componentes están relacionados con un mayor valor nutricional de la leche y con mayores rendimientos en productos lácteos, como queso, manteca y leche en polvo (Castro, 2007).

En los laboratorios DHIA, se observó una asociación entre mayor manejo y almacenamiento de muestras de leche conservadas con $K_2Cr_2O_7$, con una disminución en el contenido de grasa de la leche en los análisis de composición. Además, se corroboraron fuertes respuestas alérgicas en los técnicos de laboratorio que manipularon este conservante durante un período de tiempo prolongado.

Debido a los riesgos que presentaba el $K_2Cr_2O_7$, se evaluó una hexamina cuaternizada clorada, vendida en forma de tableta, como su reemplazo. El estudio determinó que las muestras tratadas con $K_2Cr_2O_7$, en cuanto a contenido de grasa, fue 0,01 % menor que las conservadas con la hexamina cuaternizada clorada durante los 2 y 5 días de almacenamiento. Además, los resultados de la técnica del recuento en placa demostraron que una tableta de hexamina cuaternizada clorada, en 28 y 56 ml de leche, era eficaz por 3 semanas. La desventaja que presentaban las tabletas era su cambio de color con el tiempo por lo que debían mantenerse en condiciones frescas y secas para ser efectivas (Kroger, 1985).

Otro químico que surgió para reemplazar el dicromato es la azida de sodio que era adecuada para determinaciones de grasa y proteínas de muestras mantenidas hasta 12 horas a temperatura ambiente. Sin embargo, fue menos beneficioso para muestras que se mantuvieron durante más tiempo. Los primeros estudios arrojaron resultados bajos para grasas y proteínas

según lo determinado por el equipo “Foss Milko-Scan”. Investigadores indicaron que este problema podría corregirse calibrando el instrumento con una leche de composición conocida que contenga la misma cantidad de azida en forma de tableta que la muestra conservada. Estos estudios mostraron que la azida de sodio era muy eficaz para estabilizar muestras de leche utilizadas para determinar el contenido de grasa y proteína a través de varios métodos. Sin embargo, el mayor problema era su capacidad de reaccionar con los metales en sistemas de desechos y alcantarillas (Kroger, 1985).

El bronopol también surgió como una alternativa al dicromato para la conservación de muestras de leche para análisis de composición. Los beneficios de usar este compuesto se demostraron en análisis de grasa, proteína y células somáticas en la leche, en contraste con el $K_2Cr_2O_7$ y se observó que los porcentajes de grasa y proteína fueron significativamente mayores en las muestras conservadas con bronopol que en las preservadas con dicromato y tenían, además, un mayor recuento de células somáticas. Se comparó la diferencia entre bronopol en tableta y en forma líquida. Tanto en el análisis de composición (método de infrarrojos) como en recuento de células somáticas (Foss-OMatic 215) no se encontraron diferencias estadísticas. La única ventaja encontrada en el producto en forma líquida fue que, debido a que su fórmula contiene sustancias que inhiben el moho y las levaduras, las muestras podían conservarse durante tres días sin refrigeración, incluso en condiciones de calor (Castro, 2007).

Debido a la necesidad de encontrar un conservante de leche menos perjudicial para el medio ambiente y para el trabajo en cuanto a su manejo, se convirtió en práctica común en la década de 1980 utilizar bronopol como conservante para la leche (Barbano et al., 2010).

Jankevica y Sešķēna (2007) evaluaron la viabilidad de diferentes conservantes de leche cruda antes de estimar los indicadores del contenido y la calidad de la leche utilizando métodos instrumentales. Los resultados obtenidos en su estudio revelan que los conservantes más adecuados para almacenar muestras de leche cruda son bronopol, azida sódica y azidiol proporcionando una calidad de leche estable.

En nuestro país, el uso, composición y modo de preparación de los conservantes, tiempo y temperatura de conservación en el análisis de muestras de leche cruda deben realizarse según lo establece la norma IRAM 14085:2014 “Guía para la conservación de muestra” para el azidiol y bronopol, y la norma ISO 13366-2 / IDF 148-2:2006 “Leche – enumeración de células somáticas – parte 2” para la azida de sodio.

Actualmente el laboratorio utiliza Bronopol como conservante para la producción del MRC en leche fluida entera INTI-MRC001. Este conservante ha demostrado ser eficaz en la conservación de las muestras del MRC ya que, al presente, su tiempo de vida útil es de 29 días, pero su adquisición se ve dificultada dado que este producto no se fabrica en Argentina y debe ser importado por diferentes empresas dedicadas a la venta de productos e insumos químicos y de laboratorios. En este trabajo se plantea el uso de azida sódica como una alternativa cuando no se pueda disponer del bronopol o como un futuro reemplazo. La revisión bibliográfica abordada sobre este conservante indica que su uso es apropiado para la conservación de muestras de leche cruda con fines analíticos. Realizando una consulta de mercado con diferentes proveedores, se determinó que este conservante, a pesar de también, ser un producto importado, no presenta faltantes en el país, y tiene un costo significativamente menor con respecto al bronopol.

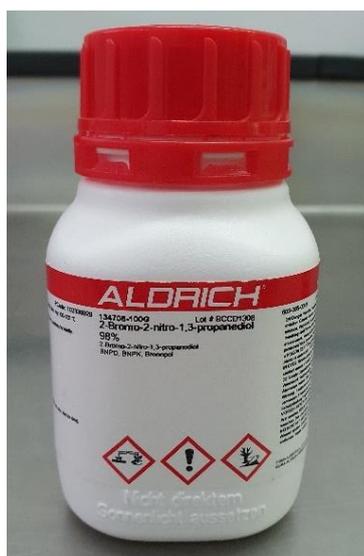


Figura 4a



Figura 4b

Figuras 4 a y b: Formas de presentación del conservante bronopol



Figura 5a



Figura 5b

Figuras 5 a y b: Formas de presentación del conservante azida de sodio.

OBJETIVOS

Objetivos Generales

- Establecer, mediante el uso de dos conservantes químicos diferentes, la vida útil de un Material de referencia certificado en matriz leche fluida entera.

Objetivos Específicos

- Investigar bibliográficamente los tipos y características de los conservantes químicos existentes para leche cruda para fines analíticos. Seleccionar los conservantes más adecuados para utilizar en la producción de los MRC.
- Evaluar que los componentes de la leche, tales como, materia grasa, proteínas, sólidos totales y cenizas, no sean afectados por el conservante azida de sodio.
- Efectuar los ensayos para el estudio de estabilidad del MRC y evaluar estadísticamente los resultados obtenidos.
- Determinar el tiempo de vida útil para los MRC preservados con cada conservante.

MATERIALES Y MÉTODOS

En cada producción de un MR-MRC se sigue la siguiente sistemática (figura 6):

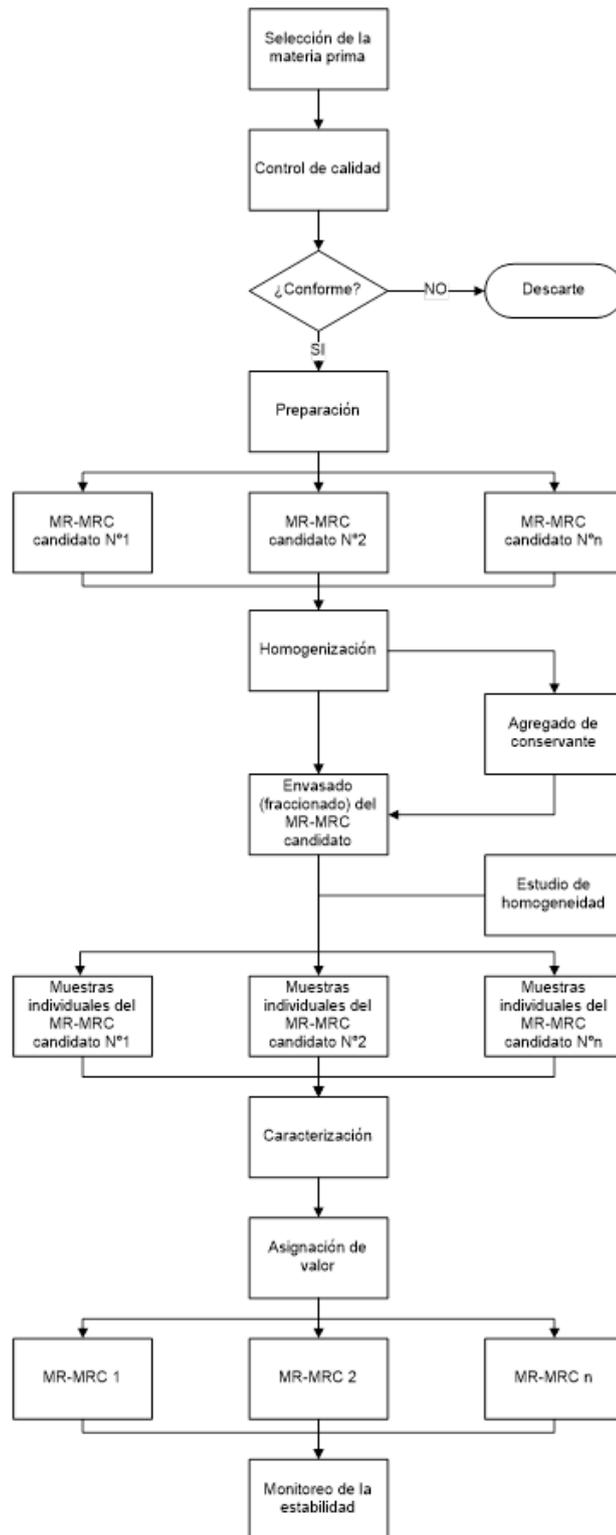


Figura 6: Diagrama de flujo de producción de un MR-MRC

1. PRODUCCIÓN DEL MATERIAL DE REFERENCIA CERTIFICADO

Para llevar a cabo este estudio se trabajó sobre 7 lotes de MRC candidatos, de los cuales 3 fueron usados para asignar el valor de materia grasa, proteínas, sólidos totales y cenizas por metodologías de referencia y observar sus efectos en los componentes de la leche, y 4 para efectuar el estudio de estabilidad a largo plazo.

Identificación de los lotes:

- Caracterización del MRC (metodologías de referencia): Lote A, Lote B, Lote C.
- Estudio de estabilidad a largo plazo: Lote D, Lote E, Lote F, Lote G.

La elaboración del MRC consta de diferentes etapas que se detallan a continuación:

1.1. Selección de la materia prima (matriz)

Para la producción del MRC se utilizó leche cruda (producto no industrializado) proveniente de tambos o industrias lácteas de la zona. Los requisitos de calidad que se controlaron fueron: acidez, punto de congelación y composición. Luego, la leche, se identificó y de acuerdo a los resultados se efectuó una estimación de la composición aproximada de cada sublote o muestra a preparar. Cada sublote se identifica con la letra de lote (A, B, C, D, E, F y G) y otro número que va de 1 a 11.

1.2 Selección de la composición y definición de rango

De acuerdo a la concentración de materia grasa y proteínas de la leche seleccionada se realizaron mezclas para lograr la composición de cada sublote. Éstos se analizaron en el Analizador infrarrojo LactoScope FTIR Advanced para verificar si su composición (materia grasa y proteína) era aproximada a la esperada.

El intervalo de valores (rango) que define el laboratorio de los siguientes componentes es: materia grasa entre 2,0 a 5,2 % p/v y proteínas entre 2,6 a 3,8 % p/v. Para los demás componentes como sólidos totales, densidad, caseína, lactosa, cenizas y proteína verdadera, no se corrigen los valores de las mismas ya que son consecuencia de las mezclas efectuadas.

1.3 Cantidad estimada

La búsqueda de la materia prima se realizó en función de la cantidad de packs necesarios para este trabajo, evaluando las cantidades para los estudios de homogeneidad y estabilidad y para la caracterización del MRC. Para los lotes A, B y C se prepararon 12 packs de 11 unidades de

candidatos a MRC, de los cuales 6 se conservaron con bronopol y 6 con azida de sodio. Para los lotes D, E, F y G se hicieron 30 packs, 15 conservados con bronopol y 15 con azida de sodio.

1.4 Uso de conservante y cantidad

Los conservantes utilizados fueron: 2-bromo-2 nitro-1,3 propanediol (Bronopol): 0,4 g/l y azida sódica: 0,2 g/l.

1.5 Preparación, identificación y envasado

Los MRC candidatos se calentaron de forma gradual en un baño termostático hasta llegar a $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ para homogeneizar todo el volumen. Luego se adicionó a la leche previamente filtrada, el conservante manteniendo la agitación constante. De los 7 lotes ensayados, a la mitad del volumen preparado, se le añadió bronopol y a la otra mitad se le agregó azida de sodio según las concentraciones mencionadas anteriormente.

Posteriormente, se procedió al envasado en botellas de 110 ml, identificadas con la etiqueta correspondiente. Las muestras individuales de los MRC candidatos se agruparon con banditas elásticas formando grupos con los 11 sublotes y se almacenaron en la heladera a una temperatura de $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ de modo de preservar las características metrológicas.



Figura 7a: MRC candidato correspondiente al lote “A” conservado con azida de sodio



Figura 7b: MRC candidato correspondiente al lote “A” conservado con bronopol

1.6 Estudio de homogeneidad

Todos los sublotes de los MRC candidatos, tanto con bronopol como con azida de sodio, se sometieron a este estudio que incluye la homogeneidad intra unidades y entre ellas. La homogeneidad inter unidades es importante para garantizar que cada unidad de MR tiene el mismo valor para cada propiedad y la homogeneidad intra unidad es significativa cuando los usuarios del material pueden tomar submuestras para la medición.

El estudio utiliza una evaluación estadística que compara la dispersión de las observaciones en las unidades del MRC con la precisión del procedimiento de medición para decidir si la desviación estándar entre unidades es suficientemente pequeña y de esta forma concluir si el MRC es homogéneo para el uso previsto.

a) Selección de la propiedad y método de análisis:

El estudio de homogeneidad se realiza para la propiedad que puede presentar un mayor grado de heterogeneidad, es decir que se prevé que sea menos homogénea y que por experiencia, el laboratorio considera que es la más representativa de la heterogeneidad del MRC candidato. Para este estudio, la propiedad representativa a evaluar es el contenido de materia grasa.

El procedimiento de medición que se utiliza para realizar el estudio de homogeneidad se basa en la “Norma ISO 9622: 2013 / IDF 141:2013, Milk and liquid milk products – Guidelines for the application of mid-infrared spectrometry”.

b) Esquema de muestreo:

Dado que los 7 lotes de MRC candidatos están integrado por menos de 100 unidades, se utilizó la cantidad de unidades correspondiente al 10 % del tamaño del mismo, con un mínimo

de 3 unidades. Las 3 muestras seleccionadas se midieron por duplicado en el Analizador Infrarrojo LactoScope FTIR.

c) Evaluación de tendencias:

Se verificó la ausencia de tendencias en el envasado (procesamiento) y en la secuencia de medición (ejecución) realizando un estudio de regresión lineal.

Todos los resultados del contenido de materia grasa de cada sub lote conservado con bronopol y azida de sodio se encuentran dentro de la repetibilidad del método de análisis (0,04% fracción de masa), por lo que la tendencia es técnicamente aceptable.

d) Evaluación de homogeneidad y resultados:

Para la evaluación de la homogeneidad se aplica el análisis de varianza (ANOVA) de un factor. A partir de los datos obtenidos de este estudio, se realizó la evaluación de los resultados teniendo en cuenta dos criterios de aceptación:

1) $H_0: F_{\text{calc}} < F_{\text{crit}}$

$H_1: F_{\text{calc}} > F_{\text{crit}}$

Se declara conforme la homogeneidad del material (se acepta la hipótesis nula H_0) si el F_{calc} es menor al F_{crit} para un 95% de confianza. Si F_{calc} es mayor al F_{crit} , la hipótesis nula es rechazada, la prueba resulta no conforme y se concluye que los promedios de los valores de las unidades no son equivalentes entre sí y que la variación entre ellos no puede ser justificada por la variación dentro de la unidad.

2) Se compara la desviación estándar inter unidades S_{bb} y la intra unidad S_w con la incertidumbre estándar de caracterización para confirmar que las desviaciones estándares son pequeñas en comparación con la misma:

$$S_{bb} < \frac{u_{char}}{3}$$

$$S_w < \frac{u_{char}}{3}$$

En este estudio la evaluación de ambos criterios dio conforme para las 11 muestras (sublotes) conservadas con bronopol y con azida de sodio de cada MRC candidato por lo que se considera que los 7 lotes producidos son homogéneos.

1.7 Almacenamiento

Las muestras individuales de MRC candidatos se almacenan en heladera a una temperatura entre $4\text{ }^\circ\text{C} \pm 4\text{ }^\circ\text{C}$ de modo de preservar sus características metrológicas.

1.8 Caracterización

La caracterización es la etapa en la cual se determinan los valores de las propiedades correspondientes de un MR. Para el MRC leche fluida entera se caracterizaron propiedades cuantitativas como materia grasa, proteínas y sólidos totales, y se utilizó el enfoque de caracterización corresponde a lo descrito en el punto 7.12.3 b) de la Norma ISO 17034:2016, caracterización de un mesurando definido no operacionalmente utilizando dos o más métodos de exactitud demostrable en uno o más laboratorios competentes. El resto de las propiedades se caracterizan utilizando un procedimiento de medición de referencia, excepto lactosa cuyo valor se obtiene de la diferencia entre el valor de sólidos totales y la sumatoria de materia grasa, proteínas y cenizas.

El laboratorio de Materiales de referencia subcontrata a laboratorios acreditados para que analicen los MRC candidatos (denominado por INTI como “Previo SICECAL”) aplicando el método de rutina ISO 9622:2013 / IDF 141:2013, Milk and liquid milk products – Guidelines for the application of mid-infrared spectrometry. Se les envía una la planilla de resultados para que ellos la devuelvan con los valores obtenidos.

Se analizaron los MRC candidatos con los siguientes métodos de ensayos, para los cuales el laboratorio está acreditado por el OAA conforme a los criterios contenidos en la norma IRAM-ISO/IEC 17025:2017:

Métodos de Referencia:

a) Determinación del contenido de materia Grasa:

a.1. *Normas de referencia:* ISO 1211 / IDF 1:2010, Milk- Determination of fat content- Gravimetric method (reference method).

ISO 3889 / IDF 219, Milk and milk products-Specifications of Mojonniers-type fat extraction.

a.2. *Principio:* consiste en extraer con éter etílico y éter de petróleo, una solución etanólica amoniacal de una porción de muestra. Luego los solventes se remueven por destilación o evaporación y se determina la masa de la sustancia extraída. Este principio se conoce como Röse-Gottlieb.

a.3. *Reactivos:* se usaron reactivos de grado analítico u otro grado especificado, y agua destilada o desmineralizada de grado 3. Entre ellos se encuentra: solución de amoníaco, etanol (C₂H₅OH), solución de rojo congo, éter etílico y éter de petróleo.

- a.4. *Equipos y materiales:* balanza analítica, centrífuga, aparatos de evaporación, estufa de secado, baño termostático, desecador con desecante silicagel, recipiente para extracción de grasa tipo mojonier, vaso de precipitado, balones de recolección de grasa (erlenmeyers), probetas y pipetas graduadas.
- b) Determinación del contenido de proteínas:
- b.1. *Norma de referencia:* ISO 8968-1 / IDF 20-1 2014, Milk and milk products - Determination of nitrogen content - Part 1: Kjeldahl principle and crude protein calculation. (Leche y productos lácteos: Determinación de contenido de Nitrógeno. Parte 1: Principio de Kjeldahl y cálculo de proteína cruda).
- b.2. *Principio:* se digiere una porción de ensayo, usando un aparato de digestión en bloque, con una mezcla de ácido sulfúrico y sulfato de potasio, usando sulfato de cobre (II) como un catalizador para convertir el nitrógeno orgánico presente en sulfato de amonio. La función del sulfato de potasio es aumentar el punto de ebullición del ácido sulfúrico y proporcionar un medio fuertemente oxidante. Se adiciona un exceso de hidróxido de sodio al digerido enfriado para liberar amoníaco. Se destilan los vapores de amoníaco, usando una unidad de destilación manual o semiautomática, pasando del digerido a un exceso de solución de ácido bórico y titulándolo con ácido clorhídrico. El contenido de nitrógeno es calculado a partir de la cantidad producida de amonio. Se basa en el método de Kjeldahl.
- b.3. *Reactivos:* sulfato de potasio (K_2SO_4), solución de sulfato de cobre (II), ácido sulfúrico, solución de hidróxido de sodio, solución del indicador, solución de ácido bórico, ácido clorhídrico, sulfato de amonio $(NH_4)_2SO_4$, triptófano ($C_{11}H_{12}N_2O_2$) y sacarosa.
- b.4. *Equipos y materiales:* balanza analítica, baño termostático, digestor TECATOR, destilador automático TECATOR 1035, tubos de digestión, pipetas graduadas. Pinzas metálicas.
- c) Determinación del contenido de sólidos totales:
- c.1. *Norma de referencia:* ISO 6731 / IDF 21:2010, Determinación del contenido de Sólidos Totales. Leche, Crema y Leche evaporada.
- c.2. *Principio:* una muestra es presecada en un baño termostático hirviente y el agua restante es posteriormente evaporada en una estufa a una temperatura de $102\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$.
- c.3. *Reactivos:* agua destilada.

- c.4. *Equipos y materiales*: balanza analítica, desecador con desecante silicagel seco, baño termostático hirviente, baño termostático capaz de ser mantenido a 35 °C – 40 °C, estufa de secado, placas de Petri y pipetas graduadas.
- d) Determinación del contenido de cenizas:
- d.1. *Norma de referencia*: AOAC 945:46 Ash of milk (Método gravimétrico) Acción Final.
- d.2. *Principio*: después de un presecado sobre baño termostático y quemado a llama de mechero sobre placa vitrocerámica, calcinación de la porción de muestra a temperatura de 550 °C en mufla.
- d.3. *Reactivos*: agua destilada
- d.4. *Equipos y materiales*: balanza analítica, desecador con desecante silicagel, mufla eléctrica, baño termostático hirviente, baño termostático capaz de ser mantenido a 35 °C – 40 °C y crisoles de porcelana.

Se analizaron los lotes A, B y C con la metodología de referencia realizando un duplicado de las 11 muestras con bronopol y otro con las 11 muestras de azida de sodio. Cada duplicado se evaluó en condiciones de repetibilidad y se comparó con la repetibilidad del método que establece la norma correspondiente.

De modo de comparar y verificar que la azida de sodio no cambia la composición de los componentes de la matriz leche fluida entera, se efectuó una Prueba t de Student para muestras emparejadas o relacionadas. La prueba estadística admite una hipótesis nula ($H_0: \mu_d = 0$) y una hipótesis alternativa ($H_1: \mu_d \neq 0$) con un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$ y que sigue una distribución t con $n - 1$ grados de libertad. Siendo el estadístico de prueba:

$$t = \frac{\bar{d}}{s_d/\sqrt{n}}$$

Donde: t : estadístico t calculado.

\bar{d} : promedio de las diferencias.

s_d : desviación estándar de las diferencias. $S_d = \sqrt{\frac{(d_i - \bar{d})^2}{n-1}}$

n : cantidad de muestras.

μ_d : media de la población en función a las diferencias.

El laboratorio de Materiales de Referencia aplica la siguiente metodología de referencia para:

- a) Determinación del contenido de nitrógeno caseínico:
 - a.1. *Norma de referencia:* ISO 17997-1:2004 / IDF 29-1:2004, Milk - Determination of casein nitrogen content - Part 1: Indirect method (Reference method).
- b) Determinación de densidad relativa:
 - b.1. *Norma de referencia:* IRAM 14066:1984, Leche – Método de determinación de la densidad relativa.
- c) Determinación del contenido de nitrógeno no proteico y cálculo del contenido de proteína verdadera:
 - c.1. *Norma de referencia:* ISO 8968-4:2016 / IDF 20-4:2016, Leche y productos lácteos - Determinación del contenido de nitrógeno – Parte 4: Determinación de proteína y contenido de nitrógeno no proteico y cálculo de contenido de proteína verdadera (método de referencia).

Si bien el laboratorio no está acreditado para estos ensayos, los mismos están incluidos en el sistema de calidad integrado implementado.

1.9 Asignación de valor e incertidumbre

El laboratorio de Materiales de referencia seleccionó las muestras de los MRC candidatos y llevó a cabo la medición analítica de las propiedades según los métodos de ensayos definidos en el punto 1.8 de la siguiente manera: para los lotes A, B y C realizó un duplicado con bronopol y otro con azida sodio y para los lotes D, E, F y G efectuó dos duplicados con bronopol. Luego calculó el promedio de los promedios de los resultados de cada duplicado.

Los resultados de las mediciones analíticas de los MRC candidatos de los laboratorios subcontratistas, se inspeccionaron técnicamente y luego se evaluaron estadísticamente. Para ello, se promediaron los resultados duplicados de cada subcontratista, y luego se evaluó el desvío entre el promedio mayor y el menor. Se evaluó que el desvío fuera menor que la reproducibilidad de la norma que aplique, y luego se aplicó una prueba de Grubbs (G-test) para eliminar estadísticamente resultados anómalos. Los resultados obtenidos por los laboratorios subcontratados se promediaron. Posteriormente, se evaluó la compatibilidad metrológica para comprobar que los resultados de los dos métodos de ensayo utilizados fueran metrológicamente compatibles.

Según los resultados arrojados por el G-test, en los 7 lotes producidos en este trabajo, se tuvo que descartar por los menos un valor.

1.9.1 Cálculo del valor asignado y estimación de la incertidumbre: Se ponderaron el promedio de los resultados obtenidos según el método de referencia, $\overline{x_{LMR}}$ y el promedio de los resultados obtenidos según el método de rutina, $\overline{x_{LS}}$ para materia grasa, proteína y sólidos totales de la siguiente manera:

$$\text{valor asignado LFE} = 0,6 \times \overline{x_{LMR}} + 0,4 \times \overline{x_{LS}}$$

La **incertidumbre de caracterización** de estas propiedades se estima según:

$$u_{char} = 0,6 \times u_{LMR} + 0,4 \times u_{LS}$$

Donde u_{LMR} es la incertidumbre del laboratorio de materiales de referencia y u_{LS} es la incertidumbre de los laboratorios subcontratados.

Para la determinación del contenido de cenizas, el valor asignado se calculó realizando el promedio de los promedios de los resultados de cada duplicado obtenido por el método de referencia de los MRC candidatos para los lotes usados tanto en la caracterización como en el estudio de estabilidad a largo plazo.

La **incertidumbre del valor asignado** se obtiene por combinación cuadrática de la incertidumbre estándar proveniente de la *caracterización*, la incertidumbre estándar aportada por el estudio anual de *estabilidad* y la incertidumbre estándar aportada por el estudio de *homogeneidad*. Se expresa expandida con un $k=2$ (95 % de confianza) para proporcionar un intervalo $x_{MRC} \pm U_{MRC}$ que incluya una gran fracción de los valores que podrían atribuirse razonablemente a la propiedad que se certifica:

$$U = 2 \times \sqrt{(u_{char})^2 + (u_{hom})^2 + (u_{est})^2}$$

Una vez superada la instancia de caracterización del material y la asignación de los valores de las propiedades junto con su incertidumbre correspondiente, se los denomina Materiales de Referencia.

1.10 Estudio de estabilidad

Los Materiales de Referencia deben ser suficientemente estables para su uso previsto, de modo que el usuario pueda confiar en el valor asignado en cualquier punto dentro del período de validez del certificado. Habitualmente, es importante considerar la estabilidad bajo condiciones de almacenamiento a largo plazo, bajo condiciones de transporte y, cuando sea aplicable, bajo condiciones de almacenamiento en el laboratorio del usuario. Esto puede incluir condiciones de estabilidad después de la apertura, si se permite reutilizarlos.

La estabilidad del MRC se considera que no es afectada por las condiciones de transporte establecidas ya que son iguales a las condiciones de almacenamiento. Por lo tanto, el laboratorio no realiza las mediciones a diferentes temperaturas para estudiar el efecto de las mismas en las propiedades del material.

El tratamiento de datos para el estudio de estabilidad debe tener en cuenta el objetivo particular del ensayo, el diseño experimental utilizado y las fuentes de variación que pueden afectar los resultados.



Figura 8: MRC candidato correspondiente al lote “E”, conservado con bronopol, usado para efectuar el estudio de Elp.

1.10.1 Estudio de estabilidad a largo plazo:

Este estudio se utiliza para determinar y asegurar el tiempo de vida y debe evaluarse antes de la distribución del material a los usuarios. El diseño básico experimental seleccionado según las condiciones de medición es el estudio clásico de estabilidad donde, muestras individuales preparadas al mismo tiempo bajo idénticas condiciones, son medidas en el transcurso del tiempo. El trabajo se lleva a cabo en condiciones de precisión intermedia (reproducibilidad intralaboratorio) y se realiza en tiempo real, es decir que se estudia la estabilidad en las condiciones de almacenamiento del MRC. En la realización de este estudio, la Elp, se efectuó en los lotes D, E, F y G.

1.10.1.1 *Selección de la propiedad, método y frecuencia de análisis:*

Las propiedades analizadas son materia grasa y proteína según ISO 9622 / IDF 141:2013.

- Analizador infrarrojo LactoScope FTIR:

Para efectuar los estudios estabilidad, al igual que los de homogeneidad se usó el analizador infrarrojo LactoScope FTIR Advanced. Este equipo, está diseñado para analizar productos lácteos líquidos como leche cruda de diferentes especies (vaca, cabra, oveja, búfala), leche procesada, crema y suero de leche. Utiliza la tecnología de infrarrojos transformada de Fourier (FTIR), una metodología conforme con las normas IDF y AOAC, y consta de un método espectroscópico rápido y conveniente para la medición de grasa, proteína, lactosa, sólidos y otros componentes de la leche y los productos lácteos.

- Norma de referencia: ISO 9622 IDF 141: 2013. Milk and liquid milk products — Guidelines for the application of mid-infrared spectrometry (*Leche y productos lácteos líquidos - Directrices para la aplicación de la espectrometría de infrarrojo medio*).
- Principio: Después del tratamiento previo y la homogeneización, la muestra se mide con un espectrómetro infrarrojo que registra la cantidad de radiación absorbida en transmitancia a longitudes de onda específicas en la región del infrarrojo medio. Los datos espectrales se transforman en las estimaciones de las concentraciones de constituyentes u otros parámetros fisicoquímicos a través de modelos de calibración desarrollados en muestras representativas de la población a ser probada.

Tecnología LactoScope FTIR Advanced:

El LactoScope FTIR Advanced está construido en torno al llamado Interferómetro de Fourier (FTIR: Fourier Transform Infra Red). Su funcionamiento se basa en la interferencia de la energía infrarroja, que pasa a través de un divisor de haz y la recombinación de señales reflejadas y de desplazamiento de tiempo (figura 9):

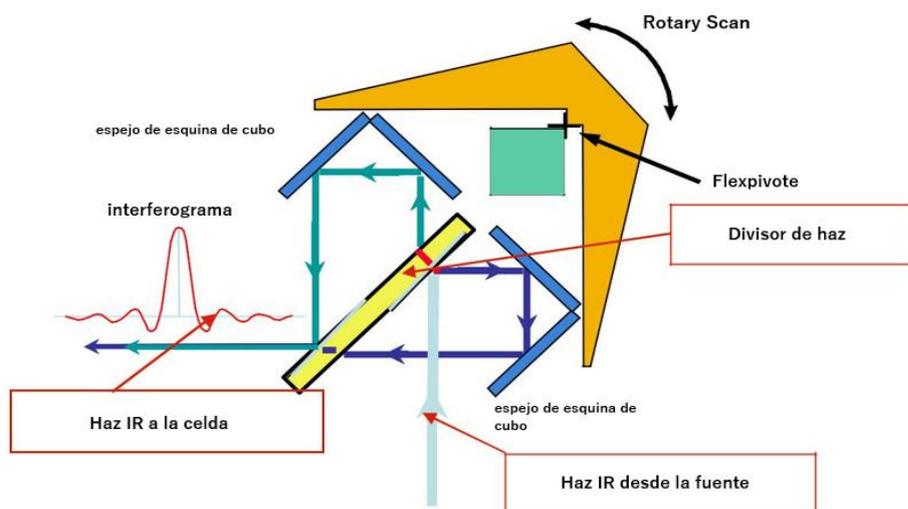


Figura 9: Partes del LactoScope FTIR Advanced

El interferómetro consiste en un número de partes esenciales:

- Brazo de escaneo oscilante (soporte amarillo)
- Fuente infrarroja
- Divisor de haz
- Laser
- Espejos de esquina de cubos

La energía infrarroja, procedente de la fuente IR se divide en 2 haces por medio del divisor de haz. Éste actúa como un espejo en un 50% reflejando una parte al primer espejo (flechas azules). El otro 50% pasa por el divisor de haz y pega en el otro espejo (flechas verdes). Ambos haces son reflejados por los espejos y golpean al divisor de haz, una vez más. De nuevo, esto hará que 50% de la energía pase por el divisor y el otro 50% se refleje. Luego, los dos haces se recombinan y se llevan a la celda de medición.

Esta separación y reunión de haces se llama Transformada de Fourier. Para obtener señales desplazadas en tiempo, el sistema de espejos se mueve. Esto está creado por el balanceo del Brazo de escaneo oscilante y este sistema genera el llamado Interferograma. A partir de esto, el espectro IR de la muestra es calculado utilizando Transformada de Fourier.

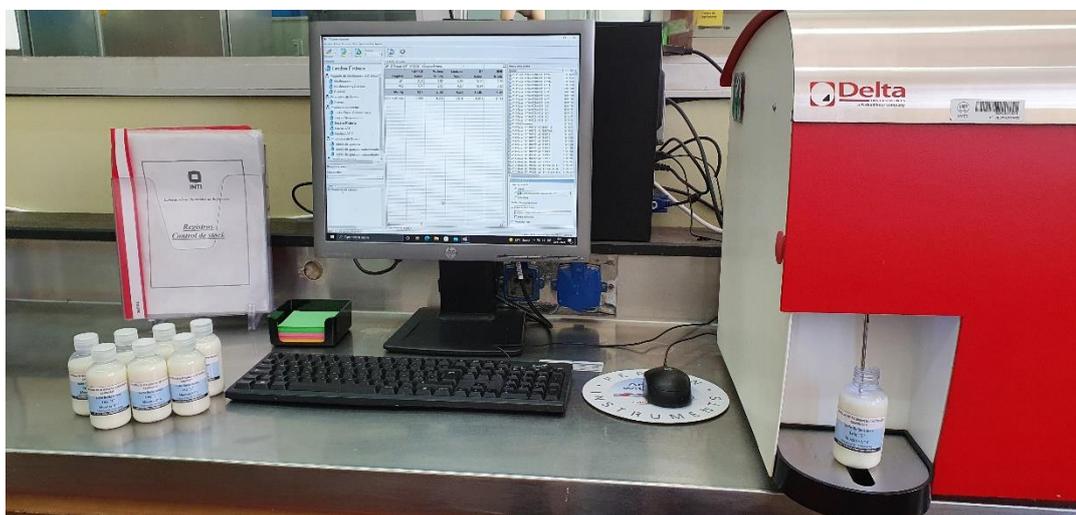


Figura 10: LactoScope FTIR Advanced

Para los MRC candidatos, conservados con bronopol y azida de sodio, las 11 muestras, se analizaron por duplicado (x_1 y x_2) y luego, de cada una de ellas, se calculó el promedio de las dos mediciones (X_{meas}).

El primer análisis o control comenzó luego de emitir el certificado de medición y continuó en las semanas siguientes realizando controles semanales (tabla 2 y tabla 3).

Tabla 2: Frecuencia de análisis para el Lote D del MRC candidato conservado con bronopol y azida de sodio.

Lote D		
Frecuencia	Conservante: bronopol	Conservante: azida de sodio
<i>Semana 1</i>	Elaboración del MRC candidato	Elaboración del MRC candidato
<i>Semana 2</i>	Certificación y 1° control de estabilidad	Certificación y 1° control de estabilidad
<i>Semana 3</i>	2° y 3° control de estabilidad	2° control de estabilidad
<i>Semana 4</i>	4° y 5° control de estabilidad	3° control de estabilidad
<i>Semana 5</i>	6° y 7° control de estabilidad	4° y 5° control de estabilidad
<i>Semana 6</i>	8° y 9° control de estabilidad	6° y 7° control de estabilidad
<i>Semana 7</i>	10° y 11° control de estabilidad	8° control de estabilidad
<i>Semana 8</i>	-	9° control de estabilidad
<i>Semana 9</i>	-	10° control de estabilidad
<i>Semana 10</i>	-	11° control de estabilidad

Tabla 3: Frecuencia de análisis para los Lotes E, F y G del MRC candidato conservado con bronopol y azida de sodio.

Lote E, F, G		
Frecuencia	Conservante: bronopol	Conservante: azida de sodio
<i>Semana 1</i>	Elaboración del MRC candidato	Elaboración del MRC candidato
<i>Semana 2</i>	Certificación y 1° control de estabilidad	Certificación y 1° control de estabilidad
<i>Semana 3</i>	2° control de estabilidad	2° control de estabilidad
<i>Semana 4</i>	3° control de estabilidad	3° control de estabilidad
<i>Semana 5</i>	4° control de estabilidad	4° control de estabilidad
<i>Semana 6</i>	5° control de estabilidad	5° control de estabilidad
<i>Semana 7</i>	6° y 7° control de estabilidad	6° control de estabilidad
<i>Semana 8</i>	8° y 9° control de estabilidad	7° control de estabilidad

<i>Semana 9</i>	-	8° y 9° control de estabilidad
<i>Semana 10</i>	-	10° y 11° control de estabilidad

1.10.1.2 Esquema de muestreo:

Para el estudio de estabilidad las unidades se seleccionaron mediante un muestreo simple al azar. El número de unidades seleccionadas es igual al número de puntos de control necesarios para el MRC. Para este estudio la cantidad de unidades requeridas por punto de monitoreo es 1 por sub lote candidato a MRC (11 sublotes).

1.10.1.3 Evaluación de resultados:

Para la mayoría de los estudios de estabilidad básicos, el objetivo es probar cualquier cambio importante en el tiempo de almacenamiento o estimar la tasa de cambio de los valores de las propiedades a lo largo del tiempo. Un diseño que sigue el valor de una propiedad a lo largo del tiempo en un conjunto único de condiciones de almacenamiento se evalúa generalmente mediante una **regresión lineal**. La regresión lineal se usa en estudios de materiales de referencia para determinar tasas de cambio simples y probar su significancia estadística.

Se efectuó un estudio de estabilidad básico donde se ejecutaron 2 mediciones en cada uno de los puntos en el tiempo, en una sola condición de almacenamiento.

Para la evaluación de los datos se realizó un análisis de regresión en el cual se aplica el siguiente modelo de regresión lineal

$$X = \beta_0 + \beta_1 t + \varepsilon$$

Dónde β_0 : ordenada al origen del modelo.

β_1 : pendiente.

ε : componente de error aleatorio.

t : tiempo.

X : valor de la propiedad del candidato a MRC.

Para el MRC estable, se espera que β_1 sea cero.

Dado un conjunto de n observaciones por pares X en función de t , para cada X_i se puede desarrollar la siguiente expresión

$$X_i = \beta_0 + \beta_1 t + \varepsilon$$

Luego, se graficó la concentración medida de la propiedad de interés en función del tiempo y se observó si existieron valores atípicos. En caso de encontrarlos, se investiga la causa y si se atribuyen fallas en el sistema de medición, se eliminan y se realiza nuevamente el análisis de regresión.

Se realizó un análisis de varianza para la regresión lineal, considerando el caso de comportamiento lineal y que la media de los errores aleatorios sea cero, por lo cual la expresión matemática para el modelo puede expresarse como

$$X_i = \beta_0 + \beta_1 t$$

Se establece un test de nivel α para las hipótesis $H_0: \beta_1 = 0$ versus $H_1: \beta_1 \neq 0$, con un nivel de significancia normalmente, $\alpha = 0,05$.

El test para $H_0: \beta_1 = 0$ se conoce como test de independencia o de no asociación ya que nos dice si las variables están asociadas o no. Para testear la hipótesis $H_0: \beta_1 = 0$ se utiliza el estadístico F de distribución de Fisher con $(1, n-2)$ grados de libertad. Si H_0 es verdadera, F estará cerca de 1. Se rechaza H_0 si el valor del estadístico para los datos de la muestra produce un p-valor (calculado sobre la distribución F de Fisher) menor que el nivel α .

Para la estimación de estos parámetros se obtuvo la tabla ANOVA del Excel para la regresión lineal, de la cual se realizó un análisis de tendencias para evaluar:

A) Ausencia de tendencias: Si $p\text{-valor} > \alpha$ ($F_{\text{calc}} < F_{(1, n-2, \alpha)}$) se acepta el H_0 . El MRC se considera estable, no existe degradación significativa.

B) Presencia de tendencias: Si $p\text{-valor} < \alpha$ ($F_{\text{calc}} > F_{(1, n-2, \alpha)}$) se rechaza el H_0 . Se considera que no hay estabilidad en el período evaluado.

Si la tendencia es **estadísticamente significativa**, también hay que considerar si es **técnicamente significativa**; es decir, si es suficiente para exigir un aumento de la incertidumbre en el valor certificado o para evitar la certificación. La tendencia debe considerarse técnicamente significativa si la degradación prevista durante el período de validez del material es importante en comparación con la incertidumbre estándar del valor de la propiedad. Para ello el laboratorio observa que la diferencia entre el valor obtenido en cada punto de control respecto al valor de referencia sea menor o igual a la incertidumbre estándar del valor asignado. Si esto se cumple no hay tendencia técnicamente significativa.

Si se observa una tendencia técnicamente significativa, se debe optar uno de los siguientes enfoques:

- a) no se certifica el valor de la propiedad en el cual se observó la degradación;
- b) se disminuye el período de validez del valor certificado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Caracterización de los conservantes químicos usados para fines analíticos

De acuerdo al análisis bibliográfico sobre los diferentes conservantes, en la tabla 4 se evidencia que existen las siguientes alternativas:

Tabla 4: Tipos de conservantes para leche cruda para fines analíticos (Dos Santos et al., 2020; Laborclin, 2018; Torres Lindarte et al., 2017; Freitas Moreira, 2014; Upadhyay et al., 2014; Suvartan, 2013; Pereira Martins et al., 2009; Castro, 2007; Sešķēna & Jankevica, 2007; Smyth, 2006; Chang & Lamm, 2003; Bertrand, 1996; Barcina Angulo et al., 1987; Kroger, 1985).

CONSERVANTE	CARACTERÍSTICAS	
CLORURO DE MERCURIO	Sinónimos	Cloruro de mercurio (II), Cloruro mercúrico, bicloruro de mercurio.
	Fórmula química	HgCl ₂
	Propiedades físicas y químicas	Existe en forma de cristales o polvo blanco y no tiene olor; es soluble en agua, alcohol, éter, glicerina y éster de ácido acético.
	Ventajas/espectro de actividad	Se le considera un conservante eficaz para leche cruda
	Desventajas	Su toxicidad, relativamente alta, lo convierte en un riesgo ocupacional y su naturaleza corrosiva contribuye al desgaste del material en los laboratorios que realizan análisis instrumentales.
	Riesgos para la salud y medio ambiente	La sustancia es tóxica para los organismos acuáticos. Se suspendió su uso debido a los riesgos ambientales relacionados con el mercurio, ya que se convierte en metil mercurio el cual es absorbido fácilmente por el plancton y las algas. Daña la salud humana ya que es muy tóxico por ingestión e inhalación. Provoca quemaduras en la piel y lesiones oculares graves.
	Sinónimos	Agua oxigenada, dióxido de hidrógeno, peróxido de dihidrógeno.

PERÓXIDO DE HIDRÓGENO	Fórmula química	H ₂ O ₂
	Propiedades físicas y químicas	Líquido incoloro; se expresa en porcentaje o volumen; soluble en agua e insoluble en éter; su descomposición produce agua y oxígeno y en solución diluida de peróxido de hidrógeno se reduce el efecto oxidante.
	Ventajas/espectro de actividad	Es un fuerte agente oxidante, blanqueador y germicida; posee amplio espectro de acción, al 3 % es bacteriostático y al 6 % es bactericida a temperatura ambiente y esporicida.
	Desventajas	Debido a que las soluciones de H ₂ O ₂ son líquidas y tienen una efectividad relativa a corto plazo, no es adecuado para muestras mantenidas a largo plazo y produce efectos sobre los componentes de la leche. Estudios realizados con leches conservadas con 0,06 % de H ₂ O ₂ a 20 °C mostraron una disminución del contenido de grasa del 0,2 % y un aumento del 0,05 % en el contenido de grasa en muestras almacenadas a 4 °C después de 24 horas mediante espectroscopía infrarroja.
	Riesgos para la salud y medio ambiente	A bajas concentraciones no se clasifica como corrosivo/irritante para la piel y causante de lesiones oculares graves. No se cataloga como peligroso para el medio ambiente acuático.
FORMALDEHÍDO	Sinónimos	Formalina, aldehído fórmico, metanaldehído, formol.
	Fórmula química	HCHO
	Propiedades físicas y químicas	Líquido incoloro de olor penetrante; soluble en agua (las soluciones al 37-40 % se conocen como formol), acetona, alcohol, benceno, éter y cloroformo.
	Ventajas/espectro de actividad	Se ha permitido en la India, para la conservación de leche y productos lácteos destinados al análisis químico a un nivel del 0,4 % v/v o v/p en leche o productos lácteos.
	Desventajas	Ha mostrado resultados variables con respecto a su

		capacidad para conservar muestras. Se plantearon varias razones para explicar esta variabilidad como el uso de formalina deficiente, el período y temperatura de almacenamiento y la naturaleza de la muestra conservada. También se ha demostrado que afecta varias propiedades fisicoquímicas, así como el contenido de grasa, proteína, lactosa y sólidos totales durante el almacenamiento. Muchos investigadores han estudiado los cambios de composición en muestras de leche que se ven afectados por la conservación de formalina.
	Riesgos para la salud y medio ambiente	Tóxico por inhalación, por ingestión y en contacto con la piel provoca quemaduras. Los síntomas más comunes incluyen irritación de los ojos, piel, nariz y garganta, junto con un aumento de lagrimeo.
DICROMATO DE POTASIO	Sinónimos	Dicromato dipotásico
	Fórmula química	$K_2Cr_2O_7$
	Propiedades físicas y químicas	Existe como rojo anaranjado brillante, no es higroscópico ni deliquescente; es soluble en agua, pero insoluble en alcohol.
	Ventajas/espectro de actividad	Ha demostrado ser eficaz como conservante de muestras de leche para análisis.
	Desventajas	Estudios informaron que, cuando las muestras se conservaron con $K_2Cr_2O_7$ y se almacenaron hasta 20 días en refrigeración, los resultados arrojaron diferencias entre distintas razas. El contenido de grasa en las muestras de leche de las vacas Jersey disminuyó antes que en las muestras de las vacas Holstein. Los problemas asociados con este compuesto son que las muestras conservadas eventualmente se vuelven agrias y coaguladas. Esto se acompaña de un cambio de leche de amarillo a gris verdoso, una indicación de reducción, muy probablemente por bacterias

		reductoras o por condiciones ácidas.
	Riesgos para la salud y medio ambiente	Tóxico para los seres humanos y se considera un veneno corrosivo. Su contacto puede provocar ulceración de las manos, rinitis, hemorragia nasal y destrucción de las membranas de la mucosa y es un potente sensibilizador para la dermatitis alérgica. Además, dado que es biocida, es ambientalmente peligroso y puede causar problemas en los sistemas de alcantarillado con la eliminación masiva.
AZIDA DE SODIO	Sinónimos	Azida sódica
	Fórmula química	NaN_3
	Propiedades físicas y químicas	Es un polvo cristalino (similar a la sal) de blanco a incoloro, insípido e inodoro; es soluble en agua o amoníaco líquido, y ligeramente soluble en alcoholes.
	Ventajas/espectro de actividad	Es eficaz para estabilizar las muestras de leche utilizadas para medir contenidos de grasas y proteínas. El efecto del conservante sobre el contenido de grasa y proteína de la leche cruda utilizando el método de espectroscopia infrarroja determinó que no hubo cambios considerables en ninguno de los dos componentes de las muestras tratadas con NaN_3 , a 4 °C y 20 °C durante el período de 72 horas.
	Desventajas	No se detectaron desventajas asociadas a este compuesto.
	Riesgos para la salud y medio ambiente	El principal efecto en la salud humana a grandes concentraciones es el efecto hipotensor. La absorción de partículas, solución líquida o fases de vapor de azida sódica puede implicar ingestión, inhalación o vías de exposición cutáneas. Se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal, en el tracto respiratorio y produce taquicardia de forma centralizada. Con respecto a su eliminación en grandes volúmenes, es de gran preocupación ya que es capaz de reaccionar

		con metales en tuberías de sistemas de residuos dentro de edificios de laboratorio y en sistemas de alcantarillado que producen explosiones espontáneas.
AZIDIOL	Sinónimos	No aplica
	Fórmula química	No aplica (solución formada por varios componentes)
	Propiedades físicas y químicas	Es una solución inodora de color azul. Está formada principalmente por dos componentes: azida de sodio y cloranfenicol, que actúan inhibiendo la síntesis de proteínas, prolongando así, el tiempo de conservación de la leche. Otras sustancias que forman el azidiol son etanol, citrato de sodio y azul de bromofenol.
	Ventajas/espectro de actividad	Puede ser utilizado en un esquema de pago de calidad para la evaluación química, bacteriológica y citológica de la leche, porque una muestra de la misma mantiene su composición original desde el momento del ordeño hasta el del análisis. También, se logra una mayor conservación si la leche se almacena con el conservante a bajas temperaturas, ya que cuando la temperatura de almacenamiento de las muestras es inferior a 20 °C, el análisis se mantiene estable durante 2 días, y cuando la temperatura es de 4 °C los componentes de la leche no muestran cambios durante al menos una semana.
	Desventajas	No se comercializa como tal, por lo tanto, hay que preparar la solución con mayor frecuencia ya que tiene una vida útil de 2 meses.
	Riesgos para la salud y medio ambiente	En caso de ingestión, en cantidades significativas, presenta irritación gástrica, náuseas, vómitos y diarrea, y como el producto no se descompone en forma gaseosa, su inhalación es peligrosa
	Sinónimos	2-Bromo-2-nitro-1,3-propanodiol, 2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol, bronotak.
	Fórmula química	C ₃ H ₆ BrNO ₄

BRONOPOL	Propiedades físicas y químicas	Existe en forma de cristales de color blanco a amarillo pálido o polvo cristalino. Se descompone a temperaturas superiores a 140 °C y en condiciones de alcalinidad para generar productos de descomposición que incluyen formaldehído, nitrometano, ácido nitroso, ácido glicólico, bromuro de hidrógeno, óxidos de nitrógeno, ácido fórmico y metanol. A temperaturas normales, es fácilmente soluble en agua, alcoholes y glicoles de bajo peso molecular.
	Ventajas/espectro de actividad	Tiene un amplio espectro bactericida, propiedades bacteriostáticas, actividad frente a los hongos y es eficaz contra bacterias Gram positivas y Gram negativas. Es estable en un ambiente ácido y en condiciones normales de almacenamiento durante un mínimo de un año y no produce fotólisis. Tiene varias ventajas sobre el uso de otros conservantes ya que no es corrosivo, no es tóxico, es estable en condiciones normales de almacenamiento y no produce ningún color cuando se agrega en la leche, a diferencia del cloruro mercuríco y el dicromato de potasio.
	Desventajas	Una de las desventajas del uso de bronopol es que, a temperaturas consistentemente altas, el producto se vuelve inestable; debe estar refrigerado para que funcione correctamente. Su uso, por lo tanto, no ha demostrado ser totalmente exitoso y todavía hay una necesidad de un agente antimicrobiano mejorado para conservar la muestra de leche.
	Riesgos para la salud y medio ambiente	A concentraciones bajas (usadas generalmente para fines de conservación), no causa irritación de la piel, pero en su estado puro y a elevadas concentraciones, es nocivo en caso de ingestión, produce irritación de las vías respiratorias superiores, de las membranas

		mucosas y de la piel y puede producir lesiones oculares.
--	--	--

De las opciones analizadas e investigadas se consideraron que las candidatas a estudiar para este trabajo eran: bronopol y azida de sodio.

La evaluación de los compuestos desde el punto de vista comercial sugiere que el bronopol es el conservante más apropiado disponible comercialmente en forma de tableta. Se sabe que la azida de sodio y el azidiol son tóxicos y estos compuestos no se degradan en el medio ambiente, por lo que estos conservantes no se ofrecen a los consumidores y sólo pueden utilizarse para el análisis de laboratorio. Un estudio realizado sobre el efecto de los conservantes de leche cruda utilizando el método de espectroscopía infrarroja, informó que no hubo cambios sobre el contenido de grasa y proteínas en las muestras tratadas con azidiol y azida de sodio a 4 °C y 20 °C (Sešķēna & Jankevica, 2007).

Las muestras de leche cruda para la determinación de sus componentes se pueden analizar hasta diez días después del ordeño, si se utilizan conservantes y se almacenan en refrigeración. Algunos autores resaltan la necesidad de recolectar dos muestras por productor ya que los conservantes utilizados son diferentes. Los más utilizados son bronopol para el caso de análisis fisicoquímicos y azidiol para el análisis bacteriológico (recuento bacteriano total) (Freitas Moreira, 2014).

Upadhyay et al. (2014) recomienda el uso de conservantes, como bronopol o azida de sodio de naturaleza bactericida. La investigación sobre combinaciones de agentes antibacterianos y antibióticos bacteriostáticos como el cloranfenicol y la nitrofurazona generó nuevas mezclas que fueron lo suficientemente buenas como para preservar la leche sin afectar el análisis instrumental de la leche por equipos como el azidiol.

El propósito de estos conservantes es prevenir el crecimiento microbiano. Prácticamente, no tienen impacto en la degradación enzimática de grasas y proteínas en la leche. Estas enzimas provienen de la vaca o microorganismos. La tasa de descomposición enzimática de grasas y proteínas en la leche conservada, será más rápida en muestras no refrigeradas que en muestras refrigeradas (Zajác et al., 2016).

2. Validación de la invariabilidad de componentes de la leche de los MRC candidatos comparando el uso de azida de sodio y bronopol

En las siguientes tablas se detallan los resultados logrados, expresados en g/100g, por métodos de referencia de materia grasa, proteínas, sólidos totales y cenizas correspondientes a los 3 lotes analizados.

Tabla 5: Medias de materia grasa, proteínas, sólidos totales y cenizas expresadas en g/100g en muestras de leche cruda conservadas con bronopol y azida de sodio para el MRC candidato perteneciente al lote A:

Lote A								
N° de muestra	Materia grasa		Proteína		Sólidos totales		Cenizas	
	BR	AS	BR	AS	BR	AS	BR	AS
1	2,01	2,00	3,31	3,31	10,81	10,82	0,74	0,75
2	2,44	2,44	3,26	3,26	10,70	10,71	0,69	0,71
3	2,76	2,77	3,45	3,43	11,65	11,66	0,74	0,76
4	3,32	3,28	3,36	3,38	11,86	11,76	0,70	0,71
5	3,47	3,45	3,48	3,45	12,20	12,19	0,72	0,75
6	3,61	3,59	3,23	3,23	12,26	12,25	0,72	0,75
7	3,81	3,81	3,32	3,33	12,55	12,64	0,72	0,75
8	4,14	4,14	3,15	3,13	12,40	12,41	0,67	0,70
9	4,34	4,36	3,22	3,24	12,80	12,83	0,70	0,74
10	4,66	4,67	3,12	3,09	12,84	12,81	0,66	0,70
11	4,87	4,88	3,03	3,03	12,78	12,79	0,67	0,67

Abreviaturas: BR: Bronopol, AS: Azida de sodio

Tabla 6: Medias de materia grasa, proteínas, sólidos totales y cenizas expresadas en g/100g en muestras de leche cruda conservadas con bronopol y azida de sodio para el MRC candidato perteneciente al lote B:

Lote B								
N° de muestra	Materia grasa		Proteína		Sólidos totales		Cenizas	
	BR	AS	BR	AS	BR	AS	BR	AS
1	2,04	2,07	3,38	3,40	10,84	10,87	0,76	0,75

2	2,51	2,53	3,57	3,59	11,43	11,41	0,74	0,74
3	2,80	2,82	3,17	3,18	11,00	10,98	0,70	0,70
4	3,21	3,22	2,94	2,94	10,97	11,01	0,68	0,67
5	3,37	3,38	3,06	3,05	11,61	11,58	0,70	0,71
6	3,55	3,55	3,19	3,21	12,16	12,18	0,74	0,74
7	3,67	3,66	3,29	3,28	12,32	12,33	0,74	0,74
8	4,14	4,14	3,43	3,43	12,63	12,59	0,72	0,71
9	4,29	4,29	3,57	3,59	13,11	13,11	0,72	0,74
10	4,65	4,65	3,33	3,35	12,95	12,93	0,69	0,68
11	4,94	4,93	3,48	3,51	13,60	13,58	0,71	0,73

Abreviaturas: BR: Bronopol, AS: Azida de sodio

Tabla 7: Medias de materia grasa, proteínas, sólidos totales y cenizas expresadas en g/100g en muestras de leche cruda conservadas con bronopol y azida de sodio para el MRC candidato perteneciente al lote C:

Lote C								
N° de muestra	Materia grasa		Proteína		Sólidos totales		Cenizas	
	BR	AS	BR	AS	BR	AS	BR	AS
1	2,12	2,13	3,24	3,25	10,39	10,31	0,70	0,68
2	2,33	2,36	2,89	2,88	10,09	10,08	0,66	0,65
3	2,66	2,68	3,26	3,26	11,43	11,40	0,74	0,72
4	2,99	3,01	3,25	3,25	11,69	11,68	0,73	0,73
5	3,38	3,39	3,68	3,68	12,44	12,40	0,76	0,73
6	3,62	3,61	3,71	3,74	12,83	12,83	0,75	0,73
7	3,83	3,82	3,49	3,52	12,68	12,60	0,75	0,73
8	4,18	4,16	3,23	3,26	12,82	12,84	0,73	0,73
9	4,36	4,36	3,26	3,26	13,09	13,03	0,73	0,70
10	4,63	4,65	3,21	3,23	13,21	13,21	0,73	0,71
11	4,89	4,90	2,99	3,00	13,10	12,90	0,67	0,66

Abreviaturas: BR: Bronopol, AS: Azida de sodio

Dado que, para cada determinación, todas las muestras pertenecientes a los 3 lotes se encuentran en la misma condición para aplicar la Prueba t de Student, es decir, 33 muestras conservadas con bronopol y 33 conservadas con azida de sodio, se realizó la prueba para todos los datos, de modo de obtener más información para un mejor sustento a la prueba estadística. En la tabla 8 se muestran los resultados obtenidos en la Prueba t de Student.

Tabla 8: Prueba t de Student

Determinación	Estadístico t	Valor crítico de t (dos colas)	p-valor (dos colas)
Materia grasa	1,000	2,037	0,325
Proteína	1,972	2,037	0,057
Sólidos totales	1,822	2,037	0,078
Cenizas	0,782	2,037	0,440

El estadístico t para cada una de las determinaciones es menor al valor crítico de t, por lo tanto, se acepta la hipótesis nula (H_0). Además, analizando la última columna (p-valor), que corresponde al valor p de la prueba para cada una de las determinaciones, obtenemos que el conservante azida de sodio no es significativo en los componentes de la leche ya que $p > 0,05$.

3. Evaluación del estudio de estabilidad a largo plazo

La evaluación del estudio de la Elp de los 4 lotes analizados consistió en observar y determinar si los resultados presentaron, en primer lugar, una tendencia estadísticamente significativa y, en segundo lugar, una tendencia técnicamente significativa de modo de establecer la vida útil del MRC candidato conservado con bronopol y del MRC candidato conservado con azida sódica.

3.1 Evaluación de los resultados para el Lote “D”

A continuación, se presentan los datos de la prueba ANOVA obtenidos del Excel para la regresión lineal correspondientes al lote “D”. La tabla 9, muestra los resultados obtenidos de la regresión al día 36 para las muestras conservadas con bronopol y al día 43 para las conservadas con azida de sodio. Debido a inconvenientes técnicos durante la asignación de valor, la muestra N°1 conservada con bronopol y las muestras N°1 y N°7 conservadas con azida de sodio fueron descartadas.

Tabla 9: Tabla ANOVA para la prueba de Elp ($F(1,n-2,\alpha)$ es el valor crítico de la distribución F para el nivel de significancia $\alpha = 0.05$ y $(n-2)$ grados de libertad) para el lote "D"

Lote "D"									
Bronopol - 36 días					Azida de sodio - 43 días				
N° de muestra	Materia grasa		Proteína		N° de muestra	Materia grasa		Proteína	
	F_{cal}	$F(1,n-2,\alpha)$	F_{cal}	$F(1,n-2,\alpha)$		F_{cal}	$F(1,n-2,\alpha)$	F_{cal}	$F(1,n-2,\alpha)$
2	<i>19,990</i>	5,120	<i>0,491</i>	5,120	2	<i>0,013</i>	5,590	<i>1,721</i>	5,590
3	<i>11,796</i>	5,120	<i>0,355</i>	5,120	3	<i>0,396</i>	5,590	<i>3,052</i>	5,590
4	<i>7,294</i>	5,120	<i>0,062</i>	5,120	4	<i>1,034</i>	5,590	<i>3,108</i>	5,590
5	<i>0,630</i>	5,120	<i>0,041</i>	5,120	5	<i>0,300</i>	5,590	<i>3,165</i>	5,590
6	<i>6,545</i>	5,120	<i>0,169</i>	5,120	6	<i>0,688</i>	5,590	<i>5,003</i>	5,590
7	<i>1,229</i>	5,120	<i>0,001</i>	5,120	8	<i>0,219</i>	5,590	<i>2,512</i>	5,590
8	<i>0,004</i>	5,120	<i>0,047</i>	5,120	9	<i>0,103</i>	5,590	<i>5,974</i>	5,590
9	<i>2,887</i>	5,120	<i>0,076</i>	5,120	10	<i>0,021</i>	5,590	<i>1,911</i>	5,590
10	<i>0,218</i>	5,120	<i>0,466</i>	5,120	11	<i>0,004</i>	5,590	<i>3,595</i>	5,590
11	<i>11,134</i>	5,120	<i>0,334</i>	5,120					

Se observó que las muestras N°2, 3, 4, 6 y 11 conservadas con bronopol para el parámetro materia grasa y la muestra N°9 conservada con azida de sodio para el parámetro proteína, presentan una tendencia estadísticamente significativa ya que el $F_{calc} > F(1, n-2, \alpha)$. A pesar de eso, posteriormente, se verificó que la diferencia entre el valor obtenido en cada punto de control respecto al valor de referencia sea menor o igual a la incertidumbre estándar del valor asignado para comprobar la ausencia de una tendencia técnicamente significativa (ver Anexo I.I). La variación de los componentes de materia grasa y proteína de las muestras conservadas con bronopol se evidencian en los gráficos 1 y 2 respectivamente. Se observa que los resultados obtenidos en cada punto de control, durante los 36 días, se encuentran dentro de la incertidumbre estándar del valor asignado para las 10 muestras.

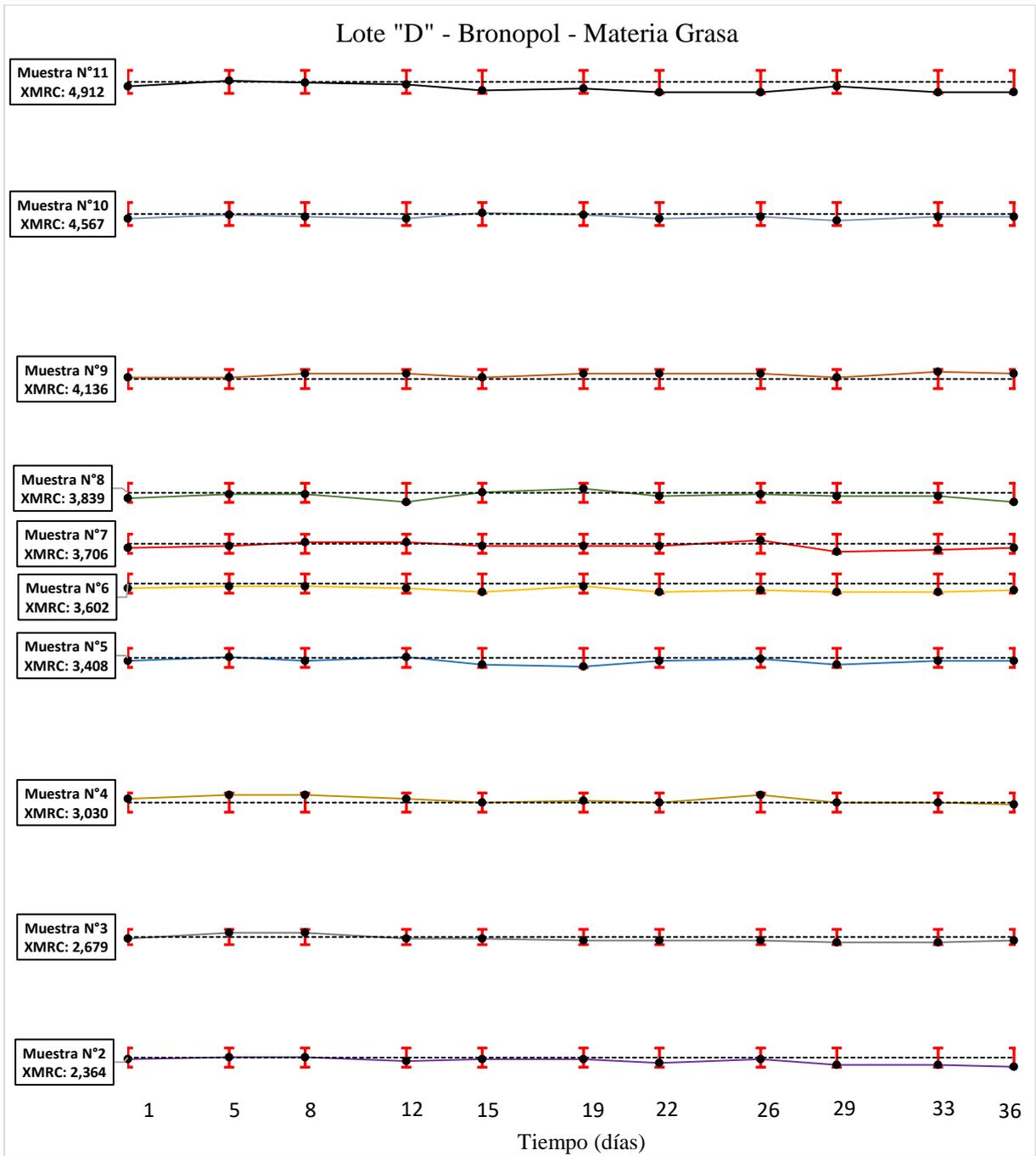


Gráfico 1: Variación del componente materia grasa para el MRC candidato correspondiente al Lote “D” conservado con bronopol.

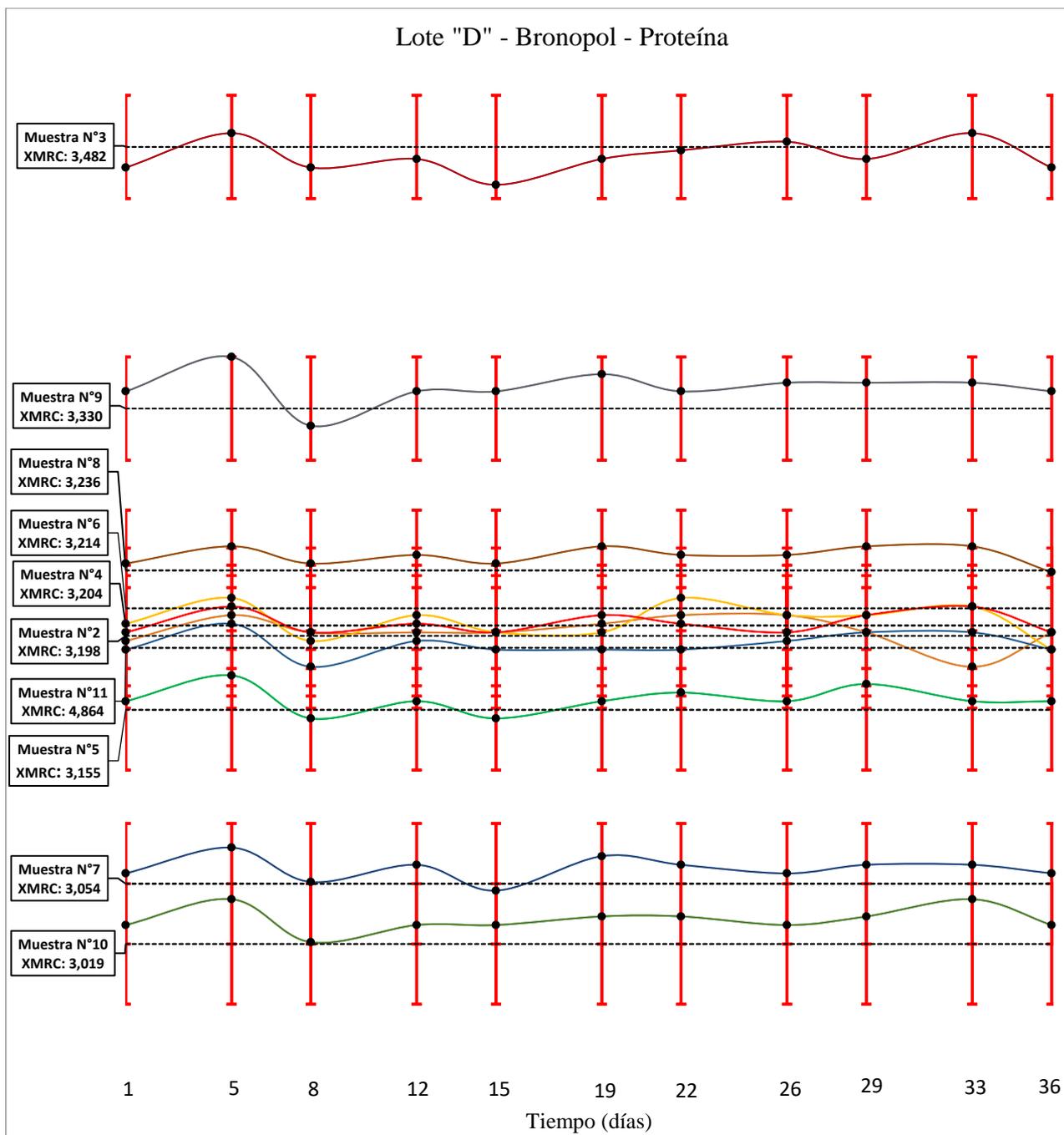


Gráfico 2: Variación del componente proteína para el MRC candidato correspondiente al Lote “D” conservado con bronopol.

En cuanto a las muestras conservadas con azida de sodio, la materia grasa se mantuvo estable durante los 55 días de ensayo con respecto a los límites permitidos en cada muestra (gráfico 3) pero la proteína presentó una degradación a partir del día 50 en las muestras N°5 y N°10 y a partir del día 55 en las muestras N°6 y N°11 (gráfico 4). En esos puntos de control, el valor promedio de las mediciones estaba fuera de su incertidumbre estándar.

Las barras de incertidumbres para los gráficos 1, 2, 3 y 4 representan la incertidumbre estándar de cada uno de los valores asignados para materia grasa y proteína.

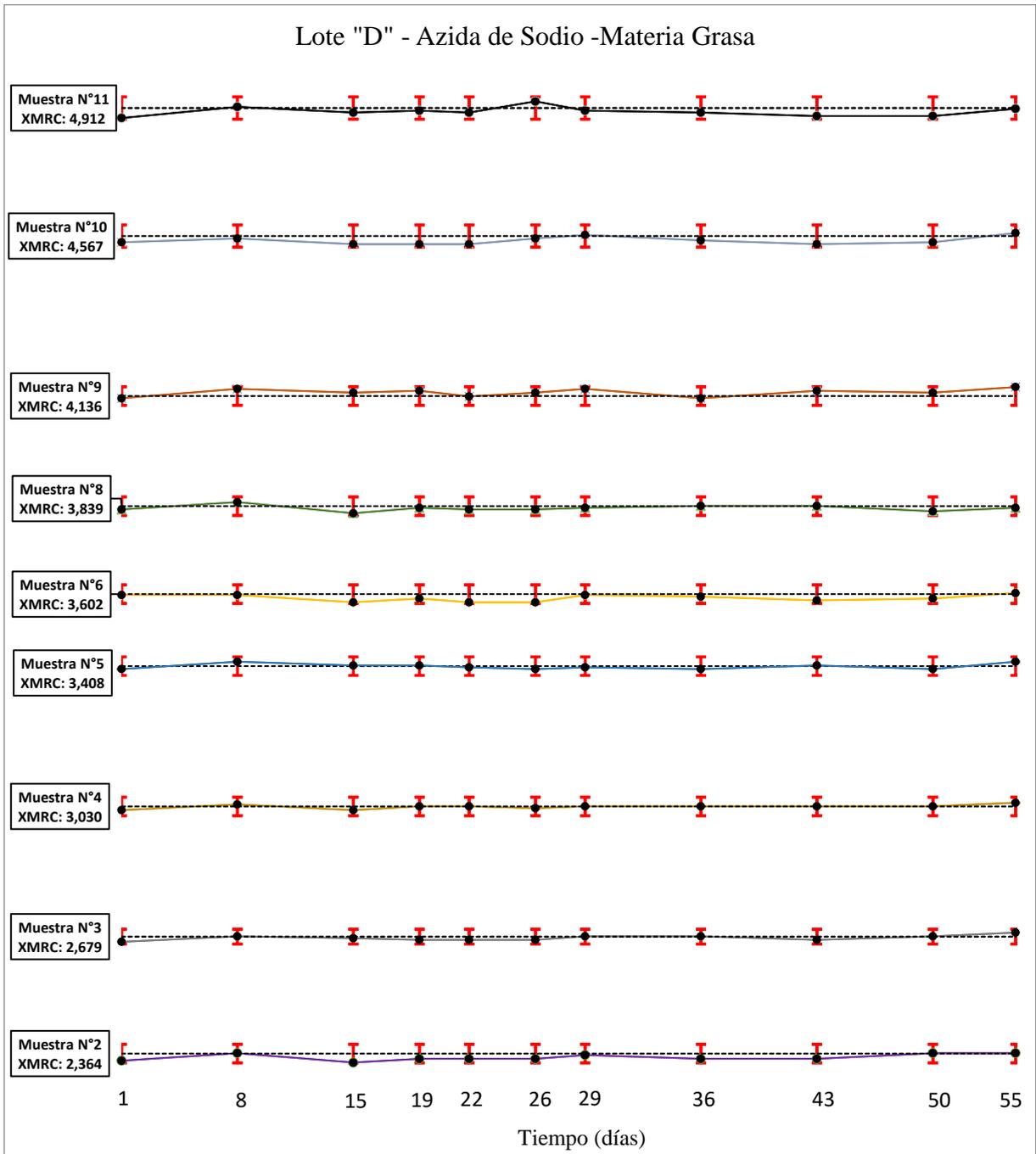


Gráfico 3: Variación del componente materia grasa para el MRC candidato correspondiente al Lote “D” conservado con azida de sodio.

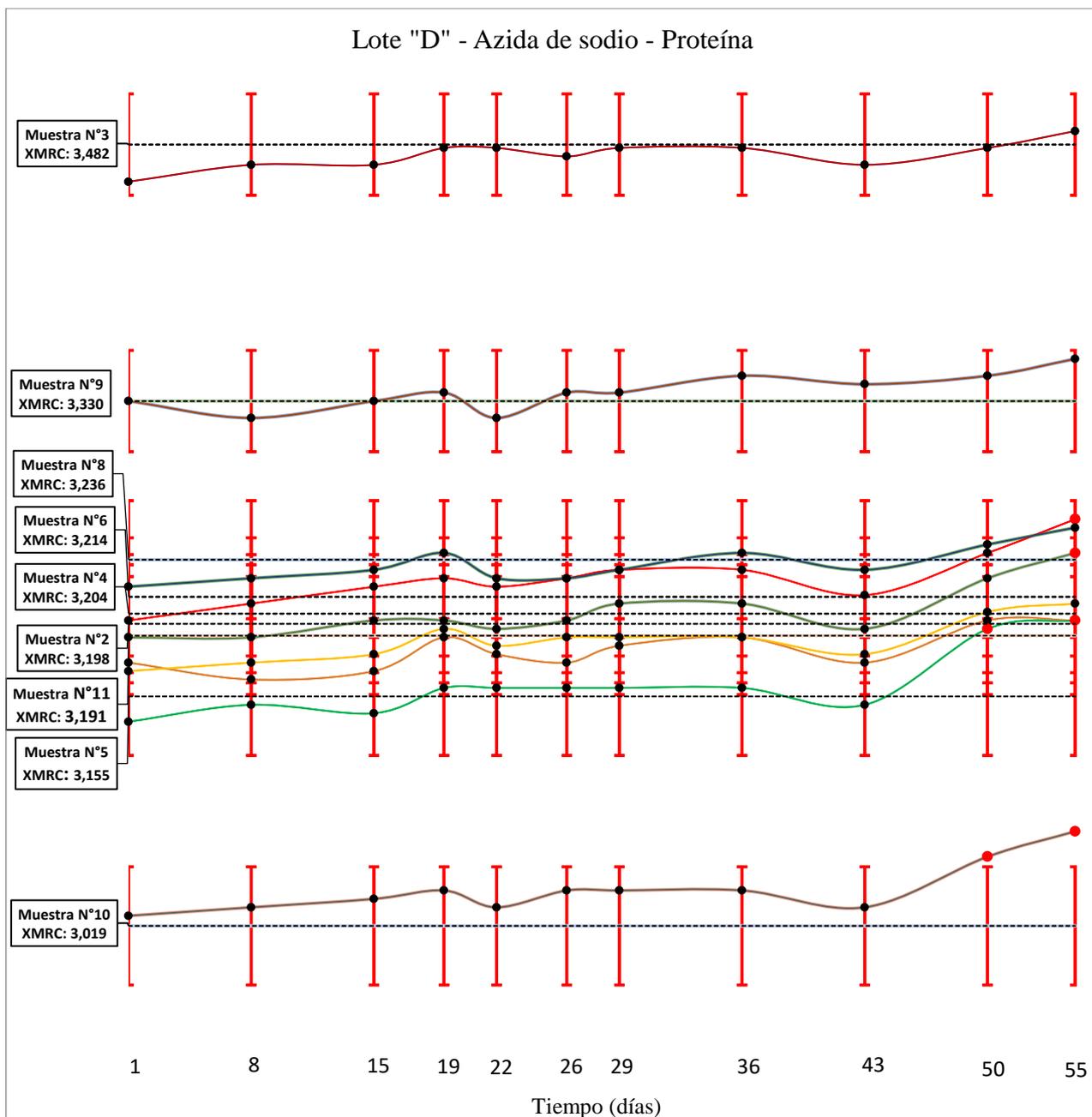


Gráfico 4: Variación del componente proteína para el MRC candidato correspondiente al Lote "D" conservado con azida de sodio.

3.2 Evaluación de los resultados para el Lote "E"

Las muestras N°2, 3 y 7 fueron descartadas debido a problemas en las condiciones de almacenamiento del MRC candidato conservado con bronopol y azida de sodio.

La muestra N°4 para el componente materia grasa y la muestra N°11 para el componente proteína conservadas con bronopol, presentan una tendencia estadísticamente significativa. Sobre las muestras conservadas con azida de sodio, la muestra N°1 para materia grasa y las

muestras N°4, 6, 8, 9 y 11 para proteína, el F_{cal} es mayor al $F(1,n-2,\alpha)$ por lo que muestran estadísticamente, una tendencia significativa (Tabla 10).

Tabla 10: Tabla ANOVA para la prueba de Elp ($F(1,n-2,\alpha)$ es el valor crítico de la distribución F para el nivel de significancia $\alpha = 0.05$ y $(n-2)$ grados de libertad) para el lote "E"

Lote "E"								
N° de muestra	Bronopol - 36 días				Azida de sodio - 43 días			
	Materia grasa		Proteína		Materia grasa		Proteína	
	F_{cal}	$F(1,n-2,\alpha)$	F_{cal}	$F(1,n-2,\alpha)$	F_{cal}	$F(1,n-2,\alpha)$	F_{cal}	$F(1,n-2,\alpha)$
1	3,582	7,710	1,185	7,710	59,211	6,610	3,040	6,610
4	21,000	7,710	3,510	7,710	0,320	6,610	10,632	6,610
5	0,326	7,710	3,979	7,710	0,367	6,610	5,494	6,610
6	0,000	7,710	5,333	7,710	0,005	6,610	13,370	6,610
8	0,179	7,710	0,502	7,710	0,013	6,610	7,000	6,610
9	0,118	7,710	0,190	7,710	0,092	6,610	12,246	6,610
10	0,412	7,710	3,447	7,710	0,299	6,610	5,314	6,610
11	0,163	7,710	7,875	7,710	0,012	6,610	7,078	6,610

Al evaluar técnicamente los datos para el MRC conservado con bronopol, se observó que la muestra N°8 y N°10 a partir del día 40 y las muestras N°4 y N°6 en el día 43, para el componente materia grasa no son estables. Para el componente proteína la muestra N°10 mostró un deterioro en el día 43 (gráfico 5 y 6).

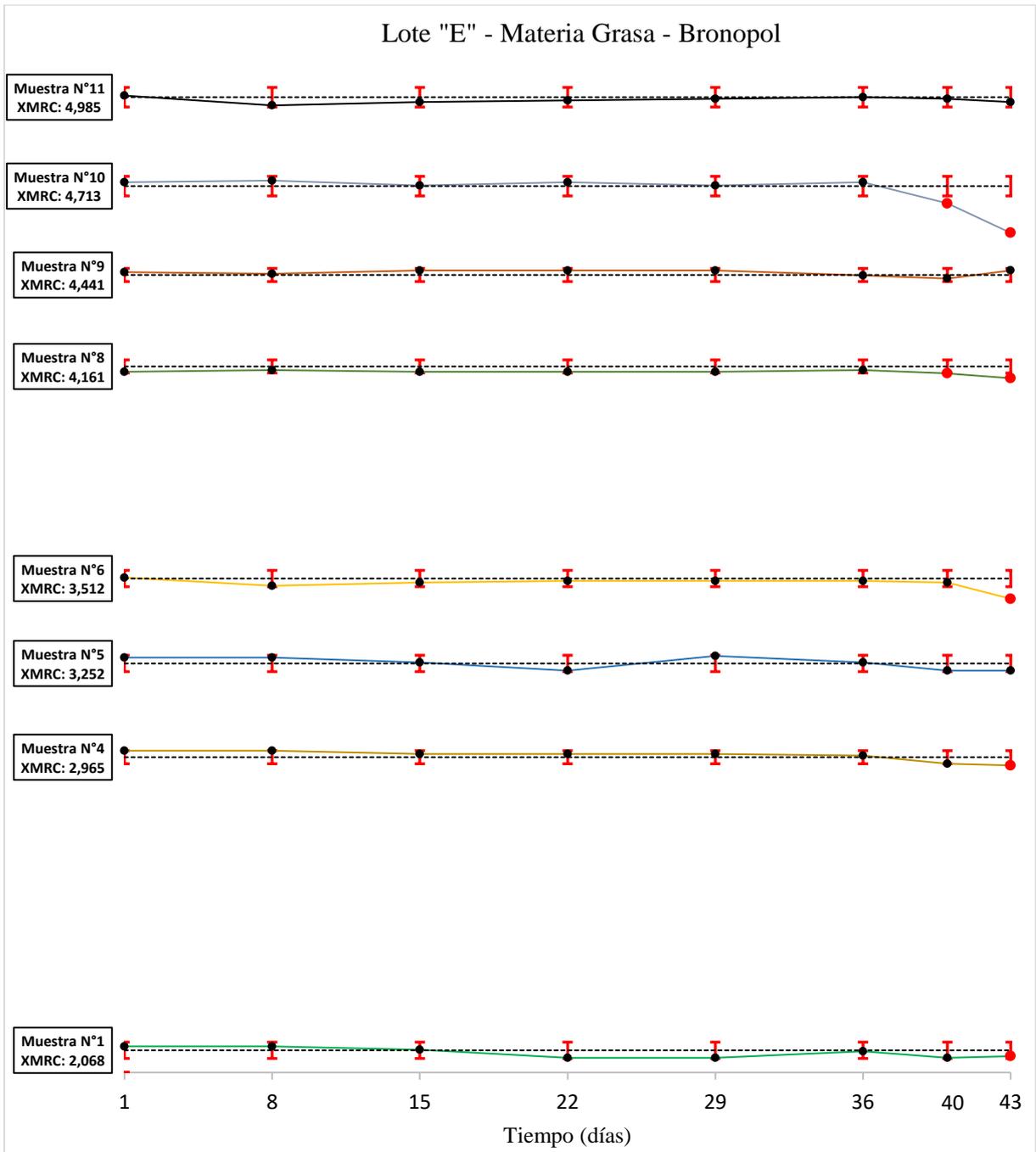


Gráfico 5: Variación del componente materia grasa para el MRC candidato correspondiente al Lote "E" conservado con bronopol.

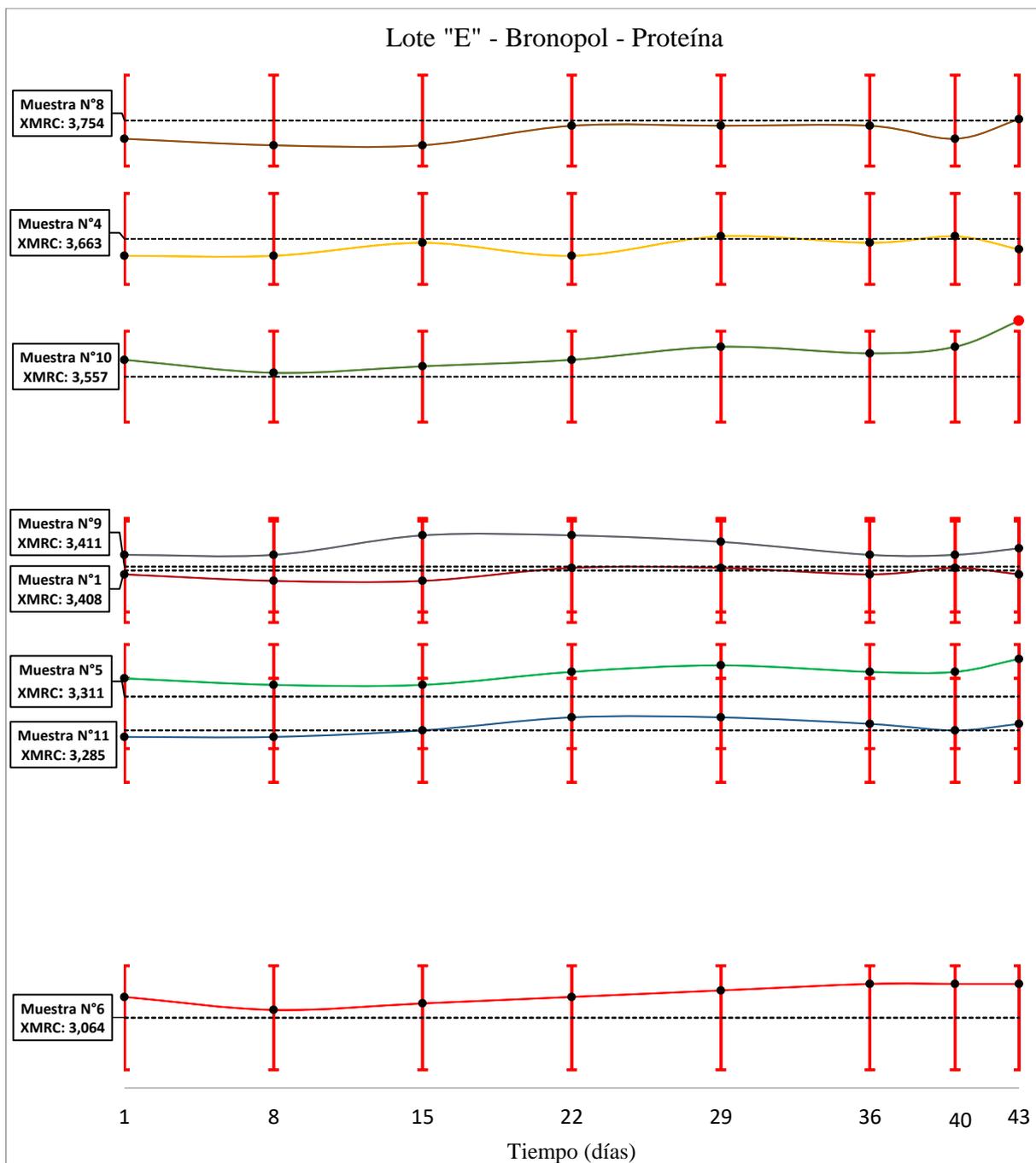


Gráfico 6: Variación del componente proteína para el MRC candidato correspondiente al Lote "E" conservado con bronopol.

Acerca del MRC candidato conservado con azida de sodio, el análisis técnico sobre el componente materia grasa, presentó una degradación a partir del día 47 para la muestra N°10 y a partir del día 50 para las muestras N°1, 4 y 9 ya que la diferencia entre el valor obtenido, en los días de estudio, respecto al valor de referencia fue mayor a la incertidumbre estándar del valor asignado de cada una de ellas (ver Anexo I.II). Sobre el componente proteína, la

muestra N°9 mostró un deterioro a partir del día 47 y la muestra N°5 en el día 57 (gráficos 7 y 8).

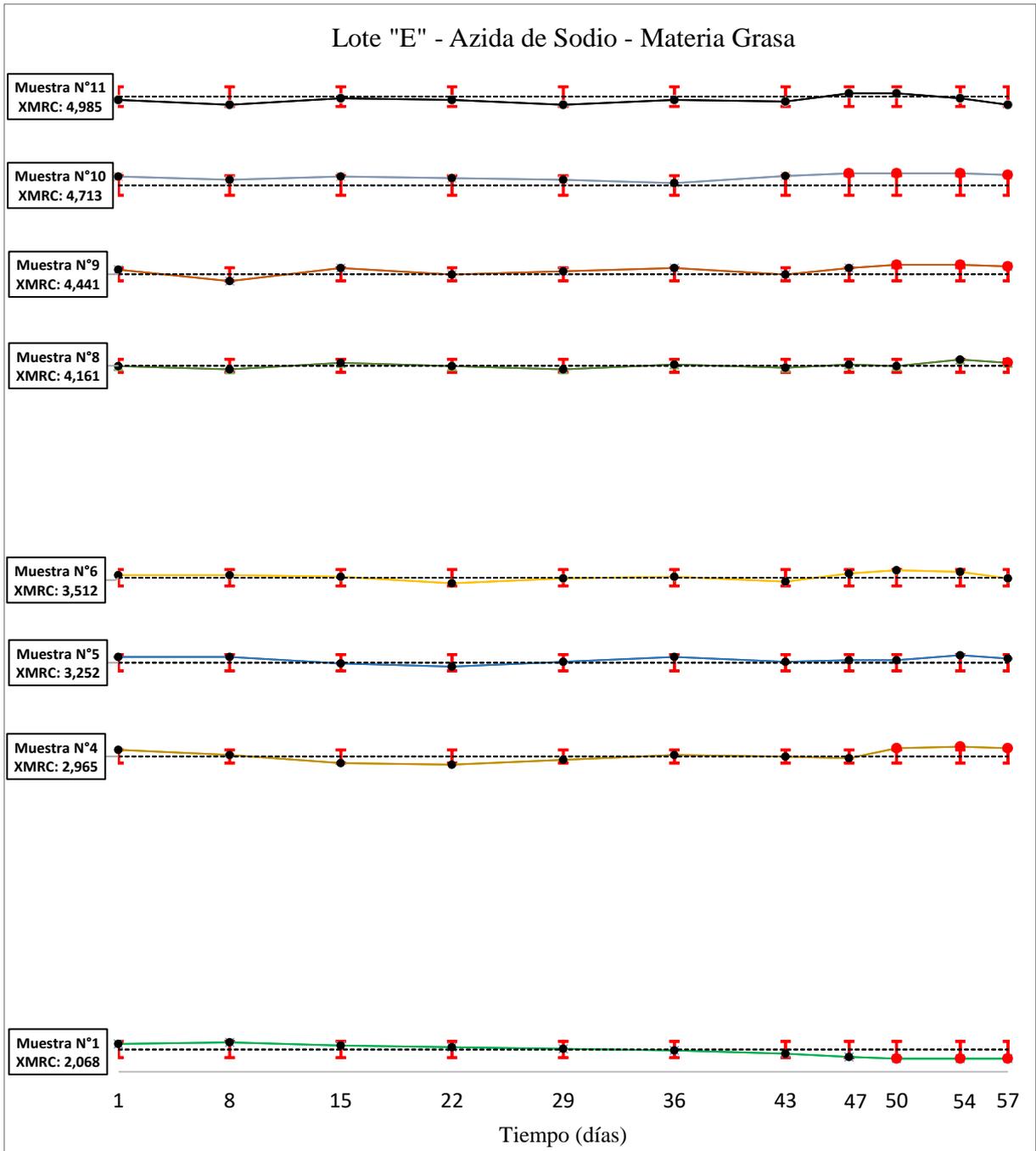


Gráfico 7: Variación del componente materia grasa para el MRC candidato correspondiente al Lote “E” conservado con azida de sodio.

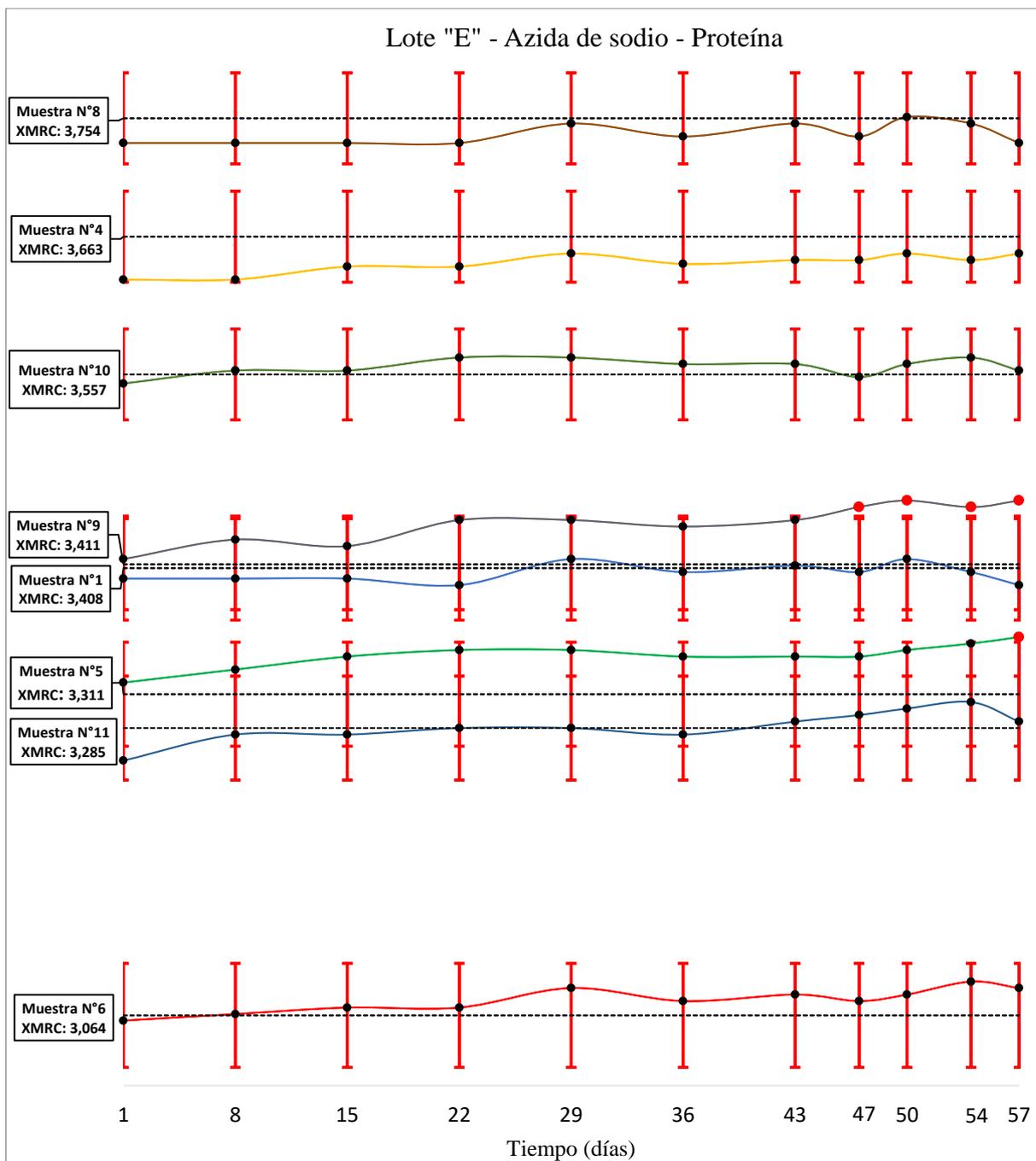


Gráfico 8: Variación del componente proteína para el MRC candidato correspondiente al Lote “E” conservado con azida de sodio.

3.3 Evaluación de los resultados para el Lote “F”

Al evaluar estadísticamente los resultados se observó que para el MRC candidato conservado con bronopol, la muestra N°10 en el parámetro materia grasa y las muestras N°6, 8 y 9 en el parámetro proteína presentaron una tendencia significativa. En el MRC candidato conservado

con azida de sodio, la muestra N°11, en el componente proteína, mostró una tendencia estadísticamente significativa (Tabla 11).

Tabla 11: Tabla ANOVA para la prueba de Elp ($F(1,n-2,\alpha)$ es el valor crítico de la distribución F para el nivel de significancia $\alpha = 0.05$ y $(n-2)$ grados de libertad) para el lote "F"

Lote "F"								
N° de muestra	Bronopol - 36 días				Azida de sodio - 43 días			
	Materia grasa		Proteína		Materia grasa		Proteína	
	F_{cal}	$F(1,n-2,\alpha)$	F_{cal}	$F(1,n-2,\alpha)$	F_{cal}	$F(1,n-2,\alpha)$	F_{cal}	$F(1,n-2,\alpha)$
1	0,035	6,610	5,639	6,610	1,541	6,610	0,597	6,610
2	1,080	6,610	5,057	6,610	1,036	6,610	1,452	6,610
3	0,212	6,610	0,644	6,610	2,373	6,610	0,152	6,610
4	0,077	6,610	0,162	6,610	0,003	6,610	0,023	6,610
5	1,521	6,610	0,093	6,610	0,037	6,610	0,556	6,610
6	0,940	6,610	14,571	6,610	0,833	6,610	0,049	6,610
7	2,119	6,610	5,010	6,610	1,000	6,610	2,222	6,610
8	0,092	6,610	8,109	6,610	0,474	6,610	1,739	6,610
9	1,858	6,610	7,220	6,610	0,055	6,610	0,298	6,610
10	7,063	6,610	1,913	6,610	0,005	6,610	0,490	6,610
11	0,213	6,610	1,391	6,610	0,041	6,610	6,954	6,610

Los gráficos 9 y 10 muestran la degradación de los componentes materia grasa y proteína durante los 43 días de análisis del MRC candidato conservado con bronopol. Las muestras N°1, 3, 7 y 11 presentaron una degradación en la materia grasa en el día 43. Con relación al parámetro proteína, la diferencia entre el valor obtenido en cada punto de control respecto al valor de referencia fue menor o igual a la incertidumbre estándar del valor asignado para las 11 muestras (ver Anexo I.III).

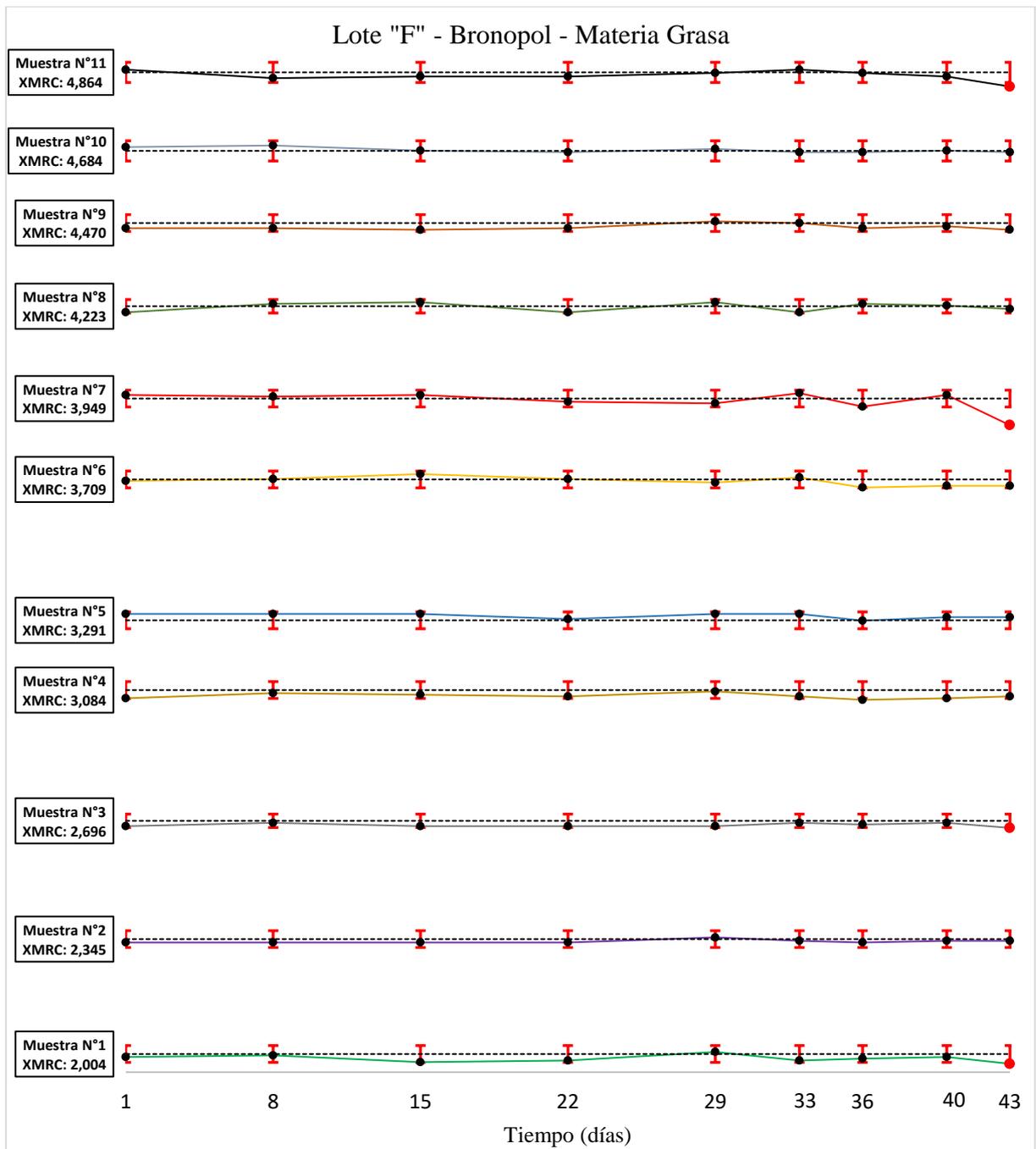


Gráfico 9: Variación del componente materia grasa para el MRC candidato correspondiente al Lote "F" conservado con bronopol.

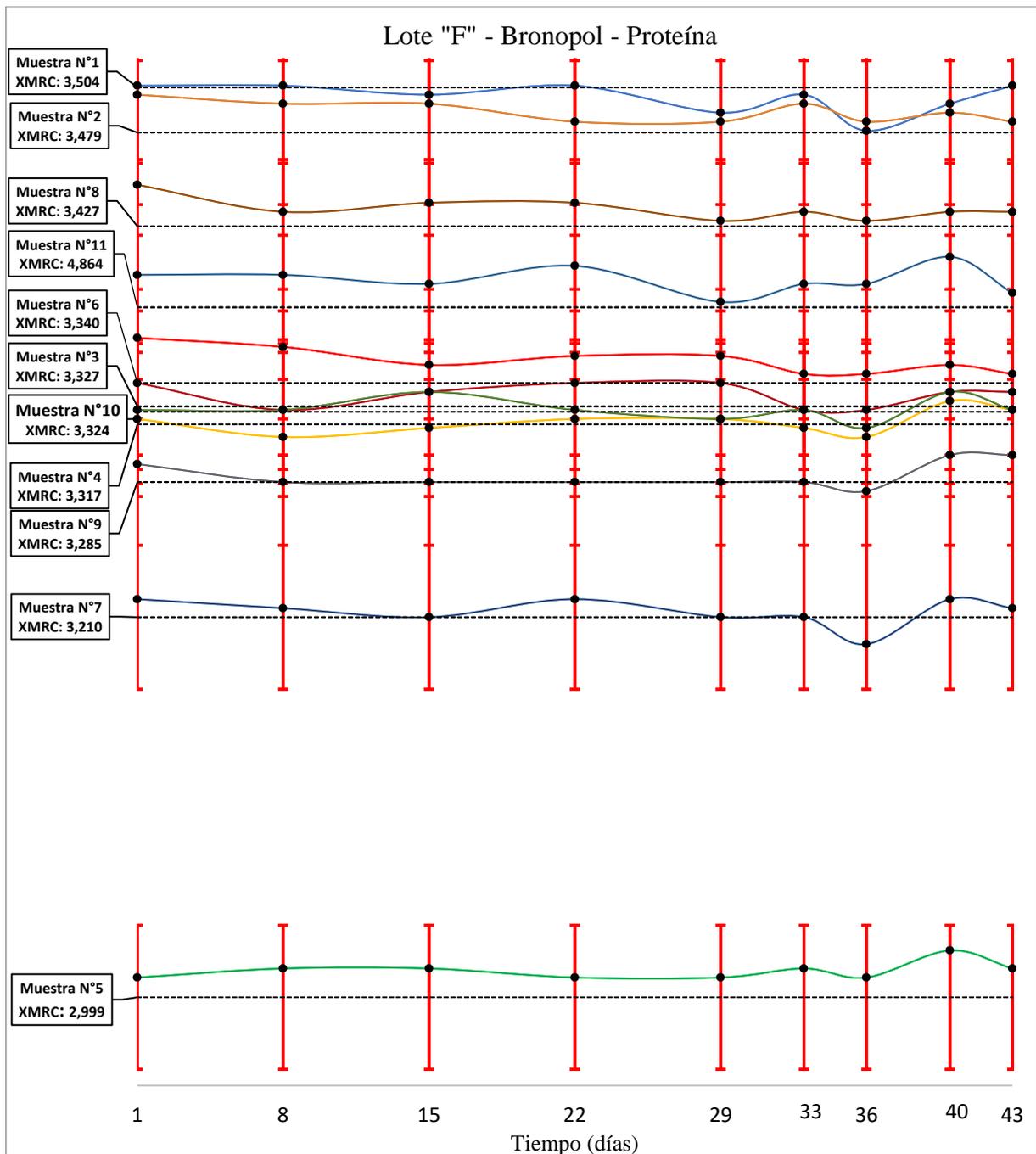


Gráfico 10: Variación del componente proteína para el MRC candidato correspondiente al Lote "F" conservado con bronopol.

Con respecto al MRC candidato conservado con azida de sodio, en el gráfico 11, se observa que la muestra N°10 a partir del día 54 y las muestras N°1 y 8 en el día 57 no fueron estables. La muestra N°8, para el componente proteína, mostró una tendencia técnicamente significativa en el día 57 por lo que no se consideran estables.

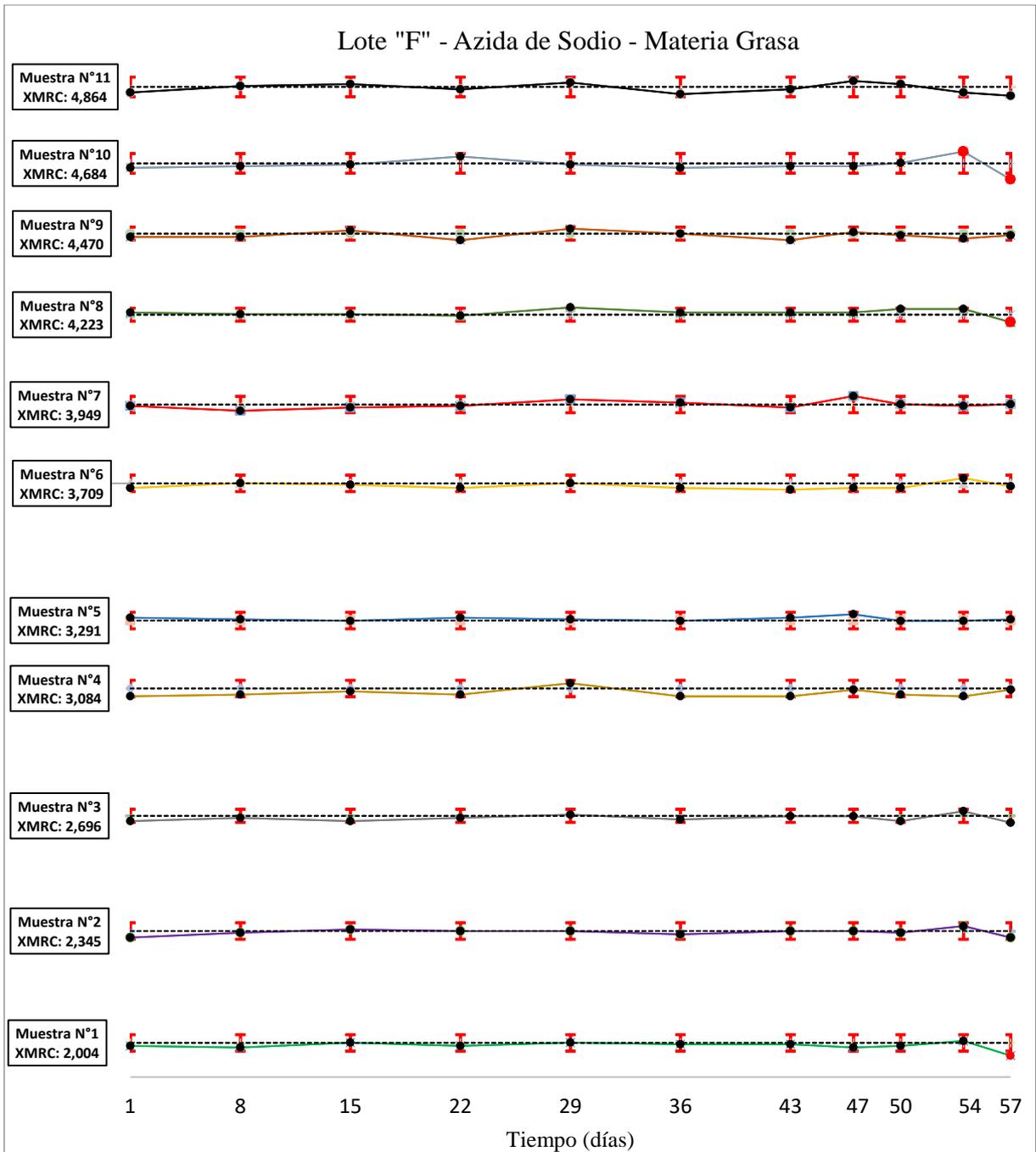


Gráfico 11: Variación del componente materia grasa para el MRC candidato correspondiente al Lote “F” conservado con azida de sodio.

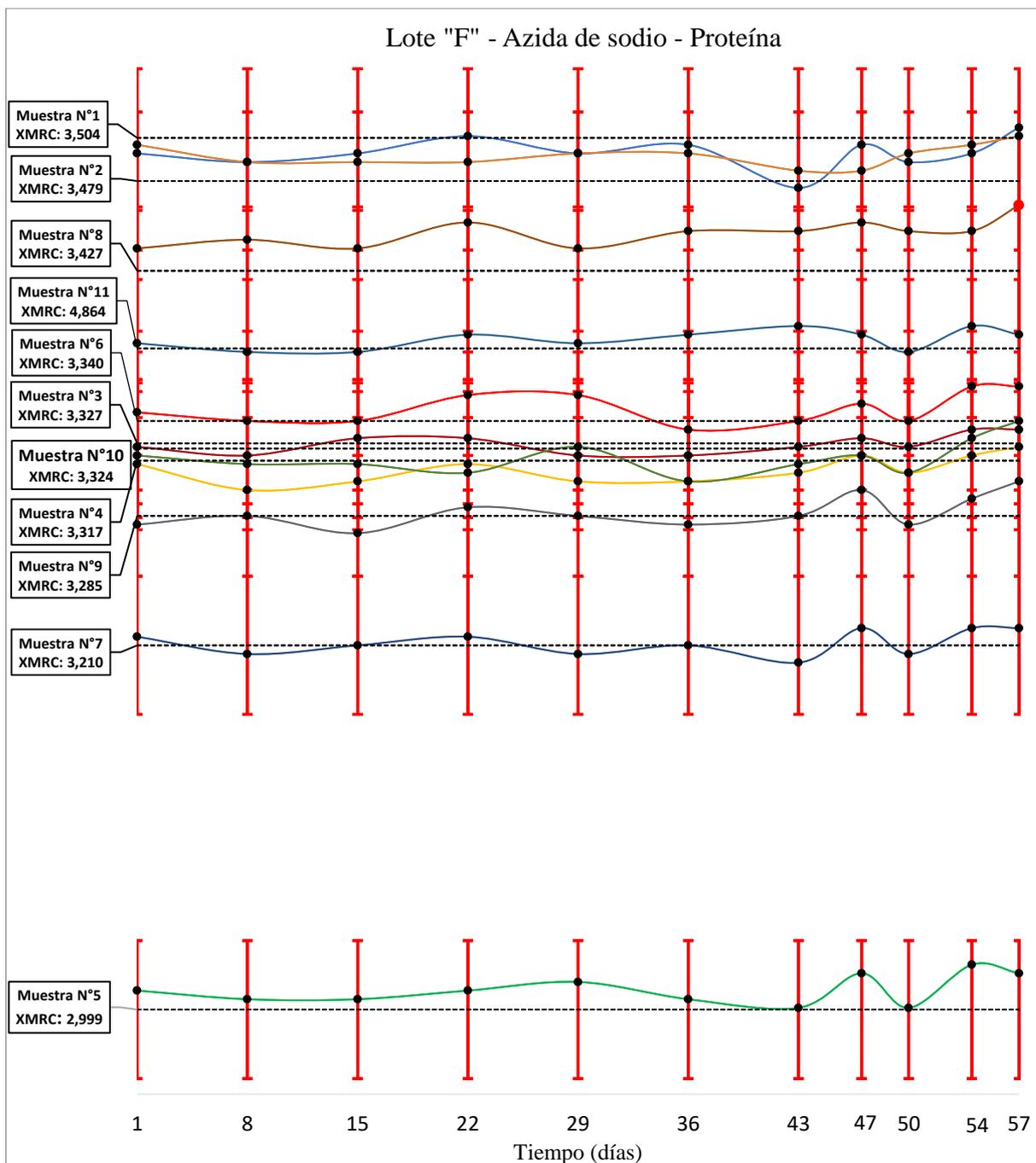


Gráfico 12: Variación del componente proteína para el MRC candidato correspondiente al Lote “F” conservado con azida de sodio.

3.4 Evaluación de los resultados para el Lote “G”

En la tabla 12, se detallan los resultados obtenidos de la prueba ANOVA para el lote “G”. Se observó que, para el MRC candidato conservado con bronopol, las 11 muestras para el componente materia grasa no presentaron tendencia significativa. En cambio, las muestras N°2, 3, 7, 9, 10 y 11 para el parámetro proteína, mostraron una tendencia estadísticamente significativa. Para el MRC candidato conservado con azida de sodio, las muestras N°2 y N°6

para el componente materia grasa, y las muestras N°2, 7, 9 y 11 para proteína, revelaron tendencia significativa al día 43.

Tabla 12: Tabla ANOVA para la prueba de Elp ($F(1,n-2,\alpha)$ es el valor crítico de la distribución F para el nivel de significancia $\alpha = 0.05$ y $(n-2)$ grados de libertad) para el lote "G"

Lote "G"								
N° de muestra	Bronopol - 36 días				Azida de sodio - 43 días			
	Materia grasa		Proteína		Materia grasa		Proteína	
	<i>Fcal</i>	$F(1,n-2,\alpha)$	<i>Fcal</i>	$F(1,n-2,\alpha)$	<i>Fcal</i>	$F(1,n-2,\alpha)$	<i>Fcal</i>	$F(1,n-2,\alpha)$
1	0,047	6,610	3,866	6,610	4,007	6,610	1,812	6,610
2	0,321	6,610	15,307	6,610	10,373	6,610	38,601	6,610
3	1,081	6,610	11,188	6,610	4,310	6,610	6,111	6,610
4	0,324	6,610	5,745	6,610	3,421	6,610	2,483	6,610
5	1,584	6,610	0,876	6,610	3,731	6,610	1,212	6,610
6	5,048	6,610	3,641	6,610	10,696	6,610	0,732	6,610
7	0,910	6,610	7,687	6,610	0,627	6,610	12,895	6,610
8	0,418	6,610	6,353	6,610	1,307	6,610	3,633	6,610
9	3,138	6,610	13,602	6,610	5,127	6,610	6,849	6,610
10	0,201	6,610	13,019	6,610	1,437	6,610	2,832	6,610
11	4,927	6,610	10,809	6,610	4,706	6,610	7,020	6,610

A fin de realizar la evaluación técnica del lote G, en la gráfica 13 se observó que para la muestra N°9 a partir del día 40 y para la muestra N°11 en el día 43, el valor obtenido, en esos puntos de control, fue mayor a la incertidumbre estándar de su valor asignado (ver Anexo LIV).

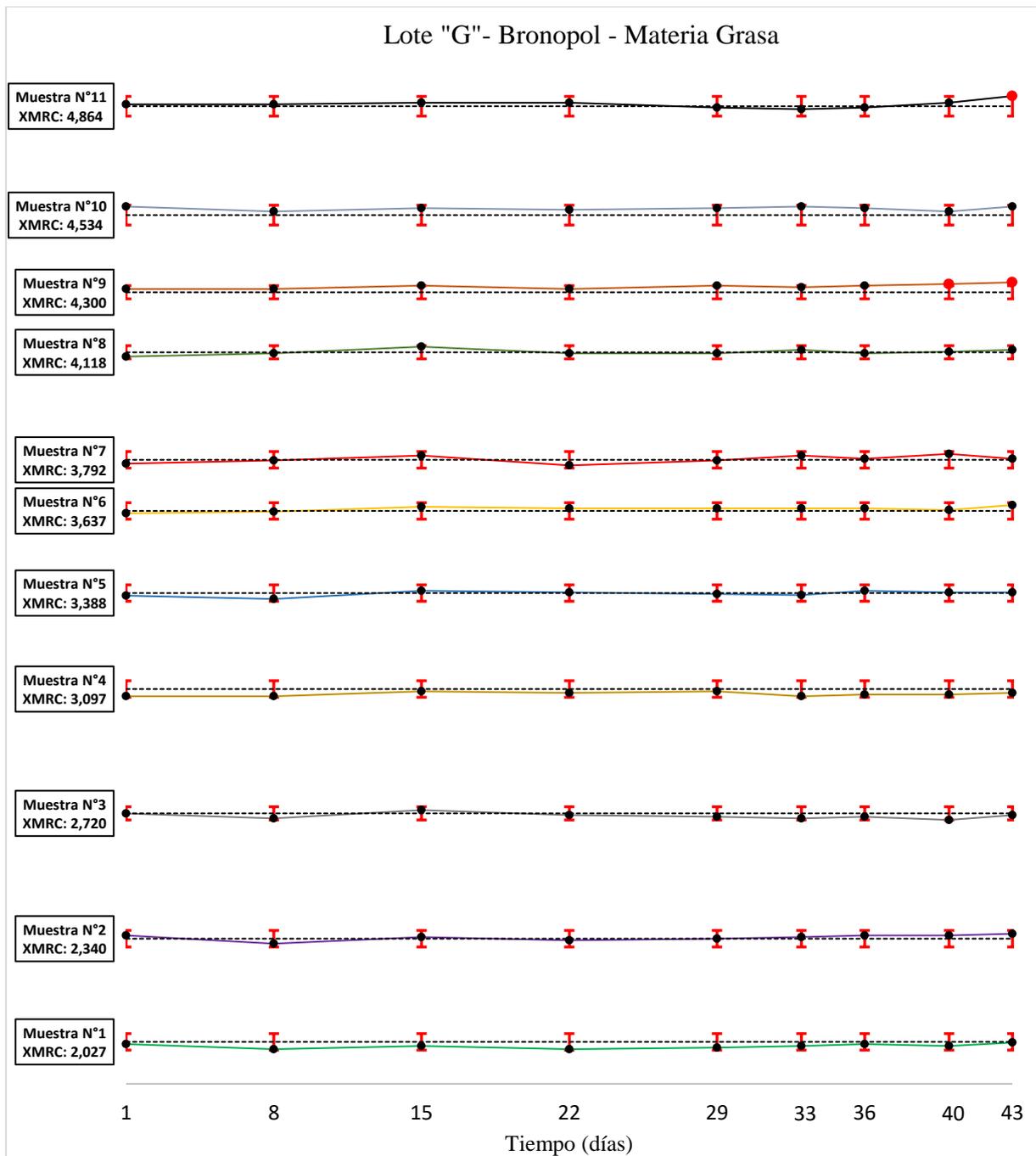


Gráfico 13: Variación del componente materia grasa para el MRC candidato correspondiente al Lote "G" conservado con bronopol.

En cuanto al componente proteína, las muestras N°4 y 9 no fueron estables a partir del día 40 y la muestra N°3 en el día 43 (gráfica 14).

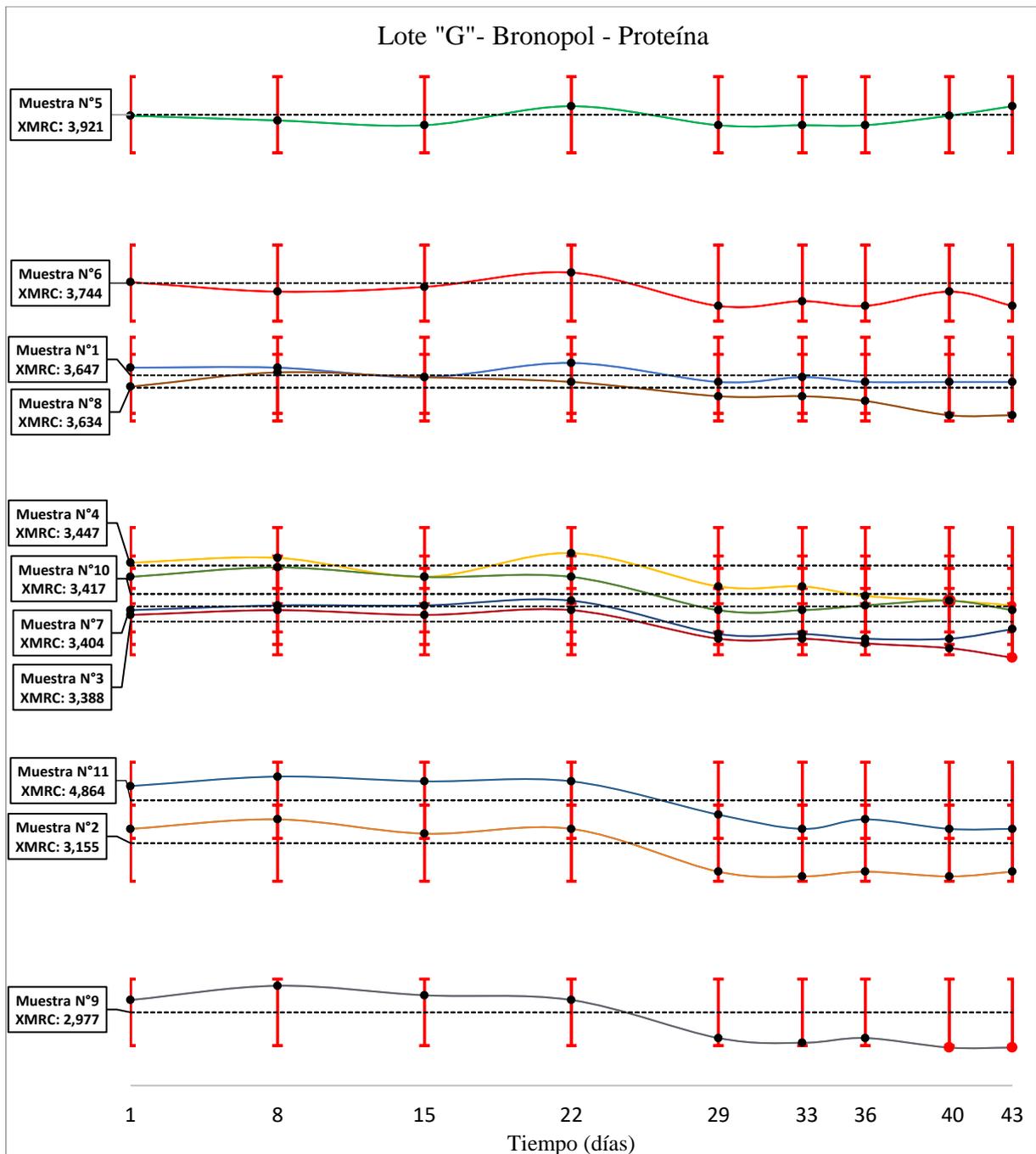


Gráfico 14: Variación del componente proteína para el MRC candidato correspondiente al Lote “G” conservado con bronopol.

En relación con el MRC candidato conservado con azida de sodio, la muestra N°6 presentó una degradación en cuanto a materia grasa a partir del día 47, las muestras N°2, 7 y 8 en el día 57 y la muestra N°11 a partir del 54 (gráfico 15).

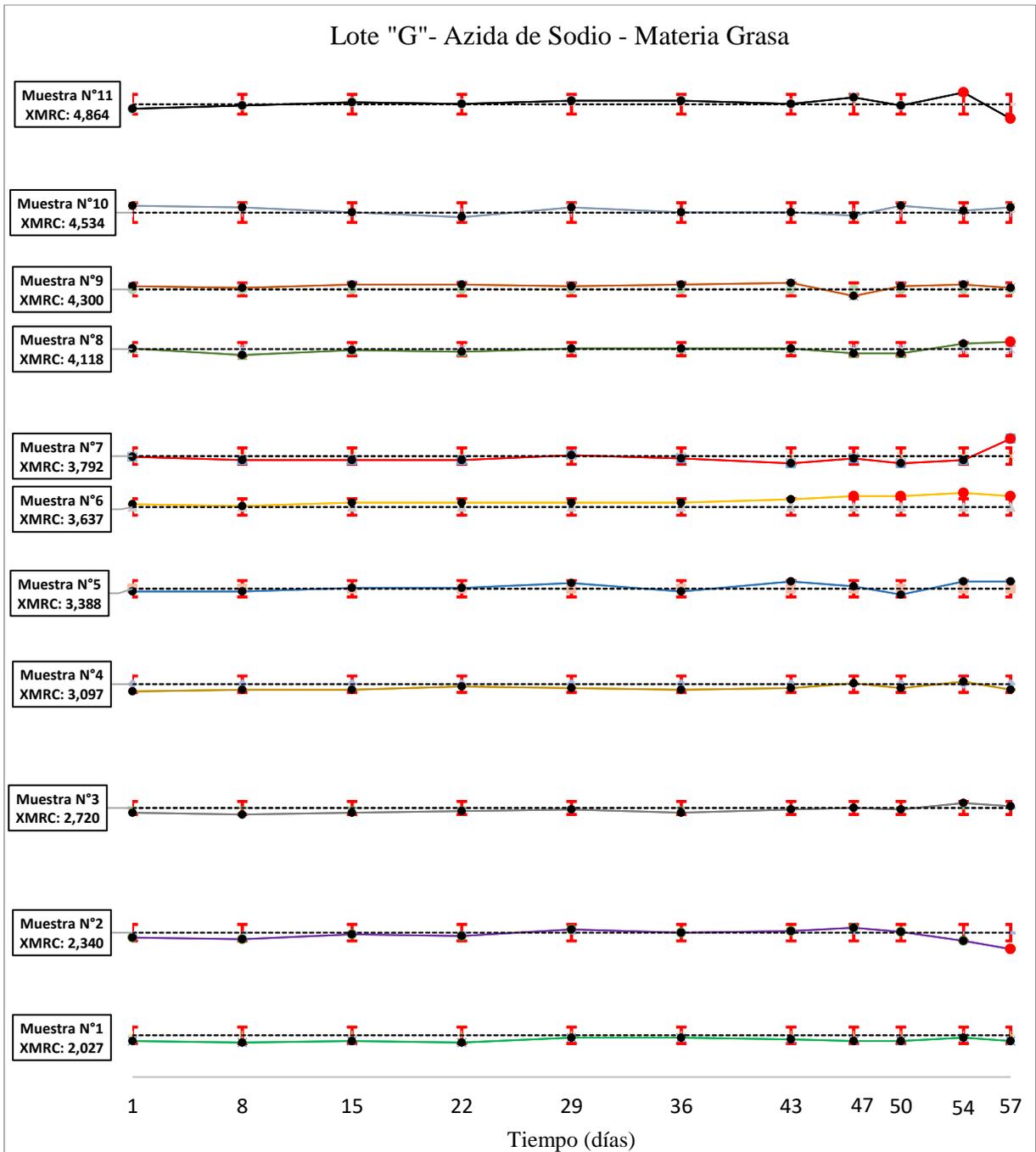


Gráfico 15: Variación del componente materia grasa para el MRC candidato correspondiente al Lote “G” conservado con azida de sodio.

Sobre el parámetro proteína, en el gráfico 16, se observó que las muestras N°7 y 8 no fueron estables en el día 57.

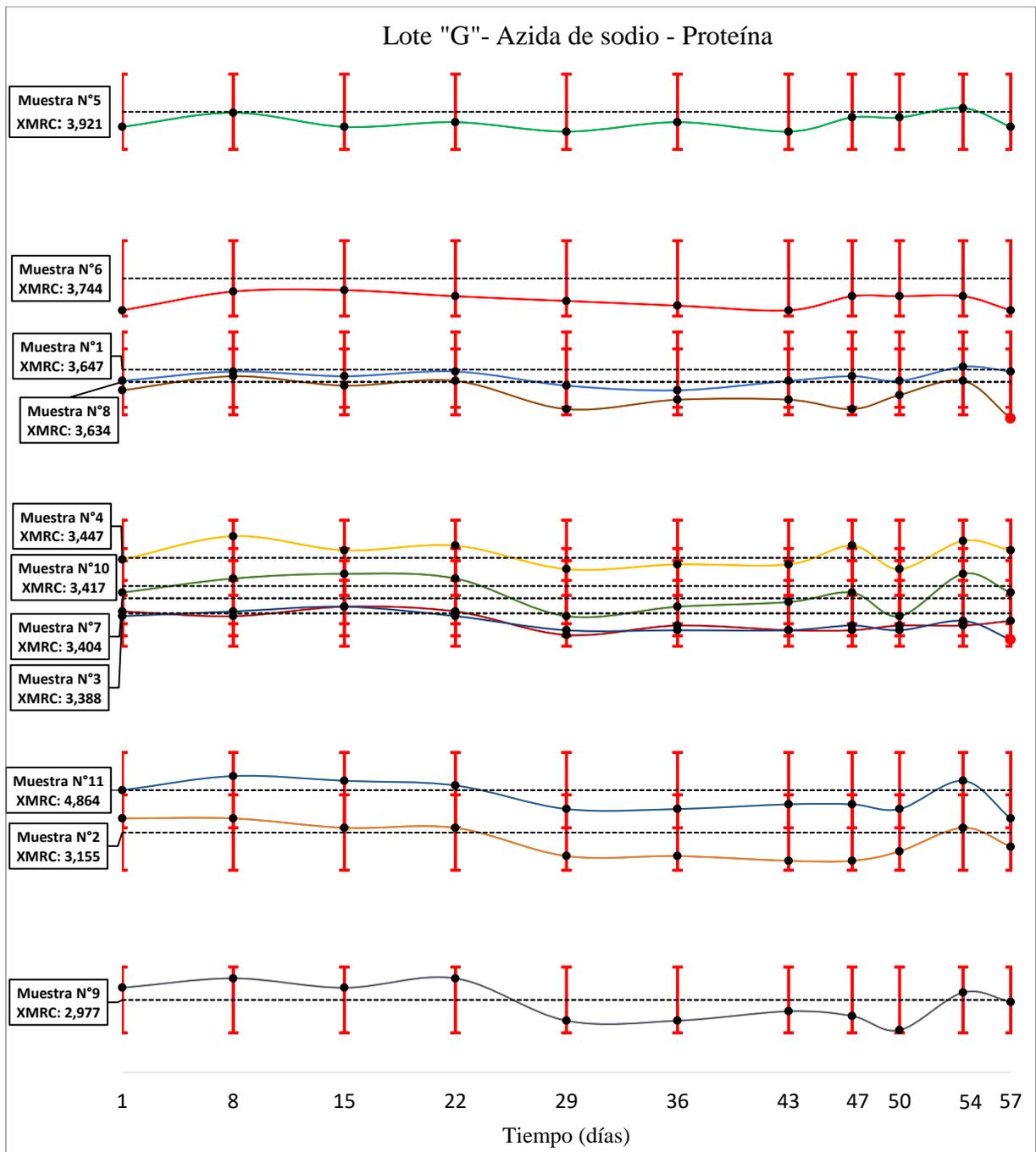


Gráfico 16: Variación del componente proteína para el MRC candidato correspondiente al Lote "G" conservado con azida de sodio.

CONCLUSIONES

De acuerdo al análisis bibliográfico investigado, los conservantes químicos más convenientes usados para la preservación de leche y productos lácteos para fines analíticos son el bronopol, la azida de sodio y el azidiol.

Luego de observar los resultados obtenidos en la Prueba t de Student, se concluye que no existen diferencias estadísticamente significativas entre el MRC candidato conservado con bronopol y el MRC candidato conservado con azida de sodio. Esto significa que el conservante químico, azida de sodio, usado para este trabajo no altera la composición de los componentes de la leche cruda.

Respecto al estudio de estabilidad a largo plazo:

- En base a los resultados logrados para el MRC candidato conservado con bronopol se deduce que el tiempo de vida útil es de 36 días ya que para los componentes materia grasa y proteína todas las muestras o sublotos pertenecientes a los 4 lotes analizados fueron estables durante ese período estudiado.
- Haciendo referencia a los resultados obtenidos para el MRC candidato conservado con azida de sodio se determina que el tiempo de vida, en cuanto a las propiedades analizadas, materia grasa y proteína, para todas las muestras de los 4 lotes ensayados, es de 43 días.
- Teniendo en cuenta los 4 lotes, tanto para el MRC candidato conservado con bronopol como para el MRC candidato conservado con azida de sodio, en los días de ensayo posteriores a 36 y 43 días, algunas muestras presentaron un deterioro en sus componentes y en su calidad como ser mal olor, pero otras mostraron ser estables hasta finalizar el estudio. A pesar de ello, no se puede asegurar la vida útil del lote por más tiempo ya que todos los sublotos deben demostrar ser estables.

Por último y como respuesta al interrogante planteado en este trabajo se determina que, a través de la revisión bibliográfica abordada y respecto a los resultados conseguidos en el estudio de estabilidad a largo plazo, el uso de azida de sodio para la conservación de muestras de leche cruda puede ser una alternativa efectiva y eficaz cuando no se pueda acceder al bronopol. Además, es un conservante de menor costo y a pesar de también ser un producto importado, su adquisición no se ve dificultada. El estudio de Elp del MRC candidato preservado con azida de sodio, resultó favorable y superó las expectativas en cuanto al bronopol, ya que, en primer lugar, no modificó la composición y la calidad de la matriz leche cruda y en segundo lugar porque su tiempo de vida útil fue mayor.

BIBLIOGRAFÍA

- Barbano, D. M., Wojciechowski, K. L., & Lynch, J. M. (2010). Effect of preservatives on the accuracy of mid-infrared milk component testing¹. *Journal of Dairy Science*, 93(12), 6000–6011. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3601>
- Barcina Angulo, Y., Zorraquino, M., Pedauye Ruiz, J., Ros Berruezo, G., & Rincón León, F. (1987). Azidiol como conservante de muestras de leche. *Anales de Veterinaria de Murcia*, 3, 65–69. <https://doi.org/10.6018/j/22831>
- Bertrand, J. A. (1996). Influencia del contenedor de envío, el conservante y la raza sobre el análisis de los componentes de la leche de las muestras enviadas. *Journal of Dairy Science*, 79(1), 145–148. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76346-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76346-4)
- C.A.A. (2019). *Código Alimentario Argentino - Capítulo VIII-Alimentos Lácteos*. 1–217.
- Castro, J. (2007). *Azidiol comprimido esterilizado como conservador del Leche cruda destinada al conteo microbiano mediante citometría Fluir*.
- Chang, S., & Lamm, S. H. (2003). Efectos de la exposición a la azida sódica en la salud humana: revisión y análisis de la literatura. *International Journal of Toxicology*, 22(3), 175–186. <https://doi.org/10.1080/10915810305109>
- Freitas Moreira, A. M. (2014). *Estudio comparativo de técnicas, parámetros e indicadores para evaluar la calidad de la leche de las Azores - PT y el Estado de Paraná - BR*. <https://repositorio.uac.pt/bitstream/10400.3/3646/1/DissertMestradoAllyneMuzzaFreitasMoreira2015.pdf>
- Infocarne. (2006). *Composición de leche y su valor nutritivo. Figura 1*, 4–7. www.produccion-animal.com.ar
- Kroger, M. (1985). Milk Sample Preservation. *Journal of Dairy Science*, 68(3), 783–787. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(85\)80889-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(85)80889-4)
- Laborclin. (2018). *Hoja de información y seguridad de producto químico Azidiol*. 1–6.
- MAGyP. (2015). *Manual para transportistas de leche cruda*.
- Mendez, V. M., & Osuna, L. E. (2007). Caracterización de la calidad higiénica y sanitaria de la leche cruda en algunos sistemas productivos de la región del alto del Chicamocha (departamento de Boyacá). *Universidad De La Salle*, 156.

- Nieto, C. (2004). *Determinación de dióxido de cloro como preservante de leche cruda y efectos sobre características físico-químicas*.
http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/3181/1/TESIS_1_REV.pdf
- Oliszewski, R., Cisint, J. C., & Medina, C. F. (2016). Caracterización composicional, física-química y microbiológica de la leche de vaca de la cuenca de trancas. *Revista Argentina de Producción Animal*, 36(4105), 31–39.
- Paez, R., Taverna, M., Walter, E., Speranza, J., Schmidt, E., & Fabro, M. (2005). *Manual de Procedimientos de Muestreo para Transportista de Leche*. 43.
- Seškēna, R., & Jankevica, L. (2007). Influencia de los conservantes químicos en los índices de calidad y composición de las muestras de leche cruda. *Acta Univ Latv*, 723, 171–180.
<http://eeb.lu.lv/EEB/2007/Seskena.pdf>
- Smyth, J. C. (2006). *Un nuevo método analítico de muestreo y aire para la determinación de bronopol*.
- Suvarthan, R. (2013). *Estudio sobre la composición química de la leche conservada con metil parabeno y propilparabeno en comparación con formalina durante el almacenamiento*. 132001(2021109).
- Taverna, M. (2001). Composición química de la leche. *Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación*, 5. http://rafaela.inta.gov.ar/proy_nac_lecheria/articulo_1.pdf
- Upadhyay, N., Goyal, A., Kumar, A., Ghai, D. L., & Singh, R. (2014). Conservación de leche y productos lácteos para propósitos analíticos: una revisión. *Food Reviews International*, 30(3), 203–224.
- Zajác, P., Zubrická, S., Čapla, J., Zelenáková, L., Židek, R., & Čurlej, J. (2016). Efecto de los conservantes en la determinación de la composición de la leche. *International Dairy Journal*, 61, 239–244.

ANEXO I
(Tablas)

I.I

Lote "D" - Bronopol - Materia grasa						Lote "D" - Bronopol - Proteína				
N° de Muestra	X_{MRC}	u_{MRC}	Tiempo (días)	Promedio	 X_{MRC}-X_{meas} 	X_{MRC}	u_{MRC}	Tiempo (días)	Promedio	 X_{MRC}-X_{meas}
2	2,364	0,025	1	2,360	0,004	3,198	0,035	1	3,195	0,003
	2,364	0,025	5	2,365	0,001	3,198	0,035	5	3,210	0,012
	2,364	0,025	8	2,365	0,001	3,198	0,035	8	3,200	0,002
	2,364	0,025	12	2,355	0,009	3,198	0,035	12	3,200	0,002
	2,364	0,025	15	2,360	0,004	3,198	0,035	15	3,200	0,002
	2,364	0,025	19	2,360	0,004	3,198	0,035	19	3,205	0,007
	2,364	0,025	22	2,350	0,014	3,198	0,035	22	3,210	0,012
	2,364	0,025	26	2,360	0,004	3,198	0,035	26	3,210	0,012
	2,364	0,025	29	2,345	0,019	3,198	0,035	29	3,200	0,002
	2,364	0,025	33	2,345	0,019	3,198	0,035	33	3,180	0,018
	2,364	0,025	36	2,340	0,024	3,198	0,035	36	3,200	0,002
3	2,679	0,020	1	2,675	0,004	3,482	0,030	1	3,470	0,012
	2,679	0,020	5	2,690	0,011	3,482	0,030	5	3,490	0,008
	2,679	0,020	8	2,690	0,011	3,482	0,030	8	3,470	0,012
	2,679	0,020	12	2,675	0,004	3,482	0,030	12	3,475	0,007
	2,679	0,020	15	2,675	0,004	3,482	0,030	15	3,460	0,022
	2,679	0,020	19	2,670	0,009	3,482	0,030	19	3,475	0,007
	2,679	0,020	22	2,670	0,009	3,482	0,030	22	3,480	0,002
	2,679	0,020	26	2,670	0,009	3,482	0,030	26	3,485	0,003
	2,679	0,020	29	2,665	0,014	3,482	0,030	29	3,475	0,007
	2,679	0,020	33	2,665	0,014	3,482	0,030	33	3,490	0,008
	2,679	0,020	36	2,670	0,009	3,482	0,030	36	3,470	0,012
4	3,030	0,025	1	3,040	0,010	3,204	0,035	1	3,205	0,001
	3,030	0,025	5	3,050	0,020	3,204	0,035	5	3,220	0,016
	3,030	0,025	8	3,050	0,020	3,204	0,035	8	3,195	0,009
	3,030	0,025	12	3,040	0,010	3,204	0,035	12	3,210	0,006
	3,030	0,025	15	3,030	0,000	3,204	0,035	15	3,200	0,004
	3,030	0,025	19	3,035	0,005	3,204	0,035	19	3,200	0,004
	3,030	0,025	22	3,030	0,000	3,204	0,035	22	3,220	0,016
	3,030	0,025	26	3,050	0,020	3,204	0,035	26	3,210	0,006
	3,030	0,025	29	3,030	0,000	3,204	0,035	29	3,210	0,006
	3,030	0,025	33	3,030	0,000	3,204	0,035	33	3,215	0,011
	3,030	0,025	36	3,025	0,005	3,204	0,035	36	3,190	0,014
5	3,408	0,025	1	3,400	0,008	3,155	0,035	1	3,160	0,005
	3,408	0,025	5	3,410	0,002	3,155	0,035	5	3,175	0,020
	3,408	0,025	8	3,400	0,008	3,155	0,035	8	3,150	0,005
	3,408	0,025	12	3,410	0,002	3,155	0,035	12	3,160	0,005
	3,408	0,025	15	3,390	0,018	3,155	0,035	15	3,150	0,005
	3,408	0,025	19	3,385	0,023	3,155	0,035	19	3,160	0,005
	3,408	0,025	22	3,400	0,008	3,155	0,035	22	3,165	0,010
	3,408	0,025	26	3,405	0,003	3,155	0,035	26	3,160	0,005
	3,408	0,025	29	3,390	0,018	3,155	0,035	29	3,170	0,015
	3,408	0,025	33	3,400	0,008	3,155	0,035	33	3,160	0,005

	3,408	0,025	36	3,400	0,008	3,155	0,035	36	3,160	0,005
6	3,602	0,025	1	3,590	0,012	3,214	0,035	1	3,200	0,014
	3,602	0,025	5	3,595	0,007	3,214	0,035	5	3,215	0,001
	3,602	0,025	8	3,595	0,007	3,214	0,035	8	3,200	0,014
	3,602	0,025	12	3,590	0,012	3,214	0,035	12	3,205	0,009
	3,602	0,025	15	3,580	0,022	3,214	0,035	15	3,200	0,014
	3,602	0,025	19	3,595	0,007	3,214	0,035	19	3,210	0,004
	3,602	0,025	22	3,580	0,022	3,214	0,035	22	3,205	0,009
	3,602	0,025	26	3,585	0,017	3,214	0,035	26	3,200	0,014
	3,602	0,025	29	3,580	0,022	3,214	0,035	29	3,210	0,004
	3,602	0,025	33	3,580	0,022	3,214	0,035	33	3,215	0,001
	3,602	0,025	36	3,585	0,017	3,214	0,035	36	3,200	0,014
7	3,706	0,025	1	3,695	0,011	3,054	0,035	1	3,060	0,006
	3,706	0,025	5	3,700	0,006	3,054	0,035	5	3,075	0,021
	3,706	0,025	8	3,710	0,004	3,054	0,035	8	3,055	0,001
	3,706	0,025	12	3,710	0,004	3,054	0,035	12	3,065	0,011
	3,706	0,025	15	3,700	0,006	3,054	0,035	15	3,050	0,004
	3,706	0,025	19	3,700	0,006	3,054	0,035	19	3,070	0,016
	3,706	0,025	22	3,700	0,006	3,054	0,035	22	3,065	0,011
	3,706	0,025	26	3,715	0,009	3,054	0,035	26	3,060	0,006
	3,706	0,025	29	3,685	0,021	3,054	0,035	29	3,065	0,011
	3,706	0,025	33	3,690	0,016	3,054	0,035	33	3,065	0,011
	3,706	0,025	36	3,695	0,011	3,054	0,035	36	3,060	0,006
8	3,839	0,025	1	3,825	0,014	3,236	0,035	1	3,240	0,004
	3,839	0,025	5	3,835	0,004	3,236	0,035	5	3,250	0,014
	3,839	0,025	8	3,835	0,004	3,236	0,035	8	3,240	0,004
	3,839	0,025	12	3,815	0,024	3,236	0,035	12	3,245	0,009
	3,839	0,025	15	3,840	0,001	3,236	0,035	15	3,240	0,004
	3,839	0,025	19	3,850	0,011	3,236	0,035	19	3,250	0,014
	3,839	0,025	22	3,830	0,009	3,236	0,035	22	3,245	0,009
	3,839	0,025	26	3,835	0,004	3,236	0,035	26	3,245	0,009
	3,839	0,025	29	3,830	0,009	3,236	0,035	29	3,250	0,014
	3,839	0,025	33	3,830	0,009	3,236	0,035	33	3,250	0,014
	3,839	0,025	36	3,815	0,024	3,236	0,035	36	3,235	0,001
9	4,136	0,025	1	4,140	0,004	3,330	0,030	1	3,340	0,010
	4,136	0,025	5	4,140	0,004	3,330	0,030	5	3,360	0,030
	4,136	0,025	8	4,150	0,014	3,330	0,030	8	3,320	0,010
	4,136	0,025	12	4,150	0,014	3,330	0,030	12	3,340	0,010
	4,136	0,025	15	4,140	0,004	3,330	0,030	15	3,340	0,010
	4,136	0,025	19	4,150	0,014	3,330	0,030	19	3,350	0,020
	4,136	0,025	22	4,150	0,014	3,330	0,030	22	3,340	0,010
	4,136	0,025	26	4,150	0,014	3,330	0,030	26	3,345	0,015
	4,136	0,025	29	4,140	0,004	3,330	0,030	29	3,345	0,015
	4,136	0,025	33	4,155	0,019	3,330	0,030	33	3,345	0,015
	4,136	0,025	36	4,150	0,014	3,330	0,030	36	3,340	0,010
10	4,567	0,030	1	4,555	0,012	3,019	0,035	1	3,030	0,011
	4,567	0,030	5	4,565	0,002	3,019	0,035	5	3,045	0,026
	4,567	0,030	8	4,560	0,007	3,019	0,035	8	3,020	0,001
	4,567	0,030	12	4,555	0,012	3,019	0,035	12	3,030	0,011
	4,567	0,030	15	4,570	0,003	3,019	0,035	15	3,030	0,011

	4,567	0,030	19	4,565	0,002	3,019	0,035	19	3,035	0,016
	4,567	0,030	22	4,555	0,012	3,019	0,035	22	3,035	0,016
	4,567	0,030	26	4,560	0,007	3,019	0,035	26	3,030	0,011
	4,567	0,030	29	4,550	0,017	3,019	0,035	29	3,035	0,016
	4,567	0,030	33	4,560	0,007	3,019	0,035	33	3,045	0,026
	4,567	0,030	36	4,560	0,007	3,019	0,035	36	3,030	0,011
11	4,912	0,030	1	4,900	0,012	3,191	0,035	1	3,190	0,001
	4,912	0,030	5	4,915	0,003	3,191	0,035	5	3,205	0,014
	4,912	0,030	8	4,910	0,002	3,191	0,035	8	3,180	0,011
	4,912	0,030	12	4,905	0,007	3,191	0,035	12	3,195	0,004
	4,912	0,030	15	4,890	0,022	3,191	0,035	15	3,190	0,001
	4,912	0,030	19	4,895	0,017	3,191	0,035	19	3,190	0,001
	4,912	0,030	22	4,885	0,027	3,191	0,035	22	3,190	0,001
	4,912	0,030	26	4,885	0,027	3,191	0,035	26	3,195	0,004
	4,912	0,030	29	4,900	0,012	3,191	0,035	29	3,200	0,009
	4,912	0,030	33	4,885	0,027	3,191	0,035	33	3,200	0,009
	4,912	0,030	36	4,885	0,027	3,191	0,035	36	3,190	0,001

Lote "D" - Azida de Sodio - Materia grasa						Lote "D" - Azida de Sodio - Proteína				
N° de Muestra	X_{MRC}	u_{MRC}	Tiempo (días)	Promedio	 X_{MRC}-X_{meas} 	X_{MRC}	u_{MRC}	Tiempo (días)	Promedio	 X_{MRC}-X_{meas}
2	2,364	0,025	1	2,345	0,019	3,198	0,035	1	3,175	0,023
	2,364	0,025	8	2,365	0,001	3,198	0,035	8	3,165	0,033
	2,364	0,025	15	2,340	0,024	3,198	0,035	15	3,170	0,028
	2,364	0,025	19	2,350	0,014	3,198	0,035	19	3,190	0,008
	2,364	0,025	22	2,350	0,014	3,198	0,035	22	3,180	0,018
	2,364	0,025	26	2,350	0,014	3,198	0,035	26	3,175	0,023
	2,364	0,025	29	2,360	0,004	3,198	0,035	29	3,185	0,013
	2,364	0,025	36	2,350	0,014	3,198	0,035	36	3,190	0,008
	2,364	0,025	43	2,350	0,014	3,198	0,035	43	3,175	0,023
	2,364	0,025	50	2,365	0,001	3,198	0,035	50	3,200	0,002
	2,364	0,025	55	2,365	0,001	3,198	0,035	55	3,200	0,002
3	2,679	0,020	1	2,665	0,014	3,482	0,030	1	3,460	0,022
	2,679	0,020	8	2,680	0,001	3,482	0,030	8	3,470	0,012
	2,679	0,020	15	2,675	0,004	3,482	0,030	15	3,470	0,012
	2,679	0,020	19	2,670	0,009	3,482	0,030	19	3,480	0,002
	2,679	0,020	22	2,670	0,009	3,482	0,030	22	3,480	0,002
	2,679	0,020	26	2,670	0,009	3,482	0,030	26	3,475	0,007
	2,679	0,020	29	2,680	0,001	3,482	0,030	29	3,480	0,002
	2,679	0,020	36	2,680	0,001	3,482	0,030	36	3,480	0,002
	2,679	0,020	43	2,670	0,009	3,482	0,030	43	3,470	0,012
	2,679	0,020	50	2,680	0,001	3,482	0,030	50	3,480	0,002
	2,679	0,020	55	2,690	0,011	3,482	0,030	55	3,490	0,008
4	3,030	0,025	1	3,020	0,010	3,204	0,035	1	3,170	0,034
	3,030	0,025	8	3,035	0,005	3,204	0,035	8	3,175	0,029
	3,030	0,025	15	3,020	0,010	3,204	0,035	15	3,180	0,024
	3,030	0,025	19	3,030	0,000	3,204	0,035	19	3,195	0,009
	3,030	0,025	22	3,030	0,000	3,204	0,035	22	3,185	0,019
	3,030	0,025	26	3,025	0,005	3,204	0,035	26	3,190	0,014

	3,030	0,025	29	3,030	0,000	3,204	0,035	29	3,190	0,014
	3,030	0,025	36	3,030	0,000	3,204	0,035	36	3,190	0,014
	3,030	0,025	43	3,030	0,000	3,204	0,035	43	3,180	0,024
	3,030	0,025	50	3,030	0,000	3,204	0,035	50	3,205	0,001
	3,030	0,025	55	3,040	0,010	3,204	0,035	55	3,210	0,006
5	3,408	0,025	1	3,400	0,008	3,155	0,035	1	3,140	0,015
	3,408	0,025	8	3,420	0,012	3,155	0,035	8	3,150	0,005
	3,408	0,025	15	3,410	0,002	3,155	0,035	15	3,145	0,010
	3,408	0,025	19	3,410	0,002	3,155	0,035	19	3,160	0,005
	3,408	0,025	22	3,405	0,003	3,155	0,035	22	3,160	0,005
	3,408	0,025	26	3,400	0,008	3,155	0,035	26	3,160	0,005
	3,408	0,025	29	3,405	0,003	3,155	0,035	29	3,160	0,005
	3,408	0,025	36	3,400	0,008	3,155	0,035	36	3,160	0,005
	3,408	0,025	43	3,410	0,002	3,155	0,035	43	3,150	0,005
	3,408	0,025	50	3,400	0,008	3,155	0,035	50	3,195	0,040
	3,408	0,025	55	3,420	0,012	3,155	0,035	55	3,200	0,045
6	3,602	0,025	1	3,600	0,002	3,214	0,035	1	3,200	0,014
	3,602	0,025	8	3,600	0,002	3,214	0,035	8	3,210	0,004
	3,602	0,025	15	3,580	0,022	3,214	0,035	15	3,220	0,006
	3,602	0,025	19	3,590	0,012	3,214	0,035	19	3,225	0,011
	3,602	0,025	22	3,580	0,022	3,214	0,035	22	3,220	0,006
	3,602	0,025	26	3,580	0,022	3,214	0,035	26	3,225	0,011
	3,602	0,025	29	3,600	0,002	3,214	0,035	29	3,230	0,016
	3,602	0,025	36	3,595	0,007	3,214	0,035	36	3,230	0,016
	3,602	0,025	43	3,585	0,017	3,214	0,035	43	3,215	0,001
	3,602	0,025	50	3,590	0,012	3,214	0,035	50	3,240	0,026
	3,602	0,025	55	3,605	0,003	3,214	0,035	55	3,260	0,046
8	3,839	0,025	1	3,830	0,009	3,236	0,035	1	3,220	0,016
	3,839	0,025	8	3,850	0,011	3,236	0,035	8	3,225	0,011
	3,839	0,025	15	3,820	0,019	3,236	0,035	15	3,230	0,006
	3,839	0,025	19	3,835	0,004	3,236	0,035	19	3,240	0,004
	3,839	0,025	22	3,830	0,009	3,236	0,035	22	3,225	0,011
	3,839	0,025	26	3,830	0,009	3,236	0,035	26	3,225	0,011
	3,839	0,025	29	3,835	0,004	3,236	0,035	29	3,230	0,006
	3,839	0,025	36	3,840	0,001	3,236	0,035	36	3,240	0,004
	3,839	0,025	43	3,840	0,001	3,236	0,035	43	3,230	0,006
	3,839	0,025	50	3,825	0,014	3,236	0,035	50	3,245	0,009
	3,839	0,025	55	3,835	0,004	3,236	0,035	55	3,255	0,019
9	4,136	0,025	1	4,130	0,006	3,330	0,030	1	3,330	0,000
	4,136	0,025	8	4,155	0,019	3,330	0,030	8	3,320	0,010
	4,136	0,025	15	4,145	0,009	3,330	0,030	15	3,330	0,000
	4,136	0,025	19	4,150	0,014	3,330	0,030	19	3,335	0,005
	4,136	0,025	22	4,135	0,001	3,330	0,030	22	3,320	0,010
	4,136	0,025	26	4,145	0,009	3,330	0,030	26	3,335	0,005
	4,136	0,025	29	4,155	0,019	3,330	0,030	29	3,335	0,005
	4,136	0,025	36	4,130	0,006	3,330	0,030	36	3,345	0,015
	4,136	0,025	43	4,150	0,014	3,330	0,030	43	3,340	0,010
	4,136	0,025	50	4,145	0,009	3,330	0,030	50	3,345	0,015
	4,136	0,025	55	4,160	0,024	3,330	0,030	55	3,355	0,025
10	4,567	0,030	1	4,550	0,017	3,019	0,035	1	3,025	0,006

	4,567	0,030	8	4,560	0,007	3,019	0,035	8	3,030	0,011
	4,567	0,030	15	4,545	0,022	3,019	0,035	15	3,035	0,016
	4,567	0,030	19	4,545	0,022	3,019	0,035	19	3,040	0,021
	4,567	0,030	22	4,545	0,022	3,019	0,035	22	3,030	0,011
	4,567	0,030	26	4,560	0,007	3,019	0,035	26	3,040	0,021
	4,567	0,030	29	4,570	0,003	3,019	0,035	29	3,040	0,021
	4,567	0,030	36	4,555	0,012	3,019	0,035	36	3,040	0,021
	4,567	0,030	43	4,545	0,022	3,019	0,035	43	3,030	0,011
	4,567	0,030	50	4,550	0,017	3,019	0,035	50	3,060	0,041
	4,567	0,030	55	4,575	0,008	3,019	0,035	55	3,075	0,056
11	4,912	0,030	1	4,885	0,027	3,191	0,035	1	3,190	0,001
	4,912	0,030	8	4,915	0,003	3,191	0,035	8	3,190	0,001
	4,912	0,030	15	4,900	0,012	3,191	0,035	15	3,200	0,009
	4,912	0,030	19	4,905	0,007	3,191	0,035	19	3,200	0,009
	4,912	0,030	22	4,900	0,012	3,191	0,035	22	3,195	0,004
	4,912	0,030	26	4,930	0,018	3,191	0,035	26	3,200	0,009
	4,912	0,030	29	4,905	0,007	3,191	0,035	29	3,210	0,019
	4,912	0,030	36	4,900	0,012	3,191	0,035	36	3,210	0,019
	4,912	0,030	43	4,890	0,022	3,191	0,035	43	3,195	0,004
	4,912	0,030	50	4,890	0,022	3,191	0,035	50	3,225	0,034
	4,912	0,030	55	4,910	0,002	3,191	0,035	55	3,240	0,049

I.II

Lote "E" - Bronopol - Materia Grasa						Lote "E" - Bronopol - Proteína				
Nº de Muestra	X _{MRC}	u _{MRC}	Tiempo (días)	Promedio	X _{MRC} -X _{meas}	X _{MRC}	u _{MRC}	Tiempo (días)	Promedio	X _{MRC} -X _{meas}
1	2,068	0,025	1	2,080	0,012	3,408	0,040	1	3,405	0,003
	2,068	0,025	8	2,080	0,012	3,408	0,040	8	3,400	0,008
	2,068	0,025	15	2,070	0,002	3,408	0,040	15	3,400	0,008
	2,068	0,025	22	2,045	0,023	3,408	0,040	22	3,410	0,002
	2,068	0,025	29	2,045	0,023	3,408	0,040	29	3,410	0,002
	2,068	0,025	36	2,065	0,003	3,408	0,040	36	3,405	0,003
	2,068	0,025	40	2,045	0,023	3,408	0,040	40	3,410	0,002
	2,068	0,025	43	2,050	0,018	3,408	0,040	43	3,405	0,003
4	2,965	0,020	1	2,985	0,020	3,663	0,035	1	3,650	0,013
	2,965	0,020	8	2,985	0,020	3,663	0,035	8	3,650	0,013
	2,965	0,020	15	2,975	0,010	3,663	0,035	15	3,660	0,003
	2,965	0,020	22	2,975	0,010	3,663	0,035	22	3,650	0,013
	2,965	0,020	29	2,975	0,010	3,663	0,035	29	3,665	0,002
	2,965	0,020	36	2,970	0,005	3,663	0,035	36	3,660	0,003
	2,965	0,020	40	2,945	0,020	3,663	0,035	40	3,665	0,002
	2,965	0,020	43	2,940	0,025	3,663	0,035	43	3,655	0,008
5	3,252	0,025	1	3,270	0,018	3,311	0,040	1	3,325	0,014
	3,252	0,025	8	3,270	0,018	3,311	0,040	8	3,320	0,009
	3,252	0,025	15	3,255	0,003	3,311	0,040	15	3,320	0,009
	3,252	0,025	22	3,230	0,022	3,311	0,040	22	3,330	0,019
	3,252	0,025	29	3,275	0,023	3,311	0,040	29	3,335	0,024
	3,252	0,025	36	3,255	0,003	3,311	0,040	36	3,330	0,019
	3,252	0,025	40	3,230	0,022	3,311	0,040	40	3,330	0,019

	3,252	0,025	43	3,230	0,022	3,311	0,040	43	3,340	0,029
6	3,512	0,025	1	3,515	0,003	3,064	0,040	1	3,080	0,016
	3,512	0,025	8	3,490	0,022	3,064	0,040	8	3,070	0,006
	3,512	0,025	15	3,500	0,012	3,064	0,040	15	3,075	0,011
	3,512	0,025	22	3,505	0,007	3,064	0,040	22	3,080	0,016
	3,512	0,025	29	3,505	0,007	3,064	0,040	29	3,085	0,021
	3,512	0,025	36	3,505	0,007	3,064	0,040	36	3,090	0,026
	3,512	0,025	40	3,500	0,012	3,064	0,040	40	3,090	0,026
	3,512	0,025	43	3,450	0,062	3,064	0,040	43	3,090	0,026
8	4,161	0,020	1	4,145	0,016	3,754	0,035	1	3,740	0,014
	4,161	0,020	8	4,150	0,011	3,754	0,035	8	3,735	0,019
	4,161	0,020	15	4,145	0,016	3,754	0,035	15	3,735	0,019
	4,161	0,020	22	4,145	0,016	3,754	0,035	22	3,750	0,004
	4,161	0,020	29	4,145	0,016	3,754	0,035	29	3,750	0,004
	4,161	0,020	36	4,150	0,011	3,754	0,035	36	3,750	0,004
	4,161	0,020	40	4,140	0,021	3,754	0,035	40	3,740	0,014
	4,161	0,020	43	4,125	0,036	3,754	0,035	43	3,755	0,001
9	4,441	0,020	1	4,450	0,009	3,411	0,035	1	3,420	0,009
	4,441	0,020	8	4,445	0,004	3,411	0,035	8	3,420	0,009
	4,441	0,020	15	4,455	0,014	3,411	0,035	15	3,435	0,024
	4,441	0,020	22	4,455	0,014	3,411	0,035	22	3,435	0,024
	4,441	0,020	29	4,455	0,014	3,411	0,035	29	3,430	0,019
	4,441	0,020	36	4,440	0,001	3,411	0,035	36	3,420	0,009
	4,441	0,020	40	4,430	0,011	3,411	0,035	40	3,420	0,009
	4,441	0,020	43	4,455	0,014	3,411	0,035	43	3,425	0,014
10	4,713	0,030	1	4,725	0,012	3,557	0,035	1	3,570	0,013
	4,713	0,030	8	4,730	0,017	3,557	0,035	8	3,560	0,003
	4,713	0,030	15	4,715	0,002	3,557	0,035	15	3,565	0,008
	4,713	0,030	22	4,725	0,012	3,557	0,035	22	3,570	0,013
	4,713	0,030	29	4,715	0,002	3,557	0,035	29	3,580	0,023
	4,713	0,030	36	4,725	0,012	3,557	0,035	36	3,575	0,018
	4,713	0,030	40	4,660	0,053	3,557	0,035	40	3,580	0,023
	4,713	0,030	43	4,570	0,143	3,557	0,035	43	3,600	0,043
11	4,985	0,030	1	4,990	0,005	3,285	0,040	1	3,280	0,005
	4,985	0,030	8	4,960	0,025	3,285	0,040	8	3,280	0,005
	4,985	0,030	15	4,970	0,015	3,285	0,040	15	3,285	0,000
	4,985	0,030	22	4,975	0,010	3,285	0,040	22	3,295	0,010
	4,985	0,030	29	4,980	0,005	3,285	0,040	29	3,295	0,010
	4,985	0,030	36	4,985	0,000	3,285	0,040	36	3,290	0,005
	4,985	0,030	40	4,980	0,005	3,285	0,040	40	3,285	0,000
	4,985	0,030	43	4,970	0,015	3,285	0,040	43	3,290	0,005

Lote "E" - Azida de sodio - Materia Grasa						Lote "E" - Azida de sodio - Proteína				
Nº de Muestra	X_{MRC}	u_{MRC}	Tiempo (días)	Promedio	 X_{MRC}-X_{meas} 	X_{MRC}	u_{MRC}	Tiempo (días)	Promedio	 X_{MRC}-X_{meas}
1	2,068	0,025	1	2,085	0,017	3,408	0,040	1	3,400	0,008
	2,068	0,025	8	2,090	0,022	3,408	0,040	8	3,400	0,008
	2,068	0,025	15	2,080	0,012	3,408	0,040	15	3,400	0,008
	2,068	0,025	22	2,075	0,007	3,408	0,040	22	3,395	0,013

	2,068	0,025	29	2,070	0,002	3,408	0,040	29	3,415	0,007
	2,068	0,025	36	2,065	0,003	3,408	0,040	36	3,405	0,003
	2,068	0,025	43	2,055	0,013	3,408	0,040	43	3,410	0,002
	2,068	0,025	47	2,045	0,023	3,408	0,040	47	3,405	0,003
	2,068	0,025	50	2,040	0,028	3,408	0,040	50	3,415	0,007
	2,068	0,025	54	2,040	0,028	3,408	0,040	54	3,405	0,003
	2,068	0,025	57	2,040	0,028	3,408	0,040	57	3,395	0,013
4	2,965	0,020	1	2,985	0,020	3,663	0,035	1	3,630	0,033
	2,965	0,020	8	2,970	0,005	3,663	0,035	8	3,630	0,033
	2,965	0,020	15	2,945	0,020	3,663	0,035	15	3,640	0,023
	2,965	0,020	22	2,940	0,025	3,663	0,035	22	3,640	0,023
	2,965	0,020	29	2,955	0,010	3,663	0,035	29	3,650	0,013
	2,965	0,020	36	2,970	0,005	3,663	0,035	36	3,642	0,021
	2,965	0,020	43	2,965	0,000	3,663	0,035	43	3,645	0,018
	2,965	0,020	47	2,960	0,005	3,663	0,035	47	3,645	0,018
	2,965	0,020	50	2,990	0,025	3,663	0,035	50	3,650	0,013
	2,965	0,020	54	2,995	0,030	3,663	0,035	54	3,645	0,018
	2,965	0,020	57	2,990	0,025	3,663	0,035	57	3,650	0,013
5	3,252	0,025	1	3,270	0,018	3,311	0,040	1	3,320	0,009
	3,252	0,025	8	3,270	0,018	3,311	0,040	8	3,330	0,019
	3,252	0,025	15	3,250	0,002	3,311	0,040	15	3,340	0,029
	3,252	0,025	22	3,240	0,012	3,311	0,040	22	3,345	0,034
	3,252	0,025	29	3,255	0,003	3,311	0,040	29	3,345	0,034
	3,252	0,025	36	3,270	0,018	3,311	0,040	36	3,340	0,029
	3,252	0,025	43	3,255	0,003	3,311	0,040	43	3,340	0,029
	3,252	0,025	47	3,260	0,008	3,311	0,040	47	3,340	0,029
	3,252	0,025	50	3,260	0,008	3,311	0,040	50	3,345	0,034
	3,252	0,025	54	3,275	0,023	3,311	0,040	54	3,350	0,039
	3,252	0,025	57	3,265	0,013	3,311	0,040	57	3,355	0,044
6	3,512	0,025	1	3,520	0,008	3,064	0,040	1	3,060	0,004
	3,512	0,025	8	3,520	0,008	3,064	0,040	8	3,065	0,001
	3,512	0,025	15	3,515	0,003	3,064	0,040	15	3,070	0,006
	3,512	0,025	22	3,495	0,017	3,064	0,040	22	3,070	0,006
	3,512	0,025	29	3,510	0,002	3,064	0,040	29	3,085	0,021
	3,512	0,025	36	3,515	0,003	3,064	0,040	36	3,075	0,011
	3,512	0,025	43	3,500	0,012	3,064	0,040	43	3,080	0,016
	3,512	0,025	47	3,525	0,013	3,064	0,040	47	3,075	0,011
	3,512	0,025	50	3,535	0,023	3,064	0,040	50	3,080	0,016
	3,512	0,025	54	3,530	0,018	3,064	0,040	54	3,090	0,026
	3,512	0,025	57	3,510	0,002	3,064	0,040	57	3,085	0,021
8	4,161	0,020	1	4,160	0,001	3,754	0,035	1	3,735	0,019
	4,161	0,020	8	4,150	0,011	3,754	0,035	8	3,735	0,019
	4,161	0,020	15	4,170	0,009	3,754	0,035	15	3,735	0,019
	4,161	0,020	22	4,160	0,001	3,754	0,035	22	3,735	0,019
	4,161	0,020	29	4,150	0,011	3,754	0,035	29	3,750	0,004
	4,161	0,020	36	4,165	0,004	3,754	0,035	36	3,740	0,014
	4,161	0,020	43	4,155	0,006	3,754	0,035	43	3,750	0,004
	4,161	0,020	47	4,165	0,004	3,754	0,035	47	3,740	0,014
	4,161	0,020	50	4,160	0,001	3,754	0,035	50	3,755	0,001
	4,161	0,020	54	4,180	0,019	3,754	0,035	54	3,750	0,004

	4,161	0,020	57	4,170	0,009	3,754	0,035	57	3,735	0,019
9	4,441	0,020	1	4,455	0,014	3,411	0,035	1	3,415	0,004
	4,441	0,020	8	4,420	0,021	3,411	0,035	8	3,430	0,019
	4,441	0,020	15	4,460	0,019	3,411	0,035	15	3,425	0,014
	4,441	0,020	22	4,440	0,001	3,411	0,035	22	3,445	0,034
	4,441	0,020	29	4,450	0,009	3,411	0,035	29	3,445	0,034
	4,441	0,020	36	4,460	0,019	3,411	0,035	36	3,440	0,029
	4,441	0,020	43	4,440	0,001	3,411	0,035	43	3,445	0,034
	4,441	0,020	47	4,460	0,019	3,411	0,035	47	3,455	0,044
	4,441	0,020	50	4,470	0,029	3,411	0,035	50	3,460	0,049
	4,441	0,020	54	4,470	0,029	3,411	0,035	54	3,455	0,044
	4,441	0,020	57	4,465	0,024	3,411	0,035	57	3,460	0,049
10	4,713	0,030	1	4,740	0,027	3,557	0,035	1	3,550	0,007
	4,713	0,030	8	4,730	0,017	3,557	0,035	8	3,560	0,003
	4,713	0,030	15	4,740	0,027	3,557	0,035	15	3,560	0,003
	4,713	0,030	22	4,735	0,022	3,557	0,035	22	3,570	0,013
	4,713	0,030	29	4,730	0,017	3,557	0,035	29	3,570	0,013
	4,713	0,030	36	4,720	0,007	3,557	0,035	36	3,565	0,008
	4,713	0,030	43	4,742	0,029	3,557	0,035	43	3,565	0,008
	4,713	0,030	47	4,750	0,037	3,557	0,035	47	3,555	0,002
	4,713	0,030	50	4,750	0,037	3,557	0,035	50	3,565	0,008
	4,713	0,030	54	4,750	0,037	3,557	0,035	54	3,570	0,013
	4,713	0,030	57	4,745	0,032	3,557	0,035	57	3,560	0,003
11	4,985	0,030	1	4,975	0,010	3,285	0,040	1	3,260	0,025
	4,985	0,030	8	4,960	0,025	3,285	0,040	8	3,280	0,005
	4,985	0,030	15	4,980	0,005	3,285	0,040	15	3,280	0,005
	4,985	0,030	22	4,975	0,010	3,285	0,040	22	3,285	0,000
	4,985	0,030	29	4,960	0,025	3,285	0,040	29	3,285	0,000
	4,985	0,030	36	4,975	0,010	3,285	0,040	36	3,280	0,005
	4,985	0,030	43	4,970	0,015	3,285	0,040	43	3,290	0,005
	4,985	0,030	47	4,995	0,010	3,285	0,040	47	3,295	0,010
	4,985	0,030	50	4,995	0,010	3,285	0,040	50	3,300	0,015
	4,985	0,030	54	4,980	0,005	3,285	0,040	54	3,305	0,020
	4,985	0,030	57	4,960	0,025	3,285	0,040	57	3,290	0,005

I.III

Lote "F" - Bronopol - Materia grasa						Lote "F" - Bronopol - Proteína				
N° de Muestra	X _{MRC}	u _{MRC}	Tiempo (días)	Promedio	X _{MRC} - X _{meas}	X _{MRC}	u _{MRC}	Tiempo (días)	Promedio	X _{MRC} - X _{meas}
1	2,004	0,025	1	1,995	0,009	3,504	0,040	1	3,505	0,001
	2,004	0,025	8	2,000	0,004	3,504	0,040	8	3,505	0,001
	2,004	0,025	15	1,980	0,024	3,504	0,040	15	3,500	0,004
	2,004	0,025	22	1,985	0,019	3,504	0,040	22	3,505	0,001
	2,004	0,025	29	2,010	0,006	3,504	0,040	29	3,490	0,014
	2,004	0,025	33	1,985	0,019	3,504	0,040	33	3,500	0,004
	2,004	0,025	36	1,990	0,014	3,504	0,040	36	3,480	0,024
	2,004	0,025	40	1,995	0,009	3,504	0,040	40	3,495	0,009
	2,004	0,025	43	1,975	0,029	3,504	0,040	43	3,505	0,001
2	2,345	0,025	1	2,335	0,010	3,479	0,040	1	3,500	0,021

	2,345	0,025	8	2,335	0,010	3,479	0,040	8	3,495	0,016
	2,345	0,025	15	2,335	0,010	3,479	0,040	15	3,495	0,016
	2,345	0,025	22	2,335	0,010	3,479	0,040	22	3,485	0,006
	2,345	0,025	29	2,350	0,005	3,479	0,040	29	3,485	0,006
	2,345	0,025	33	2,340	0,005	3,479	0,040	33	3,495	0,016
	2,345	0,025	36	2,335	0,010	3,479	0,040	36	3,485	0,006
	2,345	0,025	40	2,340	0,005	3,479	0,040	40	3,490	0,011
	2,345	0,025	43	2,340	0,005	3,479	0,040	43	3,485	0,006
3	2,696	0,020	1	2,680	0,016	3,327	0,035	1	3,340	0,013
	2,696	0,020	8	2,690	0,006	3,327	0,035	8	3,325	0,002
	2,696	0,020	15	2,680	0,016	3,327	0,035	15	3,335	0,008
	2,696	0,020	22	2,680	0,016	3,327	0,035	22	3,340	0,013
	2,696	0,020	29	2,680	0,016	3,327	0,035	29	3,340	0,013
	2,696	0,020	33	2,690	0,006	3,327	0,035	33	3,325	0,002
	2,696	0,020	36	2,685	0,011	3,327	0,035	36	3,325	0,002
	2,696	0,020	40	2,690	0,006	3,327	0,035	40	3,335	0,008
	2,696	0,020	43	2,675	0,021	3,327	0,035	43	3,335	0,008
4	3,084	0,025	1	3,060	0,024	3,317	0,040	1	3,320	0,003
	3,084	0,025	8	3,075	0,009	3,317	0,040	8	3,310	0,007
	3,084	0,025	15	3,070	0,014	3,317	0,040	15	3,315	0,002
	3,084	0,025	22	3,065	0,019	3,317	0,040	22	3,320	0,003
	3,084	0,025	29	3,080	0,004	3,317	0,040	29	3,320	0,003
	3,084	0,025	33	3,065	0,019	3,317	0,040	33	3,315	0,002
	3,084	0,025	36	3,055	0,029	3,317	0,040	36	3,310	0,007
	3,084	0,025	40	3,060	0,024	3,317	0,040	40	3,330	0,013
	3,084	0,025	43	3,065	0,019	3,317	0,040	43	3,325	0,008
5	3,291	0,025	1	3,310	0,019	2,999	0,040	1	3,010	0,011
	3,291	0,025	8	3,310	0,019	2,999	0,040	8	3,015	0,016
	3,291	0,025	15	3,310	0,019	2,999	0,040	15	3,015	0,016
	3,291	0,025	22	3,295	0,004	2,999	0,040	22	3,010	0,011
	3,291	0,025	29	3,310	0,019	2,999	0,040	29	3,010	0,011
	3,291	0,025	33	3,310	0,019	2,999	0,040	33	3,015	0,016
	3,291	0,025	36	3,290	0,001	2,999	0,040	36	3,010	0,011
	3,291	0,025	40	3,300	0,009	2,999	0,040	40	3,025	0,026
	3,291	0,025	43	3,300	0,009	2,999	0,040	43	3,015	0,016
6	3,709	0,025	1	3,705	0,004	3,340	0,040	1	3,365	0,025
	3,709	0,025	8	3,710	0,001	3,340	0,040	8	3,360	0,020
	3,709	0,025	15	3,725	0,016	3,340	0,040	15	3,350	0,010
	3,709	0,025	22	3,710	0,001	3,340	0,040	22	3,355	0,015
	3,709	0,025	29	3,700	0,009	3,340	0,040	29	3,355	0,015
	3,709	0,025	33	3,715	0,006	3,340	0,040	33	3,345	0,005
	3,709	0,025	36	3,685	0,024	3,340	0,040	36	3,345	0,005
	3,709	0,025	40	3,690	0,019	3,340	0,040	40	3,350	0,010
	3,709	0,025	43	3,690	0,019	3,340	0,040	43	3,345	0,005
7	3,949	0,025	1	3,960	0,011	3,210	0,040	1	3,220	0,010
	3,949	0,025	8	3,955	0,006	3,210	0,040	8	3,215	0,005
	3,949	0,025	15	3,960	0,011	3,210	0,040	15	3,210	0,000
	3,949	0,025	22	3,940	0,009	3,210	0,040	22	3,220	0,010
	3,949	0,025	29	3,935	0,014	3,210	0,040	29	3,210	0,000
	3,949	0,025	33	3,965	0,016	3,210	0,040	33	3,210	0,000

	3,949	0,025	36	3,925	0,024	3,210	0,040	36	3,195	0,015
	3,949	0,025	40	3,960	0,011	3,210	0,040	40	3,220	0,010
	3,949	0,025	43	3,870	0,079	3,210	0,040	43	3,215	0,005
8	4,223	0,020	1	4,205	0,018	3,427	0,035	1	3,450	0,023
	4,223	0,020	8	4,230	0,007	3,427	0,035	8	3,435	0,008
	4,223	0,020	15	4,235	0,012	3,427	0,035	15	3,440	0,013
	4,223	0,020	22	4,205	0,018	3,427	0,035	22	3,440	0,013
	4,223	0,020	29	4,235	0,012	3,427	0,035	29	3,430	0,003
	4,223	0,020	33	4,205	0,018	3,427	0,035	33	3,435	0,008
	4,223	0,020	36	4,230	0,007	3,427	0,035	36	3,430	0,003
	4,223	0,020	40	4,225	0,002	3,427	0,035	40	3,435	0,008
	4,223	0,020	43	4,215	0,008	3,427	0,035	43	3,435	0,008
9	4,470	0,025	1	4,455	0,015	3,285	0,035	1	3,295	0,010
	4,470	0,025	8	4,455	0,015	3,285	0,035	8	3,285	0,000
	4,470	0,025	15	4,450	0,020	3,285	0,035	15	3,285	0,000
	4,470	0,025	22	4,455	0,015	3,285	0,035	22	3,285	0,000
	4,470	0,025	29	4,475	0,005	3,285	0,035	29	3,285	0,000
	4,470	0,025	33	4,470	0,000	3,285	0,035	33	3,285	0,000
	4,470	0,025	36	4,455	0,015	3,285	0,035	36	3,280	0,005
	4,470	0,025	40	4,460	0,010	3,285	0,035	40	3,300	0,015
	4,470	0,025	43	4,450	0,020	3,285	0,035	43	3,300	0,015
10	4,684	0,030	1	4,695	0,011	3,324	0,040	1	3,325	0,001
	4,684	0,030	8	4,700	0,016	3,324	0,040	8	3,325	0,001
	4,684	0,030	15	4,685	0,001	3,324	0,040	15	3,335	0,011
	4,684	0,030	22	4,680	0,004	3,324	0,040	22	3,325	0,001
	4,684	0,030	29	4,690	0,006	3,324	0,040	29	3,320	0,004
	4,684	0,030	33	4,680	0,004	3,324	0,040	33	3,325	0,001
	4,684	0,030	36	4,680	0,004	3,324	0,040	36	3,315	0,009
	4,684	0,030	40	4,685	0,001	3,324	0,040	40	3,335	0,011
	4,684	0,030	43	4,680	0,004	3,324	0,040	43	3,325	0,001
11	4,917	0,030	1	4,925	0,008	3,382	0,040	1	3,400	0,018
	4,917	0,030	8	4,900	0,017	3,382	0,040	8	3,400	0,018
	4,917	0,030	15	4,905	0,012	3,382	0,040	15	3,395	0,013
	4,917	0,030	22	4,905	0,012	3,382	0,040	22	3,405	0,023
	4,917	0,030	29	4,915	0,002	3,382	0,040	29	3,385	0,003
	4,917	0,030	33	4,925	0,008	3,382	0,040	33	3,395	0,013
	4,917	0,030	36	4,915	0,002	3,382	0,040	36	3,395	0,013
	4,917	0,030	40	4,905	0,012	3,382	0,040	40	3,410	0,028
	4,917	0,030	43	4,875	0,042	3,382	0,040	43	3,390	0,008

Lote "F" - Azida de sodio - Materia grasa						Lote "F" - Azida de sodio - Proteína				
Nº de Muestra	X _{MRC}	u _{MRC}	Tiempo (días)	Promedio	X _{MRC} -X _{meas}	X _{MRC}	u _{MRC}	Tiempo (días)	Promedio	X _{MRC} -X _{meas}
1	2,004	0,025	1	1,995	0,009	3,504	0,040	1	3,495	0,009
	2,004	0,025	8	1,990	0,014	3,504	0,040	8	3,490	0,014
	2,004	0,025	15	2,005	0,001	3,504	0,040	15	3,495	0,009
	2,004	0,025	22	1,995	0,009	3,504	0,040	22	3,505	0,001
	2,004	0,025	29	2,005	0,001	3,504	0,040	29	3,495	0,009
	2,004	0,025	36	2,000	0,004	3,504	0,040	36	3,500	0,004

	2,004	0,025	43	2,000	0,004	3,504	0,040	43	3,475	0,029
	2,004	0,025	47	1,990	0,014	3,504	0,040	47	3,500	0,004
	2,004	0,025	50	1,995	0,009	3,504	0,040	50	3,490	0,014
	2,004	0,025	54	2,010	0,006	3,504	0,040	54	3,495	0,009
	2,004	0,025	57	1,965	0,039	3,504	0,040	57	3,510	0,006
2	2,345	0,025	1	2,325	0,020	3,479	0,040	1	3,500	0,021
	2,345	0,025	8	2,340	0,005	3,479	0,040	8	3,490	0,011
	2,345	0,025	15	2,350	0,005	3,479	0,040	15	3,490	0,011
	2,345	0,025	22	2,345	0,000	3,479	0,040	22	3,490	0,011
	2,345	0,025	29	2,345	0,000	3,479	0,040	29	3,495	0,016
	2,345	0,025	36	2,335	0,010	3,479	0,040	36	3,495	0,016
	2,345	0,025	43	2,345	0,000	3,479	0,040	43	3,485	0,006
	2,345	0,025	47	2,345	0,000	3,479	0,040	47	3,485	0,006
	2,345	0,025	50	2,340	0,005	3,479	0,040	50	3,495	0,016
	2,345	0,025	54	2,360	0,015	3,479	0,040	54	3,500	0,021
	2,345	0,025	57	2,325	0,020	3,479	0,040	57	3,505	0,026
3	2,696	0,020	1	2,680	0,016	3,327	0,035	1	3,325	0,002
	2,696	0,020	8	2,690	0,006	3,327	0,035	8	3,320	0,007
	2,696	0,020	15	2,680	0,016	3,327	0,035	15	3,330	0,003
	2,696	0,020	22	2,690	0,006	3,327	0,035	22	3,330	0,003
	2,696	0,020	29	2,700	0,004	3,327	0,035	29	3,320	0,007
	2,696	0,020	36	2,685	0,011	3,327	0,035	36	3,320	0,007
	2,696	0,020	43	2,695	0,001	3,327	0,035	43	3,325	0,002
	2,696	0,020	47	2,695	0,001	3,327	0,035	47	3,330	0,003
	2,696	0,020	50	2,680	0,016	3,327	0,035	50	3,325	0,002
	2,696	0,020	54	2,710	0,014	3,327	0,035	54	3,335	0,008
	2,696	0,020	57	2,675	0,021	3,327	0,035	57	3,335	0,008
4	3,084	0,025	1	3,060	0,024	3,317	0,040	1	3,315	0,002
	3,084	0,025	8	3,065	0,019	3,317	0,040	8	3,300	0,017
	3,084	0,025	15	3,075	0,009	3,317	0,040	15	3,305	0,012
	3,084	0,025	22	3,065	0,019	3,317	0,040	22	3,315	0,002
	3,084	0,025	29	3,100	0,016	3,317	0,040	29	3,305	0,012
	3,084	0,025	36	3,060	0,024	3,317	0,040	36	3,305	0,012
	3,084	0,025	43	3,060	0,024	3,317	0,040	43	3,310	0,007
	3,084	0,025	47	3,080	0,004	3,317	0,040	47	3,320	0,003
	3,084	0,025	50	3,065	0,019	3,317	0,040	50	3,310	0,007
	3,084	0,025	54	3,060	0,024	3,317	0,040	54	3,320	0,003
	3,084	0,025	57	3,080	0,004	3,317	0,040	57	3,325	0,008
5	3,291	0,025	1	3,300	0,009	2,999	0,040	1	3,010	0,011
	3,291	0,025	8	3,295	0,004	2,999	0,040	8	3,005	0,006
	3,291	0,025	15	3,290	0,001	2,999	0,040	15	3,005	0,006
	3,291	0,025	22	3,300	0,009	2,999	0,040	22	3,010	0,011
	3,291	0,025	29	3,295	0,004	2,999	0,040	29	3,015	0,016
	3,291	0,025	36	3,290	0,001	2,999	0,040	36	3,005	0,006
	3,291	0,025	43	3,300	0,009	2,999	0,040	43	3,000	0,001
	3,291	0,025	47	3,310	0,019	2,999	0,040	47	3,020	0,021
	3,291	0,025	50	3,290	0,001	2,999	0,040	50	3,000	0,001
	3,291	0,025	54	3,290	0,001	2,999	0,040	54	3,025	0,026
	3,291	0,025	57	3,295	0,004	2,999	0,040	57	3,020	0,021
6	3,709	0,025	1	3,695	0,014	3,340	0,040	1	3,345	0,005

	3,709	0,025	8	3,710	0,001	3,340	0,040	8	3,340	0,000
	3,709	0,025	15	3,705	0,004	3,340	0,040	15	3,340	0,000
	3,709	0,025	22	3,695	0,014	3,340	0,040	22	3,355	0,015
	3,709	0,025	29	3,710	0,001	3,340	0,040	29	3,355	0,015
	3,709	0,025	36	3,695	0,014	3,340	0,040	36	3,335	0,005
	3,709	0,025	43	3,690	0,019	3,340	0,040	43	3,340	0,000
	3,709	0,025	47	3,695	0,014	3,340	0,040	47	3,350	0,010
	3,709	0,025	50	3,695	0,014	3,340	0,040	50	3,340	0,000
	3,709	0,025	54	3,725	0,016	3,340	0,040	54	3,360	0,020
	3,709	0,025	57	3,700	0,009	3,340	0,040	57	3,360	0,020
7	3,949	0,025	1	3,945	0,004	3,210	0,040	1	3,215	0,005
	3,949	0,025	8	3,930	0,019	3,210	0,040	8	3,205	0,005
	3,949	0,025	15	3,940	0,009	3,210	0,040	15	3,210	0,000
	3,949	0,025	22	3,945	0,004	3,210	0,040	22	3,215	0,005
	3,949	0,025	29	3,965	0,016	3,210	0,040	29	3,205	0,005
	3,949	0,025	36	3,955	0,006	3,210	0,040	36	3,210	0,000
	3,949	0,025	43	3,940	0,009	3,210	0,040	43	3,200	0,010
	3,949	0,025	47	3,975	0,025	3,210	0,040	47	3,220	0,010
	3,949	0,025	50	3,950	0,001	3,210	0,040	50	3,205	0,005
	3,949	0,025	54	3,945	0,004	3,210	0,040	54	3,220	0,010
	3,949	0,025	57	3,950	0,001	3,210	0,040	57	3,220	0,010
8	4,223	0,020	1	4,230	0,007	3,427	0,035	1	3,440	0,013
	4,223	0,020	8	4,225	0,002	3,427	0,035	8	3,445	0,018
	4,223	0,020	15	4,225	0,002	3,427	0,035	15	3,440	0,013
	4,223	0,020	22	4,220	0,003	3,427	0,035	22	3,455	0,028
	4,223	0,020	29	4,245	0,022	3,427	0,035	29	3,440	0,013
	4,223	0,020	36	4,230	0,007	3,427	0,035	36	3,450	0,023
	4,223	0,020	43	4,230	0,007	3,427	0,035	43	3,450	0,023
	4,223	0,020	47	4,230	0,007	3,427	0,035	47	3,455	0,028
	4,223	0,020	50	4,240	0,017	3,427	0,035	50	3,450	0,023
	4,223	0,020	54	4,240	0,017	3,427	0,035	54	3,450	0,023
	4,223	0,020	57	4,200	0,023	3,427	0,035	57	3,465	0,038
9	4,470	0,020	1	4,460	0,010	3,285	0,035	1	3,280	0,005
	4,470	0,020	8	4,460	0,010	3,285	0,035	8	3,285	0,000
	4,470	0,020	15	4,480	0,010	3,285	0,035	15	3,275	0,010
	4,470	0,020	22	4,450	0,020	3,285	0,035	22	3,290	0,005
	4,470	0,020	29	4,485	0,015	3,285	0,035	29	3,285	0,000
	4,470	0,020	36	4,470	0,000	3,285	0,035	36	3,280	0,005
	4,470	0,020	43	4,450	0,020	3,285	0,035	43	3,285	0,000
	4,470	0,020	47	4,475	0,005	3,285	0,035	47	3,300	0,015
	4,470	0,020	50	4,465	0,005	3,285	0,035	50	3,280	0,005
	4,470	0,020	54	4,455	0,015	3,285	0,035	54	3,295	0,010
	4,470	0,020	57	4,465	0,005	3,285	0,035	57	3,305	0,020
10	4,684	0,030	1	4,670	0,014	3,324	0,040	1	3,320	0,004
	4,684	0,030	8	4,675	0,009	3,324	0,040	8	3,315	0,009
	4,684	0,030	15	4,680	0,004	3,324	0,040	15	3,315	0,009
	4,684	0,030	22	4,705	0,021	3,324	0,040	22	3,310	0,014
	4,684	0,030	29	4,680	0,004	3,324	0,040	29	3,325	0,001
	4,684	0,030	36	4,670	0,014	3,324	0,040	36	3,305	0,019
	4,684	0,030	43	4,675	0,009	3,324	0,040	43	3,315	0,009

	4,684	0,030	47	4,675	0,009	3,324	0,040	47	3,320	0,004
	4,684	0,030	50	4,685	0,001	3,324	0,040	50	3,310	0,014
	4,684	0,030	54	4,720	0,036	3,324	0,040	54	3,330	0,006
	4,684	0,030	57	4,635	0,049	3,324	0,040	57	3,340	0,016
11	4,917	0,030	1	4,900	0,017	3,382	0,040	1	3,385	0,003
	4,917	0,030	8	4,920	0,003	3,382	0,040	8	3,380	0,002
	4,917	0,030	15	4,925	0,008	3,382	0,040	15	3,380	0,002
	4,917	0,030	22	4,910	0,007	3,382	0,040	22	3,390	0,008
	4,917	0,030	29	4,930	0,013	3,382	0,040	29	3,385	0,003
	4,917	0,030	36	4,895	0,022	3,382	0,040	36	3,390	0,008
	4,917	0,030	43	4,910	0,007	3,382	0,040	43	3,395	0,013
	4,917	0,030	47	4,935	0,018	3,382	0,040	47	3,390	0,008
	4,917	0,030	50	4,925	0,008	3,382	0,040	50	3,380	0,002
	4,917	0,030	54	4,900	0,017	3,382	0,040	54	3,395	0,013
	4,917	0,030	57	4,890	0,027	3,382	0,040	57	3,390	0,008

I.IV

Lote "G" - Bronopol - Materia grasa						Lote "G" - Bronopol - Proteína				
Nº de Muestra	X _{MRC}	u _{MRC}	Tiempo (días)	Promedio	X _{MRC} -X _{meas}	X _{MRC}	u _{MRC}	Tiempo (días)	Promedio	X _{MRC} -X _{meas}
1	2,027	0,025	1	2,020	0,007	3,647	0,040	1	3,655	0,008
	2,027	0,025	8	2,005	0,022	3,647	0,040	8	3,655	0,008
	2,027	0,025	15	2,015	0,012	3,647	0,040	15	3,645	0,002
	2,027	0,025	22	2,005	0,022	3,647	0,040	22	3,660	0,013
	2,027	0,025	29	2,010	0,017	3,647	0,040	29	3,640	0,007
	2,027	0,025	33	2,015	0,012	3,647	0,040	33	3,645	0,002
	2,027	0,025	36	2,020	0,007	3,647	0,040	36	3,640	0,007
	2,027	0,025	40	2,015	0,012	3,647	0,040	40	3,640	0,007
	2,027	0,025	43	2,025	0,002	3,647	0,040	43	3,640	0,007
2	2,340	0,025	1	2,350	0,010	3,155	0,040	1	3,170	0,015
	2,340	0,025	8	2,325	0,015	3,155	0,040	8	3,180	0,025
	2,340	0,025	15	2,345	0,005	3,155	0,040	15	3,165	0,010
	2,340	0,025	22	2,335	0,005	3,155	0,040	22	3,170	0,015
	2,340	0,025	29	2,340	0,000	3,155	0,040	29	3,125	0,030
	2,340	0,025	33	2,345	0,005	3,155	0,040	33	3,120	0,035
	2,340	0,025	36	2,350	0,010	3,155	0,040	36	3,125	0,030
	2,340	0,025	40	2,350	0,010	3,155	0,040	40	3,120	0,035
	2,340	0,025	43	2,355	0,015	3,155	0,040	43	3,125	0,030
3	2,720	0,020	1	2,720	0,000	3,388	0,035	1	3,395	0,007
	2,720	0,020	8	2,705	0,015	3,388	0,035	8	3,400	0,012
	2,720	0,020	15	2,730	0,010	3,388	0,035	15	3,395	0,007
	2,720	0,020	22	2,715	0,005	3,388	0,035	22	3,400	0,012
	2,720	0,020	29	2,710	0,010	3,388	0,035	29	3,370	0,018
	2,720	0,020	33	2,705	0,015	3,388	0,035	33	3,370	0,018
	2,720	0,020	36	2,710	0,010	3,388	0,035	36	3,365	0,023
	2,720	0,020	40	2,700	0,020	3,388	0,035	40	3,360	0,028
	2,720	0,020	43	2,715	0,005	3,388	0,035	43	3,350	0,038
4	3,097	0,025	1	3,075	0,022	3,447	0,040	1	3,450	0,003
	3,097	0,025	8	3,075	0,022	3,447	0,040	8	3,455	0,008

	3,097	0,025	15	3,090	0,007	3,447	0,040	15	3,435	0,012
	3,097	0,025	22	3,085	0,012	3,447	0,040	22	3,460	0,013
	3,097	0,025	29	3,090	0,007	3,447	0,040	29	3,425	0,022
	3,097	0,025	33	3,075	0,022	3,447	0,040	33	3,425	0,022
	3,097	0,025	36	3,080	0,017	3,447	0,040	36	3,415	0,032
	3,097	0,025	40	3,080	0,017	3,447	0,040	40	3,410	0,037
	3,097	0,025	43	3,085	0,012	3,447	0,040	43	3,405	0,042
5	3,388	0,025	1	3,380	0,008	3,921	0,040	1	3,920	0,001
	3,388	0,025	8	3,370	0,018	3,921	0,040	8	3,915	0,006
	3,388	0,025	15	3,395	0,007	3,921	0,040	15	3,910	0,011
	3,388	0,025	22	3,390	0,002	3,921	0,040	22	3,930	0,009
	3,388	0,025	29	3,385	0,003	3,921	0,040	29	3,910	0,011
	3,388	0,025	33	3,382	0,006	3,921	0,040	33	3,910	0,011
	3,388	0,025	36	3,395	0,007	3,921	0,040	36	3,910	0,011
	3,388	0,025	40	3,390	0,002	3,921	0,040	40	3,920	0,001
	3,388	0,025	43	3,390	0,002	3,921	0,040	43	3,930	0,009
6	3,637	0,025	1	3,630	0,007	3,744	0,040	1	3,745	0,001
	3,637	0,025	8	3,635	0,002	3,744	0,040	8	3,735	0,009
	3,637	0,025	15	3,650	0,013	3,744	0,040	15	3,740	0,004
	3,637	0,025	22	3,645	0,008	3,744	0,040	22	3,755	0,011
	3,637	0,025	29	3,645	0,008	3,744	0,040	29	3,720	0,024
	3,637	0,025	33	3,645	0,008	3,744	0,040	33	3,725	0,019
	3,637	0,025	36	3,645	0,008	3,744	0,040	36	3,720	0,024
	3,637	0,025	40	3,640	0,003	3,744	0,040	40	3,735	0,009
	3,637	0,025	43	3,655	0,018	3,744	0,040	43	3,720	0,024
7	3,792	0,025	1	3,780	0,012	3,404	0,040	1	3,400	0,004
	3,792	0,025	8	3,790	0,002	3,404	0,040	8	3,405	0,001
	3,792	0,025	15	3,805	0,013	3,404	0,040	15	3,405	0,001
	3,792	0,025	22	3,775	0,017	3,404	0,040	22	3,410	0,006
	3,792	0,025	29	3,790	0,002	3,404	0,040	29	3,375	0,029
	3,792	0,025	33	3,805	0,013	3,404	0,040	33	3,375	0,029
	3,792	0,025	36	3,795	0,003	3,404	0,040	36	3,370	0,034
	3,792	0,025	40	3,810	0,018	3,404	0,040	40	3,370	0,034
	3,792	0,025	43	3,795	0,003	3,404	0,040	43	3,380	0,024
8	4,118	0,020	1	4,105	0,013	3,634	0,035	1	3,635	0,001
	4,118	0,020	8	4,115	0,003	3,634	0,035	8	3,650	0,016
	4,118	0,020	15	4,135	0,017	3,634	0,035	15	3,645	0,011
	4,118	0,020	22	4,115	0,003	3,634	0,035	22	3,640	0,006
	4,118	0,020	29	4,115	0,003	3,634	0,035	29	3,625	0,009
	4,118	0,020	33	4,125	0,007	3,634	0,035	33	3,625	0,009
	4,118	0,020	36	4,115	0,003	3,634	0,035	36	3,620	0,014
	4,118	0,020	40	4,120	0,002	3,634	0,035	40	3,605	0,029
	4,118	0,020	43	4,125	0,007	3,634	0,035	43	3,605	0,029
9	4,300	0,020	1	4,310	0,010	2,977	0,035	1	2,990	0,013
	4,300	0,020	8	4,310	0,010	2,977	0,035	8	3,005	0,028
	4,300	0,020	15	4,320	0,020	2,977	0,035	15	2,995	0,018
	4,300	0,020	22	4,310	0,010	2,977	0,035	22	2,990	0,013
	4,300	0,020	29	4,320	0,020	2,977	0,035	29	2,950	0,027
	4,300	0,020	33	4,315	0,015	2,977	0,035	33	2,945	0,032
	4,300	0,020	36	4,320	0,020	2,977	0,035	36	2,950	0,027

	4,300	0,020	40	4,325	0,025	2,977	0,035	40	2,940	0,037
	4,300	0,020	43	4,330	0,030	2,977	0,035	43	2,940	0,037
10	4,534	0,030	1	4,560	0,026	3,417	0,040	1	3,435	0,018
	4,534	0,030	8	4,545	0,011	3,417	0,040	8	3,445	0,028
	4,534	0,030	15	4,555	0,021	3,417	0,040	15	3,435	0,018
	4,534	0,030	22	4,550	0,016	3,417	0,040	22	3,435	0,018
	4,534	0,030	29	4,555	0,021	3,417	0,040	29	3,400	0,017
	4,534	0,030	33	4,560	0,026	3,417	0,040	33	3,400	0,017
	4,534	0,030	36	4,555	0,021	3,417	0,040	36	3,405	0,012
	4,534	0,030	40	4,545	0,011	3,417	0,040	40	3,410	0,007
	4,534	0,030	43	4,560	0,026	3,417	0,040	43	3,400	0,017
11	4,864	0,030	1	4,870	0,006	3,200	0,040	1	3,215	0,015
	4,864	0,030	8	4,870	0,006	3,200	0,040	8	3,225	0,025
	4,864	0,030	15	4,875	0,011	3,200	0,040	15	3,220	0,020
	4,864	0,030	22	4,875	0,011	3,200	0,040	22	3,220	0,020
	4,864	0,030	29	4,860	0,004	3,200	0,040	29	3,185	0,015
	4,864	0,030	33	4,855	0,009	3,200	0,040	33	3,170	0,030
	4,864	0,030	36	4,860	0,004	3,200	0,040	36	3,180	0,020
	4,864	0,030	40	4,875	0,011	3,200	0,040	40	3,170	0,030
	4,864	0,030	43	4,895	0,031	3,200	0,040	43	3,170	0,030

Lote "G" - Azida de sodio - Materia grasa						Lote "G" - Azida de sodio - Proteína				
N° de Muestra	X _{MRC}	u _{MRC}	Tiempo (días)	Promedio	X _{MRC} -X _{meas}	X _{MRC}	u _{MRC}	Tiempo (días)	Promedio	X _{MRC} -X _{meas}
1	2,027	0,025	1	2,010	0,017	3,647	0,040	1	3,635	0,012
	2,027	0,025	8	2,005	0,022	3,647	0,040	8	3,645	0,002
	2,027	0,025	15	2,010	0,017	3,647	0,040	15	3,640	0,007
	2,027	0,025	22	2,005	0,022	3,647	0,040	22	3,645	0,002
	2,027	0,025	29	2,020	0,007	3,647	0,040	29	3,630	0,017
	2,027	0,025	36	2,020	0,007	3,647	0,040	36	3,625	0,022
	2,027	0,025	43	2,015	0,012	3,647	0,040	43	3,635	0,012
	2,027	0,025	47	2,010	0,017	3,647	0,040	47	3,640	0,007
	2,027	0,025	50	2,010	0,017	3,647	0,040	50	3,635	0,012
	2,027	0,025	54	2,020	0,007	3,647	0,040	54	3,650	0,003
	2,027	0,025	57	2,010	0,017	3,647	0,040	57	3,645	0,002
2	2,340	0,025	1	2,325	0,015	3,155	0,040	1	3,170	0,015
	2,340	0,025	8	2,320	0,020	3,155	0,040	8	3,170	0,015
	2,340	0,025	15	2,335	0,005	3,155	0,040	15	3,160	0,005
	2,340	0,025	22	2,330	0,010	3,155	0,040	22	3,160	0,005
	2,340	0,025	29	2,350	0,010	3,155	0,040	29	3,130	0,025
	2,340	0,025	36	2,340	0,000	3,155	0,040	36	3,130	0,025
	2,340	0,025	43	2,345	0,005	3,155	0,040	43	3,125	0,030
	2,340	0,025	47	2,355	0,015	3,155	0,040	47	3,125	0,030
	2,340	0,025	50	2,343	0,003	3,155	0,040	50	3,135	0,020
	2,340	0,025	54	2,315	0,025	3,155	0,040	54	3,160	0,005
	2,340	0,025	57	2,290	0,050	3,155	0,040	57	3,140	0,015
3	2,720	0,020	1	2,705	0,015	3,388	0,035	1	3,390	0,002
	2,720	0,020	8	2,700	0,020	3,388	0,035	8	3,385	0,003
	2,720	0,020	15	2,705	0,015	3,388	0,035	15	3,395	0,007

	2,720	0,020	22	2,710	0,010	3,388	0,035	22	3,390	0,002
	2,720	0,020	29	2,715	0,005	3,388	0,035	29	3,365	0,023
	2,720	0,020	36	2,705	0,015	3,388	0,035	36	3,375	0,013
	2,720	0,020	43	2,715	0,005	3,388	0,035	43	3,370	0,018
	2,720	0,020	47	2,720	0,000	3,388	0,035	47	3,370	0,018
	2,720	0,020	50	2,715	0,005	3,388	0,035	50	3,375	0,013
	2,720	0,020	54	2,735	0,015	3,388	0,035	54	3,375	0,013
	2,720	0,020	57	2,725	0,005	3,388	0,035	57	3,380	0,008
4	3,097	0,025	1	3,075	0,022	3,447	0,040	1	3,445	0,002
	3,097	0,025	8	3,080	0,017	3,447	0,040	8	3,470	0,023
	3,097	0,025	15	3,080	0,017	3,447	0,040	15	3,455	0,008
	3,097	0,025	22	3,090	0,007	3,447	0,040	22	3,460	0,013
	3,097	0,025	29	3,085	0,012	3,447	0,040	29	3,435	0,012
	3,097	0,025	36	3,080	0,017	3,447	0,040	36	3,440	0,007
	3,097	0,025	43	3,085	0,012	3,447	0,040	43	3,440	0,007
	3,097	0,025	47	3,100	0,003	3,447	0,040	47	3,460	0,013
	3,097	0,025	50	3,085	0,012	3,447	0,040	50	3,435	0,012
	3,097	0,025	54	3,105	0,008	3,447	0,040	54	3,465	0,018
	3,097	0,025	57	3,080	0,017	3,447	0,040	57	3,455	0,008
5	3,388	0,025	1	3,380	0,008	3,921	0,040	1	3,905	0,016
	3,388	0,025	8	3,380	0,008	3,921	0,040	8	3,920	0,001
	3,388	0,025	15	3,390	0,002	3,921	0,040	15	3,905	0,016
	3,388	0,025	22	3,390	0,002	3,921	0,040	22	3,910	0,011
	3,388	0,025	29	3,405	0,017	3,921	0,040	29	3,900	0,021
	3,388	0,025	36	3,380	0,008	3,921	0,040	36	3,910	0,011
	3,388	0,025	43	3,410	0,022	3,921	0,040	43	3,900	0,021
	3,388	0,025	47	3,395	0,007	3,921	0,040	47	3,915	0,006
	3,388	0,025	50	3,370	0,018	3,921	0,040	50	3,915	0,006
	3,388	0,025	54	3,410	0,022	3,921	0,040	54	3,925	0,004
	3,388	0,025	57	3,410	0,022	3,921	0,040	57	3,905	0,016
6	3,637	0,025	1	3,645	0,008	3,744	0,040	1	3,710	0,034
	3,637	0,025	8	3,640	0,003	3,744	0,040	8	3,730	0,014
	3,637	0,025	15	3,650	0,013	3,744	0,040	15	3,732	0,012
	3,637	0,025	22	3,650	0,013	3,744	0,040	22	3,725	0,019
	3,637	0,025	29	3,650	0,013	3,744	0,040	29	3,720	0,024
	3,637	0,025	36	3,650	0,013	3,744	0,040	36	3,715	0,029
	3,637	0,025	43	3,660	0,023	3,744	0,040	43	3,710	0,034
	3,637	0,025	47	3,670	0,033	3,744	0,040	47	3,725	0,019
	3,637	0,025	50	3,670	0,033	3,744	0,040	50	3,725	0,019
	3,637	0,025	54	3,680	0,043	3,744	0,040	54	3,725	0,019
	3,637	0,025	57	3,670	0,033	3,744	0,040	57	3,710	0,034
7	3,792	0,025	1	3,790	0,002	3,404	0,040	1	3,385	0,019
	3,792	0,025	8	3,780	0,012	3,404	0,040	8	3,390	0,014
	3,792	0,025	15	3,780	0,012	3,404	0,040	15	3,395	0,009
	3,792	0,025	22	3,780	0,012	3,404	0,040	22	3,385	0,019
	3,792	0,025	29	3,795	0,003	3,404	0,040	29	3,370	0,034
	3,792	0,025	36	3,785	0,007	3,404	0,040	36	3,370	0,034
	3,792	0,025	43	3,770	0,022	3,404	0,040	43	3,370	0,034
	3,792	0,025	47	3,785	0,007	3,404	0,040	47	3,375	0,029
	3,792	0,025	50	3,770	0,022	3,404	0,040	50	3,370	0,034

	3,792	0,025	54	3,780	0,012	3,404	0,040	54	3,380	0,024
	3,792	0,025	57	3,845	0,053	3,404	0,040	57	3,360	0,044
8	4,118	0,020	1	4,120	0,002	3,634	0,035	1	3,625	0,009
	4,118	0,020	8	4,100	0,018	3,634	0,035	8	3,640	0,006
	4,118	0,020	15	4,115	0,003	3,634	0,035	15	3,630	0,004
	4,118	0,020	22	4,110	0,008	3,634	0,035	22	3,635	0,001
	4,118	0,020	29	4,120	0,002	3,634	0,035	29	3,605	0,029
	4,118	0,020	36	4,120	0,002	3,634	0,035	36	3,615	0,019
	4,118	0,020	43	4,120	0,002	3,634	0,035	43	3,615	0,019
	4,118	0,020	47	4,105	0,013	3,634	0,035	47	3,605	0,029
	4,118	0,020	50	4,105	0,013	3,634	0,035	50	3,620	0,014
	4,118	0,020	54	4,135	0,017	3,634	0,035	54	3,635	0,001
	4,118	0,020	57	4,140	0,022	3,634	0,035	57	3,595	0,039
9	4,300	0,020	1	4,310	0,010	2,977	0,035	1	2,990	0,013
	4,300	0,020	8	4,305	0,005	2,977	0,035	8	3,000	0,023
	4,300	0,020	15	4,315	0,015	2,977	0,035	15	2,990	0,013
	4,300	0,020	22	4,315	0,015	2,977	0,035	22	3,000	0,023
	4,300	0,020	29	4,310	0,010	2,977	0,035	29	2,955	0,022
	4,300	0,020	36	4,315	0,015	2,977	0,035	36	2,955	0,022
	4,300	0,020	43	4,320	0,020	2,977	0,035	43	2,965	0,012
	4,300	0,020	47	4,280	0,020	2,977	0,035	47	2,960	0,017
	4,300	0,020	50	4,310	0,010	2,977	0,035	50	2,945	0,032
	4,300	0,020	54	4,315	0,015	2,977	0,035	54	2,985	0,008
	4,300	0,020	57	4,305	0,005	2,977	0,035	57	2,975	0,002
10	4,534	0,030	1	4,555	0,021	3,417	0,040	1	3,410	0,007
	4,534	0,030	8	4,550	0,016	3,417	0,040	8	3,425	0,008
	4,534	0,030	15	4,535	0,001	3,417	0,040	15	3,430	0,013
	4,534	0,030	22	4,520	0,014	3,417	0,040	22	3,425	0,008
	4,534	0,030	29	4,550	0,016	3,417	0,040	29	3,385	0,032
	4,534	0,030	36	4,535	0,001	3,417	0,040	36	3,395	0,022
	4,534	0,030	43	4,535	0,001	3,417	0,040	43	3,400	0,017
	4,534	0,030	47	4,525	0,009	3,417	0,040	47	3,410	0,007
	4,534	0,030	50	4,555	0,021	3,417	0,040	50	3,385	0,032
	4,534	0,030	54	4,540	0,006	3,417	0,040	54	3,430	0,013
	4,534	0,030	57	4,550	0,016	3,417	0,040	57	3,410	0,007
11	4,864	0,030	1	4,850	0,014	3,200	0,040	1	3,200	0,000
	4,864	0,030	8	4,860	0,004	3,200	0,040	8	3,215	0,015
	4,864	0,030	15	4,870	0,006	3,200	0,040	15	3,210	0,010
	4,864	0,030	22	4,865	0,001	3,200	0,040	22	3,205	0,005
	4,864	0,030	29	4,875	0,011	3,200	0,040	29	3,180	0,020
	4,864	0,030	36	4,875	0,011	3,200	0,040	36	3,180	0,020
	4,864	0,030	43	4,865	0,001	3,200	0,040	43	3,185	0,015
	4,864	0,030	47	4,885	0,021	3,200	0,040	47	3,185	0,015
	4,864	0,030	50	4,860	0,004	3,200	0,040	50	3,180	0,020
	4,864	0,030	54	4,900	0,036	3,200	0,040	54	3,210	0,010
	4,864	0,030	57	4,820	0,044	3,200	0,040	57	3,170	0,030