

**VALIDACIÓN DEL MÉTODO POTENCIOMÉTRICO DEL ION SELECTIVO
PARA LA DETERMINACIÓN DE FLUOR Y YODO EN SAL DE CONSUMO
HUMANO**

JULIO CÉSAR RANGEL PRADA

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUIMICA
BUCARAMANGA
2005**

**VALIDACIÓN DEL MÉTODO POTENCIOMÉTRICO DEL ION SELECTIVO
PARA LA DETERMINACIÓN DE FLUOR Y YODO EN SAL DE CONSUMO
HUMANO**

JULIO CÉSAR RANGEL PRADA

Trabajo de Grado para optar por el título de: Químico

Director:

JOSE CARLOS GUTIERREZ

Químico, MSc.

Codirector:

LUIS MARTIN MENDIETA

Químico, MSc.

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE QUIMICA

BUCARAMANGA

2005

Quiero agradecer a Dios y a la Santísima Virgen por todas las bendiciones recibidas durante el transcurso de mi carrera, agradecerles por darme la oportunidad de tener una familia excelente que me han apoyado en todos los momentos de mi vida, agradecerles también por haberme brindado la gran oportunidad de conocer gente maravillosa que de alguna u otra manera han colaborado en el crecimiento tanto personal, social y académico, mis amigos. También quiero agradecer al Doctor Jorge Gomez Duarte por sus grandes esfuerzos para que este proyecto se llevara a cabo y a todo el personal técnico y administrativo de Laboratorio Departamental de Salud Pública de Santander.

Muchas gracias por todo.

JULIO CESAR RANGEL PRADA

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCION	1
1. ESTADO DEL ARTE	4
1.1 SAL GEMA (NaCl)	5
1.2 SAL PARA EL CONSUMO HUMANO	10
1.2.1 YODO	12
1.2.2 FLUOR	13
1.3 ISO/IEC 17025:2000	14
1.3.1 General	15
1.3.2 Métodos no normalizados	15
1.3.3 Validación de métodos	15
1.3.4 Estimación de la incertidumbre de medición.	16
1.4 ACREDITACIÓN DE LABORATORIOS	17
1.5 MÉTODO POTENCIOMÉTRICO DE IÓN SELECTIVO	18
1.5.1 ANALIZADOR DE IONES ORION EA-940	21
1.6 VALIDACION DE TECNICAS ANALÍTICAS	22
1.6.1 Selectividad	25
1.6.2 Linealidad en el intervalo de aplicación	25
1.6.3 Intervalo de trabajo e intervalo lineal	25
1.6.4 Intervalo validado	26
1.6.5 Recuperación	27
1.6.6 Limite de cuantificación	27
1.6.7 Limite de detección	28
1.6.8 Sensibilidad	28
1.6.9 Robustez	28
1.6.10 Sesgo	29
1.6.10.1 Sesgo (Laboratorio)	29
1.6.10.2 Sesgo (Método)	29
1.6.11 Exactitud	29
1.6.12 Veracidad	30
1.6.13 Precisión	30
1.6.14 Incertidumbre de medición	31
1.7 GRADO DE VALIDACION	32
1.7.1 Validación Prospectiva	33
1.7.2 Validación Retrospectiva	34
1.7.3 Revalidación	34
1.8 TRAZABILIDAD	34
1.9 ANOVA (Analysis of Variance)	35
2. METODOLOGÍA	38
2.1 PREVALIDACIÓN	38

2.1.1	Calibración de la balanza	38
2.1.2	Calibración del material volumétrico	38
2.1.3	Curva de calibración	38
2.1.3.1	Intervalo lineal	40
2.1.3.2	Límite de detección del método	40
2.1.3.3	Límite de cuantificación	40
2.1.3.4	Intervalo de validación	41
2.1.3.5	Sensibilidad	41
2.2	VALIDACIÓN	41
2.2.1	Precisión	43
2.2.1.1	Precisión intermedias de series diferentes	43
2.2.2	Trazabilidad.	46
2.2.3	Incertidumbre.	48
2.2.1.1	Incertidumbre del procedimiento.	49
2.2.1.2	Incertidumbre de la verificación de la trazabilidad.	50
2.2.1.3	Cálculo de la incertidumbre de la recuperación del método	51
2.2.1.4	Calculo de la incertidumbre total	52
2.3	ENSAYO DE APTITUD	52
3.	RESULTADOS Y ANÁLISIS	54
3.1	PREVALIDACION	54
3.1.1	Calibración de la balanza	54
3.1.2	Calibración del material volumétrico	54
3.1.3	intervalo lineal	56
3.1.4	Sensibilidad	59
3.1.5	Límite de detección y límite de cuantificación	62
3.2	VALIDACIÓN	64
3.2.1	Estudios de precisión	65
3.2.1.1	Análisis de fluor	65
3.2.1.2	Análisis de yodo	73
3.2.2	Veracidad	80
3.2.2.1	Sesgo proporcional	81
3.2.2.2	Recuperación del método	81
3.2.2.2.1	Análisis de fluor	82
3.2.2.2.2	Análisis de yodo	85
3.3	ESTIMACIÓN DE LOS COMPONENTES DE LA INCERTIDUMBRE	88
3.3.1	Análisis de fluor	88
3.3.1.1	Incertidumbre del procedimiento.	88
3.3.1.2	Incertidumbre de la verificación de la trazabilidad.	88
3.3.1.3	Incertidumbre de la recuperación	90
3.3.1.4	Incertidumbre total	92
3.3.2	Análisis de yodo	93
3.3.2.1	Incertidumbre del procedimiento.	93
3.3.2.2	Incertidumbre de la verificación de la trazabilidad.	94
3.3.2.3	Incertidumbre de la recuperación	96

3.3.2.4	Incertidumbre de los resultados	96
3.3.2.5	Incertidumbre total	97
3.3.2.6	Incertidumbre de los resultados	98
3.4	Ensayos de aptitud	99
3.3.3	Análisis de fluor	99
3.3.3.5	Preparación de la muestra	101
3.3.4	Análisis de yodo	102
3.3.4.5	Preparación de la muestra	103
4. CONCLUSIONES		104
5. RECOMENDACIONES		107
BIBLIOGRAFIA		109
ANEXOS		

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1.	Principales productores de sal	7
Figura 2.	Poblaciones Colombianas explotadoras de sal	8
Figura 3.	Producción de las salinas colombianas	9
Figura 4.	Orion EA-940. Analizador de Iones Específicos	21
Figura 5.	Lote patrón para la validación	42
Figura 6.	Disposición de los factores concentración, día y replicado del diseño anidado.	43
Figura 7.	Diseño anidado de dos factores para calcular la recuperación utilizando n muestras adicionadas.	46
Figura 8.	Recta de adiciones estándar. La pendiente de la recta corresponde a la recuperación del método.	48
Figura 9.	Curva de calibración del material volumétrico.	55
Figura 10.	Curva de calibración promedio para determinar el rango lineal en el análisis de fluor.	57
Figura 11.	Curva de calibración promedio para determinar el rango lineal en el análisis de yodo.	59
Figura 12.	Gráfica para la determinación de la sensibilidad promedio del método en el análisis de fluor.	60
Figura 13.	Gráfica para la determinación de la sensibilidad promedio del método en el análisis de yodo.	61
Figura 14.	Curva de calibración promedio para el estudio de la recuperación del método en el análisis de fluor.	84
Figura 15.	Curva de calibración promedio para el estudio de la recuperación del método en el análisis de yodo.	87

Figura 16.	Curva de calibración	100
Figura 17.	Curva de calibración	102

LISTA DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1.	Requisitos generales para sal de consumo humano.	11
Tabla 2.	Análisis de varianza ANOVA, para el diseño anidado-precisión.	44
Tabla 3.	Cálculo de las varianzas para el diseño anidado – Precisión.	45
Tabla 4.	Tabla ANOVA para calcular la incertidumbre del procedimiento a partir del diseño experimental de la figura 7.	49
Tabla 5.	Cálculo de la varianza de la precisión intermedia a partir del ANOVA de la tabla 5.	49
Tabla 6.	Datos de la calibración del material volumétrico.	55
Tabla 7.	Datos promedio de las tres curvas de calibración en la determinación del rango lineal en el análisis de fluor.	57
Tabla 8.	Datos promedio de las tres curvas de calibración en la determinación del rango lineal en el análisis de yodo.	58
Tabla 9.	Datos para el estudio de la sensibilidad del método en el análisis de fluor.	60
Tabla 10.	Datos para el estudio de la sensibilidad del método en el análisis de yodo.	61
Tabla 11.	Datos alcanzados para el cálculo del límite de detección y de cuantificación en el análisis de fluor.	63
Tabla 12.	Datos alcanzados para el cálculo del límite de detección y de cuantificación en el análisis de yodo.	64
Tabla 13.	Datos de voltaje obtenidos en el estudio de precisión del método para un estándar de 1ppm.	65

Tabla 14.	Concentraciones de cada uno de los valores de voltaje para el estándar de 1 ppm.	66
Tabla 15.	Datos de voltaje obtenidos en el estudio de precisión del método para un estándar de 5 ppm.	67
Tabla 16.	Concentraciones de cada uno de los valores de voltaje para el estándar de 5 ppm.	68
Tabla 17.	Reproducibilidad para el análisis de fluor	69
Tabla 18.	Valores del ANOVA para el estudio de la precisión del método.	70
Tabla 19.	Test de hipótesis y prueba de la F para el análisis de fluor	71
Tabla 20.	Test de hipótesis y prueba de la F en términos de reproducibilidad y repetibilidad.	72
Tabla 21.	Datos de voltaje obtenidos en el estudio de precisión del método para un estándar de 0.5 ppm.	73
Tabla 22.	Concentraciones de cada uno de los valores de voltaje para el estándar de 0.5 ppm.	74
Tabla 23.	Datos de voltaje obtenidos en el estudio de precisión del método para un estándar de 4.5 ppm.	75
Tabla 24.	Concentraciones de cada uno de los valores de voltaje para el estándar de 4.5 ppm.	76
Tabla 25.	Reproducibilidad para el análisis de yodo	77
Tabla 26.	Valores del ANOVA para el estudio de la precisión del método.	78
Tabla 27.	Test de hipótesis y prueba de la F para el análisis de yodo	79
Tabla 28.	Test de hipótesis y prueba de la F en términos de reproducibilidad y repetibilidad.	80
Tabla 29.	Datos revelados en el estudio de la veracidad para el análisis de fluor.	82

Tabla 30.	Concentraciones de los estándares para el análisis de fluor.	83
Tabla 31.	Datos revelados en el estudio de la veracidad para el análisis de yodo.	85
Tabla 32.	Concentraciones de los estándares para el análisis de yodo	86
Tabla 33.	Calculo de la incertidumbre del procedimiento para el análisis de fluor.	88
Tabla 34.	Residuales calculados para el análisis de fluor.	89
Tabla 35.	Calculo de la incertidumbre de la verificación de la trazabilidad para el análisis de fluor.	90
Tabla 36.	Incertidumbres de la recuperación análisis de fluor	91
Tabla 37.	Incertidumbre de los resultados para el análisis de fluor	92
Tabla 38.	Calculo de las incertidumbres totales para el análisis de fluor.	93
Tabla 39.	Calculo de la incertidumbre del procedimiento para el análisis de yodo.	94
Tabla 39.	Residuales calculados para el análisis de yodo.	94
Tabla 40.	Calculo de la incertidumbre de la verificación de la trazabilidad para el análisis de yodo.	95
Tabla 41.	Incertidumbre en la recuperación del análisis de yodo	96
Tabla 42.	Incertidumbre de los resultados para el análisis de fluor	97
Tabla 43.	Calculo de las incertidumbres totales para el análisis de yodo.	98
Tabla 44.	Incertidumbre de los resultados para el análisis de fluor	99
Tabla 45.	Datos para la curva de calibración ensayo interlaboratorios análisis de fluor.	100
Tabla 46.	Resultados de los análisis de las tres muestras.	101

RESUMEN

TITULO

VALIDACIÓN DEL MÉTODO POTENCIOMÉTRICO DEL ION SELECTIVO PARA LA DETERMINACIÓN DE FLUOR Y YOD EN SAL DE CONSUMO HUMANO*

AUTOR

JULIO CÉSAR RANGEL PRADA**

PALABRAS CLAVES

Fluor; Yodo; método potenciométrico; prevalidación; validación; componentes de la incertidumbre.

DESCRIPCIÓN

La malnutrición y las deficiencias de micronutrientes son problemas serios en nuestro país por el impacto que ocasionan sobre la salud y el bienestar de la población colombiana. Por tal razón, el gobierno Colombiano optó por la fortificación de aquellos alimentos de consumo masivo en nuestro país. Uno de estos alimentos es la sal, que actualmente se viene fortificando con fluor y yodo, previniendo la deficiencia de estos micronutrientes en los sectores más vulnerables de Colombia.

Para dar cumplimiento a la norma ISO 17025 "*Requisitos generales relativos a la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración*", el laboratorio validó todas las técnicas analíticas que allí se utilizan, ya que los resultados que se estaban emitiendo no gozaban de una alta confiabilidad, presentándose problemas en los análisis que se efectuaban. Una de estas es el método potenciométrico para la determinación de fluor y yodo en sal de consumo humano.

Antes de realizar la validación, se ejecutó la prevalidación o la determinación de los parámetros como el límite de detección y cuantificación, la sensibilidad, rango lineal y rango de trabajo. Esto se realizó con el fin de saber el comportamiento del equipo.

En los estudios de validación se analizó la precisión (repetibilidad y reproducibilidad) y exactitud o veracidad (recuperación del método y sesgo proporcional). Los resultados que se obtuvieron fueron confiables haciéndolo un método muy preciso y exacto, confiando de esta forma en la emisión de resultados posteriores.

Análisis como el cálculo de los componentes de la incertidumbre y ensayos de aptitud ejecutados por el INVIMA, fueron los posteriores una vez terminado la validación del método.

* Tesis de Grado

** Facultad de Ciencias, Programa de Química, Directores: José Carlos Gutiérrez y Martín Mendieta

SUMMARY

TITLE

VALIDATION OF POTENCIOMETRIC METHOD OF THE SELECTIVE ION FOR THE DETERMINATION OF FLUORINE AND IODINE IN SALT HUMAN CONSUMPTION*

AUTHOR

JULIO CESAR RANGEL PRADA**

KEY WORDS

Fluorine; Iodine; Potenciometric method; prevalidation; Validation; components of the uncertainty.

DESCRIPTION

The bad nutrition and the micronutrients deficiencies are serious problems in our country for the impact that cause them about the health and the Colombian population's well-being. For such a reason, the Colombian government opted for the fortification of those foods of massive consumption in our country. One of these foods is the salt at the moment one comes fortifying with fluorine and iodine, preventing the deficiency of these micronutrients in the most vulnerable sectors in Colombia.

To give execution to the norm ISO 17025 "General Requirements for the competence of testing and calibration laboratories", the laboratory validated all the analytic techniques there are used, since the results were emitting they didn't enjoy a high dependability, being presented problems in the analyses that were made. One of these it is the potentiometric method for the determination of fluorine and iodine in salt of human consumption.

Before carrying out the validation, it was executed the prevalidation or the determination of the parameters like the detection limit and quantification, the sensibility, lineal range and work range. This was carried out with the purpose of knowing the behaviour of the equipment.

In the validation studies the precision was analyzed (repeatability and reproducibility) and accuracy or truthfulness (recovery of the method and proportional bias). The results obtained were reliable making it a very precise and exact method, trusting this way the emission of later results.

Analysis like the calculation of the components of the uncertainty and aptitude testing executed by the INVIMA, they were once the later ones finished the validation of the method.

* Undergraduate.

** Faculty of Science, Program of Chemical, Directors: José Carlos Mendieta

Gutiérrez y Martín

INTRODUCCION

El hambre, la desnutrición y las deficiencias de micronutrientes son problemas serios en nuestro país por el impacto que ocasionan sobre la salud y el bienestar de la población colombiana, ya que se encuentran ligados a los factores políticos, sociales y económicos que condicionan la prevalencia de estos problemas. Sin embargo, desde el punto de vista preventivo nutricional y de promoción de la salud, la estrategia de fortificación de alimentos de consumo habitual y la suplementación de nutrientes específicos que son deficitarios en la población, constituye un método eficaz y de bajo costo para mejorar la nutrición y corregir las deficiencias de micronutrientes. En consecuencia, es necesario atender e incrementar la producción, el consumo y garantizar que la gente cuente con un acceso adecuado de cantidades apropiadas de alimentos inocuos y de buena calidad, para que tengan una alimentación nutritiva. Esto no sólo incluye el consumo de energía, proteínas, grasas, vitaminas, sino también de micronutrientes necesarios para el crecimiento y el desarrollo normal.

Los micronutrientes tradicionalmente no han sido estudiados de manera exhaustiva en la mayoría de alimentos en el mundo y de igual forma en el país, debido a que las cantidades que se necesitan de estos elementos para el buen funcionamiento del cuerpo humano son muy pequeñas (mg/Kg) y las consecuencias del déficit de estos son difíciles de detectar. Hoy en día este pensamiento tiende a cambiar, por que hay estudios que reflejan que las deficiencias de estos elementos son significativas en el desarrollo de un país. En este sentido, la FAO ha hecho un llamado a las naciones, para generar instrumentos que permitan evaluar los sistemas de alimentación tradicionales de las poblaciones. Para ello es necesario tener consideraciones especiales para realizar con éxito estudios alimentarios y actividades de promoción de la

salud entre las poblaciones que tienen sus propios sistemas de alimentación. Estas estrategias de fomento deben ser el resultado de un trabajo mancomunado entre el estado, la academia y los agricultores para proveer a la comunidad datos sobre los nutrientes más básicos para una adecuada alimentación.

Debido al déficit de micronutrientes que se presenta a nivel mundial, se han divulgado estrategias como lo es la fortificación de los alimentos con micronutrientes importantes para la dieta humana.

En Colombia, se vienen fortificando alimentos de consumo masivo como la harina de trigo (con tiamina, riboflavina, niacina, ácido fólico, hierro y calcio), y la sal de consumo humano (con yodo y fluor), como estrategias para reducir la deficiencia de estos micronutrientes y contribuir a mejorar la dieta nutricional de toda la población.

Es función del Instituto de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) y Secretarías Departamentales de Salud en nombre del estado, garantizar el control y la vigilancia del correcto proceso de fortificación de los alimentos mediante el uso de sus laboratorios previamente acreditados, utilizando técnicas analíticas validadas que conlleven a un óptimo control de la calidad de los alimentos.

En nuestro departamento, El Laboratorio Departamental de Salud Pública específicamente el Laboratorio de Alimentos en busca del proceso de mejoramiento continuo esta desarrollando un sistema de aseguramiento de la calidad, operado a través del trabajo conjunto de todos los funcionarios. Dentro de este proceso es pilar fundamental la validación de las técnicas analíticas de acuerdo con los requerimientos de la Norma Técnica Colombiana NTC ISO 17025 en lo relacionado a la acreditación de

laboratorios, de tal suerte que las pruebas utilizadas cumplan con los diferentes requisitos establecidos para estas.

Una de las técnicas primordiales a validar es el método potenciométrico para la determinación de yodo y fluor en sal de consumo humano, objetivo primordial del presente proyecto. Iniciando al laboratorio en su proceso de acreditación, de tal forma que garantice de que los procesos de control que allí se realizan están en conformidad con los requisitos descritos por la ley.

1. ESTADO DEL ARTE

El término "micronutrientes" se refiere a las vitaminas y minerales cuyo requerimiento diario es relativamente pequeño pero indispensable para los diferentes procesos bioquímicos y metabólicos del organismo y en consecuencia para el buen funcionamiento del cuerpo humano. Unos de los más importantes micronutrientes son el yodo, el fluor, el hierro y la vitamina A, que son esenciales para el crecimiento físico, el desarrollo de las funciones cognitivas, fisiológicas y la resistencia a las infecciones. El hierro y la vitamina A se encuentran naturalmente en los alimentos. El yodo y fluor son adicionados a alimentos de consumo básico como la sal.

La presencia de deficiencias de estos micronutrientes afecta especialmente a madres y niños en áreas rurales y marginales de las grandes ciudades de los países en desarrollo, ya que durante la etapa de rápido crecimiento en los primeros años de vida y en ciertas situaciones fisiológicas, la ingestión de micronutrientes se debe aumentar o de lo contrario se pueden ver retardos en el crecimiento y enfermedades carenciales. A lo largo de estos períodos los síntomas de deficiencia son más notorios. Por esta razón, los niños en edad preescolar, los adolescentes y las mujeres en edad reproductiva, son grupos de alta prioridad para prevenir la malnutrición de micronutrientes. Estos problemas de malnutrición se relacionan íntimamente con factores biológicos, económicos, sociales, culturales y ecológicos. Por esta razón el consumo de nutrientes se debe analizar en función de los hábitos y prácticas alimentarias, la disponibilidad, el consumo de alimentos, el estado nutricional y problemas de salud en la población.

1.1 SAL GEMA (NaCl)

La sal es el producto final refinado constituido predominantemente por cloruro de sodio. Muy soluble en agua, abunda en la naturaleza formando grandes masas sólidas que generalmente se encuentra cristalizados en cubos de simetría regular o disuelta en el agua de mar y de algunos manantiales.

El consumo de sal mundial se concentra en 4 aplicaciones:

INDUSTRIA QUÍMICA DE BASE (58%)

- Obtención cloro (36%)
- Carbonato (19%)
- Usos diversos (3%)

ALIMENTACIÓN HUMANA (19%)

DESHIELO DE VÍAS PÚBLICAS (13%)

OTROS USOS (10%)

La sal para la alimentación humana es agregada a los alimentos para resaltar el sabor; como preservativo, aglutinante y aditivo para controlar la fermentación; para dar textura, desarrollar color y como agente deshidratador, ablandador e inhibidor de enzimas.

En forma particular, es usada en:

Carnes

La sal se agrega a las carnes procesadas para desarrollar el color en tocinos, jamones y otros productos. Inhibe el crecimiento de bacterias en los alimentos. Actúa como aglutinante en embutidos formando una gelatina constituida por carne, grasa y líquidos. Acentúa los sabores y ablanda las carnes.

Pan

Para controlar el grado de fermentación de las masas de los panes, para fortalecer el gluten (proteína elástica) y para mejorar el sabor.

Lácteos

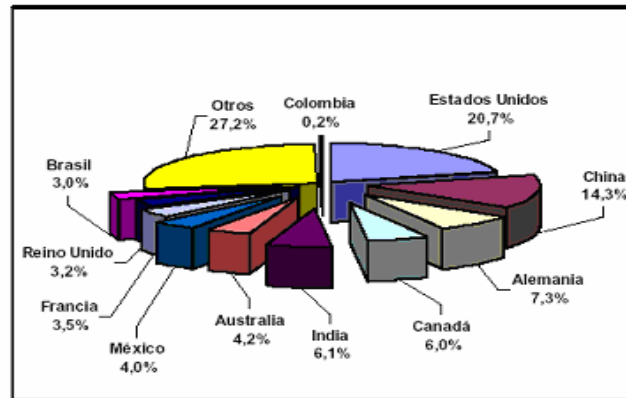
La sal se añade a los quesos, mantequillas y cremas para controlar la fermentación, color y textura y para mejorar los sabores.

Harinas

Este sector incluye tanto a los molinos de trigo y arroz como a los fabricantes de cereales y harinas especiales para repostería para realzar los sabores.

Los Estados Unidos y China son los mayores productores de sal en el mundo, actualmente se reportan 80 países productores de sal.

Figura 1. principales productores de sal.



En nuestro país, solo existen 4 poblaciones encargadas de la explotación de la sal, las cuales se clasifican por el tipo de explotación que experimentan:

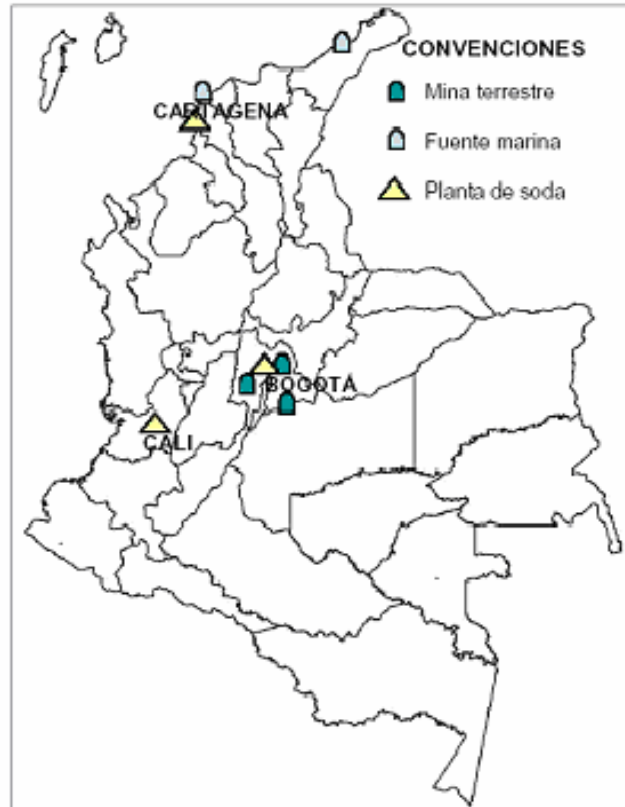
EXPLORACIÓN MARÍTIMA

- Manaure (Guajira)
- Galerazamba (Magdalena)

EXPLORACIÓN TERRESTRE

- Zipaquirá (Cundinamarca)
- Nemocón (Cundinamarca)
- Upín (Meta)

Figura 2. poblaciones Colombianas explotadoras de sal.



Manaure (Guajira), es la población con la mayor producción de sal en nuestro país con un 63.1% de la producción total y un 95% de la producción de sal por medio de la explotación marítima. La salina de Manaure principalmente comercializa su producto para ser utilizado en la industria alimenticia y química.

Las otras salinas se especializan así:

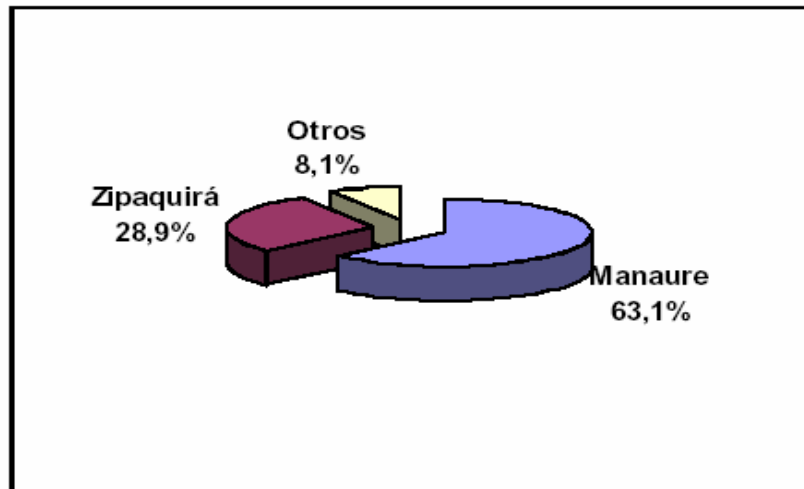
Galerazamba y Upín

- Consumo humano
- Consumo animal

Nemocón y Zipaquirá

- Consumo humano

Figura 3. producción de las salinas colombianas



Este alto porcentaje de producción de sal en Manaure se debe primordialmente a su cercanía con el mar Caribe, facilitando su explotación marítima y las exportaciones hacia Centroamérica, Norteamérica y los países fronterizos, sin embargo estas exportaciones son muy mínimas. Por tal razón el gobierno nacional está optando medidas como; Bajar el costo de producción de la sal grano, mejorar la calidad tecnificando el entorno donde están los cristalizadores y área de arrume, con vías de acceso y jarillones de sal o zonas verdes para evitar que la brisa contamine la sal con arena o tierra, cambiar la tecnología de lavado por una más eficiente para obtener un grano lavado con los mínimos niveles de residuos, calcio, sulfatos, magnesio e insolubles.

A pesar de que la explotación de sal genera regalías del 12% sobre el valor de la producción en mina, dichos recursos no están siendo invertidos en

proyectos de desarrollo municipal y departamental que deberían estar contenidos en los planes de desarrollo¹.

1.2 SAL PARA EL CONSUMO HUMANO

Según los decretos 2333 del 2 de agosto de 1982 y 1801 de julio 2 de 1985 expedidos en el gobierno de Belisario Betancourt la sal gema se clasifica como alimento, siempre y cuando cumpla con los requisitos establecidos en las anteriores prescripciones¹.

Debido a la deficiencia de micronutrientes como fluor y yodo en la población Colombiana, el gobierno nacional optó por la fortificación de la sal con dichos micronutrientes para disminuir el rango de insuficiencia de estos. Por tal motivo, la sal para consumo humano deberá contener YODO como yoduro en proporción de 50 a 100 partes por millón y FLUOR como fluoruro en proporción de 180 a 220 partes por millón. Además deberá cumplir con los siguientes requisitos¹.

TABLA 1. Requisitos generales para sal de consumo humano.

REQUISITOS	LIMITE	
	MÍNIMO	MÁXIMO
Contenido cloruro de sodio, expresado como Na, Cl, % m/m base seca		99,00
Contenido de Humedad entre 100°C y 110°C % m/m		0,20
Contenido de sulfatos, expresado como SO ₄ ⁼ en mg/kg		2800
Contenido de calcio, expresado como Ca ⁺² en mg/kg		1000
Contenido de magnesio, expresado como Mg ⁺² en mg/kg		800
Otros insolubles en agua, en mg/kg		1600
CONTAMINANTES		
Plomo en mg/kg		1
Arsénico en mg/kg		1
GRANULOMETRÍA		
Pasa Malla 20		80.00
Pasa Malla 70		20.00

Sin perjuicio de la competencia atribuida a otras autoridades, corresponde al Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, INVIMA, a las Direcciones Seccionales, Distritales y Municipales de Salud y al Instituto Colombiano de Bienestar Familiar, ejercer la inspección, vigilancia, control, adoptar las acciones de prevención y de seguimiento para dar cumplimiento a lo dispuesto en el decreto 547 de 1996, velar por la calidad y el adecuado

uso de la sal para consumo humano, estableciendo una reglamentación de obligatorio cumplimiento y vigilancia en cuanto a las condiciones sanitarias y de calidad en los procesos de producción, fortificación, empaque y comercialización de dicho producto.¹

1.2.1 YODO

Forma parte de la hormona tiroidea, tiroxina y tri-yodotironina. El cuerpo del adulto contiene 10-50 ug de yodo, 70-90% del cual está en la glándula tiroidea, ligado a la tiroglobulina. Después de ingerido el yodo es absorbido en el intestino delgado y de allí pasa a la circulación para llegar a la glándula tiroidea y a otros tejidos que tienen la propiedad de almacenarlo.

Participa en la síntesis de hormona tiroidea la cual es indispensable para el desarrollo de procesos como la termorregulación, el metabolismo intermediario, la síntesis de proteínas, la reproducción, el crecimiento, el desarrollo y las funciones neuromusculares y hematopoyética.

Fuentes de yodo

Actualmente los suelos del planeta son muy pobres en yodo. Pueden ser fuente los pescados, mariscos y hortalizas cultivadas en suelos ricos en yodo. Desde que se reglamentó la yodización de la sal, ésta es la principal fuente.

Deficiencias

Produce bocio, debido a un aumento de tamaño de la glándula tiroidea como resultado del incremento en tamaño y número de células epiteliales en la glándula.

La deficiencia de yodo durante la gestación causa abortos y cretinismo, anomalía caracterizada por retardo mental severo, sordera, malformaciones, disminuyendo el rendimiento intelectual hasta en 10 a 15 puntos del

coeficiente intelectual y es la primera causa de retardo mental prevenible en el mundo.

Todos los países de la región han asumido el compromiso de alcanzar las metas propuestas de yodación universal de la sal para consumo humano, la erradicación de la deficiencia de yodo como problema de salud pública y, subsecuentemente su sostenibilidad.²

1.2.2 FLUOR

En 1989. Iniciación y distribución de la sal fluorurada en la República de Colombia.¹

El flúor como elemento esencial en la prevención, ingresa sistemáticamente a nivel humano y se fija en los huesos y dientes en su período de calcificación. Tópicamente se fija en el esmalte del diente en su etapa de remineralización por intercambio iónico con el medio salival. Los beneficios se observan en una disminución de la solubilidad del esmalte haciéndolo más resistente al ataque de las caries, o reduciéndola en un 60% si es absorbido por vía sistémica y en 30% si es por vía tópica.

El flúor en la sal de cocina debe ser monitoreado en sus niveles terapéuticos entre 180 a 220 ppm para conseguir los beneficios como protector contra la caries dental. La falta de control puede llevar a la población a niveles de toxicidad causando daño a la salud de los colombianos. La toxicidad aguda se produce por consumo accidental de una dosis igual o mayor a 2.5 gramos de sales de flúor la cual puede llevar al paciente a la muerte, la toxicidad crónica se produce como resultado de la ingesta acumulado de un período de 5 a 7 años por niveles superiores a 220 ppm, para el caso de la sal de cocina puede llevar al paciente a tener signos clínicos en el esmalte (fluorosis dental), caracterizado por una mancha de color blancuzco, una mancha amarilla café o pardo, con deterioro del diente, en contraste la ausencia del

flúor y aún en bajos niveles conlleva a caries dental y por tanto deterioro de la salud bucal y su predisposición a las caries dentales.

Para garantizar los beneficios del flúor en la salud bucal de la comunidad, es necesario cumplir estrictamente con la vigilancia epidemiológica del flúor, tanto a nivel de la ingesta en sal de cocina como en el nivel residual excretado por la población.³

1.3 ISO/IEC 17025:2000

Norma Internacional que establece los requisitos generales que un laboratorio tiene que cumplir para que se reconozca su competencia para realizar ensayos y/o calibraciones, incluyendo el muestreo para la obtención de su acreditación. Incluye los métodos normalizados, métodos no cubiertos por especificaciones normalizadas y métodos desarrollados por el laboratorio.

Esta Norma Internacional es aplicable a todos los laboratorios, independientemente de la cantidad de personal o la extensión del alcance las actividades de ensayo y/o calibración. Cuando un laboratorio no lleve a cabo una o más de las actividades cubiertas por esta Norma Internacional, tal como el muestreo y el diseño / desarrollo de nuevos métodos, los requisitos de dichas cláusulas no se aplican.

1.3.1 General

El laboratorio debe utilizar métodos y procedimientos apropiados para todas las calibraciones y/o ensayos considerados en su alcance. Estos incluyen muestreo, manipulación, transporte, almacenamiento y preparación de los objetos a ser ensayados y/o calibrados, y cuando sea apropiado, una

estimación de la incertidumbre de medición como también las técnicas estadísticas para análisis de los datos de ensayo y/o calibración.

1.3.2 Métodos no normalizados

Cuando sea necesario usar métodos no cubiertos por métodos normalizados, estos deben estar sujetos a un acuerdo con el cliente y deben incluir una especificación clara de los requisitos y de los objetivos del ensayo y/o calibración. **El método desarrollado debe ser validado apropiadamente antes de ser utilizado.**

1.3.3 Validación de métodos

1.3.3.1 La validación es la confirmación por examen y la provisión de evidencia objetiva que se cumple un requisito particular para un uso especificado.

1.3.3.2 El laboratorio debe validar los métodos no normalizados, los métodos diseñados / desarrollados por el laboratorio, métodos utilizados fuera de su alcance previsto y las ampliaciones y modificaciones de métodos normalizados para confirmar que los métodos son apropiados para el uso previsto. La validación debe ser tan extensa como sea necesaria para cumplir las necesidades del tipo o campo de aplicación dado. El laboratorio debe registrar los resultados obtenidos, el procedimiento empleado para la validación y una declaración si el método es adecuado para el uso previsto.

NOTA 38 La validación puede incluir procedimientos para el muestreo, manejo y transporte.

1.3.3.3 El rango y precisión de los valores obtenibles a partir de métodos validados (p. e. la incertidumbre de los resultados, el límite de detección, la selectividad del método, la linealidad, los límites de repetibilidad / reproducibilidad, robustez contra influencias externas y/o contra sensibilidad cruzada contra la interferencia de la matriz del objeto de muestra/ensayo)

NOTA 41 La validación incluye la especificación de requisitos, determinación de las características de los métodos, verificar que los requisitos pueden ser cumplidos usando el método, y una declaración de la validez.

NOTA 43 La validación es siempre un balance entre los costos, los riesgos y las posibilidades técnicas. Existen muchos casos en los cuales el rango y los valores de incertidumbre (p. e. precisión, límite de detección, selectividad, repetibilidad, reproducibilidad, robustez y sensibilidad cruzada) sólo pueden ser entregados de una manera simplificada debido a la falta de información.

1.3.4 Estimación de la incertidumbre de medición.

1.3.4.1 Los laboratorios de ensayo deben tener y aplicar procedimientos para estimar la incertidumbre de medición. En ciertos casos la naturaleza del método de ensayo puede prevenir un cálculo riguroso, metrológica y estadísticamente válido, de la incertidumbre de medición. En estos casos el laboratorio debe intentar al menos identificar todos los componentes de la incertidumbre y hacer una estimación razonable, y debe asegurar que la forma de reportar el resultado no dé una impresión equivocada de la incertidumbre. Una estimación razonable debe estar basada en el conocimiento del desempeño del método y en el alcance de la medición y debe hacer uso de, por ejemplo, experiencia previa y validación de datos.

1.3.4.2 Cuando se estima la incertidumbre de medición, todos los componentes de la incertidumbre que son de importancia en una situación dada deben ser tomados en cuenta usando métodos apropiados de análisis.

NOTA 46 Las fuentes que contribuyen a la incertidumbre incluyen, pero no están necesariamente limitadas a: los patrones de referencia y los materiales de referencia utilizados, los métodos y equipos utilizados, las condiciones ambientales, las propiedades y la condición del ítem ensayado o calibrado y el operador.⁴

1.4 ACREDITACIÓN DE LABORATORIOS

Existen en el mundo muchos planes de acreditación aplicados por entidades oficiales, organismos profesionales u otras organizaciones, habitualmente de alcance nacional o internacional. Estas entidades confieren un reconocimiento oficial de que un laboratorio es competente para llevar a cabo ensayos específicos (o tipos específicos de ensayos). A menudo un plan, obligatorio o voluntario, se aplica a un país, una región, una industria o un sector técnico en particular. A los laboratorios que participan en él se les exige que cumplan ciertos requisitos, y el organismo acreditador lleva a cabo evaluaciones para asegurar ese cumplimiento. La Organización Internacional de Normalización ha establecido en la Guía ISO 17025 las directrices para evaluar la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración que posteriormente han sido ampliadas por otras organizaciones.⁴

Para conseguir y mantener la acreditación, el laboratorio deberá cumplir los requisitos exigidos por el organismo acreditador con respecto a los tres elementos. A menudo se concede más importancia al hecho de asegurar una buena infraestructura técnica y administrativa en relación con la calidad que a la vigilancia estricta del grado de competencia científica y técnica alcanzado.

Esta última cuestión tiene que ver con la "idoneidad para el fin" que habrá de convenirse entre el laboratorio y el cliente, mientras que la primera se refiere a la confianza en los datos proporcionados.

Los programas de acreditación de laboratorios ofrecen varias ventajas: aumento de la fiabilidad de los resultados analíticos; economías financieras, dado que los resultados de un laboratorio pueden ser aceptados por otro sin el tiempo y el gasto suplementarios que entrañan los nuevos ensayos; aumento de la credibilidad, el reconocimiento y la categoría de los laboratorios aprobados; retroinformación a los grupos que preparan normas sobre la idoneidad de los métodos de ensayo, lo que puede redundar a su vez en un perfeccionamiento de los métodos de análisis.⁵

1.5 MÉTODO POTENCIOMÉTRICO DE IÓN SELECTIVO

Este método está basado en la diferencia de potencial que se desarrolla entre el electrodo sensor y el electrodo de referencia, ya que este es una medida de la actividad de la especie reactiva. Al variar la actividad de la especie reactiva en el electrodo sensor, también varía el potencial que se mide entre estos dos electrodos. Esta generación de corriente eléctrica mediante una reacción química o el empleo de la corriente eléctrica para causar la reacción, hace que las concentraciones de las especies involucradas cambien y esto conduce a un cambio en el potencial eléctrico del medio. Nernst propuso una relación matemática entre esas dos variables, ecuación que se deduce de las consideraciones termodinámicas en el sistema. Esta ecuación expresa la relación cuantitativa entre el potencial redox estándar de un par redox determinado, su potencial observado y la proporción de concentraciones entre el donador de electrones y el aceptor. La ecuación de Nernst se presenta como:

$$E = E^{\circ} - \frac{RT}{nF} \ln Q$$

Donde E° es el potencial redox estándar, E es el potencial de electrodo, R es la constante universal de los gases, $8.314 \text{ J} / \text{K} \cdot \text{mol}$, T es la temperatura del sistema en Kelvin, Q es el cociente de la reacción, n el número de e^{-} transferidos, F es la constante de Faraday, $9.6485 \cdot 10^4 \text{ C} / \text{mol}$, donde C es la corriente en Columbs.

El voltaje puede ser expresado como el cociente entre la energía en julios y la corriente C:

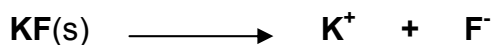
$$\text{VOLTAJE (v)} = \text{ENERGÍA (J)} / \text{CORRIENTE (C)}$$

$$\frac{RT}{nF} = \frac{(8.314 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}) \cdot (298 \text{ K})}{n \cdot (9.6485 \cdot 10^4 \text{ C mol})} = \frac{0.0252 \text{ v}}{n}$$

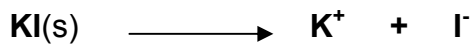
Reemplazando los valores de estas constantes en la ecuación de Nernst, y realizando la simplificación de variables semejantes, Se obtiene una ecuación estándar expresada de la siguiente manera:

$$E = E^{\circ} - \frac{0.05915 \text{ v}}{n} \log Q$$

Para el análisis de fluoruro y yoduro provenientes de sus respectivas sales, el cociente de reacción, Q , viene dado de la siguiente manera:



$$Q = \frac{[K]^+ + [F]}{[KF]} \quad Q = [F]$$



$$Q = \frac{[K]^+ + [I]}{[KI]} \quad Q = [I]$$

Tanto la concentración de fluoruro de potasio (KF) como de ioduro potasio (KI) es constante

La ecuación de Nernst es de aplicación universal para los potenciales de estado estacionario generados por una diferencia de concentraciones a través de cualquier tipo de interfases como son las celdas electroquímicas, membranas biológicas o artificiales y el electrodo selectivo⁶.

1.5.1 ANALIZADOR DE IONES ORION EA-940

Figura 4. ORION EA-940. ANALIZADOR DE IONES ESPECIFICOS.



El analizador de iones ORION EA-940, utiliza el método del electrodo específico para estipular el contenido de iones a determinar. Esta técnica se basa en la medida del potencial de una solución que contiene dichos iones, cuando se sumergen dentro de ella un electrodo específico para estos iones presentes en la solución y un electrodo de referencia, creándose una corriente eléctrica entre la solución de la muestra y la solución interna del electrodo de ión selectivo. El potencial desarrollado es una medida de la concentración del ion que se está analizando.

El electrodo específico consiste en una membrana de fluoruro de lantano y una referencia interna unidos en un cuerpo epóxico. El cristal es un conductor iónico en el cual solamente los iones fluoruro son movibles. Cuando la membrana entra en contacto con una solución de fluoruro se

desarrolla un potencial de electrodo a través de la membrana. Este potencial depende del nivel de iones fluoruro libres en solución y es medido contra un potencial de referencia externo constante con un medidor de ion específico.⁶

El analizador de iones se encuentra en la capacidad de realizar las curvas de calibración mediante la siguiente ecuación de Nernst:

$$E = E_0 + S \text{ Log } a$$

Donde la única diferencia existente entre la ecuación general de Nernst y esta, es el valor positivo de la pendiente **S**, aquí llamado sensibilidad del equipo.

Midiendo el potencial del electrodo tanto en la solución estandarizante como en una solución de muestra, es posible calcular la concentración de la solución desconocida usando la siguiente forma de la ecuación anterior:

$$C_x = C_i * 10^{\Delta E / S}$$

Donde **C_x** es la concentración de la solución desconocida, **C_i** es la concentración de la solución estandarizante, **ΔE** es la diferencia entre los potenciales observados en la solución estandarizante y en la solución de muestra y **S** es la pendiente de la curva de calibración.⁶

1.6 VALIDACION DE TECNICAS ANALÍTICAS

El análisis se considera un proceso mediante el cual obtenemos información, en todos ellos se requiere una total confianza en los resultados emitidos. La validación de metodologías analíticas en los laboratorios junto con otras actividades englobadas en el aseguramiento de la calidad, permiten

conseguir una acreditación otorgando la confianza necesaria a la vez que confieren un grado elevado de comparación entre los resultados de los análisis químicos, teniendo siempre en cuenta las posibles fuentes de error que alterarían de forma considerable los resultados obtenidos por el método analítico a validar.⁵

Los errores en las mediciones analíticas proceden de diferentes fuentes y en diferentes niveles de organización. Una clasificación útil de estas fuentes (para una determinada concentración de analito) es la siguiente:

- Error aleatorio de la medición (repetibilidad).
- Efecto del proceso analítico (se manifiesta como sesgo en un proceso simple y como variación aleatoria en varios procesos).
- Efecto del laboratorio (se manifiesta como sesgo de un solo laboratorio).
- Sesgo del método.
- Efecto de variación de la matriz.

Aunque estas fuentes diferentes pueden no ser necesariamente independientes, la anterior relación es útil para comprobar en qué medida un determinado estudio de validación aborda las diversas fuentes de error.⁷

En la validación de métodos por un solo laboratorio es fundamental tener en cuenta el sesgo del método y el efecto del laboratorio. Normalmente, los efectos del método y del laboratorio deben tenerse en cuenta en la cuantificación de la incertidumbre, pero frecuentemente son más difíciles de abordar que el error asociado a la repetibilidad. En general, para evaluar las respectivas incertidumbres es necesario utilizar información obtenida de forma independiente del laboratorio. Las fuentes generalmente más útiles de esta información son: a) estadísticas de ensayos en colaboración (no disponibles en muchos casos de validación de métodos por un solo

laboratorio), b) estadísticas de ensayos de aptitud y c) resultados del análisis de materiales de referencia certificados.⁸

En los ensayos en colaboración se estima directamente la varianza de los sesgos entre laboratorios. Aunque el diseño de estos ensayos puede presentar deficiencias teóricas, estas estimaciones de la varianza son apropiadas para numerosos fines prácticos. En consecuencia, siempre es instructivo comprobar la validación por un solo laboratorio mediante la comparación de las estimaciones de la incertidumbre con las estimaciones de la reproducibilidad obtenidas en ensayos en colaboración. Si el resultado del ensayo en un solo laboratorio es substancialmente menor que el de los ensayos en colaboración, probablemente se han menospreciado importantes fuentes de incertidumbre. (Por el contrario, puede darse el caso de que un determinado laboratorio funcione con una incertidumbre menor que la obtenida en los ensayos en colaboración; en este caso, el laboratorio deberá tomar medidas especiales para justificar dicha afirmación.).^{7, 8}

Los métodos que son utilizados en los laboratorios a diario no siempre pueden ser reproducidos exactamente tal y como son expuestos en la literatura científica o en las normas y en muchas ocasiones es necesario adaptarlo a las necesidades específicas del laboratorio⁹.

La validación hoy en día se define como una evaluación de la confiabilidad de los resultados obtenidos por un método específico verificando que es adecuado con su finalidad, siendo útil para dar a conocer las principales características de desempeño del método como lo son:^{7,10}

1.6.1 Selectividad

Capacidad de un método analítico para determinar cuantitativamente los componentes que se pretenden medir en presencia de interferencias. Se expresa como el grado de inexactitud del método¹¹. La evaluación de este parámetro es especialmente importante en el caso de los métodos analíticos diseñados para la cuantificación del analito en formulaciones y en estudios de estabilidad.¹²

Aunque la especificidad y la selectividad se consideran términos equivalentes, se considera a la selectividad como la capacidad de detectar simultánea o separadamente sustancias químicas diferentes presentes en una misma muestra y a la especificidad como la capacidad de detectar el analito sin interferencias de otro compuesto¹³. La selectividad se determina comparando los resultados del análisis de muestras con los resultados del análisis de las muestras en presencia de productos relacionados.¹²

1.6.2 Linealidad en el intervalo de aplicación

La pendiente de la recta de calibración debe ser constante en todo el intervalo de aplicación del procedimiento de medida. El límite inferior de dicho intervalo vendrá determinado por el valor obtenido para el límite de cuantificación del método. El límite superior del intervalo estará condicionado, en general, por la pérdida de linealidad en la curva de calibración.^{11,12}

1.6.3 Intervalo de trabajo e intervalo lineal

Se debe determinar el intervalo de concentraciones de analito dentro del cual se puede aplicar el método; esto se refiere a las concentraciones efectivamente medidas y no a las muestras originales. En el extremo inferior del intervalo de concentraciones el factor limitante es el valor del límite de

detección; en el extremo superior el alcance depende de la respuesta del instrumento o de condiciones analíticas establecidas como óptimas.¹²

Dentro del intervalo de trabajo puede existir un rango de respuesta lineal (intervalo lineal); los cálculos de regresión por si solos pueden ser insuficientes para establecer la linealidad; se debe complementar con una inspección visual de la línea y los residuos. En general los controles de linealidad requieren efectuarse con al menos 10 concentraciones o valores diferentes.¹⁴

La evaluación del intervalo de trabajo y del intervalo lineal permiten definir qué grado de calibración se requerirá al usar el método; en el intervalo lineal puede ser suficiente un punto de calibración para establecer la pendiente de la línea de calibración. En el resto del intervalo de trabajo será necesaria la calibración en múltiples puntos, preferiblemente más de seis^{12,13}. La respuesta del instrumento a la concentración no tiene que ser perfectamente lineal para que el método sea eficaz, pero la curva debe ser repetible cotidianamente. El intervalo de trabajo y el intervalo lineal pueden ser diferentes para matrices diferentes según el efecto de las interferencias que aporte la matriz.¹⁴

1.6.4 Intervalo validado

Es el intervalo de concentración de analito en el cual el método se puede considerar validado. Es importante comprender que este intervalo no es necesariamente idéntico al intervalo útil de calibración^{12,15}. La calibración puede abarcar un intervalo amplio, mientras que la validación abarca un intervalo más reducido.¹⁵

1.6.5 Recuperación

Se debe evaluar la capacidad de un método de determinar todo el analito presente en las muestras, según el alcance del método (algunos solo determinan algunas especies del analito). La mejor manera de determinar la eficacia de extracción del método es adicionar diferentes concentraciones del analito a las muestras y procesarlas por el método completo^{13, 14}. Aunque es la manera más común de cuantificar la recuperación, el analito adicionado puede no enlazarse tan fuertemente a la matriz como el presente de manera natural y dar como resultado la impresión de una elevada eficacia de extracción. La alternativa es efectuar el proceso con Materiales de referencia en la matriz deseada, si existen; si estos materiales de referencia han sido generados mediante caracterización de muestras naturales el estudio de recuperación representará con mayor precisión la extracción de muestras reales⁷.

1.6.6 Limite de cuantificación

El Límite de Cuantificación es la mínima concentración de analito que se puede determinar con un nivel aceptable de precisión (repetibilidad) y exactitud. Varias convenciones lo definen como la concentración de analito correspondiente al valor del blanco más 5, 6 ó 10 desviaciones estándar de la media de blancos.^{12,13}

Ninguno de los dos límites representan niveles en los que la cuantificación es imposible; es simplemente una región en que la magnitud de las incertidumbres asociadas es de valor semejante al resultado real. El límite de cuantificación no se debe determinar por extrapolación por debajo del menor estándar analizado.¹⁴

1.6.7 Limite de detección

Se debe saber cuál es la mínima concentración del analito que se puede detectar confiablemente cuando se aplica un método para el análisis de una muestra, aunque no existe un acuerdo universal sobre la terminología y existen varios criterios para su cuantificación¹³. En algunos casos es suficiente brindar una indicación del nivel en el que la detección se torna menos confiable (promedio de lectura de blancos del método más tres veces su desviación estándar), pero resulta conveniente aplicar una metodología más exacta; en cualquier caso se recomienda informar el mecanismo seleccionado.¹⁶

1.6.8 Sensibilidad

La sensibilidad es el gradiente de la curva de respuesta, o lo que es lo mismo, el cambio en la señal correspondiente a un cambio de concentración de analito. Para el intervalo lineal de un método, la sensibilidad corresponde a la pendiente de la recta de calibración, y es un parámetro objeto de seguimiento cuando se efectúan calibraciones rutinarias.^{13, 16}

1.6.9 Robustez

Es una medida de qué tan bien responde un método analítico ante una implementación no tan perfecta, ya que si ciertas etapas del método no se implementan con el suficiente cuidado, tendrán un efecto severo sobre la efectividad del método¹². Generalmente este parámetro aplica para métodos desarrollados por el laboratorio, en los cuales se realizan variaciones deliberadas en el método y se cuantifica el efecto en el rendimiento, antes de entrar en estudios de colaboración¹⁴. Por lo tanto es una variable que no necesariamente debe ser objeto de la validación cuando se utilizan métodos normalizados¹⁷. Se determina como una función de las variables seleccionadas en la ejecución y los resultados se comparan con los

resultados del estudio de reproducibilidad del método para obtener una medida de la tolerancia del método analítico.¹³

1.6.10 Sesgo

Diferencia entre los resultados previstos de un ensayo y un valor de referencia aceptado. El sesgo es un error sistemático, y no un error aleatorio. Puede haber uno o más componentes del error sistemático que contribuyan al sesgo. Una diferencia sistemática mayor con respecto al valor de referencia aceptado se traduce en un valor mayor del sesgo.¹⁷

1.6.10.1 Sesgo (Laboratorio)

Diferencia entre los resultados previstos de un ensayo en un determinado laboratorio y un valor de referencia aceptado.¹⁷

1.6.10.2 Sesgo (Método)

Diferencia entre los resultados previstos de un ensayo en todos los laboratorios que utilizan ese método y un valor de referencia aceptado.¹⁷

1.6.11 Exactitud

Expresa la cercanía entre el valor que es aceptado, sea como un valor convencional verdadero (material de referencia interno de la firma), sea como un valor de referencia aceptado (material de referencia certificado o un estándar de una farmacopea) y el valor encontrado (valor promedio) obtenido al aplicar el procedimiento de análisis un cierto número de veces, considerando los errores aleatorios y sistemáticos.^{12, 14, 17}

La exactitud comprende la suma entre lo que es la veracidad y la precisión.¹⁸

1.6.12 Veracidad

Es el grado de concordancia entre el valor medio obtenido a partir de una serie de mediciones y un valor de referencia aceptado. Un valor es veraz si está libre de errores sistemáticos y es equivalente a afirmar que el resultado es trazable a la referencia utilizada.¹⁸

La veracidad esta muy relacionada con la incertidumbre, ya que si no ha verificado la veracidad de un resultado, no se puede garantizar que se hayan corregido todas las posibles fuentes de errores sistemáticos del resultado.⁷

1.6.13 Precisión

Grado de concordancia entre los ensayos independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas. Estas condiciones dependen de los factores que se varíen entre cada uno de los ensayos; el laboratorio, el analista, el día, el equipo y los reactivos¹⁶. Desde el punto de vista de una sola determinación, cualquier desviación que afecte a la calibración de la serie se puede considerar como sesgo. Desde el punto de vista del analista, el sesgo del proceso analítico será diferente cada día y actuara como una variable aleatoria con una precisión asociada.⁷

Las medidas más comunes de la precisión, que generalmente se define en términos de la desviación estándar o el coeficiente de variación (desviación estándar relativa) son la repetibilidad y la reproducibilidad. La repetibilidad, que es la precisión más pequeña esperada, proporciona la menor variabilidad que puede haber entre los resultados ya que los ensayos se realizan en intervalos cortos de tiempo sin variar ningún factor. En el otro extremo, la reproducibilidad, proporciona la mayor variabilidad de los resultados ya que se obtienen cuando se varían todos los posibles factores que puedan afectar el resultado²³. La precisión intermedia es la más útil en casos específicos se

obtiene cuando se evalúa la reproducibilidad entre analistas en un mismo laboratorio^{7, 19}.

La repetibilidad y la reproducibilidad generalmente dependen de la concentración del analito y por lo tanto se deben determinar para diferentes concentraciones, estableciendo, cuando sea relevante, la relación entre la concentración y el coeficiente de variación.¹²

A partir de las desviaciones estándar de repetibilidad (s_r) y reproducibilidad (s_R) se pueden calcular los límites de repetibilidad, r , y de reproducibilidad, R , que permiten al analista saber si la diferencia entre análisis duplicados es significativa, en las respectivas condiciones.¹⁷

1.6.14 Incertidumbre de medición

La incertidumbre de medición es un parámetro simple que expresa el rango de valores posibles sobre la base del resultado de la medición; su estimación por procedimientos adecuados toma en cuenta todos los efectos reconocidos que afectan el resultado²¹. La estimación de la incertidumbre de un método debe tomar en cuenta la precisión general de largo plazo, el sesgo, la incertidumbre del Método de Referencia, la incertidumbre de calibración, y cualquier otro efecto significativo, como pueden ser la temperatura o tiempo de análisis.⁷

La incertidumbre proporciona una idea de la calidad del resultado, ya que este valor indica cuanto puede alejarse un resultado del valor verdadero²⁴. Los resultados siempre tienen que ir acompañados de una incertidumbre para que se puedan tomar decisiones basadas en dichos resultados. El

concepto de incertidumbre refleja duda acerca de la exactitud del resultado obtenido una vez que se han evaluado todas las posibles fuentes de error y que se han aplicado todas las correcciones oportunas^{7, 22}. A su vez la incertidumbre debe incluir un término de precisión intermedia del procedimiento, otro termino asociado a verificar si el método tiene o no un error sistemático, haciendo que la incertidumbre sea siempre mayor que la variabilidad y otro termino asociado a verificar la veracidad del método, es decir, comprobar la ausencia de sesgo.^{23, 24}

Las características cuantitativas de interés en la validación de métodos son las relativas a la exactitud probable del resultado obtenido¹⁸. Por lo tanto, se puede afirmar de forma general que la validación de métodos consiste esencialmente en la estimación de la incertidumbre de la medición ya que puede ser utilizado como un estimador de la fiabilidad de los resultados.⁷

1.7 GRADO DE VALIDACION

En la validación de métodos se emplea un conjunto de ensayos que comprueban las hipótesis en las que se basa el método de análisis, determinan y documentan las características de funcionamiento de dicho método, demostrando así su aptitud para un determinado fin analítico.¹⁹

Un laboratorio debe establecer el grado de validación requerido ya que se encuentra en la total autonomía para decidir que parámetros se deben caracterizar, Siempre y cuando se encuentren acorde con las políticas de calidad, con la naturaleza de los cambios realizados a un método previamente validado, o con las metas de calidad que se haya trazado como parte de los procesos de mejoramiento continuo del sistema de calidad, teniendo en cuenta las limitaciones de tiempo y costos.^{7, 17}

Un método se debe validar cuando sea necesario verificar que los parámetros de rendimiento son adecuados para usarlos en un problema analítico específico, se incorporen mejoras en el método, se amplíe el alcance del método para nuevas matrices, cuando el control de calidad indique que el método está cambiando con el tiempo y que el método se use en un laboratorio diferente o con diferentes analistas o instrumentos.¹⁶

Los laboratorios deben dar prioridad en su utilización a aquellos métodos comprobados en estudios colaborativos (interlaboratorios) si están disponibles, a menos que el laboratorio tenga razones específicas para seleccionar otro método⁷. Cuando no se dispone de estos métodos estudiados, se deben utilizar otros que deben estar validados internamente. Un método que haya formado parte de un estudio colaborativo no debe ser introducido en la rutina de trabajo de un laboratorio antes de haber demostrado y documentado que el mismo es adecuado para la tarea analítica específica. En otras palabras, el laboratorio debe asegurarse además, que el método es idóneo para el fin propuesto, no solamente que pueda lograr las características de ejecución establecidas en el mismo.

En la práctica de laboratorio se utilizan diferentes procedimientos de validación:

Validación prospectiva, Validación retrospectiva y revalidación⁹.

1.7.1 Validación Prospectiva

Se aplica cuando se elabora un método analítico. Es típica de los laboratorios de investigaciones y desarrollo. Comprende el estudio de todos los parámetros analíticos necesarios para demostrar el buen funcionamiento del método⁹.

1.7.2 Validación Retrospectiva

Se aplica a métodos no validados previamente y de los que se tiene una amplia historia de resultados. Suele efectuarse en los laboratorios de control⁹.

1.7.3 Revalidación

Se emplea cuando un método analítico, previamente validado se ha introducido un cambio significativo. Los parámetros analíticos estudiar se deciden en función del tipo de cambio efectuado⁹.

Una vez terminado el procedimiento de validación el laboratorio en particular debe registrar los datos obtenidos y el procedimiento usado en la validación para su posterior revisión y de esta forma obtener su respectiva acreditación.¹⁹

1.8 TRAZABILIDAD

Propiedad del resultado de una medición o el valor de un estándar. Que consiste en que se pueda establecer el resultado previsible de su comparación directa con los patrones apropiados mediante una cadena ininterrumpida de comparaciones reales todas con incertidumbres conocidas. La trazabilidad asegura la comparación entre los resultados.⁷

En medidas químicas la trazabilidad puede verificarse mediante; métodos definitivos, materiales de referencia certificados, ejercicios de colaboración, métodos de referencia.

En muestras adicionadas la trazabilidad se verifica a través del porcentaje de analito recuperado, es decir la relación entre la cantidad encontrada y la

cantidad adicionada. Si no se dispone de materiales de referencia se puede analizar un material de ensayo típico mediante el método objeto de validación, tanto en su estado original como tras la adición de una masa conocida del analito.²⁰

En el caso de necesitar la verificación de trazabilidad en un intervalo reducido de concentraciones, se asume que el sesgo es el mismo para todo el intervalo de concentraciones de las muestras de rutina. Si este sesgo no es significativo, el procedimiento es veraz. El procedimiento que debe realizar para verificar la trazabilidad depende del tipo de referencia utilizado, método analítico de referencia, valor de referencia.^{7, 18}

1.9 ANOVA (Analysis of Variance)

El análisis de la varianza (ANOVA) es una técnica estadística de contraste de hipótesis. Tradicionalmente estas técnicas, conjuntamente con las técnicas de regresión lineal múltiple, de las que prácticamente son una extensión natural, marcan el comienzo de las técnicas multivariantes. Con estas técnicas se manejan simultáneamente más de dos variables, y la complejidad del aparato matemático se incrementa proporcionalmente con el número de variables en juego.

El análisis de la varianza de un factor es el modelo más simple: una única variable nominal independiente, con tres o más niveles, explica una variable dependiente continua.

Otra alternativa, que aparentemente es más lógica e intuitiva, consiste en comparar, en todas las posibles combinaciones de dos en dos, las medias de

todos los subgrupos formados. Esto trae parejo, fundamentalmente, dos tipos de problemas:

a).- Se incrementa el riesgo de dar un resultado falso positivo, al realizar más de un análisis sobre un mismo conjunto de datos.

b).- Es difícil interpretar la verdadera influencia de la variable que actúa como factor de clasificación, porque genera diferentes niveles de significación (p), resultantes de las comparaciones entre sus subgrupos.

Mediante el ANOVA se eliminan estos inconvenientes. Con estas técnicas se analiza globalmente la influencia de cada variable independiente, generándose un único nivel de significación.²⁵

Con el análisis de la varianza se puede analizar simultáneamente la influencia de dos o más factores de clasificación (variables independientes) sobre una variable respuesta continua. Esto se conoce como análisis factorial de la varianza. El efecto de un factor puede añadirse al de otro factor (modelo aditivo) o bien puede potenciarse (modelo multiplicativo). En este último caso, aparece y se analiza un nuevo factor de interacción sobre la variable respuesta, como resultado de la acción conjunta de dos o más factores. Este posible efecto es detectado en el análisis de la varianza por la significación de su estadístico de contraste correspondiente.⁷

Las técnicas del análisis de la varianza, basadas en la partición de la variabilidad (suma de cuadrados) de la respuesta estudiada, sirven de base para el análisis de distribuciones de datos generados, en diseños más complejos, como es el análisis de covarianza. En este último tipo de análisis se combinan variables explicativas discretas y continuas. La variabilidad de la respuesta es analizada como en el análisis factorial de la varianza, una vez que se ha eliminado la posible influencia de la o las variables continuas explicativas. Sería un análisis análogo al de la varianza de los residuales;

esto es, se analizan los residuos de la regresión en lugar de los datos iniciales.^{26, 27}

Otros modelos más complejos son el análisis de medidas repetidas sobre las mismas unidades experimentales, el análisis de diseños cruzados, análisis anidados o el análisis de la varianza factorial con información incompleta.

En el ANOVA se comparan en la mayoría de los casos medias, en algunos casos varianzas, mediante la comprobación de hipótesis: medias de los subgrupos o estratos originados por los factores de clasificación estudiados. En estas técnicas, la hipótesis alternativa es múltiple, puesto que engloba diferentes hipótesis, todas ellas referidas al hecho de que alguna de las medias de los estratos sea diferente de las demás. Cuando se alcanza la significación en alguno de los factores estudiados, es lógico preguntarse cuál de las hipótesis alternativas es la que origina la significación. Esto es equivalente a preguntarse qué media o medias son diferentes entre sí. Estos enigmas se resuelven mediante procedimientos "a posterior" para comparar más de dos medias. Funcionan eficientemente, si previamente el factor en estudio ha resultado significativo en alguna técnica multivariante previa, como el análisis de varianza.²⁶

2. METODOLOGÍA

2.1 PREVALIDACIÓN

Antes de iniciar el proceso de validación se estipularon los siguientes parámetros:

2.1.1 Calibración de la balanza

La calibración de los equipos de medida, en este caso la balanza analítica, ha de calibrarse dado que sus respuestas generalmente no son estables con el tiempo. Considerando solo aspectos dentro del propio laboratorio, podemos constatar que las respuestas de estos equipos varían debido a causas tales como; envejecimiento, deterioros, limpiezas inadecuadas.²⁸

El laboratorio departamental de salud pública contrató al laboratorio de metrología SIGMA LTDA, el cual fue el encargado de realizar la calibración de la balanza analítica. Este laboratorio utilizó el método de *calibración por comparación directa con un patrón*. En donde compararon los valores proporcionados por la balanza al medir uno o varios patrones (pesas de acero inoxidable pulido) de los que se conocían sus valores de las magnitudes deseadas.²⁹ Este método es aplicable cuando se utiliza la balanza para efectuar medidas absolutas. No es aplicable en el caso en que se hagan medidas diferenciales, es decir, cuando se realicen medidas de diferencias respecto de un patrón.⁷

2.1.2 Calibración del material volumétrico

La calibración directa es el proceso en el que el valor conocido o generado se expresa en la misma magnitud que mide el equipo, y pueden clasificarse en diversos tipos. Uno de estos métodos es el de la reproducción de la definición de la magnitud. En este método, se reproduce la magnitud que mide el equipo o instrumento de medida a través de patrones apropiados en los que se calculan los valores de la magnitud deseada a través de los valores de otras magnitudes³⁰. Un ejemplo de estos métodos, es la calibración del material volumétrico mediante pesada y utilización de la densidad. Para la calibración de este material no se utilizó directamente ningún patrón de la magnitud que se deseaba medir en el proceso de calibración, sino que se midió una magnitud (**volumen**) a través de la medida de otra magnitud (**masa**) y de una relación entre las dos (**densidad**). En concreto, se determinó el volumen contenido en un recipiente volumétrico (referido a una temperatura de 20°C) a partir de la pesada del volumen de agua destilada contenida en dicho recipiente.³¹ La mayoría de los métodos analíticos contemplan una etapa de calibración analítica. En esta etapa se relacionó la respuesta instrumental con la propiedad que se estaba buscando, normalmente mediante los métodos anteriormente expuestos.⁷

2.1.3 Curva de calibración

Para el análisis de fluor y yodo en sal para consumo humano, se prepararon estándares en un intervalo de 0.0 hasta 5.0 ppm correspondientes al intervalo de validación y que se encuentran dentro del rango lineal del método. A cada uno de estos estándares se les adicionó 10 mL TISAB (cuando se realizó la curva para fluor) y 10 mL de ISA (para la curva de calibración del yodo). A estas soluciones se les determinó la diferencia de potencial que queda registrada en el equipo. Con los datos obtenidos se construyó la curva de calibración, mediante la cual se identificó el intervalo

lineal y se seleccionaron los estándares para elaborar las curvas de trabajo diarias.¹

Una vez se realizó la curva de calibración, se procedió a estipular las características de funcionamiento del método para lo cual se establecieron por mediciones programadas:

2.1.3.1 Intervalo lineal

Para la determinación de este intervalo lineal, inicialmente se hizo la lectura de 3 curvas de calibración con patrones tanto de fluor como de yodo de las siguientes concentraciones: 0.5, 3.5, 6.5, 12.5, 25 ppm. Una vez obtenidos los resultados se determinó el rango lineal utilizando esta curva de calibración.

2.1.3.2 Límite de detección del método

Para su determinación se corrieron en total 7 lotes cada uno de ellos conformado por 5 soluciones del blanco y se utilizó la siguiente expresión para su cálculo:

$$LD = \overline{SB} + 3C SB \quad (1)$$

Donde \overline{SB} corresponde a la señal media de los blancos o del estándar de concentración baja que se haya escogido, $C SB$ es la desviación estándar para los blanco o estándar bajo.

2.1.3.3 Límite de cuantificación

Para su determinación se utilizó el mismo procedimiento para el cálculo del límite de detección, con la diferencia de que la ecuación a utilizar fue la siguiente:

$$LC = \overline{SB} + 10C SB \quad (2)$$

Donde \overline{SB} corresponde a la señal media de los blancos o del estándar bajo que se haya escogido.

$C SB$ = Es la desviación estándar para la señal del blanco o patrón bajo escogido.

2.1.3.4 Intervalo de validación

Se tomó el intervalo de 0.5 ppm hasta 5.0 ppm para la validación del método. Este rango de concentraciones se estipuló mediante el análisis de la curva de calibración realizada para la determinación del intervalo lineal.

2.1.3.5 Sensibilidad

Tanto para el análisis de fluor como el yodo, se tomó la sensibilidad como la pendiente de la curva de calibración promedio en los dos tipos de análisis.

Estas características se estipularon mediante la medición ininterrumpida de un gran número de blancos. Esto se realizó con el fin de disminuir el error sistemático y evitar tanta dispersión entre los datos.³²

2.2 VALIDACIÓN

Una vez que se tiene establecido el método de ensayo, cuya asimilación se ha llevado a cabo con detalles y se conoce la respuesta o señal que lo caracteriza, se definió el procedimiento que ha de utilizarse para la validación de los métodos analíticos, se empleó: Dos blancos de reactivos (BK1 y BK2), tres estándares de concentración conocida 0.9C, un estándar de concentración intermedia y 0.09C (C representa la concentración máxima de interés), tres muestras M_1 , M_2 y M_3 , tres muestras adicionadas M_1+A_1 ,

M_2+A_2 y M_3+A_3 (donde A_1 , A_2 y A_3 son adiciones estándar de concentración conocida); estos lotes se corrieron 10 veces y luego se sometieron a tratamiento estadístico.^{19, 33}

Los datos obtenidos expresados en unidades de concentración, fueron sometidos a tratamiento estadístico, para verificar las condiciones de repetibilidad y reproducibilidad mediante el análisis de varianza y desviaciones estándar entre lotes y dentro de los lotes.³³

Figura 5. LOTE PATRON PARA LA VALIDACION



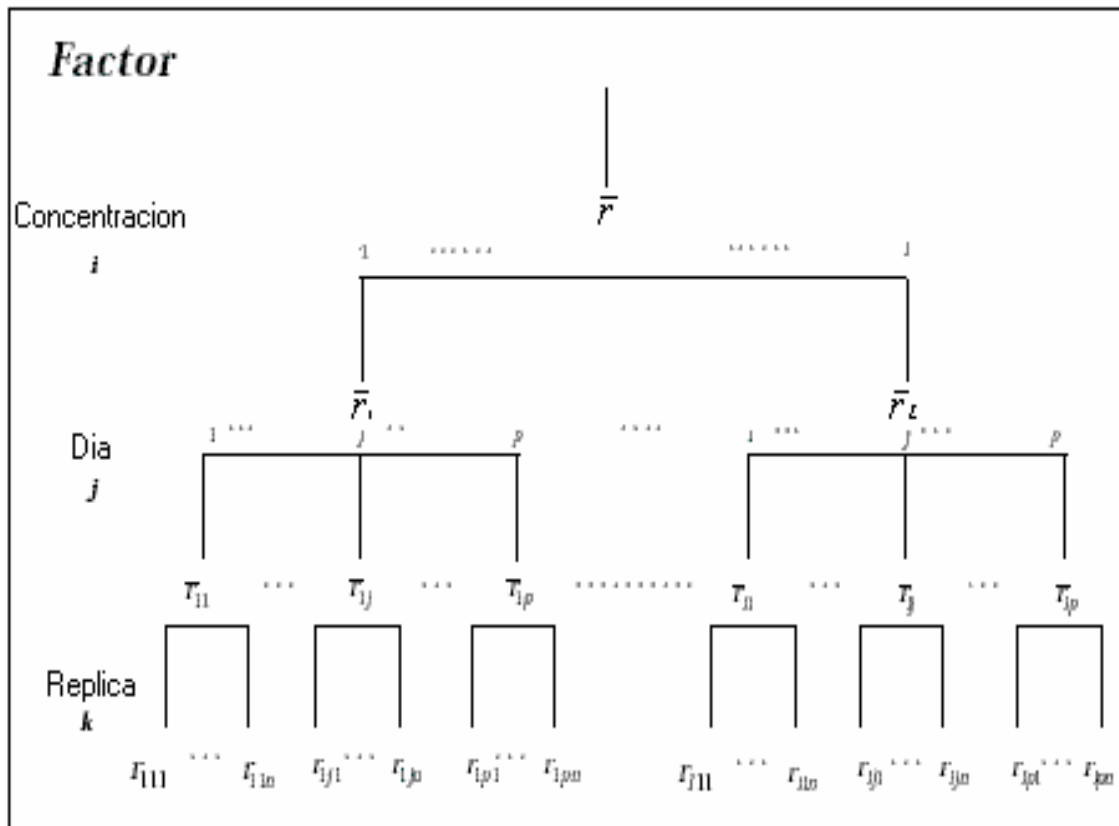
Dentro de cada lote las muestras se analizaron en forma aleatoria; esto permite eliminar pero no de forma completa los errores sistemáticos presentes en factores que no pueden ser controlados y que conllevarían a falsas afirmaciones.¹⁹

2.2.1 Precisión Se determinó la precisión en varios niveles: repetibilidad, reproducibilidad y la precisión intermedia asociada a cada uno de los factores variados en un diseño anidado.

2.2.1.1 Precisión intermedias de series diferentes

Se analizaron 7 lotes tanto para la determinación de fluor como para yodo de en 7 días diferentes, utilizando un diseño anidado de tres factores en los que se varía la concentración, el día y el replicado como se ilustra en la figura 6.

Figura 6. Disposición de los factores concentración, día y replicado del diseño anidado.



De acuerdo con el diseño, l corresponde a las concentraciones que se analizarán, p al número de días en que se analizara cada concentración, y n al número de réplicas hechas a diario, para cada concentración. r_{ijk} es el resultado k , del día j , para la muestra de concentración i . \bar{r}_{ij} es la media de todos los r_{ijk} , \bar{r}_i corresponde al valor medio de todos los \bar{r}_{ij} y finalmente \bar{r} es la media de todos los \bar{r}_i .

La tabla 3 muestra el ANOVA asociado a un diseño anidado completo de tres factores. Esta tabla muestra los distintos tipos de precisión (expresados como varianzas) que se calcularon a partir del ANOVA de la tabla 3.⁷

Tabla 2. Análisis de varianza ANOVA, para el diseño anidado-precisión.

7

Fuente	Cuadrados Medios	G. L
Día	$CM_D = \frac{n \sum_i^l \sum_{j=1}^p (\bar{r}_{ij} - \bar{r}_i)^2}{l.(p-1)}$	$l.(p-1)$
Réplica	$CM_R = \frac{\sum_i^l \sum_j^p \sum_{k=1}^n (r_{ijk} - \bar{r}_{ij})^2}{l.p.(n-1)}$	$l.p.(n-1)$

Tabla 3. Cálculo de las varianzas para el diseño anidado –Precisión.⁷

Varianza	Expresión	G. L
repetibilidad , S_R^2	CM_R	$p.(n-1)$
entre días , S_D^2	$\frac{CM_D - CM_R}{n}$	
Intermedia , S_I^2	$S_R^2 + S_D^2$	

Este procedimiento se llevó a cabo corriendo los 7 lotes. Cada uno de estos lotes esta conformado por: dos estándares uno de 1ppm y otro de 5 ppm para el caso del análisis para fluor. Para el análisis de yodo se utilizó un estándar bajo de 0.5 ppm y un estándar alto de 4.5 ppm, cuatro réplicas de una adición baja a la matriz de trabajo, cuatro réplicas de una adición alta a la matriz de trabajo. Esto se llevó a cabo durante siete días diferentes para analizar la precisión en términos de repetibilidad y reproducibilidad.

Una vez realizado el ANOVA, se procedió a ejecutar la prueba de la F con su correspondiente test de hipótesis, con el fin de analizar si existen diferencias significativas entre las 2 varianzas determinadas en cada una de las concentraciones utilizadas en el ANOVA de la precisión. Cabe resaltar que este test de hipótesis y las demás pruebas estadísticas se realizaron con un 95% en el intervalo de confianza.

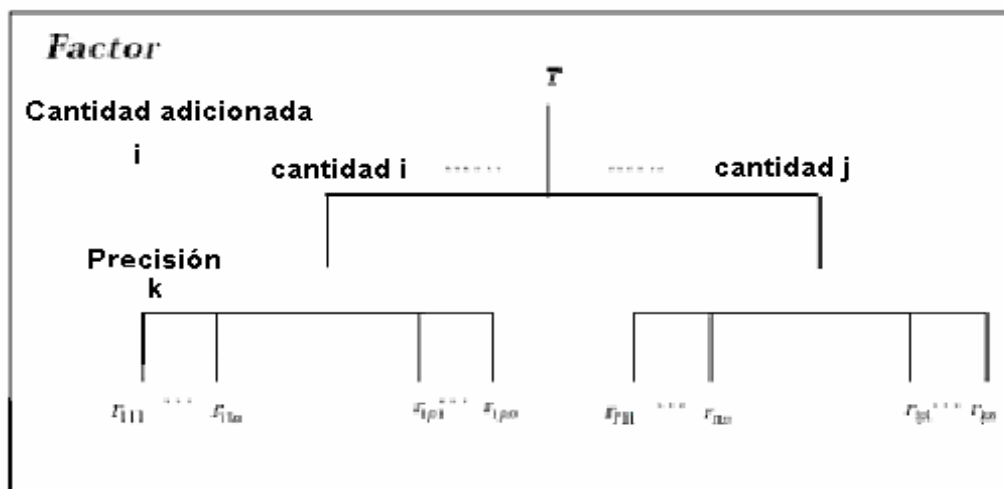
2.2.2 Trazabilidad. Para verificar la trazabilidad en un intervalo reducido de concentración fue necesario evaluar dos tipos de sesgo: el sesgo

proporcional (en términos de recuperación) y el sesgo constante. Para la verificación de la trazabilidad de los resultados se utilizó la técnica de adiciones estándar. Esta técnica consiste en analizar una muestra representativa a la cual se le ha añadido una cantidad conocida de analito. Como se mencionó anteriormente, la forma de verificar la trazabilidad en esta técnica es mediante el porcentaje de analito recuperado, es decir la relación entre la cantidad encontrada y la cantidad adicionada. Las adiciones se hicieron a muestras de matriz donde esta no contenía concentración inicial del analito.¹⁸

Se calculó la recuperación de muestras con adiciones estándar de patrones de concentración conocida de fluor y yodo a la matriz de trabajo (sal sin refinar, sin fluor ni yodo).

Posteriormente cada muestra adicionada se analizó dos veces en condiciones intermedias. Para esto se utilizó un diseño anidado de dos factores que se muestra en la figura 7.

Figura 7. Diseño anidado de dos factores para calcular la recuperación utilizando n muestras adicionadas.



Tanto los patrones fluor y yodo se adicionaron a tres niveles de concentración, utilizando la misma matriz de trabajo. Para la ejecución del diseño anidado, se corrieron 10 lotes en 10 días distintos correspondientes al estudio del sesgo proporcional. El sesgo proporcional es no significativo si se cumple la siguiente inecuación:

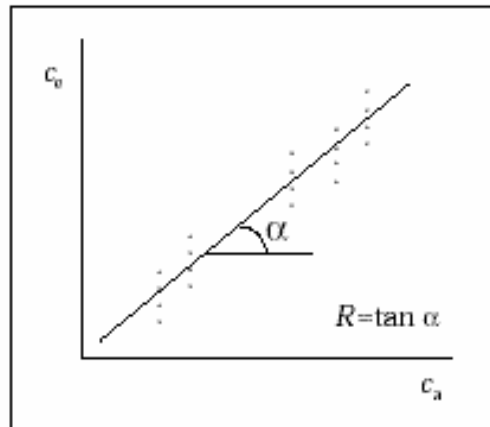
$$|R - 1| \leq t_{\alpha} \cdot U_{(R)} \quad (3)$$

Donde t_{α} corresponde al valor t tabulado para los grados de libertad asociados al diseño experimental utilizado, y $U_{(R)}$ a la incertidumbre de la recuperación

Una vez se obtuvo la concentración de cada una de las muestras adicionadas se elaboró la recta de adiciones estándar, (ver figura 8). La pendiente de la recta proporciona una estimación de la recuperación del método y la ordenada en el origen proporciona una estimación del sesgo proporcional del método.⁷

Para verificar la trazabilidad de los resultados, se verificó que la pendiente de la recta no difiera significativamente de uno y que la ordenada de la recta no difiera significativamente de cero. Esto se hizo mediante el estudio de test individuales, utilizando la prueba de la F. El valor de F calculado se comparó con el de F tabulado de una distribución de 2 y $n-2$ grados de libertad. Si el valor de F calculado es mayor que el de F tabulado, los resultados obtenidos con el método no son trazables.⁷

Figura 8. Recta de adiciones estándar. La pendiente de la recta corresponde a la recuperación del método.



2.2.3 Incertidumbre.

$$U = U_{proc} + U_{traz} + U_{otros} \quad (4)$$

Para calcular la incertidumbre de los resultados fue necesario conocer:

- La incertidumbre del procedimiento.
- La incertidumbre debido a la verificación de la trazabilidad y
- La incertidumbre debido a otros términos.

La incertidumbre del procedimiento se calculó a partir del ANOVA de las concentraciones encontradas obtenidas al analizar las muestras adicionadas siguiendo el diseño propuesto en la figura 7. La tabla 4 muestra el ANOVA asociada al diseño experimental de la figura 7 y la tabla 5, muestra la varianza que se calculó a partir del ANOVA.

Tabla 4. Tabla ANOVA para calcular la incertidumbre del procedimiento a partir del diseño experimental de la figura 7.³⁵

Fuente	Cuadros medios	G.L
Precisión	$MS_I = \frac{2 \cdot \sum_{j=1}^p \sum_{i=1}^q \sum_{k=1}^2 (c_{e,ijk} - \bar{c}_{e,ij})^2}{p \cdot q \cdot (2 - 1)}$	$p \cdot q \cdot (2 - 1)$

Tabla 5. Cálculo de la varianza de la precisión intermedia a partir del ANOVA de la tabla 4.

Varianza	Expresión
Precisión intermedia, S_I^2	MS_I

2.2.3.1 Incertidumbre del procedimiento.

La incertidumbre del procedimiento se calculó a partir de la varianza de la precisión, S_I^2 , obtenida en la tabla 5.³⁵

$$U_{proc} = \frac{1}{R} \sqrt{\frac{S_I^2}{p_s}} \quad (5)$$

Donde R , es la recuperación del método, S_i^2 , es la precisión intermedia y P_s , es el número de veces que se analiza la muestra de rutina en diferentes series.

2.2.3.2 Incertidumbre de la verificación de la trazabilidad.

Antes de calcular esta incertidumbre se calculó la desviación estándar de los residuales de la curva de adiciones estándar en los dos análisis aquí trabajados. La siguiente ecuación muestra como se calculó estos residuales.

$$S_e = \left[\sum_i \frac{(y_i - y_j)^2}{n - 2} \right]^{1/2} \quad (6)$$

Donde y_i son los valores de y calculado, y_j son los valores y obtenidos experimentalmente, n es el número de estándares analizados.

Calculados los residuales de la curva de adiciones estándar, se procedió a realizar el cálculo de la incertidumbre de la verificación de la trazabilidad mediante el uso de la ecuación (7)

$$U_{traz} = \frac{S_e}{R_e} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(c_{corr} - \bar{c}_a)^2}{\sum \sum c_{a,ij} - \bar{c}_a)^2}} \quad (7)$$

Donde S_e , es la desviación estándar de los residuales de la recta, $c_{a,ij}$, es la concentración adicionada i al tipo de muestra j , \bar{c}_a , es el valor medio de todos los $c_{a,ij}$ y n es el número de puntos de la recta de adiciones.³⁵

2.2.3.3 Cálculo de la incertidumbre de la recuperación del método

$$U_{(R)} = \sqrt{\left(S(b_{AE})^2 + \left(\frac{R}{b_{CC}} \right)^2 \cdot S(b_{CC})^2 \right)} \quad (8)$$

El primer componente considera la incertidumbre de la pendiente de la curva de adiciones estándar, y es calculada mediante la desviación estándar de la pendiente de dicha curva, el segundo término considera la incertidumbre del error cometido, cuando la respuesta instrumental de las muestras adicionadas fueron convertidas a concentraciones mediante una curva de calibración. $S(b_{CC})$ Corresponde a la desviación estándar de la pendiente de la curva de calibración.¹⁶

$$Sb_{AE} = \sqrt{\frac{Sr^2 AE}{\sum (C_{adi} - \bar{C}_{ad})^2}} \quad (9)$$

Donde el término $Sr^2 AE$ son los residuales de la curva de adiciones estándar, $\sum (C_{adi} - \bar{C}_{ad})$ es la sumatoria de la concentración i menos el promedio de las adiciones.

$$Sb_{cc} = \frac{Sr_{cc}}{\sqrt{\sum (C_i - \bar{C})^2}} \quad (10)$$

Donde Sb_{cc} es la desviación estándar de la pendiente de la curva de calibración, Sr_{cc} es la desviación estándar de los residuales de la curva de

calibración, $\sum (C_i - \bar{C})$ es la sumatoria de cada estándar de la curva de calibración menos el promedio de los estándares de la curva de calibración.

2.2.3.4 Cálculo de la incertidumbre total

La expresión propuesta para el cálculo global de la incertidumbre fue la siguiente:

$$u(c_{corr}) = \frac{1}{R} \sqrt{\frac{S_I^2}{p_s} + S_e^2 \left(\frac{1}{n} + \frac{(c_{corr} - \bar{c}_a)^2}{\sum \sum (c_{a,ij} - \bar{c}_a)^2} \right)} \quad (11)$$

2.3 ENSAYO DE APTITUD

El objetivo de estos ensayos es comparar la competencia entre los laboratorios, cuando cada uno de ellos analiza la muestra utilizando su propio método analítico. Estos ejercicios se suelen realizar periódicamente ya que constituyen una parte esencial dentro de los requisitos necesarios para la acreditación de los laboratorios. Contienen una trazabilidad menor ya que los laboratorios participantes no tienen que demostrar su competencia para participar en estos ensayos.^{7, 36}

Una vez terminada la validación, el laboratorio participó en el programa interlaboratorios, dirigido por el INVIMA para el análisis de fluor y yodo en sal de consumo humano, la trazabilidad de cada uno de los laboratorios se evalúa a través de su coeficiente Z_i (Z score) y se calcula con la siguiente expresión:

$$Z_i = \frac{X_i - \bar{X}}{S} \quad (12)$$

X = Concentración asignada a la muestra.

X_i = Concentración encontrada por el laboratorio participante.

S = Desviación Estándar de los resultados.

Para obtener un valor de Z score fiable fue necesario tener una buena estimación de la concentración de la muestra, X y su desviación estándar, S .

La competencia del laboratorio se evaluó a través del valor absoluto de su Z-score, si:

$|Z_i| < 2$ La competencia del laboratorio es satisfactoria

$2 < |Z_i| < 3$ La competencia del laboratorio es cuestionable

$3 < |Z_i|$ La competencia del laboratorio no es satisfactoria

Cada laboratorio fue instruido para realizar las determinaciones por duplicado del contenido tanto de fluor como de yodo. El uso del método de rutina fue recomendado.

El verdadero valor para la desviación estándar del ejercicio interlaboratorio, fue la desviación estándar de los valores reportados después de que los datos outliers han sido excluidos.³⁶

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

Una vez realizado todo el proceso de validación, se obtuvieron los siguientes datos:

3.1 PREVALIDACION

Antes de determinar los parámetros de funcionamiento del método, se realizó tanto la calibración de la balanza como la del material volumétrico.

3.1.1 Calibración de la balanza

La calibración de la balanza analítica fue realizada por un laboratorio de metrología SIGMA LTDA de la ciudad de Bogotá y contratada por el Laboratorio Departamental de Salud, quienes reportaron la incertidumbre de la balanza para tres rangos de peso.

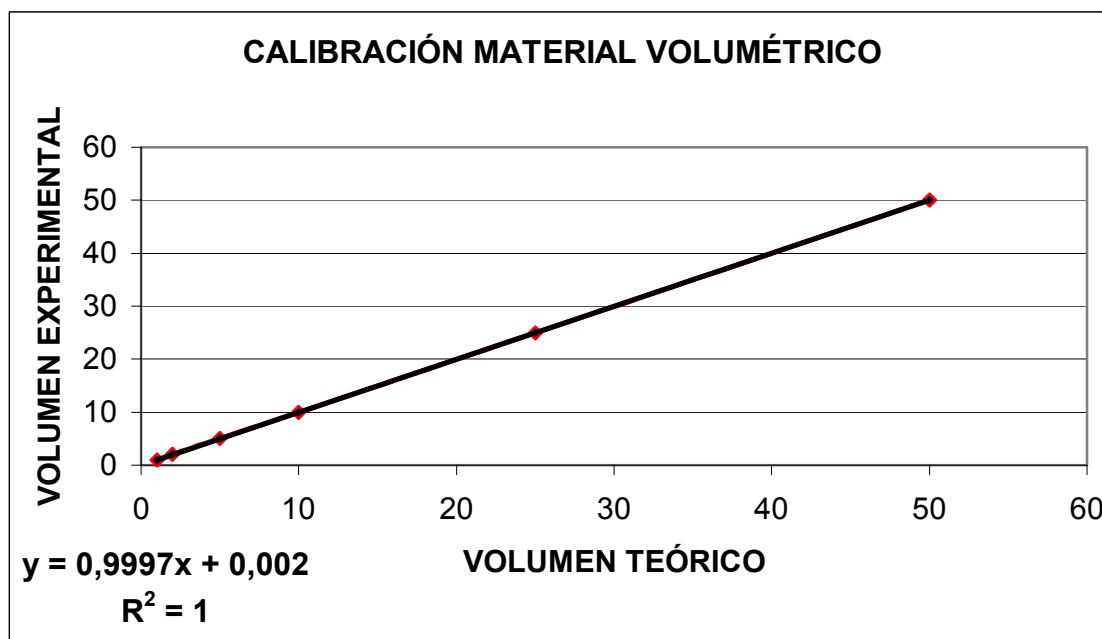
3.1.2 Calibración del material volumétrico

El material volumétrico que se calibró consta de; Pipetas de 1, 2, 5, 10, 25, 50 mL y balones aforados marca NALGENE de 50, 100, 250 mL. Vale la pena mencionar que el material volumétrico calibrado es nuevo. La tabla 6 revela los resultados obtenidos junto con la curva de calibración ilustrada en la figura 9.

TABLA 6. Datos de la calibración del material volumétrico.

	1 mL	2 mL	5 mL	10 mL	25 mL	50 mL
n1	1,0206	1,9919	4,9997	9,9899	24,992	49,987
n2	1,0194	1,9921	4,9992	9,9902	24,991	49,992
n3	1,0195	1,992	4,9995	9,9904	24,996	49,99
n4	1,0193	1,9919	4,9998	9,9902	24,995	49,991
n5	1,0196	1,9918	4,9995	9,9901	24,995	49,989
PROMEDIO	1,01968	1,99194	4,99954	9,99016	24,9938	49,9898

Figura 9. Curva de calibración del material volumétrico.



Cabe resaltar que la calibración del material volumétrico empezó con un lavado especial que constaba de un enjuague con bastante agua de chorro y después un lavado con detergente, una vez seco este material se vuelve a lavar pero esta vez se lavó con etanol al 5% se dejó secar y posteriormente

se enjuagó con acetona para eliminar el etanol en las paredes del material volumétrico.

Este lavado se hizo con el fin de obtener una propiedad reproducible de la superficie interior del material volumétrico, de tal manera que el agua pueda ascender y descender en una película fina, regular y homogénea. En segundo lugar obtener condiciones de referencia en el lugar de aforo del material, de tal forma que la tensión superficial forme un menisco reproducible con un ángulo plano y una altura unificada.

Analizando la curva de calibración se constató que todos los puntos utilizados en su construcción tienen entre sí una relación lineal, por lo tanto se tomó la certeza de que los volúmenes que se iban a trabajar iban a tener una alta exactitud y precisión de tal forma que se aseguraría la confiabilidad de que los volúmenes leídos iban a ser verdaderos, gracias a que el material se encontraba calibrado.

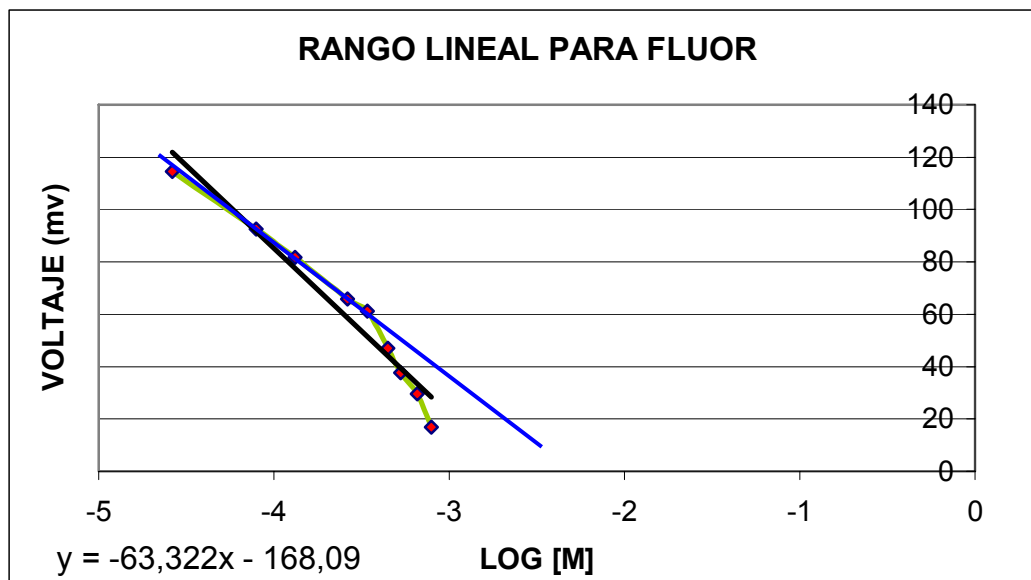
3.1.3 Intervalo lineal

Para el análisis de fluor, se realizó la lectura de 3 curvas de calibración comprendidas entre un rango de concentración de 0.5 a 15 ppm³². La tabla 8 muestra los datos promedio obtenidos junto con la curva de calibración promedio ilustrada en la figura 10.

Tabla 7. Datos promedio de las tres curvas de calibración en la determinación del rango lineal en el análisis de fluor.

Estándar	[M]	LOG [M]	s (mv)
BLANCO	0		188,4
0,5	2,63E-05	-4,58004425	114,5
1,5	7,90E-05	-4,10237291	92,4
2,5	1,32E-04	-3,87942607	81,7
5	2,63E-04	-3,58004425	65,8
6,5	3,42E-04	-3,46597389	61,1
8,5	4,47E-04	-3,34969248	46,9
10	5,26E-04	-3,27901426	37,6
12,5	6,58E-04	-3,18177411	29,7
15	7,89E-04	-3,102923	16,8

Figura 10. Curva de calibración promedio para determinar el rango lineal en el análisis de fluor.



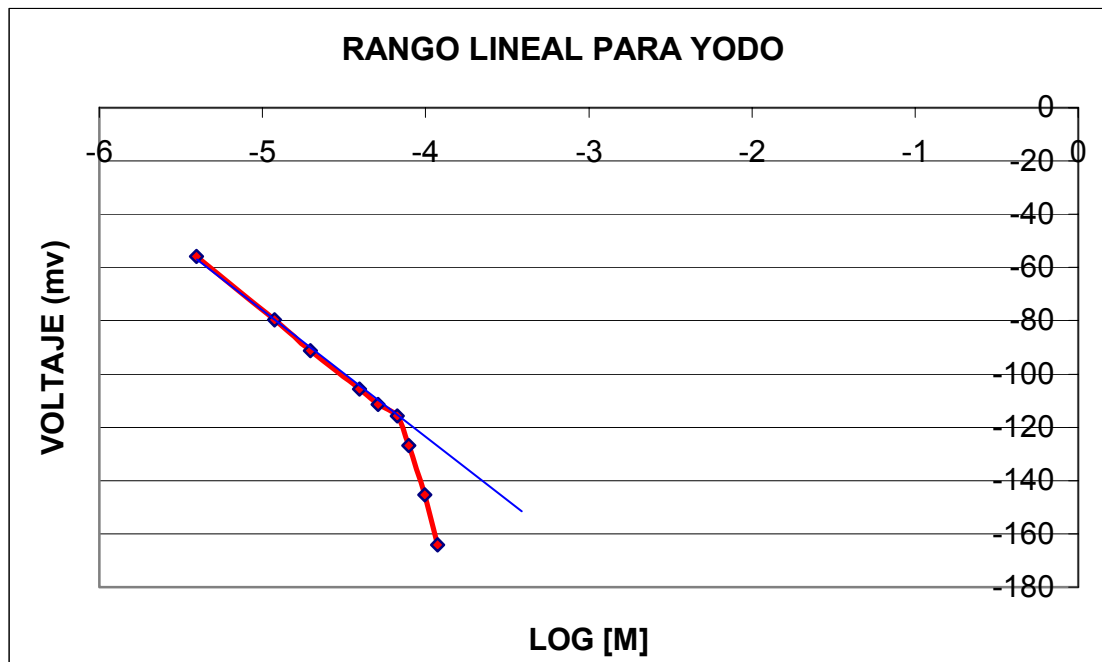
La línea azul en la grafica anterior representa la linealidad existente entre las soluciones patrón en la determinación del rango lineal para el caso del análisis de fluor. De acuerdo con esta curva de calibración promedio mostrada anteriormente, se determinó que el rango lineal del método para la determinación de fluor estaba comprendido entre 0.0 y 5.3 ppm, por lo que se tomó el intervalo de 0.0 a 5.0 ppm como el intervalo de validación o de trabajo

Para determinar el intervalo lineal del método en el análisis de yodo, se utilizó el mismo procedimiento anteriormente descrito para el análisis de fluor, con la única diferencia que el intervalo lineal para este caso, está comprendido entre 0.0 y 6.2 ppm³², tomando como el intervalo de validación entre 0.5 y 5.0 ppm. La tabla 8 muestra los resultados obtenidos para la determinación de este parámetro.

Tabla 8. Datos promedio de las tres curvas de calibración en la determinación del rango lineal en el análisis de yodo.

Estándar	[M]	LOG [M]	s (mv)
BLANCO	0		89,52
0,5	3,94E-06	-5,40450378	-55,91
1,5	1,18E-05	-4,92811799	-79,63
2,5	1,97E-05	-4,70553377	-91,27
5	3,94E-05	-4,40450378	-105,7
6,5	5,12E-05	-4,29073004	-111,3
8,5	6,69E-05	-4,17457388	-115,8
10	7,87E-05	-4,10402527	-126,7
12,5	9,84E-05	-4,0070049	-145,4
15	1,18E-04	-3,92811799	-164,1

Figura 11. Curva de calibración promedio para determinar el rango lineal en el análisis de yodo.



Como en el caso del análisis de fluor, la línea azul en esta grafica representa también la linealidad existente entre los patrones preparados.

3.1.4 Sensibilidad

Tanto para el análisis de fluor y yodo se utilizaron un rango de patrones comprendidos entre 0.0 y 5.0 ppm. Para los cuales se determinó su lectura de voltaje (mv) en el analizador de iones específicos ORION EA-940. Este proceso se realizó en un periodo de 7 días, obteniendo así 7 curvas de calibración. A partir de dichas curvas se construyó una curva promedio, de la cual se determinó la sensibilidad del método (pendiente de la curva de calibración promedio), el límite de detección y el límite de cuantificación. Las tablas 9 y 10 muestran los datos obtenidos durante los 7 días en los que se

hizo el análisis tanto para la determinación de fluor como de yodo respectivamente. Las figuras 12 y 13 muestran las curvas de calibración tanto para fluor como para yodo.

Tabla 9. Datos para el estudio de la sensibilidad del método en el análisis de fluor.

VOLTAJE (mv)									
[ppm]	Log[M]	Día1	Día2	Día3	Día4	Día5	Día6	Día7	PROM
0.0		205.6	193.5	204.3	187.3	187.8	161.7	192.7	190.4
0.5	-4.58	111.5	120.3	111	114.9	118.1	109.0	122.1	115.3
1.5	-4.11	85.11	92.1	85.64	89.75	90.2	84.35	97.6	89.25
2.5	-3.88	70.84	78.83	72.71	74.81	75.84	69.72	82.31	74.99
3.5	-3.74	62.0	69.66	63.81	66.53	65.13	59.20	74.16	65.78
5.0	-3.58	56.2	59.0	54.23	56.0	57.90	51.61	64.83	57.12

Figura 12. Grafica para la determinación de la sensibilidad promedio del método en el análisis de fluor.

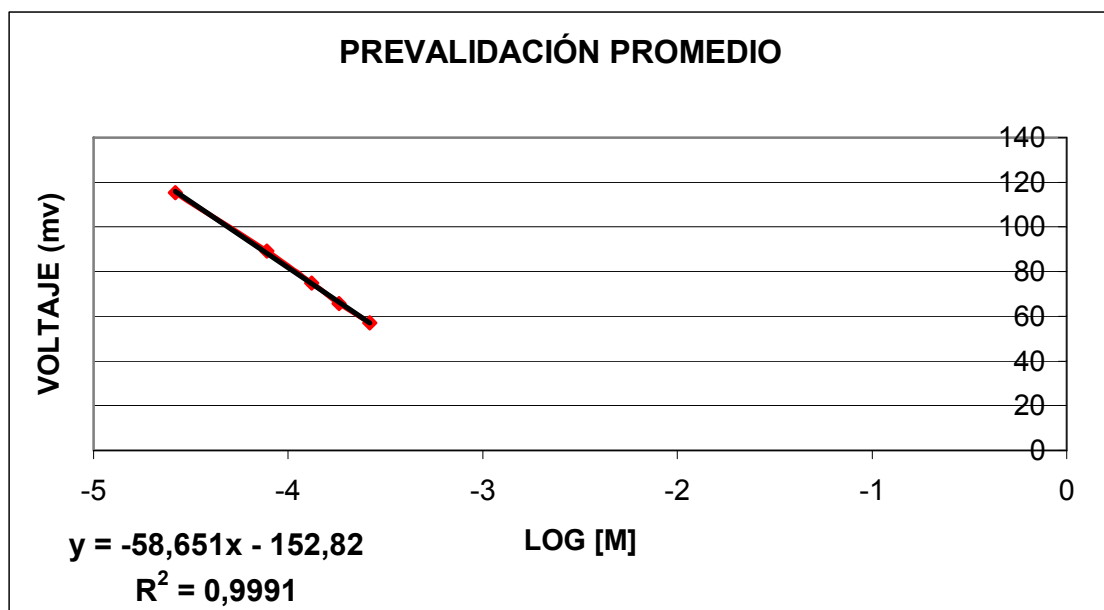
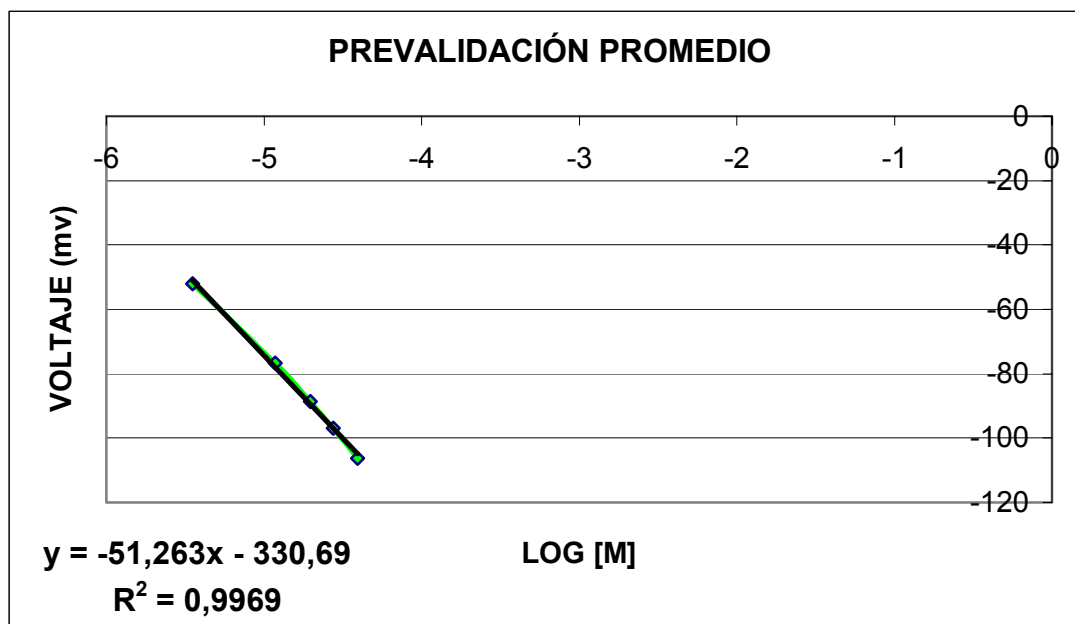


Tabla 10. Datos para el estudio de la sensibilidad del método en el análisis de yodo.

VOLTAJE (mv)									
		Día1	Día2	Día3	Día4	Día5	Día6	Día7	PROM
[ppm]	Log[M]								
0.0		89.5	90.7	95.3	89.5	95.9	93.4	88.5	91.8
0.5	-5.450	-55.9	-51.2	-53.8	-50.6	-47.9	-50.1	-54.2	-52.1
1.5	-4.928	-79.6	-78.2	-79.9	-73.7	-71.3	-75.3	-79.3	-76.8
2.5	-4.706	-91.3	-88.9	-91.6	-88.3	-84.3	-85.1	-90.1	-88.5
3.5	-4.559	-99.7	-97.1	-99.9	-96.7	-92.8	-94.8	-96.8	-96.9
5.0	-4.405	-109	-106	-108	-104	-102	-103	-108	-106

Figura 13. Grafica para la determinación de la sensibilidad promedio del método en el análisis de yodo.



Una vez realizado el análisis, se encontró que la sensibilidad del método para el estudio de fluor fue de 58.651 mv / ppm y para el caso del yodo fue de 51.263 mv / ppm. La sensibilidad se debe a las pequeñas variaciones en la concentración del analito.

Entre mayor sea la pendiente mas sensible es el método. Los métodos para el análisis de fluor y yodo gozan de una excelente sensibilidad ayudando a realizar mejor las mediciones y ha no errar en la toma de datos falsos por parte del equipo.

3.1.5 Límite de detección y límite de cuantificación

Una vez realizada la curva de calibración, se procedió a medir 5 soluciones blanco para cada día obteniendo un lote de 35 blancos medidos, con los cuales se determinó el límite de detección y el límite de cuantificación.

Las tablas 11 y 12 revelan los resultados de los blancos medidos en el análisis de fluor y yodo respectivamente.

Tabla 11. Datos alcanzados para el cálculo del límite de detección y de cuantificación en el análisis de fluor.

	CONCENTRACIÓN (ppm)						
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
BK1	0.01597	0.01546	0.014.98	0.01457	0.01482	0.01531	0.01463
BK2	0.01456	0.01487	0.01474	0.01482	0.01499	0.01478	0.01524
BK3	0.01516	0.01533	0.01502	0.01472	0.01469	0.01467	0.01453
BK4	0.01463	0.01517	0.01536	0.01545	0.01487	0.01451	0.01423
BK5	0.01455	0.01488	0.01435	0.01541	0.01529	0.01508	0.01461
PROMEDIO	0.014913						
DESVIACION ESTANDAR	0.0003879						
COEFICIENTE DE VARIACIÓN	2.601%						

Las mediciones de estos blancos se realizaron después haber medido las soluciones patrón para la elaboración de la curva de calibración en cada uno de los 7 días.

Una vez realizado los cálculos se observó que el coeficiente de variación no supera el 10% por lo cual los límites de detección y cuantificación no van a presentar inconsistencia respecto los valores de los blancos.

Mediante el uso de la ecuación (1) y (2) se calculó tanto el límite de detección como el de cuantificación para el análisis de fluor respectivamente.

- Límite de detección fue de 0.014913 ppm
- Límite de cuantificación fue de 0.01879 ppm.

Tabla 12. Datos alcanzados para el cálculo del límite de detección y de cuantificación en el análisis de yodo.

	CONCENTRACIÓN (ppm)						
	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5	DÍA 6	DIA 7
BK1	0.01254	0.01236	0.01230	0.01261	0.01219	0.01285	0.01274
BK2	0.01217	0.01255	0.01263	0.01247	0.01228	0.01273	0.01271
BK3	0.01289	0.01299	0.01255	0.01248	0.01216	0.01256	0.01274
BK4	0.01266	0.01258	0.01293	0.01261	0.01237	0.01251	0.01228
BK5	0.01244	0.01239	0.01257	0.01281	0.01277	0.01259	0.01267
PROMEDIO							
0.01256							
DESVIACION ESTANDAR							
0.0002157							
COEFICIENTE DE VARIACIÓN							
1.7170							

Utilizando el mismo procedimiento de medición y cálculo, se obtuvo que el límite de detección del método para el análisis de yodo fue de 0.01256 ppm y el límite de cuantificación fue de 0.001472.

Cabe resaltar que en cada uno de los patrones preparados tanto de fluor como de yodo en la fase de la prevalidación, se les adicionó su correspondiente ajustador de la fuerza iónica. TISAB para el caso de fluor e ISA para el análisis de yodo.

3.2 VALIDACIÓN

Ya determinados los parámetros de funcionamiento, se procedió a realizar la validación de este método.

3.2.1 Estudios de precisión

3.2.1.1 Análisis de fluor

- **Repetibilidad**

En el análisis de fluor, se prepararon 2 soluciones patrón; una solución de concentración baja, 1ppm, y una solución de concentración alta, 5ppm. Cada solución patrón se corrió durante 7 días y en cada día se realizaron 4 replicas de cada solución. Vale la pena resaltar que a cada uno de los patrones preparados se le adicionó el ajustador de la fuerza iónica, para este caso el TISAB. La curva de calibración que se utilizó para empezar el análisis de la precisión del método fue la que se ilustra en la figura 12. Los datos de este análisis se muestran en la tabla 13 y 14.

Tabla 13. Datos de voltaje obtenidos en el estudio de precisión del método para un estándar de 1ppm.

VOLTAJE (mv) PARA LA CONCENTRACIÓN DE 1 PPM.

	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
n1	-152,34	-154,61	-161,69	-155,79	-155,06	-156,49	-161,68
n2	-152,41	-155,04	-152,694	-156,09	-155,40	-156,79	-152,44
n3	-152,51	-155,31	-152,75	-156,40	-155,617	-156,86	-152,47
n4	-152,63	-155,52	-152,80	-156,57	-155,72	-157,31	-152,50
	-151,00		-153,15			-162,58	-152,54

Utilizando la ecuación de la curva de calibración de la figura 12 y ya habiendo obtenido los valores de voltaje, se procedió a determinar la concentración en ppm para cada uno de los anteriores.

Tabla 14. Concentraciones de cada uno de los valores de voltaje para el estándar de 1 ppm.

CONCENTRACION EXPERIMENTAL DE 1PPM							
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
n1	0,9813	1,073	1,417	1,124	1,092	1,155	1,416
n2	0,9841	1,091	0,9951	1,137	1,107	1,169	0,9854
n3	0,9877	1,103	0,9974	1,151	1,116	1,172	0,9867
n4	0,9925	1,112	0,9995	1,159	1,121	1,193	0,9879
	0,9311		1,0133			1,467	0,9892
Valor Q	0,9311		1.417			1,467	1.416
Calculado	4.482		2.220			7.211	8.457
Q Tabla	0.831		0.831			0.831	0.831
Rechazo Prom rij	SI 0,9864	1,095	SI 1,001	1,143	1,109	SI 1,162	SI 0,9873
Prom ri =	1.0691						
VAR	2,34E-05	2,84E-4	6,69E-05	2,38E-4	1,62E-4	2,46E-4	2,64E-06
Sva	0,00102443						
VAR 1ppm	0.00014635						
%C.V	0.49%	0.48%	0.81%	1.35%	1.15%	1.35%	0.1646%

Donde **Prom rij** es el promedio de los valores obtenidos en cada día, **prom ri** es el promedio del promedio **rij**, **VAR** es la varianza de cada uno de los días, **Sva** es la sumatoria de las varianzas encontradas en cada día, **VAR 1ppm** es la varianza total para la concentración de 1ppm.

Vale la pena mencionar que dentro de la tabla se encuentran los valores despreciados (color azul). Para rechazar estos datos se utilizó la prueba de la Q de Dixon:

$$Q = \frac{V \text{ sospechoso} - V \text{ mas cercano}}{V \text{ mas grande} - V \text{ mas pequeño}}$$

Donde **V** es el valor correspondiente. Este valor de Q se compara con el valor de Q de la tabla (Ver anexos) utilizando un intervalo de confianza del 95%. Si el valor de Q calculado es > Q de tablas, el dato se rechaza. Esto se hizo con el fin de omitir resultados extraños que conducirían a un mal cálculo de los parámetros estadísticos a analizar. Para el estándar de concentración alta (5 ppm) se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 15. Datos de voltaje obtenidos en el estudio de precisión del método para un estándar de 5 ppm.

VOLTAJE (mv) PARA LA CONCENTRACIÓN DE 5 PPM.

	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
n1	-193.73	-194.29	-197.66	-192.21	-193.60	-194.68	-193.51
n2	-193.92	-194.36	-194.37	-193.71	-193.67	-194.78	-193.60
n3	-194.01	-194.46	-194.46	-193.76	-193.72	-194.85	-193.67
n4	194.10	-194.47	-194.53	-193.79	-193.74	-194.89	-193.73
			-194.59	-193.87		-197.53	

Los valores de concentración para este estándar se hallaron con el mismo procedimiento descrito para el estándar de concentración baja utilizando la misma grafica descrita en el análisis anterior como lo describe la tabla 16.

Tabla 16. Concentraciones de cada uno de los valores de voltaje para el estándar de 5 ppm.

CONCENTRACION EXPERIMENTAL DE 5 PPM							
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
n1	4.984	5.093	5.814	4.695	4.957	5.172	4.941
n2	5.022	5.107	5.111	4.981	4.972	5.193	4.957
n3	5.038	5.128	5.129	4.989	4.981	5.207	4.972
n4	5.058	5.131	5.142	4.995	4.986	5.215	4.984
			5.145	5.012		5.784	
Valor Q Calculado			5.814	4.695		5.784	
Q Tabla			19.68	9.226		13.42	
Rechazo Prom rij			SI	SI		SI	
	5.026	5.115	5.134	4.994	4.994	4.974	5.197
Prom ri =	5.058						
VAR	9.82E-4	3.24E-4	3.53E-4	1.73E-4	1.62E-4	3.55E-4	3.47E-4
Sva	0.0026963						
VAR 5ppm	0.0003859						
%C.V	0.624%	0.352%	0.366%	0.263%	0.255%	0.379%	0.358%

Las abreviaturas utilizadas en esta tabla tienen el mismo significado de la tabla de concentraciones para el estándar bajo.

Para los estándares de baja y alta concentración para el análisis de fluor se concluyó que la precisión en términos de repetibilidad se encontraba dentro de los límites sugeridos como aceptable, ya que los coeficientes de variación de cada uno de los análisis realizados en cada día no superan el 10% y por ende, las lecturas van a ser estables.

- **Reproducibilidad**

Para el análisis de la reproducibilidad se hizo el estudio variando el día en que este se hacía. Obteniendo de esta forma un promedio para cada día en que se realizó el análisis para cada uno de los estándares (bajo y alto) y un promedio total resultado de los promedios de cada uno de estos días. En el estudio de la precisión en términos de la reproducibilidad quedó revelado en la siguiente tabla.

Tabla 17. Reproducibilidad para el análisis de fluor

REPRODUCIBILIDAD PARA EL ANÁLISIS DE FLUOR									
Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	PROM	S	%C.V
0,9864	1,095	1,001	1,143	1,109	1,162	0,9873	1.0691	0.005754	0.54%
5.026	5.115	5.134	4.994	4.994	4.974	5.197	5.058	0.008226	0.16%

Como en el caso de la repetibilidad, la reproducibilidad también goza de un nivel confiable ya que sus coeficientes de variación no superan el 10%.

Terminado el estudio de la precisión del método para el análisis de fluor se realizó el correspondiente ANOVA descrito en la tabla 2 y 3. Estos fueron los resultados arrojados:

Tabla 18. Valores del ANOVA para el estudio de la precisión del método.

CUADRADOS MEDIOS PARA DÍAS (CM_D)	<i>0.02796</i>
CUADRADOS MEDIOS DE REPLICAS (CM_R)	<i>0.00026577</i>
VARIANZA DE LA REPETIBILIDAD (SR^2)	<i>0,00026577</i>
VARIANZA ENTRE LOS DÍAS (SD^2)	<i>0.00699</i>
VARIANZA INTERMEDIA (SI^2)	<i>0.00725577</i>

Realizado el ANOVA se hizo un test de hipótesis con la prueba de la F para comprobar que no existían diferencias significativas entre los dos estándares utilizados para el estudio de la precisión. En este estudio se utilizó un intervalo de confianza del 95% y se analizó las varianzas totales de cada uno de los dos estándares.

Tabla 19. Test de hipótesis y prueba de la F para el análisis de fluor

ESTUDIO DE PRECISIÓN ENTRE LAS DOS CONCENTRACIONES	
TEST DE HIPÓTESIS	$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2$ $H_1: \sigma_1^2 \neq \sigma_2^2$ <p><i>H₀: Hipótesis nula</i></p> <p><i>H₁: Hipótesis alternativa</i></p> <p>σ_1^2: Varianza estándar de concentración baja (1ppm)</p> <p>σ_2^2: Varianza estándar de concentración baja (5ppm)</p>
ESTÁNDAR BAJO (1 ppm)	Varianza: 0.0001464
ESTANDAR ALTO (5 ppm)	Varianza: 0.0003852
FACTOR ESTADÍSTICO	$F_0 = S_2^2 / S_1^2$
GRADOS DE LIBERTAD	$n-1 = 7$
VALOR F CALCULADO	$F_0 = 2.631$
VALOR F TABULADO	$F = 5.820$
2.631 > 5.820 (Falso)	

Dado que el criterio de rechazo no se cumple para el anterior test de hipótesis, se concluyó que existen diferencias significativas entre las varianzas de los dos estándares por lo tanto la diferencia en la concentración de los estándares afecta la precisión del método analizado.

Tabla 20. Test de hipótesis y prueba de la F en términos de reproducibilidad y repetibilidad.

REPRODUCIBILIDAD Y REPETIBILIDAD

<i>FUENTE</i>	<i>1.0 ppm</i>	<i>5.0 ppm</i>
Replicas	0.0001464	0.0003852
Días	0.00575376	0.008822624
F calculado	39.30	22.90
F Tabulado	5.820	5.820

Una vez realizado el anterior test de hipótesis se concluyó que al cambiar el día en los análisis este afecta la precisión de los resultados obtenidos a un nivel de confianza del 95%.

3.2.1.2 Análisis de yodo

- **Repetibilidad**

Para el análisis de la precisión en términos de la repetibilidad para el estudio de yodo se utilizó el mismo procedimiento que para el estudio de fluor, con la única diferencia que se utilizó como patrón de concentración baja una solución de 0.5 ppm y patrón de concentración alta una solución de 4.5 ppm, seguido de la adición de 10 mL de ISA. Los datos que se obtuvieron fueron los siguientes:

Tabla 21. Datos de voltaje obtenidos en el estudio de precisión del método para un estándar de 0.5 ppm.

VOLTAJE (mv) PARA LA CONCENTRACIÓN DE 0.5 PPM.

	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
n1	-315.76	-310.99	-315.07	-311.89	-314.29	-316.16	-311.68
n2	-315.89	-315.96	-315.19	-315.71	-314.53	-316.26	-316.22
n3	-316.05	-316.10	-315.40	-315.90	-314.64	-316.46	-316.37
n4	-316.26	-316.22	-315.59	-315.99	-314.79	-316.55	-316.47
		-316.42		-316.08			-316.54

Se utilizó la ecuación de la curva de calibración de la figura 13 para obtener los valores de concentración.

Tabla 22. Concentraciones de cada uno de los valores de voltaje para el estándar de 0.5 ppm.

CONCENTRACION EXPERIMENTAL DE 0.5 PPM							
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
n1	0.5114	0.4129	0.4957	0.4297	0.4787	0.5206	0.4258
n2	0.5146	0.5159	0.4982	0.5103	0.4839	0.5231	0.5221
n3	0.5181	0.5193	0.5031	0.5147	0.4863	0.5277	0.5256
n4	0.5229	0.5221	0.5075	0.5166	0.4896	0.5299	0.5279
		0.5268		0.5189			0.5296
Valor Q Calculado		0.4129		0.4297			0.4258
Q tabla		9.45		9.71			12.84
Rechazo Prom rij		SI		SI			SI
	0.5139	0.5182	0.4998	0.5149	0.4826	0.5233	0.5257
Prom ri =	0.5112						
VAR	2.43E-5	2.13E-5	2.75E-5	1.33E-5	2.11E-5	1.80E-5	1.05E-5
Sva	0.000136						
VAR 0.5ppm	1.941E-5						

Para el estándar de concentración alta (4.5 ppm) se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 23. Datos de voltaje obtenidos en el estudio de precisión del método para un estándar de 4.5 ppm.

VOLTAJE (mv) PARA LA CONCENTRACIÓN DE 4.5 PPM.

	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
n1	-363.93	-364.26	-375.74	-364.32	-364.12	-364.32	-362.25
n2	-363.97	-364.27	-364.23	-364.35	-364.17	-364.36	-364.41
n3	-364.00	-364.28	-364.27	-364.39	-364.21	-364.40	-364.45
n4	-364.04	-364.33	-364.31	-364.43	-364.26	-364.43	-364.50
			-364.34				-364.55

Una vez obtenido los valores de voltaje se procedió con la ayuda de la curva de calibración para el análisis de yodo a determinar las concentraciones de cada una de las replicas realizadas en cada día.

Tabla 24. Concentraciones de cada uno de los valores de voltaje para el estándar de 4.5 ppm.

CONCENTRACION EXPERIMENTAL DE 4.5 PPM							
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
n1	4.451	4.517	4.826	4.529	4.489	4.529	4.127
n2	4.459	4.519	4.511	4.535	4.498	4.538	4.547
n3	4.465	4.521	4.520	4.543	4.507	4.546	4.555
n4	4.472	4.531	4.528	4.552	4.518	4.552	4.567
			4.533				4.576
Valor Q Calculado			4.826				4.127
Q tabla			13.32				14.48
Rechazo Prom rij			0.831				0.831
			SI				SI
	4.476	4.525	4.530	4.557	4.512	4.541	4.574
Prom ri =	4.5307						
VAR	8.70E-5	3.87E-5	9.27E-5	9.96E-5	1.54E-4	9.97E-5	1.64E-4
Sva	7.362E-4						
VARt 4.5ppm	1.051E-4						

Donde **Prom r_{ij}** es el promedio de los valores obtenidos en cada día, **prom r_i** es el promedio del promedio **r_{ij}** , **VAR** es la varianza de cada uno de los días, **Sva** es la sumatoria de las varianzas encontradas en cada día, **VAR t** es la varianza total para el estándar con el que se esta trabajando.

En el estudio de precisión para el análisis de yodo se aplicó también la prueba de la Q Dixon para asegurar que algunos datos dudosos se pudieran rechazar.

- **Reproducibilidad**

Para el estudio de la precisión en términos de reproducibilidad para el análisis de yodo se empleó el procedimiento para este estudio en el análisis de fluor. La siguiente tabla revela los resultados obtenidos.

Tabla 25. Reproducibilidad para el análisis de yodo

REPRODUCIBILIDAD PARA EL ANÁLISIS DE YODO									
Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	PROM	S	%C.V
							0.5112	0.0002290	0.0448%
0.5139	0.5182	0.4998	0.5149	0.4826	0.5233	0.5257			
							4.5307	0.001008	0.0222%
4.476	4.525	4.530	4.557	4.512	4.541	4.574			

Terminado el estudio de la precisión del método para el análisis de yodo se realizó el correspondiente ANOVA descrito en la tabla 2 y 3. Estos fueron los resultados arrojados:

Tabla 26. Valores del ANOVA para el estudio de la precisión del método.

CUADRADOS MEDIOS PARA DÍAS (CM_D)	<i>0.002474</i>
CUADRADOS MEDIOS DE REPLICAS (CM_R)	<i>0.00006226</i>
VARIANZA DE LA REPETIBILIDAD (SR^2)	<i>0,00006231</i>
VARIANZA ENTRE LOS DÍAS (SD^2)	<i>0,000602924</i>
VARIANZA INTERMEDIA (SI^2)	<i>0,000665224</i>

Realizado el ANOVA en este análisis se hizo un test de hipótesis con la prueba de la F para comprobar que no existían diferencias significativas entre los dos estándares utilizados para el estudio de la precisión. En este análisis también se utilizó un intervalo de confianza del 95% y se analizó las varianzas totales de cada uno de los dos estándares.

Tabla 27. Test de hipótesis y prueba de la F para el análisis de yodo

ESTUDIO DE PRECISIÓN ENTRE LAS DOS CONCENTRACIONES	
TEST DE HIPÓTESIS	$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2$ $H_1: \sigma_1^2 \neq \sigma_2^2$ <p><i>H₀: Hipótesis nula</i></p> <p><i>H₁: Hipótesis alternativa</i></p> <p>σ_1^2: Varianza estándar de concentración baja (0.5ppm)</p> <p>σ_2^2: Varianza estándar de concentración baja (4.5ppm)</p>
ESTÁNDAR BAJO (0.5 ppm)	Varianza: 1.941E-5
ESTANDAR ALTO (4.5 ppm)	Varianza: 0.0001051
FACTOR ESTADÍSTICO	$F_o = S_2^2 / S_1^2$
GRADOS DE LIBERTAD	$n-1 = 7$
VALOR F CALCULADO	$F_o = 5.4143$
VALOR F TABULADO	$F = 5.820$
$5.4143 > 5.820$ (falso)	

Para el estudio de yodo, el criterio de rechazo no cumple con el anterior test de hipótesis planteado. Por tal razón también existen diferencias significativas entre los dos estándares utilizados para el análisis afectando significativamente la precisión del método empleado.

Tabla 28. Test de hipótesis y prueba de la F en términos de reproducibilidad y repetibilidad.

REPRODUCIBILIDAD Y REPETIBILIDAD

FUENTE	0.5 ppm	4.5 ppm
Replicas	0.00001941	0.0001051
Días	0.0002291	0.001008
F calculado	11.80	9.59
F Tabulado	5.820	5.820

Realizado el anterior test de hipótesis al cambiar el día del análisis se vera afectada la precisión del método, habrá una diferencia significativa entre los días en que se realice el análisis para determinar yodo en sal de consumo humano. Vale la pena mencionar que este tratamiento estadístico se hizo a un nivel de confianza del 95%.

3.2.2 Veracidad

En esta fase de la validación se analizó tanto el sesgo proporcional como el porcentaje de recuperación.

3.2.2.1 Sesgo proporcional

Para el análisis del sesgo proporcional se utilizó la curva de las adiciones estándar realizada para el cálculo del porcentaje de recuperación del método.

Para la verificación de la veracidad se manipuló la matriz sal no refinada sin fluor ni yodo y se tomó 3 soluciones patrón; una solución de concentración baja, 1ppm, una solución de concentración intermedia, 2.5 ppm, y una solución de concentración alta, 5.0 ppm.

3.2.2.2 Recuperación del método

El porcentaje de recuperación se analizó mediante la técnica de las adiciones estándar. Donde la recuperación promedio se tomó como la media de cada una de las recuperaciones en los tres niveles de concentración analizados. Se considera una buena recuperación aquella que oscila en un intervalo del 95-105%

Para el análisis de fluor y yodo se preparó una solución patrón de 50 ppm. De la cual se prepararon los patrones de baja, intermedia y alta concentración. A cada uno de estos patrones se les adicionó 2.5 g de sal no refinada sin fluor ni yodo, 10 mL de TISAB para el análisis de fluor ó 10 mL de ISA para el análisis de yodo, formando así un lote de 4 soluciones incluyendo un blanco. Este lote se corrió en un periodo de 10 días obteniendo una curva de calibración promedio, de la cual su pendiente nos expresa la recuperación del método y el intercepto con el eje Y nos muestra el sesgo proporcional del método. Las tablas 29, 30, 31 y 32 muestran los resultados obtenidos junto con las graficas 14 y 15 revelan todo el estudio de la veracidad del método en los análisis tanto de fluor como de yodo.

3.2.2.2.1 Análisis de fluor

Las soluciones patrón que se corrieron fueron las siguientes: BK es el blanco, A1 es el estándar de concentración baja, A2 es el estándar de concentración intermedia, A3 es el estándar de concentración alta.

Tabla 29. Datos revelados en el estudio de la veracidad para el análisis de fluor.

VOLTAJE (mv)					
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Bk	90.32	93.61	89.74	89.96	90.45
A1	-152.27	-152.34	-129.37	-152.06	-152.25
A2	-175.87	-175.78	-175.84	-175.88	-175.89
A3	-193.57	-193.58	-193.63	-193.61	-182.89

VOLTAJE (mv)					
	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9	Día 10
Bk	90.65	89.88	90.12	90.24	90.31
A1	-152.30	-152.33	-152.34	-152.10	-152.09
A2	-175.87	-175.99	-171.51	-175.87	-175.86
A3	-193.63	-193.64	-193.61	-193.67	-194.32

Para determinar la concentración de estos estándares en el estudio del fluor se utilizó la gráfica de la prevalidación promedio para este elemento ilustrada en la figura 12.

Tabla 30. Concentraciones de los estándares para el análisis de fluor.

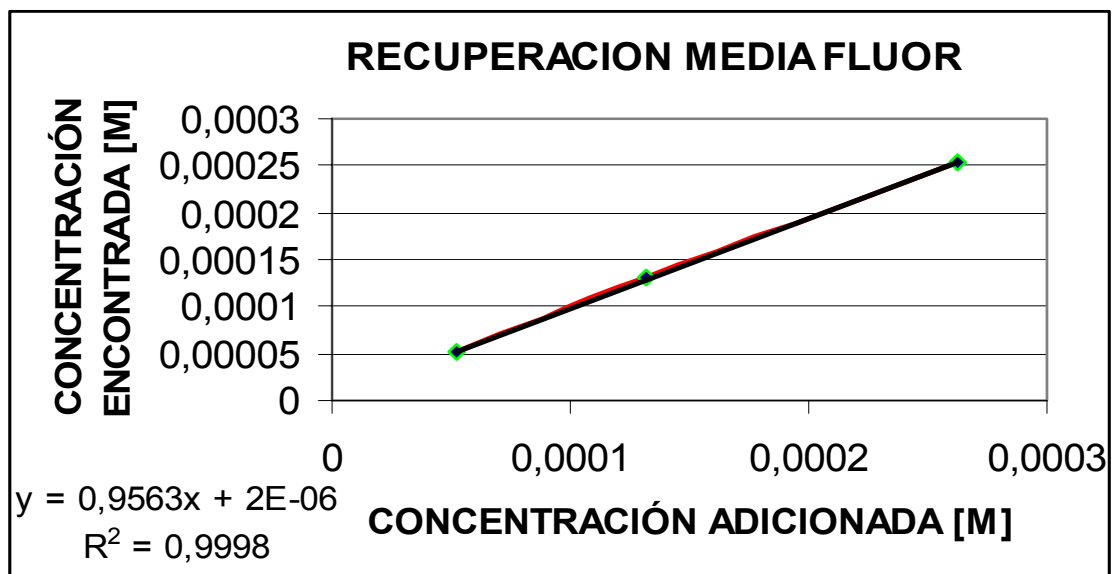
CONCENTRACIÓN (ppm)					
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Bk					
A1	0.9787	0.9812	0.3984	0.9707	0.9779
A2	2.472	2.463	2.469	2.473	2.474
A3	4.953	4.954	4.964	4.959	3.256
Valor			0.3984		3.256
Q Calculado			59.61		11.46
Q Tabulado			0.831		0.831

CONCENTRACIÓN (ppm)					
	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9	Día 10
Bk					
A1	0.9798	0.9813	0.9815	0.9722	0.9719
A2	2.472	2.483	2.087	2.472	2.471
A3	4.965	4.963	4.959	4.972	5.101
Valor			2.087		
Q Calculado			18.8		
Q Tabulado			0.831		

CONCENTRACION						
	Promedio (ppm)	[M] encontrada	Concentración adicionada	[M] adicionada	S	%C.V
Bk	0.0	0.0	0.0	0.0		
A1	0.9772	5.14E-5	1.0	5.26E-5	0.0044	0.452%
A2	2.472	1.30E-4	2.5	1.32E-4	0.0052	0.211%
A3	4.805	2.53E-4	5.0	2.63E-4	0.0469	0.978%

Los datos revelados en las tablas anteriores gozan de una buena confiabilidad ya que se basó en el porcentaje del coeficiente de variación. Como se pudo apreciar los coeficientes de variación no superan el 1 % por lo tanto la desviación estándar como los resultados de los estándares analizados son datos seguros en un intervalo de confianza del 95 %.

Figura 14. Curva de calibración promedio para el estudio de la recuperación del método en el análisis de fluor.



A partir de la ecuación de la recta, se obtuvo que el porcentaje de recuperación del método para el análisis de fluor fue de 95.63% y por lo tanto, afirmando que esta recuperación es buena ya que se encuentra dentro del intervalo de recuperación aceptable (95-105%).

El método para el análisis de fluor tiene un sesgo proporcional de 0.038 ppm ó 0.000002M.

3.2.2.2.2 Análisis de yodo

Tabla 31. Datos revelados en el estudio de la veracidad para el análisis de yodo.

VOLTAJE (mv)					
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Bk	-154.36	-155.92	-155.69	-155.87	-155.45
A1	-329.51	-329.57	-329.49	-329.57	-329.50
A2	-345.97	-350.49	-350.63	-350.58	-345.51
A3	-364.94	-365.38	-365.13	-354.68	-365.54

VOLTAJE (mv)					
	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9	Día 10
Bk	-155.43	-155.71	-154.98	-155.36	-156.03
A1	-329.54	-329.58	-329.34	-329.36	-329.58
A2	-350.63	-350.67	-345.98	-350.66	-350.65
A3	-365.58	-355.11	-365.65	-365.44	-366.97

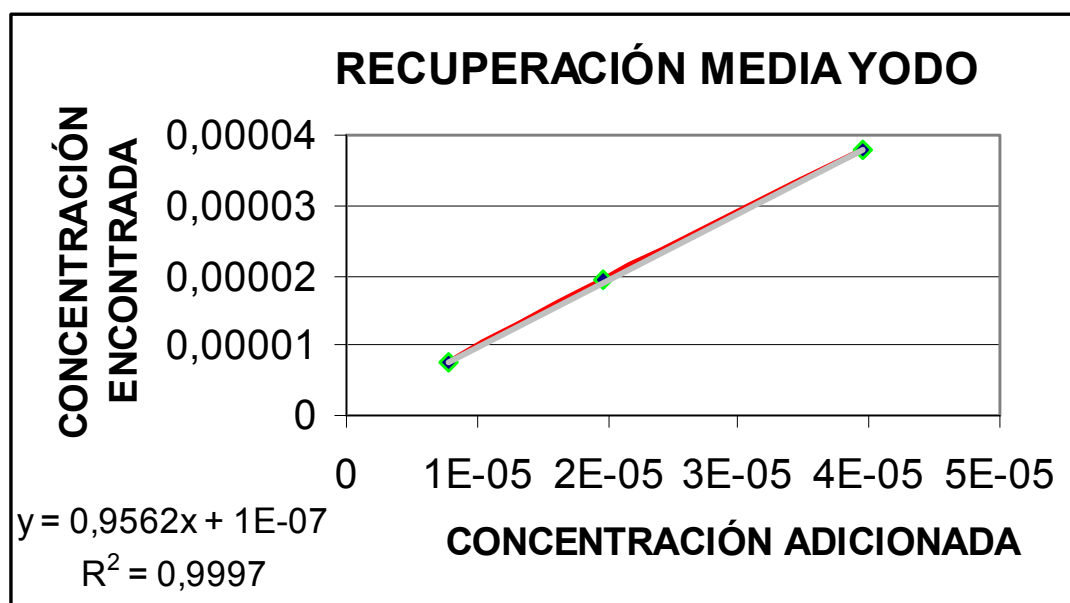
Tabla 32. Concentraciones de los estándares para el análisis de yodo

CONCENTRACIÓN (ppm)					
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Bk					
A1	0.9486	0.9509	0.9475	0.9508	0.9481
A2	1.986	2.433	2.449	2.443	1.945
A3	4.657	4.751	4.698	2.938	4.785
Valor	1.986			2.938	1.945
Q Calculado	22.35			3.854	24.4
Q Tabulado	0.831			0.831	0.831

CONCENTRACIÓN (ppm)					
	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9	Día 10
Bk					
A1	0.9496	0.9512	0.9411	0.9421	0.9514
A2	2.449	2.453	1.987	2.452	2.451
A3	4.815	2.995	4.809	4.762	5.103
Valor		2.995	1.987		
Q Calculado		3.726	22.3		
Q Tabulado		0.831	0.831		

CONCENTRACIÓN						
	Promedio (ppm)	[M] encontrada	Concentración adicionada	[M] adicionada	S	%C.V
Bk						
A1	0.9481	7.47E-6	-5.127	7.87E-6	0.00370	0.390%
A2	2.447	1.93E-5	-4.714	1.97E-5	0.00703	0.287%
A3	4.797	3.77E-5	-4.424	3.94E-5	0.1347	2.808%

Figura 15. Curva de calibración promedio para el estudio de la recuperación del método en el análisis de yodo.



El porcentaje de recuperación del método para el análisis de yodo fue de 95.62% con un sesgo proporcional de $1 \cdot 10^{-7} \text{M}$ o 0.013 ppm.

Cabe resaltar que los datos de color azul son aquellos datos rechazados por medio de la prueba de la Q de Dixon.

3.3 ESTIMACIÓN DE LOS COMPONENTES DE LA INCERTIDUMBRE

3.3.1 Análisis de fluor

3.3.1.1 Incertidumbre del procedimiento.

Este tipo de incertidumbre se calculó según la ecuación (5). Donde la varianza de la precisión fue la calculada en términos de la precisión intermedia, R es la recuperación del método analizado, en este caso para el estudio de fluor

Ps fue el número de lotes necesarios para este estudio. La tabla 33 describe los valores de cada uno de los componentes de la ecuación (5).

Tabla 33. Calculo de la incertidumbre del procedimiento para el análisis de fluor.

INCERTIDUMBRE DEL PROCEDIMIENTO	
COMPONENTE	VALOR
<i>Recuperación del método (R)</i>	0.9563
<i>Número de lotes (Ps)</i>	7
<i>Precisión intermedia (S²)</i>	0.00725577
<i>Incertidumbre del procedimiento (u_{proc})</i>	±0.03367

3.3.1.2 Incertidumbre de la verificación de la trazabilidad.

Para la determinación de este parámetro se utilizó la ecuación (6). Donde los residuales de la recta se calcularon de acuerdo con la tabla 34 y la grafica 14. A continuación se muestra los residuales calculados.

Tabla 34. Residuales calculados para el análisis de fluor.

RESIDUALES DE LA RECTA		
Valores experimentales (M)	Valores calculados (M)	RESIDUALES (M)
<i>5.14E-5</i>	<i>5.23E-5</i>	<i>8.10E-13</i>
<i>1.30E-4</i>	<i>1.28E-4</i>	<i>4.0E-12</i>
<i>2.53E-4</i>	<i>2.54E-4</i>	<i>1.0E-12</i>

Según la ecuación (6) la desviación estándar de los residuales es:

$$Se = 2.41039 E-6 M \text{ ó}$$

$$Se = 0.04579 \text{ ppm}$$

Una vez calculado la desviación estándar de los residuales se ejecutó la ecuación (7) para obtener la incertidumbre de la verificación de la trazabilidad.

Tabla 35. Cálculo de la incertidumbre de la verificación de la trazabilidad para el análisis de fluor.

INCERTIDUMBRE DE LA VERIFICACIÓN DE LA TRAZABILIDAD	
COMPONENTE	VALOR
<i>Desviación estándar de los residuales (Se)</i>	<i>0.04579 ppm</i>
<i>Recuperación del método (R)</i>	<i>0.9563 ppm</i>
<i>Cada adición realizada (C_{corr})</i>	<i>1; 2.5; 5.0 ppm</i>
<i>Concentración adicionada i a la muestra j (C_{a,ij})</i>	<i>1; 2.5; 5.0 ppm</i>
<i>Valor medio de cada uno de los C_{a,ij} (C_a)</i>	<i>2.83 ppm</i>
<i>Número de puntos de la recta de adiciones (n)</i>	<i>3</i>
<i>Incertidumbre de la trazabilidad patrón 1ppm</i>	<i>±0.04614</i>
<i>Incertidumbre de la trazabilidad patrón 2.5 ppm</i>	<i>±0.02844</i>
<i>Incertidumbre de la trazabilidad patrón 5.0 ppm</i>	<i>±0.05179</i>

3.3.1.3 Incertidumbre de la recuperación

La incertidumbre de la recuperación se calculó según la ecuación (8) donde los términos de esa igualdad ya se describieron anteriormente. La tabla 36 revela los resultados para el cálculo de la incertidumbre en la recuperación.

Tabla 36. Incertidumbres de la recuperación análisis de fluor

INCERTIDUMBRES DE LA RECUPERACIÓN ANALISIS DE FLUOR	
COMPONENTE	VALOR
<i>Desviación estándar de la pendiente de la curva de las adiciones estándar $S(bsA)^2$</i>	<i>0.03153</i>
<i>Recuperación del método (R)</i>	<i>0.9563</i>
<i>pendiente de la curva de calibración (bsc)</i>	<i>-58.651</i>
<i>Desviación estándar de la pendiente de la curva de calibración $S(bsc)^2$</i>	<i>0.00294</i>
<i>Incertidumbre de la recuperación (U(R))</i>	<i>±0.1776</i>

Una vez se obtuvo la incertidumbre de la recuperación, se realizó el test de la ecuación (3) donde t_α son los grados de libertad, para este caso su valor es de 9 por lo tanto la ecuación queda representada de la siguiente manera.

$$0.0437 \leq 1.598$$

Esta relación es verdadera, por lo que se concluye que no existe un sesgo proporcional significativo en el método para el análisis de fluor en sal para consumo humano.

Tabla 37. Incertidumbre de los resultados para el análisis de fluor

INCERTIDUMBRE DE LOS RESULTADOS PARA ANALISIS DE FLUOR			
Concentración [ppm]	U del procedimiento	U de la trazabilidad	U de los resultados
1.0	±0.03367	±0.04614	±0.07981
2.5	±0.03367	±0.02844	±0.06211
5.0	±0.03367	±0.05179	±0.08546

3.3.1.4 Incertidumbre total

La incertidumbre total se calculó según la ecuación (8) donde los términos de esta ecuación ya están descritos en los cálculos de las incertidumbres anteriores. La tabla 38 muestra el cálculo de las incertidumbres totales para cada uno de los estándares analizados.

Tabla 38. Calculo de las incertidumbres totales para el análisis de fluor.

INCERTIDUMBRES TOTALES	
COMPONENTE	VALOR
<i>Desviación estándar de los residuales (Se)</i>	<i>0.04579 ppm</i>
<i>Recuperación del método (R)</i>	<i>0.9563 ppm</i>
<i>Cada adición realizada (C_{corr})</i>	<i>1; 2.5; 5.0 ppm</i>
<i>Concentración adicionada i a la muestra j (C_{a,ij})</i>	<i>1; 2.5; 5.0 ppm</i>
<i>Valor medio de cada uno de los C_{a,ij} (C_a)</i>	<i>2.83 ppm</i>
<i>Número de puntos de la recta de adiciones (n)</i>	<i>3</i>
<i>Varianza de la precisión intermedia (S_r²)</i>	<i>0.00725577</i>
<i>Número de lotes (Ps)</i>	<i>10</i>
<i>Incertidumbre total patrón 1ppm</i>	<i>±0.05406</i>
<i>Incertidumbre total patrón 2.5 ppm</i>	<i>±0.04003</i>
<i>Incertidumbre total patrón 5.0 ppm</i>	<i>±0.05896</i>

3.3.2 Análisis de yodo

3.3.2.1 Incertidumbre del procedimiento.

En el cálculo de la incertidumbre para el análisis de yodo se utilizó la misma ecuación que para el estudio de fluor (ecuación 5). Los parámetros estipulados se encuentran descritos en el análisis para fluor.

La tabla 39 describe los valores de cada uno de los componentes de la ecuación (5).

Tabla 39. Calculo de la incertidumbre del procedimiento para el análisis de yodo.

INCERTIDUMBRE DEL PROCEDIMIENTO	
COMPONENTE	VALOR
<i>Recuperación del método (R)</i>	0.9562
<i>Número de lotes (Ps)</i>	7
<i>Precisión intermedia (S²)</i>	0.00065224
<i>Incertidumbre del procedimiento (u_{proc})</i>	±0.01009

3.3.2.2 Incertidumbre de la verificación de la trazabilidad.

Para la determinación de la incertidumbre de la verificación de la trazabilidad, se utilizó la misma ecuación para el estudio de fluor (ecuación 6). Donde los residuales de la recta se calcularon de acuerdo con la tabla 39 y la grafica 16. A continuación se muestra los residuales calculados.

Tabla 39. Residuales calculados para el análisis de yodo.

RESIDUALES DE LA RECTA		
Valores experimentales (M)	Valores calculados (M)	RESIDUALES (M)
7.47E-6	7.24E-6	5.29E-14
1.93E-5	1.86E-5	5.48E-13
3.77E-5	3.62E-5	2.403E-12

Según la ecuación (6) la desviación estándar de los residuales es:

$$Se = 1.733 E-6 M \text{ ó}$$

$$Se = 0.2201 \text{ ppm}$$

Una vez calculado la desviación estándar de los residuales se ejecutó la ecuación (7) para obtener la incertidumbre de la verificación de la trazabilidad para el estudio de yodo.

Tabla 40. Calculo de la incertidumbre de la verificación de la trazabilidad para el análisis de yodo.

INCERTIDUMBRE DE LA VERIFICACIÓN DE LA TRAZABILIDAD	
COMPONENTE	VALOR
<i>Desviación estándar de los residuales (Se)</i>	<i>0.02201 ppm</i>
<i>Recuperación del método (R)</i>	<i>0.9562 ppm</i>
<i>Cada adición realizada (C_{corr})</i>	<i>1; 2.5; 5.0 ppm</i>
<i>Concentración adicionada i a la muestra j (C_{a,ij})</i>	<i>1; 2.5; 5.0 ppm</i>
<i>Valor medio de cada uno de los C_{a,ij} (C_a)</i>	<i>2.83 ppm</i>
<i>Número de puntos de la recta de adiciones (n)</i>	<i>3</i>
<i>Incertidumbre de la trazabilidad patrón 1ppm</i>	<i>±0.02028</i>
<i>Incertidumbre de la trazabilidad patrón 2.5 ppm</i>	<i>±0.01367</i>
<i>Incertidumbre de la trazabilidad patrón 5.0 ppm</i>	<i>±0.02277</i>

3.3.2.3 Incertidumbre de la recuperación

Tabla 41. Incertidumbre en la recuperación del análisis de yodo

INCERTIDUMBRES DE LA RECUPERACIÓN ANALISIS DE YODO	
COMPONENTE	VALOR
<i>Desviación estándar de la pendiente de la curva de las adiciones estándar $S(bsA)^2$</i>	0.02308
<i>Recuperación del método (R)</i>	0.9562
<i>pendiente de la curva de calibración (bsc)</i>	-51.263
<i>Desviación estándar de la pendiente de la curva de calibración $S(bsc)^2$</i>	0.00168
<i>Incertidumbre de la recuperación (U(R))</i>	0.15192

Haciendo el análisis estadístico para la ecuación tres con un valor de tá de 9 (grados de libertad) se tiene que;

$$0.043 \leq 1.367$$

Por lo tanto no hay sesgo proporcional significativo en el método para el análisis de fluor en sal para consumo humano.

3.3.2.4 Incertidumbre de los resultados

Para obtener la incertidumbre de los resultados se hizo el cálculo para la ecuación (4) donde cada uno de sus componentes fue calculado con anterioridad.

Tabla 42. Incertidumbre de los resultados para el análisis de yodo

INCERTIDUMBRE DE LOS RESULTADOS PARA ANALISIS DE YODO			
Concentración [ppm]	U del procedimiento	U de la trazabilidad	U de los resultados
1.0	<i>±0.0109</i>	<i>±0.02028</i>	<i>±0.03385</i>
2.5	<i>±0.0109</i>	<i>±0.01367</i>	<i>±0.02620</i>
5.0	<i>±0.01009</i>	<i>±0.02277</i>	<i>±0.03641</i>

3.3.2.5 Incertidumbre total

La incertidumbre total se calculó según la ecuación (11) donde los términos de esta ecuación ya están descritos en los cálculos de las incertidumbres anteriores. La tabla 43 muestra el cálculo de las incertidumbres totales para cada uno de los estándares analizados.

Tabla 43. Calculo de las incertidumbres totales para el análisis de yodo.

INCERTIDUMBRES TOTALES	
COMPONENTE	VALOR
<i>Desviación estándar de los residuales (Se)</i>	<i>0.02201 ppm</i>
<i>Recuperación del método (R)</i>	<i>0.9562 ppm</i>
<i>Cada adición realizada (C_{corr})</i>	<i>1; 2.5; 5.0 ppm</i>
<i>Concentración adicionada i a la muestra j (C_{a,ij})</i>	<i>1; 2.5; 5.0 ppm</i>
<i>Valor medio de cada uno de los C_{a,ij} (C_a)</i>	<i>2.83 ppm</i>
<i>Número de puntos de la recta de adiciones (n)</i>	<i>3</i>
<i>Varianza de la precisión intermedia (Si)</i>	<i>0.000665224</i>
<i>Número de lotes (Ps)</i>	<i>10</i>
<i>Incertidumbre total patrón 1ppm</i>	<i>±0.02376</i>
<i>Incertidumbre total patrón 2.5 ppm</i>	<i>±0.01611</i>
<i>Incertidumbre total patrón 5.0 ppm</i>	<i>±0.02632</i>

3.4 ENSAYOS DE APTITUD

La división Laboratorio de Alimentos y Bebidas alcohólicas del Instituto Nacional de vigilancia de Medicamentos y Alimentos INVIMA realizó durante septiembre-octubre de 2005 el ensayo interlaboratorios de fluor y yodo en sal ronda 1. Para esta ronda se enviaron muestras a 32 laboratorios participantes. Cada participante recibió tres muestras control de $\pm 100,0$ g de sal tamizada, homogeneizada y transferida manualmente a frascos plásticos cerrados herméticamente. Cada una con su respectivo instructivo de manejo de material de control, planilla de resultados para la determinación de fluor y yodo.

Cada laboratorio fue instruido para realizar determinaciones por duplicado del contenido de fluor y yodo en sal utilizando el método que el laboratorio manipula previamente validado.

3.3.3 Análisis de fluor

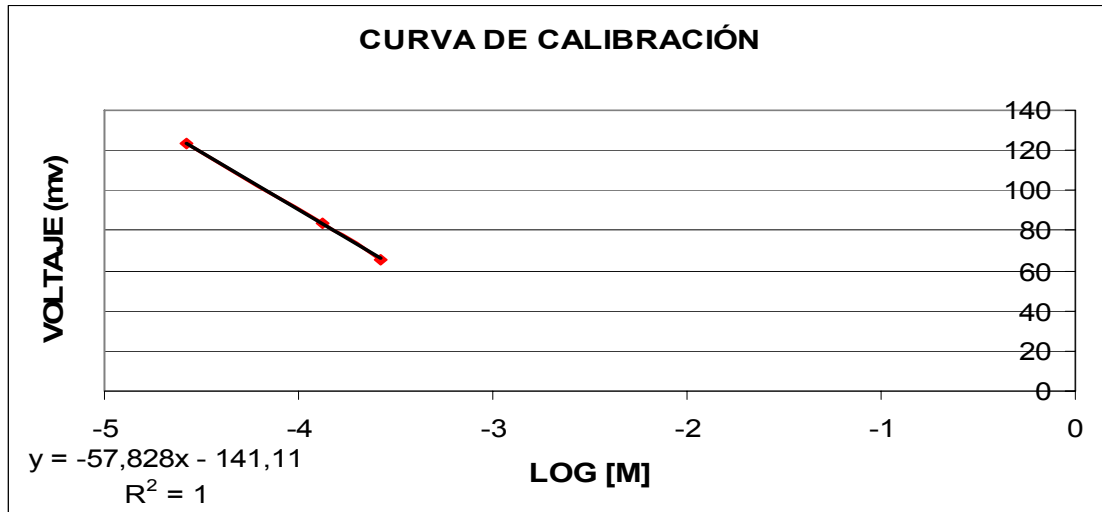
La división de alimentos del INVIMA envió tres muestras de control para la determinación de fluor denominadas de la siguiente manera; S-0201, S-0202, S-0203 desconociendo por parte del laboratorio participante la concentración (ppm) que dichas muestras contenía.

Antes de empezar con el análisis de cada una de las muestras, se prepararon tres soluciones de fluoruro de potasio (KF) de concentraciones 0.5, 2.5, 5.0 ppm. Esto se hizo con el fin de realizar una curva de calibración para tener certeza de los análisis de cada una de las muestras a estudiar. La tabla 45 muestra los datos obtenidos y su respectiva curva de calibración.

Tabla 44. Datos para la curva de calibración ensayo interlaboratorios análisis de fluor.

CURVA DE CALIBRACIÓN ENSAYO INTERLABORATORIOS			
CONCENTRACIÓN [ppm]	CONCENTRACIÓN [M]	LOG [M]	VOLTAJE (mv)
0	0		191.3
0.5	2.63E-5	-4.58	123.7
2.5	1.32E-4	-3.88	83.42
5.0	2.63E-4	-3.58	65.81

Figura 16. Curva de calibración



3.3.3.5 Preparación de la muestra

El procedimiento utilizado para la preparación de cada una de las muestras fue el siguiente; se pesó 2.5 g de cada una de las muestras y se llevó a un balón aforado de 250 mL marca NALGENE. Una vez preparada esta solución se tomó una alícuota de 10 mL, se adicionó 10 mL de ajustador de fuerza iónica TISAB y se llevó para su respectiva lectura. La tabla 46 revela los resultados del análisis en cada una de las tres muestras.

Tabla 45. Resultados de los análisis de las tres muestras.

VALORES REPORTADOS EN EL ANÁLISIS DE FLUOR					
	Duplicado 1 (mv)	Duplicado 2 (mv)	Promedio (mv)	Concentración [M]	Concentración [ppm]
S-0201	-27.44	-27.47	-27.46	0.01083	205.7
S-0202	-26.02	-26.06	-26.04	0.01023	194.5
S-0203	14.52	15.23	-14.87	0.006563	124.7

3.3.4 Análisis de yodo

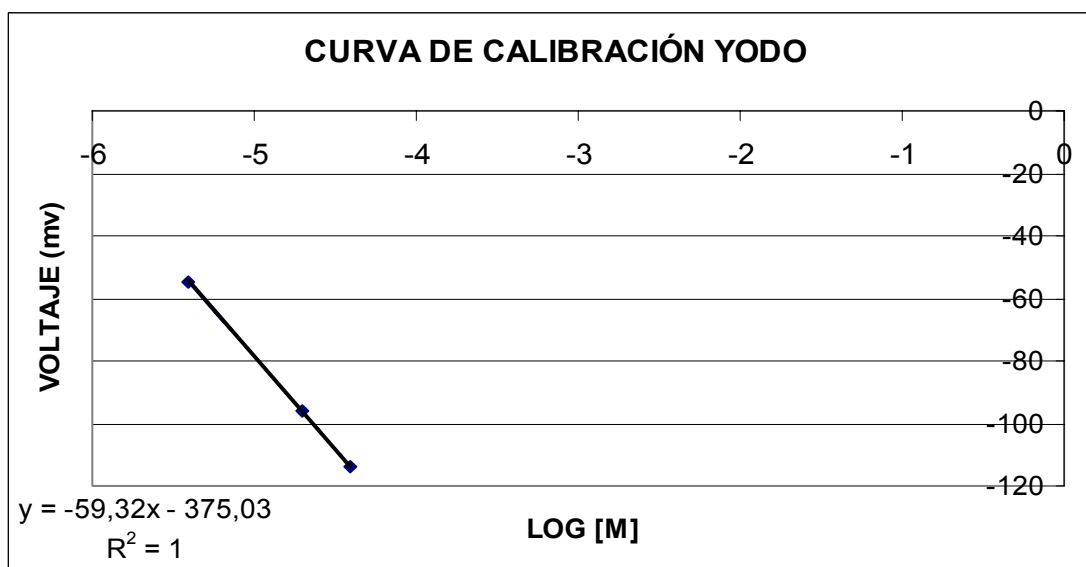
Para la determinación de yodo la división de alimentos del INVIMA envió el mismo número de muestras de control para su respectivo análisis.

Como se indicó anteriormente en el análisis de fluor, se preparo una curva de calibración con los estándares de ioduro de potasio (KI) con concentraciones de 0.5, 2.5 y 5.0 ppm. La tabla 47 muestra los datos obtenidos y su respectiva curva de calibración.

Tabla 46. Datos para la curva de calibración ensayo interlaboratorios análisis de yodo.

CURVA DE CALIBRACIÓN ENSAYO INTERLABORATORIOS			
CONCENTRACIÓN [ppm]	CONCENTRACIÓN [M]	LOG [M]	VOLTAJE (mv)
0	0		93.7
0.5	3.94E-6	-5.41	-54.5
2.5	1.97E-5	-4.71	-95.7
5.0	3.94E-5	-4.41	-113.9

Figura 17. Curva de calibración



3.3.4.5 Preparación de la muestra

El procedimiento utilizado para la preparación de cada una de las muestras fue el mismo utilizado en el análisis de fluor, con la única diferencia que a la alícuota de 10 mL se le adicionó como ajustador de la fuerza iónica ISA. La tabla 48 revela los resultados del análisis en cada una de las tres muestras.

Tabla 47. Resultados de los análisis de las tres muestras.

VALORES REPORTADOS EN EL ANÁLISIS DE YODO					
	Duplicado 1 (mv)	Duplicado 2 (mv)	Promedio (mv)	Concentración [M]	Concentración [ppm]
S-0201	-178.08	-177.83	-177.96	0.0004752	60.35
S-0202	-168.75	-167.27	-168	0.0003234	41.07
S-0203	-166.14	-165.83	-165.99	0.0002990	37.97

Una vez terminado el proceso de interlaboratorios se diligenció el documento que el INVIMA anexo con las muestras de sal.

Este proceso de interlaboratorios no se pudo culminar ya que la división de alimentos del INVIMA no ha enviado el informe final que estipula la participación del Laboratorio Departamental de Salud Pública de Santander. Debido a esto no se pudo realizar el análisis estadístico de los Z-score en cada muestra para poder anexarlos a este trabajo y poder tomar conclusiones al respecto.

4. CONCLUSIONES

Una vez se analizó la curva de calibración del material volumétrico se verificó que este material nuevo se encontraba calibrado.

La calibración de la balanza fue realizada por el laboratorio de metrología SIGMA LTDA reportando un valor de incertidumbre.

El intervalo lineal del método potenciométrico del ion selectivo para la determinación de fluor en sal para consumo humano fue de 0.0 hasta 5.3 ppm, tomando como intervalo de validación el rango desde 0.0 hasta 5.0 ppm.

El intervalo lineal del método para el análisis de yodo fue de 0.0 hasta 6.2 ppm, tomando como intervalo validación el rango desde 0.0 hasta 5.0 ppm.

La sensibilidad del equipo para el estudio de fluor fue de 58.651mv/ppm, siendo esta una sensibilidad aceptada para el análisis de este ion.

La sensibilidad del equipo para el estudio de yodo fue de 51.263mv/ppm, la cual se utilizó en todo el proceso de validación.

El límite de detección del método para el análisis de fluor fue de 0.014193 ppm, siendo esta la mínima concentración de analito detectada por el instrumento.

El límite de detección del método para el análisis de yodo fue de 0.01256ppm.

El límite de cuantificación del método para el estudio de fluor en sal para consumo humano fue de 0.01879 ppm.

El límite de cuantificación del método para el análisis de yodo fue de 0.001472 ppm.

Para el estudio de la precisión del método potenciométrico de ion selectivo en el análisis de fluor en sal para consumo humano, se encontró que la precisión en términos de repetibilidad no se veía afectada con el cambio de la concentración, situación que no cumplió la reproducibilidad ya que la precisión se veía afectada por la variación en la concentración de los estándares.

En el análisis de la precisión en el estudio de yodo se encontró que tanto la reproducibilidad como la repetibilidad no se afectaba con la variación en la concentración de la soluciones. Esto hizo que el método para la determinación de yodo sea mas preciso en comparación con el método en la determinación de fluor.

El porcentaje de recuperación del método para la determinación fluor en sal fue de 95.63%, siendo este un valor aceptado ya que se encuentra dentro del intervalo optimo de recuperación (95-105%).

El porcentaje de recuperación del método en el análisis de yodo fue de 95.62% siendo este un valor aceptado también.

El método para el análisis de fluor en sal contiene un sesgo proporcional de 0.000002 ppm. Aunque el método presenta un sesgo que no es significativo.

Para el análisis de yodo el método presento un sesgo 0.0000001 ppm, pero este al igual que en el caso del estudio de fluor no es significativo.

El equipo ORION EA-940 es un equipo que se encuentra en la capacidad de analizar una serie de aniones como de cationes específicos, haciéndolo como un aparato sofisticado, versátil, ágil, simple de manejar. Por su misma simplicidad es un aparato reductor de costos debido a que no utiliza reactivos de alto valor en comparación con otros tipos de aparatos para realizar este tipo de análisis.

La incertidumbre de los resultados para los estándares trabajados en el análisis de fluor es mayor en comparación con los estándares para el análisis de yodo debido a que el método para el estudio de fluor la reproducibilidad se ve afectada con el cambio en la concentración haciéndolo menos preciso que el método para el estudio de yodo, teniendo en cuenta que tienen un sesgo proporcional pero que no es significativo.

5. RECOMENDACIONES

Para llevar a cabo un trabajo aceptable en la determinación de fluor y yodo en sal para consumo humano se recomienda:

Antes de empezar todo análisis en el equipo analizador de iones ORION EA-940 es recomendable hacer un buen lavado del material como se sugirió en esta tesis. Esto se hace con el fin de evitar interferencias y cálculos erróneos de las concentraciones.

Mantener un control en la temperatura del laboratorio y en el voltaje del equipo para obtener datos poco variables y confiables en el análisis los cálculos respectivos.

Si el laboratorio no cuenta con patrones certificados para el análisis de la verificación de la trazabilidad y de la precisión, se recomienda utilizar la técnica de las adiciones estándar para la verificación de estos parámetros. Vale la pena mencionar que al trabajar con esta técnica el método se hace menos preciso en comparación de el uso de patrones certificados, pero tiene la ventaja de que disminuye en un alto porcentaje los costos en los análisis de el laboratorio, haciéndolo mas asequible a la población Santandereana.

Tanto para el análisis de fluor y yodo se recomienda la preparación de estándares frescos de calibración cada vez que se vaya a realizar una nueva curva de calibración o cuando se vaya a recalibrar. El objetivo de esto es obtener datos confiables de las concentraciones de los estándares de trabajo en estos tipos de análisis. A su vez verificar la curva de calibración cuando el equipo lo exija.

El uso primordial de TISAB para los análisis de fluor e ISA para los análisis de yodo como ajustadores de la fuerza iónica, para cuadrar el pH entre 5.0 y 5.5 tanto en las muestras como en los estándares, con el fin de evitar la formación de complejos de los iones fluoruro y ioduro principalmente con los iones hierro y aluminio.

En el análisis de fluor y yodo se deben enjuagar los electrodos entre medición y medición con agua desionizada y secarlos con un papel suave para prevenir soluciones sobrecargadas.

Cada vez que se haga necesario revalidar el método cuando el laboratorio lo quiera o revalidar cuando se introduzca una nueva metodología. Se debe tener en cuenta los datos estadísticos de la antigua validación para llevar a cabo un certificado en el cambio de las propiedades del método. Cabe resaltar que cuando se quiere revalidar, es para aumentar la confiabilidad en los resultados que se tengan, aumentando así la precisión del método haciéndolo mas trazable a patrones certificados.

Aplicar la validación de metodologías analíticas a todos los métodos utilizados tanto por el laboratorio de alimentos como por el laboratorio de medicamentos y bebidas alcohólicas del Laboratorio Departamental de Salud, con el fin de dar cumplimiento a la norma 17025 y obtener su respectiva acreditación.

BIBLIOGRAFIA

1. INSTITUTO NACIONAL DE VIGILANCIA DE MEDICAMENTOS Y ALIMENTOS. INVIMA. Manual de técnicas analíticas utilizadas en el control de calidad de la sal para el consumo humano. Santa fe de Bogotá, 1997.
2. PRETELL, A. Eduardo. *et al.* Consenso sobre los desordenes por deficiencia de yodo en Latinoamérica. Cuba 1997. XIV congreso panamericano de endocrinología.
3. DAZA, H. Carlos. Malnutrición de micronutrientes. Estrategias de prevención y control. EN: Colombia médica, Vol. 32 N° 2. Cali (Colombia), 2001.
4. INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS. Requisitos generales relativos la competencia de laboratorios de ensayo y calibración. Bogotá: ICONTEC, 2001. : il. (NTC-ISO-IEC 17025).
5. ORGANIZACIÓN NACIONAL DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. Validación de productos. Boletín N° 21. México, 2002.
6. INSTRUCTION MANUAL EA – 940. Expandable Ion Analyser. Cambridge, USA: Orion Research Incorporated. Laboratory products group, 2000.

7. MAROTO SÁNCHEZ, Alicia. Incertidumbre en métodos analíticos de rutina. Tarragona, España. 2002. 1-304 p. Tesis de grado (Doctor en Química). Universidad de Rovira y Virginia. Departamento de Química Analítica y Química Orgánica.
8. RUIS, Xavier F. *et al.* La validación de métodos analíticos. España, 2002. Universidad de Rovira y Virginia. Departamento de Química Analítica y Química Orgánica. Instituto de Estudios Avanzados.
9. DELGADO MIRABET, Dulce Maria. Aspectos fundamentales en la validación de métodos de ensayo. Cuba, 2004. Instituto de Investigaciones en Normalización.
10. RUISANCHEZ, Itziar. *et al.* Validación de métodos analíticos cualitativos. España, 2001. Universidad de Rovira y Virginia. Departamento de Química Analítica y Química Orgánica. Grupo de quimiometría y cualimetría.
11. SKOOG, Douglas A. *et al.* Principios de Análisis Instrumental. Quinta ed. España, 2001: Mc Graw Hill. Anexos.
12. CODEX ALIMENTARIUS. Validación por un solo laboratorio, examen de las directrices armonizadas de la IUPAC para la validación de métodos de análisis. Budapest -Hungría, 18-22 de noviembre del 2002.
13. AGUILAR CASTILLO, Beatriz. HERNANDEZ GONZALES, Rolando. Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos. En: Rev. Cubana Farmacéutica. (1997); 30 (1).

14. CODEX ALIMENTARIUS. Criterios para la evaluación de métodos de análisis aceptables a los efectos codex. Budapest -Hungría, 18-22 de noviembre del 2002.
15. RIU, Jordi. BOQUÉ Ricard. Calibración lineal. España, 2001. Universidad de Rovira y Virginia. Departamento de Química Analítica y Química Orgánica.
16. ULLOA, Mariela. Conceptos sobre: Montaje, validación y estandarización de métodos analíticos. Bogotá, 1999. Universidad Distrital de Colombia. Departamento de Química Analítica.
17. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. FAO. Validation of analytical methods for food control. Vienna, 1997. EN: FAO food and nutrition paper. (1998); 68 (1).
18. RUI, Jordi. et al. Exactitud y trazabilidad. España, 2002. Universidad de Rovira y Virginia. Departamento de Química Analítica y Química Orgánica. Instituto de Estudios Avanzados.
19. SÁNCHEZ M, Diana L. Validación de métodos para la determinación en aguas superficiales de metales alcalinos (sodio y potasio) por absorción atómica a la llama y alcalinotérreos (calcio y magnesio) por volumetría con EDTA. Bogota, 2002. Trabajo de grado (Licenciatura en Química). Universidad Distrital.
20. RUI, Jordi. et al. Determinación de la trazabilidad en medidas químicas. . España, 2002. Universidad de Rovira y Virginia. Departamento de Química Analítica y Química Orgánica. Instituto de Estudios Avanzados.

21. CODEX ALIMENTARIUS. Anteproyecto de directrices sobre la incertidumbre en la medición. Budapest -Hungría, 18-22 de noviembre del 2002.
22. MAROTO, Alicia. *et al.* Cálculo de incertidumbre en medidas físicas: medida de una masa. España, 2002. Universidad de Rovira y Virginia. Departamento de Química Analítica y Química Orgánica. Instituto de Estudios Avanzados.
23. MAROTO, Alicia. *et al.* Incertidumbre y precisión. España, 2002. Universidad de Rovira y Virginia. Departamento de Química Analítica y Química Orgánica. Instituto de Estudios Avanzados.
24. _____. Estrategias para el cálculo de la incertidumbre. España, 2002. Universidad de Rovira y Virginia. Departamento de Química Analítica y Química Orgánica. Instituto de Estudios Avanzados.
25. MONTGOMERY, Douglas. Design and analysis of experiments. Fifth edition. USA, 2001: John Willey and sons, inc.
26. www.uv.es/~lejarsa/anova/anova.html.
27. www.e-biometria.com/ebiometria/conceptos_basicos.htm.
28. RUI, Jordi. *et al.* Calibración de equipos de medida. España 2002. Universidad de Rovira y Virginia. Departamento de Química Analítica y Química Orgánica. Instituto de Estudios Avanzados.
29. _____. Trazabilidad en medidas físicas mediante calibración directa: calibración de una balanza. España, 2002. Universidad de

Rovira y Virginia. Departamento de Química Analítica y Química Orgánica. Instituto de Estudios Avanzados.

- 30._____. Determinación de la trazabilidad en medidas físicas. España, 2002. Universidad de Rovira y Virginia. Departamento de Química Analítica y Química Orgánica. Instituto de Estudios Avanzados.
- 31._____. Trazabilidad en medidas físicas mediante calibración directa: calibración de material volumétrico. España, 2002. Universidad de Rovira y Virginia. Departamento de Química Analítica y Química Orgánica. Instituto de Estudios Avanzados.
- 32.OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS. Association of official analytical chemist. 15 ed. USA, 1990. V. 1.
- 33.SECRETARIA DE SALUD DE BOGOTA. Estandarización de metodologías analíticas en el Laboratorio de Salud Pública. Bogota, 2002.
- 34.FEINBERG, Max. RAGUENES, Nicole. Development and application of a standardized validation procedure for food chemistry laboratories. Analytica chimica acta. Elsevier. Francia, 1999.
- 35.Maroto Alicia; Boque Ricard y Rius Xavier. Estimation of measurement uncertainty by using regression techniques and spiked samples. *Anal. Chim. Acta*, 446 (2001).

36. INSTITUTO NACIONAL DE VIGILANCIA DE MEDICAMENTOS Y ALIMENTOS. INVIMA. Programa de vigilancia de sal para consumo humano. Ensayo interlaboratorios. Santafe de Bogotá, 2004.

ABREVIATURAS

- **FAO** Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación.
- **LOG** Logaritmo
- **[M]** Concentración molar
- **[ppm]** Concentración en partes por millón
- **s(mv)** Señal en milivoltios
- **S** Sensibilidad
- **BK** Blanco
- **%C.V** Porcentaje del coeficiente de variación
- **A** Adición estándar

ANEXOS

TABLA PARA RECHAZO DE DATOS (Q DE DIXON) P=0.05

TAMAÑO DE MUESTRA	VALOR CRÍTICO
<i>4</i>	<i>0.831</i>
<i>5</i>	<i>0.717</i>
<i>6</i>	<i>0.621</i>
<i>7</i>	<i>0.570</i>
<i>8</i>	<i>0.524</i>
<i>9</i>	<i>0.492</i>
<i>10</i>	<i>0.464</i>

TABLA DE LA DISTIRIBUCIÓN t

Valor de t para un intervalo para valores de P de numero de grados de libertad	90% 0.10	95% 0.05	98% 0.02	99% 0.01
1	6.31	12.71	31.82	63.66
2	2.92	4.30	6.96	9.92
3	2.35	3.18	4.54	5.84
4	2.13	2.78	3.75	4.60
5	2.02	2.57	3.36	4.03
6	1.94	2.45	3.14	3.71
7	1.89	2.36	3.00	3.50
8	1.86	2.31	2.90	3.36
9	1.83	2.26	2.82	3.25
10	1.81	2.23	2.76	3.17
12	1.78	2.18	2.68	3.05
14	1.76	2.14	2.62	2.98
16	1.75	2.12	2.58	2.92
18	1.73	2.10	2.55	2.88
20	1.72	2.09	2.53	2.85
30	1.70	2.04	2.46	2.75
50	1.68	2.01	2.40	2.68
∞	1.64	1.96	2.33	2.58

Tabla Valores críticos de F para una prueba de una cola ($P = 0.05$)

ν_1	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ν_2									
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38
3	10.13	9.552	9.277	9.117	9.013	8.941	8.887	8.845	8.812
4	7.709	6.944	6.591	6.388	6.256	6.163	6.094	6.041	5.999
5	6.608	5.786	5.409	5.192	5.050	4.950	4.876	4.818	4.772
6	5.987	5.143	4.757	4.534	4.387	4.284	4.207	4.147	4.099
7	5.591	4.737	4.347	4.120	3.972	3.866	3.787	3.726	3.677
8	5.318	4.459	4.066	3.838	3.687	3.581	3.500	3.438	3.388
9	5.117	4.256	3.863	3.633	3.482	3.374	3.293	3.230	3.179
10	4.965	4.103	3.708	3.478	3.326	3.217	3.135	3.072	3.020

Tabla Valores criticos de F para una prueba de dos colas ($P = 0.05$)

ν_1	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ν_2									
1	647.8	799.5	864.2	899.6	921.8	937.1	948.2	956.7	963.3
2	38.51	39.00	39.17	39.25	39.30	39.33	39.36	39.37	39.39
3	17.44	16.04	15.44	15.10	14.88	14.73	14.62	14.54	14.47
4	12.22	10.65	9.979	9.605	9.364	9.197	9.074	8.980	8.905
5	10.01	8.434	7.764	7.388	7.146	6.978	6.853	6.757	6.681
6	8.813	7.260	6.599	6.227	5.988	5.820	5.695	5.600	5.523
7	8.073	6.542	5.890	5.523	5.285	5.119	4.995	4.899	4.823
8	7.571	6.059	5.416	5.053	4.817	4.652	4.529	4.433	4.357
9	7.209	5.715	5.078	4.718	4.484	4.320	4.197	4.102	4.026
10	6.937	5.456	4.826	4.468	4.236	4.072	3.950	3.855	3.779