

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades



VALIDACIÓN DE METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE PLOMO EN SUPLEMENTOS DIETÉTICOS

Ana Margarita Contreras Sandoval

Guatemala
2009

**VALIDACIÓN DE METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA
DETERMINACIÓN DE PLOMO EN SUPLEMENTOS
DIETÉTICOS**

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades



VALIDACIÓN DE METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE PLOMO EN SUPLEMENTOS DIETÉTICOS

Trabajo de investigación presentado por:

Ana Margarita Contreras Sandoval

para optar al grado académico de Licenciatura en Química Farmacéutica



Guatemala
2009

Vo. Bo. :

(f)



Licenciado Éfego Rolando López García
Asesor

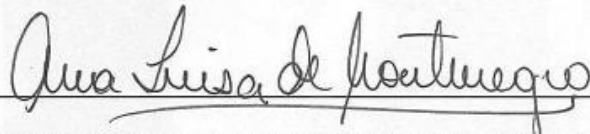
Tribunal Examinador:

(f)



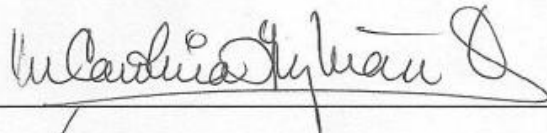
Licenciado Éfego Rolando López García
Asesor

(f)



Licenciada Ana Luisa Mendizábal de Montenegro

(f)



Licenciada Carolina Guzmán Quilo

Fecha de aprobación: 13 de julio de 2009.

PREFACIO

Sobre todo a Dios y a mis padres. Gracias por apoyarme y estar siempre “ahí” para mí, por respaldarme en todas las tareas que emprendo. Porque su ejemplo de trabajo y esfuerzo es la motivación que me permite seguir adelante y fortalecer mis aptitudes y capacidades. Porque su amor me reconforta y no me deja caer. Por darme fe en mí misma y por creer en mí. Porque sin Dios y sin mis padres, simplemente no podría.

Gracias a mis cuatro hermanos (Juan Calos, Javier, Jose, Roberto), por creer en mí y por tratar siempre de cuidarme. Porque entre la gama de conocimientos y forma de pensar que individual y conjuntamente poseen, muchas veces me han ayudado a ver aspectos prácticos e importantes de la vida que me han permitido tomar mis propias decisiones. A la Bari y la Tuna por darme siempre momentos de alegría y regalarme su amor incondicional.

Gracias a mis amigos, por hacer de mi vida universitaria una experiencia muy grata. Pero en especial a Vivi y Lourdes, que me enseñaron a construir verdaderas relaciones de amistad y con quienes he compartido unas de las etapas más importantes de mi vida, entre alegrías y tristezas; y con quienes espero seguir compartiendo todos los acontecimientos venideros.

Gracias a mis profesores, que con su pasión en la enseñanza sembraron en mí el gusto por el conocimiento, y porque finalmente de ellos he recibido todo el conocimiento técnico-científico que necesito para desarrollarme en una vida profesional futura. Pero en especial a los que confiaron aún más en mí, que valoraron mis aptitudes y me permitieron trabajar a su lado como auxiliar de sus cursos.

Gracias a las personas que en cierto momento han entrado a mi vida y que quizá ahora ya no están, pero de quienes en su momento aprendí que la vida tiene muchas cosas para darnos y solo está en nosotros querer aceptarlas, perdiendo el miedo y afrontando los retos.

Gracias a todas las personas que de una u otra forma colaboraron conmigo en la realización de esta tesis. Que con su conocimiento, disponibilidad y accesibilidad me ayudaron a seguir adelante con este proyecto. Gracias a mis asesores de tesis, Lic. Elfego Rolando López y Licda. Ana Luisa Mendizabal, y especialmente a los licenciados Ricardo Montoya y Willy Knedel de la Universidad Mariano Gálvez, que gracias a su esfuerzo y apoyo hicieron de la realización de esta tesis una gran experiencia de aprendizaje y me ayudaron a concluirla eficientemente. Gracias a los Directivos del Instituto de Investigaciones de la Universidad Mariano Gálvez por permitirme trabajar en sus instalaciones y facilitarme el equipo, reactivos y cristalería necesaria para la realización del proyecto.

Gracias a todas las personas que han creído en mí y me han manifestado ese sentimiento, porque ellos han generado en mí el compromiso de no defraudarlos y de cierta forma me han motivado a seguir adelante y superarme, me han motivado a ser cada día una mejor persona. Y en general, gracias a todas las personas que he conocido a lo largo del camino, amigos, compañeros de clase, de trabajo, de prácticas, maestros, auxiliares, auxiliados, personal de bodega de química de la universidad, personal administrativo del Departamento de Química Farmacéutica de la Universidad, etc. que han contribuido de una u otra forma al desarrollo de mi vida universitaria. Por último, gracias a Abner Estrada quien me salvó en el último momento para lograr la finalización y entrega de este material impreso.

ÍNDICE

	Página
PREFACIO	v
LISTA DE CUADROS Y FORMATOS	xi
LISTA DE FIGURAS, DIAGRAMAS Y GRÁFICAS	xvii
RESUMEN.....	xix
 CAPÍTULOS	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO CONCEPTUAL	3
2.1. <i>Antecedentes del problema</i>	3
2.2. <i>Justificación</i>	7
2.3. <i>Planteamiento del problema</i>	9
2.4. <i>Alcances y límites del problema</i>	10
III. MARCO TEÓRICO	11
3.1. <i>Suplementos dietéticos</i>	11
3.1.1. El mercado y consumo de suplementos dietéticos	11
3.1.2. Aspectos regulatorios de los suplementos dietéticos	13
3.2. <i>Metales pesados</i>	15
3.3. <i>Plomo</i>	16
3.3.1. Exposición al plomo y límites de cuantificación	16
3.3.2. Fuentes de plomo	17
3.3.3. Toxicocinética	18
3.3.4. Mecanismo de acción	19
3.4. <i>Espectrofotometría de absorción atómica</i>	20
3.4.1. Leyes de la espectrofotometría	21
3.4.2. Espectrofotómetro de absorción/emisión atómica	21
3.4.3. Funcionamiento del espectrofotómetro	24
3.4.4. Espectrofotómetro de absorción atómica con horno de grafito.....	25

	Página
3.5. <i>Validación</i>	26
3.5.1. Principios de validación	27
3.5.2. Establecimiento del alcance de la validación	27
3.5.3. Parámetros determinados	27
3.6. <i>Cápsulas de gelatina suave</i>	32
3.7. <i>Lecitina de soya</i>	33
3.7.1. Forma de obtención de la lecitina de soya	33
3.7.2. Composición y valor nutritivo de la lecitina de soya	33
3.7.3. Acción farmacológica	34
3.7.4. Indicaciones	34
3.7.5. Contraindicaciones	35
3.7.6. Efectos secundarios	35
3.7.7. Precauciones	35
3.7.8. Posología	35
3.7.9. Presentaciones comerciales	35
IV. MARCO METODOLÓGICO	36
4.1. <i>Objetivos</i>	36
4.1.1. Generales	36
4.1.2. Específicos	36
4.2. <i>Hipótesis</i>	37
4.3. <i>Variables</i>	37
4.3.1. Independiente	37
4.3.2. Dependiente	37
4.3.3. Moderadas	37
4.4. <i>Población</i>	38
4.5. <i>Muestra</i>	38
4.6. <i>Procedimiento e instrumentos</i>	38
4.6.1. Procedimiento preparativo	39
4.6.2. Procedimiento experimental	48
4.6.3. Validación	55

	Página
4.7. <i>Diseño de investigación</i>	58
4.8. <i>Análisis estadístico</i>	59
4.8.1. Media	59
4.8.2. Desviación estándar (desviación estándar absoluta)	59
4.8.3. Desviación estándar de los resultados calculados (propagación de error en los cálculos aritméticos)	60
4.8.4. Coeficiente de variación	61
4.8.5. Porcentaje de recuperación	61
4.8.6. Error absoluto	61
4.8.7. Rango	62
4.8.8. Ecuación de la recta por el método de mínimos cuadrados	62
4.8.9. Ensayo de cuantificación	63
V. MARCO OPERATIVO	64
5.1. <i>Recabación y tratamiento de datos</i>	64
5.2. <i>Recursos</i>	64
5.2.1. Humanos	64
5.2.2. Materiales	65
5.3. <i>Aspectos económicos</i>	68
VI. RESULTADOS	69
6.1. <i>Resultados del método uno de análisis</i>	69
6.2. <i>Resultados del método dos de análisis</i>	72
6.3. <i>Resultados del método tres de análisis</i>	75
VII. DISCUSIÓN	78
VIII. CONCLUSIONES	89
IX. RECOMENDACIONES	92
X. BIBLIOGRAFÍA	94
XI. ANEXOS	102
<i>Anexo No. 1: Curva de calibración y gráficas de parámetros de validación</i>	102

	Página
<i>Anexo No. 2: Cuadros de resultados</i>	107
<i>Anexo No. 3: Información de los suplementos dietéticos formulados a base de lecitina de soya como mono-ingrediente presentados en cápsulas de gelatina suave, registrados y que se comercializan en Guatemala</i>	113
<i>Anexo No. 4: Especificaciones del patrón de plomo utilizado en el ensayo</i>	119
<i>Anexo No. 5: Registros y controles según Buenas Prácticas de Laboratorio</i>	121
<i>Anexo No. 6: Información y especificaciones de los reactivos utilizados</i>	127
<i>Anexo No. 7: Glosario de términos y abreviaturas</i>	134
<i>Anexo No. 8: Pruebas adicionales de control y comprobación de calidad del agua, reactivos y procedimiento de limpieza utilizados..</i>	141
A. Antecedentes	144
B. Procedimiento	158
C. Resultados	160
D. Discusión de resultados y Conclusiones	168

LISTADO DE CUADROS Y FORMATOS

	Página
CUADROS	
1. Características comerciales de los suplementos dietéticos consideradas por los consumidores	13
2. Objetivos de la validación según el tipo de procedimiento de ensayo.....	28
3. Programa de calentamiento del método uno de limpieza de los vasos de digestión en microondas	41
4. Programa de calentamiento del método dos de limpieza de los vasos de digestión en microondas	41
5. Soluciones de plomo para curva de calibración según el método de análisis utilizado	45
6. Concentración de fortificaciones con plomo a tres niveles de trabajo.....	46
7. Características de trabajo del espectrofotómetro según método uno de análisis	49
8. Programa del horno de grafito según método uno de análisis	49
9. Características de trabajo del espectrofotómetro según método dos de análisis	50
10. Programa del horno de grafito según método dos y tres de análisis..	50
11. Características de trabajo del espectrofotómetro según método tres de análisis	51
12. Programa de digestión en microondas según método dos de análisis	53
13. Programa de digestión en microondas según método dos de análisis	54
14. Resumen de la linealidad del método según curva de calibración del método uno	69
15. Resumen de límite de detección y cuantificación expresado a través de la relación señal ruido en función de la altura del pico de cada solución	69
16. Resumen del porcentaje de recuperación del método uno de análisis	70

17. Resumen de la exactitud del método expresada a través de la desviación estándar de las estadísticas de los valores de desviación estándar de la concentración experimental de las soluciones estándar utilizadas para establecer la curva de calibración del método uno de análisis	70
18. Resumen de la precisión del método expresada a través de la desviación estándar de las estadísticas de los valores del coeficiente de variación estándar de la concentración experimental de las soluciones estándar utilizadas para establecer la curva de calibración del método uno de análisis	71
19. Resumen de la repetibilidad del analista expresada a través del porcentaje de error entre la concentración teórica y la concentración experimental de la solución estándar 3 utilizada para establecer la curva de calibración del método uno de análisis	71
20. Resumen de la exactitud del método expresada a través del porcentaje de error entre la concentración teórica y la concentración experimental de la solución estándar 1A utilizada para establecer la curva de calibración del método uno de análisis	72
21. Resumen de la linealidad del método según curva de calibración del método dos	72
22. Resumen de límite de detección y cuantificación expresado a través de la relación señal ruido en función de la altura del pico de cada solución para el método dos de análisis	73
23. Resumen del porcentaje de recuperación del método dos de análisis	73
24. Resumen de la exactitud del método expresada a través de la desviación estándar de las estadísticas de los valores de desviación estándar de la concentración experimental de las soluciones estándar utilizadas para establecer la curva de calibración del método dos de análisis	74

25. Resumen de la precisión del método expresada a través de la desviación estándar de las estadísticas de los valores del coeficiente de variación estándar de la concentración experimental de las soluciones estándar utilizadas para establecer la curva de calibración del método dos de análisis	74
26. Resumen de la linealidad del método según curva de calibración del método tres	75
27. Resumen de límite de detección y cuantificación expresado a través de la relación señal ruido entre la desviación estándar de la absorbancia de cada solución para el método tres de análisis	75
28. Resumen del porcentaje de recuperación del método dos tres análisis	76
29. Resumen de la exactitud del método expresada a través de la desviación estándar de las estadísticas de los valores de desviación estándar de la concentración experimental de las soluciones estándar utilizadas para establecer la curva de calibración del método tres de análisis	76
30. Resumen de la precisión del método expresada a través de la desviación estándar de las estadísticas de los valores del coeficiente de variación estándar de la concentración experimental de las soluciones estándar utilizadas para establecer la curva de calibración del método tres de análisis	77
31. Valores de la curva de calibración utilizada para la determinación de la linealidad del método uno de análisis	108
32. Valores de la curva de calibración utilizada para la determinación del límite de cuantificación y detección del método uno de análisis	108
33. Preparación de las diluciones utilizadas para la determinación del límite de detección y el límite de cuantificación del método uno de análisis	109

	Página
34. Valores de la curva de calibración utilizada para la determinación del porcentaje de recuperación del método uno de análisis	109
35. Valores de la prueba de porcentaje de recuperación del método uno de análisis	110
36. Valores de la prueba de repetibilidad del método uno de análisis según resultados del estándar 3 utilizado en la curva de calibración de la prueba de linealidad del método	110
37. Valores de la curva de calibración utilizada para la determinación de la linealidad del método dos de análisis	111
38. Valores de la curva de calibración utilizada para la determinación del límite de cuantificación y detección del método uno de análisis	111
39. Valores de la curva de calibración utilizada para la determinación de la linealidad del método tres de análisis	112
40. Valores de la curva de calibración utilizada para la determinación del límite de cuantificación y detección del método tres de análisis.....	112
41. Información sobre formulación, fabricación, indicaciones, dosis, advertencias y empaque de los suplementos dietéticos formulados a base de lecitina de soya como mono-ingrediente presentados en cápsulas de gelatina suave, registrados y que se comercializan en Guatemala	114
42. Información de la muestra uno de producto terminado	115
43. Información de la muestra dos de producto terminado	115
44. Información de la muestra tres de producto terminado	116
45. Información de la muestra cuatro de producto terminado	116
46. Información de la muestra cinco de producto terminado	117
47. Información de la muestra seis de producto terminado	117
48. Información de la muestra siete de producto terminado	118
49. Especificaciones del patrón de plomo utilizado en el método uno de análisis uno	128

	Página
50. Especificaciones del patrón de plomo utilizado en el método dos y tres de análisis uno	129
51. Especificaciones del ácido nítrico (HNO ₃)	130
52. Especificaciones del ácido clorhídrico (HCl)	131
53. Especificaciones del peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂)	132
54. Especificaciones del Argón (Ar – acarreador para absorción atómica)	133
55. Características del programa@Risk.....	146
56. Resumen de los parámetros estadísticos de la distribución gamma inversa	150
57. Valores del análisis de control y comprobación de la calidad del agua utilizada para la preparación de soluciones de análisis	160
58. Valores del análisis de control y comprobación de la calidad de los reactivos utilizados para la preparación de soluciones de análisis	161
59. Análisis de probabilidad, derivado de la aplicación de @ Risk, para la comprobación de la calidad de los reactivos utilizados para la preparación de soluciones de análisis	162
59.1. Valores experimentales obtenidos del análisis de control y comprobación de la calidad de los reactivos utilizados para la preparación de soluciones de análisis	162
59.2. Análisis de probabilidad de los resultados experimentales obtenidos, derivado de la aplicación de @Risk, para la comprobación de la calidad de los reactivos utilizados para la preparación de soluciones de análisis	162
59.3. Modelo ajustado de los resultados experimentales obtenidos, derivado de la aplicación de @Risk, para la comprobación de la calidad de los reactivos utilizados para la preparación de soluciones de análisis	163

59.4. Porcentaje de probabilidad de los resultados obtenidos de la Concentración experimental de los Reactivos Grado Analítico, derivado de la aplicación de @Risk, para la comprobación de la calidad de los reactivos utilizados para la preparación de soluciones de análisis	164
59.5. Porcentaje de probabilidad de los resultados obtenidos de la Concentración experimental de los Reactivos Ultra puros, derivado de la aplicación de @Risk, para la comprobación de la calidad de los reactivos utilizados para la preparación de soluciones de análisis	165
60. Valores del análisis de control y comprobación de la eficacia de los procedimientos de limpieza	167

FORMATOS

1. Hoja de especificaciones del patrón de plomo utilizado en el ensayo	120
2. Hoja de control de patrones	122
3. Hoja de control de solución madre	123
4. Hoja de control de soluciones	124
5. Hoja de control de calibración de la balanza	125
6. Hoja de registro de temperatura	126

LISTA DE FIGURAS, DIAGRAMAS Y GRÁFICAS

	Página
FIGURAS	
1. Componentes de un espectrofotómetro de absorción atómica	22
2. Atomizador electrónico de cámara de grafito	26
3. Ejemplo de distribución Pearson tipo V	148
4. Función de densidad de probabilidad de la distribución gamma	151
5. Función de densidad de probabilidad de la distribución gamma inversa	151
DIAGRAMAS	
1. Procedimientos para el desarrollo, evaluación y validación de la metodología analítica para determinación de metales pesados en suplementos dietéticos	39
2. Diseño experimental para el desarrollo, evaluación y validación de la metodología analítica para determinación de metales pesados en suplementos dietéticos	59
3. Descripción de las pruebas adicionales de control y comprobación de la calidad del agua utilizada para la preparación de soluciones de análisis	158
4. Descripción de las pruebas adicionales de control y comprobación de la calidad de los reactivos utilizados para la preparación de soluciones de análisis	158
5. Descripción de las pruebas adicionales de control y comprobación de la eficacia de los procedimientos de limpieza	159
GRÁFICAS	
1. Curva de calibración del método uno utilizada para la determinación de la linealidad del método	103

	Página
2. Curva de calibración del método uno utilizada para la determinación del límite de cuantificación y detección	103
3. Curva de calibración del método uno utilizada para la determinación del porcentaje de recuperación	104
4. Curva de calibración del método dos utilizada para la determinación de la linealidad del método	104
5. Curva de calibración del método dos utilizada para la determinación del límite de cuantificación y detección	105
6. Curva de calibración del método tres utilizada para la determinación de la linealidad del método	105
7. Curva de calibración del método tres utilizada para la determinación del límite de cuantificación y detección	106
8. Calidad del agua utilizada para la preparación de soluciones de análisis	160
9. Calidad de los reactivos utilizados para la preparación de soluciones de análisis	161
10. Gráfica de probabilidad según modelo ajustado para los Reactivos grado Analítico	163
11. Gráfica de probabilidad según modelo ajustado para los Reactivos Ultra Puros	164
12. Gráfica de probabilidad según modelo ajustado para los Reactivos grado Analítico, de los valores que se encuentran por encima y por debajo de la media	165
13. Gráfica de probabilidad según modelo ajustado para los Reactivos Ultra Puros, de los valores que se encuentran por encima y por debajo de la media	166
14. Eficacia de los procedimientos de limpieza	166

RESUMEN

Los suplementos dietéticos se definen como una sustancia o mezcla de sustancias, destinada a proporcionar los nutrientes presentes normalmente en los alimentos.

Como cualquier otro medicamento, los suplementos dietéticos pueden generar un efecto en el funcionamiento orgánico normal de quien lo consume; sin embargo al ser etiquetados como suplementos dietético, según la declaración del Acta de Educación de Salud de Suplementos Dietéticos (Dietary Supplement Health and Education Act - DSHEA) de octubre de 1994, estos productos son regulados de acuerdo con las normas de alimentos (que son menos estrictas que las leyes de regulación de medicamentos) y quedan exentos de las pruebas de verificación de calidad, efectividad y seguridad desarrolladas por la Administración de Alimentos y Drogas (Food and Drug Administration - FDA); esta garantía queda únicamente en manos de los fabricantes.

Con este trabajo se desea desarrollar y validar un método cuantitativo para el análisis de metales pesados en suplementos dietéticos, principalmente plomo, que es uno de los metales pesados con mayor incidencia de reportes de intoxicación y contaminación de suplementos dietéticos; a modo de aportar un método de análisis químico, válido y confiable, para la determinación de plomo en suplementos dietéticos, que permita a las autoridades guatemaltecas evaluar la calidad, determinar la seguridad y eficacia de los mismos.

Se trabajó con la técnica de espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito. Se desarrollaron tres metodologías analíticas de cuantificación para plomo en suplementos dietéticos de lecitina de soya como mono-ingrediente, presentados en cápsulas de gelatina suave; por ser el producto con mayor frecuencia de registro en el Departamento de Regulación y Control de Productos Farmacéuticos y Afines de Guatemala.

Las tres metodologías fueron sometidas a evaluaciones previas de funcionamiento en cada uno de los aspectos críticos que implicaba la metodología (calidad de los reactivos,

calidad del agua, procedimiento de limpieza, procedimiento de homogenización de la muestra, procedimiento de digestión de la muestra y determinación de plomo) para su posterior validación. De las pruebas de funcionamiento, se logró determinar que no existe diferencia significativa entre los resultados de análisis de contaminantes en reactivos ultra puros y reactivos grado analítico, por lo que es posible utilizar reactivos grado analítico para la preparación de soluciones; sí existe diferencia significativa entre los resultados de análisis de contaminantes en agua desionizada y agua ultra pura, por lo que las soluciones deben ser preparadas estrictamente con agua ultra pura; el método tres de limpieza es el más efectivo.

Finalmente, durante el proceso de validación de los tres métodos de análisis propuestos, se determinó que el mejor método de análisis es el método tres. Sin embargo en esta ocasión no se logró el desarrollo y validación de una metodología analítica para la determinación cuantitativa de plomo en suplementos dietéticos, a través de la técnica de espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito, debido a inconvenientes técnicos del equipo. Estos inconvenientes técnicos hicieron muy difícil la comprobación de la adecuación de los instrumentos de determinación para garantizar la exactitud y la precisión de los resultados obtenidos, dentro del intervalo de interés de la concentración de plomo, para el método desarrollado.

Se recomienda continuar la evaluación de los parámetros de validación para el método tres de análisis, asegurándose que el equipo de trabajo sea cualificado y se encuentre validado para descartar problemas técnicos que puedan afectar los resultados obtenidos.

I. INTRODUCCIÓN

Los suplementos dietéticos se definen como una sustancia o mezcla de sustancias, destinada a proporcionar los nutrientes presentes normalmente en los alimentos. En un sentido amplio, estas sustancias pueden ser vitaminas, minerales, aminoácidos, carbohidratos, proteínas, grasas, hierbas u otras sustancias o extractos de origen vegetal e incluso animal (extractos de glándulas). [Dirección General de Regulación, Vigilancia y Control de la Salud (DGRVCS):2003]

Como cualquier otro medicamento, los suplementos dietéticos pueden generar un efecto en el funcionamiento orgánico normal de quien lo consume; sin embargo al ser etiquetados como suplementos dietético, según la declaración del Acta de Educación de Salud de Suplementos Dietéticos (Dietary Supplement Health and Education Act - DSHEA) de octubre de 1994, estos productos son regulados de acuerdo con las normas de alimentos (que son menos estrictas que las leyes de regulación de medicamentos) y quedan exentos de las pruebas de verificación de calidad, efectividad y seguridad desarrolladas por la Administración de Alimentos y Drogas (Food and Drugs Administration - FDA); esta garantía queda únicamente en manos de los fabricantes.

La ausencia de una legislación, no solo en Guatemala sino también a nivel mundial, que permitan darle un carácter obligatorio a las pruebas de calidad, efectividad y seguridad de los suplementos dietéticos para garantizar que estos se encuentran libres de la contaminación de hierbas, plaguicidas, metales pesados o medicamentos que se venden con receta médica (como fue propuesto en el 2003 por la FDA), y el crecimiento comercial experimentado por estos productos en los últimos años, plantean la necesidad de determinar los niveles de contaminantes en los suplementos dietéticos; siendo de principal interés la cuantificación de metales pesados por sus efectos nocivos para la salud humana. De esta cuenta el objetivo principal de este trabajo es desarrollar y validar un método cuantitativo para el análisis de metales pesados en suplementos dietéticos, principalmente plomo, que es uno de los metales pesados con mayor incidencia de reportes de intoxicación y contaminación de suplementos dietéticos según información del Centro Nacional para Medicina Complementaria y alternativa de los Estados Unidos de Norteamérica (National

Center for Complementary and Alternative Medicine - NCCAM) y el Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos de Norteamérica (National Institute of Health).

Para esto se trabajó con la técnica de espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito, para la determinación de plomo. Se desarrolló una metodología analítica de cuantificación para plomo en suplementos dietéticos de lecitina de soya como mono-ingrediente, presentados en cápsulas de gelatina suave; por ser el producto con mayor frecuencia de registro en el Departamento de Regulación y Control de Productos Farmacéuticos y Afines de Guatemala.

Mediante el desarrollo de este trabajo se espera brindar una herramienta analítica para la cuantificación de plomo que permita comparar los niveles cuantificados con los niveles permisibles de este metal, según normas internacionales (2.56 mg/Kg de producto para el plomo [**Dreisbach, Robert Hastings: 1974**]), y que permita a las autoridades guatemaltecas evaluar la calidad de los suplementos dietéticos para determinar la seguridad y eficacia de los mismos.

II. MARCO CONCEPTUAL

2.1. Antecedentes del problema

El término químico “metales pesados” hace referencia a los metales que tienen una densidad por lo menos cinco veces mayor que la del agua. Los metales pesados suelen utilizarse con fines industriales y en ciertas concentraciones, la exposición a estos metales puede ser perjudicial para la salud humana. [National Center for Complementary and Alternative Medicine (NCCAM), National Institute of Health:2007]

Un “suplemento dietético” (llamado también "suplemento nutricional", "suplemento alimenticio" o "suplemento"), según la DSHEA de 1994, se define como un producto cuya finalidad es complementar la dieta y contiene uno o varios de los siguientes ingredientes: vitaminas, minerales, hierbas o productos botánicos, aminoácidos o cualquier combinación de estos ingrediente. Está preparado para ser ingerido en forma de tabletas, cápsula, polvo, cápsula blanda de gelatina, cápsula de gelatina o líquido. No está presentado para ser utilizado como un alimento convencional o como elemento único de una comida o de la dieta alimenticia. Está etiquetado como suplemento dietético. [NCCAM, National Institute of Health: 2007]

Los suplementos dietéticos son de fácil adquisición y a pesar de ser regulados por la FDA, en Estados Unidos de América, se encuentran reglamentados de acuerdo con las normas de alimentos y no con las que aplican para medicamentos, según la declaración de la DSHEA en octubre de 1994.

Por lo general, las leyes para comercializar los suplementos y mantenerlos en el mercado son menos estrictas que las leyes para los medicamentos. Específicamente: [NCCAM, National Institute of Health: 2007]

- A diferencia de los medicamentos, para vender los suplementos no es necesario efectuar estudios previos para demostrar que son inocuos para las personas. [NCCAM, National Institute of Health: 2007]
- Contrariamente al caso de los medicamentos, el fabricante no tiene que probar que el suplemento es eficaz. El fabricante puede decir que el producto ayuda a tratar una deficiencia nutricional, beneficia la salud o reduce el riesgo de que surja cierto problema de salud, si éste fuera el caso. [NCCAM, National Institute of Health: 2007]
- El fabricante no tiene que dar pruebas de la calidad del suplemento. Específicamente: [NCCAM, National Institute of Health: 2007]
 - La FDA no analiza la composición de los suplementos dietéticos. [NCCAM, National Institute of Health:2007]
 - Actualmente los fabricantes de suplementos deben cumplir con los requisitos de la FDA, conocidos como buenas prácticas de manufactura (BPM) para alimentos. Las BPM para los alimentos no abarcan todos los aspectos de la calidad de los suplementos. [NCCAM, National Institute of Health: 2007]
 - Las leyes no definen la estandarización de los suplementos alimenticios. Por lo tanto, el uso del término “estandarizado” (y otros similares como "verificado" o "certificado") no garantiza la calidad ni que el producto sea siempre igual. [NCCAM, National Institute of Health: 2007]

Bajo la DSHEA, la empresa productora es la responsable de determinar que los suplementos dietéticos que prepara, manufactura o distribuye son seguros, y que cualquier queja o reclamo respecto a ellos debe estar fundamentada con una evidencia adecuada que demuestre que no son falsos o equivocados. [Office of Dietary Supplements (ODS), National Institute of Health: 2006]

Esto significa que los suplementos dietéticos no precisan ser aprobados por la FDA antes de ser comercializados. Una empresa no tiene que proporcionar a la FDA la evidencia necesaria sobre su seguridad sustancial o su eficacia antes o después de comercializar sus productos. [ODS, National Institute of Health: 2006]

Igualmente, los fabricantes no precisan registrar sus productos de suplementos dietéticos en la FDA antes de producirlos o venderlos, ya que la FDA no tiene regulaciones específicas que establezcan estándares mínimos para la fabricación de suplementos dietéticos. [ODS, National Institute of Health: 2006]

Hasta ahora, el fabricante es el responsable de establecer sus propios controles de producción para asegurar que los suplementos dietéticos que produce son seguros y contienen los ingredientes indicados en la etiqueta. [ODS, National Institute of Health: 2006]

A la fecha existe la preocupación de que la creciente industria de los “suplementos dietéticos” se encuentra exenta, desde 1994, de las pruebas de control y comprobación de la seguridad y efectividad, realizadas por la FDA para la aprobación y comercialización de alimentos y drogas. La ausencia de estas regulaciones puede aumentar la probabilidad de contaminación de los suplementos dietéticos con metales pesados; siendo los más comunes el plomo, arsénico y mercurio, según un estudio iniciado por El Departamento de Servicio de Salud de California, división de Alimentos y Drogas, en donde se monitorearon productos farmacéuticos no declarados y contaminación con metales pesados, usando cromatografía de gases – espectrometría de masas y métodos de absorción atómica, en las medicinas asiáticas (medicina tradicional china) registradas que son importadas. [Ko, Richard J: 1998]

Por esta razón, en marzo de 2003, la FDA publicó una propuesta de normas para los suplementos que exigen a los fabricantes que eviten la contaminación de sus productos con otras hierbas, plaguicida, metales pesados o medicamentos que se venden con receta médica. [NCCAM, National Institute of Health: 2007]

Se han reportado y publicado estudios y artículos que refieren la contaminación de distintos productos medicinales, clasificados como medicina alternativa o suplementos dietéticos, con metales pesados. Sin embargo, debido a que no se considera obligatorio el desarrollo de análisis de rutina en suplementos dietéticos, en la literatura no se encuentra

suficiente información que reporte el desarrollo de ensayos para la evaluación de contaminantes en suplementos dietéticos.

La editorial del New England Journal of Medicine (Volume 339:847 September 17, 1998 Number 12) hace referencia a reportes de suplementos dietéticos contaminados con metales pesados. Estos reportes se refieren principalmente a los productos procedentes de países asiáticos. Las medicinas asiáticas patentadas contienen varios productos, que incluyen hierbas, plantas, partes de animales, y minerales, que se formulan en tabletas, píldoras o líquidos para facilitar su uso. Hay una amplia variedad en las tiendas herbolarias y han tenido gran aceptación en el público americano como una forma de medicina alternativa. Muchas medicinas patentadas producidas en países asiáticos contienen ingredientes tóxicos, como metales pesados, así como drogas de prescripción o ingredientes no aprobados cuyos niveles son o no identificados. Algunos son causa de enfermedades en consumidores que no lo sospechan. **[Ko, Richard J: 1998]**

El Departamento de Servicio de Salud de California, división de Alimentos y Drogas, inició un estudio con las medicinas asiáticas patentadas que son importadas para monitorear productos farmacéuticos no declarados y contaminación con metales pesados, usando cromatografía de gases, espectrometría de masas y métodos de absorción atómica. **[Ko, Richard J: 1998]**

De 260 productos asiáticos registrados, comercializados en tiendas herbolarias de venta por menor en California, un total de 251 productos fueron analizados para plomo, arsénico y mercurio; las otras 9 muestras fueron insuficientes para el análisis. Veinticuatro productos contenían plomo en cantidades de al menos 10 partes por millón (ppm) (rango, 10 a 319; mediana 29.8; media 14.553). Veinticinco productos contenían mercurio (rango, 22.4 a 5070; mediana 329; media 1046). Los límites para metales pesados para la mayoría de los productos farmacéuticos orales, según la Farmacopea de los Estados Unidos, es de 30 ppm, con un límite menor para plomo, arsénico (75 mg/día) y mercurio (260 mg/día) según Edgard Espinoza del Laboratorio Forense de Pesca Nacional y Vida Salvaje

(NationalFish and Wildlife Forensics Laboratory)y Bob Bleasdell del Colegio del Estado del Sur de Oregon (Southern Oregon State College). [Ko, Richard J: 1998]

En Guatemala, según información proporcionada en el Departamento de Regulación y Control de Productos Farmacéuticos y Afines, el suplemento dietético mono-ingrediente y de origen vegetal, con mayor frecuencia de registro es cápsula de gelatina suave formulada a base de lecitina de soya; pero como se dijo anteriormente la literatura no hace referencia a estudios y ensayosefectuados para la determinación de metales pesados en suplementos dietéticos de este producto.

En una revisión bibliográfica en distintas fuentes, únicamente se encontraron tres estudios desarrollados como temas de tesis que se refieren a la evaluación de aspectos regulatorios y de garantía de la calidad de suplementos dietéticos comercializados en Guatemala (Lizbeth Waleska Zambrano Ruano. *Requerimientos para registro, importación, fabricación y comercialización de suplementos dietéticos en Guatemala.*; Ana LucíaSalazar Duarte. *Evaluación de la calidad de suplementos dietéticos preparados a base de melatonina que se distribuyen en Guatemala.*; Leonel de Gandarias Alfaro. *Estudio de estabilidad acelerada para suplementos dietéticos a base de melatonina que se comercializan en Guatemala.*), pero estos no hacen mención de metodologías para la determinación de contaminantes como recurso para la evaluación de la calidad de los suplementos dietéticos.

2.2. Justificación

Con el creciente interés de mejorar la salud de la población en general, el mercado de los suplementos dietéticos adquiere mayor importancia debido a la variedad de beneficios a la salud de los que hacen publicidad.

El mercado de los suplementos dietéticos es un área bastante antigua, que se inicia principalmente con la comercialización de productos a base se plantas medicinales, sin

embargo, las nuevas tendencias culturales han ampliado la variedad de productos que se comercializan bajo la etiqueta de suplementos dietéticos.

Este creciente interés por los suplementos dietéticos y la expansión del mercado, genera la necesidad de crear regulaciones que permitan garantizar la efectividad y seguridad de estos productos.

Bajo la etiqueta de suplementos dietéticos, estos productos se encuentran reglamentados de acuerdo con las normas de alimentos y no con las normas para medicamentos (según la declaración de la DSHEA en octubre de 1994) y quedan exentos de las pruebas de verificación de calidad, efectividad y seguridad desarrolladas por la FDA.

Esta situación no es distinta en Guatemala, en donde la autorización para la comercialización de suplementos dietéticos está bajo la responsabilidad del Departamento de Regulación y Control de Alimentos de la Dirección General de Regulación, Vigilancia y Control de la Salud, y según el acuerdo gubernativo 75-2006 (Reglamento de la Ley del Sistema Nacional de Seguridad Alimentaria y Nutricional) en donde las pruebas confirmatorias de calidad, efectividad y seguridad de los suplementos dietéticos no son de carácter obligatorio.

Debido a la ausencia de leyes que permitan darle un carácter obligatorio a las pruebas de calidad, efectividad y seguridad de los suplementos dietéticos para garantizar que estos se encuentran libres de la contaminación y el crecimiento comercial experimentado por estos productos en los últimos años; uno de los objetivos que se persiguen con este trabajo es el de desarrollar y validar un método cuantitativo para el análisis de metales pesados en suplementos dietéticos, específicamente para la determinación de plomo.

Los metales pesados poseen la característica de biomagnificarse (la concentración aumenta en cada nivel trófico, y pasa de un nivel a otro). De tal forma que por su incidencia en uso, entre los metales pesados con mayor número de reportes de intoxicación se encuentra el plomo.

La ingesta diaria de plomo no debe exceder los 5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ (peso corporal) y las principales fuentes de exposición son el agua y los alimentos. La ingesta diaria de 600 μg de plomo puede resultar en una intoxicación por plomo, pudiendo presentar síntomas neuropsiquiátricos, gastrointestinales, hematológicos y/o urinarios. El plomo tarda aproximadamente 30 años para ser eliminado de los huesos. [Berman, Eleanor: 1980]

En este trabajo de investigación se evaluó y trabajó con espectroforometría de absorción atómica con horno de grafito, como método para la detección y cuantificación de plomo.

La espectrofotometría de absorción atómica es una técnica sensible para la determinación cuantitativa de más de 60 elementos metálicos o metaloides. Los límites de detección que se pueden obtener por espectrometría de absorción atómica en llama para el plomo es de 10 ng/mL (0.010 ppm). En condiciones normales, el error relativo asociado con el análisis de absorción con llama es del orden del 1% al 2%. Al utilizar el método de absorción atómica con el accesorio de horno de grafito para calentar la muestra a fin de desolvatarla y atomizarla, aumenta la sensibilidad en el análisis.

2.3. Planteamiento del problema

Los suplementos dietéticos son, a nivel mundial, un producto de alto consumo dentro de la población de todas las edades debido a sus múltiples efectos en la mejora del funcionamiento del organismo humano, al proporcionar nutrientes que normalmente se encuentran presentes en los alimentos. Sin embargo, un aumento en el consumo de suplementos dietéticos ha generado un aumento en el reporte de efectos adversos de estos productos.

Según la declaración de la DSHEA en octubre de 1994, no se precisa que los suplementos dietéticos sean aprobados por la FDA para ser comercializados, así como no se

exige que los suplementos dietéticos cuenten con pruebas de seguridad y eficacia para su comercialización

Según la legislación actual guatemalteca, el Departamento de Regulación y Control de Productos Farmacéuticos y Afines tampoco solicita pruebas de seguridad y eficacia para el registro y comercialización de suplementos dietéticos.

Entonces, cuál es la relación entre el creciente reporte de efectos adversos por el consumo de suplementos dietéticos y la ausencia de una legislación que dé carácter obligatorio a las pruebas químicas de comprobación de la calidad de los productos para garantizar que estos están libres de contaminantes como metales pesados.

2.4. Alcances y límites del problema

2.4.1. Alcance.Se desarrolló una metodología analítica para la determinación y cuantificación de plomo en suplementos dietéticos a través de espectrofotometría de absorción atómica (AAS) con horno de grafito.

El método es aplicable a cualquier presentación de suplementos dietéticos, con su pertinente forma de muestreo según indicaciones de la Farmacopea de los Estados Unidos (The United States Pharmacopeia –USP-).

2.4.2. Límites.Los resultados del estudio son válidos únicamente para la determinación de plomo en suplementos dietéticos en un rango de determinación de 1.00 ppb a 20.00 ppb de plomo.

III. MARCO TEÓRICO.

3.1. Suplementos dietéticos

Según la Norma sanitaria para el registro de productos denominados como alimentos con propósitos médicos especiales, suplementos dietéticos y productos de origen animal y vegetal, No. 004-2003, de la Dirección General de Regulación, Vigilancia y Control de la Salud (DGRVCS) del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS) de Guatemala, un suplemento dietético es una sustancia o mezcla de sustancias, destinada a proporcionar los nutrientes presentes normalmente en los alimentos. En un sentido amplio, estas sustancias, pueden ser vitaminas, minerales, aminoácidos, carbohidratos, proteínas, grasas, hierbas u otras sustancias o extractos de origen vegetal o incluso animal (extractos de glándulas). [DGRVCS. 2003]

3.1.1. El mercado y consumo de suplementos dietéticos.El mercado mundial de los suplementos dietéticos en el 2001 alcanzó los 50.6 billones de dólares (US. \$). Sólo el segmento de los productos a base de plantas medicinales corresponde a unos 19.6 billones y a una franja de mercado del 38.7%, superior al de los suplementos a base de minerales y vitaminas (20.6%) y al de los suplementos deportivos. [Bianchi, Antonio: 2003]

Si se analiza detalladamente el consumo per cápita del mercado europeo y el norteamericano, han tenido una caída de un 15% - 45%. Esta caída ha repercutido precisamente en los productos más importantes. Gingko biloba, Echinacea, Ajo, Ginseng, Hiperycum perforatum, Serenoa repens, Valeriana, Sylibum marianum. Las razones de tal crisis han sido individualizadas principalmente desconfianza en la calidad y en la eficacia de las mismas en un mercado en el que los parámetros de calidad y la dosificación misma se dejan a menudo al arbitrio de las empresas. [Bianchi, Antonio: 2003]

Las proyecciones futuras en el próximo decenio, hacen pensar que el mercado de los suplementos dietéticos puede sufrir una posterior expansión y una nueva definición en

función de una evidencia basada en mayores presupuestos científicos. Esta previsión se apoya en: **[Bianchi, Antonio: 2003]**

- Los aumentos de los costos de los cuidados sanitarios basados en fármacos a nivel institucional. **[Bianchi, Antonio: 2003]**
- El interés por parte de los particulares, de la comunidad y de los gobiernos nacionales en favorecer una mayor autogestión de los cuidados sanitarios. **[Bianchi, Antonio: 2003]**
- El aumento de la convalidación científica en la eficacia de los numerosos preparados a base de productos vegetales y animales. **[Bianchi, Antonio: 2003]**
- El progresivo aumento de nuevas legislaciones sanitarias referentes a suplementos dietéticos. **[Bianchi, Antonio: 2003]**
- El renovado interés por parte de la industria farmacéutica en los posibles nuevos mercados (productos naturales, nutraceuticos, cosmocéticos, etc.). **[Bianchi, Antonio: 2003]**
- La constante búsqueda de nuevas soluciones para patologías crónicas y/o resistente a los fármacos. **[Bianchi, Antonio: 2003]**
- La renovada capacidad de algunas empresas herbolarias para adecuarse a las más sofisticadas estrategias de marketing. **[Bianchi, Antonio: 2003]**
- La disponibilidad de materias primas de mayor calidad. **[Bianchi, Antonio: 2003]**

El mercado de los suplementos dietéticos, se trata de un mercado que se basa esencialmente en la “prevención de las enfermedades” o el “mantenimiento de la salud”. Esta definición no se basa en presupuestos normativos sino de forma más pragmática en la tipología del canal de distribución. **[Bianchi, Antonio: 2003]**

Principales productos en el mercado de los “suplementos dietéticos”: adelgazantes, adaptógenos, inmunoestimulantes, productos para los trastornos de la mujer, estimulantes, sedativos. **[Bianchi, Antonio: 2003]**

El motivo principal por el que una persona compra un suplemento dietético es por una decisión autónoma, por lo que la inversión económica se debe a estrategias de marketing dirigidas a lograr un mensaje que debe llegar directamente al consumidor. En el

sector de los “suplementos dietéticos” más que una demostración real de la eficacia, lo que importa realmente es la habilidad de colocar en el producto las indicaciones adecuadas, con determinadas características visibles y agradables y con un correcto mensaje para el consumidor. [Bianchi, Antonio: 2003]

El consumidor de suplementos dietéticos es un consumidor más abierto, que cambia sin problemas de un producto a otro, autónomo en sus decisiones, permanentemente a la búsqueda de nuevas soluciones, atento a los costos del producto, atraído por el envase e interesado en que no modifiquen su estilo de vida (adelgazantes, adaptógenos, anti-edad). [Bianchi, Antonio: 2003]

Cuadro 1. Características comerciales de los suplementos dietéticos consideradas por los consumidores. [Bianchi, Antonio: 2003]

<i>Característica</i>	<i>Grado considerado de importancia</i>
<i>Eficacia</i>	No necesariamente apreciable
<i>Seguridad</i>	Importante
<i>Precio</i>	Importante
<i>Elección</i>	Elección autónoma
<i>Categorías</i>	Genéricas (adaptógenos, adelgazantes, etc.)
<i>Innovación</i>	Importante
<i>Protección intelectual</i>	Útil pero no fundamental

3.1.2. Aspectos regulatorios de los suplementos dietéticos. En la actualidad el gobierno federal de los Estados Unidos reglamenta los suplementos por medio de la FDA, de acuerdo con las normas para alimentos y no para medicamentos. Por lo general, las leyes para comercializar los alimentos (y los suplementos) y mantenerlos en el mercado son menos estrictas que las leyes para los medicamentos. [NCCAM, National Institute of Health: 2007]

La Ley de drogas, alimentos y cosméticos prohíbe la distribución de alimentos adulterados en el comercio interestatal. En la sección 402(f)(1)(A) de esa ley, un alimento se considera adulterado si (entre otras cosas) es (o contiene) un suplemento dietético que presenta un riesgo importante o inaceptable de enfermedad o daño bajo las condiciones de uso recomendadas o sugeridas en el etiquetado, o si no se sugieren o recomiendan

condiciones de uso en el etiquetado, bajo condiciones normales de uso. [USA Abogado de importaciones del FDA: 2008]

La Agencia no analiza los suplementos dietéticos antes de su venta a los consumidores. El fabricante es el responsable de asegurar que la relación de componentes indicada en la lista incluida en el envase es correcta, que los ingredientes dietéticos son seguros y que el contenido es el indicado en el envase. La FDA, no tiene recursos para analizar los suplementos dietéticos enviados a la Agencia por los consumidores que desean conocer su contenido. Para ello, los consumidores deben contactar con el fabricante o con un laboratorio comercial. [NCCAM, National Institute of Health: 2007]

En Guatemala, los suplementos dietéticos son registrados en el Departamento de Regulación y Control de Productos Farmacéuticos y Afines, bajo las normas del Departamento de Regulación y Control de Alimentos de la Dirección General de Regulación, Vigilancia y Control de la Salud; de tal forma que los productos, para ser registrados deben de llenar los siguientes requisitos: [DGRVCS: 2003]

- Cumplir con la normativa del tipo de alimento que le corresponda, en lo que le sea aplicable. [DGRVCS: 2003]
- Contener recomendaciones de consumo y modo de preparación. [DGRVCS: 2003]
- Contener advertencias y precauciones, cuando su uso inadecuado implique un riesgo para la salud. [DGRVCS: 2003]
- Evitar o corregir una deficiencia nutricional, suplir una deficiencia alimentaria o asegurar un aporte de nutrientes. [DGRVCS: 2003]

Al igual que en los Estados Unidos la FDA, según las normas para alimentos, no exige pruebas que confirmen la seguridad y efectividad de los suplementos dietéticos para su registro, en Guatemala el Departamento de Regulación y Control de Productos Farmacéuticos y Afines tampoco exige que se presenten estas pruebas.

3.2. Metales pesados

Los metales pesados corresponden a un grupo de elementos químicos que presentan una densidad relativamente alta y cierta toxicidad para el ser humano. El término "metal pesado" se emplea para referirse a los elementos metálicos que tienen una densidad mayor o igual a 6 g/cm³. Algunos autores utilizan como índice un valor de densidad de 5 g/cm³, pero los valores en la bibliografía pueden ir desde 4 g/cm³ hasta 7 g/cm³. Otros criterios empleados son el número atómico y el peso atómico. [Bautista Zúñiga, Francisco: 1999]

Se ha demostrado científicamente que, además de causar algunos de los problemas ambientales más graves, la exposición a metales pesados en determinadas ocasiones puede ser la causa de la degradación y muerte de vegetación, ríos, animales e, incluso, de daños directos en el hombre. [Consumer Eroski: 2001]

La importancia y peligrosidad de los metales pesados reside en su capacidad de solubilidad; los metales pesados que son solubles son los que representan riesgo para la salud. De entre ellos, destacan el plomo y el mercurio, seguidos por el berilio, el bario, el cadmio, el cobre, el manganeso, el níquel, el estaño, el vanadio y el cinc. Aunque su presencia natural no debería ser peligrosa (es parte del equilibrio de la naturaleza), lo que sucede es que, desde la Revolución Industrial, su producción ha ascendido vertiginosamente: entre 1850 y 1990 la presencia de plomo, cobre y zinc se multiplicó por diez. [Consumer Eroski: 2001]

Cuando se abandonan metales tóxicos en el ambiente, contaminan el suelo y se acumulan en las plantas y los tejidos orgánicos. La peligrosidad de los metales pesados es mayor al no ser química ni biológicamente degradables. Una vez emitidos, pueden permanecer en el ambiente durante cientos de años. Además, su concentración en los seres vivos aumenta a medida que son ingeridos por otros, por lo que la ingesta de plantas o animales contaminados puede provocar síntomas de intoxicación. [Consumer Eroski: 2001]

Prácticamente todos los metales pesados son capaces de inducir (estimular) una proteína, la metalotioneína, la cual forma un complejo con el metal, actuando como un mecanismo detoxificador. Por otra parte, muchos factores pueden influir en la toxicidad de los compuestos metálicos; por ejemplo, el recambio óseo interfiere directamente en la liberación del plomo acumulado (este sigue el metabolismo del calcio), el tabaco contiene cadmio, la vitamina C reduce la absorción de cadmio y plomo, la forma química de los metales condiciona la absorción y distribución, y por tanto su toxicidad, etc. [Gil Hernández, F: 2007]

3.3. Plomo.

El plomo fue descubierto por los antiguos egipcios hacia unos 3,300 – 3,400 años a. de C. y se halla en la naturaleza en una proporción ponderal de 0.002%. Los principales países extractores del metal son los Estados Unidos de Norteamérica, Rusia, Australia, Canadá, México, Perú, Yugoslavia, China y la India. [Enciclopedia Autodidáctica Océano: 1987]

Se trata de un metal color gris, pesado, blando y poco resistente a la tracción. Recién cortado presenta una superficie brillante, que, expuesta al aire, se empaña rápidamente por oxidación. Posee una densidad relativa o gravedad específica 11,4 a 16°C, se funde con facilidad. Su fusión se produce a 327,4°C y hierve a 1.725°C. [Enciclopedia Autodidáctica Océano: 1987]

En la naturaleza se encuentra en forma de sulfuro, mineral que recibe el nombre de galena. Es un metal resistente a la acción de algunos ácidos fuertes, como el ácido sulfúrico; sin embargo suele ser fácilmente atacado por ácidos orgánicos (p.e. ácido acético) e incluso por aguas ricas en nitratos, sales de amonio o de carácter ácido. [Gil Hernández, F: 2007]

3.3.1. Exposición al plomo y límites de cuantificación. Muchas de las exposiciones a plomo que ocurren en poblaciones no industriales resultan del consumo de alimento o agua contaminada. Del 5% al 10% del plomo ingerido es absorbido por el

cuerpo; el resto es excretado por las heces. El estudio clásico de Kehoe *et al.* indica que bajo circunstancias normales, un adulto consume 300 µg diarios de plomo. La ingesta diaria de 600 µg de plomo puede resultar en una intoxicación por plomo. La Organización Mundial de la Salud sugiere que la ingesta diaria de plomo no debe exceder los 5 µg/Kg (peso corporal). [Berman, Eleanor: 1980]

La dosis letal de plomo absorbido se ha estimado en 0.5 g. La acumulación y toxicidad ocurre si se absorben más de 0.5 mg al día. El valor límite de umbral (TLV, por sus siglas en inglés, Threshold Limit Value) de plomo en aire es 0.15 mg/m³. El TLV de plomo en los alimentos es 2.56 mg/Kg. [Dreisbach, Robert Hastings: 1974]

3.3.2. Fuentes de plomo. Están representadas por el metal y sus derivados. Respecto a sus derivados se pueden distinguir: [Gil Hernández, F: 2007]

3.3.2.1. Inorgánicos: poco solubles, y por lo tanto de escasa toxicidad. Entre ellos se encuentran los óxidos (el más conocido es el minio [Pb₂O₃] u óxido de plomo rojo que es base de pinturas anticorrosivas), el cromato (se usa como colorante amarillo), el arseniato de plomo (presente en algunos plaguicidas), el carbonato (empleado como pigmento blanco) y el sulfuro o galena (utilizado por ceramistas y alfareros). [Gil Hernández, F: 2007]

3.3.2.2. Orgánicos: entre ellos se encuentra el acetato de plomo o sal de Saturno (muy soluble; se empleó como abortivo), el estearato (un aditivo de plásticos), el naftenato de plomo (empleado en aceites industriales) y el plomo tetraetilo (que se ha usado durante bastante tiempo como antidetonante en los carburantes). [Gil Hernández, F: 2007]

No obstante, el plomo constituye el elemento no esencial más abundante en el organismo humano, procedente en muchas ocasiones de fuentes extraprofesionales, entre las cuales destaca el agua de bebida (actualmente poco frecuente al sustituir las tuberías de plomo por policloruro de vinilo [PVC]), la ingesta de bebidas ácidas en recipientes que pueden contener plomo (escabeches, zumos de frutas ácidas, mostos de uva, etc.) y la

contaminación urbana, que ha disminuido notablemente al eliminar el plomo tetraetilo como antidetonante de los carburantes. [Gil Hernández, F: 2007]

3.3.3. Toxicocinética.

3.3.3.1. Absorción: el plomo puede ingresar al organismo por vía respiratoria, digestiva o cutánea. La absorción por vía respiratoria depende del tamaño de las partículas, la ventilación pulmonar y la solubilidad del compuesto. Por esta vía se inhalan vapores, polvos y humos de plomo. Aquellas partículas menores a $1\mu\text{m}$ penetran hasta el alvéolo. Por vía digestiva solo se absorbe un 10% del plomo ingerido, siendo eliminado el 90% restante por las heces. En el caso de los niños, dada la mayor permeabilidad de la mucosa intestinal, la absorción puede alcanzar hasta un 30%. También influye aquí la solubilidad del compuesto, y de forma especial e inversamente proporcional, la riqueza de potasio y calcio en la dieta. La vía cutánea suele ser exclusiva de los derivados orgánicos (naftenato, tetraetilo, etc.). [Gil Hernández, F: 2007]

3.3.3.2. Distribución: el plomo se distribuye en el organismo unido a un 95% de los hemáties. Existe, además, una fracción ligada a proteínas ricas en azufre, nitrógeno y oxígeno, así como una fracción ligada a los tejidos, de gran importancia en la exposición laboral dado el carácter acumulativo del compuesto; de este modo, por ejemplo, se acumula en el hígado, el riñón, el sistema nervioso, y sobre todo, en el tejido óseo, en forma de trifosfato en las epífisis de los huesos largos, zona donde el metabolismo del calcio es más activo, dada la afinidad del plomo por el calcio. Determinadas situaciones que pueden provocar una movilización del calcio óseo (acidosis, neoplasias, alteraciones metabólicas, etc.) podrían conllevar la liberación en sangre del plomo almacenado. Además, es capaz de atravesar la barrera placentaria y la barrera hematoencefálica en desarrollo, aspecto este último de enorme trascendencia en niños. [Gil Hernández, F: 2007]

3.3.3.3. Eliminación: del 80% al 90% del plomo se elimina por las heces. El restante 10% se elimina por la orina, por un proceso de filtración y posiblemente

de excreción activa por los túbulos renales. Pequeñas cantidades de plomo se eliminan con el pelo, las uñas, sudor, y saliva. [Gil Cebrián, J. *et all*: 2008]

3.3.3.4. Tiempo de vida media: se considera que la vida media del plomo circulante es de unos 2 meses, pero la del depositado en los huesos puede aproximarse a los 30 años. [Gil Cebrián, J. *et all*: 2008]

3.3.4. Mecanismo de acción.El plomo se combina con grupos sulfhidrilo de las proteínas. Interfiere también con el transporte de calcio (Ca^{2+}), con la síntesis y liberación de algunos neurotransmisores y con la activación de la protein-cinasa C. En concentración alta, el plomo altera la estructura terciaria de las proteínas celulares, las desnaturaliza y ocasiona inflamación y muerte celular. [Gil Cebrián, J. *et all*: 2008]

Una de las acciones tóxicas más importantes del plomo es la inhibición de la síntesis del grupo hemo de la hemoglobina y de los citocromos. El plomo inhibe la enzima δ -ácido deltaminolevulínico deshidrasa (ALAD, por sus siglas en inglés del δ -aminolevulinic acid dehydratase), que debe convertir el ácido deltaminolevulínico (ALA, por sus siglas en inglés) en porfobilinógeno; y también inhibe la ferroquelatasa, que cataliza la inserción del hierro de la ferritina en el anillo de la protoporfirina, para formar el hemo. Consecuencia de todo ello se produce una disminución de la producción de hematíes y un acortamiento de su vida media. El nivel de impregnación medular de plomo puede, medirse a través de la excreción urinaria de ALA y coproporfirina III. [Gil Cebrián, J. *et all*: 2008]

El plomo tiene una acción constrictora sobre la fibra muscular lisa (provoca espasmos intestinales). También puede provocar lesiones encefálicas difusas, efectos desmielinizantes sobre los nervios periféricos, afección renal, hepatopatía, miocarditis, disminución de la espermatogénesis y trastornos menstruales, entre otros. [Gil Cebrián, J:*et all*. 2008]

3.4. Espectrofotómetro de absorción atómica

La espectrofotometría atómica se emplea en la determinación cuantitativa y cualitativa de unos 70 elementos. Los métodos de espectrofotometría atómica se han generalizado porque suelen ser muy rápidos, selectivos y sensibles. En las técnicas de espectrofotometría de absorción/emisión atómica, la emisión o absorción de la luz se aplica a átomos aislados, sin la complejidad de los enlaces moleculares. [Sogorb Sánchez, Miguel Ángel. *et all.*: 2004]

La espectrofotometría de absorción/emisión atómica en la región ultravioleta-visible se basa en el hecho de que todas las sustancias pueden absorber longitudes de onda que pertenecen al espectro ultravioleta-visible o infrarrojo, dependiendo de la estructura molecular, lo que le da un carácter propio. [Álvarez, Daniel: 2004]

La determinación espectroscópica de especies atómicas solo se puede llevar a cabo dentro de un medio gaseoso, en el cual los átomos individuales están separados unos de otros. Consecuentemente el primer paso en los métodos espectrofotométricos es la atomización, un proceso por el cual la muestra se volatiliza y descompone para producir un gas atómico. La eficacia y reproducibilidad del paso de atomización determina en gran parte la sensibilidad, exactitud y precisión del método. [Sogorb Sánchez, Miguel Ángel. *et all.*:2004]

La cantidad de energía radiante que es absorbida por cada átomo constituyente de una molécula, es medida con un espectrofotómetro. Este instrumento permite comparar la radiación absorbida o transmitida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto, y una que contiene una cantidad conocida de la misma sustancia. [Álvarez, Daniel: 2004]

Los espectros de emisión y absorción atómica están constituidos por una serie de picos estrechos y bien definidos. La falta de estados vibracionales y rotacionales provoca que muchos elementos atómicos sean capaces de excitarse, absorbiendo la energía de radiación de solo una determinada longitud de onda, y de relajarse, emitiendo al medio

radiación de esa misma longitud de onda. Esta es la propiedad en la que se basa la eficacia de las lámparas de cátodo hueco para cada metal. [Sogorb Sánchez, Miguel Ángel. *et all*: 2004]

Cuando ya se ha terminado el análisis de la solución, los valores obtenidos de absorbancia o emisión (transmitancia) a diferentes longitudes de onda en las que se analizó la solución se presentan en una gráfica llamada espectro de absorción/emisión. [Álvarez, Daniel: 2004]

3.4.1. Leyes de la espectrofotometría. Hay dos leyes básicas en la espectrofotometría. Estas permiten comprender los resultados obtenidos en un estudio espectrofotométrico. [Álvarez, Daniel: 2004]

3.4.1.1. Ley de Lambert: esta ley dice que a cualquier longitud de onda, la cantidad de luz monocromática transmitida es proporcional a la intensidad de la luz incidente. La absorción de luz es una función exponencial del espesor, es decir que la luz absorbida es directamente proporcional al espesor de la solución. [Álvarez, Daniel: 2004]

3.4.1.2. Ley de Beer: esta ley dice que en una solución la cantidad de luz absorbida es directamente proporcional a la concentración del soluto en solución. [Álvarez, Daniel: 2004]

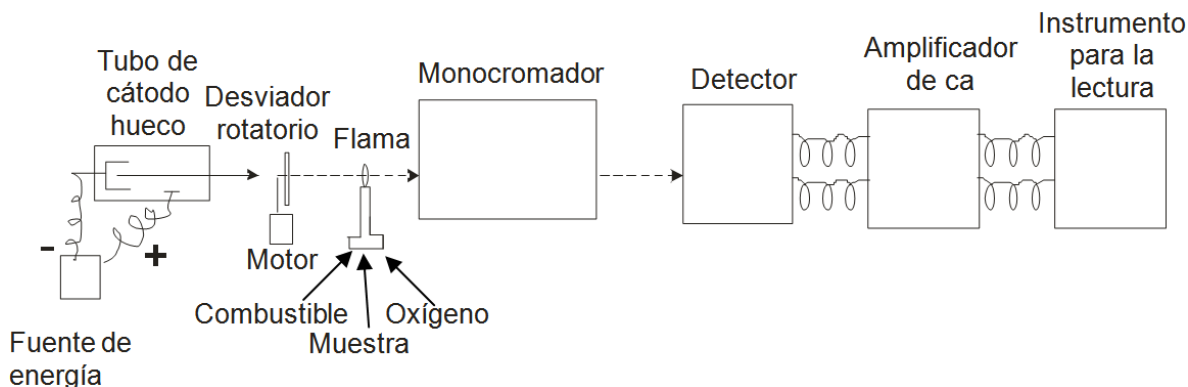
3.4.2. Espectrofotómetro de absorción/emisión atómica. En la Figura 5 se muestra un esquema de un espectrofotómetro de absorción atómica con atomización de llama, que es la configuración más clásica de un equipo de absorción atómica. Consta de una bomba peristáltica para la introducción de la muestra en un sistema de nebulización colocado antes del atomizador (una llama). Hay una fuente de radiación (generalmente una lámpara de cátodo hueco colocada en línea recta con la llama) que emite radiaciones de la longitud de onda apropiada que llega al detector, encargado de cuantificar y registrar la intensidad de luz que recibe, comparándola con la intensidad emitida por la fuente y transformándola en absorbancia o transmitancia. El detector se acopla a un sistema informático de registro que además controlará el aparato. Los datos registrados con la

respuesta de patrones de concentración conocida permitirán cuantificar los elementos de la muestra. [Sogorb Sánchez, Miguel Ángel. *et all*: 2004]

En los espectros de absorción atómica también es necesario un sistema de modulación que permite discriminar entre la radiación que procede de la fuente y la que procede de la llama. [Sogorb Sánchez, Miguel Ángel. *et all*. 2004]

En algunos aparatos de absorción atómica el nebulizador es eliminado y la llama es sustituida por otros sistemas de atomización, como hornos (cámara de grafito) o plasma. [Sogorb Sánchez, Miguel Ángel. *et all*: 2004]

Figura 1. Componentes de un espectrofotómetro de absorción atómica. (La llama se puede reemplazar por un horno)[Skoog, D.A. *et all*: 2001]



3.4.2.1. Algunos accesorios del sistema: Consiste en un espectrómetro de Absorción Atómica y otros accesorios: [Manual, espectrofotómetro PE]

- Incinerador
- Horno de Grafito (HGA-600)
- Sistema Mercurio/Hidruro (MES-10)
- Sistema de análisis de inyección de fluidos (FIAS 100/400)
- Llama de automuestreo (AS-51 o As-90)
- Horno de automuestreo (AS-60)
- Un accesorio de corrección de fondo
- Impresora

- Un sistema de computadora (PEAALABS Benchtop software)

3.4.2.2. El espectrómetro: el espectrómetro provee una luz de longitud de onda específica. Para desempeñar esta función, el espectrómetro usa una fuente primaria de luz, un monocromador y un detector. La fuente primaria de luz se usa para emitir las líneas atómicas estrechas del elemento en estudio. La luz pasa a través de una cavidad (de ancho 0.2 o 0.7 nm), el monocromador dispersa las diversas longitudes de onda de la luz y aísla las líneas de particular interés. Hay dos alturas diferentes de trabajo disponibles; baja y alta. La luz que genera el monocromador se dirige al detector que produce una señal eléctrica proporcional a la intensidad baja. [Manual, espectrofotómetro PE]

3.4.2.3. El atomizador: el atomizador es el sistema encargado de vaporizar la muestra. Los atomizadores más utilizados en espectrofotometría de absorción son los de llama y los electrotérmicos. Los atomizadores de llama se utilizan casi exclusivamente en modo de absorción, mientras que los plasmas se utilizan básicamente en técnicas de emisión. A través de energía térmica proveniente de la llama del atomizador, éste provee la energía necesaria para disociar los compuestos químicos, así produce átomos libres de analito para que ocurra la absorción atómica. Los diversos tipos de atomizadores disponibles para el sistema incluyen: Incinerador, Horno de grafito, y Celda caliente de cuarzo para determinaciones de mercurio/hidruro. [Manual, espectrofotómetro PE]

3.4.2.4. Lámparas: Un átomo absorbe ciertas longitudes de onda. Las lámparas sólo emiten ciertas longitudes de onda, para ciertos átomos. Las lámparas deben ser cilindros largos para promover alta sensibilidad y provocar pocas interferencias espectrales. En la lámpara de cátodo hueco el cátodo es un cilindro hueco constituido por el metal que se desea analizar. El ánodo y el cátodo se encuentran sellados en un cilindro de vidrio lleno con neón o argón. Una ventana en la base del cilindro es colocada para emitir la luz. Cuando un potencial eléctrico es aplicado entre el cátodo y el ánodo, el gas es ionizado. Donde se excitan los átomos al impactarse con los iones del gas y emiten luz. El cátodo es realizado con metales puros. También existen de aleaciones, aunque éstas presentan una intensidad de emisión menor. Lo cual es una desventaja en la precisión o en

la detección de límites inferiores requeridos. Corrientes grandes producirán emisiones más brillantes y menos ruido, aunque pudieran originar menor sensibilidad y menor rango de trabajo. Las lámparas trabajan a una corriente máxima estipulada. [Manual, espectrofotómetro PE]

3.4.2.5. Microcomputadora: es un circuito integrado capaz de centralizar el control e información de las muestras. En él se programan las instrucciones, se ordena la información en bancos de memoria, y permite generar resultados comunicándose con el mundo exterior por medio de una impresora. [Manual, espectrofotómetro PE]

3.4.2.6. Detector: el detector sirve de ojo para el instrumento. El detector es un tubo fotoamplificador que produce una corriente eléctrica dependiendo de la intensidad de la luz; esta corriente produce una señal que es la medida de la atenuación observada en celda de la muestra. [Manual, espectrofotómetro PE]

3.4.2.7. Monocromador: se usa para dispersar las diferentes longitudes de onda emitidas de la fuente y apartar la de interés. La selección de la longitud de onda es la que permite la determinación de un elemento. La longitud de onda seleccionada por el monocromador se dirige a un detector. [Manual, espectrofotómetro PE]

3.4.3. Funcionamiento del espectrofotómetro. El espectrofotómetro consiste básicamente en una fuente de luz blanca que se refleja en un prisma y este separa cada uno de los colores componentes de la luz. [Álvarez, Daniel: 2004]

Cada onda de color diferente puede ser pasada selectivamente a través de una ranura en forma de un destello, llamada luz incidente (I_0), y luego pasa a través de la muestra en estudio. [Álvarez, Daniel: 2004]

Después de seleccionar el destello de luz que atraviesa la muestra ésta emerge como un rayo transmitido (I) y llega a una célula fotoeléctrica. Si la sustancia ha absorbido cualquiera de las ondas incidentes, la luz transmitida será reducida en su contenido de

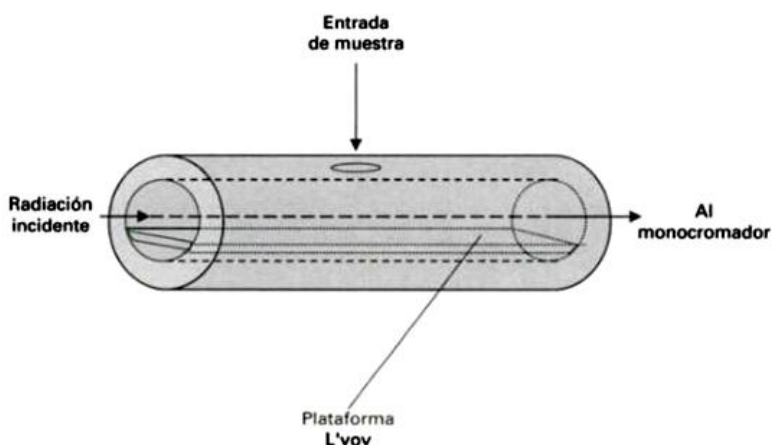
energía total en mayor o menor extensión. Si la sustancia en estudio no absorbe el rayo incidente y es transmitido exactamente igual, mostrará igual cantidad de energía radiante. Cuando el rayo de luz transmitido llega al tubo fotoeléctrico, éste genera una corriente eléctrica que es proporcional a la intensidad de la energía luminosa que llega al tubo. Conectando este tubo fotoeléctrico a un galvanómetro que tiene una escala graduada se obtiene una medida directa de la intensidad del destello luminoso. [Álvarez, Daniel: 2004]

3.4.4. Espectrofotómetro de absorción atómica con horno de grafito. Un espectrofotómetro de absorción atómica con atomizador en llama es capaz de cuantificar elementos químicos contenidos en muestras a concentraciones altas en el orden de %, mg/L ó mg/Kg ó partes por millón (ppm). Esto significa que se pueden realizar análisis de elementos mayores, menores y algunos contenidos a nivel de trazas. [Fundación Salvadoreña para el Desarrollo Social (FUSADE): 2005]

En cambio un espectrofotómetro de absorción atómica utilizado con horno de grafito es capaz de cuantificar elementos químicos contenidos en muestras a concentraciones en el orden de partes por billón (ppb) ó $\mu\text{g/L}$ ó $\mu\text{g/Kg}$. [FUSADE: 2005]

Los hornos de grafito se utilizan principalmente para atomizar sólidos o lodos, aunque también son aplicables a soluciones. Suele consistir en un tubo cilíndrico de grafito abierto por los extremos y un agujero central para la introducción de la muestra. El diámetro interno es algo inferior a 1 cm, mientras que su longitud es de aproximadamente de 2 cm. El tubo de grafito se fija por los extremos a unos contactos eléctricos. Todo este conjunto se mantiene dentro de un recipiente metálico refrigerado por agua. El sistema contiene unos tubos para purgar los gases generados durante las primeras etapas del calentamiento. El tubo de grafito se calienta al hacer pasar una corriente eléctrica entre los contactos. [Sogorb Sánchez, Miguel Ángel. *et all*: 2004]

Figura 2. Atomizador electrónico de cámara de grafito. [Sogorb Sánchez, Miguel Ángel. *et al*: 2004]



3.5. Validación.

La validación es la confirmación, mediante el suministro de evidencia objetiva, de que se han cumplido los requisitos para una utilización o aplicación específica prevista. [OAA: 2003]

La validación es un procedimiento para establecer por medio de estudios de laboratorio una base de datos que demuestren científicamente que un método analítico tiene las características de desempeño que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas. [OAA: 2003]

Implica la demostración de la determinación de las fuentes de variabilidad y del error sistemático y al azar de un procedimiento, no solo dentro de la calibración sino en el análisis de muestras reales. [OAA: 2003]

El objetivo de la validación es probar la aptitud de los métodos, así como la capacidad del laboratorio. La validación se apoya en los parámetros estadísticos del procedimiento. [OAA: 2003]

3.5.1. Principios de validación. La validación de un procedimiento consiste en tres pasos: [OAA: 2003]

- Establecimiento de las condiciones por cumplir (por ejemplo: límite de detección menor a 1 mg/L, intervalo lineal mayor a 2 órdenes de magnitud, incertidumbre de los resultados menor a 20% en todo el intervalo de trabajo, para el caso de la validación de un método analítico general, etc.). [OAA: 2003]
- Determinación de los parámetros estadísticos del procedimiento. [OAA: 2003]
- Valoración de los resultados de la validación por comparación de los parámetros estadísticos obtenidos con las condiciones y decisión sobre la validez del procedimiento para el propósito establecido. [OAA: 2003]

3.5.2. Establecimiento del alcance de la validación. Se diferencian tres casos, en los que la dificultad de la validación aumenta del primero al tercero: [OAA: 2003]

- Se trata de un método de ensayo estandarizado y normalizado, que se aplica exactamente como está descrito en la norma. [OAA: 2003]
- Se trata de una modificación a un método de ensayo normalizado, por ejemplo, se hicieron modificaciones a los métodos descritos en la norma que pueden tener una repercusión sobre la calidad de los resultados. Ejemplos: un método de extracción diferente, otra matriz. [OAA: 2003]
- Se trata de un método de ensayo interno, elaborado en el laboratorio y que no se encuentra en normas u otras colecciones de métodos. [OAA: 2003]

La validación en los casos descritos tiene objetivos distintos y, por lo tanto, diferentes puntos esenciales, como muestra el Cuadro 2. [OAA: 2003]

3.5.3. Parámetros determinados. Los parámetros que vienen al caso determinar, para el caso de química analítica, son: [OAA: 2003]

Cuadro 2. Objetivos de la validación según el tipo de procedimiento de ensayo. [OAA: 2003]

<i>Método de ensayo</i>	<i>Objetivos de la validación</i>
<i>Método normalizado (caso 1)</i>	Comprobación de que el laboratorio domina el ensayo y lo utiliza correctamente.
<i>Modificación de un método normalizado (caso 2)</i>	Comprobación de que la repetibilidad, la reproducibilidad, la precisión intermedia y la exactitud del método original no dependen de la modificación introducida y que el laboratorio domina el ensayo y lo utiliza correctamente.
<i>Método interno (caso 3)</i>	Comprobación de que el método tiene la repetibilidad, la reproducibilidad, la precisión intermedia y la exactitud suficientes para el objetivo de aplicación y que el laboratorio domina el ensayo y lo realiza correctamente.

3.5.3.1. Exactitud: la exactitud se define como la proximidad entre el resultado de una medición y el valor verdadero de la determinación. Para la evaluación de este parámetro se realiza el análisis de un material de referencia certificado, preferentemente con una matriz semejante a la de la muestra. Sólo en el caso de no existir un material adecuado se puede realizar un ensayo de recuperación. Cuando sea posible, se realizan un mínimo de 10 repeticiones del ensayo tres días consecutivos. Se compara el promedio de los valores obtenidos (\bar{x}) con el valor de referencia certificado (μ), teniendo en cuenta la incertidumbre asociada a ese material. [OAA: 2003]

3.5.3.2. Repetibilidad: la repetibilidad se define como la proximidad entre los resultados de mediciones sucesivas de la misma determinación, realizadas bajo las mismas condiciones de medición. (Aplicación de un mismo procedimiento, a un mismo objeto, por el mismo operador, en intervalos cortos de tiempo, con el mismo equipamiento instrumental, en el mismo lugar). Puede determinarse de una manera interna. Para ello es necesario tener en cuenta que: [OAA: 2003]

- Deben determinarse suficientes resultados (recomendación: $n \geq 10$). [OAA: 2003]
- Todos los pasos del método (incluidas la toma y preparación de la muestra, así como la calibración) deben realizarse n-veces. [OAA: 2003]

3.5.3.3. Precisión: la precisión se define como la magnitud que relaciona la variación en los resultados observados cuando uno o más factores, tales como tiempo, equipo, operador, varían dentro de un mismo laboratorio. [OAA: 2003]

3.5.3.4. Límite de detección: el límite de detección se define como la menor cantidad que puede ser distinguida del fondo con cierto nivel de confianza especificado.

Para un resultado analítico que es muy cercano al valor del blanco, se plantea la duda de si el valor corresponde a valores aleatorios del blanco o a la presencia real del analito. La señal del fondo es producida por el blanco y exhibe ruido. El límite de detección (*LD*) corresponde a una señal *k* veces la desviación estándar del ruido del fondo. Típicamente el valor de *k* es igual a 3 ($LD = 3\sigma_F$). Los valores por encima del *LD* pueden ser atribuidos a la presencia del analito y los valores por debajo del *LD* son indicativos de la ausencia de analito en cantidades detectables. [OAA: 2003]

Los procedimientos de determinación posibles son: [OAA: 2003]

- Tres veces la dispersión, expresada como desviación estándar, a partir de mediciones repetidas del blanco (válido solamente para procedimientos con blanco), o de soluciones del analito en agua pura. [OAA: 2003]
- De 2,5 a 5 veces la relación señal/ruido del instrumento de medida a utilizar. [OAA: 2003]

Se prepara una solución del analito de interés que contenga una concentración entre 2,5 y 5 veces el límite de detección instrumental y se analiza como mínimo de 7 veces (diez veces consecutivas es lo aconsejable) utilizando el método analítico completo. También puede utilizarse el blanco de reactivos. [OAA: 2003]

3.5.3.5. Límite de cuantificación: El límite de cuantificación se define como la menor cantidad que puede ser determinada cuantitativamente con una incertidumbre asociada, para un dado nivel de confianza. Para el análisis cuantitativo solo se emplean valores atribuibles al analito. El límite de cuantificación es entre 3 y 10 veces el *LD* ($LD = 3\sigma_F$), según cada caso. [OAA: 2003]

3.5.3.6. Porcentaje de recuperación:El porcentaje de recuperación es el cociente entre la cantidad de analito medida y el contenido en la muestra. En el caso ideal, se obtiene un 100%. En mediciones experimentales puede perderse analito especialmente en el caso de tratamientos complejos de muestras con analito en cantidades traza, dando lugar a porcentajes de recuperación menores. [OAA: 2003]

Para calcular la recuperación se determina la función de recuperación. Para lo cual se agregan a la muestra antes del tratamiento cantidades sucesivas del analito y se determinan contra una calibración base. Las cantidades encontradas se grafican contra las agregadas. [OAA: 2003]

En el caso ideal los valores caen en la bisectriz de la incertidumbre de los resultados. En este caso la recuperación es del 100% y es suficiente una calibración base, analito en un disolvente. [OAA: 2003]

Si los valores se salen de este marco, debe hacerse una calibración a partir de matriz y analito en un disolvente para eliminar el efecto de la matriz. [OAA: 2003]

En caso de que la matriz introduzca muchas variaciones debe utilizarse en lugar de una calibración con la matriz de la muestra el método de adición de estándar, el cual consiste en agregar concentraciones sucesivas del analito de interés a través de la adición de estándares de distintas concentraciones sucesivas a la muestra. Al graficar el aumento de la señal contra la cantidad adicionada se obtiene una función de calibración, a partir de la cual puede obtenerse la cantidad de analito presente en la muestra original. [OAA: 2003]

Este método conduce a un aumento claro en la concentración del analito. Para mantener el error lo más pequeño posible, las cantidades añadidas deben ser tales que no sobrepasen el intervalo de trabajo. [OAA: 2003]

3.5.3.7. Linealidad:la linealidad se define como la habilidad (dentro de un ámbito dado) del procedimiento analítico de obtener resultados de prueba que sean directamente proporcionales a la concentración de analito en la muestra. [OAA: 2003]

De tal forma que el ámbito lineal es la parte de la función de calibración en la que la señal obtenida para el analito responde “linealmente” a la concentración. Se verifica mediante la obtención de coeficientes de correlación mayores o iguales a 0.995. [OAA: 2003]

3.5.3.8. Rango o intervalo de trabajo:el ámbito de trabajo de un método analítico es el intervalo entre los niveles más bajo y más alto de concentraciones que ha sido demostrado que puede ser determinados con la precisión y la exactitud requeridas para una determinada matriz. [OAA: 2003]

- Se preparan un blanco y seis concentraciones diferentes del analito a determinar o seis muestras fortificadas a varias concentraciones. Preferiblemente las soluciones se deben preparar independientemente y no a partir de diluciones sucesivas del material de referencia. [OAA: 2003]
- Se representa la señal obtenida en función de la concentración y se determina el ámbito lineal y los extremos superior e inferior del intervalo de trabajo. [OAA: 2003]
- Se repiten los pasos a y b dentro del ámbito lineal y se efectúa un estudio estadístico de los resultados obtenidos. Es preferible trabajar dentro del ámbito lineal. [OAA: 2003]
- Para la curva de calibración, es conveniente utilizar polinomios de ajuste de grado 2 como máximo. [OAA: 2003]

3.5.3.9. Robustez:el objetivo de la prueba de robustez es optimizar el método analítico y describir que bajo las condiciones establecidas (incluidas sus tolerancias) se pueden obtener resultados suficientemente exactos con una alta seguridad, de manera que el procedimiento funcione confiablemente si se utiliza en otros laboratorios o después de intervalos largos de tiempo. [OAA: 2003]

Un método es más robusto entre menos dependan los resultados del ensayo de una modificación en las condiciones de éste. Al desarrollar un nuevo método analítico debe determinarse la modificación de los resultados por el cambio en las condiciones del ensayo. [OAA: 2003]

3.5.3.10. Especificidad:la especificidad sugiere que ningún compuesto excepto el analito contribuye al resultado de un ensayo. Para probar esto hay varias posibilidades: [OAA: 2003]

- Se agrega el componente que interfiere en cantidades sucesivas y se evalúa su influencia. [OAA: 2003]

- Se prueba un estándar certificado de la matriz con cantidades conocidas del analito. Si se encuentra el valor correcto, el procedimiento es específico. [OAA: 2003]

3.5.3.11. Selectividad: la selectividad da una indicación de cuan fuertemente un resultado es afectado por otros componentes de la muestra. [OAA: 2003]

3.6. Cápsulas de gelatina suave.

Las cápsulas de gelatina suave oblanda son preparaciones de diversas formas y tamaños y en una serie de colores o combinaciones de colores, las cuales pueden contener más de un ingrediente activo. [Gato del Monte, Armando: 1995]

Por las ventajas ofrecidas, la elegancia, la facilidad de uso y la transportabilidad, las cápsulas han devenido una forma dosificada muy popular porque protegen a aquellos ingredientes que pueden ser fotosensibles, fácilmente oxidables, termolábiles o higroscópicos, debido a su sellaje hermético. Proporcionan una envoltura suave, deslizante, de fácil deglución e insípida para los medicamentos que presentan un sabor o un olor desagradable. [Gato del Monte, Armando: 1995]

Las cápsulas de gelatina suave presentan una cubierta de gelatina suave y globulosa algo más gruesas que las cápsulas de gelatina dura. La gelatina se plastifica mediante la adición de glicerina, sorbitol o un polio similar. Las cubiertas de gelatina suave pueden contener un conservador para que no crezcan hongos. Los conservadores que se utilizan ordinariamente son metil y propilparabeno y ácido ascórbico. Cuando el vehículo suspensor o el disolvente puede ser un aceite, las cápsulas de gelatina suave son una forma posológica conveniente y muy aceptable. Para preparar y llenar las cápsulas de gelatina suave se suele requerir métodos de producción en gran escala. [Gennaro, Alfonso y Joseph Remington: 1987]

Algunas tabletas revestidas de azúcar tienen un aspecto muy similar al de las cápsulas de gelatina suave. Las diferencias esenciales son que la cápsula de gelatina suave tiene una

costura en el punto de cierre de las dos mitades y el contenido puede ser un líquido, una pasta o un polvo. La tableta revestida de azúcar no tiene costura pero sí un centro comprimido. [Gennaro, Alfonso y Joseph Remington: 1987]

Las formas posológicas de cápsulas de gelatina suave suelen prepararse de modo que el cierre hecho en la cubierta de gelatina se abra para liberar su medicación líquida en el estómago en menos de cinco minutos desde su ingestión. [Gennaro, Alfonso y Joseph Remington: 1987]

3.7. Lecitina de soya.

La lecitina es un compuesto graso que tiene acción sobre los lípidos del organismo, especialmente en la sangre, ya que juega un papel importante en el metabolismo de la grasa. Está presente en todas las células de nuestro cuerpo y es esencial para la estructura de los tejidos nerviosos y para el correcto funcionamiento de las glándulas. [Consumer Eroski: 2008]

3.7.1. Forma de obtención de la lecitina de soya.La lecitina de soya se extrae de la semilla de soya. Para conseguir la lecitina de soya, las semillas de soya se limpian, se descascarillan y una vez abiertas se enrollan para formar copos delgados. Se extrae el aceite de dichos copos, quedando una mezcla que contiene aceite de soya y lecitina. A continuación, se calienta ese aceite crudo y se le añade agua, lo que provoca que la lecitina se hinche formando una emulsión gelatinosa que puede separarse sin dificultad del aceite. Tras este proceso, se separa el agua en forma de vapor quedando la lecitina cruda en forma de aceite. [Consumer Eroski: 2008]

3.7.2. Composición y valor nutritivo de la lecitina de soya.Corresponde a un complemento dietético que pertenece a un grupo de sustancias semejantes a las grasas denominadas fosfolípidos. Los fosfolípidos son una mezcla compleja de grasas y ácidos

grasos esenciales, además de fósforo y dos importantes vitaminas del grupo B como son la colina y el inositol. [Consumer Eroski: 2008]

La lecitina de soya contiene lípidos (15% - 20%), proteínas (35% - 50%) y carbohidratos (15% - 25%). Consiste en los fosfolípidos extraídos de las semillas de soya, contiene 3-sn-fosfatidilcolina (~76%), fosfatidiletanolamina (7%) y fosfatidil-inositol. También contiene menos del 0.5% de ácido fosfatidilinosítico, del 2% - 6% de aceite y del 0.2% - 0.5% de vitamina E. [Bernat, Josep Allu Creus, Cañigüeral: 2003]

3.7.3. Acción farmacológica.

- Hipolipemiante. [Bernat, Josep Allu Creus, Cañigüeral: 2003]
- Hepatoprotector. [Bernat, Josep Allu Creus, Cañigüeral: 2003]

Ayuda a mantener en suspensión el colesterol presente en sangre, impidiendo que se deposite en las paredes arteriales y venosas. La lecitina forma también parte de la estructura de la pared de las células y aporta un antioxidante importante: la vitaminas E, además de fósforo. [Consumer Eroski: 2008]

3.7.4. Indicaciones. Coadyuvante de la dieta en el tratamiento de las hipercolesterolemias leves y moderadas, así como en las hepatopatías crónicas. También se utiliza como complemento dietético de los pacientes con alimentación parenteral crónica. [Bernat, Josep Allu Creus, Cañigüeral: 2003]

A modo de terapia preventiva, también se puede utilizar cuando debido a la tensión, la fatiga física o mental o la dieta es insuficiente en los componentes que necesita el hígado para producir la lecitina y en la prevención del inicio de las condiciones arterioscleróticas, que constituyen el estrechamiento y endurecimiento de las arterias a causa de los depósitos de grasa, especialmente de colesterol. [Consumer Eroski: 2008]

3.7.5. Contraindicaciones.No se han descrito. [Bernat, Josep Allu Creus, Cañigueral:2003]

3.7.6. Efectos secundarios.Ocasionalmente produce alteraciones gastrointestinales (dolor de estómago y diarrea). [Bernat, Josep Allu Creus, Cañigueral: 2003]

3.7.7. Precauciones.No se han descrito. [Bernat, Josep Allu Creus, Cañigueral: 2003]

3.7.8. Posología.Dosis media diaria equivalente a 3.5 g de 3-sn-fosfatidilcolina. [Bernat, Josep Allu Creus, Cañigueral: 2003]

3.7.9. Presentaciones comerciales.La calidad y eficacia de la lecitina depende de la potencia y composición del complejo de fosfolípidos. La más recomendable es la que contiene entre un 98% y un 99% ya que además contiene fosfatidilcolina que es una forma bastante similar al tipo de lecitina que se encuentra en el músculo del corazón. [Consumer Eroski: 2008]

IV. MARCO METODOLÓGICO

4.1. Objetivos

4.1.1. Generales

- Desarrollar y validar una metodología analítica para la determinación cuantitativa de plomo en suplementos dietéticos, a través de la técnica de espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito.
- Determinar y comprobar la adecuación de los instrumentos de cuantificación para garantizar la exactitud y precisión de los resultados obtenidos, dentro del intervalo de interés de la concentración de plomo, para el método desarrollado.
- Aportar un método de análisis químico, válido y confiable, para la determinación de plomo en suplementos dietéticos, que permita a las autoridades guatemaltecas evaluar la calidad de los suplementos dietéticos para determinar la seguridad y la eficacia de los mismos.

4.1.2. Específicos

- Estandarizar un método de extracción de plomo para suplementos dietéticos.
- Evaluar los parámetros de validación para la metodología analítica de espectrofotometría de absorción atómica, utilizada para la cuantificación de plomo en suplementos dietéticos.
- Cuantificar los niveles de plomo en muestras de producto terminado de suplementos dietéticos a base de lecitina de soya como mono-ingrediente, presentados como cápsulas de gelatina suave.

4.2. Hipótesis

“El contenido de plomo en muestras analizadas de suplementos dietéticos de lecitina de soya que se comercializan en Guatemala se encuentran por debajo de la concentración máxima admisible de plomo para grasas y aceites (según el reglamento 466/2001 y 221/2002 de la Comisión de la Unión Europea), establecido como 0.1 mg/Kg.”.

4.3. Variables

4.3.1. Independientes

- Concentración máxima admisible de plomo para grasas y aceites.
- Método de extracción desarrollado.
- Concentración de soluciones estándar utilizadas para preparar la curva de calibración.
- Estabilidad de las muestras, estándares y reactivos, tanto en el almacenamiento como durante las condiciones del ensayo.

4.3.2. Dependientes

- Porcentaje de recuperación del metal pesado a determinar que fue incorporado en los blancos fortificados.
- Rango de trabajo.
- Método analítico de cuantificación e identificación utilizado.
- Intensidad de la señal cuantificable de absorbancia de las soluciones analizadas.
- Intensidad de la señal cuantificable de absorbancia del metal pesado a determinar.

4.3.3. Moderadoras

- Marca y pureza de los reactivos utilizados.
- Marca, modelo y precisión del equipo utilizado.

- Origen y composición de la matriz de las muestras de producto terminado analizado.

4.4. Población (universo de trabajo o población meta)

Espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito; técnica analítica para cuantificación de plomo en suplementos dietéticos.

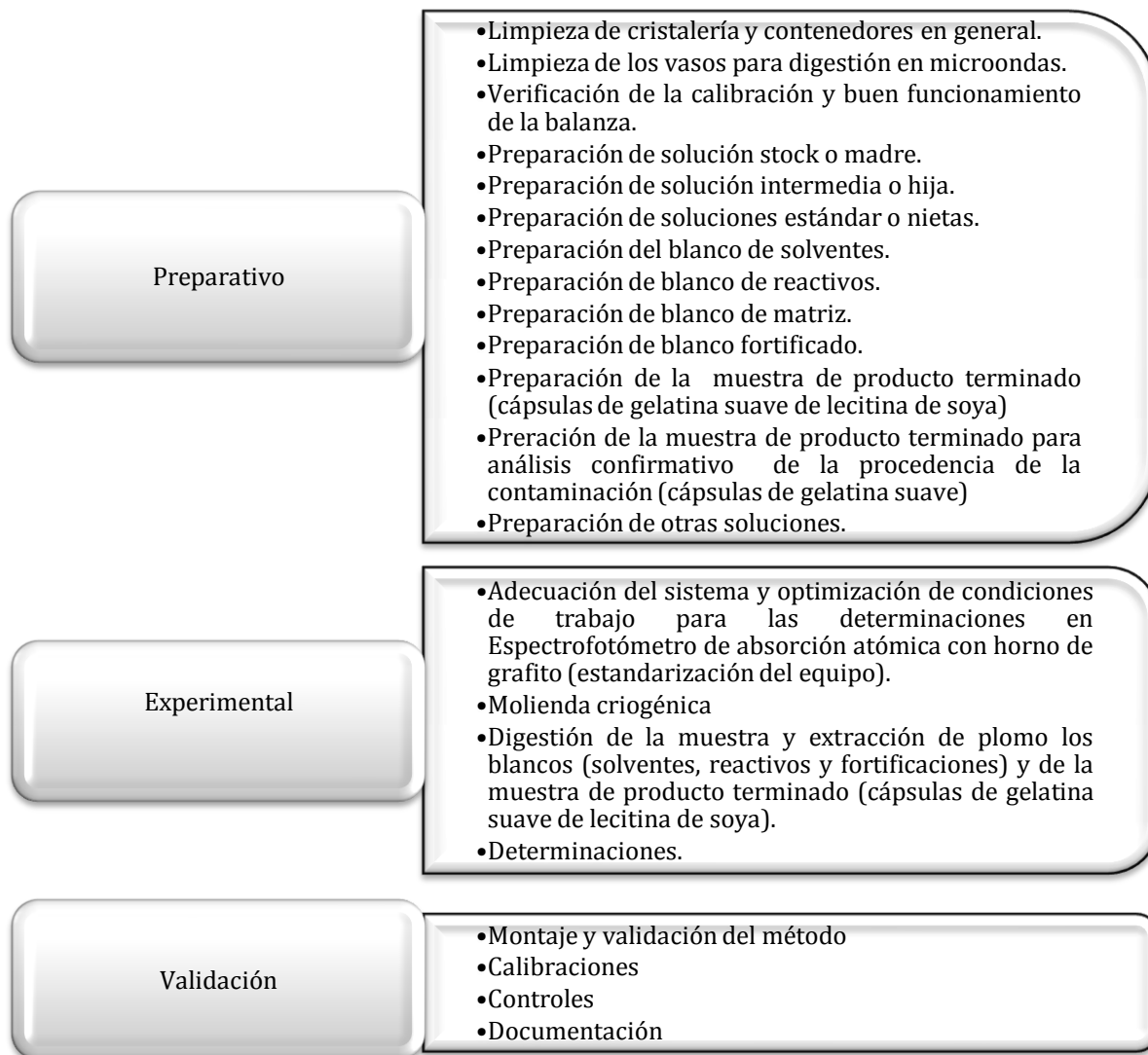
4.5. Muestra (población accesible)

Método desarrollado y comprobado a través del análisis de los siete productos registrados y comercializados en Guatemala como suplementos dietéticos a base de lecitina de soya como mono-ingrediente presentados en cápsulas de gelatina suave de 1200 mg, analizando en triplicado una muestra de 20 cápsulas por réplica, obtenidas de forma aleatoria del contenido del producto final empacado, para un total de 60 cápsulas por producto registrado y comercializado.

4.6. Procedimiento e instrumentos

En el siguiente diagrama de flujo se exponen de forma general la serie de procedimientos a realizar para la validación del método. Posteriormente se explicarán y expondrán a detalle cada uno de los procedimientos que se llevarán a cabo para la validación del método propuesto para la determinación de plomo en suplementos dietéticos (espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito).

Diagrama 1: Procedimientos para el desarrollo, evaluación y validación de la metodología analítica para determinación de plomo en suplementos dietéticos.



4.6.1. Procedimiento preparativo

4.6.1.1. Limpieza de cristalería y contenedores en general: la cristalería debe ser de cuarzo o borosilicato (Pyrex). Según avances en el desarrollo del proyecto y el establecimiento de nuevos parámetros para el estudio, se desarrollaron y utilizaron dos métodos de limpieza de cristalería y contenedores en general. A continuación se describen cada uno de ellos.

- Procedimiento uno de limpieza de cristalería y contenedores en general, según método uno y dos de análisis.

Preparar una solución al 1 % de detergente libre de fosfato. Dejar la cristalería en esta solución durante 24 horas. Desaguar la cristalería tres veces con agua del chorro y luego tres veces con agua desionizada. Dejar escurrir por tres horas. Enjuagar con hidróxido de sodio (NaOH) grado analítico al 10%, luego con ácido nítrico (HNO₃) concentrado (grado analítico al 65%) caliente y por último con agua ultrapura para remover el plomo de la superficie. Dejar escurrir por tres horas.

- Procedimiento de dos de limpieza de cristalería y contenedores en general, según método tres de análisis.

Preparar una solución al 1 % de detergente libre de fosfato. Dejar la cristalería en esta solución durante 24 horas. Desaguar la cristalería tres veces con agua del chorro y luego tres veces con agua desionizada. Dejar escurrir por 3 horas. Enjuagar agua regia (mezcla de tres partes de ácido clorhídrico concentrado grado analítico –HCl- y una parte de ácido nítrico concentrado grado analítico –HNO₃-). Por último, enjuagar con agua ultrapura para remover el plomo de la superficie. Dejar escurrir por tres horas.

4.6.1.2. Limpieza de los vasos para digestión en microondas:

Según avances en el desarrollo del proyecto y el establecimiento de nuevos parámetros para el estudio, se desarrollaron y utilizaron dos métodos de limpieza de los vasos para digestión en microondas. A continuación se describe cada uno de ellos.

- Procedimiento uno de limpieza de los vasos para digestión en microondas.

Siguiendo las recomendaciones del equipo de digestión (Aton Parr Multiwave 3000) para el programa de limpieza con ácido, se adicionan 8 mL de ácido nítrico (HNO₃) concentrado (al 65%) grado analítico y se calienta utilizando el programa descrito a continuación en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Programa de calentamiento del procedimiento uno de limpieza de los vasos de digestión en microondas.

Método		1-Cleaning Ácido HF 100-8		
<i>Reactivo de limpieza</i>		HNO ₃ al 65% grado analítico		
<i>Volumen utilizado del reactivo</i>		8 mL		
<i>Peso</i>		8 g		
<i>Programa del horno</i>	Paso	Potencia (W)	Rampa (minutos)	Mantenimiento (minutos)
	1	900	5	10:00
	2	500	-	15:00
	3	0	-	15:00
<i>Motor</i>		Rotatorio		
<i>Agitador</i>		Apagado		
<i>Límites del proceso</i>	IR (°C)	210		
	Presión (bar)	40		
	Temperatura (°C)	240		

- Procedimiento dos de limpieza de los vasos para digestión en microondas.

Se adicionan 8 mL de ácido nítrico (HNO₃) concentrado (al 65%) grado analítico y calentar utilizando el programa descrito a continuación en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Programa de calentamiento del procedimiento dos de limpieza de los vasos de digestión en microondas.

Método		1-Cleaning Ácido HF 100-8		
<i>Reactivo de limpieza</i>		HNO ₃ al 65% grado analítico		
<i>Volumen utilizado del reactivo</i>		8 mL		
<i>Peso</i>		8 g		
<i>Programa del horno</i>	Paso	Potencia (W)	Rampa (minutos)	Mantenimiento (minutos)
	1	900	5	10:00
	2	500	-	15:00
	3	0	-	15:00
<i>Motor</i>		Rotatorio		
<i>Agitador</i>		Apagado		
<i>Límites del proceso</i>	IR (°C)	200		
	Presión (bar)	38		
	Temperatura (°C)	240		

4.6.1.3. Verificación de la calibración y buen funcionamiento de la

balanza: con un juego de pesas de alta resolución, realizar determinaciones individuales de cada uno de los pesos estándares. Apuntar los pesos determinados con sus respectivas diferencias respecto al valor esperado y calcular la diferencia mínima y máxima de los pesos. Llenar hoja de calibración de balanza (ver Formato 5, Anexo No. 5).

4.6.1.4. Preparación de solución stock o madre:

es la solución con mayor concentración de metal, y a partir de esta se hacen diluciones para preparar las soluciones de trabajo y las soluciones estándar o hijas para la curva de calibración, necesarias para trabajar a lo largo del proceso de validación. CONSERVAR A TEMPERATURA AMBIENTE PROTEGIDA DEL AIRE Y LA LUZ.

- Solución de 1000 ppm (1mg/L).

Consultar información del Cuadro 5, según el método de análisis utilizado. Llenar hoja de control de solución madre (ver Formato 3, Anexo No. 5).

4.6.1.5. Preparación de solución intermedia o hija:

se prepara una solución del patrón de plomo, a partir de la solución stock o madre. Esta solución contiene una concentración menor que la solución madre y permite preparar las diluciones o soluciones estándar o nietas que se utilizan para la curva de calibración. DEBEN PREPARARSE EL MISMO DÍA QUE SE VAN A UTILIZAR Y CONSERVAR PROTEGIDAS DE LA LUZ.

- Solución hija de plomo.

Consultar información del Cuadro 5, según el método de análisis utilizado. Llenar hoja de control de solución madre (ver Formato 3, Anexo No. 5). Llenar hoja de control de patrones (ver Formato 2, Anexo No. 5).

4.6.1.6. Preparación de dilución:

se prepara una dilución de la solución hija o intermedia, esta solución contiene una concentración aun menor que la solución hija o intermedia y permite preparar las soluciones estándar o nietas que se utilizan

para la curva de calibración. DEBEN PREPARARSE EL MISMO DÍA QUE SE VAN A UTILIZAR Y CONSERVAR PROTEGIDAS DE LA LUZ.

- Dilución de plomo.

Consultar información del Cuadro 5, según el método de análisis utilizado. Llenar hoja de control de patrones (ver Formato 2, Anexo No. 5).

4.6.1.7. Preparación de solución estándar o nieta: se prepara una serie de soluciones del patrón de plomo, a partir de diluciones de la solución intermedia o hija o de las diluciones, y generalmente se hacen como diluciones seriadas de las soluciones estándar de mayor concentración. Estas soluciones contienen un rango de concentraciones variables y se utilizan para la curva de calibración. DEBEN PREPARARSE EL MISMO DÍA QUE SE VAN A UTILIZAR Y CONSERVAR PROTEGIDAS DE LA LUZ.

- Solución estándar (St.).

Consultar información del Cuadro 5, según el método de análisis utilizado. Llenar hoja de control de patrones (ver Formato 2, Anexo No. 5).

4.6.1.8. Preparación del blanco de solventes: esta solución sirve para determinar la concentración de plomo presente en el ácido nítrico al 1% utilizado para redissolver el producto de la digestión y extracción, y el cuál se utiliza para determinar el cero de las lecturas de todas las soluciones analizadas. La preparación de este blanco consiste en la preparación del ácido nítrico al 1% que se explica en el inciso “a” de la sección 4.6.1.14.2. Se preparó una solución blanco de solventes y se analizaron en triplicado. Llenar hoja de control de soluciones (ver Formato 4, Anexo No. 5).

4.6.1.9. Preparación del blanco de reactivos: esta solución sirve para determinar la concentración de plomo presente en los reactivos utilizados a lo largo del proceso de digestión y extracción (sección 4.6.2.3.). La preparación de este blanco consiste en seguir el proceso de digestión y extracción sin la adición intencional de una concentración conocida del analito de interés (plomo) de cualquier fuente externa. Se

prepararon dos soluciones blanco de reactivos analizándose cada una en triplicado. Llenar hoja de control de soluciones (ver Formato 4, Anexo No. 5).

4.6.1.10. Preparación del blanco de matriz: esta solución sirve para determinar la concentración de plomo presente en la matriz de cápsula de gelatina suave de las muestras de producto terminado analizadas. Debido a que no existe armonización en la formulación y composición exacta de la gelatina utilizada en las cápsulas de gelatina suave, se utiliza una de las muestras de producto terminado como blanco de matriz. La preparación de este blanco consiste en seguir el proceso de digestión y extracción (sección 4.6.2.3.) sin la adición intencional de una concentración conocida del analito de interés (plomo) de cualquier fuente externa. Se prepararon cinco soluciones blanco de reactivos analizándose cada una en triplicado. Llenar hoja de control de soluciones (ver Formato 4, Anexo No. 5).

4.6.1.11. Preparación del blanco fortificado o fortificaciones: estas soluciones sirven para evaluar el procedimiento de extracción a través del porcentaje de recuperación y validar el método de determinación cuantitativa en estudio (espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito). Las fortificaciones se llevan a cabo con alícuotas de volumen conocido de la solución estándar seleccionada para cada nivel de fortificación. Se fortificaron cinco soluciones blanco de matriz de una misma muestra de producto terminado por cada nivel de fortificación y se analizaron en triplicado cada solución.

El Cuadro 6 muestra los volúmenes de las alícuotas requeridas de cada solución estándar para realizar la fortificación en tres distintos niveles según el método de análisis utilizado. Llenar hoja de control de soluciones (ver Formato 4, Anexo No. 5).

Cuadro 5. Soluciones de plomo para curva de calibración según el método de análisis utilizado.

<i>Método de análisis</i>	<i>Solución</i>	<i>Solución estándar a utilizar para la preparación de la solución</i>	<i>Concentración (ppm)</i>		
1	Stock o madre	-	1000 ppm		
	Intermedia o hija	Solución patrón de plomo	100 ppm		
	Estándar o nieta	A	Solución hija	5.00 ppm	Curva de calibración
		B	Solución hija	1.00 ppm	
		1A	Solución estándar A	0.20 ppm	
		2B	Solución estándar B	0.16 ppm	
		3	Solución estándar 1A	0.10 ppm	
4	Solución estándar 2B	0.05 ppm			
5	Solución estándar 3	0.02 ppm			
2	Stock o madre	-	1000 ppm		
	Intermedia o hija	Solución patrón de plomo	10.0 ppm		
	Dilución	1	Solución hija	1.00 ppm	
	Estándar o nieta	1	Solución estándar 10	0.10 ppm	Curva de calibración
		2	Solución estándar 10	0.20 ppb	
		3	Solución estándar 10	0.30 ppb	
		4	Solución estándar 10	0.40 ppb	
		5	Solución estándar 10	0.50 ppb	
		6	Solución estándar 10	0.60 ppb	
		7	Solución estándar 10	0.70 ppb	
		8	Solución estándar 10	0.80 ppb	
		9	Solución estándar 10	0.90 ppb	
		10	Dilución 1	1.00 ppb	
		11	Dilución 1	5.00 ppb	
		12	Dilución 1	10.0 ppb	
13		Dilución 1	15.0 ppb		
14		Dilución 1	20.0 ppb		
15	Dilución 1	25.0 ppb			
3	Stock o madre	-	1000 ppm		
	Intermedia o hija	Solución patrón de plomo	10.0 ppm		
	Dilución	1	Solución hija	1.00 ppm	
	Dilución	2	Dilución 1	25.0 ppb	
	Estándar o nieta	1	Solución estándar 6	0.05 ppb	Curva de calibración
		2	Solución estándar 6	0.10 ppb	
		3	Solución estándar 6	0.30 ppb	
		4	Solución estándar 6	0.50 ppb	
		5	Solución estándar 6	0.80 ppb	
		6	Dilución 2	1.00 ppb	
		7	Dilución 2	2.5 ppb	
		8	Dilución 2	5.00 ppb	
		9	Dilución 2	7.50 ppb	
		10	Dilución 2	10.0 ppb	
11		Dilución 2	12.5 ppb		
12		Dilución 2	15.0 ppb		
13		Dilución 2	17.5 ppb		
14	Dilución 2	20.0 ppb			

Cuadro 6. Concentración de fortificaciones con plomo a tres niveles de trabajo.

<i>Método de análisis</i>	<i>Nivel de fortificación</i>	<i>Solución estándar a utilizar</i>	<i>Concentración de la solución a utilizar</i>	<i>Volumen de alícuota</i>	<i>Cantidad equivalente agregada del metal (mg)</i>	<i>Volumen total de la muestra (mL)</i>	<i>Concentración de fortificación (ppb)</i>
1	<i>Nivel 1</i>	Solución estándar 3	0.10 ppm	3.00 mL	0.0003	10	0.030 ppm
	<i>Nivel 2</i>	Solución estándar 2B	0.16 ppm	3.00 mL	0.00048	10	0.048 ppm
	<i>Nivel 3</i>	Solución estándar 1A	0.20 ppm	3.00 mL	0.0006	10	0.060 ppm
2	<i>Nivel 1</i>	Dilución 1	1.00 ppm	50 µL	0.00005	10	5.00 ppb
	<i>Nivel 2</i>	Dilución 1	1.00 ppm	150 µL	0.00015	10	15.0 ppb
	<i>Nivel 3</i>	Dilución 1	1.00 ppm	250 µL	0.00025	10	25.0 ppb
3	<i>Nivel 1</i>	Dilución 1	1.00 ppm	10 µL	0.00001	10	1.00 ppb
	<i>Nivel 2</i>	Dilución 1	1.00 ppm	100 µL	0.00010	10	10.0 ppb
	<i>Nivel 3</i>	Dilución 1	1.00 ppm	150 µL	0.00015	10	15.0 ppb

4.6.1.12. Preparación de la muestra de producto terminado

(cápsulas de gelatina suave de lecitina de soya): esta solución se utilizó para evaluar el método de determinación cuantitativa en estudio (espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito), a través de su aplicación en muestras de producto terminado comercializado en Guatemala (muestras reales). Las soluciones muestra se preparan tomando, una muestra aleatoria de veinte cápsulas del contenido del producto final empacado de cada una de las marcas comerciales en estudio, y se procede de la siguiente forma según el método de análisis utilizado.

- Preparación de la muestra de producto terminado según método uno de análisis. La muestra aleatoria de veinte cápsulas se pesa y se homogenizan (se licuan). Se toma una porción de la mezcla equivalente a cinco cápsulas y se continúa con el proceso de digestión y extracción descrito en la sección 4.6.2.3. Se preparan tres soluciones muestra por cada una de las marcas comerciales de cápsulas de gelatina suave de lecitina de soya, en estudio, que se distribuyen y comercializan en Guatemala, analizando en triplicado cada una de las soluciones.

- Preparación de la muestra de producto terminado según método dos de análisis.

La muestra aleatoria de veinte cápsulas se pesa y se someten al proceso de molienda criogénica descrito en la sección 4.6.2.2. Se toma una porción de la mezcla equivalente a 0.500 g y se continúa con el proceso de digestión y extracción descrito en el inciso “b” de la sección 4.6.2.3. Se preparan cinco soluciones muestra contaminadas y cinco solución muestra sin contaminar, por cada una de las marcas comerciales de cápsulas de gelatina suave de lecitina de soya en estudio, que se distribuyen y comercializan en Guatemala (ver Anexo 2), analizando en triplicado cada una de las soluciones. Para la contaminación de las soluciones muestra, se lleva a cabo el procedimiento indicado en la preparación de uno de los niveles de fortificación según el límite de cuantificación del método; estas soluciones se utilizaron como parámetro de control para determinar la cantidad real de plomo, que en dado caso sea muy baja, procedente de la muestra de producto terminado.

- Preparación de la muestra de producto terminado según método tres de análisis.

La muestra aleatoria de veinte cápsulas se pesa y se someten al proceso de molienda criogénica descrito en la sección 4.6.2.2. Se toma una porción de la mezcla equivalente a 0.250 g y se continúa con el proceso de digestión y extracción descrito en el inciso “c” de la sección 4.6.2.3. Se preparan 5 soluciones muestra contaminadas y 5 solución muestra sin contaminar, por cada una de las marcas comerciales de cápsulas de gelatina suave de lecitina de soya en estudio, que se distribuyen y comercializan en Guatemala (ver Anexo 3), analizando en triplicado cada una de las soluciones. Para la contaminación de las soluciones muestra, se lleva a cabo el procedimiento indicado en la preparación de uno de los niveles de fortificación según el límite de cuantificación del método; estas soluciones se utilizaron como parámetro de control para determinar la cantidad real de plomo, que en dado caso sea muy baja, procedente de la muestra de producto terminado.

4.6.1.13. Preparación de la muestra de producto terminado para análisis confirmativo de la procedencia de la contaminación (cápsulas de gelatina suave de lecitina de soya): esta solución se utilizará, en caso que la muestra del producto terminado presente contaminación con plomo, para determinar la procedencia de dicha contaminación. Pudiendo provenir esta contaminación de la matriz del producto (cápsulas

de gelatina suave) o del contenido (lecitina de soya). Esta solución se prepara mediante una muestra aleatoria de veinte cápsulas del contenido del producto final empacado de cada una de las marcas comerciales en estudio, se extrae el contenido (lecitina de soya) de cada cápsula, se mezcla para obtener una muestra homogénea del contenido de lecitina de soya y se pesa. Se mide una porción de la mezcla equivalente a la masa utilizada en cada uno de los métodos de análisis y se continúa con el proceso de digestión y extracción descrito en la sección 4.6.2.3. Se preparan tres soluciones muestrales por cada una de las marcas comerciales de cápsulas de gelatina suave de lecitina de soya analizadas, que presentan contaminación con plomo, analizando en triplicado cada una de las soluciones.

4.6.1.14. Preparación de otras soluciones.

4.6.1.14.1. Para el proceso de limpieza de la cristalería.

- Solución de Hidróxido de sodio al 10%.
Diluir 630 g de hidróxido de sodio (NaOH) grado analítico (pureza $\geq 99\%$) en 3000 mL de agua desionizada.

4.6.1.14.2. Para metodologías de determinación de plomo a través de espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito.

- Solución de ácido nítrico al 1%.
Diluir 15.38 mL de ácido nítrico (HNO_3) concentrado (al 65%) grado analítico en un balón volumétrico de 1000 mL y llevar a volumen con agua ultrapura.
Llenar hoja de control de soluciones (ver Formato 4, Anexo No. 5).

4.6.2. Procedimiento experimental.

4.6.2.1. Adecuación del sistema y optimización de condiciones de trabajo para las determinaciones de plomo a través de espectrofotómetro de absorción

atómica con horno de grafito: a continuación se describen los parámetros para el espectrofotómetro y el horno de grafito según el método de análisis utilizado.

Cuadro 7. Características de trabajo del espectrofotómetro según método uno de análisis.

Espectrofotómetro	<i>Elemento</i>	Plomo (Pb)
	<i>Longitud de onda (nm)</i>	283.3
	<i>Ancho de rejilla (nm)</i>	0.7 L
	<i>Tipo de corrección</i>	Corrector de fondo de deuterio
	<i>Detector</i>	UV
Señal	<i>Tipo</i>	Absorbancia
	<i>Determinación</i>	Altura de pico
Parámetros de lectura	<i>Tiempo (seg.)</i>	5.0
	<i>Tiempo de espera (seg.)</i>	0.0
	<i>Tiempo BOC (seg.)</i>	2.0
	<i>No. réplicas</i>	3
Lámpara	<i>Tipo de lámpara</i>	Cátodo hueco para determinación de Pb
	<i>Corriente de la lámpara</i>	10 mA
Muestreo	<i>Volumen de inyección (µL)</i>	20
	<i>Paso de lectura</i>	4
	<i>Temperatura de inyección (°C)</i>	20
	<i>Tiempo de lectura</i>	5 segundos
	<i>Medidor de respuesta</i>	2 segundos
	<i>Número de réplicas</i>	3
Calibración	<i>Tipo</i>	Lineal con cálculo del intercepto
	<i>No. máximo de decimales</i>	3
	<i>No. máximo de figuras significantes</i>	4
	<i>Unidades de la calibración</i>	ppm (p/v)
	<i>Unidades de la muestra</i>	ppm (p/v)

Cuadro 8. Programa del horno de grafito según método uno de análisis.

<i>Paso</i>	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Tiempo de la rampa (seg)</i>	<i>Tiempo de mantenimiento (seg)</i>	<i>Flujo interno (psi)</i>	<i>Tipo de gas</i>
1	100	5	20	250	Normal
2	140	15	15	250	Normal
3	700	10	20	250	Normal
4	1800	0	5	0	Normal
5	2600	1	5	250	Normal

Cuadro 9. Características de trabajo del espectrofotómetro según método dos de análisis.

Espectrofotómetro	<i>Elemento</i>	Plomo (Pb)
	<i>Longitud de onda (nm)</i>	283.3
	<i>Ancho de rejilla (nm)</i>	0.7 L
Señal	<i>Tipo</i>	AA-BG
	<i>Determinación</i>	Área de pico
Parámetros de lectura	<i>Tiempo (seg.)</i>	5.0
	<i>Tiempo de espera (seg.)</i>	0.0
	<i>Tiempo BOC (seg.)</i>	2.0
	<i>No. réplicas</i>	3
Lámpara	<i>Tipo de lámpara</i>	EDL
	<i>Corriente de la lámpara</i>	~70 mA
Muestreo	<i>Volumen de inyección (µL)</i>	20
	<i>Paso de lectura</i>	4
	<i>Temperatura de inyección (°C)</i>	20
	<i>Secuencia de automuestreo</i>	Diluyente + modificador + contaminante + muestra/estándar
	<i>Secuencia de lectura</i>	Se corre el programa del horno desde el paso 1 al último
Modificador de matriz	<i>Compuesto</i>	Nitrato de magnesio + Fosfato ácido de amonio
	<i>Volumen de inyección (µL)</i>	5
Calibración	<i>Tipo</i>	Lineal con cálculo del intercepto
	<i>No. máximo de decimales</i>	3
	<i>No. máximo de figuras significantes</i>	4
	<i>Unidades de la calibración</i>	ppm (p/v)
	<i>Unidades de la muestra</i>	ppm (p/v)

Cuadro 10. Programa del horno de grafito según método dos y tres de análisis.

Paso	Temperatura (°C)	Tiempo de la rampa	Tiempo de mantenimiento	Flujo interno	Tipo de gas
1	110	1	30	250	Normal
2	130	15	30	250	Normal
3	850	10	20	250	Normal
4	1600	0	5	0	Normal
5	2450	1	3	250	Normal

Cuadro 11 Características de trabajo del espectrofotómetro según el método tres de análisis

Espectrofotómetro	<i>Elemento</i>	Plomo (Pb)
	<i>Longitud de onda (nm)</i>	283.3
	<i>Ancho de rejilla (nm)</i>	0.7 L
Señal	<i>Tipo</i>	AA-BG
	<i>Determinación</i>	Área de pico
Parámetros de lectura	<i>Tiempo (seg.)</i>	5.0
	<i>Tiempo de espera (seg.)</i>	0.0
	<i>Tiempo BOC (seg.)</i>	2.0
	<i>No. réplicas</i>	3
Lámpara	<i>Tipo de lámpara</i>	EDL
	<i>Corriente de la lámpara</i>	~70 mA
Muestreo	<i>Volumen de inyección (µL)</i>	40
	<i>Paso de lectura</i>	4
	<i>Temperatura de inyección (°C)</i>	20
	<i>Secuencia de automuestreo</i>	Diluyente + modificador + contaminante + muestra/estándar
	<i>Secuencia de lectura</i>	Se corre el programa del horno desde el paso 1 al último
Modificador de matriz	<i>Compuesto</i>	Nitrato de magnesio + Fosfato ácido de amonio
	<i>Volumen de inyección (µL)</i>	5
Calibración	<i>Tipo</i>	Lineal con cálculo del intercepto
	<i>No. máximo de decimales</i>	3
	<i>No. máximo de figuras significantes</i>	4
	<i>Unidades de la calibración</i>	ppm (p/v)
	<i>Unidades de la muestra</i>	ppm (p/v)

4.6.2.2. Molienda criogénica. Muchos productos se vuelven quebradizos a temperaturas cercanas a las del nitrógeno líquido (-196°C) y esta propiedad contribuye a la utilización de la molienda criogénica como una técnica de gran utilidad en el tratamiento de muestras que no se pueden someter a una pulverización por impacto, debido a su apariencia de aceite o pasta. [Rico García, Leticia, *et al*: 2007]

Luego de la molienda criogénica, se pueden mejorar las características de tamaño de distribución de las partículas y homogenización de muestras que presentan retos de tratamiento. [Rico García, Leticia, *et al*: 2007]

El procedimiento utilizado para el tratamiento de las muestras de producto terminado es el siguiente: se toman una muestra aleatoria de veinte cápsulas del contenido del producto final empacado de cada una de las marcas comerciales en estudio, y se coloca en la copa del procesador. Se agrega lentamente nitrógeno líquido hasta cubrir la muestra.

Se agrega más nitrógeno líquido cuando la primera porción se evapora, para asegurar que la muestra está completamente congelada (la muestra alcanza una temperatura de congelación de -70°C a -160°C). Cuando la segunda porción de nitrógeno líquido se evapora, la copa del procesador se integra al sistema de molienda y las muestras son trituradas durante 2-3 segundos, para prevenir el calentamiento de la muestras, y se repite el proceso de triturado tres veces.[Rico García, Leticia, *et al*: 2007]

4.6.2.3. Digestión y extracción de los blancos (solventes, reactivos y fortificaciones) y de la muestra de producto terminado (cápsulas de gelatina suave de lecitina de soya) para la determinación de plomo a través de espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito.

- Procedimiento de digestión y extracción según método uno de análisis.

Transferir de 5- 10 g de la muestra a analizar en un crisol de Vycor descontaminado (tratado previamente con el método de limpieza descrito en sección 4.6.1.1.) de 50 mL o una cápsula de porcelana de capacidad adecuada y agregar 1 mL de ácido nítrico concentrado (HNO_3 al 65% grado analítico). Tratar de igual forma la solución blanco de reactivos, blanco fortificado y muestras de producto terminado. Calentar a temperatura baja y llevar a sequedad. Aumente la temperatura a 450°C en un horno o mufla para oxidar cualquier residuo de materia orgánica (mantenga la temperatura durante 10-20 min.).

La digestión es completa cuando la mezcla es clara. Deje enfriar, agregue 1 mL de ácido nítrico (HNO_3) (1+1) para precipitar, y caliente hasta la sequedad para eliminar carbonatos y para controlar la acidez. Disolver en 5.0 mL de HNO_3 al 1% (0.5 mL/L – blanco de solventes-).

- Procedimiento de digestión y extracción según método dos de análisis.

Transferir de 0.500 g de la muestra a analizar en un tubo hermético para digestión en microondas. A pesar de que los tubos para digestión son capaces de contener grandes cantidades de muestra, el tamaño de la muestra se restringe a aproximadamente 0.500 g debido a la amplia variedad de ingredientes que constituyen la muestra y que representan un reto para la digestión (p.e. aceites). Adicionalmente, muchas muestras tienen alto

contenido de carbohidratos debido a la composición de las cápsulas de gelatina suave, y estos compuestos pueden ser causa repentina de no reacción si la potencia del microondas no es aplicada con un adecuado control de respaldo. [Mindak, William R.; *et al*: 2007]

Agregar 5 mL de ácido nítrico (HNO₃) concentrado (al 65%) grado analítico, 1 mL de ácido clorhídrico concentrado (HCl) grado analítico, y 1 mL de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) concentrado grado analítico.

Tratar de igual forma la solución blanco de reactivos, blanco fortificado (fortificaciones) y muestras de producto terminado.

El programa de digestión en microondas se describe en el siguiente cuadro.

Cuadro 12. Programa de digestión en microondas según método dos de análisis.

Método		Vitamin pills HF 100-16		
Reactivos de digestión		HNO ₃ + HCl + H ₂ O ₂		
Volumen utilizado del reactivos		5 mL + 1 mL + 1 mL		
Peso de muestra a digerir		~ 0.5 g		
Programa del horno	<i>Paso</i>	<i>Potencia (W)</i>	<i>Rampa (minutos)</i>	<i>Mantenimiento (minutos)</i>
	1	1400	10:00	15:00
	2	0	-	15:00
Motor		Rotatorio		
Agitador		Apagado		
Rango de potencia		5 bar / s		
Límites del proceso	<i>IR (°C)</i>	210		
	<i>Presión (bar)</i>	40		
	<i>Temperatura (°C)</i>	240		

Al terminar el programa de digestión, lavar el tubo de digestión con pequeñas porciones de ácido nítrico (HNO₃) al 1% (0.5 mL/L –blanco de solventes-) a modo de redissolver el producto del proceso de digestión y extracción y trasvasar el líquido a un balón volumétrico de 10 mL. Aforar y llevar a volumen con ácido nítrico (HNO₃) al 1%.

- Procedimiento de digestión y extracción según método tres de análisis.

Transferir de 0.250 g de la muestra a analizar en un tubo hermético para digestión en microondas. Agregar 5 mL de ácido nítrico (HNO₃) concentrado (al 65%) grado analítico, 1 mL de ácido clorhídrico concentrado (HCl) grado analítico, y 1 mL de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) concentrado grado analítico.

Tratar de igual forma la solución blanco de reactivos, blanco fortificado (fortificaciones) y muestras de producto terminado.

El programa de digestión en microondas se describe en el siguiente cuadro.

Cuadro 13. Programa de digestión en microondas según método tres de análisis.

Método	Vitamin pills HF 100-16		
Reactivos de digestión	HNO ₃ + HCl + H ₂ O ₂		
Volumen utilizado del reactivos	5 mL + 1 mL + 1 mL		
Peso de muestra a digerir	~ 0.250 g		
Programa del horno	<i>Paso</i>	<i>Potencia (W)</i>	<i>Rampa (minutos)</i>
	<i>Mantenimiento (minutos)</i>		
	1	1400	25:00
	2	0	-
			15:00
Motor	Rotatorio		
Agitador	Apagado		
Rango de potencia	5 bar / s		
Límites del proceso	<i>IR (°C)</i>	200	
	<i>Presión (bar)</i>	38	
	<i>Temperatura (°C)</i>	240	

Al terminar el programa de digestión, lavar el tubo de digestión con pequeñas porciones de ácido nítrico (HNO₃) al 1% (0.5 mL/L –blanco de solventes-) a modo de redissolver el producto del proceso de digestión y extracción y trasvasar el líquido a un balón volumétrico de 10 mL. Aforar y llevar a volumen con ácido nítrico (HNO₃) al 1%.

4.6.2.4. Determinaciones de plomo a través de espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito: inyectar una alícuota de 20 µL o 40 µL de la solución blanco, solución estándar y muestra, en el horno de grafito. Entre cada análisis, iniciar el programa de temperatura y registrar la absorción.[AOAC. Método 994.02]

Al inicio de cada sesión de determinaciones se debe correr la curva de calibración haciendo una lectura en triplicado de cada una de las cinco soluciones hija o estándar, que han de ser frescas, preparadas a partir de las solución madre conservada adecuadamente.[AOAC. Método 994.02]

En cada sesión de determinaciones se incluye un control intermedio.[AOAC. Método 994.02]

4.6.3. Validación.

4.6.3.1. Montaje y validación del método: luego de la adecuación del sistema y optimización de condiciones, se procede a validar el método desarrollado.

Para completar la evaluación del sistema utilizado (espectrofotometría de absorción atómica), se determinan los siguientes parámetros bajo las condiciones expuestas en la adecuación y optimización de condiciones.

4.6.3.1.1. Linealidad. Siguiendo las recomendaciones de la ICH, se evalúa a través del análisis de cinco puntos como mínimo que deben encontrarse en un rango más amplio al rango de interés del ensayo, para lo cual se utilizan los valores obtenidos en las determinaciones realizadas con las soluciones estándar o nietas para la curva de calibración (ver cuadro 3). El coeficiente de correlación cuadrada (r^2) debe ser > 0.995 según la OAA (2003).

4.6.3.1.2. Límite de detección. Siguiendo las recomendaciones de la ICH, se considera que una señal es detectable si es igual a tres veces la señal del ruido (relación 3:1, señal: ruido) o mayor. Para la determinación del límite se puede seguir el método de determinación recomendado en el capítulo <1225> de la USP 31 para procedimientos no instrumentales, de tal forma que se hacen diluciones de concentraciones conocidas de la solución estándar de menor concentración y se determina cuál es la mínima concentración del metal (analito de interés) a la cual se conserva la relación 3:1.

4.6.3.1.3. Límite de cuantificación. El límite de cuantificación es entre tres y diez veces el límite de detección (LD), siendo una señal cuantificable si es equivalente a diez veces la señal del ruido (relación 10:1, señal: ruido). Según las recomendaciones de la ICH, en el caso de procedimientos analíticos instrumentales que exhiben ruido de fondo, la determinación del límite de cuantificación se realiza haciendo diluciones de concentraciones conocidas de la solución estándar de menor

concentración y se determina cuál es la mínima concentración del metal (analito de interés) a la cual se conserva la relación 10:1.

4.6.3.1.4. Porcentaje de recuperación.Éste debe ser $\geq 90\% \pm 5\%$. Según las recomendaciones de la ICH, se calcula a través de tres determinaciones de cada una de las muestras fortificadas en los distintos niveles de fortificación (3 niveles de fortificación). Se obtiene el valor promedio de las 9 determinaciones y se compara con el valor esperado del metal presente en la muestra fortificada, para obtener el valor (en porcentaje) del metal (analito de interés) presente en la muestra fortificada luego del tratamiento de digestión y extracción.

4.6.3.1.5. Exactitud.Se utiliza para evaluar la proximidad entre los resultados de una medición y el valor verdadero de la determinación. Según las recomendaciones de la ICH, la exactitud debe ser llevada a cabo usando un mínimo de nueve determinaciones sobre un mínimo de de tres niveles de concentraciones (tres concentraciones y tres réplicas de cada concentración). Se obtiene el valor promedio de las nueve determinaciones y se reporta el valor medio. El valor medio de cuantificación del metal (analito de interés) en cada una de las soluciones estándar analizadas se compara con el valor esperado del metal presente en cada una de las soluciones estándar utilizadas para la determinación, se determina el porcentaje de error en la determinación, el cual no debe ser $> 5\%$.

4.6.3.1.6. Precisión.Se utiliza para evaluar la proximidad entre los resultados de mediciones de una misma determinación. Según el capítulos <1225> de la USP 31, la precisión de un procedimiento analítico es expresado usualmente como la desviación estándar o desviación estándar relativa (coeficiente de variación) de una serie de mediciones. Para esto se hacen 6 determinaciones de una de las soluciones estándar y se reporta el valor medio con su correspondiente coeficiente de variación, el cual no debe ser mayor al 2.0%

4.6.3.1.7. Selectividad y especificidad. Permite descartar la influencia en las determinaciones por variación en la formulación de las muestras, garantizando que el método es selectivo al metal que se desea determinar. En el caso de los métodos espectrofotométricos, estos parámetros se logran a través de la utilización de una lámpara específica para la determinación del metal de interés y seleccionando la longitud de onda característica de absorbancia del metal que se desea determinar.

4.6.3.2. Calibraciones.

4.6.3.2.1. Espectrofotómetro de absorción atómica. Se activa el programa la calibración de las determinaciones a través de la especificación de calibración con estándares del equipo. Este proceso se repite cada vez que se aplica el método.

4.6.3.2.2. Balanza analítica. La calibración se realiza según lo expuesto en la parte preparatoria del procedimiento. La calibración se repite cada seis meses. Antes y después de usarla se debe revisar que esté en cero, de lo contrario se debe ajustar.

4.6.3.3. Controles.

4.6.3.3.1. Para métodos espectrofotométricos de absorción atómica.

- Presión de la bomba de aire.
- Presión de los cilindros de hidrógeno, aire, oxígeno, acetileno.
- Manómetros del espectrofotómetro.

4.6.3.3.2. Sistema de digestión por microondas.

- Presión interna del tubo de digestión.
- Temperatura de digestión.
- Potencia.

4.6.3.4. Documentación: el informe del estudio de validación contiene la siguiente documentación.

- Descripción detallada del procedimiento analítico.
- Descripción de los parámetros de desempeño evaluados (ver sección 4.6.3.1.).
- Evaluación y cálculos estadísticos para la verificación de los parámetros de desempeño.
- Resumen de los resultados instrumentales obtenidos (curvas de calibración, curvas de absorbancias, etc.).
- Resumen de los resultados de la validación.
- Conclusiones.

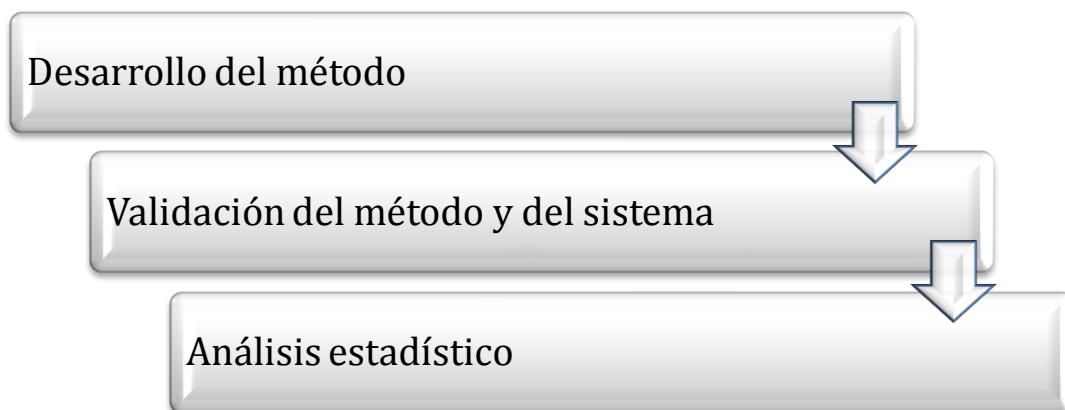
4.7. Diseño de investigación.

Se trabajó con un estudio experimental para determinar e identificar las condiciones y métodos de trabajo requeridos para desarrollar una metodología analítica que permita la cuantificación de metales pesados, específicamente plomo, en suplementos dietéticos, comprobando la validez y efectividad del método en suplementos dietéticos de lecitina de soya como mono-ingrediente presentados en cápsulas de gelatina suave.

En el siguiente diagrama de flujo se exponen de forma general la serie de procedimientos realizados para la validación del método.

Los puntos presentados en el diagrama se tratan a detalle en la sección 4 de procedimiento e instrumentos (desarrollo de método y validación del método y del sistema) y en la sección 4.8. se trata a detalle lo referente al análisis estadístico de los resultados.

Diagrama 2: Diseño experimental para el desarrollo, evaluación y validación de la metodología analítica para determinación de metales pesados en suplementos dietéticos.



4.8. Análisis estadístico.

4.8.1. Media. La media de la muestra \bar{x} es el valor promedio de la muestra limitada de una población de datos, se define al dividir la suma de las mediciones repetidas entre el número de mediciones del conjunto. [Skoog, D.A. *et al*: 2004]

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N} \quad (1)$$

Donde x_i representa los intervalos individuales de x que integran el conjunto de N mediciones repetidas. [Skoog, D.A. *et al*: 2004]

Este cálculo se realiza para determinar la repetibilidad del método y obtener el valor promedio de concentración del metal en cada una de las marcas analizadas a partir de los valores individuales de cada una de las dos muestras analizadas de cada marca del producto en cuestión.

4.8.2. Desviación estándar (desviación estándar absoluta). La desviación estándar S se utiliza para describir que tan reproducibles son las mediciones, es decir, qué tan semejantes son los resultados que se han obtenido exactamente de la misma manera. [Skoog, D.A. *et al*: 2004]

Para obtener el valor de desviación estándar se utiliza la siguiente ecuación.

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N x_i^2 - \frac{(\sum_{i=1}^N x_i)^2}{N}}{N-1}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N-1}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N d_i^2}{N-1}} \quad (2)$$

Este cálculo se realiza para determinar la precisión del método a través de la medición de la concentración del metal (analito de interés) presente en cada una de las muestras analizadas.

4.8.3. Desviación estándar de los resultados calculados (propagación de error en los cálculos aritméticos). Al igual que la desviación estándar, la desviación estándar de los resultados es una medida individual de la precisión de cada uno de los valores calculados.

Se define una ecuación para la determinación de la desviación estándar de los resultados calculados según el tipo de operación aritmética realizada para la obtención de dicho resultados.

Para sumas o restas.

$$S_y = \sqrt{S_a^2 + S_b^2 + S_c^2} \quad (3)$$

Para multiplicaciones o divisiones.

$$S_y = \sqrt{\left(\frac{S_a}{a}\right)^2 + \left(\frac{S_b}{b}\right)^2 + \left(\frac{S_c}{c}\right)^2} \times y \quad (4)$$

Donde a, b, c son variables experimentales cuyas desviaciones estándar son S_a , S_b y S_c respectivamente.

4.8.4. Coeficiente de variación. Al igual que la desviación estándar, el coeficiente de variación (CV) es un término de la precisión de un conjunto de datos repetidos. [Skoog, D.A. *et al*: 2004]

Se define como.

$$CV = \frac{S}{\bar{x}} \times 100\% \quad (5)$$

Este cálculo se realiza para determinar la precisión del método a través de la medición de la concentración del metal (analito de interés) presente en cada una de las muestras analizadas.

4.8.5. Porcentaje de recuperación. El porcentaje de recuperación se define como.

$$\%R = \frac{\text{Señal del metal analizado (analito de interés) en la muestra fortificada}}{\text{Señal del metal analizado (analito de interés) en curva de calibración}} \times 100\% \quad (6)$$

Este cálculo se realiza para determinar la cantidad de metal que se recupera o se pierde durante el proceso de tratamiento de las muestras, utilizando para esto muestras fortificadas con concentraciones conocidas del metal.

4.8.6. Error absoluto o porcentaje de error. El término exactitud indica qué tan cerca está una medición de su valor verdadero o aceptado, y se expresa como error. [Skoog, D.A. *et al*: 2004]

El error absoluto se define como.

$$E = \left| \frac{x_t - x_i}{x_t} \right| \times 100\% \quad (7)$$

Donde x_t es el valor verdadero o aceptador de la cantidad y x_i es el valor experimental obtenido

Este cálculo se realiza para determinar la exactitud del método a través de la medición de la concentración del metal (analito de interés) presente en cada una de las muestras analizadas.

4.8.7. Rango. Se realiza la determinación del rango de trabajo para tener parámetros de referencia que indiquen cuáles deben ser los valores de límite inferior y superior de concentraciones del metal incluidos en el estudio. [Skoog, D.A. *et al.* 2004]

4.8.8. Ecuación de la recta por el método de mínimos cuadrados. Este cálculo se realiza para obtener la ecuación de la recta generada con las concentraciones estándares de las soluciones utilizadas para hacer la curva de calibración. Posteriormente esta ecuación (determinada por una regresión lineal) permitirá interpolar el valor de la variable dependiente del ensayo de cuantificación para obtener el valor de la variable independiente de dicho ensayo. [Skoog, D.A. *et al.*: 2004]

La aplicación del método de mínimos cuadrados para la linealidad requiere la existencia real de una relación lineal ente la cantidad de analito x y la magnitud de la variable dependiente medida y ; de tal forma que la ecuación generada sea de la forma. [Skoog, D.A. *et al.*: 2004]

$$y = ax + b \quad (8)$$

Donde y es el valor correspondiente a la variable dependiente a determinar, a es el valor de la pendiente de la recta, x es el valor conocido de la variable independiente y b es el valor de y cuando x es cero (intercepto en el eje y). [Skoog, D.A. *et al.* 2004]

4.8.9. Ensayo de cuantificación. El ensayo de cuantificación incluye la utilización de estadística descriptiva para la determinación de la concentración de plomo expresada en unidades de masa (masa presente del metal en función de la masa utilizada del producto analizado - mg/kg) a través de la ecuación de la recta de regresión. El resultado obtenido es comparado con el valor límite de umbral (TLV, por sus siglas en inglés, Threshold Limit Value) de este metal en alimentos.

V. MARCO OPERATIVO

5.1. Recabación y tratamiento de datos.

Los datos obtenidos del espectro de absorbancias del método de espectrofotometría de absorción atómica son las absorbancias del plomo, observadas a la longitud de onda característica de este metal. Por medio de las absorbancias se obtienen las concentraciones de plomo presente en la muestra, según un proceso de calibración de adición de estándar.

Todos los datos se recabaron a través del equipo y software respectivo del método de determinación.

El análisis de datos se realizó a través de la comprensión de los principios básicos de funcionamiento del equipo, y según la teoría expuesta anteriormente, se procedió al análisis de los datos para obtener resultados comprensibles según el interés de este estudio.

5.2. Recursos (o medios).

5.2.1. Recursos humanos.

Autor:	Ana Margarita Contreras Sandoval
Asesor:	Lic. Elfego Rolando López
Asesor:	Lda. Ana Luisa Mendizábal de Montenegro
Colaboradores:	Lic. Ricardo Montoya, UMG, Guatemala
	Lic. Willy Knedel, UMG, Guatemala
	Lda. Carolina Guzmán, CIAT, Guatemala
	Lda. Fabiola Prado de Micheo, CIAT, Guatemala
	Lda. Maité Donis de Recinos, CIAT, Guatemala
	Lda. María del Carmen Samayoa, CIAT, Guatemala

Lda. Mirna Morfin, Departamento de Regulación y Control de Productos Farmacéuticos y afines, Guatemala

Dr. Joseph Bloom, Programa Atlantea, Universidad de Puerto Rico

5.2.2. Recursos materiales.

5.2.2.1. Equipo.

- Molino / procesador para sólidos
- Purificador de agua (Barnstead Nanopuro Diamond) con filtro (Barnstead D750, Hallow Fibre Filter, Gamma Irradiated, Poro Size rating 0.2 μm , Maximum Operating Pressure 50 Psi [3.4 Kg/cm²])
- Homogenizador criogénico (Waring Comercial Blender, model 51BL32 (700*)).
- Balanza analítica (Ohaus, Analytical Plus – AP2500).
- Horno de microondas con digestor (Aton Para, Multiwave 3000).
- Refrigeradora (General Electric).
- Juego de pesas de alta resolución para calibración de balanza (Christion Becker, BS3EEV3).
- Espectrofotómetro de absorción/emisión atómica en llama con detector y horno de grafito (Perkin Elmer, Aanalyst 600), automuestreador (Perkin Elmer AS 800).
- Lámpara de cátodo hueco para la determinación de plomo (Pb) (Perkin Elmer).
- Lámpara de descarga de electrones para la determinación de plomo (Pb) (Perkin Elmer, Lumina Lamp).
- Computadora (Dell, Inspiron).
- Software de análisis espectrofotográfico de absorción atómica en llama (WinLab 32).
- Impresora para equipo de espectrofotometría de absorción atómica (Canon, Pixma 1300).
- Campana de extracción (Labconco, sere No. 040419327 F).
- 3 Agitadores magnéticos / Estufas.
- 3 Mufflas pequeñas

5.2.2.2. Materiales y cristalería de laboratorio.

- 6 Balones volumétricos (con su respectivo tapón) de 1000 mL, clase “A”, previamente tarado e identificado con registro de características en hoja de control para la solución que contendrá.
- 1 Balón volumétrico (con su respectivo tapón) de 250 mL, clase “A”, previamente tarado e identificado con registro de características en hoja de control para la solución que contendrá.
- 19 Balones volumétricos (con su respectivo tapón) de 100 mL, clase “A”, previamente tarado e identificado con registro de características en hoja de control para la solución que contendrá.
- 3 Balones volumétricos (con su respectivo tapón) de 25 mL, clase “A”, previamente tarado e identificado con registro de características en hoja de control para la solución que contendrá.
- 25 Balones volumétricos (con su respectivo tapón) de 10 mL, clase “A”, previamente tarado e identificado con registro de características en hoja de control para la solución que contendrá.
- 1 Desecadora de vidrio con sílica gel como indicador.
- 4 Pipetas volumétricas, clase “A”, de 0.5 mL.
- 5 Pipetas volumétricas, clase “A”, de 1 mL.
- 2 Pipetas volumétricas, clase “A”, de 2 mL.
- 4 Pipetas volumétricas, clase “A”, de 5 mL.
- 4 Pipetas volumétricas, clase “A”, de 10 mL.
- 1 Pipeta volumétrica, clase “A”, de 50 mL.
- 2 Pipetas volumétricas de 100 mL.
- 7 Pipetas graduadas de 1 mL.
- 2 Pipetas graduadas de 10 mL.
- 1 Micropipeta de 1 mL (Thermo FinnpiPETTE).
- 1 Micropipeta de 250 μ L (Thermo FinnpiPETTE).
- 1 Micropipeta de 100 μ L (Thermo FinnpiPETTE).

- 1 Micropipeta de 10 μ L (Thermo Finnpiquette).
- 20 Pipetas Pasteur.
- 6 Espátulas analíticas.
- 6 Espátulas.
- 5 Bulbos para pipetas Pasteur.
- 5 Bulbos para pipetas volumétricas.
- 3 Imanes grandes para agitación.
- 3 Imanes medianos para agitación.
- 3 imanes pequeños para agitación.
- 5 Platos de porcelana.
- Perlas de ebullición.
- 10 Beakers de 50 mL.
- 10 Beakers de 100 mL.
- 5 Beakers de 500 mL.
- 5 Beakers de 1000 mL.
- 5 Probetas de 10 mL.
- 5 Probetas de 25 mL.
- 5 Probetas de 50 mL.
- 5 Probetas de 100 mL.
- 5 Vidrios de reloj grandes.
- 5 Varillas de vidrio.

5.2.2.3. Reactivos químicos.

- Detergente libre de fosfato.
- Agua desionizada (ver evaluación del efecto del agua, Anexo 8).
- Agua ultrapura. (ver evaluación del efecto del agua, Anexo 8).
- Hidróxido de sodio (NaOH) grado analítico (pureza $\geq 99\%$).
- Ácido nítrico (HNO_3) concentrado (al 65%) ultra puro (ver evaluación del efecto de los reactivos, Anexo 8).

- Ácido nítrico (HNO₃) concentrado (al 65%) grado analítico (contenido máximo de plomo 0.01 ppm). (ver evaluación del efecto de los reactivos, Anexo 8).
- Ácido clorhídrico (HCl) concentrado (al 37-38%) ultra puro (ver evaluación del efecto de los reactivos, Anexo 8).
- Ácido clorhídrico (HCl) concentrado (al 37-38%) grado analítico (contenido máximo de plomo ≤ 0.01 ppm). (ver evaluación del efecto de los reactivos, Anexo 8).
- Peróxido de hidrógeno (H₂O₂) concentrado (al 30%) ultra puro (ver evaluación del efecto de los reactivos, Anexo 8).
- Peróxido de hidrógeno (H₂O₂) concentrado (al 30%) grado analítico (contenido máximo de plomo 0.02 ppm). (ver evaluación del efecto de los reactivos, Anexo 8).
- Argón ultra puro (grado 5.5). (ver especificaciones del argón, Anexo 6)
- Nitrato de Plomo II (patrón – grado analítico, potencia 99.5% –).
- Solución patrón de plomo 1000 µg/mL (1000 ppm) en ácido nítrico al 2%, para espectrofotometría atómica.

5.3. Aspectos económicos.

<i>Aspecto a considerar</i>	<i>Valor por día de trabajo Q. (Estimado de 5 horas)</i>
Gastos varios	3000
Nitrógeno líquido	35
Acetileno	500
Ácido nítrico	50
Ácido clorhídrico	20
Peróxido de hidrógeno	10
Otros reactivos	50
Agua ultrapura	2400
Jabón libre de fosfatos	50
Tubo de grafito	100
Muestras de producto ternado	30
TOTAL POR DÍA	6245
COSTO TOTAL DEL ESTUDIO	374700

El costo estimado de la presente investigación, será cubierto por el Departamento de Química Farmacéutica de la Universidad del Valle de Guatemala y la autora del mismo.

VI. RESULTADOS

6.1. Resultados del método de análisis uno.

6.1.1. Linealidad.

Cuadro 14. Resumen de la linealidad del método según curva de calibración del método uno de análisis.

Solución	Concentración teórica (ppm)	Concentración real (ppm)		Absorbancia media (Å) n = 2	Concentración Experimental (ppm)			Porcentaje de error entre la concentración real y la concentración experimental (%)		Estadísticas de regresión de los valores de absorbancia media de los estándares 5 a 1A de la curva	
		Valor	Desviación estándar		Valor medio n = 3	Desviación estándar promedio	Coefficiente de variación estándar (%)	Valor	Desviación estándar		
Blanco (HNO ₃ al 1%)	0.00	0.0000	0.0000	0.0239	-0.004	0.0008	3.3217	0.000	0.0000		
Estándar 5	0.02	0.0200	0.0006	0.1151	0.023	0.0007	0.6440	13.685	0.5800	R múltiplo	0.9996
Estándar 4	0.05	0.0500	0.0006	0.1966	0.047	0.0004	0.1870	6.342	0.0886	R cuadrado	0.9991
Estándar 3	0.10	0.1000	0.0007	0.3771	0.100	0.0066	1.7581	0.139	0.0092	R cuadrado ajustado	0.9988
Estándar 2B	0.16	0.1600	0.0018	0.5773	0.159	0.0005	0.0901	0.439	0.0050	Error estándar	0.0086
Estándar 1A	0.20	0.2000	0.0023	0.7186	0.201	0.0050	0.6966	0.521	0.0143	Observaciones	5
Estándar 2	1.00	1.0000	0.0103	3.6081	0.996	0.0008	3.3217	0.439	0.0064		
Estándar 1	5.00	5.0001	0.0234	17.9650	5.026	0.0007	0.6440	0.521	0.0035		

6.1.2. Límite de detección y cuantificación.

Cuadro 15. Resumen del límite de detección y cuantificación expresado a través de la relación señal ruido en función de la altura del pico de cada solución.

Solución	Concentración teórica (ppm)	Concentración real (ppm)		Absorbancia corregida (Å)	Concentración experimental (ppm)		Porcentaje de error entre la concentración real y la concentración experimental (%)		Altura del pico (mm)	Relación señal /ruido (blanco)	
		Valor	Desviación estándar		Valor promedio n = 2	Desviación estándar promedio	Valor	Desviación estándar			
Blanco	0.00	0.0000	0.0000	0.0055	-0.011	0.0006	0.000	0.0000	10	-	
Dilución 1	0.01	0.0100	0.0004	0.0863	0.0138	0.0005	37.918	1.9289	68.5	6.85	
Dilución 2	0.005	0.0050	0.0002	0.0629	0.0067	0.0001	33.571	1.4721	52.0	5.2	
Dilución 3	0.0025	0.0025	0.0001	0.0945	0.0163	0.0002	551.167	26.2865	81.0	8.1	
Dilución 4	0.00125	0.0012	0.0001	0.0536	0.0039	0.0002	209.816	15.1527	51.0	5.1	
Dilución 5	0.000625	0.0006	0.0000	0.0530	0.0037	0.0000	492.938	26.8805	49.0	4.9	
Dilución 6	0.0003125	0.0003	0.0000	0.0479	0.0022	0.0003	590.831	89.0345	51.5	5.15	
Límite de detección : NO SE LOGRÓ ESTABLECER					Límite de CUANTIFICACIÓN : NO SE LOGRÓ ESTABLECER						

6.1.3. Porcentaje de recuperación.

Cuadro 16. Resumen del porcentaje de recuperación del método uno de análisis.

Solución	Concentración teórica (ppm)	Concentración real (ppm)		Concentración experimental (ppm)		Porcentaje de recuperación (%)				
		Valor	Desviación estándar	Valor promedio n = 2	Desviación estándar promedio	Valor	Desviación estándar	Promedio	Desviación estándar	
Nivel 1	1	0.04	0.0400	0.0012	-0.0112	0.0004	-28.0381	-1.2972	-31.9552	-23.2262
	2				-0.0188	0.0006	-47.09437	-2.0436		
	3				-0.0083	0.006	-20.7332	-15.0121		
Nivel 2	1	0.1	0.1000	0.0012	0.0193	0.0037	19.2748	3.7071	35.2820	17.3974
	2				0.0424	0.0023	42.3964	2.3549		
	3				0.0442	0.0199	44.1750	19.9066		
Nivel 3	1	0.2	0.2000	0.0016	0.0479	0.0140	23.9296	7.0026	31.2345	11.6474
	2				0.0743	0.0016	37.1419	0.8563		
	3				0.0653	0.0150	32.6319	7.5046		

6.1.4. Exactitud.

Cuadro 17. Resumen de la exactitud del método expresada a través de la desviación estándar de las estadísticas de los valores de desviación estándar de la concentración experimental de las soluciones estándar utilizadas para establecer la curva de calibración del método uno de análisis.

Solución	Concentración teórica (ppm)	Concentración Experimental (ppm)			Porcentaje de error entre la concentración real y la concentración experimental (%)		Estadísticas descriptivas de la desviación estándar promedio de la concentración experimental			
		Valor medio n = 2	Desviación estándar promedio	Coefficiente de variación estándar (%)	Valor	Desviación estándar				
Blanco (HNO ₃ al 1%)	0.00	-0.004	0.0008	3.3217	0.000	0.0000				
Estándar 5	0.02	0.023	0.0007	0.6440	13.685	0.5800	Media	0.0026	Rango	0.0062
Estándar 4	0.05	0.047	0.0004	0.1870	6.342	0.0886	Error estándar	0.0013	Mínimo	0.0004
Estándar 3	0.10	0.100	0.0066	1.7581	0.139	0.0092	Mediana	0.0007	Máximo	0.0066
Estándar 2B	0.16	0.159	0.0005	0.0901	0.439	0.0050	Desviación estándar	0.0029	Suma	0.0132
Estándar 1A	0.20	0.201	0.0050	0.6966	0.521	0.0143	Varianza	0.00000	Cuenta	5
Estándar 2	1.00	0.996	0.0008	3.3217	0.439	0.0064	Curtosis	-2.3698	Nvel de confianza (95%)	0.0036
Estándar 1	5.00	5.026	0.0007	0.6440	0.521	0.0035	Coefficiente de simetría	0.7678		

6.1.5. Precisión.

Cuadro 18. Resumen de la precisión del método expresada a través de la desviación estándar de las estadísticas de los valores de coeficiente de variación estándar de la concentración experimental de las soluciones estándar utilizadas para establecer la curva de calibración del método uno de análisis.

Solución	Concentración teórica (ppm)	Concentración Experimental (ppm)			Porcentaje de error entre la concentración real y la concentración experimental (%)		Estadísticas descriptivas de los valores del coeficiente de desviación estándar de la concentración experimental				
		Valor medio $n = 2$	Desviación estándar promedio	Coefficiente de variación estándar (%)	Valor	Desviación estándar					
Blanco (HNO ₃ al 1%)	0.00	-	0.0008	3.3217	0.000	0.0000					
Estándar 5	0.02	0.023	0.0007	0.6440	13.685	0.5800	Media	0.67516	Rango	1.3672	
Estándar 4	0.05	0.047	0.0004	0.1870	6.342	0.0886	Error estándar	0.2962	Mínimo	1.668	
Estándar 3	0.10	0.100	0.0066	1.7581	0.139	0.0092	Mediana	0.6440	Máximo	0.0901	
Estándar 2B	0.16	0.159	0.0005	0.0901	0.439	0.0050	Desviación estándar	0.43870	Suma	1.7581	
Estándar 1A	0.20	0.201	0.0050	0.6966	0.521	0.0143	Varianza	2.0629	Cuenta	3.3758	
Estándar 2	1.00	0.996	0.0008	3.3217	0.439	0.0064	Curtosis	1.3672	Nvel de confianza (95%)	5	
Estándar 1	5.00	5.026	0.0007	0.6440	0.521	0.0035	Coefficiente de simetría	0.4387			

6.1.6. Repetibilidad.

Cuadro 19. Resumen de la repetibilidad del método expresada a través del porcentaje de error entre la concentración teórica y la concentración experimental de la solución estándar 3 utilizada para establecer la curva de calibración del método uno de análisis.

Muestra	Concentración teórica (ppm)	Concentración real (ppm)		Concentración experimental (ppm)		Porcentaje de error entre la concentración real y la concentración experimental (%)	
		Valor	Desviación estándar	Valor promedio $n = 4$	Desviación estándar	Valor	Desviación estándar
Estándar 3	0.10	0.1000	0.0007	0.1013	9.923E-6	1.318	0.00910

Cuadro 20. Resumen de la repetibilidad del analista expresada a través del porcentaje de error entre la concentración teórica y la concentración experimental de la solución estándar 1A utilizada para establecer la curva de calibración del método uno de análisis.

Solución estándar 1A	Concentración teórica (ppm)	Concentración real (ppm)		Concentración experimental (ppm)		Porcentaje de error entre la concentración real y la concentración experimental (%)		Estadísticas descriptivas de los valores de porcentaje de error entre el concentración real y la concentración experimental			
		Valor	Desviación estándar	Valor promedio $n = 2$	Desviación estándar	Valor	Desviación estándar	Media	4.8011	Rango	5.50389
1	0.2	0.2000	0.0023	0.185	0.0045	7.502	0.2026	Error estándar	0.9306	Mínimo	1.99796
2				0.192	0.0014	4.002	0.0553	Mediana	4.5019	Máximo	7.50185
3				0.191	0.0054	4.502	0.1374	Desviación estándar	2.0809	Suma	24.00552
4				0.204	0.0022	1.998	0.0319	Varianza	4.33043	cuenta	5
5				0.188	0.0018	6.002	0.0898	Curtosis	-0.17177	Coeficiente de variación (95%)	2.583864
					Coeficiente de simetría	-0.05237					

6.2. Resultados del método de análisis dos.

6.2.1. Linealidad.

Cuadro 21. Resumen de la linealidad del método según curva de calibración del método dos de análisis.

Solución	Concentración teórica (ppb)	Absorbancia con corrección de blanco (°A)			Concentración experimental (ppb)		Porcentaje de error entre la concentración teórica y la concentración experimental (%)	Estadísticas de regresión de los valores de absorbancia media de los estándares 1 a 5 de la curva	
		Valor medio $n = 3$	Desviación estándar	Coeficiente de variación estándar (%)	Valor	Desviación estándar			
Blanco (HNO ₃ al 1%)	0	0.0007	0.0003	42.2600	-0.3656	-0.0935	0.3656	R múltiplo	0.9998
Estándar 1	1.0000	0.0065	0.0004	6.9700	1.2410	0.3172	1.2410	R cuadrado	0.9994
Estándar 2	5.0000	0.0216	0.0004	1.8400	5.4238	1.3864	5.4238	R cuadrado ajustado	0.9995
Estándar 3	10.0000	0.0388	0.0019	4.8900	10.1884	2.6044	10.1884	Error estándar	0.0007
Estándar 4	15.0000	0.0555	0.0027	4.7800	14.8144	3.7869	14.8144	Observaciones	6
Estándar 5	20.0000	0.0737	0.0045	6.1700	19.8560	5.0756	19.8559		
Estándar 6	25.0000	0.0925	0.0045	0.4800	25.0637	6.4068	25.0637		

6.2.2. Límite de detección y cuantificación.

Cuadro 22. Resumen del límite de detección y cuantificación expresado a través de la relación señal ruido en función de la altura del pico de cada solución para el método dos de análisis.

Solución	Concentración teórica (ppb)	Absorbancia con corrección de blanco (°A)			Concentración experimental (ppb)		Altura del pico (cm)		Relación señal ruido según altura del pico
		Valor medio $n = 3$	Desviación estándar	Desviación estándar	Valor	Desviación estándar	Del estándar	Del ruido	
Estándar 1	0.1000	0.0009	0.0003	0.0543	0.1007	0.0543	7.575	5.7719	1.3123
Estándar 2	0.2000	0.0017	0.0001	0.1255	0.2327	0.1255	8.05	3.2276	2.4941
Estándar 3	0.3000	0.0022	0.0002	0.1700	0.3152	0.1700	7.825	2.4203	3.2331
Estándar 4	0.4000	0.0027	0.0001	0.2146	0.3977	0.2146	8.275	2.0442	4.0480
Estándar 5	0.5000	0.0033	0.0002	0.2680	0.4967	0.2680	8.25	1.6725	4.9326
Estándar 6	0.6000	0.0046	0.0001	0.3837	0.7112	0.3837	8.4	1.2069	6.9598
Estándar 7	0.7000	0.0046	0.0002	5.2300	0.7112	0.3837	8.405	1.2069	6.9639
Estándar 8	0.8000	0.0051	0.0002	3.0100	0.7937	0.4282	8.475	1.0950	7.7399
Estándar 9	0.9000	0.0057	0.0004	6.2900	0.89274	0.4817	8.45	0.9740	8.6754
Estándar 10	1.0000	0.0064	0.0002	2.3900	1.0082	0.5440	8.375	0.8624	9.7112
Aproximación del límite de detección: 0.3 ppb					Aproximación del límite de cuantificación: 1ppb				

6.2.3. Porcentaje de recuperación.

Cuadro 23. Resumen del porcentaje de recuperación del método dos de análisis.

Solución	Concentración teórica (ppb)	Concentración experimental (ppb)		Porcentaje de recuperación (%)		
		Valor promedio $n = 3$	Desviación estándar promedio	Valor	Promedio	Desviación estándar
Nivel 1	1	15.5335	5.4145	155.3360	115.0198	72.59450
	2	1.7391	0.6062	17.3913		
	3	18.6166	6.4890	186.1660		
	4	5.9288	2.0666	59.2885		
	5	15.6917	5.4696	156.9170		
Nivel 2	1	15.2105	3.8881	101.4000	96.0540	3.7712
	2	14.2132	3.6332	94.7600		
	3	14.6565	3.7465	97.6100		
	4	14.2964	3.6545	95.3100		
	5	13.6787	3.4966	91.1900		
Nivel 3	1	NO SE EVALUÓ				
	2					
	3					
	4					
	5					

6.2.4. Exactitud.

Cuadro 24. Resumen de la exactitud del método expresada a través de la desviación estándar de las estadísticas de los valores de la desviación estándar de la concentración experimental de las soluciones estándar utilizadas para establecer la curva de calibración del método dos de análisis.

Solución	Concentración teórica (ppb)	Concentración experimental (ppb)			Porcentaje de error entre la concentración teórica y la concentración experimental (%)	Estadísticas descriptivas de la desviación estándar de la concentración experimental			
		Valor	Desviación estándar	Coefficiente de variación estándar (%)		Media	Error estándar	Rango	Mínimo
Blanco (HNO ₃ al 1%)	0	-0.3656	-0.0935	-0.0820	0.3656	Media	3.2629	Rango	6.0896
Estándar 1	1.0000	1.2410	0.3172	0.0322	1.2410	Error estándar	0.9323	Mínimo	0.3172
Estándar 2	5.0000	5.4238	1.3864	0.0074	5.4238	Mediana	3.1956	Máximo	6.4068
Estándar 3	10.0000	10.1884	2.6044	0.0186	10.1884	Desviación estándar	2.2837	Suma	19.5773
Estándar 4	15.0000	14.8144	3.7869	0.0182	14.8144	Varianza	5.2153	Cuenta	6
Estándar 5	20.0000	19.8560	5.0756	0.0227	19.8559	Curtosis	-1.1942	Nivel de confianza (95%)	2.3966
Estándar 6	25.0000	25.0637	6.4068	0.0180	25.0637	Coefficiente de simetría	0.1190		

6.2.5. Precisión.

Cuadro 25. Resumen de la precisión del método expresada a través de la desviación estándar de las estadísticas de los valores de coeficiente de desviación estándar de la concentración experimental de las soluciones estándar utilizadas para establecer la curva de calibración del método dos de análisis.

Solución	Concentración teórica (ppb)	Concentración experimental (ppb)			Porcentaje de error entre la concentración teórica y la concentración experimental (%)	Estadísticas descriptivas del coeficiente de variación estándar de la concentración experimental			
		Valor	Desviación estándar	Coefficiente de variación estándar (%)		Media	Error estándar	Rango	Mínimo
Blanco (HNO ₃ al 1%)	0	-0.3656	-0.0935	-0.0820	0.3656	Media	0.0195	Rango	0.0248
Estándar 1	1.0000	1.2410	0.3172	0.0322	1.2410	Error estándar	0.0033	Mínimo	0.0073
Estándar 2	5.0000	5.4238	1.3864	0.0074	5.4238	Mediana	0.0184	Máximo	0.0322
Estándar 3	10.0000	10.1884	2.6044	0.0186	10.1884	Desviación estándar	0.008	Suma	0.1170
Estándar 4	15.0000	14.8144	3.7869	0.0182	14.8144	Varianza	6.48E-05	Cuenta	6
Estándar 5	20.0000	19.8560	5.0756	0.0227	19.8559	Curtosis	1.7554	Nivel de confianza (95%)	0.0084
Estándar 6	25.0000	25.0637	6.4068	0.0180	25.0637	Coefficiente de simetría	0.16725		

6.3. Resultados del método de análisis tres.

6.3.1. Linealidad.

Cuadro 26. Resumen de la linealidad del método según curva de calibración del método tres de análisis.

Solución	Concentración teórica (ppb)	Absorbancia con corrección de blanco (°A)			Concentración experimental (ppb)		Porcentaje de error entre la concentración teórica y la concentración experimental (%)	Estadísticas de regresión de los valores de absorbancia media de los estándares 1 a 5 de la curva	
		Valor medio $n = 3$	Desviación estándar	Coficiente de variación estándar (%)	Valor	Desviación estándar			
Blanco (HNO ₃ al 1%)	0	-0.0003	0.0001	22.0300	-0.7464	-0.1084	0.03	R múltiplo	0.9999
Estándar 1	1.0000	0.0080	0.0001	0.9500	0.9280	0.1348	7.2019	R cuadrado	0.9998
Estándar 2	5.0000	0.0283	0.0004	1.5800	5.0232	0.7297	0.4640	R cuadrado ajustado	0.9997
Estándar 3	10.0000	0.0531	0.0010	1.8000	10.0262	1.4564	0.2622	Error estándar	0.0006
Estándar 4	15.0000	0.0785	0.0004	0.5300	15.1503	2.2007	1.0019	Observaciones	5
Estándar 5	20.0000	0.1019	0.0013	1.2900	19.8709	2.8864	0.6455		

6.3.2. Límite de detección y cuantificación.

Cuadro 27. Resumen del límite de detección y cuantificación expresado a través de la relación señal ruido en la señal entre la desviación estándar de la absorbancia de cada solución para el método tres de análisis.

Solución	Concentración teórica (ppb)	Absorbancia con corrección de blanco (°A)			Concentración experimental (ppb)		Relación señal ruido según la señal de absorbancia y su respectiva desviación estándar	
		Valor medio $n = 3$	Desviación estándar	Desviación estándar	Valor	Desviación estándar		
Estándar 1	0.0500	0.0006	0.0001	19.0000	-0.229411765	0.8377	6.0000	
Estándar 2	0.1000	0.0010	0.0001	9.0600	-0.150980392	0.0196	10.0000	
Estándar 3	0.3000	0.0027	0.0001	3.0600	0.182352941	0.0113	27.0000	
Estándar 4	0.5000	0.0043	0.0001	2.1000	0.496078431	0.0113	43.0000	
Estándar 5	0.8000	0.0066	0.0001	2.8200	0.947058824	0.0340	33.0000	
Estándar 6	1.0000	0.0080	0.0002	0.9500	1.221568627	0.0113	80.0000	
Estándar 7	2.5000	0.0161	0.0001	4.7300	2.809803922	0.1472	20.1250	
Estándar 8	5.0000	0.0283	0.0008	1.5800	5.201960784	0.0792	70.7500	
Estándar 9	7.5000	0.0406	0.0004	1.5600	7.61372549	0.1198	67.6667	
Estándar 10	10.0000	0.0531	0.0006	1.8000	10.06470588	0.1822	53.1000	
Estándar 11	12.5000	0.0667	0.0010	1.6000	12.73137255	0.2075	60.6364	
Estándar 12	15.0000	0.0785	0.0011	0.5300	15.04509804	0.0899	196.2500	
Estándar 13	17.5000	0.0906	0.0004	0.4600	17.41764706	0.0742	226.5000	
Estándar 14	20.0000	0.1019	0.0004	1.2900	19.63333333	0.2611	78.3846	
Aproximación del límite de detección: 0.03 ppb					Aproximación del límite de cuantificación: 0.1 ppb			

6.3.3. Porcentaje de recuperación.

Cuadro 28. Resumen del porcentaje de recuperación del método tres de análisis.

Solución	Concentración teórica (ppb)	Concentración experimental (ppb)		Porcentaje de recuperación (%)			
		Valor promedio $n = 3$	Desviación estándar promedio	Valor	Promedio	Desviación estándar	
Nivel 1	1	1	1.4199	8.31269E-15	141.9904	61.2964	53.4693
	2		0.3910	2.95471E-14	39.1056		
	3		0.5323	5.2263E-14	53.2270		
	4		-0.0325	8.76536E-14	-3.2588		
	5		0.7542	1.21398E-13	75.4179		
Nivel 2	1	10	10.6080	1.5409	106.0799	84.1311	23.6299
	2		9.4581	1.3739	94.5810		
	3		10.1843	1.4793	101.8435		
	4		6.5128	0.9460	65.1277		
	5		5.3024	0.7702	53.0236		
Nivel 3	1	15	NO SE EVALUÓ				
	2						
	3						
	4						
	5						

6.3.4. Exactitud.

Cuadro 29. Resumen de la exactitud del método expresada a través de la desviación estándar de las estadísticas de los valores de la desviación estándar de la concentración experimental de las soluciones estándar utilizadas para establecer la curva de calibración del método tres de análisis.

Solución	Concentración teórica (ppb)	Concentración experimental (ppb)			Porcentaje de error entre la concentración teórica y la concentración experimental (%)	Estadísticas descriptivas de la desviación estándar de la concentración experimental			
		Valor	Desviación estándar	Coefficiente de variación estándar (%)		Media	Error estándar	Coefficiente de simetría	Rango
Blanco (HNO ₃ al 1%)	1.0000	-0.7464	-0.7464	-0.0134	0.03	1.4816	0.493487	0.0857	
Estándar 1	5.0000	0.9280	0.9280	0.0108	7.2019	1.4564	2.7516		
Estándar 2	10.0000	5.0240	5.0232	0.0080	0.4640	1.1034	0.1348		
Estándar 3	15.0000	10.0262	10.0262	0.0100	0.2622	1.2176	2.8864		
Estándar 4	20.0000	15.1503	15.1503	0.0026	1.0019	Suma	7.4080		
Estándar 5	1.0000	19.8710	19.8709	0.0065	0.6455	Curtosis	-1.4475	Cuenta	5
								Nivel de confianza (95%)	1.3701

6.3.5. Presición.

Cuadro 30. Resumen de la presición del método expresado a través de la desviación estándar de las estadísticas de los valores de coeficiente de desviación estándar de la concentración experimental de las soluciones estándar utilizadas para establecer la curva de calibración del método tres de análisis.

Solución	Concentración teórica (ppb)	Concentración experimental (ppb)			Porcentaje de error entre la concentración teórica y la concentración experimental (%)	Estadísticas descriptivas del coeficiente de variación estándar de la concentración experimental			
		Valor	Desviación estándar	Coefficiente de variación estándar (%)		Media	Error estándar	Coefficiente de simetría	Rango
Blanco (HNO ₃ al 1%)	1.0000	-0.7464	-0.7464	-0.0134	0.03	0.0076	0.0032	0.0032	
Estándar 1	5.0000	0.9280	0.9280	0.0108	7.2019	0.0014	1.04E-05		
Estándar 2	10.0000	5.0240	5.0232	0.0080	0.4640	0.0080		Mínimo	0.4893
Estándar 3	15.0000	10.0262	10.0262	0.0100	0.2622	0.0032		Máximo	-0.9342
Estándar 4	20.0000	15.1503	15.1503	0.0026	1.0019	1.04E-05		Suma	0.0081
Estándar 5	1.0000	19.8710	19.8709	0.0065	0.6455			Cuenta	0.0026
							0.4893	Nivel de confianza (95%)	0.0108

VII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A fin de confirmar que se han cumplido los requisitos para la utilización de los métodos propuestos y que estos puedan aplicarse como un método de verificación de la calidad de suplementos dietéticos; se han evaluado independientemente cada uno de los procesos que involucran los métodos propuestos estableciéndose los parámetros de validación para la determinación de plomo en suplementos dietéticos a través de la técnica de espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito.

7.1. Método de limpieza.

Al trabajar a nivel de trazas, es de gran importancia que la cristalería y toda la instrumentación que tenga contacto directo con las soluciones y muestras de análisis estén libres del analito de interés, para que estos no agreguen contaminación y afecten los resultados.

Para evaluar los métodos de limpieza propuestos, se realizaron pruebas de la cristalería que iba a contener las muestras, excluyendo la cristalería utilizada para el trasvaso, de estas pruebas se observó que el método uno era efectivo como método de limpieza inicial y con cada lavada iba disminuyendo la contaminación en ella; sin embargo no se logró eliminar la contaminación completamente y ésta presentaba variaciones aleatorias en la cantidad de contaminación eliminada. Debido a la variabilidad de contaminación que presentaba cada recipiente y vial, se optó por buscar métodos más eficientes de lavado para disminuir a niveles no significativos la contaminación.

El procedimiento dos de limpieza no fue totalmente inefectivo como método de limpieza y por último se optó por utilizar el método 3 como método definitivo de limpieza ya que fue el método que mostró valores de limpieza completa, eliminando y llevando a niveles ínfimos la contaminación en la cristalería, recipientes e instrumentación utilizada en los distintos procesos. Aunque es el método que requiere mayor cantidad de reactivos éstos

pueden descartarse fácilmente con su adecuada neutralización y fue el método que mostró ser altamente efectivo.

A modo de comprobar lo anteriormente dicho, se realizaron varias pruebas adicionales de control de limpieza. Los resultados obtenidos pueden ser consultados y se concluyen en el anexo 8, página 142.

7.2. Preparación de soluciones.

Según la teoría de espectrofotometría atómica, en todos los métodos existentes para el análisis de trazas de metales, se recomienda el uso de reactivos de alta pureza para la preparación de las soluciones estándar utilizadas para la calibración de los métodos; sin embargo en los tres métodos propuestos y evaluados en este proyecto, los reactivos utilizados fueron todos reactivos grado analítico debido a que en pruebas de contenido de plomo entre estos reactivos y reactivos ultra puros(ver Anexo 8), se comprobó que no hay diferencia significativa entre estas dos calidades de reactivos que pueda afectar los resultados de cuantificación en el proceso de calibración y de análisis de muestras.

Al contrario de los reactivos, el agua que se utiliza para la preparación de las muestras, es muy importante que sea de alta pureza por lo que debido a los resultados obtenidos trabajando con agua destilada contra los resultados obtenidos trabajando con agua ultra pura (no solo para la preparación de las soluciones sino también para el proceso de limpieza)(ver Anexo 8), los resultados obtenidos trabajando con agua ultra pura muestran una mejora significativa en los parámetros de selectividad y sensibilidad del método al disminuir las interferencias que se puedan formar por la presencia de sales o cualquier otro compuesto que forme complejos con el analito o lo apantallen.

Otro factor importante para la preparación de las soluciones estándar es el uso de un patrón de plomo certificado, en este proyecto se utilizó nitrato de plomo III como patrón para el método uno de análisis y un patrón certificado de plomo, especialmente para

determinaciones en espectrofotometría atómica, para los métodos dos y tres de análisis. De nuevo, al utilizar un patrón certificado, la selectividad del método aumenta viéndose reflejada en la disminución de los valores de concentraciones detectables y cuantificables del método (límite de cuantificación y detección) de los métodos dos y tres respecto a los resultados de límite de detección y cuantificación del método uno de análisis.

7.3. Tratamiento de las muestras.

Como se explica en el procedimiento preparativo para el procesamiento de las muestras del producto terminado, estas deben ser preparadas de tal forma que se obtenga una mezcla homogénea de la muestra aleatoria de veinte cápsulas del producto a evaluar. Pero debido a la presentación de cápsulas de gelatina suave con un contenido oleoso es muy difícil obtener una mezcla homogénea donde la distribución de los componentes, cápsula y aceite, sean iguales en cualquier parte de la mezcla.

Para el método uno de análisis se propone vaciar el contenido de la muestra aleatoria de las veinte cápsulas y pesar el equivalente a cinco cápsulas (cinco cuerpos de cápsula y aceite para conseguir el peso equivalente) y posteriormente someterla a la muestra al proceso de extracción y digestión. Sin embargo en la práctica, al realizar este proceso, resulta muy difícil obtener la mezcla homogénea y se dificulta la obtención de una porción equitativa entre cuerpos de cápsula y aceite. Esto es un factor de variación en los resultados, ya que se está analizando el producto como un conjunto y no solo el cuerpo de la cápsula o solo el contenido oleoso, por lo que no se puede establecer cuál es el efecto independiente de cada componente y no se puede establecer si uno contribuye más que el otro a la contaminación de la muestra. De tal forma que, al no tener una mezcla homogénea, de las muestras preparadas a partir de esta mezcla, unas pueden tener más proporción de cuerpo de cápsula o de contenido oleoso y por consiguiente mayor cantidad de contaminación o menos.

El efecto de dificultad para obtener una mezcla homogénea con el procedimiento de tratamiento de la muestra propuesto para el método uno de análisis se ve disminuido, sin

embargo no eliminado, con el método de tratamiento de la muestra propuesto para los métodos dos y tres de análisis. La molienda criogénica, aunque es un proceso que aumenta ligeramente los costos del estudio, permite obtener una mezcla un poco más homogénea y de mayor facilidad de manipulación.

7.4. Método de extracción y digestión.

El método de extracción propuesto para el método uno de análisis es un método que requiere mucho tiempo para su realización adicionalmente que implica mayor probabilidad de pérdidas de la muestra que se dan por el paso de carbonización de la muestra. Esto es debido a que el cuerpo de las cápsulas es de una mezcla de carbohidratos (composición compleja) y la lecitina es un compuesto oleoso; todos estos componentes tienden a ser inflamables a temperaturas muy elevadas y presentan reacciones agresivas de digestión, lo que lleva a mayor pérdida de la muestra. Y no solo se pierde muestra de esta forma sino que también se corre el riesgo de ocurra un rebalse de las muestras dentro de las mufas si éstas no son correctamente llevadas a sequedad antes de introducirse en las mufas, afectando el equipo.

Por otro lado, los métodos de extracción y digestión propuestos para el método dos y tres de análisis son procesos mucho más rápidos que permiten el procesamiento de hasta 16 muestras en solo una hora. Sin embargo los parámetros de presión y temperatura de digestión del método dos de análisis eran aparentemente muy elevados ya que en varias ocasiones se rompió el sello de seguridad de control de presión interna de los vasos de digestión, lo que provocaba el detenimiento del proceso y llevaba a obtener unas muestras debidamente digeridas y otras que no lo estaban. De esta forma al proceder a la determinación cuantitativa de estas muestras se obtenían resultados dispersos que variaban mucho entre sí, siendo estos poco confiables cuando se daba la situación de digestión incompleta ya que en estos casos cualquier constituyente de la muestra altera uno o más pasos en el proceso de formación de átomos en su estado fundamental en la llama, y lleva a un error en la medición de la concentración.

Debido a los problemas presentados con el método dos de extracción y digestión se decidió modificar los parámetros de presión y temperatura máxima disminuyendolos ligeramente, así también se modificó el programa de calentamiento aumentándose el tiempo de la rampa.

Con estas modificaciones se obtiene mejores resultados en la digestión siendo estos precisos y exactos lo que confirma la efectividad de los reactivos utilizados para el proceso. A pesar de la mejora en los resultados de extracción y digestión obtenidos con el método propuesto para el método tres de análisis, no se logró obtener resultados repetibles en los blancos de matriz así como en los blancos de reactivos, que al ser analizados independientemente cada uno de los reactivos utilizados en este proceso, no presentan niveles de contaminación significativa, pero al analizarse en la mezcla correspondiente, los niveles de contaminación muchas veces aumentaba de una forma no proporcional ni aditiva, de tal forma que el nivel de contaminación era mayor que el nivel de contaminación que se podía obtener si se sumaba la contaminación independiente de cada reactivo. Esto llevaba a obtener resultados poco repetibles con un valor promedio de contaminación del blanco muy elevada que debía restársele a las muestras de producto analizadas.

Por otro lado las muestras de matriz tampoco mostraron resultados repetibles entre muestras de un mismo producto y entre muestras de productos distintos. La poca repetibilidad entre muestras de un mismo producto puede deberse a la dificultad de obtener una mezcla homogénea en el proceso de tratamiento de las muestras, que no permite tomar cantidades equivalentes de los componentes de cada muestra. Así también al analizar muestras distintas de productos, al no existir una armonización en la composición del cuerpo de las cápsulas de gelatina suave, no se puede hacer una matriz genérica, y por ser compuesto por una mezcla de carbohidratos es una matriz compleja que va a variar según cada fabricante.

7.5. Determinación por espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito.

Los resultados de una determinación cuantitativa dependen del establecimiento adecuado del método de análisis. Para garantizar esto, se evalúa una serie de parámetros de validación que permiten comprobar objetivamente, que se han cumplido los requisitos para una utilización o aplicación específica del método, en este caso, para la determinación de plomo en suplementos dietéticos de lecitina de soya como mono-ingrediente presentado como cápsulas de gelatina suave.

7.5.1. Linealidad. Este parámetro permite establecer si los resultados obtenidos de las variables analizadas con el método son directamente proporcionales. En este caso las variables de interés fueron señal (absorbancia) en función de la concentración del analito.

Para la evaluación de este parámetro se utilizó el coeficiente de correlación de la curva de calibración, siendo un resultado deseable de coeficiente de correlación mayor a 0.995 según la OAA.

Como se observa en los Cuadros 14, 21 y 26 de resultados, correspondientes al método uno, dos y tres de análisis respectivamente, los valores de coeficiente de correlación respectivos son 0.9991, 0.9994 y 0.9998. Estos valores demuestran que existe una alta correlación entre las variables evaluadas y los métodos son capaces de explicar más del 99.9% de la variabilidad de los resultados siendo estos lineales.

7.5.2. Límite de detección y cuantificación. Estos parámetros establecen los valores mínimos detectables y cuantificables por el método, de tal forma que por encima de estos valores los resultados son confiables. El límite de detección es la menor cantidad que se puede distinguir del ruido, de tal forma que exista una relación señal:ruido de 3; y el límite de cuantificación es la menor cantidad que puede ser cuantificada, observándose una relación señal: ruido de 10 . Ambos valores establecidos con cierto nivel de confianza.

Este parámetro se evaluó de distinta forma según el método de análisis aplicado. Para el método uno y dos de análisis, como se observa en los Cuadros 15 y 22 de resultados, este parámetro se evaluó a través de la altura de los picos de absorción mostrada por cada una de las soluciones utilizadas para el efecto. En el caso del método uno de análisis, no se logró establecer el límite de cuantificación ni el límite de detección ya que ninguna de las soluciones analizadas mostró una relación señal: ruido de 3 ni de 10 para establecer los límites respectivos de detección y cuantificación; así también, no existe una relación lineal entre los valores de relación por lo que no se pueden extrapolar los resultados para establecer una aproximación de los límites.

Para el método dos de análisis se estableció el límite de detección en una concentración de plomo de 0.30 ppb y el límite de cuantificación en una concentración de plomo de 1.00 ppb, de tal forma que por encima de 1.00 ppb los valores de cuantificación obtenidos son confiables y por consiguiente se puede evaluar la hipótesis de este proyecto que consiste en determinar que todas las muestras de producto terminado analizadas se encuentran por debajo de 0.1 mg/Kg de producto (según la Comisión de la Unión Europea como la concentración máxima admisible de plomo para grasas y aceites), lo que equivale a una solución del estudio de 5 ppb de plomo.

Para el método tres de análisis, el límite de detección y de cuantificación se establecieron a partir de la relación entre la señal de absorbancia de cada solución analizada y su respectivo valor de desviación estándar. Como se observa en el Cuadro 27 de resultados, es posible establecer una relación lineal entre las concentraciones de las primeras tres soluciones estándar analizadas (0.05, 0.1 y 0.3 ppb) por lo que se puede hacer una regresión lineal entre estos valores de absorbancia de estas tres soluciones en función de su concentración teórica y así extrapolar el valor de concentración que reflejará una relación señal: ruido (absorbancia: desviación estándar) de tres y determinarlo como el límite de detección. En este caso el valor obtenido de la extrapolación fue de 0.03 ppb como límite de detección y el límite de cuantificación se determinó a una concentración 0.10 ppb. Así, cualquier valor analizado por encima de 0.1 ppb es confiable y de igual forma que el método dos de análisis, se puede evaluar la hipótesis de este proyecto que consiste en

determinar que todas las muestras de producto terminado analizadas se encuentran por debajo de 0.1 mg/Kg de producto (según la Comisión de la Unión Europea como la concentración máxima admisible de plomo para grasas y aceites), lo que equivale a una solución del estudio de 5 ppb de plomo.

Estos resultados de límite de detección y cuantificación demuestran que el método tres de análisis es el método más sensible de los tres evaluados en el transcurso de este proyecto, ya que su límite de cuantificación es el menor. Esta mayor sensibilidad, comparado con el método uno de análisis puede explicarse debido a la utilización de un corrector de fondo de efecto Zeeman y la utilización de una lámpara de descarga de electrones en lugar de una lámpara de cátodo hueco. Y al compararlo con el método dos de análisis, la única diferencia entre estos métodos en cuanto a la etapa de determinación cuantitativa es la cantidad de muestra inyectada, inyectándose 20 μL en el método dos de análisis y 40 μL en el método tres de análisis, de tal forma que al inyectarse más muestra la cantidad de plomo presente se hace más detectable y aumenta la sensibilidad del método.

7.5.3. Porcentaje de recuperación. Este parámetro permite determinar la eficiencia del método de tratamiento, extracción y digestión de las muestras. En muchas mediciones experimentales puede perderse analito especialmente en el caso de tratamientos complejos de muestras con analito en cantidades traza, dando lugar a porcentajes de recuperación menores. Según la ICH se acepta un valor mayor o igual a $90\% \pm 5\%$ de recuperación como un parámetro de validación.

Para evaluar este parámetro con cada uno de los tres métodos de análisis establecidos, se seleccionaron tres niveles de fortificación según el rango de trabajo de cada uno de tal forma que estos niveles de fortificación se encuentren dentro de la curva de calibración.

En el caso del método uno de análisis, se establecieron las concentraciones 0.04 ppb, 0.1 ppb y 0.2 ppb como como los niveles 1,2 y 3 de fortificación. Según los resultados obtenidos, como se observa en el cuadro 16 de resultados, se obtuvo un porcentaje de recuperación de 0%, 36.28% y 31.23% para cada uno de los respectivos niveles de

fortificación. Al ser estos valores menores al 90% recomendado por la ICH se puede establecer que los procedimientos de tratamiento, extracción y digestión de este método no son adecuados ya que como se explico anteriormente la posibilidad de pérdida de muestra en estos procesos es alta.

Para el método dos de análisis los niveles de fortificación se establecieron en 10 ppb, 15 ppb y 20 ppb respectivamente. Como se muestra en el Cuadro 23 de resultados, los valores de porcentajes recuperación para cada nivel fueron de 115.02% para el nivel 1 y 96.05% para el nivel 2. Debido al resultado del nivel 1, que está por encima del 100% de recuperación (valor ideal) se sospechó de una posible contaminación de las muestras por lo que se suspendió el análisis del nivel 3 de fortificación y se procedió a evaluar los procesos de limpieza para establecer que la cristalería no estuviera adicionando plomo a las muestras. De esta análisis se obtuvo que el método de limpieza que se estaba utilizando no era el más efectivo y se procedió a utilizar el procedimiento de limpieza descrito para el método tres de análisis que resultó ser el mejor.

Por consiguiente, para el método tres de análisis que fue más sensible que los métodos evaluados anteriormente, se establecieron los niveles de fortificación en 1.00 ppb, 10 ppb y 15 ppb para los niveles 1, 2 y 3 respectivamente. Como se observa en el Cuadro 28 de resultados se obtuvo un 61.29% de recuperación para el nivel 1 de fortificación y un 84.13% de recuperación para el nivel 2. Estos valores son menores al valor aceptado de 90% por lo que a primera instancia se puede decir que el procedimiento de tratamiento, extracción y digestión no son efectivos para este método; sin embargo no se puede garantizar que estos resultados sean exactos ya que al momento de realizar la prueba de este parámetro el equipo falló sin motivo aparente y el tubo de grafito que se estaba utilizando terminó por romperse sin haber llegado a su tiempo de vida útil, por lo que los resultados pueden estar afectados por desviaciones del valor de absorbancia que se que no llegó al detector debido al fraccionamiento del tubo e introdujo mucho ruido en las determinaciones. Por este motivo tampoco se pudo culminar con la evaluación del nivel 3 de fortificación para el método tres de análisis. Cabe hacer notar que este fue el cuarto tubo

de grafito que mostró problemas por fraccionamiento, lo que puede ser un indicativo de alguna falla del equipo.

7.5.4. Exactitud. Este parámetro sirve para determinar qué tan cercanos son los resultados obtenidos a los valores reales. Este parámetro puede evaluarse a través del porcentaje de error de las determinaciones, el cual no debe ser mayor al 5%, o también puede evaluarse a través del análisis de la variación de las determinaciones, aceptándose un valor de desviación estándar menor o igual a dos.

Para evaluar este parámetro se analizó la desviación estándar de los valores de variación (o desviación estándar promedio) de la concentración experimental de las soluciones analizadas. Como se observa en el Cuadros 17 de resultados, el valores de desviación estándar de las estadísticas descriptivas de la desviación estándar de la concentración experimental presentan poca dispersión respecto al rango de variación expresado como el valor promedio de las estadísticas descriptivas, los resultados del método uno de análisis se encuentran todos muy cerca al valor real y puede decirse que son exactos.

Lo contrario ocurre con los valores de descritos en el Cuadro 24 de resultados que corresponde al método dos de análisis y que presentan una desviación estándar mayor a 2 lo que indica a los valores están muy dispersos y si se analizan los valores de porcentaje de error de las soluciones analizadas, presentan un error de más del 5%. De esta forma se concluye que los resultados del método dos de análisis no son exactos.

Para el método tres de análisis, según el Cuadro 29 de resultados, este muestra una desviación estándar menor a dos lo que indica que los valores no están tan dispersos y al analizar los valores de porcentaje de error de las soluciones analizadas, ninguna presenta un error mayor al 5% de la concentración experimental respecto a la concentración teórica. Por lo que se puede decir que los resultados del método tres de análisis son exactos.

7.5.5. Precisión. Este parámetro sirve para determinar qué tan repetibles son los resultados obtenidos al analizar varias veces la misma muestra. Este parámetro puede evaluarse a través del coeficiente de variación estándar de las determinaciones, el cual no debe ser mayor al 3%, ó también puede evaluarse a través de la desviación estándar de los valores de coeficiente de variación de las determinaciones, aceptándose un valor de desviación estándar menor o igual a dos.

En el caso de los tres métodos de análisis evaluados, como se observa en los Cuadros 18, 25 y 30 de resultados, los valores de desviación estándar de las estadísticas descriptivas del coeficiente de variación estándar de la concentración experimental es siempre menor a dos en los tres métodos evaluados; y al observar el coeficiente de variación estándar de cada una de las soluciones evaluadas en los tres distintos métodos de análisis, éste es siempre menor al 3%, por lo que se puede concluir que los resultados son precisos en los tres métodos de análisis.

De los resultados anteriormente discutidos se puede concluir que el mejor procedimiento de limpieza es el procedimiento propuesto para el método tres de análisis. Para la preparación de soluciones se puede utilizar reactivos grado analítico tomando en cuenta que el agua que se utilice sea ultra pura. Para el tratamiento de la muestra se prefiere la molienda criogénica aunque aún debe trabajarse en buscar un procedimiento que permita la obtención de una mezcla completamente homogénea de la muestra. Para la extracción y digestión de la muestra, el procedimiento evaluado que mostró mejores resultados fue el propuesto para el método tres de análisis y de los métodos de determinación, el que cumple de mejor forma con los parámetros de validación fue el método tres de análisis.

De esto se concluye que el mejor método de análisis es el método tres, sin embargo no se logró llevar a cabo la validación de éste debido a inconvenientes técnicos del equipo, por lo que se recomienda continuar con la evaluación de los parámetros de validación de este método en un equipo debidamente cualificado y validado.

VIII. CONCLUSIONES

1. Mediante los procedimientos implementados, descritos en este trabajo, se logró tener control sobre el funcionamiento del equipo y la calibración metodológica, sobre las condiciones de trabajo y la contaminación del ambiente. También se cuantificaron las pérdidas de analito debidas al tratamiento químico de la muestra y se evaluó la influencia de la muestra en la recuperación del analito.
2. Según los resultados mostrados en el Anexo 8, el método tres de limpieza fue el método que mostró valores de limpieza completa, eliminando y llevando a niveles ínfimos la contaminación en la cristalería, recipientes e instrumentación utilizada en los distintos procesos. Aunque es el método que requiere mayor cantidad de reactivos estos pueden descartarse fácilmente con su adecuada neutralización y fue el método que mostró ser altamente efectivo.
3. Según los resultados mostrados en el Anexo 8, no existe diferencia significativa entre los resultados de análisis de contaminantes en reactivos ultra puros y reactivos grado analítico, por lo que es posible utilizar reactivos grado analítico para la preparación de soluciones.
4. Según los resultados mostrados en el Anexo 8, sí existe diferencia significativa entre los resultados de análisis de contaminantes en agua desionizada y agua ultra pura, por lo que las soluciones deben ser preparadas estrictamente con agua ultra pura.
5. En el tratamiento de la muestra el efecto de dificultad que se observa en con el método uno de análisis se ve disminuido con el procedimiento de tratamiento de la muestra propuesto para los métodos dos y tres de análisis, sin embargo no es eliminado completamente. La molienda criogénica, aunque es un proceso que aumenta ligeramente los costos del estudio, permite obtener una mezcla un poco más homogénea y de mayor facilidad de manipulación.
6. Para la extracción y digestión de la muestra, el procedimiento evaluado que mostró mejores resultados fue el propuesto para el método tres de análisis.

7. De los parámetros de validación para cada uno de los métodos de análisis se concluye lo siguiente:
- Linealidad: los tres métodos de análisis son lineales.
 - Límite de detección y cuantificación: no se logró establecer un límite de detección ni de cuantificación para el método uno de análisis. Para el método dos de análisis el límite de detección es de 0.30 ppb y el límite de cuantificación es de 1.00 ppb. Para el método tres de análisis el límite de detección es de 0.03 ppb y el límite de cuantificación es de 0.10 ppb.
 - Porcentaje de recuperación: para el método uno de análisis se obtuvo un porcentaje de recuperación de 0%, 35.28% y 31.23% para cada uno de los respectivos niveles de fortificación por lo que el procedimiento de tratamiento, extracción y digestión de este método de análisis no es efectivo. Para el método dos de análisis se obtuvo un porcentaje de recuperación de 115.02% para el nivel 1 y 96.05% para el nivel 2. Para el método tres de análisis se obtuvo un porcentaje de recuperación 61.30% para el nivel 1 y 84.13% para el nivel 2.
 - Exactitud: los resultados del método uno de análisis se encuentran todos muy cerca al valor real y puede decirse que son exactos por tener una desviación estándar menor a dos. Los resultados del método dos de análisis no son exactos por tener una desviación estándar mayor a dos. Los resultados del método tres de análisis son exactos por tener una desviación estándar menor a dos.
 - Precisión: los tres métodos de análisis evaluados son precisos por tener desviaciones estándar menores a dos.
8. El mejor método de análisis, aparentemente a partir de las pruebas de validación que sí pudieron realizarse, es el método tres; sin embargo en esta ocasión no se logró el desarrollo y validación de una metodología analítica para la determinación cuantitativa de plomo en suplementos dietéticos, a través de la técnica de espectrofotometría de

absorción atómica con horno de grafito debido a inconvenientes técnicos del equipo, por lo que los resultados obtenidos aún son dudosos y debe continuarse su estudio para poder aportar un método de análisis químico, válido y confiable, para la determinación de plomo en suplementos dietéticos, que permita a las autoridades guatemaltecas evaluar la calidad de los suplementos dietéticos garantizar la seguridad y la eficacia de los mismos.

9. Debido a que varias de las pruebas de validación no pudieron concluirse con instrumentación utilizada, no es posible comprobar la adecuación de los instrumentos de determinación para garantizar la exactitud y precisión de los resultados obtenidos, dentro del intervalo de interés de la concentración de plomo, para el método desarrollado.
10. No se logró cumplir con los objetivos específicos de este proyecto.

IX. RECOMENDACIONES

1. Controlar las condiciones de trabajo del laboratorio (contaminación debida a reactivos usados, al medioambiente y al tratamiento químico de las muestras) y la calibración metodológica del instrumento, mediante el análisis de blancos de preparación y fortificados, estándares interno y externo. También se recomienda evaluar la influencia de la muestra en la recuperación del analito.
2. Emplear estándares certificados en su matriz correspondiente.
3. Buscar un método de tratamiento de la muestra que permita obtener una muestra homogénea.
4. Medir el efecto de interferencia de matriz a través del método de adición estándar ya que al ser una matriz compleja, el método puede disminuir la selectividad por no ser la muestra de una pureza específica y algunas impurezas pueden formar complejos, encubrir el metal disminuyendo su valor de absorbancia real lo que genera resultados poco exactos.
5. Hacer una curva de calibración cada día de trabajo.
6. Incluir un control interno en cada sesión de determinaciones.
7. Utilizar modificador de matriz adecuado para cada analito.
8. Utilizar agua ultra pura y gases ultra puros
9. Si se llegan a presentar interferencias espectrales se pueden eliminar seleccionando una segunda línea de resonancia del elemento de interés (probablemente se obtenga mayor sensibilidad o empleando una ranura del monocromador más angosta). Una línea de absorción de plomo de 283.3 o 217.0 nm.

10. Comprobar que el equipo de trabajo sea cualificado y se encuentre validado.
11. Continuar la evaluación de los parámetros de validación para el método tres de análisis.

X. BIBLIOGRAFÍA.

- Álvarez, Daniel. *Espectrofotometría*. [online]. Última actualización 28 de Agosto de 2004. [Consulta realizada: 14/07/08]. <<http://zootecnia.mx.tripod.com/espectrofotometria>>
- American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), Water Pollution Control Federation (WPCF). *Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales*. [online]. 17 edición. Ediciones Díaz de Santos. Madrid. 1992. Parte 3000: Determinación de metales. [Consulta realizada: 27/08/08]. <http://books.google.com.gt/books?id=mLhyRECwOqkC&printsec=frontcover&dq=espectrofotometr%C3%ADa+de+absorci%C3%B3n+at%C3%B3mica+%2B+generaci%C3%B3n+de+hidruros&source=gb_s_summary_r&cad=0#PPT218,M1>
- AOAC International. *Official Methods of Analysis*. 18 edición. 2005. En revisión actual 1, 2006. USA. Métodos: 986.15 (capítulo 9, pp 1 - 3); 971.21 (capítulo 9, pp 35 - 36); 986.15 (capítulo 41, pp 9 - 11)
- Bautista Zúñiga, Francisco. *Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales pesados*. [online]. Editorial UADY. 1999. ISBN 968755682X, 9789687556826. pp 109. [Consulta realizada: 06/010/08]. <http://books.google.com.gt/books?hl=es&id=yE2Jq3z7ex4C&dq=metales+pesados&printsec=frontcover&source=web&ots=ma-apuyepJ&sig=fra9gfJRLGcg5reAfN173iCjS4E&sa=X&oi=book_result&resnum=7&ct=result#PPT1,M1>
- Berman, Eleanor. *Toxic Metals and Their Analysis*. Heyden International Topics in Science. London. 1980. pp 117-135 y 149-160

- Bernat, Josep Allu Creus, Cañigüeral. *Fitoterapia: Vademécum de Prescripción*. [online]. Masson. España. 2003. pp 465 – 466. [Consulta realizada: 17/08/08]. <http://books.google.com.gt/books?id=K3V4p5Pj_dAC&pg=PA466&lpg=PA466&dq=lecitina+de+soya&source=web&ots=SkY-NFIzZJ&sig=2n49C9yVOSPM5b0zbaFVqfilv2c&hl=es&sa=X&oi=book_result&resnum=3&ct=result#PPA466,M1>
- Bianchi, Antonio. *El mercado de los suplementos dietéticos: Oportunidades y perspectivas para los productores latinoamericanos*. [online.] Boletín latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas. Sociedad latinoamericana de fitoquímica. Volumen 2 N° 5 Páginas 63 – 78 Septiembre de 2003. ISSN 0717 7917. [Consulta realizada: 09/07/08]. <http://www.uv.es/prietojm/BLACPMA/Archivo/BLACPMA_V2_N5.pdf>
- C.G.Química. *Calidad en los reactivos químicos*. [online]. 2007. [Consulta realizada: 18/01/10]. <<http://www.cgquimica.com.ar/reactivos.htm>>
- Cabrera de León, Hilda Mariela. *Desarrollo y Validación de un método para el análisis de residuos de plaguicidas organoclorados en agua por cromatografía de gases*. Tesis (licenciatura en química farmacéutica). Universidad del Valle de Guatemala. Facultad de Ciencias y Humanidades. Guatemala. 1997. 128 p.
- Clarkson, Thomas W.; Magos, Laszlo; Myers, Gary J. *The Toxicology of Mercury — Current Exposures and Clinical Manifestations*. The New England Journal of Medicine. [online]. Volume 349:1731. October 30, 2003. Number 7. [Consulta realizada: 07/06/2008]. <<http://content.nejm.org/cgi/content/full/339/12/847>>

- Consumer Eroski. *Lecitina de soja*. [online]. Publicado en la edición impresa, julio de 2008. [Consulta realizada: 17/08/08]. <http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/aprender_a_comer_bien/complementos_dieteticos/2005/04/25/141576.php>
- Consumer Eroski. Metales Pesados: toda una amenaza. [online]. Publicado en la edición impresa, marzo de 2001. [Consulta realizada: 21/07/08]. <<http://revista.consumer.es/web/es/20010301/medioambiente/27009.php>>
- Dirección General de Regulación, Vigilancia y Control de la Salud (DGRVCS). *Norma sanitaria para registro de productos denominados como alimentos con propósitos médicos especiales, suplementos dietéticos y productos de origen animal y vegetal, No. 004-2003*. [online]. Guatemala 30 de junio de 2003. [Consulta realizada: 09/07/08]. <<http://www.mspas.gob.gt/DGRVCS/DRCPPFA/REGISTROS/NORMATIVA/NORMA%20SANITARIA%20ALIMENTOS-MEDICAMENTOS.pdf>>
- Dreisbach, Robert Hastings. *Handbook Of Poisoning: Diagnosis & Treatment*. 8a edición. Lange Medical Publications. Los Altos, California. 1974. pp 202-208 y 211-214.
- Dreisbach, Robert Hastings. *Handbook Poisoning: Diagnosis & Treatment*. 8a edición. Lange Medical Publications. Los Altos, California. 1974. pp 202-208 y 211-214.
- Durando Gallo, María Luisa. *Niveles de contaminación por plomo en la ciudad de Guatemala*. Tesis (licenciatura en química). Universidad del Valle de Guatemala. Facultad de Ciencias y Humanidades. Guatemala. 1980. 175 p.
- Enciclopedia Autodidáctica Océano. *Química: Metales*. Grupo Editorial Océano. Edición 1987. Barcelona, España. Tomo 3. pp 1209 – 1211.

- Espinoza, Edgard O. y Bob Bleasdel. *Arsenic and Mercury in Traditional Chinese Herbal Balls*. The New England Journal of Medicine. [online]. Volume 333:803-804. September 21, 1995. Number 12. [Consulta realizada: 07/06/2008]. <<http://content.nejm.org/cgi/content/full/333/12/803>>
- Fundación Salvadoreña para el Desarrollo Social (FUSADE). *Etiquetado Nutricional*. Una forma de adecuación al consumidor. [online]. 2005. [Consulta realizada: 25/08/08]. <<http://www.fusades.org.sv/general.asp?id=135>>
- Gandarias Alfaro, Leonel de. *Estudio de estabilidad acelerada para suplementos dietéticos a base de melatonina que se comercializan en Guatemala*. Tesis (licenciatura en química farmacéutica). Universidad del Valle de Guatemala. Facultad de Ciencias y Humanidades. Guatemala. 2006. 86 p.
- Gato del Monte, Armando. *Aplicación de un método tecnológico para obtener cápsulas blandas sin costura*. [online]. Rev Cubana Farm v.29 n.2 Ciudad de la Habana Mayo-ago. 1995. [Consulta realizada: 26/08/08]. <http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S003475151995000200003&script=sci_arttext&tlng=es>
- Gennaro, Alfonso R.; Remington, Joseph Price. *Remington Farmacia / Alfonso R. Gennaro. Farmacia*. Buenos Aires. Panamericana. 1987. Tomo I. pp 2212-2221
- Gil Cebrián, J. et all. *Capítulo 10.8. Intoxicación por productos industriales. 4. Intoxicación por metales. 4.3. Intoxicación por plomo (Saturnismo)*. [online]. 2008. [Consulta realizada: 23/07/08]. <<http://tratado.uninet.edu/c100804.html>>
- Gil Hernández, F. *Tratado de medicina del trabajo*. [online]. Masson. España. 2007. pp 803 – 810. [Consulta realizada: 21/07/08]. <http://books.google.com.gt/books?id=n0bOvxbo1XYC&pg=PA803&lpg=PA803&dq=metales+pesados&source=web&ots=32c40pg3jJ&sig=cIgL7Lh0xJ4p5K1i1_6oLHu>

M2E4&hl=es&sa=X&oi=book_result&resnum=9&ct=result#PPA803,M1>

- Ko, Richard J. *Adulterants in Asian Patent Medicines*. The New England Journal of Medicine. [online]. Volume 339:847. September 17, 1998. Number 12. [Consulta realizada: 07/06/2008]. <<http://content.nejm.org/cgi/content/full/339/12/847>>
- Lenntech. *Agua desionizada / Agua desmineralizada*. [online]. Última actualización 2009. [Consulta realizada: 15/01/10]. <<http://www.lenntech.es/aplicaciones/proceso/desmineralizada/agua-desionizada-desmineralizada.htm>>
- Maggio, Guillermo Eduardo. *Analisis estadístico de valores extremos (aplicaciones en hidrología)*. [online]. NOLDOR S.R.L. (2006) [Consulta realizada: 15/01/10]. <http://www.noldor.com.ar/noldorweb/consultor/Variables_extremas.pdf>
- Manual. *Espectrofotómetro de absorción atómica, Perkin-Elmer modelo 3110*.
- Mindak, William R.; Cheng, John; Canas, Benjamin J.; Bolger, P. Michael. *Lead in Women's and Children's Vitamins*. Journal of Agricultural and Food Chemistry volume 56, páginas 6892-6896. Publicado en la Web el 23/07/2008.
- National Center for Complementary and Alternative Medicine (NCCAM), National Institute of Health. *¿Qué hay en el frasco? Introducción a los suplementos dietéticos*. NCCAM Publication No. D203. [online]. Traducción: julio 2004. Actualización: marzo 2007. [Consulta realizada: 07/06/2008]. <<http://nccam.nih.gov/espanol/suplementosdieteticos/>>
- Office of Dietary Supplements (ODS), National Institute of Health. *Dietary Supplements: Background Information*. [online]. Fecha de publicación: 22/06/2003. Fecha de actualización: 12/04/2006. [Consulta realizada: 02/07/2008]. <<http://www.ods.od.nih.gov/factsheets/dietarysupplements.asp>>

- Organismo Argentino de Acreditación (OAA). *Guía para validación de métodos de ensayo*. [online]. Código DC-LE-05. Versión 1. Fecha de entrada en vigencia: 26-09-2003. [Consulta realizada 04/08/08]. <www.ing.ucv.ve/Coord_extension/AcreditacionLaboratorios/validación%20de%20metodos.pdf>
- Palisade Corporation. *@Risk 5.5*. [online]. 2009. [Consulta realizada: 12/01/10]. <<http://www.palisade-lta.com/risk/>>
- Pérez Camey, Lesbia Judith. *Desarrollo y Validación de un método para el análisis de residuos de plaguicidas organofosforados en agua por cromatografía de gases de alta resolución*. Tesis (licenciatura en química farmacéutica). Universidad del Valle de Guatemala. Facultad de Ciencias y Humanidades. Guatemala. 1997. 184 p.
- Rico García, Leticia; Leyva Pérez Johanna; Jara Marini, Martin E. *Content and Dialy intake of copper, zinc, lead, cadmium, and mercury from dietary supplements in Mexico*. Elsevier. Science Direct. Food and Chemical Toxicology volumen 45, número 9, septiembre de 2007, páginas 1599-1605. Disponible online a partir del 27 de febrero de 2007.
- Rouanet Mora, Aida Vanessa. *Determinación y cuantificación de mercurio en tejido muscular de Cichlasoma managuense (Pez Tigre o Guapote) del lago de Amatitlán por espectrofotometría de absorción atómica con vapor frío*. Tesis (licenciatura en química farmacéutica). Universidad del Valle de Guatemala. Facultad de Ciencias y Humanidades. Guatemala. 2007. 54 p.
- Rubio, C.; Gutierrez, A.J.; Martin-Izquiero, R.E.; Revert, C.; Lozano, G y Hardisson, A. *El plomo como contaminante alimentario*. [online]. Revista toxicologica. (2004) 21: 72-80 [Consulta realizada: 18/05/09]. <<http://www.uv.es/aetoxweb/revista/revtox.21.2.3/revtox.21.2.3.plomo.pdf>>

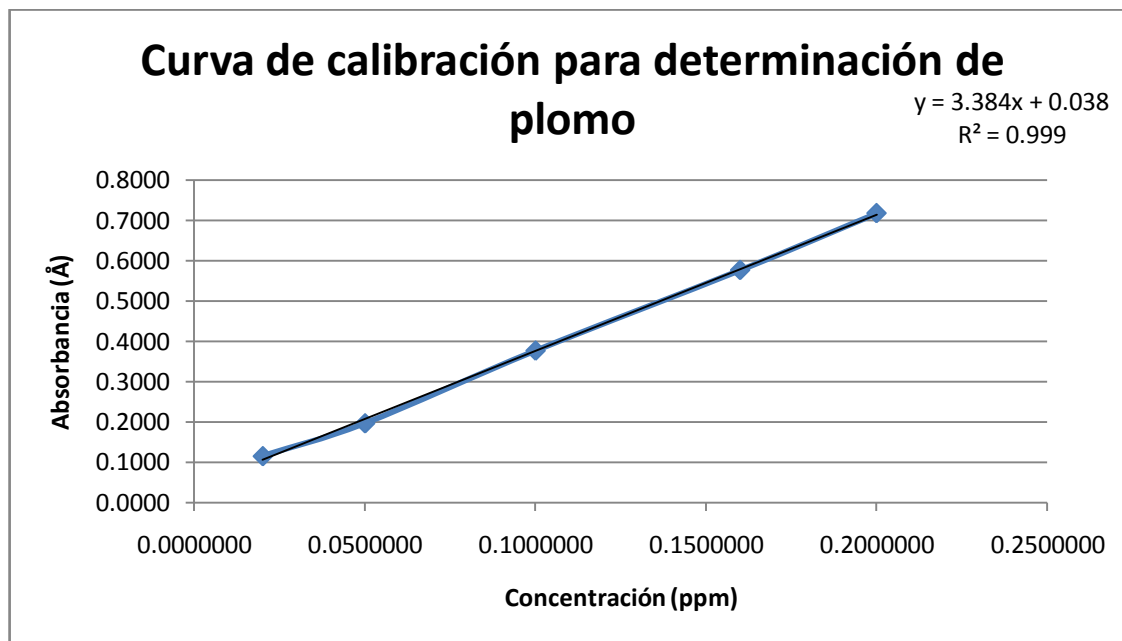
- Salazar Duarte, Ana Lucía. *Evaluación de la calidad de suplementos dietéticos preparados a base de melatonina que se distribuyen en Guatemala*. Tesis (licenciatura en química farmacéutica). Universidad del Valle de Guatemala. Facultad de Ciencias y Humanidades. Guatemala. 2005. 60 p.
- Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A. *Principios de Análisis Instrumental*. 5ª. ed. McGraw-Hill. España. 2001. pp 691-725
- Skoog, D.A.; West D.M.; Holler, F.J.; Crouch, S.R. *Química analítica*. 7ª. ed. McGraw-Hill. México. 2004. Cap. 5 y 6
- Sogorb Sánchez, Miguel Ángel; Vilanova Gisbert, Eugenio. *Técnicas analíticas de contaminantes químicos: Aplicaciones toxicológicas, medioambientales y alimentarias*. [online]. Ediciones Díaz de Santos. 2004. ISBN 8479786620, 9788479786625. Cap. 5. [Consulta realizada: 07/10/08]. <http://books.google.com.gt/books?id=Q1nbZ47NXFkC&pg=PA112&lpg=PA112&q=interferencia+espectral&source=web&ots=FqLgXHwcUU&sig=YSa92nTIU6G9CMsRZuD7-kcs1DM&hl=es&sa=X&oi=book_result&resnum=8&ct=result#PPA112,M1>
- *The United States Pharmacopeia (USP)*. Edición 31. 2008. Tomo I Cáps. 1225, 1226, 231, pág. 991.
- USA Abogado de importaciones del FDA. FDAImports.com Home. Ingredientes y Seguridad de los Suplementos Dietéticos. [online]. 2008. [Consulta realizada: 01/07/08]. <<http://www.fdainports.com/lawyer-attorney-1245322.html>>
- Vose Software. *Pearson Type 5 distribution*. [online]. 2007. [Consulta realizada: 14/01/10]. <http://www.vosesoftware.com/ModelRiskHelp/index.htm#Distributions/Continuous_distributions/Pearson_Type_5_distribution.htm>

- Wikipedia. *Distribución gamma inversa*. [online]. Última actualización 16/012/2009. [Consulta realizada: 14/01/10]. <http://www.vosesoftware.com/ModelRiskHelp/index.htm#Distributions/Continuous_distributions/Pearson_Type_5_distribution.htm>

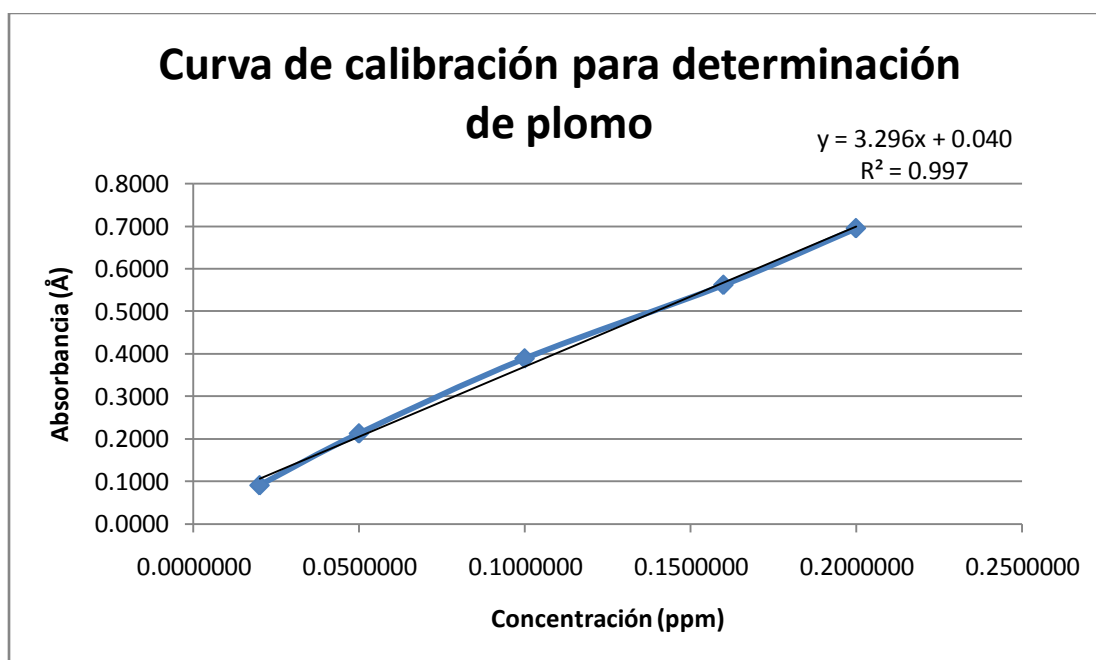
ANEXO No. 1.

Curvas de calibración y gráficas de parámetros de validación.

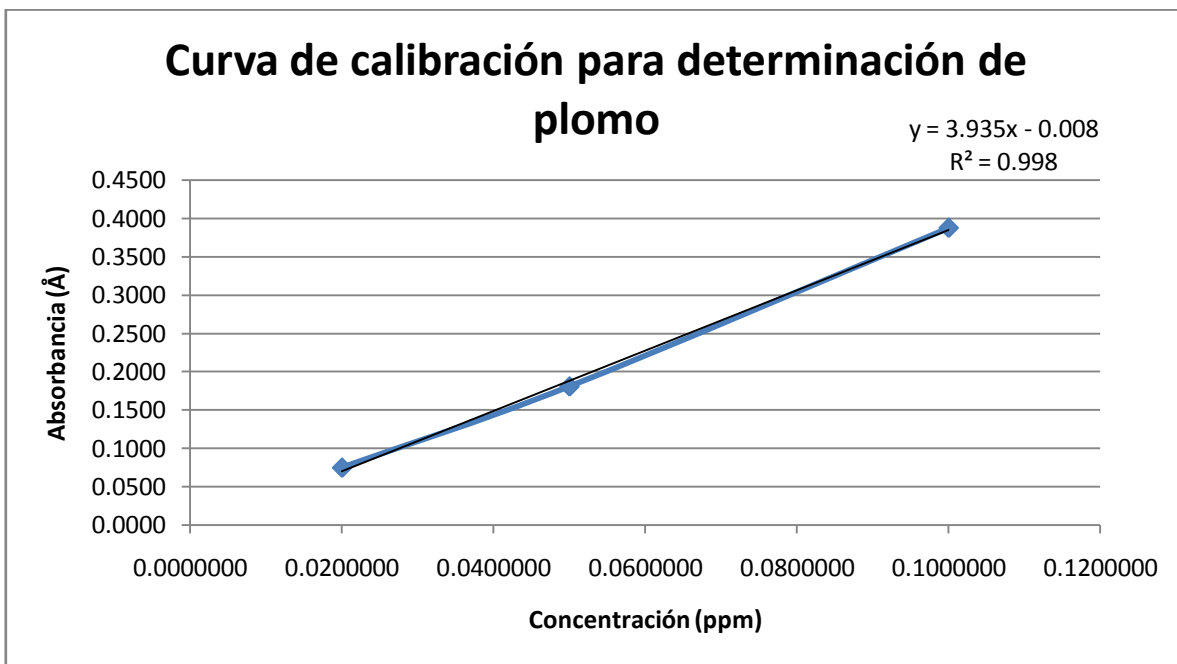
Gráfica 1. Curva de calibración del método uno para la determinación de la linealidad del método.



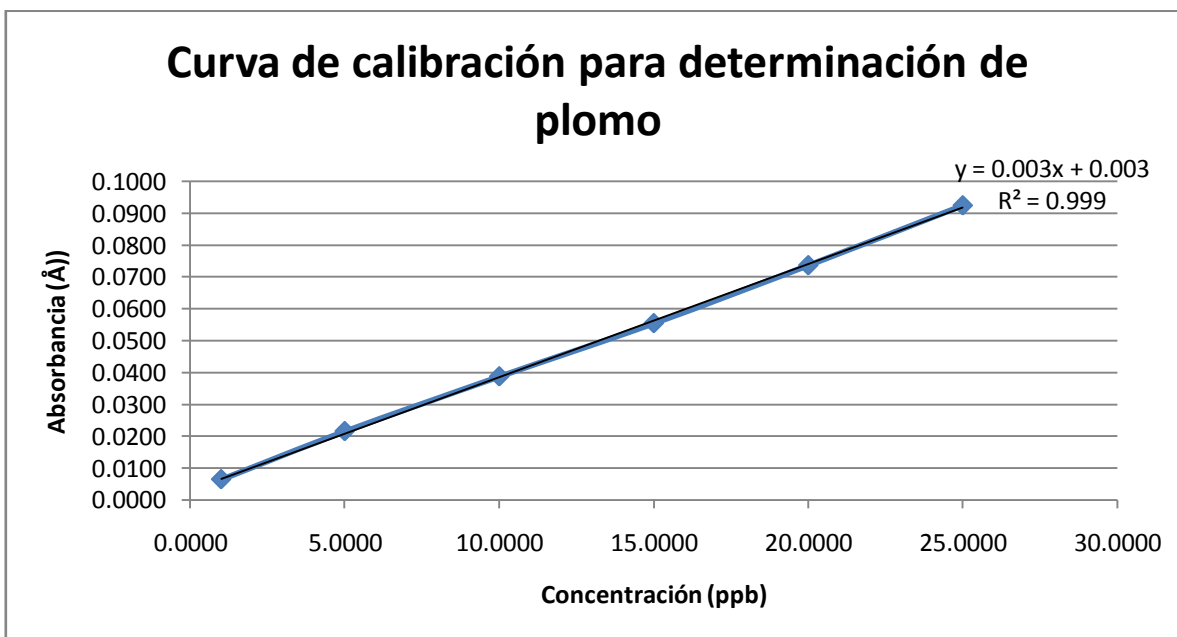
Gráfica 2. Curva de calibración del método uno utilizada para la determinación del límite de cuantificación y detección.



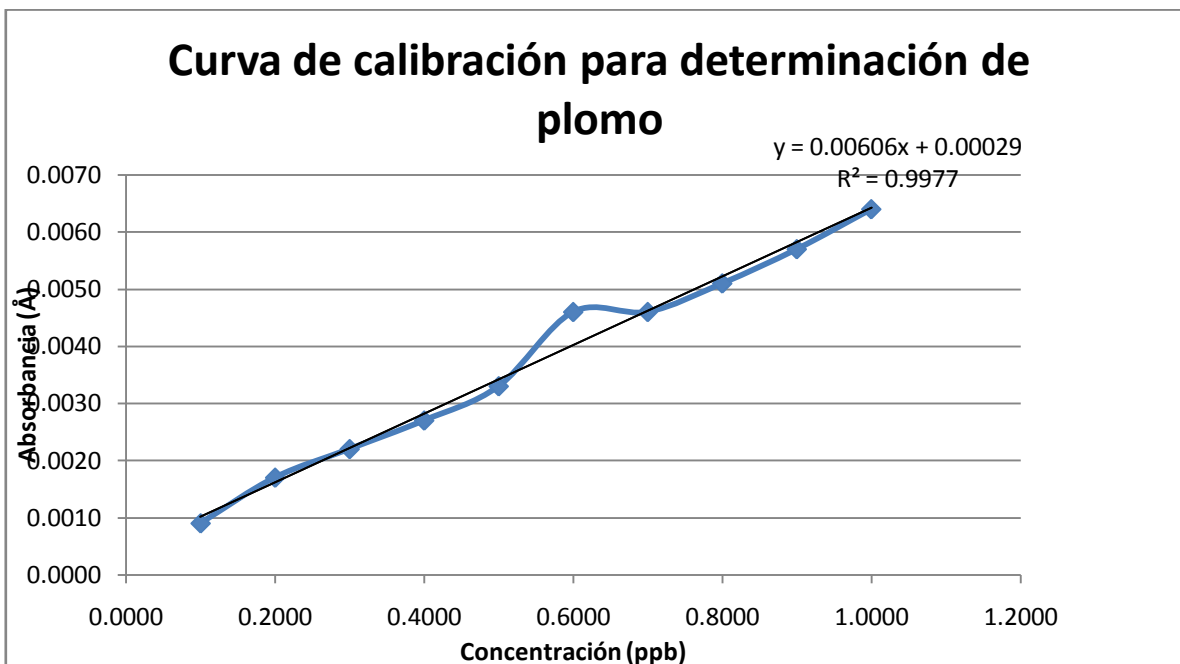
Gráfica 3. Curva de calibración del método uno utilizada para la determinación del porcentaje de recuperación.



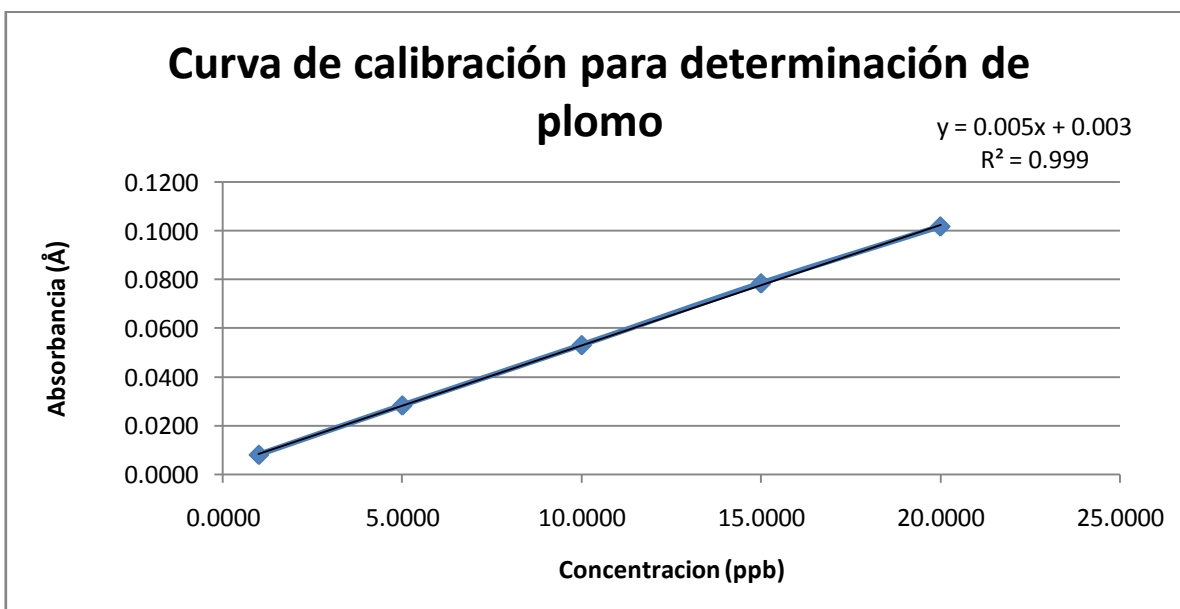
Gráfica 4. Curva de calibración del método dos para la determinación de la linealidad del método.



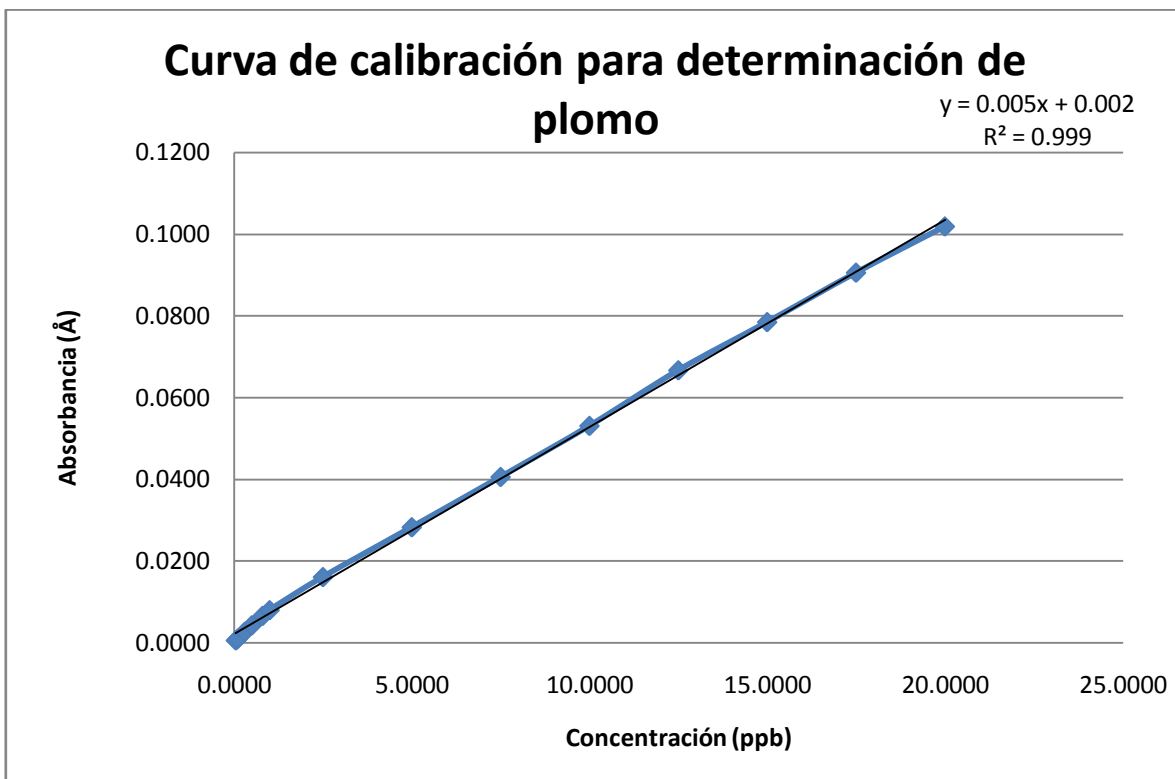
Gráfica 5. Curva de calibración del método dos utilizada para la determinación del límite de cuantificación y detección.



Gráfica 6. Curva de calibración del método tres para la determinación de la linealidad del método.



Gráfica 7. Curva de calibración del método tres utilizada para la determinación del límite de cuantificación y detección.



ANEXO No. 2.

Cuadros de resultados.

Cuadro 31. Valores de la curva de calibración utilizada para la determinación de la linealidad del método uno de análisis *.

Solución	Concentración teórica (ppm)	Concentración real (ppm)		Absorbancia corregida (Å)		Concentración experimental (ppm)	
		Valor	Desviación estándar	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 1	Réplica 2
Blanco (HNO ₃ al 1%)	0.00	0.0000	0.0000	0.0234	0.0245	-0.004	-0.004
Estándar 5	0.02	0.0200	0.0006	0.1156	0.1146	0.023	0.023
Estándar 4	0.05	0.0500	0.0006	0.1969	0.1964	0.047	0.047
Estándar 3	0.10	0.1000	0.0007	0.3818	0.3724	0.102	0.099
Estándar 2B	0.16	0.1600	0.0018	0.5770	0.5777	0.159	0.159
Estándar 1A	0.20	0.2000	0.0023	0.7222	0.7151	0.202	0.200

*Ver Cuadro 14 de Resultados.

Cuadro 32. Valores de la curva de calibración utilizada para la determinación del límite de cuantificación y detección del método uno de análisis *.

Solución	Concentración teórica (ppm)	Concentración real (ppm)		Absorbancia corregida (Å)			Concentración experimental (ppm)			
		Valor	Desviación estándar	Réplica 1	Réplica 2	Valor promedio	Réplica 1	Réplica 2	Valor promedio	Desviación estándar promedio
Blanco	0.00	0.0000	0.0000	0.0051	0.0059	0.0055	-0.011	-0.011	-0.011	0.0006
Estándar 5	0.02	0.0200	0.0006	0.0910	0.0919	0.0914	0.015	0.015	0.015	0.0006
Estándar 4	0.05	0.0500	0.0006	0.2132	0.2133	0.2132	0.052	0.052	0.052	0.0001
Estándar 3	0.10	0.1000	0.0007	0.3891	0.3895	0.3893	0.106	0.106	0.106	0.0003
Estándar 2B	0.16	0.1600	0.0018	0.5651	0.5594	0.5622	0.159	0.157	0.158	0.0040
Estándar 1A	0.20	0.2000	0.0023	0.6963	0.6942	0.6953	0.199	0.198	0.199	0.0015

*Ver Cuadro 15 de Resultados.

Cuadro 33. Preparación de las diluciones utilizadas para la determinación del límite de detección y el límite de cuantificación del método uno de análisis *.

Solución	Solución de la que se parte	Concentración real de la solución de partida (ppm)	Volumen de la alícuota (mL)	Volumen total (mL)	Concentración real de la dilución (mg/L - ppm)
Dilución 1	Estándar 5	0.0200 ± 0.0006	2 ± 0.01	4 ± 0.08	0.0100 ± 0.0003
Dilución 2	Dilución 1	0.0100 ± 0.0004	2 ± 0.01	4 ± 0.08	0.0050 ± 0.0002
Dilución 3	Dilución 2	0.0050 ± 0.0002	2 ± 0.01	4 ± 0.08	0.0025 ± 0.0001
Dilución 4	Dilución 3	0.0025 ± 0.0001	2 ± 0.01	4 ± 0.08	0.0012 ± 6.3E-05
Dilución 5	Dilución 4	0.0012 ± 6.34E-05	2 ± 0.01	4 ± 0.08	0.0006 ± 3.4E-05
Dilución 6	Dilución 5	0.0006 ± 3.4E-05	2 ± 0.01	4 ± 0.08	0.0003 ± 1.8E-05

*Ver Cuadro 15 de Resultados.

Cuadro 34. Valores de la curva de calibración utilizada para la determinación del porcentaje de recuperación del método uno de análisis *.

Solución	Concentración teórica (ppm)	Concentración real (ppm)		Absorbancia corregida (Å)			Concentración experimental (ppm)			
		Valor	Desviación estándar	Réplica 1	Réplica 2	Valor promedio	Réplica 1	Réplica 2	Valor promedio	Desviación estándar promedio
Blanco (HNO3 al 1%)	0.00	0.0000	0.0000	0.1680	0.1710	0.1700	0.043	0.044	0.043	0.0020
Estándar 3	0.05	0.0500	0.0026	0.1820	0.1810	0.1810	0.048	0.048	0.048	0.0006
Estándar 2	0.10	0.1000	0.0051	0.3860	0.3890	0.3880	0.127	0.129	0.128	0.0019
Estándar 1	0.20	0.2000	0.0100	0.5420	0.5410	0.5410	0.188	0.188	0.188	0.0006

*Ver Cuadro 16 de Resultados.

Cuadro 35. Valores de la prueba de porcentaje de recuperación del método uno de análisis*.

Solución	Concentración teórica (ppm)	Concentración real (ppm)		Absorbancia corregida (Å)			Concentración experimental (ppm)			
		Valor	Desviación estándar	Réplica 1	Réplica 2	Valor promedio	Réplica 1	Réplica 2	Valor promedio	Desviación estándar promedio
Blanco de reactivo	0.00	0.0000	0.0000	-113.0	-0.111	-0.1120	-28.7099	-0.0261	-14.3680	0.0021
			0.0000	-0.057	-0.057	-0.0570	-0.0124	-0.0124	-0.0124	0.0004
			0.0000	-0.016	-0.015	-0.0160	-0.0019	-0.0017	-0.0018	0.0006
Nivel 1	0.04	0.0400	0.0012	-0.052	-0.053	-0.0520	-0.0111	-0.0113	-0.0112	0.0004
			0.0012	-0.083	-0.082	-0.0830	-0.0190	-0.0187	-0.0188	0.0006
			0.0012	-0.045	-0.037	-0.0410	-0.0093	-0.0073	-0.0083	0.0060
Nivel 2	0.1	0.1000	0.0012	0.0650	0.0700	0.0680	0.0186	0.0199	0.0193	0.0037
			0.0012	0.1600	0.1570	0.1580	0.0428	0.0420	0.0424	0.0023
			0.00112	0.1800	0.1510	0.1660	0.0479	0.0405	0.0442	0.0199
Nivel 3	0.2	0.2000	0.0016	0.1700	0.1900	0.1800	0.0453	0.0504	0.0479	0.0140
			0.0016	0.2850	0.2830	0.2840	0.0745	0.0740	0.0743	0.0016
			0.0016	0.2590	0.2380	0.2480	0.0679	0.0626	0.0653	0.0150

*Ver Cuadro 16 de Resultados.

Cuadro 36. Valores de la prueba de repetibilidad del método uno de análisis según resultados del estándar 3 utilizado en la curva de calibración de la prueba de linealidad del método*.

Solución	Concentración teórica (ppm)	Concentración real (ppm)		Absorbancia corregida (Å)				Concentración experimental (ppm)			
		Valor	Desviación estándar	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Réplica 4	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Réplica 4
Estándar 3	0.10	0.1000	0.0007	0.3818	0.3724	0.3804	0.3802	0.102	0.099	0.103	0.102

*Ver Cuadro 19 de Resultados.

Cuadro 37. Valores de la curva de calibración utilizada para la determinación de la linealidad del método dos de análisis *.

Solución	Concentración teórica (ppb)	Absorbancia corregida (Å)			Concentración experimental (ppb)		
		Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Réplica 1	Réplica 2	Reéplica 3
Blanco (HNO3 al 1%)	0	0.0007	0.0004	0.0010	-0.0366	-0.4487	-0.2825
Estándar 1	1.0000	0.0065	0.0060	0.0069	1.2410	1.1025	1.3518
Estándar 2	5.0000	0.0410	0.0374	0.0381	6.1646	6.1013	6.3228
Estándar 3	10.0000	0.0410	0.0374	0.0381	12.3354	11.1962	11.4177
Estándar 4	15.0000	0.0556	0.0581	0.0528	16.9557	17.7468	16.0696
Estándar 5	20.0000	0.0685	0.0761	0.0766	21.0380	23.4430	23.6013

*Ver Cuadro 21 de Resultados.

Cuadro 38. Valores de la curva de calibración utilizada para la determinación del límite de cuantificación y detección del método dos de análisis *.

Solución	Concentración teórica (ppb)	Absorbancia corregida (Å)					Concentración experimental (ppb)				
		Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Valor promedio	Desviación estándar promedio	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Valor promedio	Desviación estándar promedio
Blanco	0	0.0011	0.0006	0.0003	0.0007	0.0004	0.1337	0.0512	0.0165	0.0676	0.3086
Estándar 1	0.1000	0.0006	0.0012	0.001	0.0009	0.0003	0.0512	0.1502	0.1172	0.1007	0.0504
Estándar 2	0.2000	0.0017	0.0016	0.0017	0.0017	0.0001	0.2327	0.2162	0.2327	0.2327	0.0095
Estándar 3	0.3000	0.0022	0.0019	0.0024	0.0022	0.0002	0.3152	0.2657	0.3482	0.3152	0.0415
Estándar 4	0.4000	0.0028	0.0027	0.0026	0.0027	0.0001	0.4142	0.3977	0.3812	0.3977	0.0165
Estándar 5	0.5000	0.0033	0.0031	0.0036	0.0033	0.0002	0.4967	0.4637	0.5462	0.4967	0.0415
Estándar 6	0.6000	0.0040	0.0041	0.0041	0.0046	0.0001	0.6122	0.6287	0.6287	0.7112	0.0095
Estándar 7	0.7000	0.0046	0.0049	0.0046	0.0046	0.0002	0.7112	0.7607	0.6782	0.7112	0.0415
Estándar 8	0.8000	0.0053	0.0050	0.0051	0.0051	0.0002	0.8267	0.7772	0.7937	0.7937	0.0252
Estándar 9	0.9000	0.0058	0.0053	0.0060	0.0057	0.0004	0.9092	0.8267	0.9422	0.8927	0.0595
Estándar 10	1.0000	0.0064	0.0063	0.0066	0.0064	0.0002	1.0083	0.9917	1.0413	1.0082	0.0252

*Ver Cuadro 22 de Resultados.

Cuadro 39. Valores de la curva de calibración utilizada para la determinación de la linealidad del método tres de análisis *.

Solución	Concentración teórica (ppb)	Absorbancia corregida (Å)			Concentración experimental (ppb)		
		Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Réplica 1	Réplica 2	Reéplica 3
Blanco (HNO ₃ al 1%)	0	-	-	-	-0.7464	-0.7666	-0.7262
Estándar 1	1.0000	0.0080	0.0080	0.0079	1.1338	1.1338	1.1092
Estándar 2	5.0000	0.0278	0.0285	0.0285	4.9223	5.0635	5.0635
Estándar 3	10.0000	0.0521	0.0536	0.0538	9.8245	10.1271	10.1674
Estándar 4	15.0000	0.0786	0.0780	0.0789	15.1705	15.0494	15.2310
Estándar 5	20.0000	0.1004	0.1028	0.1026	19.5683	20.0525	20.0121

*Ver Cuadro 26 de Resultados.

Cuadro 40. Valores de la curva de calibración utilizada para la determinación del límite de cuantificación y detección del método tres de análisis *.

Solución	Concentración teórica (ppb)	Absorbancia corregida (Å)					Concentración experimental (ppb)				
		Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Valor promedio	Desviación estándar promedio	Réplica 1	Réplica 2	Replica 3	Valor promedio	Desviación estándar promedio
Blanco	0	-0.0003	-0.0004	-0.0002	-0.0003	0.0001	-0.4059	-0.4255	-0.3863	-0.4059	-0.09362
Estándar 1	0.0500	0.0006	0.0006	0.0080	0.0006	0.0001	-0.2294	-0.2294	1.2216	-0.2294	-0.05292
Estándar 2	0.1000	0.0010	0.0009	0.0011	0.0010	0.0001	-0.1510	-0.1706	-0.1314	-0.1510	-0.03483
Estándar 3	0.3000	0.0027	0.0026	0.0027	0.0027	0.0001	0.1824	0.1627	0.1824	0.1823	0.0421
Estándar 4	0.5000	0.0043	0.0042	0.0043	0.0043	0.0001	0.4961	0.4765	0.4961	0.4961	0.1144
Estándar 5	0.8000	0.0068	0.0065	0.0065	0.0066	0.0002	0.9863	0.9275	0.9275	0.9470	0.2184
Estándar 6	1.0000	0.0080	0.0080	0.0079	0.0080	0.0001	1.2216	1.2216	1.2020	1.2216	0.2818
Estándar 7	2.5000	0.0165	0.0165	0.0152	0.0161	0.0008	2.8882	2.8882	2.6333	2.8098	0.6481
Estándar 8	5.0000	0.0278	0.0285	0.0285	0.0283	0.0004	5.1039	5.2412	5.2412	5.2020	1.1999
Estándar 9	7.5000	0.0413	0.0405	0.0401	0.0406	0.0006	7.7510	7.5941	7.5157	7.6137	1.7562
Estándar 10	10.0000	0.0521	0.0536	0.0538	0.0531	0.0010	9.8686	10.1627	10.2020	10.0647	2.3215
Estándar 11	12.5000	0.0663	0.0679	0.0659	0.0667	0.0011	12.6529	12.9667	12.5745	12.7313	2.9366
Estándar 12	15.0000	0.0786	0.0780	0.0789	0.0785	0.0004	15.0647	14.9471	15.1235	15.0451	3.4703
Estándar 13	17.5000	0.0908	0.0909	0.0902	0.0906	0.0004	17.4569	17.4765	17.3392	17.4176	4.0175
Estándar 14	20.0000	0.1004	0.1028	0.1026	0.1019	0.0013	19.3392	19.8098	19.7706	19.6333	4.5286

*Ver Cuadro 27 de Resultados.

ANEXO No. 3.

Información de los suplementos dietéticos formulados a base de lecitina de soya como mono-ingrediente presentados en cápsulas de gelatina suave, registrados y que se comercializan en Guatemala.

Cuadro 41. Información sobre formulación, fabricación, indicaciones, dosis, advertencias y empaque de los suplementos dietéticos formulados a base de lecitina de soya como mono-ingrediente presentados en cápsulas de gelatina suave, registrados y que se comercializan en Guatemala.

**INFORMACIÓN DE SUPLEMENTOS DIETÉTICOS REGISTRADOS DE
LECITINA DE SOYA COMERCIALIZADOS EN GUATEMALA**

<i>Nombre comercial (IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA)</i>	<i>Forma Farmacéutica</i>	<i>Concentración de principio activo y excipientes</i>	<i>Indicaciones</i>	<i>Dosis</i>	<i>Advertencias</i>	<i>No. Lote</i>	<i>Registro sanitario</i>	<i>Fecha de vencimiento</i>	<i>Envase Primario</i>	<i>Embase secundario</i>	<i>Fabricante</i>

Cuadro 42. Información de la muestra uno de producto terminado.

INFORMACIÓN DE SUPLEMENTOS DIETÉTICOS REGISTRADOS DE LECITINA DE SOYA COMERCIALIZADOS EN GUATEMALA	
<i>Identificación de la muestra</i>	MUESTRA 1
<i>Forma Farmacéutica</i>	Cápsulas de gelatina suave
<i>Concentración de principio activo y excipientes</i>	Lecitina de soya 1200 mg
<i>Indicaciones</i>	Suplemento alimenticio, ayuda a eliminar las grasas rápidamente.
<i>Dosis</i>	Adultos: tomar 1 cápsula 3 veces al día Deportistas: tomar 2 cápsulas 3 veces al día
<i>Vía de administración</i>	Oral
<i>Advertencias</i>	Manténgase el envase bien cerrado y en un lugar fresco
<i>Modalidad de venta</i>	Venta libre
<i>No. Lote</i>	4521837
<i>Tipo de registro sanitario</i>	Producto Farmacéutico (PF-)
<i>Registro sanitario No.</i>	PF-21541
<i>Fecha de vencimiento</i>	09-2011
<i>Envase Primario</i>	Frasco plástico con sello metálico
<i>Embalse secundario</i>	Caja de cartón
<i>Fabricante</i>	Farmacaps, S.A.
<i>Distribuidor</i>	No aplica

Cuadro 43. Información de la muestra dos de producto terminado.

INFORMACIÓN DE SUPLEMENTOS DIETÉTICOS REGISTRADOS DE LECITINA DE SOYA COMERCIALIZADOS EN GUATEMALA	
<i>Nombre comercial</i>	MUESTRA 2
<i>Forma Farmacéutica</i>	Cápsulas de gelatina suave
<i>Concentración de principio activo y excipientes</i>	Lecitina de soya 1200 mg
<i>Indicaciones</i>	La lecitina de soya es una fuente natural de colina, inositol y ácido linoleico. Colina e inositol son componentes naturales de todas las células, membranas y juegan roles importantes en la función y crecimiento
<i>Dosis</i>	Adultos: tomar 1 cápsula diariamente, preferible con una comida
<i>Vía de administración</i>	Oral
<i>Advertencias</i>	Manténgase fuera del alcance de los niños. No compre este producto si no tiene el sello de seguridad o si está roto. Almacenar en un lugar seco y fresco protegido del exceso de calor. Si está embarazada, lactando o tomando alguna prescripción médica, consulte con su médico antes de usar este producto. Descontinúe el uso y consulte con su médico en caso de sufrir una reacción adversa.
<i>Modalidad de venta</i>	Venta libre
<i>No. Lote</i>	15711802
<i>Tipo de registro sanitario</i>	Producto Farmacéutico Dietético (PFD-)
<i>Registro sanitario No.</i>	PFD-33603
<i>Fecha de vencimiento</i>	3/10
<i>Envase Primario</i>	Frasco plástico con sello metálico
<i>Embalse secundario</i>	No aplica
<i>Fabricante</i>	Nature's Bountry, Inc.
<i>Distribuidor</i>	Multiservicios de Guatemala

Cuadro 44. Información de la muestra tres de producto terminado.

INFORMACIÓN DE SUPLEMENTOS DIETÉTICOS REGISTRADOS DE LECITINA DE SOYA COMERCIALIZADOS EN GUATEMALA	
<i>Nombre comercial</i>	MUESTRA 3
<i>Forma Farmacéutica</i>	Cápsulas de gelatina suave
<i>Concentración de principio activo y excipientes</i>	Lecitina de soya 1200 mg (equivalentes a 420 mg de fosfatidil colina)
<i>Indicaciones</i>	Suplemento dietético
<i>Dosis</i>	Tomar una o dos cápsulas al día con la comida
<i>Vía de administración</i>	Oral
<i>Advertencias</i>	Manténgase fuera del alcance de los niños Guárdese en un lugar fresco y seco
<i>Modalidad de venta</i>	Venta libre
<i>No. Lote</i>	0846BI1064
<i>Tipo de registro sanitario</i>	Producto Farmacéutico (PF-)
<i>Registro sanitario No.</i>	PF-24036-2006
<i>Fecha de vencimiento</i>	02/10
<i>Envase Primario</i>	Frasco plástico con sello metálico
<i>Embase secundario</i>	No aplica
<i>Fabricante</i>	Nutra Manufacturing USA, Inc. Para General Nutricional Corporation
<i>Distribuidor</i>	Farmacia y Droguería GNC

Cuadro 45. Información de la muestra cuatro de producto terminado.

INFORMACIÓN DE SUPLEMENTOS DIETÉTICOS REGISTRADOS DE LECITINA DE SOYA COMERCIALIZADOS EN GUATEMALA	
<i>Nombre comercial</i>	MUESTRA 4
<i>Forma Farmacéutica</i>	Cápsulas de gelatina suave
<i>Concentración de principio activo y excipientes</i>	Lecitina de soya 1200 mg
<i>Indicaciones</i>	Suplemento alimenticio
<i>Dosis</i>	Tomar 1 cápsula 3 veces al día o según indique el médico
<i>Vía de administración</i>	Oral
<i>Advertencias</i>	Manténgase fuera del alcance de los niños. Manténgase en un lugar fresco y seco No compre este producto si no tiene el sello de seguridad o si está roto.
<i>Modalidad de venta</i>	Venta libre
<i>No. Lote</i>	807542
<i>Tipo de registro sanitario</i>	Producto Farmacéutico Dietético (PFD-)
<i>Registro sanitario No.</i>	PFD-30707
<i>Fecha de vencimiento</i>	07/11
<i>Envase Primario</i>	Frasco plástico con sello metálico
<i>Embase secundario</i>	No aplica
<i>Fabricante</i>	Vita Vigor Inc., USA
<i>Distribuidor</i>	No aplica

Cuadro 46. Información de la muestra cinco de producto terminado.

INFORMACIÓN DE SUPLEMENTOS DIETÉTICOS REGISTRADOS DE LECITINA DE SOYA COMERCIALIZADOS EN GUATEMALA	
<i>Nombre comercial</i>	MUESTRA 5
<i>Forma Farmacéutica</i>	Cápsulas de gelatina suave
<i>Concentración de principio activo y excipientes</i>	Lecitina de soya 1200 mg
<i>Indicaciones</i>	Como suplemento alimenticio que agregado a una dieta adecuada ayuda a eliminar las grasas rápidamente
<i>Dosis</i>	Adultos: tomar 1 cápsula 3 veces al día Deportistas: tomar 2 cápsulas 3 veces al día
<i>Vía de administración</i>	Oral
<i>Advertencias</i>	Para una mejor conservación manténgase el envase bien cerrado y en un lugar fresco
<i>Modalidad de venta</i>	Venta libre
<i>No. Lote</i>	08093473
<i>Tipo de registro sanitario</i>	Producto Farmacéutico Dietético (PFD-)
<i>Registro sanitario No.</i>	PFD-34205
<i>Fecha de vencimiento</i>	08/2011
<i>Envase Primario</i>	Frasco plástico con sello metálico
<i>Embase secundario</i>	Caja de cartón
<i>Fabricante</i>	Farmacaps,S.A. para Laboratorios Sante, S.A.
<i>Distribuidor</i>	No aplica

Cuadro 47. Información de la muestra seis de producto terminado.

INFORMACIÓN DE SUPLEMENTOS DIETÉTICOS REGISTRADOS DE LECITINA DE SOYA COMERCIALIZADOS EN GUATEMALA	
<i>Nombre comercial</i>	MUESTRA 6
<i>Forma Farmacéutica</i>	Cápsulas de gelatina suave
<i>Concentración de principio activo y excipientes</i>	Lecitina de soya 1200 mg
<i>Indicaciones</i>	Reduce el colesterol emulsionando grasas
<i>Dosis</i>	Dosis recomendada para adultos: tomar 1 cápsula diaria
<i>Vía de administración</i>	Oral
<i>Advertencias</i>	El consumo de este producto es responsabilidad del usuario y su calidad y contenido es responsabilidad del fabricante. Almacenar en un lugar seco y fresco a temperatura menor de 30°C. Mantener fuera del alcance de los niños.
<i>Modalidad de venta</i>	Venta libre
<i>No. Lote</i>	809558
<i>Tipo de registro sanitario</i>	Producto Farmacéutico Dietético (PFD-)
<i>Registro sanitario No.</i>	PFD-32316
<i>Fecha de vencimiento</i>	06-11
<i>Envase Primario</i>	Frasco plástico con sello metálico
<i>Embase secundario</i>	No aplica
<i>Fabricante</i>	Arnet Pharmaceutical, USA. para LANCASCO, S.A.
<i>Distribuidor</i>	LANCASCO, S.A.

Cuadro 48. Información de la muestra siete de producto terminado.

INFORMACIÓN DE SUPLEMENTOS DIETÉTICOS REGISTRADOS DE LECITINA DE SOYA COMERCIALIZADOS EN GUATEMALA	
<i>Nombre comercial</i>	MUESTRA 7
<i>Forma Farmacéutica</i>	Cápsula de gelatina suave
<i>Concentración de principio activo y excipientes</i>	Lecitina de soya 1200 mg
<i>Indicaciones</i>	Suplemento nutricional
<i>Dosis</i>	Adultos: tomar 1 cápsula al día
<i>Vía de administración</i>	Oral
<i>Advertencias</i>	Este producto no es para uso de personas menores de 18 años. Si está embarazada, lactando o tomando alguna prescripción médica, consulte con su médico antes de usar este producto. Mantener fuera del alcance de los niños. Proteger del calor, la luz y la humedad. No compre este producto si no tiene el sello de seguridad o si está roto. Almacenar a 15-30°C (59-86°F)
<i>Modalidad de venta</i>	Venta libre
<i>No. Lote</i>	0328808
<i>Tipo de registro sanitario</i>	Alimento (A-)
<i>Registro sanitario No.</i>	A-41819
<i>Fecha de vencimiento</i>	08/03/11
<i>Envase Primario</i>	Frasco plástico con sello metálico
<i>Embalse secundario</i>	No aplica
<i>Fabricante</i>	Pal Laboratories
<i>Distribuidor</i>	PriceSmart, Inc.

ANEXO No. 4.

Especificaciones del patrón de plomo utilizado en el ensayo.

Formato 1. Especificaciones del patrón de plomo utilizado para llevar a cabo el ensayo.

ESPECIFICACIONES DEL PATRÓN DE PLOMO

INFORMACIÓN DEL REACTIVO

<i>Nombre Químico</i>	
<i>Especificación de uso</i>	

DATOS FÍSICOS Y QUÍMICOS DEL REACTIVO

<i>Solubilidad en agua</i>	
<i>Masa molecular</i>	
<i>Valor de pH</i>	
<i>Punto de fusión</i>	
<i>Densidad</i>	

INFORMACIÓN DEL PRODUCTO

<i>Marca / Fabricante</i>	
<i>Embalaje</i>	
<i>Tamaño</i>	
<i>Código de identificación del fabricante</i>	
<i>No. Lote</i>	
<i>Especificaciones</i>	

INFORMACIÓN DE SEGURIDAD

<i>Toxicidad</i>	
<i>Características de peligrosidad</i>	
<i>Almacenamiento</i>	
<i>Eliminación de residuos</i>	

INFORMACIÓN PARA REGISTRO INTERNO DE RESPONSABILIDAD

<i>Sustancia No. (control Interno)</i>	
<i>Fecha de primer registro</i>	
<i>Iniciales de registrador</i>	

ANEXO No. 5.

Registros y controles según Buenas Prácticas de Laboratorio.

Formato 2. Hoja de control de patrones.**CONTROL DE PATRONES****INFORMACIÓN GENERAL DEL REACTIVO**

<i>Nombre Químico</i>	_____	<i>Marca / Fabricante</i>	_____
<i>Fórmula química</i>	_____	<i>Sustancia No. (control Interno)</i>	_____
<i>Peso Molecular</i>	_____	<i>Solución</i>	_____
<i>No. Lote</i>	_____	<i>Identificación de la solución</i>	_____
<i>Fecha de primer registro</i>	_____	<i>Iniciales de registrador</i>	_____

INFORMACIÓN DE CONSUMO DE LA SOLUCIÓN

<i>Compuesto</i>	<i>Concentración</i>	<i>Fecha de preparación</i>	<i>Volumen preparado</i>	<i>Volumen utilizado</i>	<i>Fecha de descarte</i>	<i>Iniciales del analista</i>

OBSERVACIONES Almacenar en refrigeradora a 5°C protegidas de la luz y el aire, envueltas en papel de aluminio y selladas con papel parafilm en la boquilla. Preservar en balones volumétricos aforados, de vidrio de borosilicato, clase A, con tapón de vidrio esmerilado.

Formato 3. Hoja de control de solución madre.**CONTROL DE CONSUMO DE SOLUCIÓN MADRE****INFORMACIÓN GENERAL DEL REACTIVO**

<i>Nombre Químico</i>	_____	<i>Marca / Fabricante</i>	_____
<i>Fórmula química</i>	_____	<i>Sustancia No. (control Interno)</i>	_____
<i>Peso Molecular</i>	_____	<i>Solución</i>	_____
<i>No. Lote</i>	_____	<i>Identificación de la solución</i>	_____
<i>Fecha de primer registro</i>	_____	<i>Iniciales de registrador</i>	_____

INFORMACIÓN DE CONSUMO DE LA SOLUCIÓN

<i>Fecha de preparación</i>	<i>Compuesto</i>	<i>Concentración (ppm)</i>	<i>Solvente</i>	<i>Volumen de aforo (mL)</i>	<i>Volumen utilizado (mL)</i>	<i>Volumen restante</i>	<i>Fecha control de consumo</i>	<i>Iniciales del analista</i>

OBSERVACIONES Almacenar en refrigeradora a 5°C protegidas de la luz y el aire, envueltas en papel de aluminio y selladas con papel parafilm en la boquilla. Preservar en balones volumétricos aforados a 1000 mL de vidrio de borosilicato, clase A, con tapón de vidrio esmerilado

ANEXO No. 6.

Información y especificaciones de los patrones y reactivos utilizados.

Cuadro 49. Especificaciones del patrón de plomo utilizado en el método de análisis uno.

ESPECIFICACIONES DEL PATRÓN DE PLOMO

INFORMACIÓN DEL REACTIVO

<i>Nombre Químico</i>	Nitrato de plomo II
<i>Especificación de uso</i>	Para análisis ACS, Reag. Ph Eur

DATOS FÍSICOS Y QUÍMICOS DEL REACTIVO

<i>Solubilidad en agua</i>	522 g/L (20°C)
<i>Masa molecular</i>	331.21 g/mol
<i>Valor de pH</i>	3 – 4 (50 g/L, H ₂ O, 20°C)
<i>Punto de fusión</i>	470 °C (descomposición)
<i>Densidad</i>	4.53 g/cm ³ (20°C)

INFORMACIÓN DEL PRODUCTO

<i>Marca / Fabricante</i>	Merck
<i>Embalaje</i>	Frasco plástico
<i>Tamaño</i>	100 g
<i>Código de identificación del fabricante</i>	1.07398.0100
<i>No. Lote</i>	A470498 344
<i>Especificaciones</i>	Potencia $\geq 99.5\%$ Sustancias insolubles $\leq 0.005\%$ Cloro (Cl) $\leq 0.0005\%$ Calcio (Ca) $\leq 0.005\%$ Cobre (Cu) $\leq 0.0005\%$ Hierro (Fe) $\leq 0.0005\%$ Potasio (K) $\leq 0.005\%$ Sodio (Na) $\leq 0.02\%$
<i>Fecha de apertura</i>	21 de enero de 2009

INFORMACIÓN DE SEGURIDAD

<i>Toxicidad</i>	Riesgo durante el embarazo de efectos adversos para el feto. También nocivo por inhalación y por ingestión. Peligro de efectos acumulativos. Muy tóxico para los organismos acuáticos, puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático. Posible riesgo de perjudicar la fertilidad.
<i>Características de peligrosidad</i>	Tóxico para la reproducción, nocivo, peligroso para el medio ambiente
<i>Almacenamiento</i>	Alejado de sustancias que fomenten la inflamación
<i>Eliminación de residuos</i>	Elimínese el producto y su recipiente como residuos peligrosos. Evítense su liberación al medio ambiente. Recábese en un recipiente colector

Cuadro 50. Especificaciones del patrón de plomo utilizado en el método dos y tres de análisis.

ESPECIFICACIONES DEL PATRÓN DE PLOMO

INFORMACIÓN DEL REACTIVO

<i>Nombre Químico</i>	Patrón de plomo
<i>Especificación de uso</i>	Estándar para espectrofotometría atómica

INFORMACIÓN DEL PRODUCTO

<i>Marca / Fabricante</i>	Perkin Elmer
<i>Embalaje</i>	Frasco plástico
<i>Tamaño</i>	250 mL
<i>Código de identificación del fabricante</i>	N9300128
<i>No. Lote</i>	12-171PB
<i>Especificaciones</i>	Concentración de plomo 1000 µg/mL = 1000 ppb de Pb Solvente de la solución Ácido nítrico (HNO ₃) al 2%
<i>Fecha de expira</i>	15 de septiembre de 2008
<i>Fecha de apertura</i>	23 de abril de 2009

Cuadro 51. Especificaciones del ácido nítrico (HNO₃).**ESPECIFICACIONES DE REACTIVOS****INFORMACIÓN DEL REACTIVO**

<i>Nombre Químico</i>	Ácido nítrico 65%
<i>Especificación de uso</i>	Para análisis ACS, Reag. Ph Eur

DATOS FÍSICOS Y QUÍMICOS DEL REACTIVO

<i>Solubilidad en agua</i>	Soluble (20°C)
<i>Masa molecular</i>	63.02 g/mol
<i>Valor de pH</i>	0 (20°C)
<i>Punto de fusión</i>	~ -32 °C
<i>Densidad</i>	1.39 g/cm ³ (20°C)
<i>Punto de ebullición</i>	121 °C

INFORMACIÓN DEL PRODUCTO

<i>Marca / Fabricante</i>	Merck
<i>Embalaje</i>	Frasco de vidrio ámbar
<i>Tamaño</i>	2.5 libros
<i>Código de identificación del fabricante</i>	31.08.11 1.00456.2500
<i>No. Lote</i>	K39129356 834
<i>Especificaciones</i>	Plomo (Pb) ≤ 0.010 ppm
<i>Fecha de apertura</i>	23 de abril de 2009

INFORMACIÓN DE SEGURIDAD

<i>Toxicidad</i>	Riesgo durante el embarazo de efectos adversos para el feto. También nocivo por inhalación y por ingestión. Peligro de efectos acumulativos. Muy tóxico para los organismos acuáticos, puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático. Posible riesgo de perjudicar la fertilidad.
<i>Características de peligrosidad</i>	Tóxico para la reproducción, nocivo, peligroso para el medio ambiente
<i>Almacenamiento</i>	Alejado de sustancias que fomenta la inflamación
<i>Eliminación de residuos</i>	Los ácidos inorgánicos y sus anhídridos se diluyen o hidrolizan, si fuese necesario, vertiéndolos y agitándolos con cuidado en agua con hielo. A continuación se neutralizan con sodio hidróxido (Art. nr. 105587) (guantes, campana extractora). Antes de recogerlos en el recipiente colector de categoría D, controlar el pH con las varillas indicadoras universales de pH (Art. nr. 109535).

Cuadro 52. Especificaciones del ácido clorhídrico (HCl).**ESPECIFICACIONES DE REACTIVOS****INFORMACIÓN DEL REACTIVO**

<i>Nombre Químico</i>	Ácido clorhídrico fumante 37%
<i>Especificación de uso</i>	Para análisis ACS, Reag. Ph Eur

DATOS FÍSICOS Y QUÍMICOS DEL REACTIVO

<i>Solubilidad en agua</i>	Soluble (20°C)
<i>Masa molecular</i>	36,46 g/mol
<i>Valor de pH</i>	< 1(20°C)
<i>Presión de vapor</i>	190 hPa (20 °C)
<i>Densidad</i>	~1.19 g/cm ³ (20°C)

INFORMACIÓN DEL PRODUCTO

<i>Marca / Fabricante</i>	Merck
<i>Embalaje</i>	Frasco de vidrio ámbar
<i>Tamaño</i>	2.5 litros
<i>Código de identificación del fabricante</i>	31.08.13 1.00317.2500
<i>No. Lote</i>	K39050017 833
<i>Especificaciones</i>	Plomo (Pb) ≤0.010 ppm
<i>Fecha de apertura</i>	23 de abril de 2009

INFORMACIÓN DE SEGURIDAD

<i>Toxicidad</i>	Riesgo durante el embarazo de efectos adversos para el feto. También nocivo por inhalación y por ingestión. Peligro de efectos acumulativos. Muy tóxico para los organismos acuáticos, puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático. Posible riesgo de perjudicar la fertilidad.
<i>Características de peligrosidad</i>	Tóxico para la reproducción, nocivo, peligroso para el medio ambiente
<i>Almacenamiento</i>	Alejado de sustancias que fomente la inflamación
<i>Eliminación de residuos</i>	Los ácidos inorgánicos y sus anhídridos se diluyen o hidrolizan, si fuese necesario, vertiéndolos y agitándolos con cuidado en agua con hielo. A continuación se neutralizan con sodio hidróxido (Art. nr. 105587) (guantes, campana extractora). Antes de recogerlos en el recipiente colector de categoría D, controlar el pH con las varillas indicadoras universales de pH (Art. nr. 109535).

Cuadro53. Especificaciones del peróxido de hidrógeno (H₂O₂).**ESPECIFICACIONES DE REACTIVOS****INFORMACIÓN DEL REACTIVO**

<i>Nombre Químico</i>	Peróxido de hidrógeno 30%
<i>Especificación de uso</i>	Para análisis ACS, Reag. Ph Eur

DATOS FÍSICOS Y QUÍMICOS DEL REACTIVO

<i>Solubilidad en agua</i>	Soluble (20°C)
<i>Masa molecular</i>	g/mol
<i>Valor de pH</i>	2-4 (20°C)
<i>Punto de fusión</i>	-26 °C
<i>Densidad</i>	1.11 g/cm ³ (20°C)
<i>Punto de ebullición</i>	107 °C
<i>Presión de vapor</i>	~ 18 hPa (20°C)

INFORMACIÓN DEL PRODUCTO

<i>Marca / Fabricante</i>	Merck
<i>Embalaje</i>	Frasco plástico
<i>Tamaño</i>	1 litro
<i>Código de identificación del fabricante</i>	31. 01.13 1.07210.1000
<i>No. Lote</i>	K38392010 828
<i>Especificaciones</i>	Plomo (Pb) 0.02 ppm
<i>Fecha de apertura</i>	23 de abril de 2009

INFORMACIÓN DE SEGURIDAD

<i>Toxicidad</i>	Riesgo durante el embarazo de efectos adversos para el feto. También nocivo por inhalación y por ingestión. Peligro de efectos acumulativos. Muy tóxico para los organismos acuáticos, puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático. Posible riesgo de perjudicar la fertilidad.
<i>Características de peligrosidad</i>	Nocivo, irritante
<i>Almacenamiento</i>	Alejado de sustancias que fomente la inflamación
<i>Eliminación de residuos</i>	Los peróxidos inorgánicos y sustancias oxidantes, así como bromo y yodo se reducen a productos menos peligrosos con solución de tiosulfato sódico.

Cuadro54. Especificaciones del Argón (Ar – acarreador para absorción atómica).

ESPECIFICACIONES DE REACTIVOS

INFORMACIÓN DEL REACTIVO

<i>Nombre</i>	Argón de ultra alta pureza (UHP)
<i>Especificación de uso</i>	Argón gaseoso para acarreo en absorción atómica con horno de grafito.

CARACTERÍSTICAS DE PUREZA DEL REACTIVO

<i>Grado</i>	5.5
<i>Porcentaje de pureza</i>	≥ 99.9995%
<i>Total de impurezas</i>	≤5.00 ppm
Oxígeno	≤ 0.5 ppm
Humedad	≤ 0.5 ppm
THC	≤ 0.5 ppm
Nitrógeno	≤ 2.0 ppm
Hidrógeno	≤ 0.1 ppm
Dióxido de Carbono	≤ 0.1 ppm

INFORMACIÓN DEL PRODUCTO

<i>Marca / Fabricante / Distribuidor</i>	Fabrigas / Productos del aire
<i>Embalaje</i>	Cilindor de hierro inoxidable
<i>Tamaño</i>	20 libras
<i>Código de identificación del fabricante</i>	5.5 SCF
<i>No. Lote</i>	42-113392945-1

ANEXO No. 7.

Glosario de términos y abreviaturas.

GLOSARIO DE TÉRMINOS Y ABREVIATURAS.

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS.

FUSADE	Fundación Salvadoreña para el Desarrollo Social
°C	Grados Centígrados
G	Gramos
CH ₃ (CH ₂) ₄ CH ₃	Hexano
NaOH	Hidróxido de sodio
H	Hora
Kg	Kilogramos
LD	Límite de detección
L	Litro
±	más, menos
≥	Mayor o igual que
>	Mayor que
m ³	Metros cúbicos
Mg	Microgramos
mA	Miliamperio
Mg	Miligramos
mL	Mililitro
Ms	Milisegundos
mV	Milivoltios
Ng	Nanogramos
nm	Nanometro
NCCAM	National Center for Complementary and Alternative Medicine (Centro Nacional para la Medicina Complementaria y Alternativa)
Pb(NO ₃) ₂	Nitrato de plomo II
KNO ₃	Nitrato de potasio
NaNO ₃	Nitrato de sodio
#, No.	Número
n	Número de muestras
ODS	Office of Dietary Supplements (Oficina de Suplementos Dietéticos)
OAA	Organismo Argentino de Acreditación
OMS	Organización Mundial de la Salud
Pb ₂ O ₃	Óxido de plomo

GLOSARIO DE TÉRMINOS Y ABREVIATURAS.

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS.

ppb	Partes por billón
ppm	Partes por millón
Pb	Plomo
PVC	Policloruro de vinilo
p.e.	Por ejemplo
%	Porcentaje
% R	Porcentaje de recuperación
I	Rayo o luz transmitida
TLV	Threshold Limit Value (Valor límite de umbral)
UV	Ultravioleta
UPO	Universidad Pablo de Olavide
\bar{x}	Valor promedio
V	Voltaje
WPCF	Water Pollution Control Federation (Federación del Control de Contaminación de Agua)

TÉRMINOS.

Absorbancia	Cantidad de intensidad de luz que absorbe una muestra.
Absorción atómica	Capacidad de los átomos de absorber luz a una determinada longitud de onda.
Agente desmielinizante	Agente capaz que afecta a las vainas de mielina de las fibras nerviosas. Se observa frecuentemente en la patología del sistema nervioso. Aparece en todas las lesiones de la sustancia blanca, siendo el sustrato anatomopatológico de las llamadas enfermedades desmielinizantes.
Agente suspensor	Compuesto que aumenta la viscosidad de una suspensión
Agua desonizada	Agua a la cual se le han quitado los cationes, como los de sodio, calcio, hierro, cobre y otros, y aniones como el carbonato, fluoruro, cloruro, etc. mediante un proceso de intercambio iónico.
Analito	Especie químicas cuya presencia o concentración se desea conocer.

GLOSARIO DE TÉRMINOS Y ABREVIATURAS.

TÉRMINOS.

Antioxidante	Elementos que tiene como función eliminar los radicales libre.
Atomizar	Acción de genera un gas de átomos al aplicar energía a una muestra. Dividir en partes pequeñísimas una molécula para aislar los átomos que la constituyen. Desintegrar. Pulverizar.
Blanco	Agua, reactivos o matriz equivalente que no contiene, por adición deliberada, la presencia de ningún analito o sustancia por determinar, pero que contiene los mismos disolventes, reactivos y se somete al mismo procedimiento analítico que la muestra problema.
Calibración	Procedimiento metrológico que permite determinar con suficiente exactitud cuál es el valor de los errores de los instrumentos de medición.
Cátodo	Electrodo negativo de una célula electrolítica hacia el que se dirigen los iones positivos.
Coadyuvante	Sustancias que contribuyen en la inducción de una mayor respuesta.
Conservador	Sustancias que, por separado o mezcladas entre sí, son capaces de inhibir, retardar o detener los procesos de descomposición.
Desnaturalización de proteínas	Modificaciones en la estructura de la proteína que traen como resultado una alteración o desaparición de sus funciones.
Desolvatar	Separación de partículas.
Detector	Instrumento que captura una señal.
Detoxificación	Liberación de toxinas de un sustrato.
Digestión	Proceso de transformación de sustancias complejas a sustancias simples, umentando la pureza, mejorando el tamaño de la partícula de interés y obteniendo una forma más regular que los productos iniciales, facilitando su fanálisis químico.
Disolvente	Sustancia que permite la dispersión de otra en su seno.
Dispersión	Fenómeno por el cual un conjunto de partículas que se mueve en una dirección determinada rebota sucesivamente con las partículas del medio por el que se mueve hasta perder una dirección privilegiada de movimiento.
Divalente	Elemento que tiene una valencia química de dos.
Dosis media diaria	Dosis promedio permisible de consumo diario.
Eficacia	Capacidad de lograr un efecto deseado o esperado.
Electrodo	Conductor en cuya superficie se realiza la transferencia de electrones hacia o desde la solución en que está sumergido

GLOSARIO DE TÉRMINOS Y ABREVIATURAS.

TÉRMINOS.

Electrones	Partícula subatómica de tipo fermiónico. Los electrones tienen una masa pequeña respecto al protón, y su movimiento genera corriente eléctrica en la mayoría de los metales.
Emisión (transmitancia)	Magnitud que expresa la cantidad de energía que atraviesa un cuerpo en la unidad de tiempo (potencia).
Emisión atómica	Fracción de luz incidente, a una longitud de onda especificada, que pasa a través de una muestra.
Estandarizar	Redacción y aprobación de normas que se establecen para garantizar el acoplamiento de elementos construidos independientemente, así como garantizar el repuesto en caso de ser necesario, garantizar la calidad de los elementos fabricados y la seguridad de funcionamiento.
Excitación de los átomos	El desplazamiento de un electrón desde un nivel interior hasta otro más externo, requiere el suministro de cierta cantidad de energía ya que se está alejando una partícula negativa del núcleo que está cargado positivamente. Esto ocurre cuando el átomo sufre el impacto de un fotón o cuanto cuya energía alcanza para elevar el electrón a un orbital más externo y con esto a un nivel energético mayor. El átomo pasa entonces de un estado primitivo a un estado excitado.
Forma posológica	Presentación final de un medicamento para ser administrado.
Fortificación	Modificación del contenido o perfil de un compuesto a través de la adición controlada de un compuesto determinado.
Fosfato	Sales o los ésteres del ácido fosfórico. Tienen en común un átomo de fósforo rodeado por cuatro átomos de oxígeno en forma tetraédrica.
Hepatoprotector	Compuesto que evita el daño de células hepáticas.
Higroscopía	Capacidad de algunas sustancias de absorber humedad del medioambiente.
Hipolipemiente	Medicamentos para el tratamiento de los niveles anormales de colesterol y lípidos.
Incertidumbre	Estimación unida al resultado de un ensayo que caracteriza el intervalo de valores dentro de los cuales se afirma que está el valor verdadero.
Infrarrojo	Radiación electromagnética de mayor longitud de onda que la luz visible, pero menor que la de las microondas.
Ion	Especie química, ya sea un átomo o una molécula, cargada eléctricamente.

GLOSARIO DE TÉRMINOS Y ABREVIATURAS.

TÉRMINOS.

Luz monocromática	Es aquella que está formada por componentes de un solo color. Es decir, que tiene una sola longitud de onda, correspondiente al color.
Matríz	Composición básica de un producto libre del compuesto de interés analítico.
Media	Cantidad total de la variable distribuida a partes iguales entre cada observación. Valor promedio.
Mediana	Valor de la variable que deja el mismo número de datos antes y después que él. De acuerdo con esta definición el conjunto de datos menores o iguales que la mediana representarán el 50% de los datos, y los que sean mayores que la mediana representarán el otro 50% del total de datos de la muestra.
mol	Cantidad de sustancia que contiene tantas entidades elementales (átomos, moléculas u otras partículas) como átomos hay exactamente en 12 gramos (o 0.012 kilogramos) del isótopo carbono-12.
Monocromador	Dispositivo espectrofotométrico que permite seleccionar una longitud de onda.
Monovalente	Elemento que tiene una valencia química igual a uno.
Normalizar	Ver Estandarización.
Parenteral	El término parenteral hace referencia a la vía de administración de los fármacos. Esto es, atravesando una o más capas de la piel o de las membranas mucosas mediante una inyección.
Patrón	Solución que se usa como referencia en un análisis volumétrico.
Permeabilidad	Capacidad de un material para permitir que un fluido lo atraviese sin alterar su estructura interna.
psi	Unidad de presión, que hace referencia a la cantidad de libras por pulgada cuadrada (por sus siglas en inglés de pounds per square inch – psi -)
Rango	Diferencia entre el valor mínimo y el valor máximo en un grupo de números.
Ultravioleta	Tipo de radiación electromagnética. La luz ultravioleta (UV) tiene una longitud de onda más corta que la de la luz visible.
Relación señal-ruido	Margen que hay entre la potencia de la señal que se transmite y la potencia del ruido que la corrompe.
Ruido de fondo	Fluctuaciones aleatorias de una señal analítica que proceden de un gran número de variables no controladas y que distorsionan la señal.
Solubilidad	Medida de la capacidad de una determinada sustancia para disolverse en otra.

GLOSARIO DE TÉRMINOS Y ABREVIATURAS.

TÉRMINOS.

Solución estándar o nieta	Preparación que contiene una concentración conocida de un elemento o sustancia específica
Solución intermedia o hija	Solución de menor concentración respecto a la solución madre o stock, preparada a partir de una dilución a concentración conocida de ésta.
Solución para fortificación	Solución de concentración conocida utilizada para modificar el contenido de un compuesto en un medio determinado.
Solución Stock o madre	Solución de mayor concentración conocida.
Soluto	Sustancia minoritaria (aunque existen excepciones) en una disolución o, en general, a la sustancia de interés.
Termolábil	Que se altera con facilidad por la acción del calor.
Traza	Cantidad mínima de un compuesto (por debajo del $\mu\text{g/g}$)
Ultratraza	Cantidad mínima de un compuesto (por debajo del ng/g)
Ventilación pulmonar	Conjunto de procesos que hacen fluir el aire entre la atmósfera y los alvéolos pulmonares a través de los actos alternantes de la inspiración y la espiración.

ANEXO No. 8.

**Pruebas adicionales de control y comprobación de calidad del agua,
reactivos y procedimiento de limpieza utilizados.**

PRUEBAS ADICIONALES DE CONTROL Y COMPROBACIÓN DE CALIDAD DEL AGUA, REACTIVOS Y PROCEDIMIENTOS DE LIMPIEZA UTILIZADOS.

A continuación se presentan los resultados de las pruebas adicionales realizadas para determinar la calidad del agua, reactivos y procedimientos de limpieza utilizados a lo largo de este trabajo de tesis, permitiendo establecer, como conclusiones críticas, que se debe utilizar agua ultra pura para la preparación de todas las soluciones; se pueden utilizar reactivos grado anítico; y el mejor método de limpieza es utilizando agua regia.

A. ANTECEDENTES.

A.1. @Risk 5.5 Industrial for Excel.

@RISK realiza análisis de riesgo utilizando simulación de Monte Carlo para mostrar una gran cantidad de escenarios posibles en una hoja Excel; también indica qué tan factibles son estos escenarios. Con esta herramienta se puede evaluar que riesgos tomar y cuáles evitar. [Palisade Corporation: 2009]

A.1.1. Analisis de riesgo.El análisis de riesgo es el uso sistemático de la información disponible para determinar la frecuencia con la que determinados eventos se pueden producir y la magnitud de sus consecuencias. [Palisade Corporation: 2009]

Los riesgos normalmente se definen como eventos negativos. Sin embargo, durante el proceso de análisis de riesgo también se pueden descubrir resultados potenciales positivos. Mediante la exploración de todo el espacio de posibles resultados para una situación

determinada, un buen análisis de riesgo puede identificar peligros y descubrir oportunidades. [Palisade Corporation: 2009]

A.1.2. Analisis de riesgo estocástico – La simulación Monte Carlo. Una mejor forma de hacer un análisis de riesgo cuantitativo es mediante el uso de la simulación Monte Carlo. En la simulación Monte Carlo, las variables inciertas de un modelo se representan usando rangos de posibles valores denominados distribuciones de probabilidad. Mediante el uso de distribuciones de probabilidad, las variables pueden tener diferentes probabilidades de producir diferentes resultados. Las distribuciones de probabilidad son una forma mucho más realista de describir la incertidumbre en las variables de un análisis de riesgo. Las distribuciones de probabilidad más comunes son las siguientes.[Palisade Corporation. 2009]

- **Normal.** O “curva de campana”. El usuario simplemente define la media o valor esperado y una desviación estándar para describir la variación con respecto a la media. Los valores intermedios cercanos a la media tienen mayor probabilidad de producirse. Es una distribución simétrica y describe muchos fenómenos naturales, como puede ser la estatura de una población. [Palisade Corporation: 2009]
- **Lognormal.** Los valores muestran una clara desviación; no son simétricos como en la distribución normal. Se utiliza para representar valores que no bajan por debajo del cero, pero tienen un potencial positivo ilimitado. [Palisade Corporation: 2009]
- **Uniform.** Todos los valores tienen las mismas probabilidades de producirse; el usuario sólo tiene que definir el mínimo y el máximo. [Palisade Corporation: 2009]
- **Triangular.** El usuario define los valores mínimo, más probable y máximo. Los valores situados alrededor del valor más probable tienen más probabilidades de producirse. [Palisade Corporation: 2009]
- **PERT.** El usuario define los valores mínimo, más probable y máximo, como en la distribución triangular. Los valores situados alrededor del más probable tienen más

probabilidades de producirse. Sin embargo, los valores situados entre el más probable y los extremos tienen más probabilidades de producirse que en la distribución triangular; es decir, los extremos no tienen tanto peso. [Palisade Corporation. 2009]

- **Discrete.** El usuario define los valores específicos que pueden ocurrir y la probabilidad de cada uno. [Palisade Corporation. 2009]

Durante una simulación Monte Carlo, los valores se muestrean aleatoriamente a partir de las distribuciones de probabilidad introducidas. Cada grupo de muestras se denomina iteración, y el resultado correspondiente de esa muestra queda registrado. La simulación Monte Carlo realiza esta operación cientos o miles de veces, y el resultado es una distribución de probabilidad de posibles resultados. De esta forma, la simulación Monte Carlo proporciona una visión mucho más completa de lo que puede suceder. Indica no sólo lo que puede suceder, sino la probabilidad de que suceda.[Palisade Corporation: 2009]

La simulación Monte Carlo proporciona una serie de ventajas.[Palisade Corporation: 2009]

- Resultados probabilísticos. Los resultados muestran no sólo lo que puede suceder, sino lo probable que es un resultado.[Palisade Corporation: 2009]
- Resultados gráficos. Gracias a los datos que genera una simulación Monte Carlo, es fácil crear gráficos de diferentes resultados y las posibilidades de que sucedan. Esto es importante para comunicar los resultados a otras personas interesadas.[Palisade Corporation: 2009]
- Análisis de sensibilidad. Con sólo unos pocos resultados en la simulación Monte Carlo resulta más fácil ver qué variables introducidas tienen mayor influencia sobre los resultados finales. [Palisade Corporation: 2009]
- Análisis de escenario. Usando la simulación Monte Carlo, los analistas pueden ver exactamente los valores que tienen cada variable cuando se producen ciertos resultados. Esto resulta muy valioso para profundizar en los análisis.[Palisade Corporation: 2009]

- **Correlación de variables de entrada.** En la simulación Monte Carlo es posible modelar relaciones interdependientes entre diferentes variables de entrada. Esto es importante para averiguar con precisión la razón real por la que, cuando algunos factores suben, otros suben o bajan paralelamente.[Palisade Corporation: 2009]

A.1.3. Facilidad de uso de @Risk a través de Excel. @RISK es un complemento (add-in) de Excel de Microsoft que se integra completamente a una hoja de cálculo. Todas las funciones de @RISK son verdaderas funciones de Excel y se comportan exactamente como las funciones nativas de Excel. Las ventanas de @RISK se enlazan directamente a las celdas de su hoja electrónica, y los cambios en un lado se actualizan en el otro de modo automático. Los gráficos de @RISK apuntan a sus celdas por medio de ventanas desplegables. Los menús desplegables así como los del botón derecho del mouse y la barra de herramientas de @RISK facilitan de modo considerable el aprendizaje y la navegación de @RISK.[Palisade Corporation: 2009]

A.1.4. Pasos del análisis con @ Risk.La corrida de un análisis con @RISK involucra tres simples pasos.[Palisade Corporation: 2009]

- **Armar un modelo.** Se inicia reemplazando los valores fijos en la hoja electrónica con distribuciones de probabilidad de @RISK, tales como la Normal, la Uniforme u otras (más de 35 disponibles). Estas funciones de @RISK representan los rangos de posibles valores que puede tomar una celda en vez del valor fijo inicial. Se elige la distribución ya sea de una galería gráfica, o se define las distribuciones utilizando datos históricos para cada celda de entrada (input). Luego se seleccionan las variables de salida (outputs), que son las celdas que le interesa analizar.[Palisade Corporation: 2009]
- **Iniciar la simulación.** Se presiona el botón “Simular” y @RISK recalcula el modelo miles de veces. Cada vez @RISK muestrea valores aleatorios de las funciones de probabilidad que se definieron anteriormente, y las utiliza para recalcular su variable de salida. [Palisade Corporation: 2009]

- Evaluación de riesgos.** El resultado de un a simulación es una muestra de un rango completo de escenarios posibles, incluyendo las probabilidades de que éstos ocurran. Se pueden graficar los resultados con histogramas, gráficos de dispersión, curvas de probabilidad acumulada, gráficos de caja, y otros. Ise pueden identificar las variables clave por medio de los Gráficos de Tornado y el análisis de sensibilidad. Luego se pueden copiar y pegar los resultados en Excel, Word, o PowerPoint, o colocarlos en la Librería de @RISK para otros usuarios. Incluso de pueden grabar los resultados y gráficos en la misma hoja Excel donde se encuentra el modelo.[Palisade Corporation: 2009]

Cuadro 55. Características de programa @Risk.[Palisade Corporation: 2009]

<i>Componentes</i>	<i>Versiones del programa</i>		
	<i>@Risk Industrial</i>	<i>@Risk Profesional</i>	<i>@Risk Estándar</i>
<i>Generador de Simulación avanzada</i>	*	*	*
<i>38 Distribuciones de Probabilidad</i>	*	*	*
<i>Galería de Distribuciones Integrada</i>	*	*	*
<i>Funciones Compuestas y de Six Sigma</i>	*	*	*
<i>Variación de Gráficos de Resultados</i>	*	*	*
<i>Muestra de corridas en vivo durante la simulación</i>	*	*	*
<i>Sensibilidad y Análisis de Escenarios</i>	*	*	*
<i>Correlación de Variables de Entrada</i>	*	*	*
<i>Ajuste Integrado a los Datos</i>	*	*	
<i>Librería de @RISK</i>	*	*	
<i>Excel Developer Kit (XDK)</i>	*	*	
<i>Análisis de Estrés</i>	*	*	
<i>Análisis Avanzado de Sensibilidad</i>	*	*	
<i>Búsqueda de Objetivos de @RISK</i>	*	*	

Cuadro 55. Características de programa @Risk. (Continuación) [Palisade Corporation: 2009]

<i>Componentes</i>	<i>Versiones del programa</i>		
	<i>@Risk Industrial</i>	<i>@Risk Profesional</i>	<i>@Risk Estándar</i>
<i>Acelerador de @RISK Integrado</i>	*		
<i>RISKOptimizar 5.5. en Español</i>	*		

A.1.5. @RISK Industrial. Diseñado para sus modelos más grandes y complejos, el @RISK Industrial incluye todo lo disponible para el @RISK Profesional y además lo siguiente. [Palisade Corporation: 2009]

A.1.5.1. RiskOptimizer 5.5: combina la simulación de Monte Carlo con optimización basada en algoritmos genéticos para encontrar la mejor combinación de factores que cumplen con un resultado deseado bajo condiciones inciertas.[Palisade Corporation: 2009]

A.1.5.2. Acelerado Integrado de @Risk: acelera la velocidad de simulaciones múltiples por medio de procesamiento en paralelo, utilizando procesadores multi-core y hasta cuatro CPU's.[Palisade Corporation: 2009]

A.2. Distribución Pearson tipo V o Gamma Inversa.

La familia de distribución Pearson, fue diseñada por Pearson entre 1890 y 1895.Su función de densidad $f(x)$ satisface la siguiente ecuación diferencial. [Vose Software: 2007]

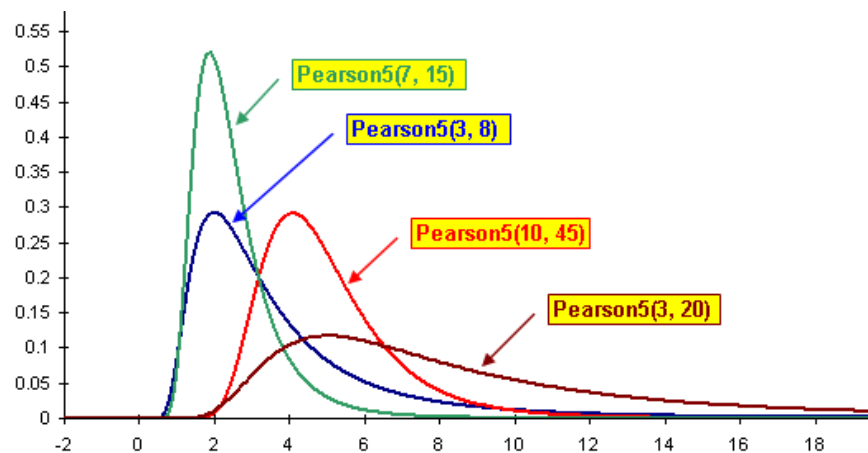
$$\frac{1}{p} \frac{dp}{dx} = - \frac{a+x}{c_0 + c_1x + c_2x^2} \quad (9)$$

Donde la distribución depende de los valores de los parámetros a, c_0, c_1, c_2 . La distribución de Pearson tipo V corresponde al caso donde $c_0 + c_1x + c_2x^2$ es el cuadrado perfecto ($c_2 = 4c_0c_2$). Así, la ecuación 9 puede escribirse como sigue. [Vose Software: 2007]

$$\frac{d \log f(x)}{dx} = -\frac{a+x}{c_2(x+c_1)^2} \quad (10)$$

A continuación se presenta un ejemplo de la distribución de Pearson tipo V. [Vose Software: 2007]

Figura 3. Ejemplo de distribución Pearson tipo V. [Vose Software: 2007]



La distribución de Pearson tipo V también es conocida como distribución Gamma Inversa (y algunas veces distribución Gamma invertida, sobre todo para modelos de fiabilidad, ó distribución Gamma recíproca) ya que esta tiene una relación recíproca a la distribución Gamma tal como se presenta a continuación. [Vose Software: 2007]

$$Pearson5 \left(\alpha, 1/\beta \right) = \frac{1}{Gamma(\alpha, \beta)} \quad (11)$$

La distribución Gamma invertida es muy popular en estadísticas Bayesianas como un reporte anterior para modelar la varianza de una variable aleatoria. [Vose Software: 2007]

A.2.1. Distribución Gamma Inversa. En la teoría de probabilidades y estadísticas, la distribución gamma inversa es una familia de dos parámetros de las distribuciones de probabilidad continua en la recta real positiva, que es la distribución de la reciprocidad de una variable distribuidos de acuerdo a la distribución gamma. [Wikipedia: 2009]

A.2.1.1. Función de densidad de probabilidad. La densidad de la distribución gamma inversa en función de probabilidad se define sobre el apoyo $x > 0$. [Wikipedia: 2009]

$$f(x; \alpha, \beta) = \frac{\beta^\alpha}{\Gamma(\alpha)} (1/x)^{\alpha+1} e^{(-\beta/x)} \quad (12)$$

Con α parámetro de forma y β parámetro de escala. [Wikipedia: 2009]

A.2.1.2. Distribución de probabilidad. La función de distribución acumulada es la función gamma regularizada. [Wikipedia: 2009]

$$f(x; \alpha, \beta) = \frac{\Gamma(x, \beta/x)}{\Gamma(x)} \quad (13)$$

Donde el numerador es la parte superior la función gamma incompleta y el denominador es la función gamma. [Wikipedia: 2009]

A.2.1.2. Derivación de la distribución Gamma. La función de densidad de probabilidad de la distribución gamma es la siguiente. [Wikipedia: 2009]

$$f(x) = x^{k-1} \frac{e^{-x/\theta}}{\theta^k \Gamma(k)} \quad (14)$$

Al definir la transformación $Y = g(x) = \frac{1}{x}$ entonces resulta la siguiente transformación. [Wikipedia: 2009]

$$f_Y(y) = f_x(g^{-1}(y)) \left| \frac{d}{dy} g^{-1}(y) \right| \quad (15)$$

$$f_Y(y) = \frac{1}{\theta^k \Gamma(k)} \left(\frac{1}{y}\right)^{k-1} e^{\left(\frac{-1}{\theta y}\right) \frac{1}{y^2}} \quad (16)$$

$$f_Y(y) = \frac{1}{\theta^k \Gamma(k)} \left(\frac{1}{y}\right)^{k+1} e^{\left(\frac{-1}{\theta y}\right)} \quad (17)$$

$$f_Y(y) = \frac{1}{\theta^k \Gamma(k)} y^{-k-1} e^{\left(\frac{-1}{\theta y}\right)} \quad (18)$$

Al sustituir de k con α , $\theta - 1$ con β , y y con x en la función gamma inversa de densidad de probabilidad, se obtiene la siguiente ecuación. [Wikipedia: 2009]

$$f(x) = \frac{\beta^\alpha}{\Gamma(\alpha)} x^{-\alpha-1} e^{\left(\frac{-\beta}{x}\right)} \quad (19)$$

Cuadro 56. Resumen de los parámetros estadísticos de la distribución gamma inversa.

[Wikipedia: 2009]

Parámetros	<i>De forma (real)</i>	$\alpha > 0$
	<i>De escala (real)</i>	$\beta > 0$
	<i>De apoyo</i>	$x \in (0; \infty)$
Función de densidad de probabilidad		$\frac{\beta^\alpha}{\Gamma(\alpha)} x^{-\alpha-1} e^{\left(\frac{-\beta}{x}\right)}$
Función de distribución acumulada		$\frac{\Gamma(\alpha, \beta/x)}{\Gamma(\alpha)}$
Valor esperado		$\frac{\beta}{\alpha-1}$ para $\alpha > 1$
Moda		$\frac{\beta}{\alpha+1}$
Varianza		$\frac{\beta^2}{(\alpha-1)^2(\alpha-2)}$ para $\alpha > 2$
Asimetría		$\frac{4\sqrt{\alpha-2}}{\alpha-3}$ para $\alpha > 3$
Curtosis		$\frac{30\alpha-66}{(\alpha-3)(\alpha-4)}$ para $\alpha > 4$

Cuadro 56. Resumen de los parámetros estadísticos de la distribución gamma inversa.

(Continuación) [Wikipedia: 2009]

<i>Función característica</i> <i>(la teoría de la probabilidad)</i>	$\frac{2(-i\beta t)^{\frac{\alpha}{2}}}{\Gamma(\alpha)} k_{\alpha}(\sqrt{-4i\beta t})$
--	--

Figura 4. Función de densidad de probabilidad de la distribución gamma. [Wikipedia: 2009]

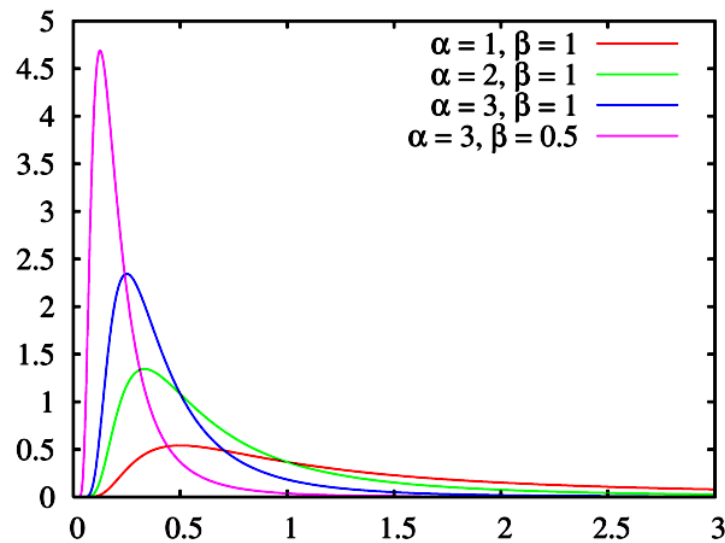
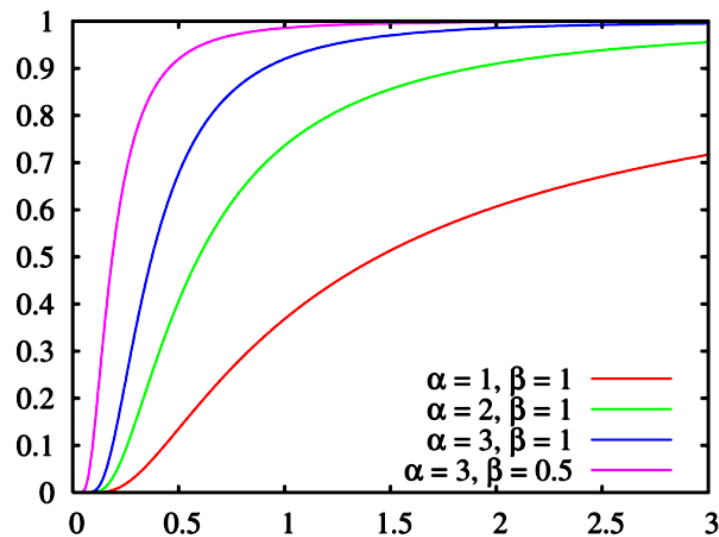


Figura 5. Función de densidad de probabilidad de la distribución gamma inversa. [Wikipedia: 2009]



A.3. Distribución Extreme Value o Valor Extremo.

La teoría de valores extremos está relacionada con aspectos probabilísticos y estadísticos relacionados con valores muy altos o muy bajos en una sucesión de variables aleatorias.[Maggio: 2006]

La Teoría de los Valores Extremos se basa en un teorema que no parte de ningún supuesto sobre el comportamiento de la variable en estudio, el mismo establece que la distribución de cualquier variable aleatoria, en exceso de un umbral determinado, tiende a una Distribución General de Pareto (GDP).[Maggio: 2006]

A.3.1. Distribuciones extremas.El enunciado del teorema central del límite dice que la función de distribución conjunta de n variables aleatorias responde a una función normal cuando n tiende a infinito. Esta propiedad es independiente de la función de distribución original de dichas variables.[Maggio: 2006]

Si a partir de una población cualquiera, se toman n muestras de m elementos cada una, los valores medios individuales formarán parte de una nueva muestra aleatoria distribuida alrededor de una gran media, de tal forma que esta gran media tiene la función siguiente.[Maggio: 2006]

$$\bar{\bar{x}} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \bar{x}_i \quad (20)$$

La gran media entonces es una nueva variable aleatoria generada a partir de la suma de otras n variables aleatorias, aplicándose al teorema central del límite a esa distribución conjunta. Osea que los valores medios de n muestras de m elementos cada una se distribuye normalmente alrededor de la gran media.[Maggio: 2006]

Si en lugar de considerar los valores medios se tienen en cuenta los valores máximos o mínimos de cada muestra, la distribución conjunta no será normal sino que responderá a

otra función distinta. La teoría de las distribuciones extremas se ocupa de este tipo de problemas.[Maggio: 2006]

La probabilidad de que la variable aleatoria tome un valor inferior o igual a X es, por definición la función de distribución. [Maggio: 2006]

$$P(x \leq X) = F(x) \quad (21)$$

Si se consideran n observaciones independientes, la probabilidad $\Phi(x)$ de que el máximo valor obtenido o, que todos los n valores resulten inferiores o iguales a X puede hallarse recurriendo a la regla de multiplicación para sucesos independientes. [Maggio: 2006]

$$\Phi(x) = P(x_1 \leq X)P(x_2 \leq X) \dots P(x_n \leq X) \quad (22)$$

Osea:

$$\Phi(x) = F^n(x) \quad (23)$$

La función de frecuencia de los máximos de n observaciones independientes está definida por la derivada de esta expresión.[Maggio: 2006]

$$\varphi(x) = n F^{n-1}(x)f(x) \quad (24)$$

Un razonamiento análogo permite determinar la probabilidad de que el menor valor de x sea menor que X , cuando se hacen n observaciones.[Maggio: 2006]

$$\Phi_1(x) = 1 - [1 - F(x)]^n \quad (25)$$

Su función de frecuencia es:

$$\varphi_1(x) = n [1 - F(x)]^n f(x) \quad (26)$$

Si la función de frecuencia inicial es simétrica, se tendrá la siguiente relación entre las funciones de frecuencia extremas para máximos y mínimos. [Maggio: 2006]

$$\varphi_1(-x) = \varphi(x) \quad (27)$$

De las expresiones planteadas anteriormente, surgen dos conclusiones inmediatas. [Maggio: 2006]

- Conociendo la distribución inicial de $F(x)$ es posible obtener la distribución correspondiente a los valores extremos $\Phi(x)$. [Maggio: 2006]
- La función $\Phi(x)$ depende del número de observaciones, n . [Maggio: 2006]

A.4. Calidad y tipos de agua.

A.4.1. Tipos de agua.

A.4.1.1. Agua destilada. El agua destilada es agua que ha sido hervida en un aparato llamado “alambique”, y luego recondensada en una unidad enfriadora (“condensadora”) para devolver el agua al estado líquido. La destilación se usa para purificar el agua. Los contaminantes disueltos tales como sales se quedan en el tanque donde el agua hierve mientras que el vapor de agua se eleva hacia fuera. Puede no funcionar si los contaminantes son volátiles de forma que también hierven y recondensen, como si se tiene algo de alcohol disuelto. [Lenntech: 2009]

Algunos alambiques pueden condensar selectivamente (por licuefacción) el agua y no otras sustancias volátiles, pero la mayoría de los procesos de destilación permiten el arrastre de al menos algunas de las sustancias volátiles, una parte muy pequeña del material no volátil que fue arrastrado dentro del flujo de vapor de agua cuando las burbujas estallan en la superficie del agua hirviendo. La mayor pureza que se consigue con estos alambiques es normalmente de 1,0 MWcm; y ya que no hay nada que impida que el dióxido de carbono

(CO₂) se disuelva en el destilado el pH es generalmente 4,5-5,0. Adicionalmente, hay que tener cuidado de no re-contaminar el agua después de haberla destilado. [Lenntech: 2009]

A.4.1.2. Agua desionizada. La desionización es un proceso que utiliza resinas de intercambio iónico de fabricación especial que eliminan las sales ionizadas del agua. Teóricamente puede eliminar el 100% de las sales. La desionización normalmente no elimina los compuestos orgánicos, virus o bacterias excepto a través del atrapado “accidental” en la resina y las resinas aniónicas de base fuerte de fabricación especial que eliminan las bacterias gram negativo. Otro método usado para eliminar los iones del agua es la electrodesionización. [Lenntech: 2009]

La desionización supone la eliminación de sustancias disueltas cargadas eléctricamente (ionizadas) sujetándolas a lugares cargados positiva o negativamente en una resina al pasar el agua a través de una columna rellena con esta resina. Este proceso se llama intercambio iónico y se puede usar de diferentes maneras para producir agua desionizada de diferentes calidades. [Lenntech: 2009]

A.4.1.3. Agua desmineralizada. La desmineralización es cualquier proceso usado para eliminar los minerales del agua, sin embargo, normalmente el término se restringe a procesos de intercambio iónico. [Lenntech: 2009]

A.4.1.4. Agua ultra pura. Agua muy tratada de alta resistividad y sin compuestos orgánicos; normalmente usada en las industrias de semiconductores y farmacéuticas. [Lenntech: 2009]

A.4.2. Pureza y calidad del agua. La pureza del agua se puede medir de diversas formas. Se puede intentar determinar el peso de todo el material disuelto (“soluto”); esto se hace más fácilmente con los sólidos disueltos, no como en los líquidos o gases disueltos. Además de pesando las impurezas, también se puede estimar su nivel considerando el grado en el cual incrementan el punto de ebullición del agua o bajan el de congelación. El índice

de refracción (una medida de cómo los materiales transparentes desvían las ondas de la luz) se ve también afectado por los solutos del agua. Alternativamente, la pureza del agua puede ser rápidamente estimada basándose en la conductividad eléctrica o en la resistencia – el agua muy pura es muy mala conductora de la electricidad, de modo que su resistencia es elevada. [Lenntech: 2009]

A.5. Reactivos ultra puros y grado analítico.

Las sustancias y reactivos químicos producidos por la industria química y farmacéutica pueden contener una cierta cantidad de impurezas, tales como metales pesados, inertes y otros. [C.G.Química: 2007]

La cantidad de impurezas halladas en estas sustancias y reactivos químicos determinan una clasificación particular de las mismas.[C.G.Química: 2007]

Se puede concluir entonces que la calidad está íntimamente relacionada con el grado de pureza, el que deberá ser informado en sus etiquetas.Según éste las sustancias y reactivos químicos se pueden clasificar del siguiente modo.[C.G.Química: 2007]

Ordenados de menor a mayor pureza.[C.G.Química: 2007]

- Grado Mercantil
- Grado Industrial
- Grado Técnico
- Grado Químicamente Puro (QP)
- Grado Farmacéutico y Alimenticio (USP o BP)
- Grado Reactivo Analítico (RA / PA)
- Grado Reactivo Analítico (ACS)
- Grado HPLC (High Purity Liquid Chromatography)
- Grado Ultra Puro

De acuerdo al uso que se vaya a dar al reactivo, es aconsejable elegir el más adecuado, en función a la pureza del mismo, desde que esto redunde en una reducción de costos y un mejor resultado en su aplicación. Sería poco aconsejable usar un grado Químicamente puro cuando un grado técnico ya es satisfactorio.[C.G.Química: 2007]

A.5.1. Reactivos grado analítico. Son reactivos químicos con un grado de pureza suficiente para su uso en laboratorios de análisis que cumplen con la norma de la Asociación Americana de Química. [C.G.Química: 2007]

A.5.2. Reactivos ultra puros. Los reactivos ultra puros tienen niveles de los metales más importantes en valores inferiores a 1 ppb. Es la opción económica para la mayoría de las aplicaciones en análisis de trazas metálicas.[C.G.Química: 2007]

B. PROCEDIMIENTO.

Diagrama 3: Descripción de las pruebas adicionales de control y comprobación de la calidad del agua utilizada para la preparación de soluciones de análisis.

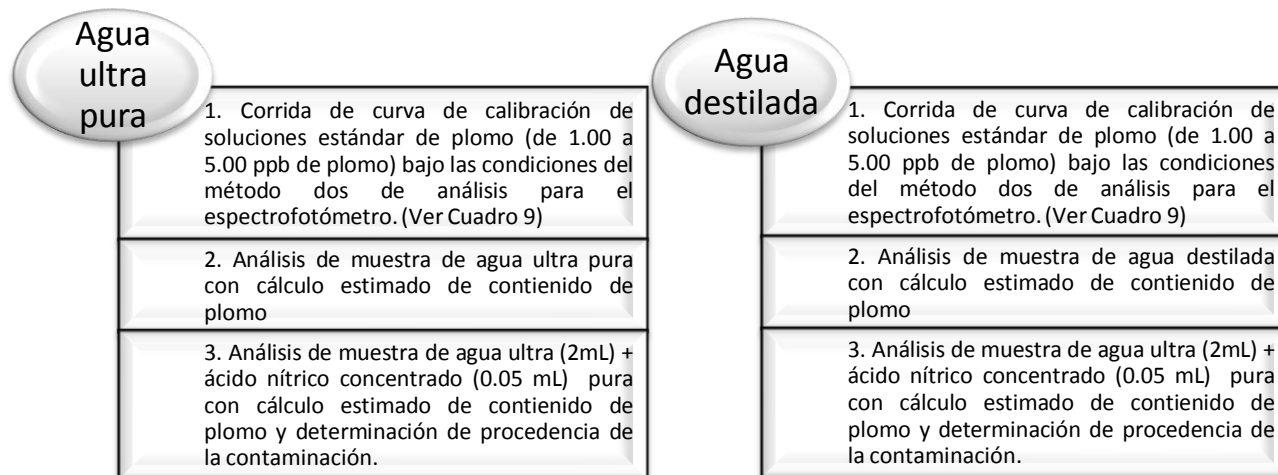


Diagrama 4: Descripción de las pruebas adicionales de control y comprobación de la calidad de los reactivos utilizados para la preparación de soluciones de análisis.

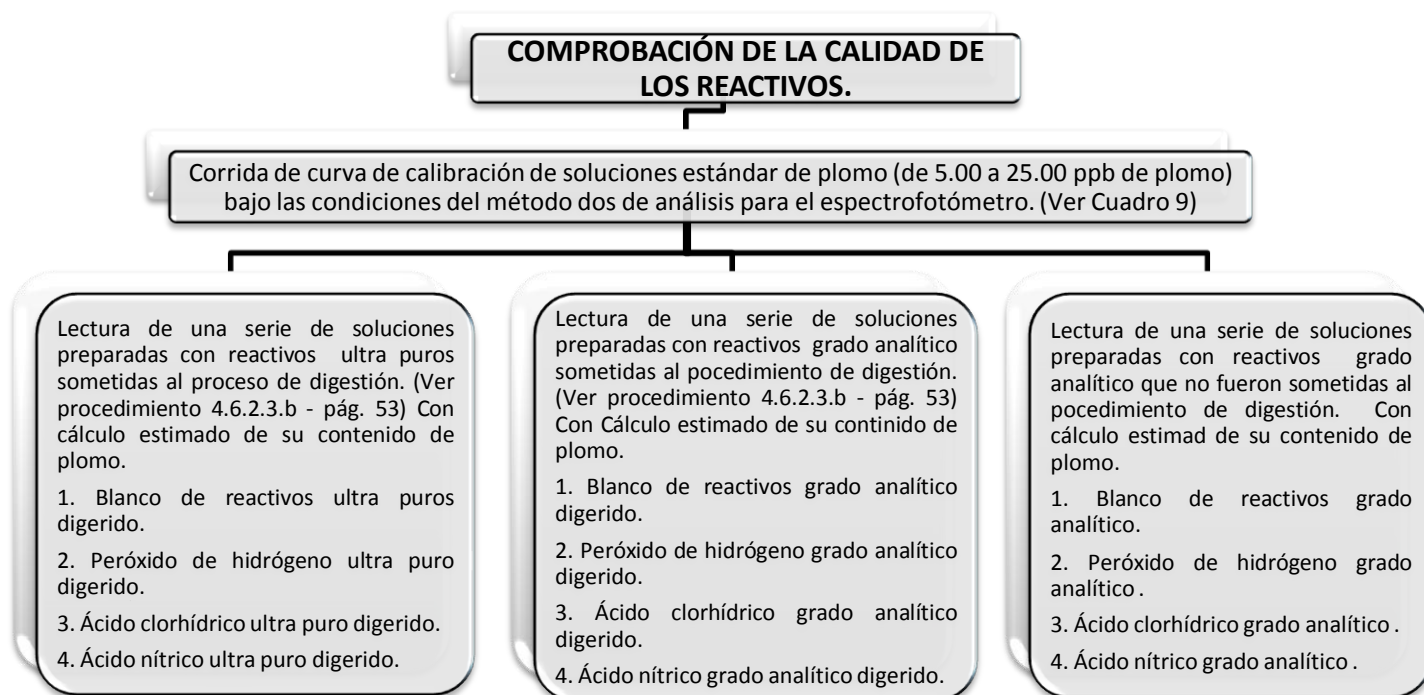
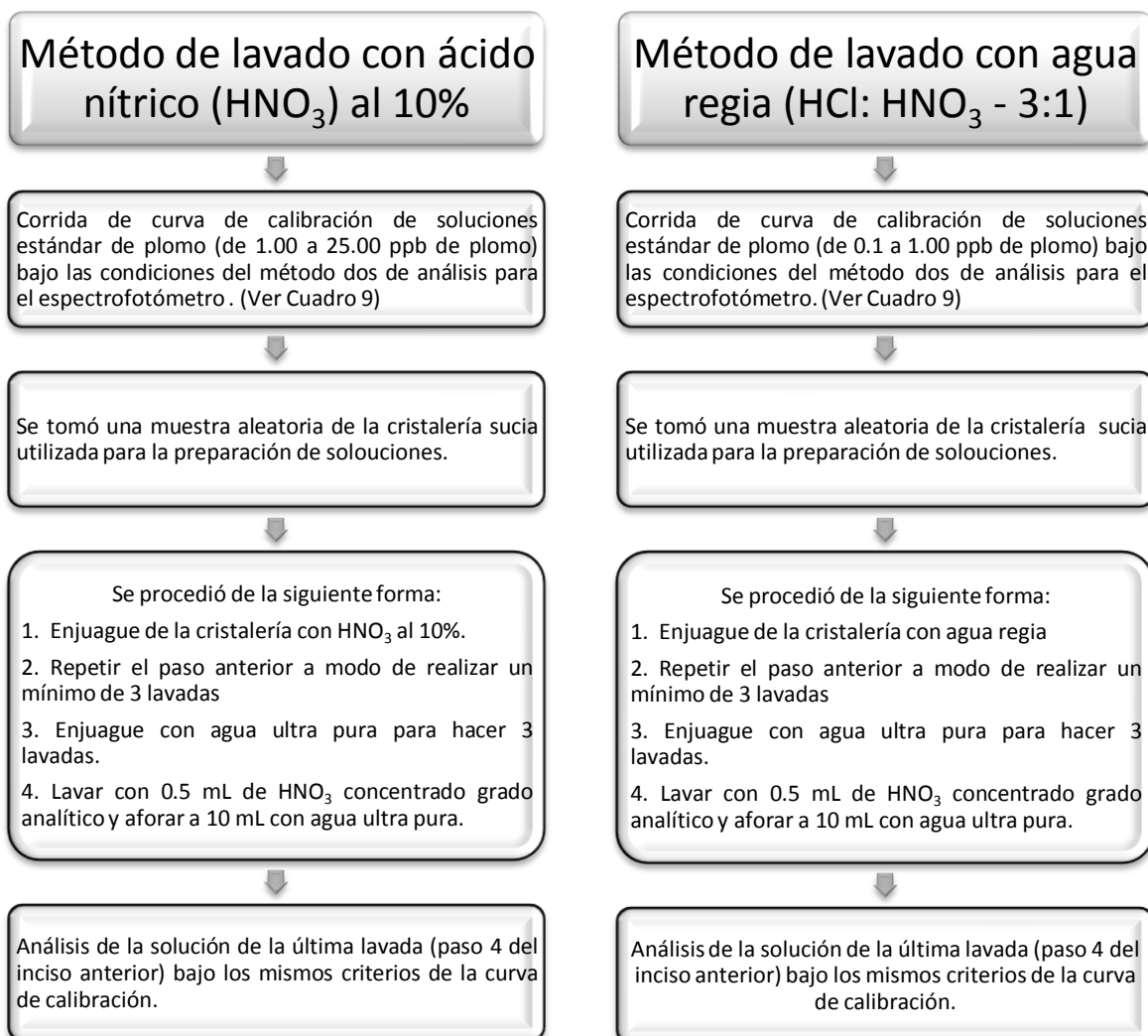


Diagrama 5: Descripción de las pruebas adicionales de control y comprobación de la eficacia de los procedimientos de limpieza.



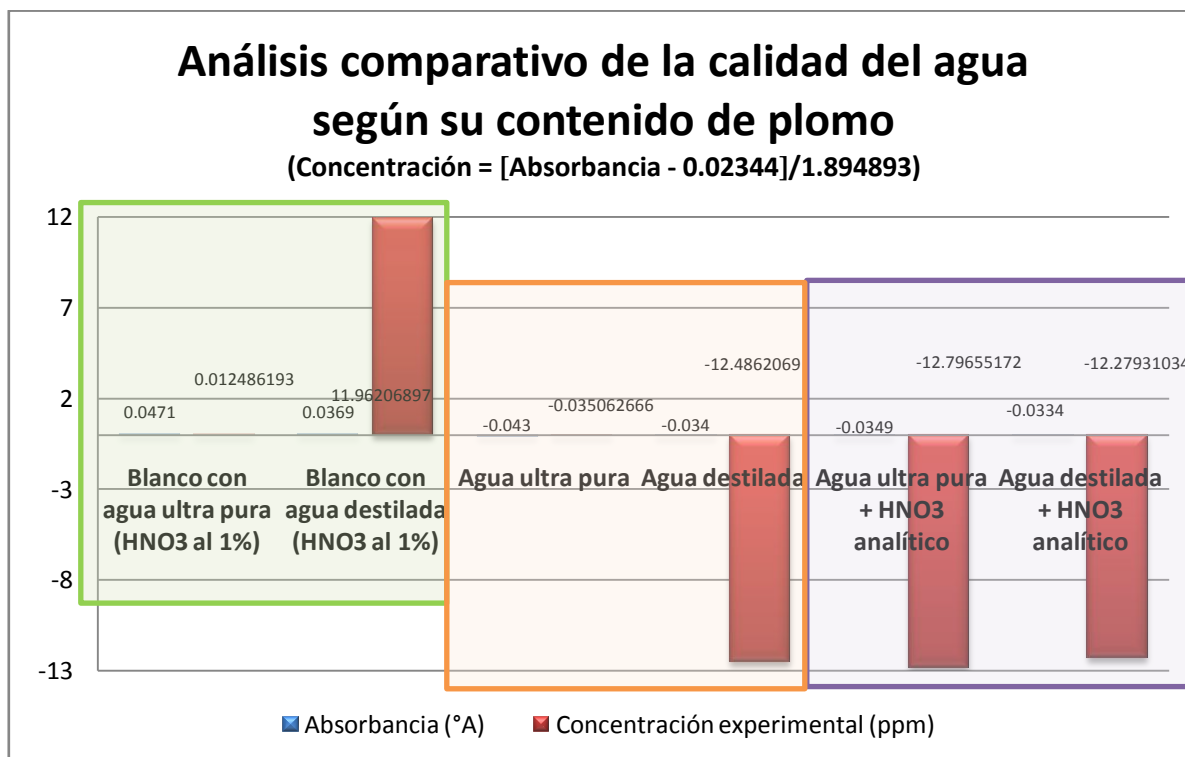
C. RESULTADOS.

C.1. Calidad del agua.

Cuadro 57. Valores del análisis de control y comprobación de la calidad del agua utilizada para la preparación de soluciones de análisis.

Solución	Concentración teórica (ppb)	Absorbancia corregida (Å)					Concentración experimental (ppm)	
		Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Valor promedio	Desviación estándar promedio	Valor promedio	Porcentaje de error
Blanco preparado con agua ultra pura (HNO ₃ 1%)	0	0.0481	0.0493	0.0440	0.0471	0.0028	0.0125	1.25
Blanco preparado con agua destilada (HNO ₃ 1%)	0	0.0371	0.0369	0.0368	0.0369	0.0002	11.9621	3.69
Agua ultra pura	0	-0.0403	-0.0447	-0.0439	-0.0430	0.0023	-0.0351	4.30
Agua destilada	0	-0.0342	-0.0339	-0.0339	-0.0340	0.0002	-12.4862	3.40
Agua ultra pura + HNO ₃ grado analítico concentrado	0	-0.0348	-0.0349	-0.0351	-0.0349	0.0002	-12.7966	3.49
Agua destilada + HNO ₃ grado analítico concentrado	0	-0.0333	-0.0338	-0.0330	-0.0334	0.0004	-12.2793	3.34

Gráfica 8. Calidad del agua utilizada para la preparación de soluciones de análisis.

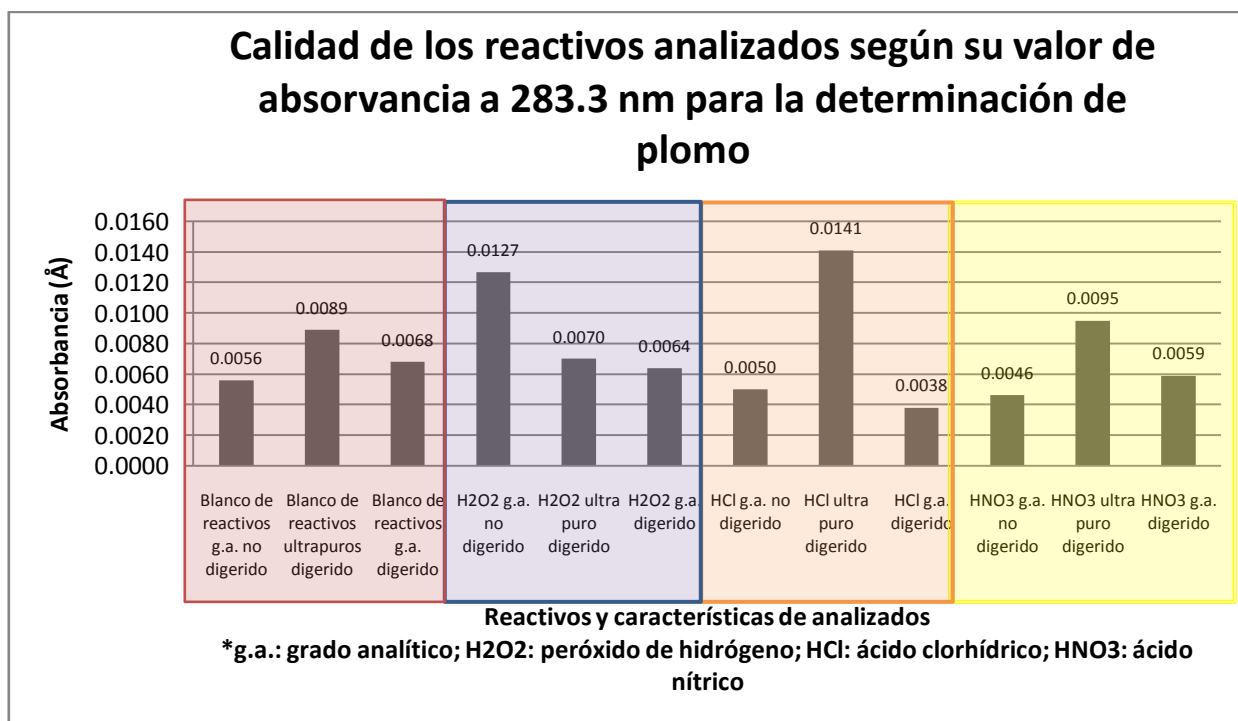


C.2. Calidad de los reactivos.

Cuadro 58. Valores del análisis de control y comprobación de la calidad de los reactivos utilizados para la preparación de soluciones de análisis.

Solución	Concentración teórica (ppb)	Absorbancia corregida (Å)					Concentración experimental (ppm)	
		Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Valor promedio	Desviación estándar promedio	Valor promedio	Porcentaje de error
Blanco de reactivos ultra puros digerido	0	0.0087	0.0090	0.0091	0.0089	0.0002	2.7730	277.30
Blanco de reactivos grado analítico digerido	0	0.0066	0.0065	0.0071	0.0068	0.0003	2.0822	208.22
Blanco de reactivos grado analítico no digerido	0	0.0054	0.0057	0.0057	0.0056	0.0001	1.6875	168.75
Peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂) ultra puro digerido	0	0.0068	0.0071	0.0071	0.0070	0.0002	2.1480	214.80
Peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂) grado analítico digerido	0	0.0064	0.0062	0.0066	0.0064	0.0002	1.9507	195.07
Peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂) grado analítico no digerido	0	0.0127	0.0127	0.0129	0.0127	0.0001	4.0230	402.30
Ácido clorhídrico (HCl) ultra puro digerido	0	0.0142	0.0138	0.0144	0.0141	0.0003	4.4836	448.36
Ácido clorhídrico (HCl) grado analítico digerido	0	0.0036	0.0037	0.0040	0.0038	0.0002	1.0954	109.54
Ácido clorhídrico (HCl) grado analítico no digerido	0	0.0050	0.0051	0.0050	0.0050	0.0001	1.4901	149.01
Ácido nítrico (HNO ₃) ultra puro digerido	0	0.0096	0.0093	0.0095	0.0095	0.0002	2.9704	297.04
Ácido nítrico (HNO ₃) grado analítico digerido	0	0.0055	0.0061	0.0059	0.0059	0.0003	1.7862	178.62
Ácido nítrico (HNO ₃) grado analítico no digerido	0	0.0048	0.0050	0.0041	0.0046	0.0005	1.3586	135.86

Gráfica 9. Calidad de los reactivos utilizados para la preparación de soluciones de análisis.



Cuadro 59. Análisis de probabilidad, derivado de la aplicación de @Risk, para la comprobación de la calidad de los reactivos utilizados para la preparación de soluciones de análisis, bajo los siguientes supuestos:

- @Risk indica que el modelo de distribución de abosorbancia de reactivos analíticos se comporta bajo un modelo Extreme Value.
- @Risk indica que el modelo de distribución de abosorbancia de reactivos ultra puros se comporta bajo un modelo Pearson 5.
- La función de Absorbancia vs. Concentración es una relación lineal como sigue:

$$\text{Concentración} = (\text{Absorbancia} - 0.00047)/0.00304.$$

Cuadro 59.1. Valores experimentales obtenidos del análisis de control y comprobación de la calidad de los reactivos utilizados para la preparación de soluciones de análisis.

Solución	Réplica	Absorbancia Reactivos Analíticos (°A)	Absorbancia Reactivos Ultra Puros (°A)	Concentración Reactivos Analíticos (ppm)	Concentración Absorbancia Reactivos Ultra Puros (ppm)
Blanco	1	0.0066	0.0087	2.0164	2.7072
	2	0.0065	0.009	1.9836	2.8059
	3	0.0071	0.0091	2.1809	2.8388
Peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂)	1	0.0064	0.0068	1.9507	2.0822
	2	0.0062	0.0071	1.8849	2.180
	3	0.0066	0.0071	2.0164	2.1809
Ácido clorhídrico (HCl)	1	0.0036	0.0142	1.0296	4.5164
	2	0.0037	0.0138	1.0625	4.3849
	3	0.004	0.0144	1.1612	4.5822
Ácido nítrico (HNO ₃)	1	0.0055	0.0096	1.6546	3.0033
	2	0.0061	0.0093	1.8520	2.9046
	3	0.0059	0.0095	1.7862	2.9704

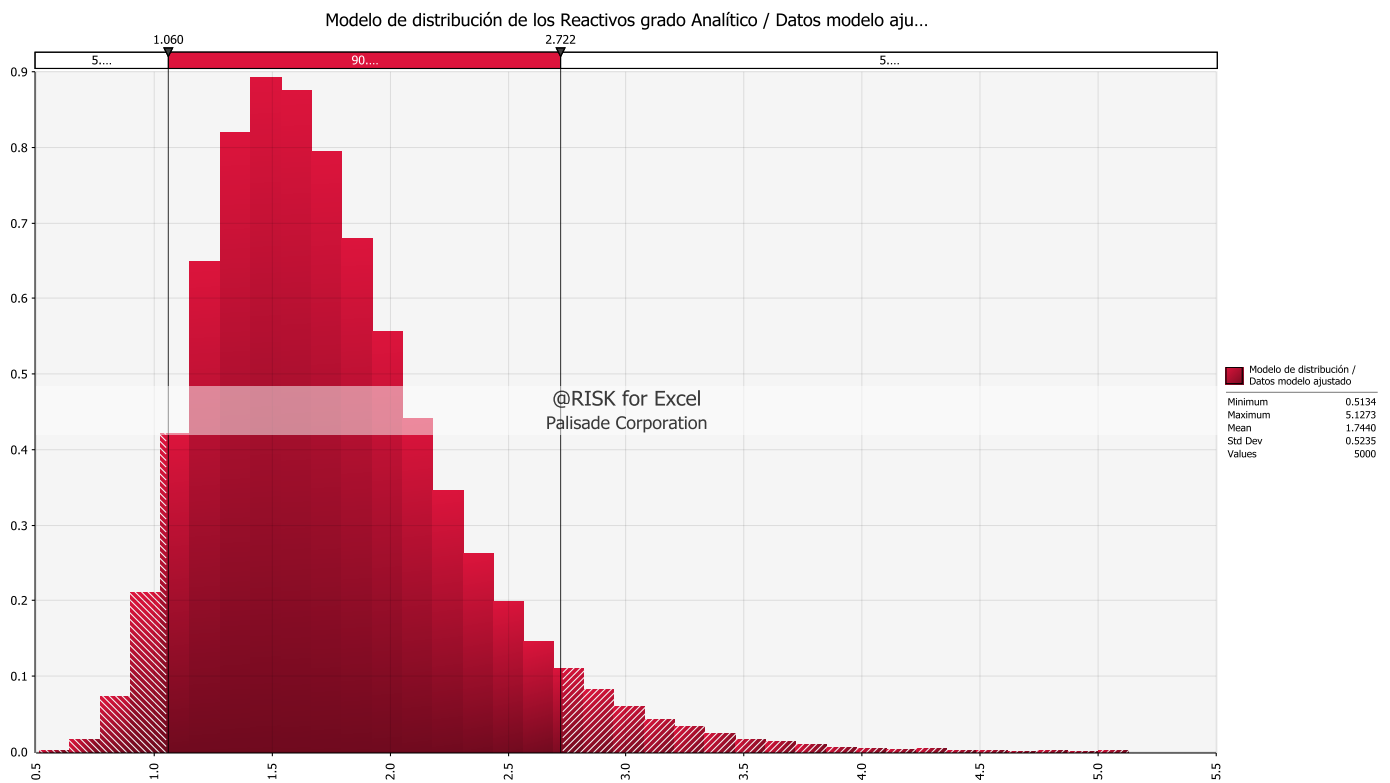
Cuadro 59.2. Análisis de probabilidad de los resultados experimentales obtenidos, derivado de la aplicación de @Risk, para la comprobación de la calidad de los reactivos utilizados para la preparación de soluciones de análisis.

Resultado	Absorbancia Reactivos Analíticos (°A)	Absorbancia Reactivos Ultra Puros (°A)	Concentración Reactivos Analíticos (ppm)	Concentración Absorbancia Reactivos Ultra Puros (ppm)
Mínimo	0.0036	0.0068	1.0296	2.0822
Máximo	0.0071	0.0144	2.1809	4.5822
Media	0.0055	0.0099	1.7149	3.0965
Desviación Estándar	0.0012	0.0027	0.4028	0.9022
Mediana	0.0062	0.0092	1.8684	2.8717

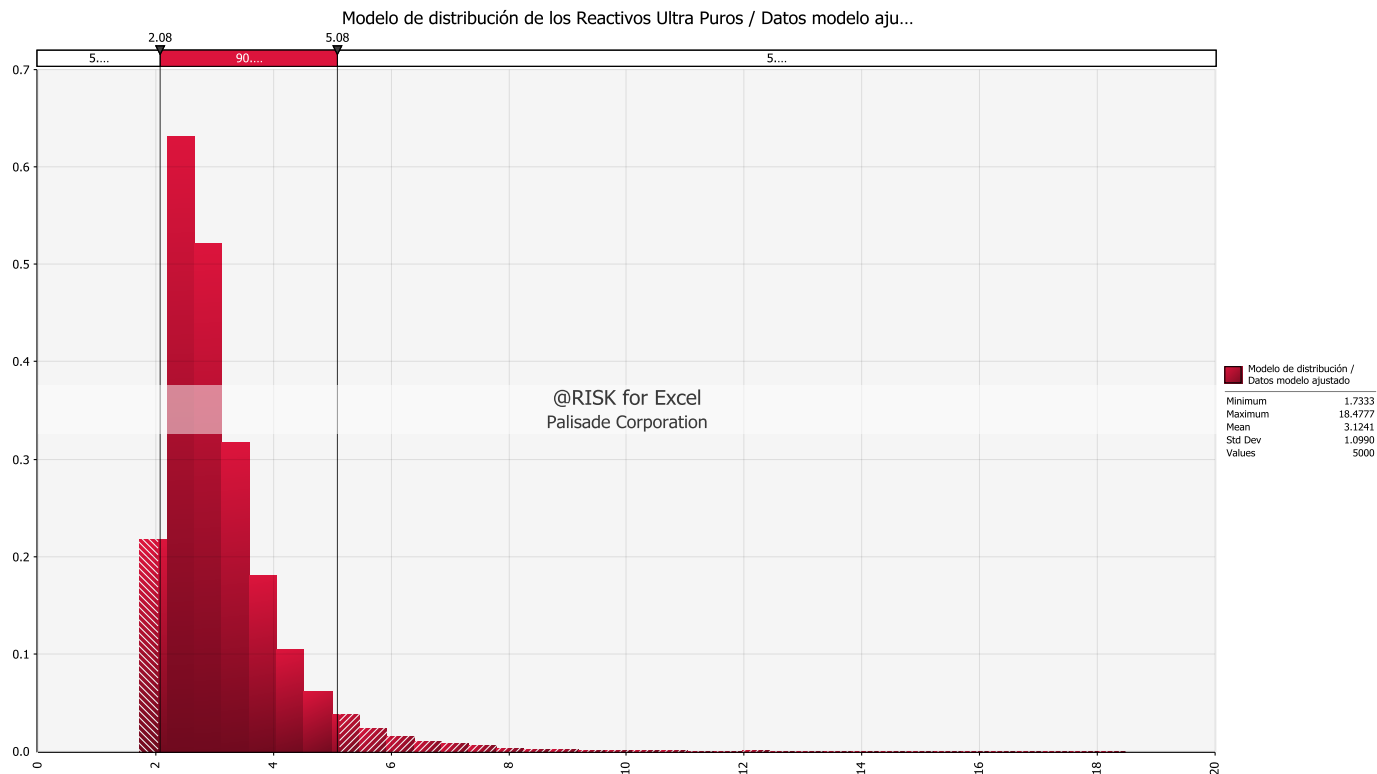
Cuadro 59.3. Modelo ajustado de los resultados experimentales obtenidos, derivado de la aplicación de @Risk, para la comprobación de la calidad de los reactivos utilizados para la preparación de soluciones de análisis.

Resultado	Absorbancia Reactivos Analíticos (°A)	Absorbancia Reactivos Ultra Puros (°A)	Concentración Reactivos Analíticos (ppm)	Concentración Absorbancia Reactivos Ultra Puros (ppm)
Modelo de distribución	0.0058	0.0100	1.744	3.1250
Min	-	-	0.5263	1.7209
Max	-	-	5.1107	17.4469
Media	0.0058	0.0100	1.7441	3.1245
Desviación Estándar	0.0016	0.0034	0.5237	1.1021

Gráfica 10. Gráfica de probabilidad según modelo ajustado para los Reactivos grado Analítico.



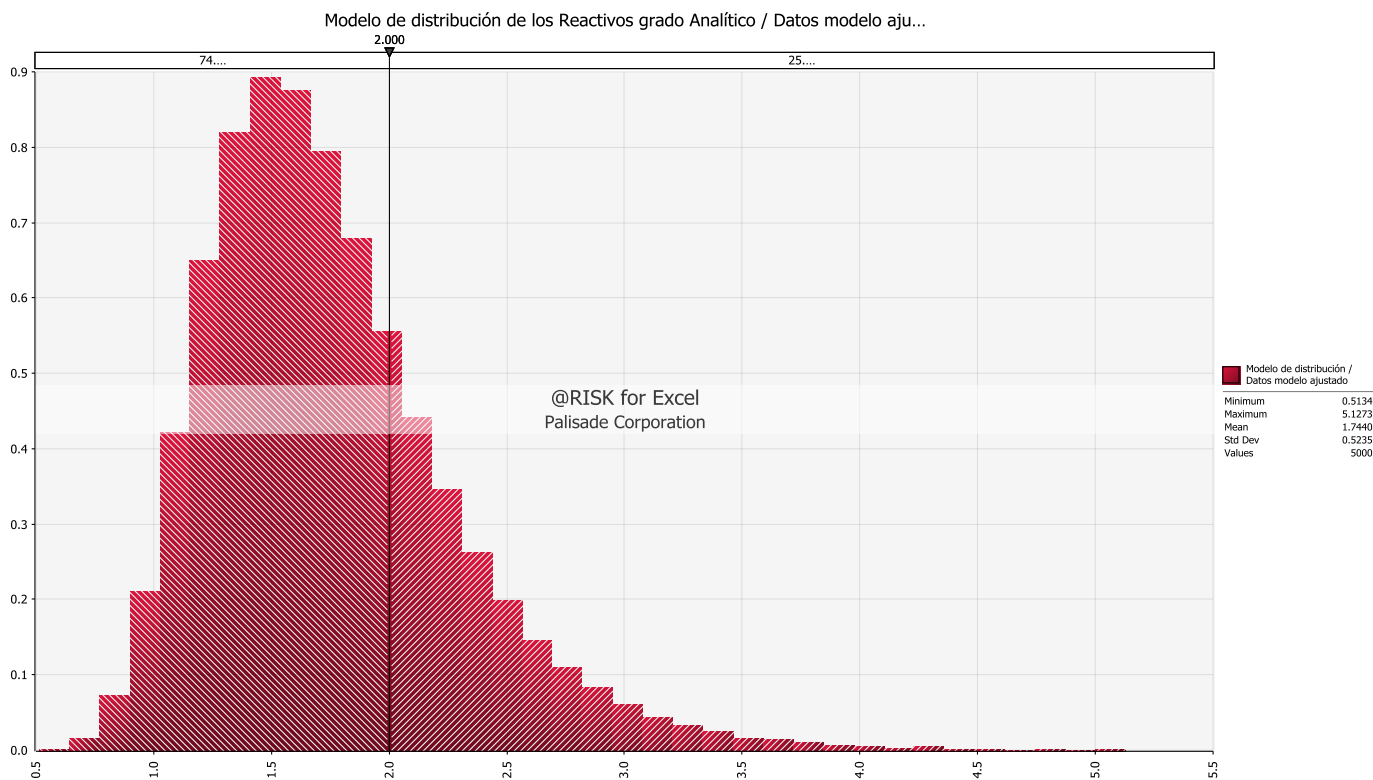
Gráfica 11. Gráfica de probabilidad según modelo ajustado para los Reactivos Ultra Puros.



Cuadro 59.4. Porcentaje de probabilidad de los resultados obtenidos de la Concentración experimental de los Reactivos Grado Analítico, derivado de la aplicación de @Risk, para la comprobación de la calidad de los reactivos utilizados para la preparación de soluciones de análisis.

	Número de datos obtenidos (con concentraciones mayores o menores a la media de 1.7441 ~ 2.0000)	Porcentaje de probabilidad (%)
Concentración > 2	3	25.0000
Concentración < 2	9	75.0000
Número total de datos	12	-

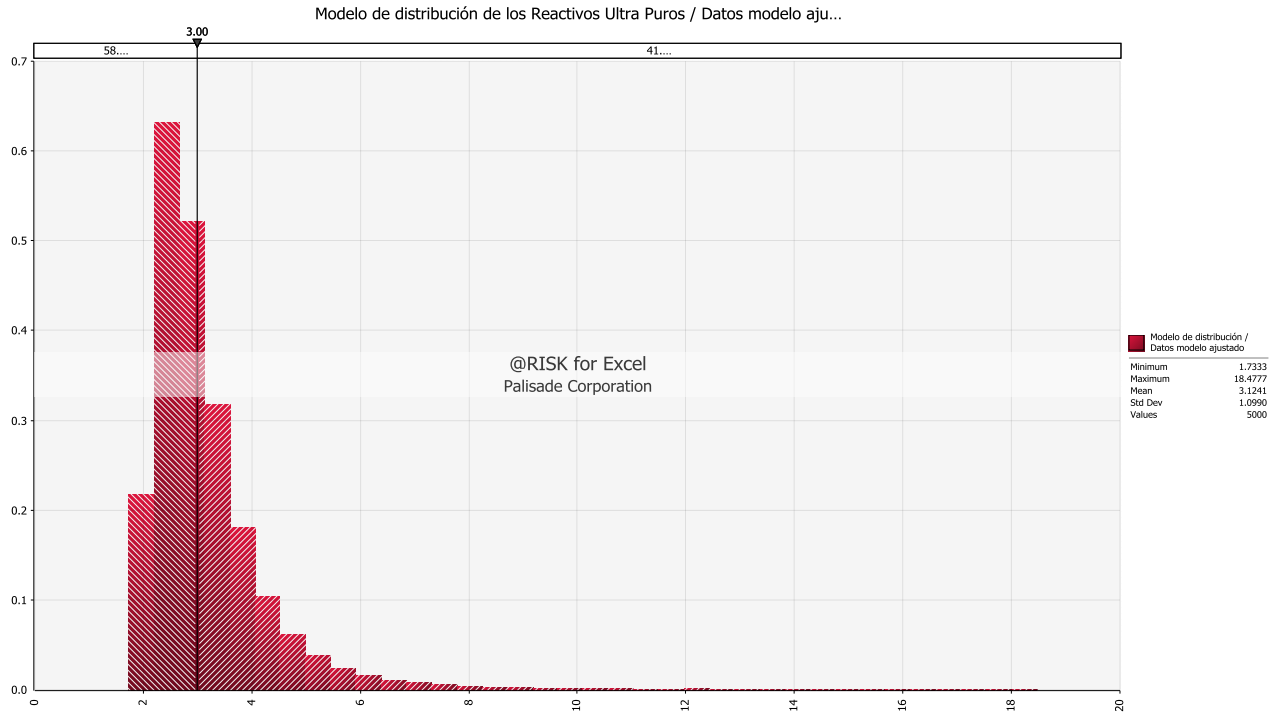
Gráfica 12. Gráfica de probabilidad según modelo ajustado para los Reactivos grado Analítico, de los valores que se encuentran por encima y por debajo de la media.



Cuadro 59.5. Porcentaje de probabilidad de los resultados obtenidos de la Concentración experimental de los Reactivos Ultra puros, derivado de la aplicación de @Risk, para la comprobación de la calidad de los reactivos utilizados para la preparación de soluciones de análisis.

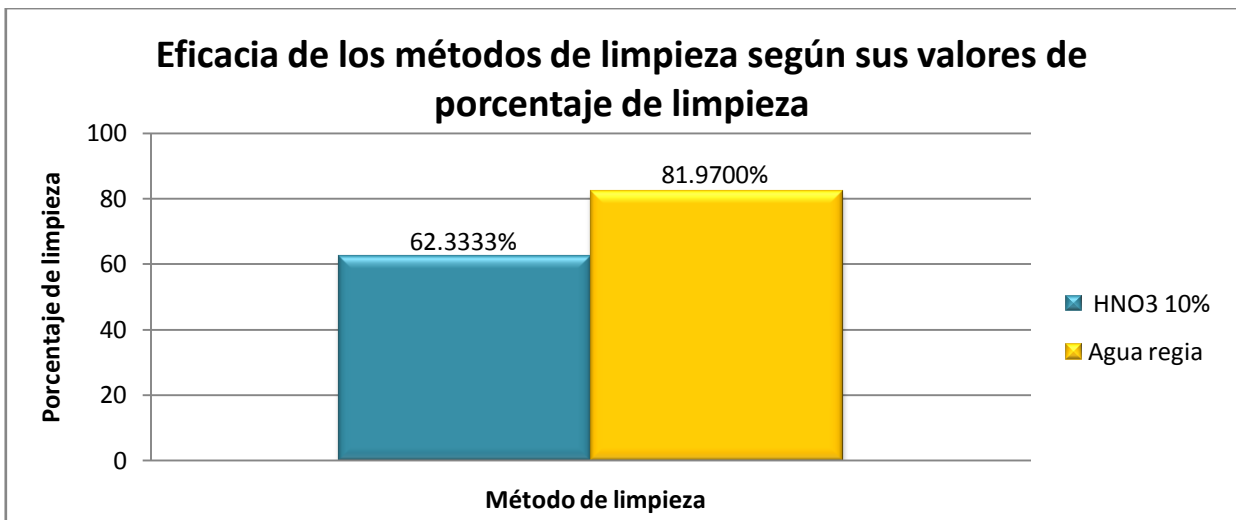
	Número de datos obtenidos (con concentraciones mayores o menores a la media de 3.1245 ~ 3.0000)	Porcentaje de probabilidad (%)
Concentración >3	4	33.3333
Concentración <3	8	66.6667
Número total de datos	12	-

Gráfica 13. Gráfica de probabilidad según modelo ajustado para los Reactivos Ultra Puros, de los valores que se encuentran por encima y por debajo de la media.



C.3. Eficacia del procedimiento de limpieza.

Gráfica 14. Eficacia de los procedimientos de limpieza.



Cuadro 60. Valores del análisis de control y comprobación de la eficacia de los procedimientos de limpieza.

Método de limpieza	Muestra analizada	Concentración teórica (ppb)	Absorbancia corregida (Å)					Concentración experimental promedio (ppb)	Eficacia del proceso de limpieza		
			Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Valor promedio	Desviación estándar promedio		Porcentaje del limpieza (%)	Valor promedio	Desviación estándar
HNO ₃ al 10%	Sucia 1	0	0.0047	0.0047	0.0049	0.0048	0.0001	0.7701	50.00	62.33	17.44
	Limpia 1	0	0.0026	0.0023	0.0023	0.0024	0.0002	0.1053			
	Sucia 2	0	0.0074	0.0075	0.0077	0.0075	0.0001	1.5180	74.67		
	Limpia 2	0	0.0020	0.0017	0.0021	0.0019	0.0002	-0.0332			
Agua regia	Sucia 1	0	0.0010	0.0010	0.0019	0.0013	0.0005	0.1667	76.9	81.97	236.84
	Limpia 1	0	0.0014	-0.0005	0.0000	0.0003	0.0010	0.0016			
	Sucia 2	0	0.0008	0.0012	0.0009	0.0010	0.0002	0.1172	80.00		
	Limpia 2	0	0.0004	0.0001	0.0001	0.0002	0.0002	-0.0148			
	Sucia 3	0	0.0002	0.0001	-0.0007	-1.0000	0.0005	-165.0643	100.38		
	Limpia 3	0	0.0037	0.0038	0.0041	0.0038	0.0003	0.5792			
	Sucia 4	0	-0.0007	0.0000	-0.0010	-0.0008	0.0002	-0.1799	162.5		
	Limpia 4	0	0.0006	0.0006	0.0004	0.0005	0.0001	0.0346			
	Sucia 5	0	0.0012	0.0013	0.0010	0.0012	0.0001	0.1502	83.33		
	Limpia 5	0	0.0001	0.0003	0.0001	0.0002	0.0001	-0.0148			
	Sucia 6	0	0.0010	0.0016	0.0015	0.0016	0.0001	0.2162	50.00		
	Limpia 6	0	0.0005	0.0007	0.0011	0.0008	0.0003	0.0841			
	Sucia 7	0	0.0006	-0.0006	-0.0004	-0.0001	0.0007	-0.0643	600.00		
	Limpia 7	0	0.0009	0.0005	0.0000	0.0005	0.0005	0.0346			
	Sucia 8	0	0.0001	0.0009	-0.0005	0.0002	0.0007	-0.0148	-450.00		
	Limpia 8	0	0.0012	0.0011	0.0011	0.0011	0.0001	0.1337			
	Sucia 9	0	0.0023	0.0190	0.0016	0.0019	0.0004	0.2657	42.10		
	Limpia 9	0	0.0005	0.0011	0.0017	0.0011	0.0006	0.1337			
Sucia 10	0	0.0008	-0.0002	0.0013	0.0060	0.0008	0.9422	85.00			
Limpia 10	0	0.0011	0.0007	0.0009	0.0009	0.0002	0.1007				
Sucia 11	0	0.0009	0.0010	0.0002	0.0007	0.0004	0.0676	71.43			
Limpia 11	0	-0.0002	0.0006	0.0002	0.0002	0.0004	-0.0148				

D. DISCUSIÓN DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES.

D.1. Calidad del agua.

Determinar la calidad del agua utilizada es crucial en todo el proceso de validación de la metodología analítica, ya que el agua forma parte de cada uno de los procesos que intervienen, y por consiguiente puede ser un punto clave en la contaminación de la muestra y alteración de los resultados obtenidos.

En este caso se realizaron tres pruebas distintas bajo condiciones iguales entre el agua ultra pura y el agua destilada. Como se observa en la gráfica 8 de resultados, a través del valor de absorbancia obtenida se puede determinar cuál de las muestras analizadas en este caso son las que poseen más o menos cantidad de plomo por la relación directamente proporcional entre absorbancia y concentración.

De las tres pruebas realizadas la primera prueba es la que muestra los resultados más importantes ya que bajo condiciones iguales, la muestra analizada para el agua destilada es la que presenta mayor absorbancia, lo que significa mayor contaminación con plomo, y por su parte la muestra de agua ultra pura no solo muestra un valor de absorbancia mínima sino que su valor de desviación estándar es menor a dos. La segunda prueba es la que se analiza el agua sola, no genera resultados confiables ya que los valores de absorbancia obtenidos son negativos y los valores de desviación estándar, ambos son mayores a dos. Por último en la tercera prueba, los valores de absorbancia presentados por cada una de las muestras no solo es negativa sino que no hay diferencia significativa entre ellas y presentan desviaciones estándar mayores que dos.

Así, según los resultados obtenidos, sí existe diferencia significativa entre los resultados de análisis de contaminantes en agua destilada y agua ultra pura, por lo que las soluciones deben ser preparadas estrictamente con agua ultra pura.

D.2. Calidad de los reactivos

En cuestión de costos, existe una diferencia suma mente importante al momento de utilizar reactivos ultrapuros en lugar de reactivos grado analítico. En función de disminuir costos y mantener la calidad de los resultados obtenidos utilizando reactivos con estándares de limpieza máxima que se adecuaen a las exigencias del trabajo de búsqueda de contaminantes a niveles de trazas, se realizaron pruebas de comparación de la calidad (pureza) de los reactivos ultra puros vrs. los reactivos grado analítico.

Los resultados obtenidos de las pruebas de control de los reactivos se describen en los cuadros 59.1 a 59.5 y en las gráficas 10 a 13; simeténdose los resultados a un análisis de probabilidad utilizando la herramienta @Risk 4.5. De este análisis de probabilidad se obtuvieron las siguientes observaciones que permiten concluir que no hay diferencia significativa entre los reactivos ultra puros y los grado analítico en cuestión de contenido de plomo (contaminante que en este caso es nuestro analito de interés), por lo que es posible utilizar reactivos grado analítico sin temor de obtener resultados alterados con valores superiores de plomo.

Observaciones:

- a) La distribución de probabilidad de analítico y ultra puro se comportan bajo distintos modelos, los valores de reactivos ultra puros se comportan bajo un modelo Pearson 5 y los valores de reactivos grado analítico se comportan bajo un modelo Extreme Value.
- b) La probabilidad en base a los datos experimentales de que la absorbancia de los reactivos grado analítico sea mayor al valor mínimo obtenido de absorbancia de los reactivos ultra puros (valores de absorbancia equivalentes a una concentración de 1.7209 ppm de plomo según cuadro 59.3 de resultados) es de 8.3%.
- c) La probabilidad en base a los datos experimentales de que la absorbancia de los reactivos grado ultra puro sea mayor que el valor máximo obtenido de absorbancia de los reactivos analíticos (valores de absorbancia equivalentes a una concentración de

5.1107 ppm de plomo según cuadro 59.3 de resultados) es de 75%, reafirmando la conclusión anterior.

- d) La desviación estándar de los valores de absorbancia de los reactivos de grado analítico de 0.00122 (según se observa en el cuadro 59.2) es menor que la desviación estándar de los valores de absorbancia de los reactivos ultra puro de 0.00274 (según se observa en el cuadro 59.2), lo cual permite establecer que los resultados obtenidos utilizando reactivos grado analítico tienen menor dispersión de datos que los resultados obtenidos mediante reactivos ultra puros; lo que hace que los resultados obtenidos del uso de reactivos grado analítico sean más precisos.
- e) La desviación estándar de la distribución de probabilidad que mejor se ajusta a los datos experimentales de absorbancia de reactivos analíticos (Extreme Value) fue de 0.00159. Y la desviación estándar de la distribución de probabilidad que mejor se ajusta a los reactivos ultra puros (Pearson5) fue de 0.00339, reafirmando la conclusión anterior en donde se indica que la distribución de los valores de absorbancia de grado analítico son más precisos.
- f) Simulando la concentración de plomo en reactivos de grado analítico y ultra puro, en base a los modelos de distribución de probabilidad de absorbancia de cada uno de los reactivos, señalados en los supuestos, y la función experimental de concentración/absorbancia se obtuvieron los siguientes datos:
- La probabilidad de obtener una concentración de plomo mayor a 1 ppm (concentración máxima admisible de plomo para grasas y aceites según el reglamento 466/2001 y 221/2002 de la Comisión de la Unión Europea) en los reactivos grado analítico es de 96.9%.
 - La probabilidad de obtener una concentración de plomo mayor a 1 ppm (concentración máxima admisible de plomo para grasas y aceites según el reglamento 466/2001 y 221/2002 de la Comisión de la Unión Europea) en los reactivos ultra puros es de 100%.
 - La concentración de plomo máximo para los reactivos de grado analítico puede alcanzar un valor 5.1107 ppm y la concentración de plomo máximo para los reactivos de grado ultra puro puede alcanzar un valor de 17.4469 ppm (según se observa en el cuadro 59.3).

D.3. Eficacia del procedimiento de limpieza.

Como se muestra en el Cuadro 60 y Gráfica 14 de resultados el método de limpieza utilizando agua presenta un porcentaje de limpieza promedio de 81.97%, siendo éste el método de limpieza, de todos los métodos de limpieza propuestos, que presenta el mayor porcentaje de limpieza promedio y por lo que se concluye que es el método de limpieza más eficiente; aunque tenga una desviación estándar promedio mayor de 200, indicando que los resultados son muy disperso, esta dispersión puede deberse a factores externos no controlables ni determinados aún, como el ambiente de trabajo y las condiciones técnicas del equipo que no se encuentra validado; por lo que se recomienda realizar pruebas para determinar factores de contaminación externa que permita estandarizar las condiciones de trabajo.