

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**



Validación del Método para determinación de yodo como yodato en sal de consumo humano utilizado en el Laboratorio Nacional de Salud según la Norma COGUANOR NGR ISO/IEC 17025 “Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y de Calibración”

MAYRA FABIOLA ESQUITE LAINFIESTA

Química Farmacéutica

Guatemala, Julio de 2013

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

Validación del Método para determinación de yodo como yodato en sal de consumo humano utilizado en el Laboratorio Nacional de Salud según la Norma COGUANOR NGR ISO/IEC 17025 “Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y de Calibración”

Informe de Tesis

Presentado por

MAYRA FABIOLA ESQUITE LAINFIESTA

**Para optar al título de
Química Farmacéutica**

Guatemala, Julio de 2013

JUNTA DIRECTIVA

Oscar C3bar Pinto, Ph. D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Lic. Luis Antonio G3lvez Sanchinelli	Vocal III
Br. Fayver Manuel de Le3n Mayorga	Vocal IV
Br. Maily Graciela C3rdova Aud3n	Vocal V

ACTO QUE DEDICO

A Dios: *Por ser mi Mejor Amigo y significar TODO en mi vida, por guiarme, consentirme y brindarme la sabiduría y fortaleza para nunca rendirme y alcanzar mis metas.*

A la Virgen María: *porque con tu amor de madre, llenas de consuelo y luz mi vida.*

A mis padres: *Mayra Violeta Lainfiesta y Jacob Esquite, por ser mi mayor motivación y brindarme siempre su apoyo y confianza, gracias por darme todo su amor, este triunfo es para ustedes.*

A mis hermanos: *Walfred Alexander y Bryan Ronaldo, por ser un ejemplo a seguir en mi vida y brindarme su apoyo y cariño.*

A mi familia: *por todo su amor y alegría.*

A mi novio: *por ser mi apoyo incondicional y nunca dejar que me diera por vencida, gracias por hacerme tan feliz con tu existencia.*

A mi Familia Verbum Dei: *por llenar de luz y alegría mi corazón, gracias por enseñarme a amar la vida y dar siempre lo mejor de mí.*

A mis amigos: *Kevin, Andrea, Christy, Karen, Mirna, Judith, Pablo, Carlos, Noemí y Lucky, gracias por su amistad, su ayuda y su apoyo, por llenar mi vida de momentos felices y anécdotas inolvidables, por su complicidad y cariño sincero, sin ustedes este caminar no hubiese sido lo mismo.*

A mis compañeros del Laboratorio Nacional de Salud: *por su sincera amistad, por animarme en momentos difíciles, gracias por sus consejos y apoyo, significan mucho para mí.*

AGRADECIMIENTOS

A Dios: Por acompañarme en todo momento y bendecir mi vida con este triunfo.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala: Por acogerme en esta casa de estudios y hoy permitirme el privilegio de egresar de sus aulas como una profesional.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia: Por brindarme todos los conocimientos que me permitirán desarrollarme en mi carrera.

A mi Asesora: Licda. Julia Amparo García Bolaños, por su paciencia, tiempo y dedicación en la asesoría del presente trabajo.

A mi Revisora: Licda. Aylin Santizo Juárez, por orientarme en la realización de este trabajo, enriqueciéndolo con sus consejos.

Al Laboratorio Nacional de Salud: y a la Licda. Indira Marroquín, por permitirme realizar el presente trabajo dentro de sus instalaciones y darme la oportunidad de brindar este aporte a la Institución.

A la Licda. Gabriela Mencos: gracias por formar parte en la realización de este trabajo, por apoyarme en todo momento y alentarme a alcanzar esta meta.

A la Licda. Helga Bal: que Dios la bendiga por todo su apoyo.

Y a todas aquellas personas que forman parte de mi vida, gracias por brindarme su cariño y apoyo sincero, Dios los bendiga por siempre.

ÍNDICE GENERAL

	Página
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN.....	3
3. ANTECEDENTES.....	5
3.1 Sistema Nacional de la Calidad	5
3.2 Cooperación Internacional de Acreditación (ILAC).....	6
3.3 Oficina de Acreditación – OGA -	7
3.4 Acreditación	7
3.5 Laboratorios Acreditados	8
3.6 Laboratorio Nacional de Salud (LNS)	9
3.6.1 Información General	9
3.6.2 Misión	10
3.6.3 Visión	10
3.6.4 Política de Calidad	10
3.6.5 Funciones	10
3.6.6 Unidades del LNS	11
3.6.7 Módulos.....	12
3.7 Pasos del proceso de acreditación	13
3.8 Norma Técnica Guatemalteca COGUANOR NTG/ISO/IEC 17025 “Requisitos Generales para la competencia de laboratorios de ensayo y de calibración”	14
3.9 Política de Selección y Validación de Métodos de Ensayo/ OGA-GEC-016	15
3.10 Protocolo.....	16
3.11 Validación	16
3.11.1 Validación prospectiva	17

3.11.2 Validación retrospectiva	17
3.11.3 Validación concurrente	17
3.12 Plan Maestro de Validación	18
3.13 Validación de los Métodos de Ensayo	18
3.13.1 Caso 1 – Método Normalizado	19
3.13.2 Caso 2 – Método No Normalizado	19
3.13.3 Caso 3 – Método desarrollado por el laboratorio	20
3.14 Validación de Métodos para Análisis Químicos	20
3.15 Marco sociopolítico y legal a nivel nacional e internacional de la fortificación de la sal de consumo humano con yodo	22
3.16 Antecedentes sobre estudios previos realizados en Guatemala	26
4. JUSTIFICACIÓN	27
5. OBJETIVOS.....	28
6. HIPÓTESIS	29
7. MATERIALES Y MÉTODOS	30
7.1 Universo	30
7.2 Muestra	30
7.3 Recursos	30
7.3.1. Humanos.....	30
7.3.2. Materiales	30
7.4 Método y análisis de resultados	32
7.4.1 Diseño de la Investigación	32
7.4.2 Preparación y obtención de muestras de análisis	33
7.4.2.1 Preparación y tratamiento de las soluciones madre de yodato de potasio (KIO ₃) 0.172 mg/mL	33

7.4.2.2 Preparación y tratamiento de las muestras de sal	33
7.4.3 Análisis e interpretación de resultados para la validación del método analítico.	34
7.4.3.1 Linealidad	34
7.4.3.2 Exactitud	35
7.4.3.3 Precisión - repetibilidad	36
7.4.3.4 Reproducibilidad	36
7.4.3.5 Incertidumbre	37
7.4.3.6 Especificidad	37
7.4.3.7 Rango	38
7.4.3.8 Robustez	38
7.4.3.9 Límite de detección	40
7.4.3.10 Límite de Cuantificación	40
8. RESULTADOS	42
9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	54
10. CONCLUSIONES	60
11. RECOMENDACIONES	62
12. REFERENCIAS	63
13. ANEXOS	67
13.1 ANEXO No. 1	67
13.2 ANEXO No. 2	70
13.3 ANEXO No. 3	73
13.4 ANEXO No. 4	74
13.5 ANEXO No.5	76

1. RESUMEN

Derivado del reconocimiento por parte del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS) en el Acuerdo Gubernativo 029-2004 (REGLAMENTO PARA LA FORTIFICACIÓN DE LA SAL CON YODO Y SAL CON YODO Y FLÚOR) hacia el Laboratorio Nacional de Salud, como el encargado de realizar el respectivo análisis de la sal muestreada en el almacén fiscal para verificar que ésta cumple con los niveles de fortificación permitidos en Guatemala, se llevó a cabo la validación del método para determinación de yodo como yodato en sal de consumo humano. Con el objetivo de evaluar las características de su desempeño, corroborando que éstas satisfacen los requisitos para su correcta aplicación analítica, basándose en los lineamientos establecidos en la Norma COGUANOR NGR ISO/IEC 17025 “Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorio de Ensayo y de Calibración”.

Con esta finalidad se realizó la revisión de los requisitos técnicos y documentación que respaldan la calibración del equipo involucrado, así como el material volumétrico empleado. Y posteriormente se evaluaron los parámetros de desempeño del método: linealidad, exactitud, precisión (repetibilidad y reproducibilidad), especificidad, rango, robustez, límite de detección, límite de cuantificación e incertidumbre.

El método demostró ser lineal en un rango de concentración del 12.5% al 250% respecto a la concentración de la solución de trabajo de yodato de potasio (0.688 mg/mL), con coeficiente de correlación ≥ 0.99 ($p < 0.05$) y un coeficiente de determinación ≥ 0.98 ($p < 0.05$).

También demostró ser exacto, debido a que la población de la que se extrajo la muestra, la media del porcentaje de recuperación no fue significativamente diferente a 100% ($p > 0.05$).

Cumplió con los criterios de aceptación para el parámetro de repetibilidad ($CV < 1\%$) y reproducibilidad, según las variable evaluadas (analista, bureta y día de trabajo) ($p > 0.05$).

Presentó resultados satisfactorios con respecto al parámetro de especificidad, luego de diez determinaciones de una muestra sin fortificar.

Se determinó que el método posee un nivel de precisión, exactitud y linealidad adecuado en un rango de concentración de 5.0997ppm a 101.9944 ppm de yodo, ya que en este intervalo el coeficiente de variación fue menor del 3%.

Además de ser robusto para todos los factores ensayados, ya que no presentó diferencia estadísticamente significativa entre las variables ($p > 0.05$)

Y finalmente se determinó su límite de cuantificación de 4.1805 ppm, límite de detección de 1.3796 ppm e incertidumbre expandida (con un factor de cobertura k igual a 2 y un nivel de confianza del 95%) de ± 0.6506 ppm de yodo.

Se concluyó que efectivamente el método para determinación de yodo como yodato en sal de consumo humano utilizado en el Laboratorio Nacional de Salud satisface los requisitos para su aplicación analítica: linealidad, exactitud, precisión (repetibilidad y reproducibilidad), especificidad, rango, robustez, límite de detección y límite de cuantificación. Así como también los requisitos técnicos y documentación requerida para su validación.

2. INTRODUCCIÓN

La acreditación es considerada como una herramienta clave para: facilitar el intercambio comercial, por su capacidad para eliminar las barreras técnicas y para abaratar los costos de evaluación de la conformidad, a través de los Acuerdos de Reconocimiento entre países o regiones. Por tanto, garantiza que los organismos de evaluación de la conformidad de distintos países desempeñen su tarea de manera equivalente, generando la adecuada confianza que posibilita la aceptación mutua de resultados (OGA, s.f.).

El ente encargado de aplicar y administrar la Acreditación en Guatemala es La Oficina de Acreditación – OGA - , un componente del Sistema Nacional de Calidad del Ministerio de Economía. El cual establece los requisitos que se deben cumplir para obtener el reconocimiento formal de la competencia técnica de los organismos de evaluación de la conformidad, en base a las normas nacionales e internacionales vigentes.

El reconocimiento formal de la competencia técnica de los laboratorios de ensayo es uno de los principales objetivos de la OGA, con el fin de que los resultados que estos organismos emitan sean aceptados a nivel nacional, regional e internacional (OGA 2007, p.2). Siendo el Laboratorio Nacional de Salud, uno de los laboratorios en Guatemala que se encuentra acreditado bajo la Norma COGUANOR NTG/ISO/IEC 17025 “Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y de Calibración” por la Oficina Guatemalteca de Acreditación.

El Laboratorio Nacional de Salud (LNS) es el laboratorio oficial del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS), por lo que se encuentra encargado de velar que los alimentos, medicamentos, productos de belleza y para el hogar, así como plaguicidas de uso doméstico, cumplan con los requerimientos indispensables para su consumo. Y como parte de las unidades de análisis que lo conforman se encuentra el Área de Físicoquímico de Alimentos (FQA), encargada específicamente del análisis físicoquímico de los alimentos pertenecientes a los distintos programas de muestras que este posee.

Dentro de los programas de muestras que analiza el Área de Físicoquímico de Alimentos del LNS se encuentra el Programa de Muestras Control, que incluye muestras enviadas por el Departamento de Regulación y Control de Alimentos (DRCA), uno de los seis Departamentos que integran la Dirección General de Regulación, Vigilancia y Control de la Salud del

Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Y uno de los análisis que corresponden a este tipo de muestras es el método titrimétrico de “Determinación Cuantitativa de yodo en sal fortificada con yodato”. El cual, no solo es uno de los de mayor demanda de análisis de muestras del área, sino también poseen gran importancia a nivel de la salud pública. Ya que en el Acuerdo Gubernativo 029-2004, REGLAMENTO PARA LA FORTIFICACIÓN DE LA SAL CON YODO Y SAL CON YODO Y FLÚOR, el MSPAS reconoce al LNS como el laboratorio encargado de realizar el respectivo análisis de la sal muestreada en el almacén fiscal para verificar que ésta cumple con los niveles de fortificación permitidos. Lo cual es indispensable para la autorización de su importación por parte del DRCA (Departamento de Regulación y Control de Alimentos).

Por lo tanto, reconociendo la importancia del papel que juega el LNS para el análisis de sal de calidad alimentaria fortificada con yodo, se tuvo como objetivo en el presente trabajo la realización de la validación del método de análisis utilizado para dicho fin. Permitiendo confirmar que el método en consideración es apto para aplicación requerida y proporciona resultados trazables con un nivel apropiado de incertidumbre. Siendo también importante brindar resultados correctos y confiables a la población guatemalteca con respecto a la adecuada yodación de la sal que consume.

Por lo que, para la validación del método de “Determinación Cuantitativa de yodo en sal fortificada con yodato”, se definieron los parámetros a ser medidos tomando como referencia la “Política de Selección y Validación de Métodos de Ensayo” OGA-GEC-016 a ser aplicada por la OGA en la evaluación de los laboratorios de ensayo que soliciten su acreditación. Cumpliendo de esta forma con el aseguramiento de la calidad propia de la acreditación otorgada por la OGA según la Norma COGUANOR NTG/ISO/IEC 17025:2005 por la Oficina Guatemalteca de Acreditación, al LNS.

3. ANTECEDENTES

3.1 SISTEMA NACIONAL DE LA CALIDAD

El Sistema Nacional de la Calidad, cuya base legal se centra en el Decreto Número 78-2005 publicado el ocho de diciembre de 2005 en el Diario de Centro América, tiene como objetivo:

- Promover la adopción de prácticas de gestión de la calidad en las empresas que conforman el sector productivo del país para fomentar la calidad de los bienes y servicios que se ofrecen en el mercado nacional e internacional.
- Definir las actividades y procedimientos que desarrollan las entidades competentes en las actividades de normalización, acreditación y metrología; y, coadyuvar a que las empresas guatemaltecas alcancen mayor competitividad en el mercado.
- Establecer las bases para que en la adopción de los reglamentos técnicos, que tengan por objeto la prevención y limitación de riesgos capaces de producir daños o perjuicios a las personas, a los animales, a los vegetales o al medio ambiente, no se constituyan obstáculos técnicos innecesarios al comercio.
- Establecer el mecanismo que facilite la información a los sectores productivos y al público en general sobre las normas y procedimientos de acreditación vigentes, así como sobre los reglamentos técnicos y los procedimientos de evaluación vigentes en el país y en el territorio de los principales socios comerciales de Guatemala.

El Sistema Nacional de la Calidad está integrado por:

- a) La Comisión Guatemalteca de Normas – COGUANOR -.
- b) La Oficina Guatemalteca de Acreditación –OGA-.
- c) El Centro Nacional de Metrología –CENAME-.
- d) La Comisión Nacional de Reglamentación Técnica –CRETEC-.
- e) El Centro de Información –CEINFORMA-.

También integran el Sistema Nacional de la Calidad: la Dirección del Sistema Nacional de la Calidad del Ministerio de Economía; los centros de investigación públicos y privados; los laboratorios, las empresas de certificación y los entes de inspección y verificación, tanto públicos como privados, que estén debidamente acreditados o reconocidos por la Oficina guatemalteca de Acreditación. Siendo el Laboratorio Nacional de Salud parte de ellos, ya que se encuentra acreditado bajo la norma COGUANOR NTG/ISO/IEC 17025 por la OGA con número de resolución OGA-LE-011-06.

3.2 COOPERACIÓN INTERNACIONAL DE ACREDITACIÓN (ILAC)

La Cooperación Internacional de Acreditación de Laboratorios es una cooperación internacional de acreditación de laboratorios y de organismos de inspección que se formó hace más de 30 años para ayudar a reducir las barreras técnicas al comercio.

La acreditación le permite a las personas tomar una decisión informada cuando seleccionan a un laboratorio que demuestre competencia, imparcialidad y habilidad. Ayuda a fundamentar la credibilidad y el desempeño de los bienes y servicios.

Los organismos de acreditación alrededor del mundo, quienes han sido evaluados por sus pares como competentes, han firmado un acuerdo que fortalece la aceptación de productos y servicios a través de las fronteras nacionales. El propósito del acuerdo de ILAC, es de crear un marco internacional que apoye al comercio internacional mediante la eliminación de barreras técnicas. Y su objetivo principal es el creciente uso y aceptación por parte de la industria y también los reguladores, de los resultados de los laboratorios y de los organismos de inspección acreditados, incluyendo los resultados de los laboratorios en otros países. De esta manera se puede lograr la meta del libre comercio de que se haga “una prueba a un producto que sea aceptado en todas partes”.

La Oficina Guatemalteca de Acreditación (OGA) es signatario de dicho acuerdo establecido por ILAC llamado: Acuerdo Mutuo de Reconocimiento (MRA). Por lo tanto, en el caso del Laboratorio Nacional de Salud, la acreditación obtenida por la OGA le permite tener reconocimiento con respecto a su competencia, imparcialidad y habilidad como laboratorio de ensayo, no solo a nivel nacional sino también a nivel internacional.

3.3 OFICINA DE ACREDITACIÓN – OGA –

La Oficina de Acreditación –OGA-, es un componente del Sistema Nacional de Calidad del Ministerio de Economía. La OGA fue establecida de conformidad con el Acuerdo Gubernativo número 145-2002, del 3 de mayo del 2002. Esta disposición fue modificada por el Decreto Ley Número 78-2005 del Congreso de la República, del 8 de diciembre de 2005 (OGA, 2006).

Su función principal es aplicar y administrar la Acreditación en todo el territorio nacional, con el fin de reconocer formalmente la competencia técnica de los organismos de evaluación de la conformidad, en base a las normas nacionales e internacionales vigentes (OGA, 2006).

La OGA es signataria del Acuerdo de Reconocimiento Multilateral de la Cooperación Interamericana de Acreditación (IAAC) para laboratorios de ensayo, incluyendo laboratorios que realizan análisis clínicos, así como signatario del **Acuerdo de Reconocimiento Mutuo de la Cooperación Internacional de Acreditación de Laboratorios (ILAC)** (OGA, 2006).

3.4 ACREDITACIÓN

La Acreditación se define como el procedimiento por el cual la OGA declara que un organismo de evaluación de la conformidad es competente para llevar a cabo tareas específicas (OGA, 2006).

Los organismos sujetos de evaluación por parte de la Oficina Guatemalteca de Acreditación son:

- Laboratorios de Ensayo y Calibración (Norma COGUANOR NTG/ISO/IEC 17025)
- Laboratorios de Ensayos Clínicos (Norma ISO 15189)
- Organismos de Certificación
 - ✓ Sistemas de Gestión (Norma ISO/IEC 17021) *
 - ✓ Productos (Guía ISO/IEC 65)

- ✓ Personal (Norma ISO/IEC 17024)
- Organismos de Inspección (Norma ISO/IEC 17020)

La acreditación es considerada como una herramienta clave para: facilitar el intercambio comercial, por su capacidad para eliminar las barreras técnicas y para abaratar los costos de evaluación de la conformidad, a través de los Acuerdos de Reconocimiento entre países o regiones (OGA, 2006).

La acreditación, por tanto, garantiza que los organismos de evaluación de la conformidad de distintos países desempeñen su tarea de manera equivalente, generando la adecuada confianza que posibilita la aceptación mutua de resultados (OGA, 2006).

3.5 LABORATORIOS ACREDITADOS

El mecanismo de acreditación implica que técnicos especializados evalúan regular y planificadamente todos aquellos factores que influyen en la obtención de los resultados confiables, de acuerdo a estándares y procedimientos normalizados adoptados por el laboratorio en conformidad con la norma UNIT- ISO /IEC 17025. Sin embargo la acreditación es un proceso que presenta ciertas ventajas y desventajas (Caiafa, M, 2009, p.16).

Tabla No.1 ACREDITACIÓN - VENTAJAS Y DESVENTAJAS

DESVENTAJAS	VENTAJAS
La acreditación no puede garantizar en un 100% que los resultados individuales serán confiables y correctos. Debido a la presencia intrínseca e inevitable de errores; y a la presencia de errores aleatorios y sistemáticos que llevan a cierta incertidumbre en un resultado de	Sin embargo, también es cierto que si un laboratorio está acreditado el mismo ha alcanzado un nivel preestablecido de competencia técnica para efectuar tipos específicos de actividades de ensayo o calibración.
	Proporciona evidencia objetiva de la competencia técnica del laboratorio a los

los métodos de ensayo.	clientes del mismo.
	Proporciona reconocimiento a nivel nacional e internacional

Fuente: Caiafa, M, 2009, p.16.

El cumplimiento de los requisitos de la Norma NTG - ISO/IEC 17025 necesarios para lograr la acreditación están todos orientados a lograr el aseguramiento de la calidad de los resultados de ensayo que llevarán a poder dar confianza en los datos que se usarán en la toma de decisiones. Lo cual implica un seguimiento planificado y revisado, con uso de materiales de referencia certificados o secundarios, con comparaciones interlaboratorio o ensayos de aptitud, con ensayos o calibraciones replicadas usando el mismo método u otro, con recalibraciones o reensayos y con correlación de resultados (Caiafa, M, 2009, p.16).

Es por eso que el Laboratorio Nacional de Salud, uno de los laboratorios de ensayo acreditados por la OGA según la Norma NTG- ISO/IEC 17025, deben de planear, coordinar, sistematizar y evaluar sus actividades para lograr el aseguramiento de la calidad de los resultados de análisis y la competitividad nacional e internacional de los servicios prestados. Lo cual efectivamente forma parte de su política de calidad (Caiafa, M, 2009, p.16).

3.6 LABORATORIO NACIONAL DE SALUD (LNS)

3.6.1 Información General

El Laboratorio Nacional de Salud se encuentra ubicado en el Km. 21.5 carretera al Pacífico. Bárcenas Villa Nueva, Guatemala.

El Laboratorio Nacional de Salud es la unidad técnica especializada responsable de efectuar los análisis fisicoquímicos y microbiológicos necesarios en la evaluación de la conformidad requerida para el registro sanitario de referencia de alimentos, medicamentos y productos afines, así como servir de apoyo en la inspección sanitaria de los mismos. Además, sirve de laboratorio nacional de

referencia en el diagnóstico de enfermedades humanas, animales, vegetales, agrícolas y ambientales.

3.6.2 Misión

“Somos el laboratorio oficial de referencia de Guatemala encargado de efectuar los análisis necesarios para la evaluación de la conformidad de los alimentos, medicamentos y productos afines, a través de la implementación de normas nacionales e internacionales asegurando la protección de la salud pública, sanidad agropecuaria y medio ambiente”.

3.6.3 Visión

“Ser el laboratorio regional de referencia con reconocimiento internacional, prestando servicios analíticos de calidad con personal comprometido y capacitado, utilizando tecnología de vanguardia, en beneficio de la salud pública, sanidad agropecuaria y medio ambiente”.

3.6.4 Política de Calidad

“La Jefatura y el personal del Laboratorio Nacional de Salud, se compromete a mantener la mejora continua del Sistema de Gestión de Calidad de acuerdo a las Normas NTG/ISO/IEC 17025, NTG/ISO 15189 y Buenas Prácticas de Laboratorio, asegurar la calidad de los resultados, la competitividad nacional e internacional de los servicios prestados y la protección de las personas, sanidad agropecuaria y medio ambiente; a través de la planeación, coordinación, sistematización y evaluación de sus actividades”.

3.6.5 Funciones

- Efectuar los análisis físicos, químicos y microbiológicos necesarios en la evaluación de la conformidad requerida para el registro sanitario de referencia de los alimentos, medicamentos y productos afines.

- Servir de apoyo en la inspección sanitaria de los otros departamentos de la Dirección General de Regulación, Vigilancia y Control de la Salud.
- Servir de laboratorio de referencia nacional, dentro del ámbito de su competencia.
- Desarrollar investigaciones básicas y operacionales en su campo y desarrollar programas de formación, capacitación de recursos humanos en salud de acuerdo a sus características.

3.6.6 Unidades del LNS

- **Jefatura:** Es el responsable de supervisar y evaluar los servicios prestados por las diferentes unidades, secciones y áreas que integran el Laboratorio Nacional de Salud. Además dirige a los grupos de trabajo, para realizar las funciones asignadas y ser autofinanciables, cumpliendo con el apoyo en la vigilancia y monitoreo de los departamentos de control y regulación de la dirección general de regulación, vigilancia y control de la salud.
- **Unidad de Gestión de Calidad:** Es la unidad responsable de implementar, planificar, ejecutar y efectuar las acciones correctivas para mantener un sistema de calidad continuo, de acuerdo a la Norma ISO 9001 y 17025.
- **Unidad Administrativa Financiera:** Es la unidad responsable de apoyar a la jefatura del laboratorio nacional de salud en la administración de los recursos humanos, financieros y materiales, manteniendo esquemas de información para establecer lineamientos administrativos de las demás unidades del Laboratorio Nacional de Salud.
- **Unidad de Microbiología:** Es la unidad responsable de desarrollar los procedimientos analíticos microbiológicos, necesarios para determinar si los alimentos (incluyendo el agua), medicamentos y productos afines, cumplen con las normas sanitarias específicas y verificar la inocuidad de los mismos.
- **Unidad de Físicoquímico:** Es la unidad responsable de desarrollar y efectuar los procedimientos analíticos físicos y químicos, necesarios para

determinar si un alimento, medicamento o producto afín, cumple con las especificaciones declaradas, verificando la cantidad y calidad de los mismos.

- **Unidad de Diagnóstico (UCREVE):** Es la unidad responsable de implementar los procedimientos para proveer de resultados analíticos precisos, exactos y en tiempo, contribuyendo a la vigilancia epidemiológica de enfermedades de notificación obligatoria así como las enfermedades emergentes de salud pública.

Además es el centro de referencia y control de calidad, para la detección, identificación y confirmación de agentes biológicos y de importancia en salud humana, animal y vegetal. Así mismo funciona como ente coordinador de la Red Nacional de Laboratorios del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

3.6.7 Módulos

El LNS es conformado por 11 módulos en donde operan las distintas unidades y grupos técnicos:

1. MÓDULO I: jefatura, subjefatura, sala de reuniones, departamento financiero, ventanilla única.
2. MÓDULO II: Unidad de Contaminantes de Ambiente y Salud (CAS).
3. **MÓDULO III: Físicoquímico de Alimentos (FQA).**
4. MÓDULO IV: Producción de Medios e informática.
5. MÓDULO V: Físicoquímico de Medicamentos (FQM) y Cosméticos.
6. MÓDULO VI: Microbiología de Medicamentos (MIM).
7. MÓDULO VII: Ventanilla única II, Sanidad animal y vegetal.
8. MÓDULO VIII: Unidad de diagnóstico (UCREVE).

9. MÓDULO IX: Microbiología de Alimentos (MIA)

10. MÓDULO X: Unidad de Garantía de Calidad y Análisis Físicoquímico de Aguas.

11. MÓDULO XI: Virología.

3.7 PASOS DEL PROCESO DE ACREDITACIÓN

El proceso de acreditación de la OGA es el siguiente:

- Solicitud de Acreditación
- Evaluación General de Documentación
- Pre-evaluación (opcional)
- Formación / Aprobación Equipo Evaluador
- Envío / Aceptación Presupuesto
- Evaluación Documental
- Evaluación en sitio
- Acciones Correctivas
- Envío / Recomendación Comité de Acreditación
- Decisión de Acreditación OGA
- Seguimiento y Reevaluación

Con respecto al último paso del proceso de acreditación “Seguimiento y Reevaluación”, de forma periódica, y de acuerdo con el Plan Anual de Seguimiento y Reevaluación “OGA-FAC-025”, la OGA realiza evaluaciones de seguimiento para verificar todos los

aspectos relacionados con el Alcance de la Acreditación y la norma o guía con base en la cual el organismo fue acreditado.

Estas evaluaciones de seguimiento tienen por objeto asegurar el mantenimiento de las condiciones que dieron lugar a la acreditación. Por lo que el laboratorio acreditado debe tomar las respectivas medidas de aseguramiento de la calidad para mantener dichas condiciones. Como por ejemplo: la validación de los métodos de ensayo utilizados.

3.8 NORMA TÉCNICA GUATEMALTECA COGUANOR NTG/ISO/IEC 17025 “Requisitos Generales para la competencia de laboratorios de ensayo y de calibración”

La primera edición (1999) de esta Norma Internacional fue producto de la amplia experiencia adquirida en la implementación de la Guía ISO/IEC 25 y de la Norma EN 45001, a las que reemplazó. Contiene todos los requisitos que tienen que cumplir los laboratorios de ensayo y de calibración si desean demostrar que poseen un sistema de gestión, son técnicamente competentes y son capaces de generar resultados técnicamente válidos. Cubre los ensayos y las calibraciones que se realizan utilizando métodos normalizados, métodos no normalizados y métodos desarrollados por el propio laboratorio (COGUANOR, 2001, p.6).

Esta Norma es aplicable a todas las organizaciones que realizan ensayos o calibraciones. Éstas pueden ser, por ejemplo, los laboratorios de primera, segunda y tercera parte, y los laboratorios en los que los ensayos o las calibraciones forman parte de la inspección y la certificación de productos (COGUANOR, 2001, p.7).

Existen muchos factores que determinan la exactitud y la confiabilidad de los ensayos o de las calibraciones realizadas por un laboratorio. Y el grado en el que los factores contribuyen a la incertidumbre total de la medición difiere considerablemente según los ensayos y las calibraciones. Por lo que el laboratorio debe tener en cuenta estos factores al desarrollar los métodos y procedimientos de ensayo y de calibración, en la formación y la cualificación del personal, así como en la selección y la calibración de los equipos que se utilizan.

Esta Norma establece que dentro de los factores técnicos que influyen en los ensayos o calibraciones realizadas por un laboratorio se encuentra la validación de los métodos. Por lo cual establece que el laboratorio en cuestión debe validar los métodos no normalizados, los métodos que diseña o desarrolla, los métodos normalizados empleados fuera del alcance previsto, así como las ampliaciones y modificaciones de los métodos normalizados, para confirmar que los métodos son aptos para el uso previsto.

Por lo tanto, siendo el LNS un laboratorio acreditado por la OGA según esta norma, debe buscar constantemente la validación de los métodos de ensayo para demostrar que es técnicamente competente y proporciona resultados técnicamente válidos. Para lo cual existen documentos emitidos por la Oficina Guatemalteca de Acreditación, que sirven como guía para llevar a cabo dicho proceso, como lo es la “Política de Selección y Validación de Métodos de Ensayo” OGA – GEC – 016.

3.9 POLÍTICA DE SELECCIÓN Y VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYO / OGA-GEC-016

La Política OGA-GEC-016 se emitió con el propósito de definir una política para la selección y validación de métodos de ensayo a ser aplicada por la OGA en la evaluación de los laboratorios que le soliciten su acreditación, en evaluaciones de seguimiento y re evaluaciones.

Esta política es acorde a lo internacionalmente aceptado, y aplicado a nivel nacional, y por ello facilita establecer los Acuerdos de Reconocimiento con la Cooperación Internacional para la Acreditación de Laboratorios (ILAC), la Cooperación Interamericana de Acreditación (IAAC) y otras Cooperaciones regionales y Organismos Nacionales de Acreditación.

Los lineamientos mencionados por esta política se basan en los requisitos sobre la selección y validación de los métodos de ensayo que se exponen en el capítulo 5.4 Métodos de ensayo y calibración y validación de métodos, de la Norma COGUANOR NTG ISO/IEC 17025 “Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y de Calibración”.

Para llevar a cabo la validación de un método de ensayo es necesario establecer los parámetros de desempeño a tomar en cuenta para dicho proceso. Lo cual se documenta mediante la elaboración del respectivo "Protocolo de Validación".

3.10 PROTOCOLO

Un protocolo es un conjunto de instrucciones por escrito cuyo alcance es mayor que el de un procedimiento de operación normalizado (PON). Los PON son las instrucciones detalladas por escrito para efectuar procedimientos que se efectúan normalmente en el curso de cualquiera de las actividades relacionadas con la fabricación de productos farmacéuticos. Por el contrario, un protocolo describe los detalles de un estudio integral planificado para investigar el funcionamiento uniforme de un nuevo sistema/equipo, un nuevo procedimiento o la aceptabilidad de un nuevo proceso antes de ejecutarlo. Los protocolos incluyen antecedentes importantes, explican el fundamento lógico y el objetivo del estudio, ofrecen una descripción completa de los procedimientos que habrán de seguirse, fijan los parámetros que habrán de medirse, describen como se analizarán los resultados y facilitan criterios de aceptación determinados con anterioridad para extraer las conclusiones. Los estudios de validación, los estudios de estabilidad y los estudios clínicos son ejemplos de protocolos escritos para la industria farmacéutica. Los protocolos de validación son importantes para asegurar que se recaben pruebas documentadas a fin de demostrar que un equipo, un sistema, un proceso o un método se desempeñan uniformemente en conformidad con el nivel especificado (OMS, 1998, p.8).

3.11 VALIDACIÓN

La validación se define como el establecimiento de pruebas documentales que aportan un alto grado de seguridad de que un proceso planificado se efectuará uniformemente en conformidad con los resultados previstos especificados. Los estudios de validación son aplicables a las pruebas analíticas, los equipos, los sistemas y servicios del establecimiento (como aire, agua o vapor) y procesos (como el de fabricación, limpieza, esterilización, llenado estéril, liofilización, etc.) (OMS, 1998, p.7).

La validez de los sistemas, equipos, pruebas o procesos se puede establecer mediante estudios prospectivos, concurrentes o retrospectivos. La validación prospectiva se basa en datos recopilados de conformidad con un protocolo previamente establecido. Éste es el método más controlado (OMS, 1998, p.7).

3.11.1 Validación prospectiva

Es la ejecución y documentación de un protocolo de prueba aprobado previamente, cuya finalidad es demostrar que un proceso opera según lo previsto, antes de autorizar la distribución del producto fabricado. La validación utiliza información generada durante todas las etapas de desarrollo del proceso (TERRA FARMA, 2008).

Este tipo particular de validación normalmente tiene conexión con la introducción de nuevos productos farmacéuticos y su proceso de manufactura.

La validación prospectiva se divide en dos fases:

- Validación prospectiva previa o prevalidación.
- Validación prospectiva de detalle.

3.11.2 Validación retrospectiva

Es la evidencia documentada para demostrar que un proceso cumple con su propósito basado en la revisión y análisis de la información histórica del mismo; se emplea para productos que ya se encuentran en el mercado y cuyo proceso de manufactura se considera estable.

Dentro del estudio de la validación la calificación es una herramienta clave que provee información necesaria para el estudio (TERRA FARMA, 2008).

3.11.3 Validación concurrente

Es el establecimiento de una evidencia documentada de que un proceso específico cumple con su propósito, basados en información obtenida de procesos que se encuentran en marcha, en la cual se ha introducido alguna variación (TERRA FARMA, 2008).

3.12 PLAN MAESTRO DE VALIDACIÓN

El Plan Maestro, es un documento básico cuyo objetivo es el de planificar la validación. En él se incluyen todos los documentos necesarios para su desarrollo. Existen diversas versiones a medida que avanza la validación. Una vez realizado el Plan Maestro, se programan cada una de las fases de la validación en el tiempo y a continuación se realizan cada una de las fases.

3.13 VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS DE ENSAYO

En el diseño y desarrollo de métodos, la etapa de validación consiste en el proceso de examinar el método para determinar su conformidad con el uso previsto. La validación normalmente se lleva a cabo sobre la versión final del método desarrollado, bajo condiciones de operación definidas; también puede ser necesario realizarla en etapas previas del proceso de desarrollo. Si existen diferentes usos previstos para el método, se deben llevar a cabo múltiples validaciones. Los parámetros de desempeño que se recomienda incluir en la validación y verificación de diferentes métodos de ensayo pueden ser, según el caso: exactitud, exactitud relativa, desviación, desviación positiva, desviación negativa, efecto matricial, repetibilidad, precisión intermedia, reproducibilidad, especificidad, límite de detección, límite de cuantificación, linealidad, rango, sensibilidad, robustez y fortaleza (ruggedness), entre otras (OGA, 2007, p.5).

La validación de los métodos de ensayo debe reflejar las condiciones reales de la aplicación de los mismos. Esto puede conseguirse utilizando, por ejemplo, muestras comerciales o preparadas en el laboratorio con un nivel conocido de la especie o analito de interés. El analista debe estar consciente que una muestra preparada en la matriz de interés sólo imita parcialmente a una muestra real; no obstante, en muchos casos, ésta es la mejor y la única opción disponible. La extensión de la validación depende del propósito del ensayo y de las propiedades del método analítico en cuestión (OGA, 2007, p.5).

El laboratorio que implementa un método analítico es responsable de verificar su desempeño contra las especificaciones de la validación, tanto antes de ponerlo en uso

como durante su utilización rutinaria, para demostrar que lo domina y usa correctamente. A continuación se especifica lo anterior, para el caso de los métodos normalizados, no normalizados y desarrollados por el laboratorio usuario (OGA, 2007, p.5):

3.13.1 Caso 1 - Método Normalizado:

El laboratorio que va a utilizar un método normalizado debe verificarlo contra sus especificaciones de validación, atendiendo los requisitos para el aseguramiento de la calidad, y no necesita validarlo. Esta verificación permite demostrar que el laboratorio domina el ensayo y lo utiliza correctamente (OGA, 2007, p.6).

En la mayoría de los casos se puede considerar que en el desarrollo de los métodos normalizados se han tenido en cuenta todos los aspectos necesarios relativos a la validación. Al presentarse el caso de no haber evidencia suficiente para deducir que se ha llevado a cabo una correcta validación, el laboratorio usuario deberá definir un procedimiento para calcular y evaluar los parámetros de desempeño que considere necesarios para asegurar la confiabilidad del método (OGA, 2007, p.6).

3.13.2 Caso 2 - Método No Normalizado:

El laboratorio que va a modificar un método normalizado debe revalidarlo para demostrar que las especificaciones del método original no se ven afectadas por la modificación introducida. El nivel de revalidación requerido aumenta conforme la magnitud de los cambios realizados. Se consideran cambios menores, por ejemplo, la modificación del tamaño de la muestra y sustitución de reactivos. Se considera cambio mayor, por ejemplo, el cambio de procedimiento o equipo y cambios en el alcance (aplicación a matrices que no se especifican). Para demostrar que una versión modificada de un método cumple las mismas especificaciones que el método original, se deben realizar comparaciones utilizando réplicas. El diseño experimental y el análisis de los resultados deben ser estadísticamente válidos. El laboratorio usuario de un método normalizado modificado debe verificarlo contra sus especificaciones

originales, o de revalidación, y así demostrar que domina el ensayo y lo utiliza correctamente (OGA, 2007, p.6).

En el caso de métodos no normalizados, los terceros que los desarrollan son responsables de incluir en dicho proceso la etapa de validación, para demostrar que el método cumple con los criterios de aceptación adecuados para el propósito de aplicación; el laboratorio usuario debe verificar el desempeño del método contra sus especificaciones de validación y así demostrar que domina el ensayo y lo realiza correctamente (OGA, 2007, p.6).

3.13.3 Caso 3 - Método desarrollado por el laboratorio:

El laboratorio que desarrolla y utiliza sus propios métodos debe validarlos, para demostrar que cumplen con los criterios de aceptación adecuados para el propósito de aplicación.

Una vez está en uso el método, el laboratorio debe verificar su desempeño contra los parámetros de validación, para demostrar que sigue dominando el ensayo y lo realiza correctamente (OGA, 2007, p.6).

3.14 VALIDACIÓN DE MÉTODOS PARA ANÁLISIS QUÍMICOS

De acuerdo con Eurachem/CITAC (Cooperación Internacional para la Trazabilidad en Química Analítica), en un caso ideal, la validación de un método para análisis químico cuantitativo debería incluir las siguientes actividades y parámetros de desempeño (OGA, 2007, p.16).

3.14.1 La evaluación de la selectividad y la especificidad, para asegurar que el método responde a la especie particular de interés y no a especies similares a ella. (Esto también aplica al análisis químico cualitativo).

3.14.2 La evaluación por medio de un material de referencia certificado, para demostrar que el método no da lugar a desviaciones significativas en comparación con resultados trazables obtenidos de manera independiente.

3.14.3 Evaluaciones de posibles efectos particulares, adicionales a los considerados en las especificaciones del método, para justificar que no es necesario incluir otros efectos.

3.14.4 Estudios de precisión dentro de un intervalo de tiempo y un set de condiciones tan amplios como sea razonablemente posible, para demostrar que no existen otros efectos significativos no sospechados. (Esto también aplica al análisis químico cualitativo).

3.14.5 Estudios adicionales sobre posibles fuentes específicas de desviación, incluyendo estudios de enriquecimiento y recuperación, posibles interferencias y reactividad cruzada, para demostrar que no existen efectos adicionales importantes.

Nota: El comportamiento del analito agregado puede no ser equivalente al del analito nativo; por lo tanto, el resultado del estudio de enriquecimiento y recuperación puede dar una indicación equivocada de lo que sería la recuperación del analito nativo.

3.14.6 La evaluación de la linealidad, para demostrar que el resultado coincide con el valor calculado a partir de la relación entre respuesta y concentración dada por la curva de calibración.

3.14.7 Frecuentemente se evalúan otros parámetros de desempeño, tales como los límites de detección y cuantificación, para demostrar que el método es adecuado para el propósito (el límite de detección también aplica al análisis químico cualitativo).

3.14.8 Las comparaciones entre analistas y entre laboratorios, o con otros métodos, también pueden demostrar posibles deficiencias en el método. Además, éstas pueden aportar evidencia adicional de que los efectos considerados son suficientes para establecer las especificaciones del método (OGA, 2007, p.16).

Es importante considerar que todos los materiales de referencia a utilizar durante la validación, para la calibración, el control y las pruebas, deben ser trazables. Esto

asegura que los estudios de validación sean directamente relevantes para los resultados obtenidos durante el uso rutinario del método.

A la vez, la validación juega un papel clave para poder establecer la trazabilidad de los resultados y, por ello, no es un proceso optativo. Aun cuando se está adoptando un método normalizado, que se sabe fue validado y ampliamente probado, es necesario que en el laboratorio se empiece por verificar que éste funciona acorde a sus especificaciones. Es debido a que los métodos analíticos implican procesos complejos, y que por ello son susceptibles al error humano, que siempre es necesario verificar que el laboratorio puede ejecutarlos correctamente (OGA, 2007, p.16).

La mejor manera de hacer esta verificación es usando un material certificado de referencia. Otra evidencia del funcionamiento correcto del método es la que se puede obtener de los ensayos de aptitud y otros estudios realizados con ese objetivo. Se debe reconocer que las evaluaciones a realizar para la validación de un método analítico no pueden ser exhaustivas y que existe la posibilidad de que las limitaciones prácticas sean considerables (OGA, 2007, p.16).

3.15 MARCO SOCIOPOLÍTICO Y LEGAL A NIVEL NACIONAL E INTERNACIONAL DE LA FORTIFICACIÓN DE SAL DE CONSUMO HUMANO CON YODO

En la década de 1950 se inicia en Centroamérica un proceso de abogacía con los tomadores de decisión política, con la finalidad de lograr que tanto la sal para consumo humano como para consumo animal fuera yodada, para prevenir y controlar los desórdenes por deficiencia de yodo (DDY) que en ese entonces significaban un serio problema de salud pública. El primer país en aprobar la legislación al respecto fue Costa Rica, en 1941; sin embargo, el primer país que implantó un programa de yodación de sal fue Guatemala, mediante la emisión de una ley en el año de 1954 que hacía obligatoria la yodación de la sal para consumo humano y animal y el programa se inició en 1959. El último fue Nicaragua, en septiembre de 1977. En algunos países el tiempo transcurrido desde la aprobación de las leyes hasta su puesta en práctica fue de 29 años y en otros varió de 1 a 8 años (Noguera Zelaya, A, s.f., p.1).

Debido a diferentes factores, en particular la crisis sociopolítica de fines de 1970 y 1980, la falta de voluntad política y la debilidad de los programas, en su mayoría centralizados, hizo que algunos programas que habían mostrado su efectividad en prevenir y controlar los desórdenes por deficiencia de yodo se deterioraran y la deficiencia volvió a significar un problema de salud pública. Ante esta situación las acciones realizadas no fueron suficientes para poner en evidencia ante los tomadores de decisión, tanto del gobierno como de la iniciativa privada, las severas consecuencias que la deficiencia de yodo tiene en: el desarrollo neurológico, capacidad intelectual, fertilidad, morbilidad y mortalidad infantil y el crecimiento y desarrollo; consecuencias que restringen el desarrollo del capital humano. Por otro lado, la ausencia o limitado diálogo entre los diferentes actores involucrados en resolver este problema, no permitió garantizar la sostenibilidad de los programas (Noguera Zelaya, A, s.f., p.1).

El deterioro de los programas de vigilancia epidemiológica de los DDY y el control de calidad de sal yodada, hizo que transcurrieran muchos años sin saber cuan eficiente y eficaces estaban siendo las acciones, de igual manera no se enfatizó en mantener informada a la población sobre los efectos de la deficiencia de yodo en la salud, la nutrición y el bienestar de la población, ni de la importancia de ejercer como un derecho el tener acceso a la sal adecuadamente yodada (Noguera Zelaya, A, s.f., p.1).

Es a mediados de 1980 que los países centroamericanos reinician un proceso de diálogo y concertación entre los niveles políticos, la industria salinera, los administradores de programas, organismos no gubernamentales y comunitarios y organismos de cooperación internacional, particularmente la Organización Panamericana de la Salud (OPS), el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), el fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF), el consejo Internacional para el Control de los desórdenes por Deficiencia de Yodo (ICCIDD), la Agencia para el Desarrollo Internacional (AID) y últimamente el Banco Mundial (BM), el Programa para Tecnología Apropriada en Salud (PATH), Oportunidad de Intervenciones para Malnutrición por Micronutrientes (OMNI) y otros. El surgimiento de iniciativas a nivel mundial orientadas a eliminar los desórdenes por deficiencia de micronutrientes a partir de 1990, fortalece la iniciativa centroamericana y hace que se

tome conciencia y se asuman responsabilidades orientadas a lograr la meta de eliminar los desórdenes por deficiencia de yodo en la presente década, proponiéndose como meta intermedia la yodación universal de la sal para fines de 1995 (Noguera Zelaya, A, s.f., p.1).

Por otro lado, en Guatemala, la zona en donde se concentraba casi el 90% de la producción de la sal del país, las salinas de Santa Rosa, se construyó el Puerto Quetzal a finales de los años setenta y se abandonó la producción de sal yodada. Esto provocó que la prevalencia promedio de bocio en escolares de Guatemala aumentara a 20% en 1987. En seis de los 22 departamentos, la prevalencia fue mayor o igual a 25% y ningún departamento tuvo prevalencias menores a 10%. La mediana de la excreción urinaria de yodo fue de 3.2 $\mu\text{g}/\text{dL}$ a nivel nacional (la mediana debiera ser arriba de 10 $\mu\text{g}/\text{dL}$) (CONAFOR, s.f.).

En 1991, el gobierno de Guatemala, con el apoyo del Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP/OPS) y UNICEF, reinició el programa nacional de yodación a raíz de un taller realizado en Antigua, Guatemala y cuyo tema era "La utilización de la sal de consumo humano como vehículo de nutrientes esenciales para el hombre: flúor y yodo". Esto sirvió para que, entre otras cosas, se identificara la necesidad de revisar la legislación vigente y fue así que, la nueva Ley General de Fortificación, Enriquecimiento o Equiparación de Alimentos fue aprobada en 1992 (CONAFOR, s.f.).

En octubre de 1993 se realiza en Guatemala la Reunión de Alto Nivel para el Control de los Desórdenes de Deficiencia de Yodo, a la que concurren representantes de la industria salinera, representantes de gobierno del nivel político y técnico y organismos de cooperación internacional. Esta reunión que es organizada y copatrocinada por OPS/INCAP, UNICEF, ICCIDD y la Iniciativa de Micronutrientes CIDA (Canadá), como resultado surge la "Declaración de los representantes de los Gobiernos y de la Industria Salinera de Centroamérica para la Eliminación de los Desórdenes Causados por Deficiencia de Yodo", en la que se comprometen a dar prioridad a la eliminación de los desórdenes por deficiencia de yodo, fortalecer los programas nacionales, solicitar el apoyo de la comunidad internacional, establecer

mecanismos de coordinación, evaluar el progreso de los programas y certificar su eliminación sostenida, creándose además una entidad subregional con la participación de los gobiernos centroamericanos, la industria salinera, UNICEF, OPS/INCAP y el ICCIDD, constituyéndose el INCAP en la Secretaría Técnica. Con el apoyo del Parlamento Centroamericano, las Asociaciones Nacionales de Salineros se organizan en la Asociación de Salineros de Centroamérica, Panamá y Belice. Además, en 1993 se emitió en Guatemala el Reglamento para la yodación de la sal, y se hizo efectivo en 1994. Esta Ley estableció nuevos niveles de fortificación (30-100 mg/kg), así como la creación de una Comisión Nacional para velar por el cumplimiento de la ley y colaborar con el Ministerio de Salud Pública en la coordinación y supervisión de los programas de fortificación (CONAFOR, s.f.).

A nivel mundial, en 1994, la OMS y UNICEF recomendaron que la yodación universal de la sal fuese obligatoria en todos los países donde se registraban casos de carencia de yodo (UNICEF/OMS 1994). Entre los cuales se encontraba Guatemala (CONAFOR).

Es hasta enero de 2,004 que en Guatemala se emitió un nuevo **Reglamento para la fortificación de la sal con yodo y flúor (Acuerdo Gubernativo 29-2004)**. La adición de flúor a la sal se contempla en un rango de concentración de 175-225 mg/kg, y de yodo en un rango 20 a 60 mg/kg. También trata de eliminar la comercialización y consumo de sal cruda, que es la mayoritaria actualmente en el país. Además de contemplar que la sal para uso en la industria de alimentos debe estar yodada de acuerdo a la ley. Asimismo contempla los requerimientos de importación, comercialización, envase y etiquetado, define responsabilidades de los Ministerios, sanciones, autorización de los centros de fortificación entre otras consideraciones. Además de establecer que el Laboratorio Nacional de Salud (LNS) deberá realizar el respectivo análisis de la sal muestreada en el almacén fiscal para proporcionar el resultado que certifique la correcta fortificación de la misma, de acuerdo a lo estipulado en el reglamento. Siendo esto importante para la autorización de su importación por parte del Departamento de Regulación y Control de Alimentos.

3.16 ANTECEDENTES SOBRE ESTUDIOS PREVIOS REALIZADOS EN GUATEMALA

- 3.16.1** Véliz Fuentes, Félix Ricardo (2002) en el informe de tesis “Estandarización de un método rápido para la determinación cuantitativa de yodato de potasio en sal solar (común)”, desarrolló una investigación evaluando y comparando cinco métodos analíticos, con el fin de determinar un método analítico rápido para el análisis de yodo en muestras de sal al nivel de campo y así apoyar las acciones de monitoreo e inspección por parte de la Unidad de Control de Alimentos del Ministerio de Salud Pública. Obteniendo como resultado tres metodologías rápidas que pueden ser utilizadas como alternativas al Método Oficial.
- 3.16.2** Aguirre España, Ester (2002) en el informe de tesis “Evaluación de Calidad de la sal de consumo humano obtenida en las salineras de La Costa del Pacífico”, determinó si la sal proveniente de las salineras del litoral del Pacífico de Guatemala, cumplen con las especificaciones requeridas por la norma COGUANOR, para que éstas puedan ser utilizadas en la industria química, farmacéutica y de alimentos. Obteniendo como resultado que de diez de las muestras analizadas nueve no cumplen con lo establecido por dicha norma.
- 3.16.3** Morales Cifuentes, Mynor Andres (1995) en el informe de tesis “Determinación Cualitativa y Cuantitativa de yodo en la sal de consumo Humano” evaluó de forma cualitativa y cuantitativa la presencia de yodo en la sal de consumo cotidiano de la población de Masagua (Escuintla, Guatemala), durante el periodo comprendido de agosto de 1994 a julio de 1995. Encontrando que del total de muestras de sal analizadas el 88.35% estaba yodada, de la cual un 16.02% estaba yodada deficientemente; y que el 11.65% no estaba yodada.

4 JUSTIFICACIÓN

El Laboratorio Nacional de Salud, siendo el Laboratorio Oficial del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, tiene como política de calidad el compromiso de mantener la mejora continua del Sistema de Gestión de Calidad de acuerdo a las Normas NTG/ISO/IEC 17025, NTG/ISO 15189 y Buenas Prácticas de Laboratorio, así como asegurar la calidad de los resultados emitidos, la competitividad nacional e internacional de los servicios que presta al país y la protección de las personas, sanidad agropecuaria y medio ambiente.

El Área de Físicoquímico de Alimentos forma parte de las distintas unidades que conforman el LNS. Por lo que busca constantemente la validación adecuada de los métodos de ensayo que realiza según la Norma COGUANOR NGR ISO/IEC 17025 “Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y de Calibración”. Con fin el de garantizar el uso apropiado de los mismos para el propósito previsto, permitiendo así proporcionar resultados trazables y confiables con un nivel apropiado de incertidumbre. Siendo uno de estos el método titrimétrico de “Determinación Cuantitativa de yodo en sal fortificada con yodato”.

Dicho método titrimétrico es de gran importancia para el LNS. Ya que en el Acuerdo Gubernativo 029-2004, REGLAMENTO PARA LA FORTIFICACIÓN DE LA SAL CON YODO Y SAL CON YODO Y FLÚOR, el MSPAS reconoce al LNS como el laboratorio encargado de realizar el respectivo análisis de la sal muestreada en el almacén fiscal para proporcionar el resultado que certifique la correcta fortificación de la misma.

Por lo tanto, reconociendo la importancia del papel que juega el Área de Físicoquímico de Alimentos del LNS en el análisis de la sal de calidad alimentaria fortificada con yodo, se considera imprescindible la realización de la validación del método de análisis utilizado para dicho fin. Permitiendo así confirmar el uso adecuado del mismo para la aplicación requerida, proporcionando resultados confiables y correctos a la población guatemalteca con respecto a la adecuada yodación de la sal que consume.

5. OBJETIVOS

5.1 General:

- 5.1.1. Validar el método para determinación de yodo como yodato en sal de consumo humano utilizado en el Laboratorio Nacional de Salud según la Norma COGUANOR NGR ISO/IEC “Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y de Calibración”.

5.2 Específicos:

- 5.2.1 Verificar que se cumpla con los requisitos técnicos y la documentación que respalda la calificación del equipo y cristalería involucrada en la realización del método de análisis, para la validación del mismo.
- 5.2.2 Establecer los parámetros de desempeño del método para determinación de yodo como yodato en sal de consumo humano utilizado en el Laboratorio Nacional de Salud, que permitan demostrar estadísticamente la validez del mismo.
- 5.2.3 Realizar la validación del método analítico mediante la evaluación de los parámetros de linealidad, exactitud, precisión, reproducibilidad, incertidumbre, especificidad, rango, robustez, límite de detección y límite de cuantificación establecidos en el protocolo de validación previamente elaborado.

6. HIPÓTESIS

El Método para determinación de yodo como yodato en sal de consumo humano utilizado en el Laboratorio Nacional de Salud cumple con los requisitos de validación según la Norma COGUANOR NGR ISO/IEC 17025 “Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorio de Ensayo y de Calibración”.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Universo:

Sal fortificada de consumo humano.

7.2 Muestra:

Sal proveniente del programa de “Muestras Control” proporcionadas por el Departamento de Regulación y Control de Alimentos (DRCA).

7.3 Recursos:

7.3.1 Humanos:

7.3.1.1 Investigadora: Mayra Fabiola Esquite Lainfiesta.

7.3.1.2 Asesora: Licda. Julia Amparo García Bolaños.

7.3.1.3 Revisora: Licda. Aylin Santizo Juárez.

7.3.1.4 Supervisora del Área de Fisicoquímico de Alimentos del LNS: Licda. Indira Marroquín (profesional experta en validación de métodos analíticos).

7.3.2 Materiales:

7.3.2.1 Materiales de laboratorio:

7.3.2.1.1 Bureta de 25 mL clase A.

7.3.2.1.2 Pipetas volumétricas de 1, 2, 4, 5, 20, 25 y 50 mL clase A.

7.3.2.1.3 Beaker de 100, 400 y 1000 mL

7.3.2.1.4 Balón aforado de 100, 250, 500 y 1000 mL clase A.

7.3.2.1.5 Erlenmeyer de 250 mL con tapón esmerilado.

7.3.2.1.6 Probeta de 100 mL

7.3.2.1.7 Varillas de vidrio

7.3.2.1.8 Agitador Magnético múltiple

7.3.2.1.9 Magnetos para agitación

7.3.2.1.10 Soporte para sujetar la bureta

7.3.2.1.11 Pinzas para sujetar la bureta

7.3.2.1.12 Papel Filtro Whatman No.1

7.3.2.1.13 Perilla succionadora o propipeta.

7.3.2.1.14 Pizeta con agua desmineralizada

7.3.2.2 Reactivos:

7.3.2.2.1 Ampolla Tritrisol de Tiosulfato de Sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0.1 N

7.3.2.2.2 Cloruro de Sodio p.a.

7.3.2.2.3 Carbonato de sodio p.a.

7.3.2.2.4 Cloroformo p.a.

7.3.2.2.5 Almidón, para iodometría

7.3.2.2.6 Yodato de potasio (KIO_3) grado reactivo

7.3.2.2.7 Yoduro de potasio grado analítico, libre de yodato

7.3.2.2.8 Ácido Sulfúrico (H_2SO_4) grado reactivo

7.3.2.2.9 Solución de Tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0.005N

7.3.2.2.10 Solución de Ácido Sulfúrico (H_2SO_4) 2 N

7.3.2.2.11 Solución de Yoduro de Potasio (KI) al 10%

7.3.2.2.12 Solución de almidón al 1%

7.3.2.2.13 Solución de Yodato de Potasio (KIO_3) 0.5N

7.3.2.2.14 Solución Madre de Yodato de Potasio (KIO_3) 0.172 mg/mL

7.3.2.2.15 Gel de Sílice

7.3.2.2.16 Agua Desmineralizada

7.3.2.3 Equipo:

7.3.2.3.1 Balanza analítica con sensibilidad 0.1g

7.3.2.3.2 Balanza semi-analítica

7.3.2.3.3 Multiagitador magnético

7.3.2.3.4 Agitador individual

7.3.2.3.5 Horno de convección

7.3.2.3.6 Desecadora

7.4 Método y análisis de resultados:

7.4.1 Diseño de la Investigación

Para la validación del método analítico “Determinación Cuantitativa de Yodo en sal fortificada con yodato. Método titrimétrico”, se realiza un estudio de tipo cuantitativo. Previo a lo cual se debe realizar la verificación del cumplimiento de los requisitos técnicos y documentación necesaria que respalde la calibración del equipo y material volumétrico a utilizar en la realización del método analítico, indispensable para la validación del mismo, siguiendo el formato establecido en el anexo No.1. Una vez hecho esto, se inicia la respectiva revisión bibliográfica del documento normativo OGA-GEC 016 “Política de Selección y Validación de Métodos de Ensayo”, emitido por la Organización de Acreditación de Guatemala (OGA), para la estandarización de métodos analíticos. Todo esto para poder definir los parámetros a evaluar en la validación del método de ensayo.

Ya que el método a validar fue tomado del Manual para el Monitoreo Externo de la Yodación de la sal en operaciones a pequeña escala (INCAP 2007, p. 5-10), se trata de

un método no normalizado, por lo que se realiza la validación del mismo de acuerdo a dicho tipo de método. Para lo cual se debe elaborar un protocolo de validación tomando en cuenta los parámetros de: linealidad, exactitud, precisión (repetibilidad y reproducibilidad), especificidad, incertidumbre, límite de detección, límite de cuantificación, robustez y rango. Además de establecer el procedimiento de evaluación de dichos parámetros, la documentación de los resultados obtenidos y los criterios de aceptación respectivos.

El presente es un estudio cuasi experimental, ya que carece de aleatorización de muestras a categorías de comparación.

7.4.2 Preparación y obtención de muestras de análisis

7.4.2.1 Preparación y tratamiento de las soluciones madre de yodato de potasio (KIO₃) 0.172 mg/mL:

Para la evaluación de los parámetros de linealidad, exactitud, precisión, robustez, límite de detección y límite de cuantificación se utiliza una solución madre de yodato de potasio a una concentración de 0.172 mg/mL. La cual será útil para la fortificación de las muestras a analizar y la preparación de las diluciones de la misma.

Para la preparación de la solución madre se debe colocar en un crisol con tapadera una porción de yodato de potasio grado reactivo y secar en un horno a 120°C, por una hora. Luego sacar el crisol del horno y colocar en desecadora para enfriarlo. Pesar con exactitud 0.043 g de yodato de potasio en balanza analítica y disolver en un balón aforado de 250 mL. Aforar a volumen con agua desmineralizada y almacenar en frasco oscuro.

7.4.2.2 Preparación y tratamiento de las muestras de sal:

El procedimiento para la preparación y el tratamiento de las muestras es el siguiente:

Pesar 50 gramos de sal (sin contenido de yodato) en un beaker de 400 mL. Luego disolver con aproximadamente 150 mL de agua desmineralizada.

Transferir cuantitativamente esta solución a un balón aforado de 250 mL y agregar la cantidad deseada de solución de yodato de potasio (ya sea solución madre de yodato de potasio 0.172 mg/mL o una de sus diluciones) para fortificar. Llevar el balón a volumen con agua desmineralizada, y con una pipeta volumétrica trasvasar una alícuota de 50 mL a un Erlenmeyer con tapón esmerilado de 250 mL. Agregar a este 1 mL de solución de ácido sulfúrico 2 N (medidos con pipeta volumétrica), mezclar. Luego agregar 5 mL de solución de yoduro de potasio al 10% (usando pipeta volumétrica). Tapar el Erlenmeyer y dejarlo en reposo por 10 minutos en la oscuridad.

Titular la solución siguiendo lo establecido en el procedimiento analítico de “Determinación Cuantitativa de Yodo en sal fortificada con yodato. Método titrimétrico” numeral 1.1.2 inciso “a” al “i” del procedimiento (ver anexo No.2).

7.4.3 Análisis e interpretación de resultados para la validación del método analítico:

7.4.3.1 Linealidad:

Procedimiento: se preparan dos soluciones madre A y B con una concentración igual a 0.172 mg/mL de yodato de potasio (como lo indica en el inciso 6.4.2.1). Y a partir de cada una de éstas se preparan nueve diluciones a concentraciones de 1%, 12.5%, 25%, 50%, 75%, 100%, 125%, 150%, 250% respecto a la concentración de la solución de trabajo de yodato de potasio de 0.688 mg/mL. Se procede a preparar 9 submuestras de una muestra de sal sin contenido de yodato (según se indica en el inciso 6.4.2.2), fortificando cada una con las diluciones de la solución madre de yodato de potasio previamente preparadas, analizando cada submuestra por duplicado, obteniendo un total de dieciocho determinaciones en total para cada una de las soluciones madre A y B. Luego, calcular el contenido de yodo obtenido en las diferentes diluciones.

Documentación: Se reporta el valor teórico y el valor del ensayo. Se realiza la gráfica de dispersión colocando en el eje de las “x” la concentración teórica en partes por millón (ppm) y en el eje de las “Y” el resultado de la concentración

de yodo encontrado en cada una de las determinaciones realizadas para cada solución madre (A y B). Calcular la ecuación de la recta $Y = a + bx$, el coeficiente de correlación (r) para evaluar la relación entre la concentración teórica y concentración experimental; y el coeficiente de determinación (r^2) para evaluar si la ecuación de la recta explica la mayor cantidad del error experimental. Realizar el análisis de varianza de la regresión lineal para determinar si esta tiene un valor pronóstico y realizar el test para evaluar el intercepto y la pendiente poblacional de la recta de la regresión, por medio de una T de Student, para una significancia del 5%.

Criterio de aceptación: el coeficiente de correlación (r) de la regresión lineal debe ser mayor o igual a 0.99 y coeficiente de determinación (r^2) debe ser mayor o igual a 0.98 (OGA, 2007, p.23). El análisis de varianza de la regresión lineal debe demostrar el valor explicativo de la concentración teórica del analito (significancia = 0.05); además se debe evaluar el paso del intercepto por cero, $\alpha = 0$ (siendo α el intercepto), mediante el test de "t" de Student (significancia = 0.05) y que la pendiente β es diferente de cero (siendo β la pendiente) con otra prueba de T de Student a un nivel de significancia de 0.05.

7.4.3.2 Exactitud:

Procedimiento: se determina realizando tres series de diez determinaciones independientes, cada una fortificada con tres diferentes niveles de concentración de yodato de potasio (50%, 100% y 150%) respecto de la concentración de la solución de trabajo (0.688mg/mL).

Documentación: reportar el valor teórico, el valor del ensayo y el porcentaje de recuperación para cada una de las muestras. Calcular el promedio de las diez determinaciones para las tres distintas concentraciones de yodato de potasio, la desviación estándar y el coeficiente de variación para cada concentración y para las treinta determinaciones en total. Aplicar la t de Student con un nivel de significancia del 5% para comparar el promedio de los valores de cada concentración contra el valor teórico de 100% (Vázquez, V., y

Aguirre, R., 2011, p.2). Y elaborar un intervalo de confianza al 95% para el porcentaje de recuperación y compararlo con el rango de aceptación.

Criterio de aceptación: el coeficiente de variación debe ser menor o igual a 3% (Makhumula, P., 2007, p.23). Para la prueba de hipótesis nula de la media $\mu = 100\%$, el valor p debe ser mayor o igual al nivel de significancia para no rechazar la hipótesis nula (Vázquez, V., y Aguirre, R., 2011, p.2). Y el intervalo de confianza al 95% del porcentaje de recuperación debe encontrarse entre un rango del 90 al 110% del valor teórico (OGA, 2007, p.21).

7.4.3.3 Precisión - repetibilidad:

Procedimiento: para su evaluación se realizan diez determinaciones distintas bajo las mismas condiciones de trabajo a partir de una muestra de sal libre de yodato, fortificando cada submuestra con 4 mL de la solución madre de yodato de potasio de concentración igual a 0.172 mg/mL.

Documentación: reportar el valor teórico y el valor del ensayo para cada una de las muestras. Calcular el promedio de las diez determinaciones, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

Criterio de aceptación: el coeficiente de variación debe ser menor o igual a 3% (Makhumula, P., 2007, p.23).

7.4.3.4 Reproducibilidad:

Procedimiento: tomando en cuenta que la reproducibilidad evalúa el grado de concordancia entre los resultados de mediciones del mismo mesurando realizadas en diferentes condiciones de medición, se estima según la práctica que los factores o condiciones que pueden afectar los resultados determinados por el método en cuestión son: el analista, la bureta a utilizar y el día de trabajo en el cual se realice el análisis. Por lo tanto para evaluar dicho parámetro de desempeño se debe proceder a realizar un análisis de varianza para un diseño factorial con el fin de determinar si existe variación significativa entre los tres factores.

Para el análisis factorial se precisan por lo tanto $2 \times 2 \times 4 = 16$ experiencias, que al realizarse por triplicado se convertirán en 48. Ya que se utilizan para el análisis dos analistas, dos buretas distintas y cuatro días de trabajo diferentes. Las experiencias se deben realizar utilizando una misma muestra de sal libre de yodato la cual se fortificará a una concentración conocida del 75%, respecto a la concentración de la solución de trabajo de yodato de potasio de 0.688 mg/mL.

Documentación: reportar el valor teórico y el valor del ensayo, el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación para cada factor. Realizar el análisis de varianza para un diseño factorial con un nivel de confianza del 95%.

Criterio de aceptación: el coeficiente de variación debe ser menor o igual al 3% (Makhumula, P., 2007, p.23). Para que haya reproducibilidad, el análisis de varianza para el diseño factorial debe demostrar que no existen diferencias significativas para los tres factores con un $\alpha = 0.05$. Los intervalos de confianza de cada nivel de cada factor deben traslaparse entre sí, es decir no mostrar independencia.

Si algún factor presenta diferencia significativa, se recomienda analizar el caso tomando las respectivas medidas correctivas y si es posible re-evaluarlo (realizando diez determinaciones solamente bajo el factor problema).

7.4.3.5 Incertidumbre:

Procedimiento: para el cálculo de la incertidumbre se utiliza el criterio de incertidumbre expandida es igual a: ± 2 (Desviación estándar de la reproducibilidad). Con un factor de cobertura K igual a 2 y un nivel de confianza del 95%.

7.4.3.6 Especificidad:

Procedimiento: se debe evaluar mediante la realización de diez diferentes determinaciones a partir de una muestra de sal libre de yodato, las cuales no se fortificarán con solución madre de yodato de potasio.

Documentación: reportar el promedio del valor teórico y el valor del ensayo.

Criterio de aceptación: los resultados de las diez determinaciones deben indicar un valor de cero partes por millón (0 ppm).

7.4.3.7 Rango:

Procedimiento: debido a que el rango se define como el intervalo que hay entre la concentración máxima y la concentración mínima del analito (en este caso yodato) que se puede determinar con un nivel adecuado de precisión, exactitud y linealidad utilizando el método en cuestión, el rango de trabajo de este método se determina a partir de los resultados que se obtengan de evaluar el parámetro de linealidad del mismo.

Documentación: con base en los resultados obtenidos al evaluar la linealidad del método, calcular el coeficiente de variación para cada nivel de concentración de 1%, 12.5%, 25%, 50%, 75%, 100%, 125%, 150%, 250% respecto a la concentración de la solución de trabajo de yodato de potasio de 0.688 mg/mL. Obtener el gráfico de perfil de precisión graficando los coeficientes de variación (en el eje de las "y") en función de los niveles de concentración (en el eje de las "x").

Criterio de aceptación: al menos el 90% de los puntos debe estar debajo del 3% del coeficiente de variación (CV), el resto puede estar fuera de dicho criterio solo si es de los extremos (Hockl, P. F. s.f., p. 11).

7.4.3.8 Robustez:

Procedimiento: las variables que se deben evaluar son: la cantidad de almidón a utilizarse en la titulación, la cual se cambiará de 2 mL a 1 mL; y el tiempo en que la muestra se almacena en la oscuridad previo a ser titulada, el cual se hará variar de 10 minutos a 5 minutos.

Para evaluar la variable de la cantidad de almidón, se llevan a cabo veinte determinaciones independientes a partir de una muestra de sal libre de yodato, fortificando cada submuestra con 4 mL de la solución madre de yodato

de potasio de concentración igual a 0.172 mg/mL. Tomando en cuenta que al momento de titular, se agregarán a diez de las muestras 2 mL de solución de almidón, y a las otras diez se agregará 1 mL de la misma solución de almidón.

Para evaluar la variable de tiempo de almacenamiento en la oscuridad, se realizan veinte determinaciones independientes a partir de una muestra de sal libre de yodato, fortificando cada submuestra con 4 mL de la solución madre de yodato de potasio de concentración igual a 0.172 mg/mL. Tomando en cuenta que, previo a titular cada submuestra, se dejan reposar diez de las muestras por diez minutos en la oscuridad, y las otras diez por cinco minutos.

Documentación: reportar el valor teórico y el valor del ensayo para cada una de las muestras. Calcular el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación de resultados obtenidos al evaluar las dos diferentes variables (cantidad de almidón y tiempo de reposo en la oscuridad) Aplicar la *t* de Student para significancia = 0.05, para los resultados obtenidos en cada evaluación de cambio de condiciones. Y elaborar un intervalo de confianza al 95% de las diferencias de cada una de las diferentes condiciones evaluadas.

Criterio de aceptación: el coeficiente de variación debe ser menor o igual al 3% (Makhumula, P., 2007, p.23). Para la prueba de hipótesis nula de la media de cada condición, según la cantidad de almidón adicionada, $\mu_{\text{concentración condición A}} = \mu_{\text{concentración condición B}}$ (siendo la condición A la cantidad de almidón adicionada de 2 mL y la condición B la cantidad de almidón adicionada de 1 mL), el valor *p* debe ser mayor o igual al nivel de significancia de manera que no existan diferencias significativas entre las medias obtenidas para las distintas condiciones (Vázquez, V., y Aguirre, R., 2011, p.2). Para la prueba de hipótesis nula de la media de cada condición, según el tiempo que se almacena la muestra previo a ser titulada, $\mu_{\text{concentración condición C}} = \mu_{\text{concentración condición D}}$ (siendo la condición C el tiempo de almacenamiento de la muestra de 5 minutos y la condición D el tiempo de almacenamiento de la muestra de 10 minutos), el valor *p* debe ser mayor o igual al nivel de significancia de manera que no existan diferencias significativas entre las medias obtenidas para las distintas

condiciones (Vázquez, V., y Aguirre, R., 2011, p.2). Y los intervalos de confianza del 95% de la diferencia entre la condición A y la condición B, deben incluir al valor cero; así mismo, los intervalos de confianza del 95% de la diferencia entre la condición C y la condición D deben incluir al cero.

7.4.3.9 Límite de detección:

Procedimiento: realizar diez determinaciones independientes a partir de una muestra de sal libre de yodato, no fortificar con solución madre de yodato de potasio.

Por otro lado, a partir de una muestra de sal libre de yodato, enriquecer diez diferentes submuestras con la concentración más baja aceptada del método (la cual será establecida al realizar la evaluación del parámetro de linealidad del método). Y proceder a determinar la concentración de yodo en cada una de ellas, utilizando el método que se desea validar.

Documentación: reportar el valor teórico y el valor del ensayo. Calcula el promedio de las diez determinaciones de las muestras sin fortificar "B" y la desviación estándar de las determinaciones de las muestras fortificadas con yodato "S". Determinar el límite de detección, utilizando la siguiente fórmula:

$$LD = B + 3.3 S$$

Criterio de aceptación: no hay un límite de detección mínimo.

7.4.3.10 Límite de Cuantificación:

Procedimiento: realizar diez determinaciones independientes a partir de una muestra de sal libre de yodato, no fortificar con solución madre de yodato de potasio.

Por otro lado, a partir de una muestra de sal libre de yodato, enriquecer diez diferentes submuestras con la concentración más baja aceptada del método (la cual será establecida al realizar la evaluación del parámetro de linealidad del

método). Y proceder a determinar la concentración de yodo en cada una de ellas, utilizando el método que se desea validar.

Documentación: reportar el valor teórico y el valor del ensayo. Calcula el promedio de las diez determinaciones de las muestras sin fortificar "B" y la desviación estándar de las determinaciones de las muestras fortificadas con yodato "S". Determinar el límite de detección, utilizando la siguiente fórmula:

$$LC = B + 10 S$$

Criterio de aceptación: no hay un límite de cuantificación mínimo.

8. RESULTADOS

A. REQUISITOS TÉCNICOS Y DOCUMENTACIÓN

Para realizar la verificación de los requisitos técnicos y la documentación que respalda la calificación del equipo y cristalería involucrada en la realización del método para determinación de yodo como yodato en sal de consumo humano, utilizado en el Laboratorio Nacional de Salud, se siguió el formato expuesto en el **anexo No.1**. Para lo cual se obtuvieron los resultados presentados en el **anexo No.2** y **anexo No.3**.

B. LINEALIDAD

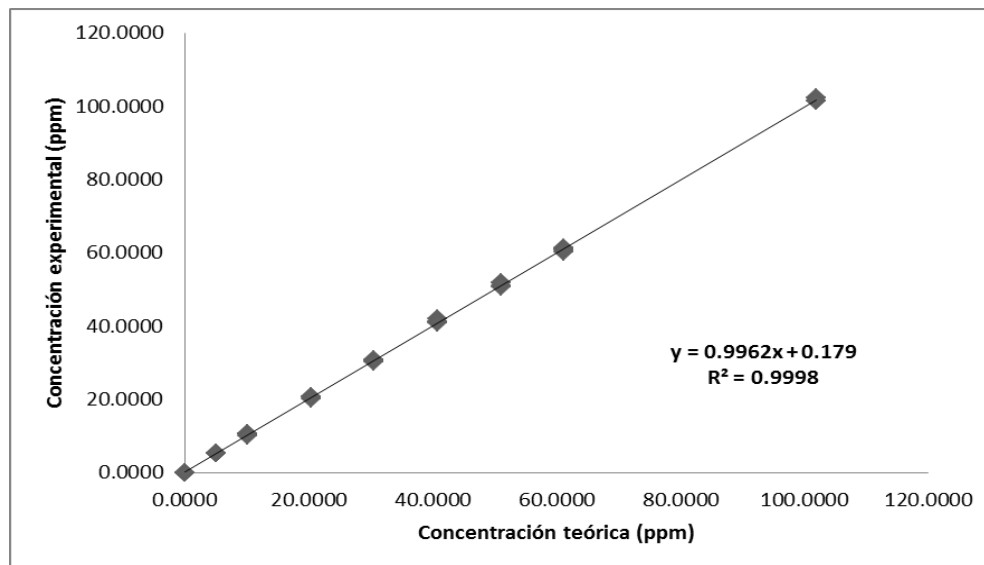
Tabla No.1: Resumen de resultados para evaluación de Linealidad

Concentración teórica (ppm)	Concentración teórica (%)	PROMEDIO Concentración experimental (ppm)	Desviación estándar	CV %
0.1020	1	0	0	----
5.09971	12.5	5.308	0.0034641	0.065262
10.1994	25	10.5712	0.24759245	2.342135
20.3989	50	20.5696	0.22012628	1.070152
30.5983	75	30.6529	0.31068164	1.013547
40.7978	100	41.1394	0.44278056	1.076293
50.99719	125	51.262	0.62158443	1.212564
61.19663	150	60.775405	0.53950145	0.887697
101.9944	250	101.73196	0.53755929	0.528407

FUENTE: Base de datos experimentales.

Para el parámetro de linealidad se trabajó el analito en un rango de concentraciones del 1% al 250% con respecto a la solución de trabajo (0.688mg/mL), cuyo resumen de los resultados se muestran en la tabla No.1. En la gráfica No.1 se muestra el gráfico de dispersión de los mismos.

Gráfica No.1: Relación de la concentración teórica y la concentración experimental de la determinación cuantitativa de yodo en sal fortificada con yodato ($n \cdot k = 4 \cdot 8$)¹.



FUENTE: organización, tabulación y análisis de datos en Excel.

NOTA: se excluyó del análisis las muestras con la concentración teórica de 0.1020 ppm, debido a que la respuesta observada fue siempre igual a cero.

¹ $n \cdot k$: "n" representa el número de sujetos que componen la muestra y "k" es el número de grupos en los que se agrupa la muestra.

De acuerdo con la metodología propuesta para la evaluación de la linealidad se calculó el coeficiente de correlación y el coeficiente de determinación. Así como también se realizó el análisis de varianza de la regresión lineal y la prueba de T de Student para evaluar el intercepto y la pendiente poblacional de la recta de la regresión. Los resultados se muestran en la tabla No.2.

Tabla No.2: Análisis de correlación para evaluar la linealidad de la relación de la concentración teórica y la concentración experimental de la determinación cuantitativa de yodo en sal fortificada con yodato ($n*k = 4*8$)¹.

Análisis realizado	Estadístico	Valor	Criterio	Dictamen
Correlación	Coefficiente de correlación de Pearson	0.9999	≥ 0.99	Cumple
Regresión	Coefficiente de determinación	0.9998	≥ 0.98	Cumple
	Análisis de varianza de la regresión lineal	Valor p = 0.0000 con 34 gl	Ho debe rechazarse	Cumple
	Prueba de T: pendiente poblacional = 0	Valor p = 0.0000	Ho debe rechazarse	Cumple
	Intercepto poblacional = 0	Valor p = 0.1074	Ho puede o no rechazarse	Cumple

FUENTE: Base de datos experimentales, análisis en Excel y Megastat

¹ n*k: "n" representa el número de sujetos que componen la muestra y "k" es el número de grupos en los que se agrupa la muestra.

C. EXACTITUD

Tabla No.3: Resumen de resultados para evaluación de Exactitud

Concentración %	Promedio (ppm)	Desviación estándar	CV %
50%	20.7850	0.0000	0.0000
100%	41.0266	0.3564	0.8686
150%	60.4113	0.4226	0.6995

FUENTE: Base de datos experimentales.

Para la evaluación del parámetro de exactitud se realizaron tres series de diez determinaciones independientes, cada una fortificada con tres diferentes niveles de concentración (50%, 100% y 150%). Y se calculó el promedio para las tres distintas concentraciones de yodato de potasio, lo cual se muestra en la tabla No.3.

Tabla No.4: Evaluación de la exactitud de la determinación cuantitativa de yodo en sal fortificada con yodato ($n*k = 10*3$)¹

Concentración %	Promedio % de recuperación	Desviación estándar	CV %	IC 95%		Rango de aceptación	Dictamen
				Lim. Inf.	Lim. Sup		
50%	101.8929	-	-	-		Valores o intervalo de confianza entre 90 - 110 %	Cumple
100%	100.5609	0.8735	0.868638	99,936	101,186		Cumple
150%	98.7166	0.6905	0.699458	98,27	99,261		Cumple

FUENTE: Base de datos experimentales, análisis en Excel y Megastat

Según la metodología propuesta, se elaboró un intervalo de confianza al 95% para el porcentaje de recuperación de yodato de potasio, cuyos resultados se muestran en la tabla No.4. Y en la tabla No.5 se muestran los resultados de la prueba de T de Student con un nivel de significancia del 5% para comparar el promedio de los valores de cada concentración de yodato de potasio (mostrado en la tabla No.3) contra el valor teórico de 100%.

¹ n*k: "n" representa el número de sujetos que componen la muestra y "k" es el número de grupos en los que se agrupa la muestra.

Tabla No.5: Prueba de T para evaluar la exactitud de la determinación cuantitativa de yodo en sal fortificada con yodato ($n*k = 10*3$)¹

Concentración %	Valor p prueba t dos colas	Dictamen
50%	No hubo variación	No aplica
100% a 150%	0.2003	Cumple

FUENTE: Base de datos experimentales, análisis en Excel y Megastat

D. PRECISIÓN – REPETIBILIDAD

Tabla No.6: Resumen de resultados y evaluación de la precisión – repetibilidad de la determinación cuantitativa de yodo en sal fortificada con yodato

No. Muestras	Promedio (ppm)	Desviación estándar	CV	Criterio de aceptación	Dictamen
10	40.1968	0.2207	0.5491	CV < 3%	Cumple

FUENTE: Base de datos experimentales, análisis en Excel

Para el parámetro de repetibilidad se realizaron diez determinaciones distintas bajo las mismas condiciones de trabajo fortificadas a una concentración de 40.7978 ppm. El resumen de los resultados se muestra en la tabla No.6.

¹ $n*k$: “n” representa el número de sujetos que componen la muestra y “k” es el número de grupos en los que se agrupa la muestra.

E. REPRODUCIBILIDAD

Tabla No.7: Resumen de resultados y evaluación de la reproducibilidad de la determinación cuantitativa de yodo en sal fortificada con yodato (n = 48)¹

Factor evaluado	Categorías del factor	Media	Error típico	Coeficiente de variación	Intervalo de confianza al 95%.	
					Límite inferior	Límite superior
Analista	1	30.8682	0.31543	0.35%	30.7351	31.0014
	2	30.7133	0.32281		30.577	30.8496
Bureta	A	30.8018	0.29549	0.05%	30.677	30.9266
	B	30.7798	0.35869		30.6283	30.9312
Día	1	30.7625	0.35701	0.38%	30.5357	30.9893
	2	30.6734	0.33286		30.4619	30.8849
	3	30.7732	0.30542		30.5791	30.9672
	4	30.9541	0.27430		30.7798	31.1284

FUENTE: Base de datos experimentales, análisis en Excel y SPSS 19.

Para el parámetro de reproducibilidad se realizó un análisis factorial tomando en cuenta los factores: analista, día de trabajo y bureta. El resumen de los resultados se muestra en la tabla No.7 y los resultados del análisis de varianza factorial se muestran en la tabla No.8.

¹ n: representa el número de sujetos que componen la muestra.

Tabla No.8: Análisis de varianza factorial para la evaluación de la reproducibilidad de la determinación cuantitativa de yodo en sal fortificada con yodato (n = 48)¹

Fuente	gl	Media cuadrática	F	Valor p
Analista	1	0.288	2.699	0.110
Bureta	1	0.006	0.055	0.817
Día	3	0.166	1.558	0.219
Analista * Bureta	1	0.053	0.499	0.485
Analista * Día	3	0.052	0.489	0.693
Bureta * Día	3	0.116	1.087	0.369
Analista * Bureta * Día	3	0.069	0.650	0.589

FUENTE: Base de datos experimentales, análisis en Excel y SPSS 19.

F. ESPECIFICIDAD:

Tabla No. 9: Resumen de resultados y evaluación de la especificidad de la determinación cuantitativa de yodo en sal fortificada con yodato

No. Muestras	Promedio concentración experimental (ppm)	Promedio concentración teórica (ppm)	Criterio de cumplimiento	Dictamen
10	0.0000	0.0000	Todos los resultados = 0 ppm	Cumple

FUENTE: Base de datos experimentales, análisis en Excel

Para la evaluación del parámetro de especificidad se realizaron diez diferentes determinaciones a partir de una muestra de sal libre de yodato, las cuales no se fortificaron con el analito. El resumen de los resultados se describe en la tabla No.9, habiéndose calculado el promedio de las determinaciones.

¹ n: representa el número de sujetos que componen la muestra.

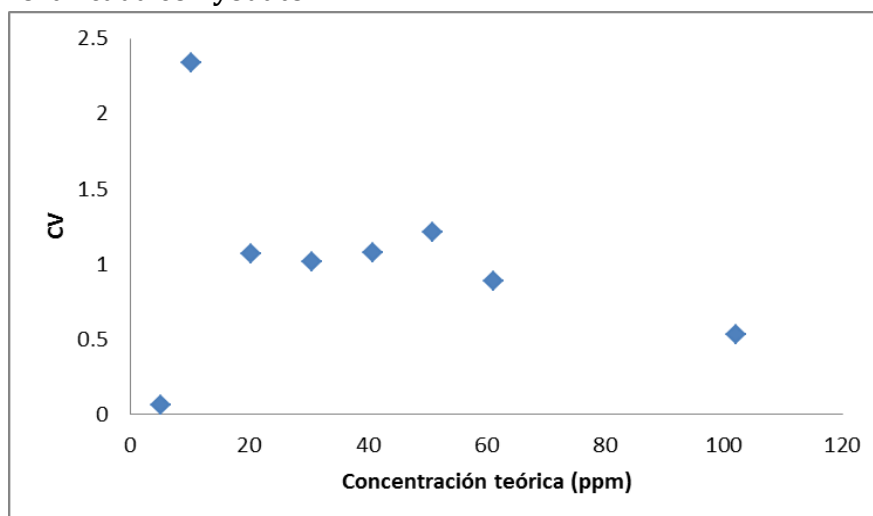
G. RANGO:

Tabla No. 10: Evaluación de Rango de la determinación cuantitativa de yodo en sal fortificada con yodato

Concentración teórica (ppm)	CV	Criterio de cumplimiento	Dictamen
5.09971	0.0653	CV < 3%	El rango cumple
10.1994	2.3421		
20.3989	1.0702		
30.5983	1.0135		
40.7978	1.0763		
50.99719	1.2126		
61.19663	0.8877		
101.9944	0.5284		

FUENTE: Base de datos experimentales, análisis en Excel

Gráfica No. 2: Concentración teórica contra coeficiente de variación para la evaluación del rango de la determinación cuantitativa de yodo en sal fortificada con yodato.



FUENTE: Base de datos experimentales, análisis en Excel

El rango de trabajo se determinó a partir del coeficiente de variación para cada nivel de concentración evaluada en el parámetro de linealidad. Los resultados se muestran en la tabla No. 10 y el gráfico de perfil de precisión de los mismos se muestra en la gráfica No.2.

H. ROBUSTEZ:

Tabla No. 11: Resumen de resultados obtenidos para evaluación de robustez.

Categoría del factor		No. Muestras	Concentración teórica (ppm)	Promedio Concentración experimental (ppm)	Desviación estándar	CV%
Cantidad de almidón (mL)	1	10	40.7978	40.9738	0.369181	0.863882
	2	10		41.0266	0.356373	
Tiempo de reacción (min)	5	10		41.6882	0.223046	1.078394
	10	10		41.0266	0.356373	

FUENTE: Base de datos experimentales.

Tabla No. 12: Evaluación de la robustez de la determinación cuantitativa de yodo en sal fortificada con yodato, evaluando tiempo de reacción y cantidad de almidón, ($n*k= 10*2$, para cada evaluación)¹, prueba de t de Student con un nivel de confianza del 95%

Factores evaluados	Categorías del factor	Media	Desv. Est.	CV	Valor p t de 2 colas	IC de la diferencia 95%		Criterio de cumplimiento	Dictamen
						Lim. Inf.	Lim. Sup.		
Tiempo de reacción	10 minutos	41.0266	0.3564	1.0784	0.0001	-0.1882	-0.0765	Ho se acepta e intervalo incluye valor 0	No cumple
	5 minutos	41.6882	0.2230						
Cantidad de almidón	1 mL de almidón	40.9738	0.3692	0.8639	0.7486	-0.0787	0.0576	Ho se acepta e intervalo incluye valor 0	Cumple
	2 mL de almidón	41.0266	0.3564						

FUENTE: Base de datos experimentales, análisis en Excel y Megastat

En la evaluación del parámetro de robustez se tomaron en cuenta dos factores (tiempo de reacción y cantidad de almidón), cada uno dividido en dos categorías, realizándose diez determinaciones para cada una. Se determinó el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación, lo cual se muestra en la tabla No.11. Se aplicó una prueba de T de Student a los resultados ($p < 0.05$) y se elaboró un intervalo de confianza al 95% de las diferencias de cada una de las categorías de los factores evaluados, cuyos resultados se muestran en la tabla No. 12.

¹ $n*k$: "n" representa el número de sujetos que componen la muestra y "k" es el número de grupos en los que se agrupa la muestra.

I. LÍMITE DE DETECCIÓN:

Tabla No. 13: Resultados obtenidos para evaluación de Límite de Detección

No. Muestra	Concentración experimental (ppm)	Concentración teórica (ppm)	Promedio	Desviación estándar	CV%
1	5.2525	5.0997	5.2525	9.36222E-16	1.78244E-14
2	5.2525	5.0997			
3	5.2525	5.0997			
4	5.2525	5.0997			
5	5.2525	5.0997			
6	5.2525	5.0997			
7	5.2525	5.0997			
8	5.2525	5.0997			
9	5.2525	5.0997			
10	5.2525	5.0997			

FUENTE: Base de datos experimentales.

Para la determinación del límite de detección, se realizaron diez determinaciones a la concentración más baja aceptada del método, cuyos resultados se muestran en la tabla No.13. Debido a que la desviación estándar y por ende el coeficiente de variación presentaron valores muy bajos (prácticamente cero), se procedió a realizar el análisis para determinar el límite de detección utilizando la desviación estándar residual de la línea de regresión (σ) y la pendiente de la curva (S). Lo cual se muestra en la siguiente tabla:

Tabla No. 14: Límite de detección de la determinación cuantitativa de yodo en sal fortificada con yodato ($n*k = 4*9$)¹

Desviación Estándar Residual	Pendiente de la curva	Límite de detección (ppm)
0.41645	0.9962	1.3796

FUENTE: Base de datos experimentales, análisis en Excel

$$\text{Límite de detección} = 3.3\sigma / S$$

¹ n*k: "n" representa el número de sujetos que componen la muestra y "k" es el número de grupos en los que se agrupa la muestra.

J. LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

Tabla No. 15: Resultados obtenidos para evaluación de Límite de Cuantificación

No. Muestra	Concentración experimental (ppm)	Concentración teórica (ppm)	Promedio	Desviación estándar	CV%
1	5.2525	5.0997	5.2525	9.36222E-16	1.78244E-14
2	5.2525	5.0997			
3	5.2525	5.0997			
4	5.2525	5.0997			
5	5.2525	5.0997			
6	5.2525	5.0997			
7	5.2525	5.0997			
8	5.2525	5.0997			
9	5.2525	5.0997			
10	5.2525	5.0997			

FUENTE: Base de datos experimentales.

Para la estimación del límite de cuantificación, se realizaron diez determinaciones a la concentración más baja aceptada del método, cuyos resultados se muestran en la tabla No.15. Debido a que la desviación estándar y por ende el coeficiente de variación presentan valores muy bajos (prácticamente cero), se procedió a realizar el análisis para determinar el límite de cuantificación utilizando los residuales de la curva de calibración. Lo cual se muestra en la siguiente tabla:

Tabla No. 16: Límite de cuantificación de la determinación cuantitativa de yodo en sal fortificada con yodato ($n*k = 4*9$)¹

Desviación Estándar residual	Pendiente de la curva	Límite de detección (ppm)
0.085337206	0.996	4.1805

FUENTE: Base de datos experimentales, análisis en Excel.

$$\text{Límite de cuantificación} = 10\sigma / S$$

¹ n*k: "n" representa el número de sujetos que componen la muestra y "k" es el número de grupos en los que se agrupa la muestra.

K. INCERTIDUMBRE

Tabla No. 17: Evaluación de la incertidumbre expandida de la determinación cuantitativa de yodo en sal fortificada con yodato, factor de cobertura $k=2$ y 95% de confianza ($n = 10$)

Desviación estándar de la reproducibilidad	Incertidumbre expandida
± 0.3253 ppm	± 0.6506 ppm

FUENTE: Base de datos experimentales, análisis en Excel

Para la determinación de la incertidumbre se utilizó el criterio de incertidumbre expandida, la cual es igual a: ± 2 (desviación estándar de la reproducibilidad). Con un factor de cobertura K igual a 2 y un nivel de confianza del 95%. Los resultados se muestran en la tabla No. 17.

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Debido a la aplicabilidad e importancia del método titrimétrico para determinación de yodo como yodato en sal fortificada de consumo humano en el Laboratorio Nacional de Salud, fue necesario evaluar las características de desempeño del mismo, corroborando que éstas satisfacen los requisitos para su aplicación analítica. No sin antes verificar el cumplimiento de los requisitos técnicos y documentación necesaria que respalde la calibración del equipo y material volumétrico a utilizar en la realización del método analítico, para lo cual se obtuvieron resultados satisfactorios cumpliendo con los requerimientos establecidos (ver anexo No.1, 2 y 3).

Posteriormente, para establecer los parámetros de desempeño del método en cuestión, se realizó una revisión bibliográfica de: la Norma Técnica Guatemalteca COGUANOR NGR ISO/IEC 17025 “Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración”; la “Política de Selección y Validación de Métodos de Ensayo” OGA-GEC-016; el Protocolo de Validación de métodos analíticos, utilizado en el LNS; y el Manual para el monitoreo interno de la sal fortificada con yodo, emitido por el INCAP. Definiendo finalmente los siguientes parámetros: linealidad, exactitud, precisión, reproducibilidad, rango, robustez, límite de detección, límite de cuantificación e incertidumbre. Los cuales posteriormente se evaluaron mediante los respectivos ensayos de laboratorio.

El método demostró ser lineal dentro del rango de concentraciones del 12.5% al 250% (0.1020ppm a 101.9944ppm) respecto a la concentración de la solución de trabajo de yodato de potasio de 0.688 mg/mL (ver tabla No.1), ya que los resultados cumplieron con los criterios de aceptación establecidos. Según la gráfica No.1 se observa, en la muestra del estudio, una fuerte relación lineal entre la concentración teórica y la concentración experimental, la cual se confirmó con el valor del coeficiente de correlación ($r \geq 0.99$). El coeficiente de determinación (r^2) indica que el modelo matemático de regresión lineal, representado por la ecuación $y = 0.996x + 0.179$ explica más del 99.98% del error entre los datos experimentales y el modelo teórico. Al realizar un análisis de varianza para la regresión (según el valor p encontrado) se observa que la variable independiente tiene un valor explicativo estadísticamente significativo (valor $p <$ nivel de significancia) para la variable dependiente. Finalmente al evaluar la significancia de la pendiente, se observó que en la población de la que se extrajeron las muestras hay suficiente evidencia para descartar la

hipótesis nula ($H_0: \beta = 0$), por lo tanto existe una relación lineal entre las variables (ver tabla No.2). Es importante mencionar que se excluyó del análisis la concentración del 1% (0.1020ppm), debido a que la respuesta fue siempre igual a cero. Es decir, que al momento de agregar los respectivos reactivos para la titulación de dichas muestras, no se pudo observar la coloración característica de la reacción del analito (formación del complejo coloreado del yodo con el almidón en un exceso de ión yoduro) y por lo tanto no se pudo determinar por medio de la titulación redox la concentración de la misma.

Al realizar el análisis de exactitud del método se pudo observar (según tabla No.4), que para los niveles de concentración de 100% y 150% (40.7978 y 61.19663ppm respectivamente), el promedio del porcentaje de recuperación y/o el intervalo de confianza del 95% estaba dentro del rango de aceptación (90 – 110%). En la tabla No.5, también se puede observar que para dichos niveles de concentración, al aplicar una prueba de t de Student contra un valor conocido, se aceptó la hipótesis nula, la cual indica que en la población de la que se extrajo la muestra, la media del porcentaje de recuperación es del 100%. Sin embargo, para el nivel de concentración del 50% no se pudo generar un intervalo de confianza ni aplicar otro método inferencial de análisis, más que una prueba binomial, debido a que los resultados no presentaron variación entre sí. Para la prueba binomial, la variable cuantitativa “% de recuperación” se degradó a una variable dicotómica (nominal) que indicaba que la prueba cumplía o no. La prueba binomial, que se muestra en el anexo No.5 (tabla anexo No. 5.4) muestra que para una serie de 10 pruebas, la probabilidad de equivocarse al rechazar la hipótesis nula que indica que 10 aciertos se deban al azar es muy baja ($p < 0.001$). Por tanto, el método se consideró exacto en todos los niveles evaluados y no se dejó afectar por posibles errores sistemáticos de forma significativa - como un montaje experimental deficiente o aparatos de medida mal calibrados - por lo que se pueden obtener valores experimentales muy próximos al valor verdadero.

Para la evaluación del parámetro de precisión del método, el cual indica el grado de concordancia entre las mediciones al hacerlas bajo las mismas condiciones repetidas veces, se dividió en dos fases:

- Precisión – Repetibilidad: se realizaron diez determinaciones a un nivel de concentración del 100% de la solución de trabajo de yodato de potasio, obteniéndose los resultados expuestos en la tabla No. 6. Los cuales indican que, bajo el criterio de del

coeficiente de variación, se cumple con el criterio de aceptación. Es decir, que al realizar diez repeticiones de la misma muestra, el coeficiente de variación es incluso menor del 1%.

- Reproducibilidad: para este parámetro se tomaron en cuenta tres factores diferentes (analista, bureta y día de trabajo), los cuales se evaluaron realizando el análisis de varianza para un diseño factorial con un nivel de confianza del 95%. Según los resultados observados en la tabla No.7, hubo traslape en los intervalos de confianza para las medias de la concentración en función de dichos factores, por lo que se deduce que no hubo diferencia en la población de la que se extrajo la muestra. Y todos los coeficientes de variación fueron menores del 1%. Además, al realizar el análisis factorial (ver tabla No.8) se observó que no hubo diferencia estadísticamente significativa de la media poblacional de la concentración del analito para los factores evaluados. Y tampoco hubo significancia para las interacciones de la variable.

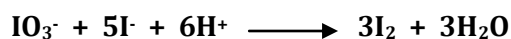
Por lo tanto, ya que el método presentó resultados satisfactorios que cumplen con los criterios de aceptación establecidos en cuanto al parámetro de repetibilidad y reproducibilidad, se deduce que es preciso. Lo cual significa que se puede cuantificar el yodo como yodato en muestras de sal de consumo humano por medio de dicho método, sin influencia significativa de los errores aleatorios provenientes de factores como: diferente analista, diferente bureta (aparato de medición) y diferente día, entre otros. Sin embargo, a pesar de que se lleva un control adecuado de las condiciones ambientales del área de trabajo, sería importante determinar la magnitud del efecto de la temperatura y humedad en el tipo de muestras que se trabajan. Ya que el yodo es un compuesto sensible que a una temperatura mayor de 25°C tiende a evaporarse.

Con respecto a la evaluación de la especificidad del método, siendo esta la capacidad del mismo para determinar inequívocamente el analito (en este caso el yodo) en presencia de otros componentes de la matriz, se obtuvo resultados satisfactorios. Ya que según se puede observar en la tabla No. 9 al realizar diez mediciones de muestras libres de yodato, efectivamente el resultado fue de cero partes por millón. Cumpliéndose así con el parámetro de especificidad del método y comprobándose la ausencia de interferencias analíticas.

Siguiendo con los resultados presentados en la tabla No. 10, se observa que para determinar el intervalo entre el valor máximo y mínimo de la concentración de analito para la cual se

demuestra un nivel de precisión, exactitud y linealidad del método de análisis adecuado, se partió del ensayo de linealidad. En el cual se observó que la respuesta para las muestras con concentración teórica de 0.1020 ppm fue siempre igual a cero; por tanto el rango de análisis para el método en cuestión es de 5.0997ppm a 101.9944 ppm. En este caso, todas las concentraciones presentaron un coeficiente de variación menor al 3% (según se observa en la gráfica No.2), cumpliendo con el criterio de aceptación establecido para este parámetro. Y según el Reglamento para la fortificación de la sal con yodo y flúor (Acuerdo Gubernativo 29-2004), el nivel de adición de yodo a la sal de consumo humano permitido para su fortificación es de 20 a 60ppm. Es decir, que se encuentra dentro del rango determinado en esta prueba, siendo este último incluso más amplio. Permitiendo así la aplicabilidad del método para determinar la correcta fortificación de las muestras referidas al Laboratorio Nacional de Salud (LNS).

La Robustez es uno de los parámetros que provee una indicación de la confiabilidad del método en condiciones de uso normarles, ya que permite estimar la capacidad del método analítico de no ser afectado por pequeñas pero deliberadas variaciones en los parámetros del mismo. Por lo cual, en esta investigación se tomaron en cuenta dos variaciones que consistieron: en la cantidad de almidón adicionada (indicador de la reacción) que varió de uno a dos mililitros, y el tiempo de reacción que fue de cinco y diez minutos. Se puede observar en la tabla No.12 que hubo una variación estadísticamente significativa en cuanto al tiempo en que se almacena la muestra en la oscuridad previo a ser titulada, ya que el intervalo de la diferencia de medias no incluye al valor cero y según el valor “p” evaluado de la prueba de t de dos colas, se rechaza la hipótesis nula que indica que las medias poblacionales de la concentración determinada son iguales cuando el tiempo de almacenamiento es de cinco o diez minutos. Este análisis demuestra que existe cierta probabilidad de que los resultados obtenidos al trabajar con dichos tiempos presenten variación. Sin embargo, si observamos el coeficiente de variación para tales resultados, éste no es significativamente grande (ver tabla No. 11), incluso es menor del 3%. Tomando en cuenta que este periodo de espera luego de adicionar 5mL de yoduro de potasio al 10% y previo a titular la muestra, corresponde a la siguiente reacción:



Donde el yodato en medio ligeramente ácido y con un exceso de yoduro libera yodo, que posteriormente es cuantificado mediante titulación, no necesita demasiado tiempo para que se dé la reacción. Además, el INCAP (2011) presenta en el Manual para el monitoreo de la sal fortificada con yodo un método con el mismo principio que el evaluado en esta investigación, que dicho tiempo de espera luego de agregar el yoduro de potasio al 10% debe ser de cinco minutos. Por lo tanto, se consideran aceptables dichos resultados, ya que la variable no resulta influenciar en gran magnitud a la cuantificación del analito.

Y con respecto a la variable de la cantidad de almidón adicionada, se cumplió con el criterio de aceptación, ya que no hubo variación estadísticamente significativa cuando se agregó un mililitro y dos mililitros de dicho indicador. Es decir, que el almidón permite determinar correctamente el punto final de la titulación al formar un complejo coloreado (azul) en su unión con el ión triyoduro I_3^- (producto de la presencia de un exceso de yoduro en la reacción) indistintamente si la cantidad es de 1 a 2mL a una concentración del 1%. Por lo tanto, se considera que el método es robusto para todos los factores ensayados.

Con respecto al límite de detección, debido a que los resultados para evaluar dicho parámetro no presentaron una desviación estándar significativa (ver tabla No.13), se realizó un cálculo utilizando la desviación estándar de los residuales de la línea de regresión (σ) y la pendiente de la curva (S). Obteniéndose así un límite de detección a una concentración de 1.3796 ppm, que representa la concentración mínima de yodo que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse, bajo condiciones analíticas específicas (ver tabla No.14).

Para estimar el límite de cuantificación, se utilizó la curva de calibración para las muestras séricas y análisis residual. Ya que, al igual que en la determinación del límite de detección, los resultados no presentaron una desviación estándar significativa (ver tabla No.15). Determinándose el límite de cuantificación en una concentración de 4.1805 ppm, siendo ésta la concentración mínima de yodo de una muestra de sal que puede ser cuantificada con una exactitud y precisión aceptable bajo condiciones específicas (ver tabla No.16).

Y finalmente, se determinó la incertidumbre de la medición tomando en cuenta las fuentes de variación: diferente analista, diferente bureta y diferente día de trabajo. Para lo que se obtuvo un valor de ± 0.6506 ppm (ver tabla No. 17). El cual deberá reportarse sumando y restando a los resultados obtenidos por el método en cuestión. Esto significa que es razonable suponer que la dispersión de los resultados se mantiene prácticamente igual para mediciones

realizadas en diferentes días de trabajo, por diferente analista, y haciendo uso de diferente bureta. Sin embargo, no está demás recomendar investigar a largo plazo otras posibles fuentes de incertidumbre que influyan en los resultados analíticos.

10. CONCLUSIONES

- 10.1 El método cumple con las especificaciones requeridas con respecto a los requisitos técnicos y documentación que respalda la calificación del equipo y cristalería involucrada.
- 10.2 Los parámetros de desempeño del método, establecidos mediante la respectiva revisión bibliográfica, son: linealidad, exactitud, precisión, reproducibilidad, incertidumbre, especificidad, rango, robustez, límite de detección y límite de cuantificación.
- 10.3 El método demuestra ser lineal en un rango de concentración del 12.5% al 250% respecto a la concentración de la solución de trabajo de yodato de potasio (0.688 mg/mL).
- 10.4 El método demuestra ser exacto, debido a que la población de la que se extrajo la muestra, la media del porcentaje de recuperación no fue significativamente diferente a 100% ($p > 0.05$).
- 10.5 El método cumple con el criterio de aceptación para el parámetro de repetibilidad, ya que el coeficiente de variación fue menor del 3%.
- 10.6 El método es reproducible ya que no hubo diferencia estadísticamente significativa de la media poblacional de la concentración del analito para los factores evaluados y tampoco hubo significancia para las interacciones de estas variables ($p > 0.05$).
- 10.7 El método demuestra ser específico para el analito de interés, debido a que luego de realizar diez determinaciones de muestras libres de yodato el resultado fue de cero partes por millón.
- 10.8 Se demostró un nivel de precisión, exactitud y linealidad del método de análisis adecuado en un rango de concentración de 5.0997ppm a 101.9944 ppm de yodo, ya que en este intervalo el coeficiente de variación fue menor del 3%.
- 10.9 Se considera que el método es robusto para todos los factores ensayados, ya que no presentó diferencia estadísticamente significativa entre las variables ($p > 0.05$).
- 10.10 La concentración mínima de yodo que puede detectarse por medio del método bajo condiciones analíticas específicas es de 1.3796 ppm.

- 10.11 La concentración mínima de yodo que puede ser cuantificada con una exactitud y precisión aceptable bajo condiciones específicas es de 4.1805 ppm.
- 10.12 Se determinó que la incertidumbre de la medición, con un factor de cobertura de 2 y un nivel de confianza del 95%, es ± 0.6506 ppm tomando en cuenta las fuentes de variación evaluadas (diferente analista, diferente bureta y diferente día de trabajo).

11. RECOMENDACIONES

- 11.1 Investigar sobre el efecto que tienen las condiciones ambientales, tales como temperatura y humedad, en las muestras de sal fortificada con yodo, tomando en cuenta que es un compuesto sensible que a una temperatura mayor de 25°C tiende a evaporarse.
- 11.2 Investigar a largo plazo otras posibles fuentes de incertidumbre de esta metodología analítica, para ser evaluadas.

12. REFERENCIAS

- Aguirre España, E. (2002). *Evaluación de Calidad de la sal de consumo humano obtenida en las salineras de La Costa del Pacífico* (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Araya Alpizar, C. (2004). *Estadística para laboratorio químico*. 1ª Ed. Costa Rica: Recuperado de: <http://www.geocities.ws/estadistica/archivos/LQ2013.pdf>
- Caiafa, M. (2009). *Directrices de acreditación*. Laboratorios Ambientales, Uruguay. 87 pp. Recuperado de: <http://www.dinama.gub.uy/rlau/datos/Directrices%20para%20la%20Acreditacion>.
- Castellucci, F. (2005). *Recomendaciones armonizadas para la validación de métodos de análisis en un solo laboratorio*. OIV, París. Recuperado de: <http://www.docstoc.com/docs/50924567/RECOMENDACIONES-ARMONIZADAS-PARA-LA-VALIDACION-DE-METODOS-DE>
- Clavijo Díaz, A. (2002). *Fundamentos de química analítica: equilibrio iónico y análisis químico*. Universidad Nacional de Colombia.
- CENAM (Centro Nacional de Metrología). (2008). *Guía Técnica sobre Trazabilidad e Incertidumbre en las Mediciones Analíticas que emplea la técnica de Titulación Volumétrica*. Centro Nacional de Metrología, México, 65 pp. Recuperado de: http://www.ema.org.mx/descargas/guias_tecnicas/ensayos_clinicos/Titulacionv01.
- Chongchirasiri, S. y Pattanachak, S. (2001). *Application of quantitative salt iodine analysis compared with the standard method*. Revista J Med Assoc Thai.,84(6), 870-876. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11556468>
- COGUANOR (Comisión Guatemalteca de Normas) (2001). *Norma Técnica Guatemalteca COGUANOR NTG ISO/GEC 17025*. Recuperado de http://iguardia.files.wordpress.com/2011/03/coguanor_ntg_iso-iec_17_025-2005.pdf
- CONAFOR (Comisión Nacional para la Fortificación, Enriquecimiento, y/o Equiparación de Alimentos). (s.f.). *Programas de Fortificación de Alimentos*. Recuperado de <http://www.conafor.org/paginas.asp?id=3395&clc=326>

- Díaz, M., y Hernández, O. (1998). *Validación de Técnicas Analíticas utilizadas en el Control de la Calidad*. Revista Cubana Farm, 32 (2), 106-112.
- FAO (Food & Drug Organization). (2000). Codex Alimentarius, Requisitos Generales. 2ª Edición, Roma: Food & Drug Org.
- Gil Hernández, A., Martínez, E. y Maldonado Lozano, J. (2010). *Tratado de Nutrición: Nutrición Humana en el Estado de Salud*. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Hockl, P. F. (s.f.). *Aseguramiento de la calidad en los laboratorios*. Recuperado el 30 de septiembre, 2012, de https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:ISFQ5yvR3IMJ:www.calvo.qb.fcen.uba.ar/Aseguramiento%2520de%2520la%2520calidad%2520en%2520los%2520laboratorios.doc+perfil+de+precisi%C3%B3n&hl=es&gl=gt&pid=bl&srcid=ADGEESi8cLrfOCZjJrzDMSjfrtGqn8tgD1SFE6EG9CeO-2LAtd_MjkySRIxsB47vaPbl2mNj45MbBksUzckJtGzkdQTLHNwUWbhrfAQWMP7JXcsWn8CABgUe-9xxyU4yk8WkOzchRs&sig=AHIEtbRoVQqgprNoWgD_9ArullMNEOZMTA
- Holman, J. (1996). *Métodos de yodación de la sal*. Boletín de Oficina Sanitaria Panamericana. Recuperado de <http://hist.library.paho.org/Spanish/BOL/v60n2p139.pdf>
- ILAC (International Laboratory Accreditation Cooperation). (s.f.). *About ILAC*. Recuperado el 25 de Julio de 2012, de <http://www.ilac.org/espanol.html>.
- L&S. CONSULTORES S.A. (s.f.). Ficha técnica: Validación de métodos de ensayo. Recuperado el 26 de julio de 2012, de <http://www.lysconsultores.com/Descargar/NT004.pdf>
- Makhumula, P., Guamuch, M., Dary, O. (2007). *Manual para el monitoreo interno de la sal fortificada con yodo (Aseguramiento de la Calidad y Control de Calidad, AC/CC*. 1ª Ed. INCAP. Recuperado de: http://www.incap.int/index.php/es/acerca-de-incap/cuerpos-directivos2/consejo-directivo/doc_view/52-manual-para-monitoreo-interno-de-sal-fortificada-con-yodo-ac-cc
- Mejía Guerrero, L., Guillén Rivadeneira, E., Silberstein Morales, M., Vidal Velásquez, F. (2000). *Ensayo interlaboratorios para yodo en sal*. Anuario Epidemiológico. Recuperado de <http://www.ops.org.bo/textocompleto/nsp16033.pdf>
- Monitoring Universal Salt Iodization Programmes. (s.f.). *Titration Methods for Salt Iodine Analysis*. Recuperado 4 de septiembre, 2012, de <http://hatnim.co.kr/new/data/titration.pdf>

- Morales Cifuentes, M. A. (1995). *Determinación Cualitativa y Cuantitativa de yodo en la sal de consumo humano* (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Naciones Unidas. (2010). *Directrices para la validación de métodos analíticos y la calibración del equipo utilizado para el análisis de drogas ilícitas en materiales incautados y especímenes biológicos*. UNODC (Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito), Nueva York. Recuperado de: http://www.unodc.org/documents/scientific/Validation_Manual_STNAR41_Ebook_S.pdf
- Noguera Zelaya, A. (s.f.). *Programas de fortificación de la sal con yodo en Centroamérica: Lecciones Aprendidas*. INCAP (Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá). Recuperado de <http://bvssan.incap.org.gt/local/file/PPNT004.pdf>
- OGA (Oficina Guatemalteca de Acreditación). (s.f.). *Oficina Guatemalteca de Acreditación: Información General*. Ministerio de Economía, Guatemala. Recuperado el 18 de Julio de 2012, de http://oga.org.gt/informacion_general.html
- OGA (Oficina Guatemalteca de Acreditación) (2007). *OGA-GEC-016 "Política de Selección y Validación de Métodos de Ensayo"*. Guatemala. 29 pp.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). (1998). *Guía de la OMS sobre los requisitos de las prácticas adecuadas de fabricación (PAF), segunda parte: validación*. Suiza. Organización Mundial de la Salud. 158p.
- Organización Panamericana de la Salud. (2011). *Manual para el monitoreo de la sal fortificada con yodo*. Organización Panamericana de la Salud, Ministerio de Salud, Panamá. 65pp. Recuperado el 07 de mayo de 2012, de http://www.incap.int/index.php/es/publicaciones/doc_view/258-manual-para-el-monitoreo-de-la-sal-fortificada-con-yodo-documento-adaptado-para-panama
- SESPAS. (2005). *"Determinación de la concentración de yodo en sal de calidad alimentaria a nivel nacional, en lugares de expendio, durante el periodo de julio 2003 – febrero 2004"*. República Dominicana. Recuperado de [http://www.unicef.org/republicadominicana/Determinacion_concentracion_yodo\(1\).](http://www.unicef.org/republicadominicana/Determinacion_concentracion_yodo(1).)

Sistema Nacional de la Calidad. *Información general*. Recuperado el 25 de julio de 2012, de <http://www.mineco.gob.gt/mineco/calidad/direccion.htm>.

Suarez, R. (2009). *Validación de un método analítico para la determinación de magnesio eritrocitario*. Avances en Química, 4(2), 53-62. Recuperado de https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:dRAxNHtCnpcj:redalyc.uaemex.mx/sr/c/inicio/ForazarDescargaArchivo.jsp%3FcvRev%3D933%26cvArt%3D93313204001%26nombre%3DValidaci%25F3n%2520de%2520un%2520m%25E9todo%2520anal%25EDtico%2520para%2520la%2520determinaci%25F3n%2520de%2520magnesi%2520eritrocitario+validaci%C3%B3n+linealidad+análisis+de+varianza&hl=es&gl=gt&pid=bl&srcid=ADGEESg5kM3FkxBeEOe-WG4tYEg0GDo3KHc6YMxvwHJJNziD9kdq-bo0Qy35EjXIGxxyYW7MtJTwhlrMBhDYhpoZRs1pTiqRBV-S5xni_FdR1n75Ng1NhIFhy7J92np5onsUOcsHt9GR&sig=AHIEtbSxg72lrBskh2xuRyG8-og87wNTwA

TERRA FARMA. *Modulo 3: ¿Cómo calificar, operar y mantener áreas, equipos y sistemas?* RED PANAMERICANA DE ARMONIZACIÓN DE LA REGLAMENTACIÓN FARMACÉUTICA. Grupo de Trabajo de BPM. Noviembre, 2008.

UNICEF. (2000). *El progreso de las naciones*. Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia, Nueva York.

Valencia, O. y Gómez, D. (s.f.). *METODO PARA VALIDAR TECNICAS VOLUMETRICAS EN 5 FASES*. Programa de Química, Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías, Universidad del Quindío. Laboratorio ALISCCA. Recuperado de <http://es.scribd.com/doc/96528592/Metodologia-Para-La-Validacion-de-Metodos-Volumetricos>

Véliz Fuentes, F. R. (2002). *Estandarización de un método rápido para la determinación cuantitativa de yodato de potasio en sal solar (común)* (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.

Vázquez, V., y Aguirre, R. (2011). *Desarrollo y validación de un método de análisis para la cuantificación del Clorhidrato de Bromhexidina*. Revista LABIOFAM, 2011(1), 1-5. Recuperado de <http://revistas.labiofamcuba.com/articulo/desarrollo-y-validacion-de-un-metodo-de-analisis-para-la-cuantificacion-del-clorhidrato-de->

13. ANEXOS

13.1 ANEXO No.1

Formato para la verificación de requisitos para la validación del método de análisis para determinación de yodo como yodato en sal de consumo humano utilizado en el Laboratorio Nacional de Salud.

<p>Lista de requisitos para la validación del método analítico: Método para determinación de yodo como yodato en sal de consumo humano utilizado en el Laboratorio Nacional de Salud.</p> <p>Nombre del establecimiento: <u>Laboratorio Nacional de Salud</u> pág. <u>1</u> de <u>3</u></p>
<p>Redactado por: <u>Mayra Fabiola Esquite Lainfiesta</u> Fecha: _____</p> <p>Aprobado por: _____ Fecha: _____</p>
<p>Objetivo:</p> <p>Asegurar que el Laboratorio Nacional de Salud cumple con los requisitos técnicos necesarios para la validación del método en cuestión, así como también verificar la documentación que respalda la calificación del equipo y cristalería involucrada en la realización del análisis, según la Norma COGUANOR NGR ISO/IEC 17025 “Requisitos Generales para la competencia de los Laboratorios de Ensayo y de Calibración”.</p> <p>Responsabilidad:</p> <ul style="list-style-type: none"> • La persona encargada del Área de Fisicoquímico de Alimentos deberá presentar la documentación solicitada y llevar a cabo las acciones correctivas en caso de alguna desviación. • La persona encargada de la validación efectuará la certificación y registrará los datos y documentación.

Lista de requisitos para la validación del método analítico: Método para determinación de yodo como yodato en sal de consumo humano utilizado en el Laboratorio Nacional de Salud.

Nombre del establecimiento: Laboratorio Nacional de Salud pág. 2 de 3

Requisito	Cumple	No Cumple	Documento/Fecha de realización	Fecha de verificación	Firma
El Laboratorio cuenta con un Plan Maestro de Validación, o Protocolo de Validación.					
Cuenta con un sistema de monitoreo, registro y control de las condiciones ambientales del área de análisis.					
Cuenta con evidencia documentada y actualizada sobre la calificación (instalación, operación y desempeño) del Horno de Convección.					
Cuenta con evidencia documentada y actualizada sobre la calificación (instalación, operación y desempeño) de la balanza semi-analítica.					
Cuenta con evidencia documentada y actualizada sobre la calificación (instalación, operación y desempeño) de la balanza analítica.					
Cuenta con evidencia documentada y actualizada sobre la calificación (instalación, operación y desempeño) del agitador magnético.					
Cuenta con evidencia documentada y actualizada sobre la calificación (instalación, operación y desempeño) de la campana de extracción.					
Cuenta con evidencia documentada y actualizada sobre la calificación (instalación, operación y desempeño) de la estufa.					
Cuenta con un programa y procedimiento de calibración de los equipos involucrados.					
Posee evidencia documentada y actualizada sobre los certificados de calibración del material volumétrico involucrado.					
El área está provista con todos los componentes necesarios para la realización del ensayo en cuestión.					

Lista de requisitos para la validación del método analítico: Método para determinación de yodo como yodato en sal de consumo humano utilizado en el Laboratorio Nacional de Salud.

Nombre del establecimiento: Laboratorio Nacional de Salud pág. 3 de 3

Desviaciones:

Verificado por: _____ **Fecha:** _____












13.2 ANEXO No.2

Resultados de la verificación de requisitos para la validación del método de análisis para determinación de yodo como yodato en sal de consumo humano utilizado en el Laboratorio Nacional de Salud.

<p>Lista de requisitos para la validación del método analítico: Método para determinación de yodo como yodato en sal de consumo humano utilizado en el Laboratorio Nacional de Salud.</p> <p>Nombre del establecimiento: <u>Laboratorio Nacional de Salud</u> pág. <u>1</u> de <u>3</u></p>
<p>Redactado por: <u>Mayra Fabiola Esquite Lainfiesta</u> Fecha: <u>18/04/2013</u></p> <p>Aprobado por: <u>Licda. Indira Marroquin</u> Fecha: <u>18/04/2013</u></p>
<p>Objetivo:</p> <p>Asegurar que el Laboratorio Nacional de Salud cumple con los requisitos técnicos necesarios para la validación del método en cuestión, así como también verificar la documentación que respalda la calificación del equipo y cristalería involucrada en la realización del análisis, según la Norma COGUANOR NGR ISO/IEC 17025 "Requisitos Generales para la competencia de los Laboratorios de Ensayo y de Calibración".</p> <p>Responsabilidad:</p> <ul style="list-style-type: none"> • La persona encargada del Área de Fisicoquímico de Alimentos deberá presentar la documentación solicitada y llevar a cabo las acciones correctivas en caso de alguna desviación. • La persona encargada de la validación efectuará la certificación y registrará los datos y documentación.

Lista de requisitos para la validación del método analítico: Método para determinación de yodo como yodato en sal de consumo humano utilizado en el Laboratorio Nacional de Salud.

Nombre del establecimiento: Laboratorio Nacional de Salud pág. 2 de 3

Requisito	Cumple	No Cumple	Documento/Fecha de realización	Fecha de verificación	Firma
El Laboratorio cuenta con un Plan Maestro de Validación, o Protocolo de Validación.	✓		-	18/04/13	
Cuenta con un sistema de monitoreo, registro y control de las condiciones ambientales del área de análisis.	✓		UMETFO06	18/04/13	
Cuenta con evidencia documentada y actualizada sobre la calificación (instalación, operación y desempeño) del Horno de Convección.	✓		Certificado 10001/10/12 17/10/12	18/04/13	
Cuenta con evidencia documentada y actualizada sobre la calificación (instalación, operación y desempeño) de la balanza semi-analítica.	✓		Certificado: 31215B-0712 31215A-0712 05/07/12	18/04/13	
Cuenta con evidencia documentada y actualizada sobre la calificación (instalación, operación y desempeño) de la balanza analítica.	✓		31417B-0712 05/07/12	18/04/13	
Cuenta con evidencia documentada y actualizada sobre la calificación (instalación, operación y desempeño) del agitador magnético.	✓		AG-04-FQA 04/12/12	18/04/13	
Cuenta con evidencia documentada y actualizada sobre la calificación (instalación, operación y desempeño) de la campana de extracción.	✓		Reporte Técnico No. 31566 06/12/12	18/04/13	
Cuenta con evidencia documentada y actualizada sobre la calificación (instalación, operación y desempeño) de la estufa.	* No aplica		-	18/04/13	
Cuenta con un programa y procedimiento de calibración de los equipos involucrados.	✓		UGCF 118	18/04/13	
Posee evidencia documentada y actualizada sobre los certificados de calibración del material volumétrico involucrado.	✓		DIN EN ISO 12691, 1092, 12700.	18/04/13	
El área está provista con todos los componentes necesarios para la realización del ensayo en cuestión.	✓		-	18/04/13	

Lista de requisitos para la validación del método analítico: Método para determinación de yodo como yodato en sal de consumo humano utilizado en el Laboratorio Nacional de Salud.

Nombre del establecimiento: Laboratorio Nacional de Salud pág. 3 de 3

Desviaciones:

* En el caso de la estufa involucrada en la realización del método en cuestión, no aplica su calificación debido a que ésta no interfiere de manera significativa y directa con el analito (yodato). Por lo tanto, cumple.

Verificado por: Mayra Fabiola Esquite L. **Fecha:** 18/04/2013

13.3 ANEXO No.3

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE BALANZA ANALÍTICA

CC-04
V. 5



ACREDITADO
OGA-IC-26-08

Laboratorio de Calibraciones

Departamento de Servicio Técnico

Area Química, Merck S.A.

12 Av. 0-33, Zona 2, Mixco, Guatemala C.A. PBX: (502) 2410-2300

www.merck-chemicals.com.gt
Servicio.Tecnico@merck.com.gt

Certificado No.

31417B-0712

Fecha de Calibración

2012-07-05

CERTIFICADO DE CALIBRACION

Cilente: Laboratorio Nacional de Salud

Dirección: km 22 Carretera al Pacifico
Barcena, Villa Nueva, Guatemala

Instrumento: Instrumento de pesaje de
funcionamiento no automático
Cap. Max.= 210 g d= 0,0001 g
Cap. Min.= 41 g e= nd g

Marca: Mettler Toledo

Modelo: AG245

No. Serie: 1115151950

Código Interno: B-01-FQA

Lugar de Calibración: Area de Balanzas de FQA de Alimentos

Patrones utilizados
Juego de Masas Patrón Sartorius

Código	Valor	Clase	No. Serie
MPS-06	1mg a 1 kg	E2	17029556

Procedimientos Utilizados:

Procedimiento para la calibración de
instrumento de pesaje de funcionamiento
no automático "PC-04"

Condiciones ambientales
durante calibración

Temperatura inicial: 24 °C
Humedad relativa inicial: 48 %
Temperatura final: 24 °C
Humedad relativa final: 48 %

Nota: Los resultados contenidos en el presente certificado de calibración son válidos únicamente para las condiciones del instrumento en el momento de las mediciones.
Es responsabilidad del cliente interpretar los resultados del presente certificado de calibración a fin de evaluar el cumplimiento del instrumento según sus requerimientos así
como de programar la frecuencia de calibración del mismo.
El presente certificado puede ser reproducido solo íntegramente y con la autorización explícita del Laboratorio de Calibraciones de Merck S.A.

13.4 ANEXO No.4

Método: "Determinación Cuantitativa de yodo en sal fortificada con yodato". Método Titrimétrico".

1. Procedimiento de análisis

1.1 Preparación de la muestra:

- a) Homogenizar la muestra de sal, agitando vigorosamente la misma.
- b) Pesar 50 gramos de la muestra.
- c) Disolver con aproximadamente 150 mL de agua desmineralizada en un beacker de 250 mL.
- d) Transferir cuantitativamente esta solución a un balón volumétrico de 250 mL y aforar a volumen con agua desmineralizada.
- e) Filtrar la solución (si se presenta sedimento), utilizando papel Whatman No.1.
- f) Con pipeta volumétrica trasvasar 50 mL de esta solución a un Erlenmeyer de 250 mL con tapón esmerilado.
- g) Medir con pipeta volumétrica, 1 mL de solución de ácido sulfúrico 2N, mezclar.
- h) Agregar 5 mL de la solución de yoduro de potasio (KI) al 10%, usando una pipeta volumétrica, se formará una solución amarilla (si la muestra contiene yodo).
- i) Tapar el Erlenmeyer, dejarlo en reposo y colocarlo en la oscuridad por 10 minutos.

1.2 Titulación de la muestra:

- a) Lavar y llenar la bureta con la solución de tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), 0.005N y ajustar el nivel de lectura a cero.
- b) Transcurridos los 10 minutos, retirar el Erlenmeyer de la oscuridad.
- c) Agregar un magneto al Erlenmeyer.
- d) Lavar las paredes interiores del cuello, laterales del erlenmeyer y tapón, con agua desmineralizada.
- e) Colocar sobre el agitador magnético e iniciar la agitación.
- f) Titular el yodo liberado con la solución de tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), 0.005N, detener la titulación cuando el color amarillo de la solución cambie amarillo pálido.

- g) Añadir 2 mL de la solución de almidón al 1%, utilizando pipeta serológica.
- h) Continuar con la titulación (agregar lentamente el tiosulfato de sodio), hasta la desaparición del color azul violeta.

El punto final es el cambio del color azul violeta a incoloro.

- i) Anotar el volumen de titulante empleado.

13.5 ANEXO No. 5: ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

TABLA ANEXO No. 5.1: RESULTADOS DE PARÁMETRO DE LINEALIDAD

No. Mx	Concentración teórica (ppm)	Concentración experimental (ppm)	Promedio	Desviación estándar	CV %
1	0.1020	0.0000	0	0	---
1	0.1020	0.0000			
1	0.1020	0.0000			
1	0.1020	0.0000			
12.5	5.09971	5.3110	5.308	0.0034641	0.065262
12.5	5.09971	5.3110			
12.5	5.09971	5.3050			
12.5	5.09971	5.3050			
25	10.1994	10.5940	10.5712	0.24759245	2.342135
25	10.1994	10.5940			
25	10.1994	10.5485			
25	10.1994	10.0855			
50	20.3989	20.1650	20.5696	0.22012628	1.070152
50	20.3989	20.6545			
50	20.3989	20.5696			
50	20.3989	20.5696			
75	30.5983	30.7150	30.6529	0.31068164	1.013547
75	30.5983	30.7150			
75	30.5983	30.0634			
75	30.5983	30.5908			
100	40.7978	41.8345	41.1394	0.44278056	1.076293
100	40.7978	40.7755			
100	40.7978	41.1394			
100	40.7978	41.1394			
125	50.99719	50.8360	51.262	0.62158443	1.212564
125	50.99719	51.8950			
125	50.99719	50.6331			
125	50.99719	51.6880			
150	61.19663	61.4260	60.775405	0.53950145	0.887697
150	61.19663	60.8965			
150	61.19663	60.1269			
150	61.19663	60.6543			
250	101.9944	102.1975	101.73196	0.53755929	0.528407
250	101.9944	102.1975			
250	101.9944	101.2664			
250	101.9944	101.2664			

FUENTE: base de datos experimentales.

TABLA ANEXO No. 5.2: RESIDUALES DE LA REGRESIÓN PARA EVALUAR LA LINEALIDAD DEL MÉTODO.

<i>Observación</i>	<i>Pronóstico</i>	<i>Concentración experimental (ppm)</i>	<i>Residuos</i>
1	0.280594266	0.280594266	-0.280594266
2	0.280594266	0.280594266	-0.280594266
3	0.280594266	0.280594266	-0.280594266
4	0.280594266	0.280594266	-0.280594266
5	5.259220061	5.259220061	0.051779939
6	5.259220061	5.259220061	0.051779939
7	5.259220061	5.259220061	0.045779939
8	5.259220061	5.259220061	0.045779939
9	10.33945616	10.33945616	0.254543844
10	10.33945616	10.33945616	0.254543844
11	10.33945616	10.33945616	0.209003844
12	10.33945616	10.33945616	-0.253956156
13	20.49992835	20.49992835	-0.334928347
14	20.49992835	20.49992835	0.154571653
15	20.49992835	20.49992835	0.069701653
16	20.49992835	20.49992835	0.069701653
17	30.66040054	30.66040054	0.054599462
18	30.66040054	30.66040054	0.054599462
19	30.66040054	30.66040054	-0.597030538
20	30.66040054	30.66040054	-0.069600538
21	40.82087273	40.82087273	1.013627271
22	40.82087273	40.82087273	-0.045372729
23	40.82087273	40.82087273	0.318527271
24	40.82087273	40.82087273	0.318527271
25	50.98134492	50.98134492	-0.145344919

26	50.98134492	0.913655081
27	50.98134492	-0.348204919
28	50.98134492	0.706655081
29	61.14181711	0.28418289
30	61.14181711	-0.24531711
31	61.14181711	-1.01493711
32	61.14181711	-0.48750711
33	101.7837059	0.413794127
34	101.7837059	0.413794127
35	101.7837059	-0.517285873
36	101.7837059	-0.517285873

FUENTE: Base de datos y análisis en Excel.

TABLA ANEXO No. 5.3: RESULTADOS DE PARÁMETRO DE EXACTITUD

Concentración %	Concentración experimental (ppm)	Concentración teórica (ppm)	% Recuperación
50	20.7850	20.3989	101.8929
50	20.7850	20.3989	101.8929
50	20.7850	20.3989	101.8929
50	20.7850	20.3989	101.8929
50	20.7850	20.3989	101.8929
50	20.7850	20.3989	101.8929
50	20.7850	20.3989	101.8929
50	20.7850	20.3989	101.8929
50	20.7850	20.3989	101.8929
50	20.7850	20.3989	101.8929
100	41.1850	40.7978	100.9492
100	40.1290	40.7978	98.3608
100	40.6570	40.7978	99.6550
100	41.1850	40.7978	100.9492
100	41.1850	40.7978	100.9492
100	41.1850	40.7978	100.9492
100	41.1850	40.7978	100.9492

100	41.1850	40.7978	100.9492
100	41.1850	40.7978	100.9492
100	41.1850	40.7978	100.9492
150	60.1138	61.1966	98.2306
150	60.1138	61.1966	98.2306
150	60.1138	61.1966	98.2306
150	61.1506	61.1966	99.9248
150	60.1138	61.1966	98.2306
150	60.1138	61.1966	98.2306
150	61.1506	61.1966	99.9248
150	60.6322	61.1966	99.0777
150	60.3050	61.1966	98.5430
150	60.3050	61.1966	98.5430

FUENTE: base de datos experimentales.

TABLA ANEXO No. 5.4: PRUEBA BINOMIAL PARA PARÁMETRO DE EXACTITUD

Tabla I Distribución Bi

n	p	.01	.05	.10	.15	.20	.25
9	0	.9135	.6302	.3874	.2316	.1342	.0751
	1	.0830	.2985	.3874	.3679	.3020	.2253
	2	.0034	.0629	.1722	.2597	.3020	.3003
	3	.0001	.0077	.0446	.1069	.1762	.2336
	4	.0000	.0006	.0074	.0283	.0661	.1168
	5	.0000	.0000	.0008	.0050	.0165	.0389
	6	.0000	.0000	.0001	.0006	.0028	.0087
	7	.0000	.0000	.0000	.0000	.0003	.0012
	8	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0001
	9	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000
10	0	.9044	.5987	.3487	.1969	.1074	.0563
	1	.0914	.3151	.3874	.3474	.2684	.1877
	2	.0042	.0746	.1937	.2759	.3020	.2816
	3	.0001	.0105	.0574	.1298	.2013	.2503
	4	.0000	.0010	.0112	.0401	.0881	.1460
	5	.0000	.0001	.0015	.0085	.0264	.0584
	6	.0000	.0000	.0001	.0012	.0055	.0162
	7	.0000	.0000	.0000	.0001	.0008	.0031
	8	.0000	.0000	.0000	.0000	.0001	.0004
	9	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000
	10	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000

FUENTE: http://www.ugr.es/~bioestad/_private/Tablas.pdf

TABLA ANEXO No. 5.5: RESULTADOS DE PARÁMETRO DE PRECISIÓN

No. Muestra	Concentración experimental (ppm)	Concentración teórica (ppm)	Promedio	Desviación estándar	CV%
1	40.3015	40.7978	40.1968	0.220726981	0.549115802
2	40.3015	40.7978			
3	40.3015	40.7978			
4	40.3015	40.7978			
5	40.3015	40.7978			
6	39.7780	40.7978			
7	40.3015	40.7978			
8	39.7780	40.7978			
9	40.3015	40.7978			
10	40.3015	40.7978			

FUENTE: base de datos experimentales.

TABLA ANEXO No. 5.6: RESULTADOS DE PARÁMETRO DE REPRODUCIBILIDAD

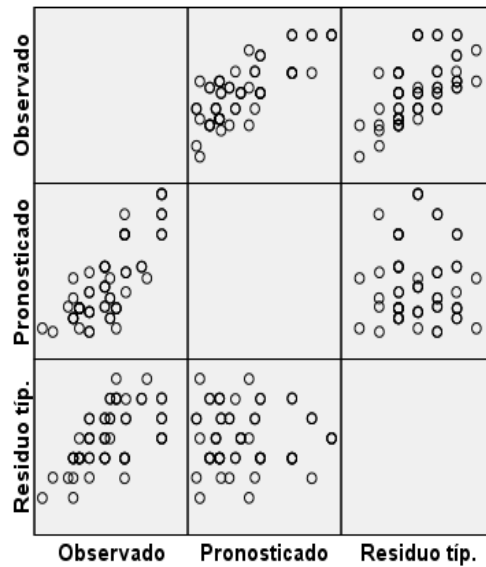
ANALISTA	BURETA	DÍA DE TRABAJO	REPETICIÓN 1 Conc (ppm)	REPETICIÓN 2 Conc (ppm)	REPETICIÓN 3 Conc (ppm)	Concentración teórica (ppm)	Promedio	Desviación estándar	CV %
1	A	1	31.1950	31.7325	31.1950	30.5983	31.3742	0.3103	0.9891
1	B	1	31.7325	31.1950	31.7325	30.5983	31.5533	0.3103	0.9835
2	A	1	31.1950	31.7325	31.1950	30.5983	31.3742	0.3103	0.9891
2	B	1	31.7325	31.7325	31.7325	30.5983	31.7325	0.0000	0.0000
1	A	2	31.5190	30.9850	30.4510	30.5983	30.9850	0.5340	1.7234
1	B	2	30.4510	30.9850	30.4510	30.5983	30.6290	0.3083	1.0066
2	A	2	30.4510	30.9850	30.4510	30.5983	30.6290	0.3083	1.0066
2	B	2	30.9850	30.4510	30.9850	30.5983	30.8070	0.3083	1.0008
1	A	3	30.5395	31.0750	30.5395	30.5983	30.7180	0.3092	1.0065
1	B	3	30.5395	31.0750	30.5395	30.5983	30.7180	0.3092	1.0065
2	A	3	30.5395	31.0750	30.5395	30.5983	30.7180	0.3092	1.0065
2	B	3	31.0750	30.5395	30.0040	30.5983	30.5395	0.5355	1.7535
1	A	4	30.6850	31.2140	31.2140	30.5983	31.0377	0.3054	0.9840
1	B	4	30.6850	31.2140	30.6850	30.5983	30.8613	0.3054	0.9896
2	A	4	30.6850	30.6850	30.6850	30.5983	30.6850	0.0000	0.0000
2	B	4	30.6850	30.1560	30.6850	30.5983	30.5087	0.3054	1.0011
1	A	5	30.9097	30.9097	30.9097	30.5983	30.9097	0.0000	0.0000
1	B	5	30.9097	31.4424	30.9097	30.5983	31.0873	0.3076	0.9894
2	A	5	30.9097	30.3770	30.9097	30.5983	30.7321	0.3076	1.0008
2	B	5	30.9097	30.9097	31.4424	30.5983	31.0873	0.3076	0.9894

FUENTE: base de datos experimentales.

Gráfico Anexo 5.1.

Gráfico de los residuales del análisis de varianza para evaluar la reproducibilidad

Variable dependiente: Concentración



Modelo\): Intersección + Analista + Bureta + Día + Analista * Bureta + Analista * Día + Bureta * Día +
Analista * Bureta * Día

FUENTE: base de datos experimentales, análisis SPSS 19.

TABLA ANEXO No. 5.7:

CONTRASTE DE LEVENE SOBRE LA IGUALDAD DE LAS VARIANZAS

F	gl1	gl2	Significación
1.388	15	32	0.212

FUENTE: base de datos experimentales, análisis SPSS 19.

TABLA ANEXO No. 5.8: RESULTADOS DE PARÁMETRO DE ESPECIFICIDAD

No. Muestra	Concentración experimental (ppm)	Concentración teórica (ppm)
1	0.0000	0.0000
2	0.0000	0.0000
3	0.0000	0.0000
4	0.0000	0.0000
5	0.0000	0.0000
6	0.0000	0.0000
7	0.0000	0.0000
8	0.0000	0.0000
9	0.0000	0.0000
10	0.0000	0.0000

FUENTE: base de datos experimentales.

TABLA ANEXO No. 5.9: RESULTADOS DE PARÁMETRO DE ROBUSTEZ

Tiempo de reacción (minutos)	Concentración experimental (ppm)	Concentración teórica (ppm)	Promedio	Desviación estándar	CV%
10	41.1850	40.7978	41.0266	0.356373	1.078394
10	40.1290	40.7978			
10	40.6570	40.7978			
10	41.1850	40.7978			
10	41.1850	40.7978			
10	41.1850	40.7978			
10	41.1850	40.7978			
10	41.1850	40.7978			
10	41.1850	40.7978			
10	41.1850	40.7978			
5	41.7940	40.7978	41.6882	0.223046	
5	41.7940	40.7978			
5	41.7940	40.7978			
5	41.7940	40.7978			
5	41.7940	40.7978			
5	41.7940	40.7978			
5	41.7940	40.7978			
5	41.7940	40.7978			
5	41.7940	40.7978			
5	41.7940	40.7978			
5	41.2650	40.7978			
5	41.2650	40.7978			

FUENTE: base de datos experimentales.

TABLA ANEXO No. 5.10: RESULTADOS DE PARÁMETRO DE LÍMITE DE DETECCIÓN


No. Muestra	Concentración experimental (ppm)	Concentración teórica (ppm)	Promedio	Desviación estándar	CV%
1	5.2525	5.0997	5.2525	9.36222E-16	1.78244E-14
2	5.2525	5.0997			
3	5.2525	5.0997			
4	5.2525	5.0997			
5	5.2525	5.0997			
6	5.2525	5.0997			
7	5.2525	5.0997			
8	5.2525	5.0997			
9	5.2525	5.0997			
10	5.2525	5.0997			

FUENTE: base de datos experimentales.

TABLA ANEXO No. 5.11: RESULTADOS DE PARÁMETRO DE LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

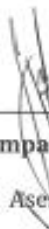
No. Muestra	Concentración experimental (ppm)	Concentración teórica (ppm)	Promedio	Desviación estándar	CV%
1	5.2525	5.0997	5.2525	9.36222E-16	1.78244E-14
2	5.2525	5.0997			
3	5.2525	5.0997			
4	5.2525	5.0997			
5	5.2525	5.0997			
6	5.2525	5.0997			
7	5.2525	5.0997			
8	5.2525	5.0997			
9	5.2525	5.0997			
10	5.2525	5.0997			

FUENTE: base de datos experimentales.



Mayra Fabiola Esquite Lainfiesta

Autora



Licda. Julia Amparo García Bolaños

Asesora



Licda. Aylin Santizo Juárez

Revisora



Licda. Lucrecia Martínez de Haase

Directora Escuela Química Farmacéutica



Dr. Óscar Manuel Cobar Pinto

Decano Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia