

2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

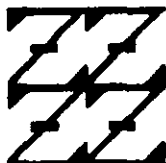
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

VALIDACION Y COMPARACION DE UN METODO POTENCIOMETRICO PARA LA DETERMINACION DEL ION FLUORURO EN SAL, EMPLEANDO DOS DIFERENTES SOLUCIONES AMORTIGUADORAS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A N :
KARINA AUSTRIA RODRIGUEZ
JOSE LUIS DOMINGUEZ RODRIGUEZ

U N A M
F E S
Z A R A G O Z A



LO HERMANO EJE
DE NUESTRA OBLACION

ASESORES: C.D. DOLORES DE LA CRUZ CARDOSO.
Q.F.B. FELIPE A. PEREZ VEGA.

MEXICO, D. F.

1999.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN →

271044



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

2000
1970-1980
1980-1990
1990-2000

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZÓ EN:

**UNIDAD UNIVERSITARIA DE INVESTIGACIÓN EN
CARIOLOGÍA**

FES ZARAGOZA

UNAM

1998

JURADO

Q. JORGE RIVAS MONTES

C.D. DOLORES DE LA CRUZ CARDOSO

Q.F.B. FELIPE A. PEREZ VEGA

Q.F.B. VALENTIN ISLAS PEREZ

Q.F.B. IRMA ALEJANDRE RAZO

AGRADECIMIENTOS:

A DIOS:

**POR DARNOS VIDA, SALUD Y ENERGIA PARA
PODER CUMPLIR NUESTROS PROYECTOS**

A NUESTROS ASESORES:

C.D. DOLORES DE LA CRUZ CARDOSO

Q.F.B. FELIPE A PEREZ VEGA

**POR SUS ENSEÑANZAS, APOYO Y CONFIANZA
BRINDADAS DURANTE EL DESARROLLO DE ESTE
TRABAJO**

DEDICATORIAS:

KARINA:

A MIS PADRES:

TEODULO Y YOLANDA:

Porque gracias a su apoyo, cariño, y confianza que siempre me brindaron he podido realizar una más de mis metas.

A MIS HERMANOS:

Como muestra de cariño por su respaldo recibido durante toda mi formación profesional.

JOSE LUIS.

A MIS PADRES:

ELVIA Y LUIS

**Porque siempre estuvieron a mi lado brindándome su apoyo
y cariño que me ayudaron ha vencer muchos obstáculos
logrando realizar una más de mis metas.**

A MI ESPOSA

**Karina porque gracias a su amor y confianza he podido salir
avante de muchos obstáculos y que por ella todas nuestras
metas se han cumplido.**

A MIS HERMANOS:

**Como muestra de cariño por su apoyo y comprensión a
pesar de nuestras diferencias.**

A MIS FAMILIARES:

Por su respaldo durante toda mi formación profesional.

A NUESTROS VERDADEROS AMIGOS:

Por todos los momentos buenos y malos que compartimos y que a pesar de nuestras diferencias no nos han distanciado sólo nos ha hecho más interesantes. Porque la amistad que nos une es más fuerte que cualquier adversidad por el hecho de ser incondicional, y anhelando que esta sea por siempre.

INDICE

	PAGINA
I. INTRODUCCION.....	1
II. FUNDAMENTACION TEORICA.....	3
II.1. GENERALIDADES.....	3
II.2. ANALISIS DEL FLUORURO.....	7
II.2.1. POTENCIOMETRIA.....	7
II.2.2. ELECTRODO DE ION SELECTIVO PARA FLUORUROS.....	10
II.2.3. VALIDACION DE METODOS ANALITICOS	14
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	25
IV. OBJETIVOS.....	26
IV.1. OBJETIVO GENERAL.....	26
IV.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	26
V. HIPOTESIS	27
VI. MATERIAL Y METODO	28
VI.1. MATERIAL	28
VI.2. RECTIVOS.....	28
VI.3. EQUIPO.....	29
VI.4. INSTRUMENTOS.....	29
VI.5. METODOLOGIA.....	30
VII. RESULTADOS.....	35
VIII. ANALISIS DE RESULTADOS.....	72
IX. CONCLUSIONES	74
X. FORMULARIO ESTADISTICO	75
XI. BIBLIOGRAFIA	90

I. INTRODUCCION.

Uno de los mayores problemas de salud publica en México y el mundo entero es la caries dental y durante mucho tiempo se han hecho propuestas para poder disminuir este padecimiento.

El empleo de fluoruros como agente anticaries se conocía desde el siglo XIX, pero el problema real era como hacerlo llegar a la población en general. Inicialmente se propuso un estudio experimental utilizando el flúor en agua de consumo diario obteniéndose resultados favorables; sin embargo tiempo después se observó que no toda la población contaba con agua potable por lo que la OMS/OPS se dieron a la tarea de investigar otras posibles aplicaciones encontrándose finalmente que una buena alternativa era la fluoracion de la sal de mesa, ya que está presentaba un efecto cariostatico tan importante y efectivo como el del agua fluorada y que además podría llegar a un mayor número de personas.

El 23 de diciembre de 1988 se publico la norma oficial mexicana para la sal yodatada fluorada la cual indica que toda la sal refinada contendrá 250 PPM +/- 50 PPM de fluoruro.

Para poder llevar a cabo un control sobre la cantidad de fluoruro presente en una muestra problema se han desarrollado una gran variedad de método analíticos. Uno de los más utilizados es el método potenciométrico empleando un electrodo de ion selectivo para fluoruros.

El objetivo del presente trabajo es el de validar y comparar el método potenciométrico para la determinación del ion fluoruro en sal de mesa empleando dos soluciones amortiguadoras diferentes. Una de marca comercial (preparada a partir del ácido ciclohexilendiamintetracetico) y otra preparada en el laboratorio de la

Unidad de Investigación en Cariología de la FES-Zaragoza UNAM
(preparada a partir de citratos).

De los resultados obtenidos en la validación del método potenciométrico utilizando la solución amortiguadora de marca comercial se observó que este es lineal, exacto, reproducible, preciso y específico.

De igual forma se observó que el método potenciométrico utilizando la solución amortiguadora preparada a partir de citratos es lineal, exacto, reproducible, preciso y específico.

Una vez observados los resultados obtenidos y al realizar la comparación de ambos métodos no se encontraron diferencias significativas entre ellos por lo que pueden ser empleados alternativamente o bien pueden sustituirse una por la otra obteniéndose resultados óptimos en el método.

II. FUNDAMENTACION TEORICA.

II.1. GENERALIDADES.

El flúor es el elemento número 9 de la tabla periódica, pertenece al grupo de los halógenos. Como elemento químico es un cuerpo metaloide gaseoso de color verdusco, irrespirable y tóxico que no se encuentra en su forma libre en la naturaleza debido a su fuerte electronegatividad, de lo contrario se combina activamente con otros elementos para formar compuestos de fluoruro ya sea orgánicos e inorgánicos(1,2).

El flúor se encuentra distribuido ampliamente en la corteza terrestre, dentro de depósitos minerales, rocas y agua de mar. También está presente dentro de la atmósfera en forma de partículas de polvo o gases que emanan de las plantas de fertilizantes, refinerías de aluminio y fundidoras(3).

Los minerales de fluoruro que más comúnmente pueden ser encontrados en la naturaleza son: el espatoflúor (CaF_2), la criolita (Na_2AlF_6) y la apatita que es un complejo compuesto de calcio, fluoruros, carbonatos y sulfatos(2).

El flúor al ser ingerido, llega al organismo en forma de un compuesto de fluoruro por medio de los alimentos, el agua y de suplementos (gotas o tabletas). El fluoruro es absorbido teniendo como ruta principal la mucosa gastrointestinal, llegando hasta el estómago en forma de ácido fluorhídrico (HF), de donde un 36% pasa a circulación en forma de ion fluoruro y el 64% restante al intestino delgado para posteriormente llegar a torrente sanguíneo y

depositarse finalmente en los huesos y dientes, la parte no fijada de flúor se excreta por orina y heces fecales(4,5).

La magnitud del efecto del fluoruro en el organismo dependerá de la concentración de este en el consumo diario. Los estudios de laboratorio han demostrado que el fluoruro incrementa el tamaño y mejora la forma de los cristales de hidróxido de apatita en los huesos, además de reducir la inclusión de carbonato y citrato en tanto que incrementa la de magnesio(5,6).

El consumo de altas concentraciones de fluoruro pueden acomodarse en el esqueleto sin causar alteraciones histológicas y sin presentar síntomas de envenenamiento, sin embargo el consumo prolongado de altas concentraciones de fluoruro puede provocar alteraciones óseas en costillas, vértebras y pelvis además de calcificaciones en tendones y ligamentos(6).

Es difícil determinar el nivel tóxico del fluoruro por diversos factores, en lo que se refiere a la dosis letal se considera que una dosis de 2.5g sería mortal para personas adultas mientras que en niños con base en la proporción corporal equivaldría a 35mg de F/kg. Las dosis no mortales podrían asociarse a los siguientes síntomas: vómito, dolor abdominal, diarrea y convulsiones(4,7).

El uso de fluoruros como agentes anticaries se conoce desde el siglo XIX, cuando se detectó fluoruro en los dientes de un mastodonte fosilizado. Tiempo después, los científicos de la época observaron que los dientes de algunas personas se descalcificaban más rápido que las de otras, y se relacionó este hecho con el contenido de flúor en los mismos. Hoy en día se sabe que las caries se debe a la acción de bacterias externas sobre el esmalte natural que cubre las piezas dentales, por lo que carencias en el esmalte propician el negativo efecto de los microorganismos(2,3).

El flúor actúa contra las bacterias (por ello se le conoce como bacteriostático) al fortalecer el esmalte y al mismo tiempo incrementa la resistencia frente a los diversos ácidos que llegan a los dientes (en alimentos y bebidas de consumo cotidiano) y los desmineralizan (3,4).

En el año de 1942 se propuso un estudio experimental que utilizaría el flúor en el agua de consumo humano, confirmándose que el flúor actúa en la prevención de la caries dental en la población infantil, pero no es sino hasta 1945 con el establecimiento de las cantidades óptimas de fluoruro en el agua que diferentes países adoptaron este método como una importante medida de salud pública.

Los resultados obtenidos por la aplicación del flúor en el agua como medida de prevención de la caries dental, fueron muy satisfactorios pero debido a que en muchos países no se cuenta con un sistema de abastecimiento de agua potable para el total de su población resultó ser un método insuficiente para enfrentar la problemática de la caries dental. La sección de odontología de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) / Organización Mundial de Salud (OMS) consiente en el grave problema que representan las enfermedades bucales y la imposibilidad de aplicar la fluoración del agua a numerosas comunidades, se dio a la tarea de investigar otras posibles aplicaciones del flúor para el control de la caries dental(8).

El exitoso agregado del yodo a la sal de mesa, para la prevención del bocio, dio la pauta para la introducción del flúor a la sal de mesa como medida preventiva de la caries dental. En Suiza en 1950 Wespi comenzó a aplicar el flúor a la sal de mesa, iniciándose la producción industrial en 1955 con solo 90 ppm de ion fluoruro y estuvo disponible para su uso doméstico en una población escogida para este

fin. Este nivel de fluoruro en sal resulto ser insuficiente para lograr efectos importantes en la reducción de la caries dental(9).

Un estudio clínico mayor, se desarrolló en Hungría, en el año de 1966 empleando 250 ppm de ion fluoruro en la sal de uso doméstico, lo que redujo la caries infantil en más de un 50% en grupos de niños cuyas edades oscilaban entre 2-6 y 7-11 años, y levemente menor de un 50% en grupos de entre 12-14 años. Observándose que la sal fluorada presenta un efecto cariostático importante por lo que resultó ser tan efectiva como el agua fluorada como medida de prevención de la caries dental(1,2,9).

En México la fluoración del agua se promovió desde 1970, pero el hecho de que en el país el 56.2% de la población carezca de agua potable intradomiciliaria, motivó a la realización de estudios necesarios que permitieron que en 1988 se decretara la fluoración de la sal como medida preventiva de la caries dental(2,3).

En 1984 el programa nacional de salud establece como meta la disminución de la caries dental en un 40% y en 1985 el Estado de México recibe la autorización de la Subsecretaria de Servicios de Salud determinando como programa prioritario, a nivel nacional, la fluoración de la sal como medida preventiva de la caries dental(6,7).

El 23 de diciembre de 1988 el diario oficial de la federación publicó la Norma Oficial Mexicana para la sal yodatada-fluorada, la cual establece que toda la sal refinada de mesa contendrá 250 ppm +/- 50 ppm de fluoruro(9,10).

II.2 ANALISIS DE FLUORURO.

Existen una gran variedad de procedimientos para el análisis de fluoruro incluyendo técnicas colorimétricas, electrométricas, espectrofotométricas, cromatografía de iones y activación de neutrones. Durante la última década, la técnica potenciométrica por medio de un electrodo de ion selectivo se ha convertido en el instrumento más empleado para el análisis de fluoruro por varias razones: el costo inicial es relativamente bajo; el mantenimiento es sencillo y económico, la preparación de las muestras no es complicada; los tiempos de respuesta son rápidos (usualmente menos de un minuto) y la sensibilidad del electrodo es buena o mejor que la de otros procedimientos. Por estas razones, se recomienda que el electrodo de ion selectivo sea empleado para el análisis de fluoruro(11,12).

II.2.1.POTENCIOMETRIA:

La potencimetría es una técnica analítica que da mediciones directas de cationes, aniones y gases, así como mediciones indirectas de un gran número de especies químicas orgánicas(13).

El objetivo de una medición potenciométrica es obtener información acerca de la concentración de un analito en solución mediante un potencial generado entre dos electrodos. La medición del potencial de celda se determina bajo condiciones reversibles, esto implica que se debe dejar pasar el tiempo suficiente para que la celda se equilibre, durante el transcurso de la determinación(6,13).

Los métodos potenciométricos comprenden dos tipos principales de análisis: La medición directa de la concentración del ion activo y los cambios en la fuerza electromotriz que produce la adición de un titulante(14).

El instrumental necesario para las mediciones potenciométricas comprende un electrodo de referencia, un electrodo indicador y un dispositivo de medida de potencial. El potenciómetro es el instrumento clásico para la determinación exacta de los potenciales generados por los electrodos en una determinación. Es un instrumento de punto nulo en el que el potencial desconocido se compara con un potencial estándar conocido con exactitud(15).

En el campo de la potenciométrica analítica se está experimentando una constante renovación, la cual se debe al desarrollo de nuevos tipos de electrodos de selectividad iónica, esto se debe al diseño de membranas cuya composición es específica para obtener un potencial del ion de interés(15,16).

En general los electrodos se pueden clasificar de acuerdo a la química básica que es responsable del potencial. Un metal en equilibrio con una solución de sus iones forma un electrodo Clase I. El potencial está dado por la ecuación de Nernst, si no hay especies que interfieran. El electrodo Clase II consiste en un metal en equilibrio con una sal poco soluble del mismo elemento. Ejemplo, en electrodo de calomel y Ag/AgCl. Los electrodos de Clase III basan su funcionamiento en el potencial desarrollado a través de una membrana que separa la solución que contiene al analito que interesa. El electrodo de vidrio y otros electrodos de ion selectivo se encuentran en esta categoría(11).

El electrodo de vidrio está dentro de los llamados electrodos de ion selectivos, que muestran un potencial proporcional al logaritmo de la actividad de algún ion específico. La construcción de un electrodo de ion selectivo es muy similar a la de un electrodo de vidrio, con una membrana que envuelve una media celda de referencia interna que se debe medir en comparación con una de referencia. El potencial de respuesta, "E", del electrodo está dado por la ecuación de Nernst ya mencionada(17).

El método más adecuado para la determinación del pH consiste en medir el potencial que se desarrolla a través de una delgada membrana de vidrio que separa dos soluciones con diferente concentración de ion hidrógeno. Se conoce bastante bien la sensibilidad y la selectividad de las membranas de vidrio frente al pH; actualmente se han desarrollado electrodos de membrana que permiten la cuantificación potenciométrica directa de iones como por ejemplo K^+ , Na^+ , Li^+ , F^- y Ca^{++} (11).

Es importante conocer la respuesta del electrodo de ion selectivo así como su variación con el pH del medio, los límites de concentración en los cuales el electrodo permite o exhibe una respuesta inicial, y el grado en el cual otros iones diferentes al ion que se este determinando pueda afectar su respuesta(18,19).

La selectividad de la membrana de vidrio se debe a la presencia de sitios aniónicos en su superficie que presenta especial afinidad hacia ciertos iones con carga positiva, por analogía, una membrana que tenga sitios catiónicos semejantes podría responder en forma selectiva a los aniones(20).

II.2.2.ELECTRODO DE ION SELECTIVO PARA FLUORURO:

El electrodo de ion selectivo para fluoruros consiste en una membrana cristalina sencilla de fluoruro de lantano que ha sido cubierta con europio II para aumentar la conductividad eléctrica y una referencia interna unidos a un cuerpo epóxico. El cristal es un conductor iónico en el cual solamente los iones fluoruro son movibles. Cuando la membrana entra en contacto con una solución de fluoruro se desarrolla un potencial de electrodo a través de la membrana; este potencial depende del nivel de iones fluoruros libres en solución y es medido contra un potencial de referencia externo constante con un medidor de ion específico. La medida del potencial corresponde al nivel de iones fluoruro en solución(11,12,20).

El electrodo de ion selectivo de fluoruros no mide realmente la concentración de fluoruros en solución en lugar de ello, mide la actividad del ion; ya que ciertos cationes divalentes o trivalentes (calcio, magnesio, hierro y aluminio) forman ciertos vínculos iónicos con el fluoruro, el electrodo no puede captar los iones de fluoruro atrapados, por lo cual es necesario preparar las soluciones que van a ser analizadas agregándoles un agente quelante apropiado que permita remover o “ atrapar “ los cationes que intervienen en la determinación de los fluoruros(1,12,20).

Características del electrodo de ion selectivo para fluoruros:

A) Vida del electrodo.

La vida del electrodo para fluoruros es de aproximadamente un año en condiciones normales de operación. Cuando el tiempo de respuesta se incrementa y el punto de calibración decrece es momento de cambiar el electrodo(21).

B) Límites de detección:

El electrodo de ion selectivo para fluoruros tiene un intervalo de determinación de 1×10^{-6} M (0.02ppm) hasta 1M en solución. pueden realizarse lecturas por debajo y arriba de este intervalo.

Los límites de detección está determinado por la solubilidad y contaminación de la muestras a leer ya que estas pueden causar una baja lectura(21,22).

C) Almacenamiento del electrodo:

El electrodo de fluoruros puede ser guardado por cortos periodos de tiempo en una solución de 10 ppm de una solución de fluoruros con solución amortiguadora para el ajuste iónico. Para largos periodos de tiempo (más de dos semanas) el electrodo se enjuaga, se seca y se coloca la capucha protectora sobre la membrana y se guarda (21).

D) Reproducibilidad:

La reproducibilidad del electrodo es de + 2% y puede ser obtenida si el electrodo es calibrado por espacio de una hora (encendido). La reproducibilidad es independiente de la concentración siempre y cuando estén dentro del intervalo de operación del electrodo mientras que esta se ve limitada por factores como fluctuación de temperatura y variaciones de corriente(21).

E) Efecto de la temperatura:

Los potenciales del electrodo son afectados por cambios de temperatura, las muestras y soluciones estándar deben estar dentro de +/- 10°C cada una, los cambios de potencial en el electrodo de referencia se hacen más lentos con variaciones en la temperatura, por lo que depende de la solubilidad de equilibrio del electrodo.

La pendiente del electrodo puede variar con la temperatura, esto es indicado por el factor "S" en la ecuación de Nernst. Valores de este factor para el ion fluoruro están dados en la siguiente tabla.

T(°C)	S
0	54.20
10	56.18
20	58.16
25	59.16
30	60.15
40	62.13
50	64.11

Sí ocurren cambios en la temperatura, medidor y electrodo pueden ser recalibrados. El electrodo puede ser usado a temperaturas desde 0°C hasta 80°C. Para usarse a temperaturas diferentes se recomiendan tiempos por arriba de una hora para alcanzar el equilibrio, el electrodo puede ser usado de forma intermitente a una temperatura de alrededor de 80°C(21,23).

F) Efecto del pH.

El pH de la solución puede causar errores analíticos si es demasiado alto o bajo. La carga eléctrica y el radio del ion hidrato de hidroxilo son tales que el electrodo no puede distinguir entre él y el ion del fluoruro, es decir que los iones hidroxilo son percibidos como si fueran iones fluoruro. Esto requiere que el pH sea ajustado a un valor ácido que para propósitos prácticos, elimina la interferencia de los iones hidroxilo. Sin embargo el pH no debe ser muy ácido porque el ácido fluorhídrico es un ácido débil cuya molécula no es reconocida por el electrodo de fluoruro, por lo que el pH correcto para el análisis es de 5 a 5.5, ya que en este intervalo solo el 1% de la solución es ácido fluorhídrico y la concentración de hidróxilos es menor a 10^{-8} M, un valor mucho menor que el límite de detección del electrodo(21,22).

G) Complejación.

El funcionamiento del electrodo no será el adecuado si ciertos cationes divalentes o trivalentes como el aluminio, calcio, magnesio, silicio y hierro, forman complejos con el fluoruro afectando de esta

manera la determinación del flúor, por lo tanto es necesario agregarles a las soluciones a ser analizadas un agente quelante apropiado CDTA (ácido trans 1,2 ciclohexilendiaminotetracético), ó citrato de sodio, que permita remover o atrapar los cationes que intervengan. El TISAB (amortiguador para el ajuste de la fuerza ionica total) ha sido desarrollado originalmente para disminuir la concentración de iones que intervienen en la determinación del ion fluoruro. Varios TISAB han sido específicamente formulados para la determinación del ion fluoruro, dentro de los cuales se encuentran aquellos formulados con ácido ciclohexilendiamintetracético (CDTA), citrato de sodio o tartrato de sodio(21,22,23).

Dentro de la Unidad de Investigación en Cariología de la FES-Zaragoza se ha preparado una solución amortiguadora a base de citratos, que ha sido empleada en lugar de la solución amortiguadora de marca comercial FAD (Fluoride Analysis Diluent preparada a partir de CDTA), sin embargo estas técnicas no han sido validadas por lo que se propone su validación.

II.3. VALIDACION DE METODOS ANALITICOS.

Una parte integral del desarrollo de un método analítico es la validación del mismo. La validación de métodos analíticos es una parte fundamental para evaluar sistemáticamente si el estudio cumple o no con los objetivos para los cuales fue diseñado (24).

El concepto de validación se manejó originalmente por la Food and Drug Administration (FDA); en un comunicado que exige el control de medicamentos para evitar su adulteración en el año de

1906, en 1938 se convoca a los fabricantes para que eliminen cualquier sustancia tóxica de sus formulaciones y a partir de 1967 se emiten normas de correcta fabricación y de control de calidad que contribuyen a la reproducibilidad de lote a lote y a la obtención de una alta calidad de producto. Finalmente en 1983 se determina el significado de la validación y se establecen criterios de aceptación y limitantes para considerar la validez de un proceso y/o método analítico(24).

Todo método analítico tiene como propósito el determinar al analito en una muestra; este es un procedimiento que involucra un proceso de medición que da como resultado una respuesta analítica confiable(24,25).

La validación de un método analítico se define como:

a) El proceso por el cual queda establecido, por estudios experimentales, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas(26).

b) Como aquella actividad debidamente documentada que permite demostrar que un método analítico cumple con el propósito para el cual fue diseñado(26).

La validación de métodos analíticos deben desarrollarse a través de estudios, ya sea por revisión de casos (validación retrospectiva) o por experimentación (validación prospectiva). Dichos estudios nos permiten establecer con la ayuda de los métodos estadísticos si el atributo de la confiabilidad está ausente o presente, y si están enfocados a la evaluación de parámetros analíticos reconocidos tanto a nivel nacional como internacional(27).

En el país, la Ley General de Salud, asigna un “ status “ legal a esta actividad, al establecer que los controles analíticos de materias primas, productos en proceso y producto terminado, deben emplear “ procesos de validación “ para poder garantizar su calidad(27,28).

Las características de calidad se agrupan en físicas, biológicas y químicas. Para estas últimas se aplican los denominados genéricamente como métodos analíticos, los que permiten determinar la concentración y/o potencial de un fármaco o un contaminante. Es importante establecer la confiabilidad de estos métodos, ya que es un elemento importante para construir la calidad de un producto, por lo que la “ validación” es la actividad que nos permite cumplir con esta finalidad(9).

El emplear métodos analíticos no confiables puede llevar a liberar un producto que no cumpla con las especificaciones mínimas necesaria, por lo que , si se da lugar a una subdosificación (potencia baja), no es posible alcanzar los niveles terapéuticos y por tanto se puede presentar una acción farmacológica deficiente; sí por el contrario, se sobredosifica (potencia elevada), se pueden presentar efectos farmacológicos no deseados (efectos colaterales marcados, e intoxicación entre otras)(24).

Los objetivos principales dentro de una validación son:

1) Producir los mejores resultados analíticos posibles, para obtener tales resultados, deben ser consideradas todas las variables del método; reactivos, aparatos, instrumentos, analista etc.

2) La comprobación formal y sistemática de que la capacidad del método satisface los requisitos para prototipos de pruebas definidas.

3) Ayudar a reducir costos, evitar procesos, planear a corto y a mediano plazo, identificar puntos o procesos erróneos, establecer mejoras en los métodos utilizados; en general ayuda a que todos los sistemas y subsistemas funcionen de una manera correcta para asegurar la calidad(29,30).

La validación relaciona tanto las fases críticas del analista como la evaluación de los resultados o la documentación que genere. Los beneficios que aporta la validación de métodos analíticos son grandes, ya que nos permite conocer el comportamiento de un proceso bajo diferentes condiciones de operación y posteriormente utilizarlo en lo posible para procesos rutinarios(24,25).

Los métodos analíticos que se encuentran ya establecidos en la farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, The United States Pharmacopea (USP), o de algunas otras fuentes, deben ser adecuadamente validados, debido a que si se somete el método nuevas condiciones (reactivos, instrumentos, etc.), pueden alterarse los resultados y características que ya se tenían(31,32).

El propósito del método analítico debe ser establecido con claridad ya que en función de éste, se establecen los parámetros a evaluar(24).

La medida de precisión de la respuesta analítica puede ser evaluada estudiando de manera experimental los parámetros que se denominan como linealidad, exactitud y linealidad del método. La validación general incluye una evaluación de la precisión, linealidad, exactitud y especificidad(31).

1) LINEALIDAD.

La linealidad de un sistema o método analítico representa su habilidad para asegurar que los resultados analíticos, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un intervalo determinado. Con esta determinación se espera que los resultados se ajusten a una línea de respuesta expresada por la ecuación de la recta (28,27).

La linealidad debe ser evaluada tanto en el sistema como en el método analítico.

A) LINEALIDAD DEL SISTEMA.

La determinación del analito en una muestra, involucra en casi todos los métodos, el empleo de un sistema de medición. El sistema generalmente se basa en determinar la respuesta analítica ya sea física, química o biológica del analito.

Este parámetro se caracteriza por estudiar la relación concentración contra respuesta analítica en un intervalo apropiado de concentración “ únicamente del analito “, sin incluir a otros componentes de la muestra(27).

Determinación: La determinación se realiza construyendo una curva de calibración (concentración contra respuesta medida) utilizando cuando menos 5 diluciones preparadas a partir de una misma solución patrón y realizando el análisis por duplicado para cada una de las diluciones(13).

El intervalo entre las soluciones a analizar dependerá del propósito del método. Para control de calidad y seguimiento de estabilidad se incluirá la concentración seleccionada como 100%.

Criterio: El criterio de aceptación se da bajo los siguientes lineamientos (27,28)

$$r > 0.99$$

$$r^2 > 0.98$$

$$C.V. < 1.5\%$$

B) LINEALIDAD DEL METODO.

La linealidad de un método es la relación que se establece mediante una recta, entre la propiedad medible y el valor real de dicha propiedad.

El método analítico debe ser lineal pues de esta forma se medirá sin error la cantidad del analito presente en una muestra no solamente en una cantidad constante, sino también en una cantidad variable; es decir, si la muestra contiene " X " cantidad del analito, el método debe medir la cantidad " Y " del analito por lo que $X=Y$ (32,33).

Determinación: La determinación se realiza a partir de placebos adicionados al principio activo (placebos cargados) de cuando menos 3 diferentes concentraciones incluyendo el 100%, cada uno de manera independiente y realizando el análisis por triplicado.

Criterio: El criterio de aceptación para seguir la linealidad del método se da bajo los siguientes lineamientos(27,28).

$$r > 0.99$$

$$r^2 > 0.98$$

$$C.V. < 3\%$$

$$\% \text{ de recobro } 97-103\%$$

2) PRECISION.

Un requisito indispensable de un método para tener aplicaciones cuantitativas, es la capacidad de éste para repetir y reproducir la medición, la cual en el campo de la validación se le denomina precisión.

La precisión se define como el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestreos de una parte homogénea del

producto. Este parámetro debe de terminarse tanto del sistema como de: método y usualmente se expresa en términos de desviación estándar o coeficiente de variación(28,32).

Debe distinguirse claramente entre precisión del método y precisión del sistema, entendiéndose la primera como aquella que se refiere a todo procedimiento y la segunda como aquella que se considera solamente la contribución del error atribuible al sistema operativo en si y no al error debido a la manipulación de la muestra.

A) PRECISION DEL SISTEMA.

La precisión del sistema es la corrección que existe entre un valor determinado experimentalmente y un valor aceptado como referencia, obtenidos por un solo analista en las mismas condiciones de operación(24)

Determinación: El análisis se realiza empleando una solución estándar correspondiente al 100% del establecido en la linealidad del sistema y por sextuplicado.

Criterio: El criterio de aceptación se da bajo los siguientes lineamientos(28,34).

$$C.V. < 2\%$$

B) PRECISION DEL METODO.

La precisión de un método analítico se define como el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestreos en una muestra homogénea del producto. La precisión del método se establece en términos de dos componentes independientes; la repetibilidad y la reproducibilidad.

1.-Repetibilidad.

La repetibilidad es la medida de la concordancia entre determinaciones independientes del analito, bajo las mismas condiciones de análisis (analista, tiempos, laboratorio, aparatos, etc.) (28,33).

Determinación: Dentro de la repetibilidad se deben analizar cuando menos seis veces con placebos cargados de manera independiente con la cantidad necesaria de la sustancia de interés para obtener la concentración del 100% utilizada en el método propuesto, realizando el análisis en las mismas condiciones de operación por el mismo analista.

Criterio: El criterio de aceptación de la repetibilidad se maneja en porcentos de recobro, y se da bajo los siguientes lineamientos (28).

$$C.V. < 2\%$$

$$\% \text{ de recobro } 97\text{-}103\%$$

2.-Reproducibilidad.

La reproducibilidad es la medida de la concordancia relativa, entre determinaciones independientes del analito, bajo distintas condiciones de análisis (analista, laboratorio, equipos etc.)(34,28).

Determinación: Dentro de la reproducibilidad se deben llevar a cabo los análisis cuando menos por dos analistas en dos días diferentes y por triplicado. Se deben trabajar de manera independiente partiendo de una muestra homogénea del producto, cercano al 100% de la concentración teórica(28).

Criterio: El criterio de aceptación de la reproducibilidad se maneja bajo los siguientes lineamientos(13,16).

$$C.V. < 3\%$$

C) EXACTITUD.

En una gran variedad de métodos analíticos se tiene como propósito determinar cuantitativamente a un analito presente en una muestra. Para este tipo de situaciones un atributo importante del método analítico es la exactitud de la medición(34).

La exactitud del método analítico es la concordancia entre el valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Obviamente está concordancia dependerá del error “ in situ” del método analítico empleado. Este parámetro se expresa como el porciento de recobro obtenido del análisis de muestra a las que se les ha adicionado cantidades conocidas de sustancia (Placebos adicionados)(28,30).

La respuesta analítica de un método es influida por una serie de factores intrínsecos del método, por lo que se espera que estos factores gobiernen su exactitud. Entre aquellos factores intrínsecos se tienen factores instrumentales (Instrumentos mal calibrados, etc.), factores del método (asociados principalmente a aspectos del diseño del método el uso de indicadores no adecuados, temperaturas inadecuadas, etc.), y factores operativos (Asociados principalmente a la experiencia del analista)(30).

Se puede establecer que un método analítico es un procedimiento operativo sistemático, que emplea en la mayoría de los casos técnicas de análisis instrumental, con el objeto de medir

correctamente a un analito en una muestra. Si el método mide de manera correcta el analito, se dice que el método es exacto; por el contrario, si el método mide de manera incorrecta, se dice que el método es inexacto(34).

Determinación: La exactitud se evalúa analizando, cuando menos seis placebos adicionando de manera independiente una cantidad determinada de la sustancia de interés, para obtener una concentración al 100% según el método propuesto. Dicho análisis se realiza en las mismas condiciones de operación y por el mismo analista(28, 30).

Criterio: El criterio de aceptación se da bajo los siguientes lineamientos.

% de recobro 97-103%

C.V. < 2%

D) ESPECIFICIDAD.

La especificidad es la habilidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia de interés y no a los otros componentes de la muestra (excipientes, productos de degradación, impurezas, etc.)(30,28).

Determinación: *Se analizan placebos del producto a analizar con el método propuesto, identificando la respuesta del principio activo y en caso de proceder a los excipientes y/o las otras sustancias presentes (28,30).*

Criterio: El criterio de aceptación se realiza confirmando que el método desarrollado es capaz de cuantificar a la sustancia de interés sin que exista interferencia de otras sustancias presentes(28,30).

Muestra placebo	La respuesta es menor del 2%
Estándar	Da respuesta al 100 %
Placebo cargado	Da respuesta al 100%

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El flúor ha representado un papel muy importante en la disminución de la caries dental por lo tanto la fluoración de la sal de mesa significa un enorme logro histórico para nuestro país, ya que contribuirá ostensiblemente a la disminución de la caries dental.

Actualmente para la determinación del ion fluoruro en muestras de sal, se emplea un método potenciométrico utilizando un electrodo selectivo y una solución amortiguadora de ajuste iónico de marca comercial FAD (Fluoride Analysis Diluent), sin embargo se ha observado que el costo de esta solución es muy alto, por lo que se considera que dicho método ya no representa una buena alternativa para su uso. Dentro de la Unidad Universitaria de Investigación en Cariología de la FES-Zaragoza se ha desarrollado una metodología empleando una solución amortiguadora de ajuste iónico preparada a base de citratos, lo que trae consigo una disminución del costo; sin embargo estos métodos no han sido validados.

Una parte integral del desarrollo de un método analítico es la validación del mismo, es decir, el método debe probarse para determinar su efectividad. Por lo que el propósito de este trabajo es validar ambos métodos, empleando una solución amortiguadora de marca comercial FAD y una solución amortiguadora a base de citratos preparada en el laboratorio de la Unidad Universitaria de Investigación en Cariología de la FES- Zaragoza, para de esta manera poder determinar que no existen diferencias significativas entre ambos métodos, ya que esto nos permitirá conocer el comportamiento del método bajo diferentes condiciones de operación para posteriormente utilizarlo en procesos rutinarios.

V. OBJETIVOS.

IV.1. OBJETIVO GENERAL.

Efectuar la validación de un método analítico potenciométrico para la determinación del ion fluoruro en sal de mesa, empleando para ello dos soluciones amortiguadoras diferentes.

IV.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.

1.) Efectuar la validación de un método potenciométrico para la determinación del ion fluoruro en sal de mesa, empleando una solución amortiguadora de marca comercial (FAD.)

2) Efectuar la validación de un método potenciométrico para la determinación del ion fluoruro en sal de mesa, empleando una solución amortiguadora a base de citratos.

3) Con los datos obtenidos de las determinaciones anteriores realizar una comparación entre ambos métodos y observar si es posible la sustitución de la solución amortiguadora de marca comercial (FAD) por la preparada a base de citratos.

V. HIPOTESIS.

Al efectuar la validación del método potenciométrico para la determinación del ion fluoruro con dos soluciones amortiguadoras diferentes éstas no presentarán diferencias significativas por lo cual se podrá sustituir la solución amortiguadora de marca comercial (FAD) por la preparada a base de citratos.

VI. MATERIAL Y METODO

VI.1. MATERIAL.

-Matraces volumétricos	100 ml
-Matraces volumétricos	1000 ml
-Vaso de precipitados	1000 ml
-Vaso de precipitados	100 ml
-Pipetas volumétricas	1 ml
-Pipetas volumétricas	10 ml
-Buretas	50 ml
-Recipientes de polietileno	30 ml
-Recipientes de polietileno	100 ml
-Recipientes de polietileno	1000 ml
-Agitador magnético	
-Espátula de acero inoxidable	
- Soporte universal	
- Pinzas de tres dedos con nuez	
-Perilla de seguridad	
-Pizetas	

VI.2. REACTIVOS.

- Solución amortiguadora para ajustar la fuerza iónica total de pH 5.5
Cornig FAD (Fluoride Analysis Diluent)
- Citrato de sodio dihidratado. Grado reactivo. Marca Baker
- Cloruro de sodio. Grado reactivo Marca Baker
- Fluoruro de sodio. Grado reactivo Marca Baker

- Solución patrón de fluoruro de sodio 100 ppm. Marca Corning
- Acido acético glacial. Grado reactivo.
- Hidróxido de sodio. Grado reactivo.
- Solución amortiguadora pH 4,7 y 10. Grado Reactivo. Marca Baker
- Agua desionizada
- Sal de mesa sin fluorar

VI.3. EQUIPO.

- Placa de agitación magnética. Marca thermolyne Cimarec 2.

VI.4. INSTRUMENTOS.

- Potenciometro. Marca Corning
- Electrodo de ion selectivo para fluoruros. Marca Corning ion Analyzer 225.
- Balanza analítica. Marca OHAUS.

VI.4. METODOLOGIA.

VI.4.1. METODO GENERAL DE ANALISIS.

Se toma una muestra homogénea de sal de mesa para consumo humano y se colocan 10 g. en un matraz volumétrico de 100 ml , posteriormente se procede a aforar con agua desionizada; se agita el recipiente hasta que toda la sal se encuentre en solución. Esta solución deberá dar una concentración de 2.5 mg/100ml que es igual a 25 ppm o mg/L.

De la solución anterior se toma una alícuota de 10 ml y se colocan en un recipiente de polietileno (con capacidad de 30 ml), agregándose posteriormente 10 ml la solución amortiguadora para el ajuste de la fuerza iónica (TISAB) agitándose mecánicamente por espacio de 3 minutos y posteriormente se lee potenciométricamente con un electrodo de ion selectivo para fluoruros previamente calibrado registrándose las lecturas en ppm.

Las lecturas obtenidas se multiplican por el factor de 10 para obtener la concentración final de fluoruros por kilogramo de sal.

VI.4.2. METODOLOGIA PROPUESTA.

A) Linealidad del Sistema:

A partir de una solución estándar de 500 ppm de fluoruro de sodio se tomaron alícuotas de 30 ml, 40 ml, 50 ml, 60 ml y 70 ml, colocarlas en matraces volumétricos de 100 ml llevando al aforo con agua desionizada, se mezclaron por inversión. Obteniéndose de esta forma soluciones con concentraciones de 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm, 300 ppm y 350 ppm.

De las soluciones anteriores se tomaron alícuotas de 10 ml y se llevaron a matraces volumétricos de 100 ml aforándose con agua desionizada y se mezclaron por inversión. Se colocaron en recipientes de polietileno (con capacidad de 30 ml) 10 ml de las diluciones anteriormente preparadas y 10 ml de la solución amortiguadora (marca comercial y la preparada a base de citratos) se agitó y leyó potenciométricamente con un electrodo de ion selectivo para fluoruros de menor a mayor concentración.

Se lavó el electrodo con agua desionizada y se secó completamente después de cada determinación.

Se realizó cada prueba por duplicado y en tres días diferentes.

B) Linealidad del Método.

Se colocaron 10 g de placebo cargado (150 ppm, 200 ppm, 250 ppm, 300 ppm y 350 ppm) en matraces volumétricos de 100 ml, se aforaron con agua desionizada y se mezclaron por inversión. Por separado en un recipiente de polietileno (con capacidad para 30 ml) se agregaron 10 ml de la solución anteriormente preparada y 10 ml de

solución amortiguadora (marca comercial y la preparada a base de citratos) se agitó y se procedió a leer potenciométricamente con un electrodo de ion selectivo para fluoruros de menor a mayor concentración.

Se lavó el electrodo con agua desionizada y se secó completamente después de cada determinación.

Se realizó cada prueba por triplicado y en tres días diferentes.

C) Precisión del sistema.

Se colocaron 10 ml de solución estándar de 250 ppm en un matraz volumétrico de 100 ml, se aforó con agua desionizada y se mezcló por inversión. Se tomaron 10 ml de la solución anteriormente preparada y se transfirieron a un recipiente de polietileno (con capacidad de 30 ml) se agregaron 10 ml de la solución amortiguadora (marca comercial y la preparada a base de citratos) se agitó y leyó potenciométricamente con un electrodo de ion selectivo para fluoruros.

Se lavó el electrodo con agua desionizada y se secó completamente después de cada determinación.

El análisis se realizó bajo las mismas condiciones de operación, por el mismo analista y por sextuplicado

D) Precisión del método.

1.-Reproducibilidad.

Se colocaron 10 g de placebo cargado (250 ppm) en un matraz volumétrico de 100 ml, se aforo con agua desionizada y se mezcló por inversión. Se transfirieron 10 ml de la solución anteriormente preparada en un recipiente de polietileno (con capacidad de 30 ml) y se agrego 10 ml de la solución amortiguadora (marca comercial y la preparada a base de citratos) se agito y leyó potenciométricamente con un electrodo de ion selectivo para fluoruros

Se lavó el electrodo con agua desionizada y se secó completamente después de cada determinación.

El análisis se realizo por lo menos con dos analistas en dos días diferentes y por triplicado.

E) Exactitud y Repetibilidad al 100%

Se colocaron 10 g de placebo cargado (250 ppm) en un matraz volumétrico de 100 ml, se aforó con agua desionizada y se mezclo por inversión. Se transfirieron 10 ml de la solución anteriormente preparada en un recipiente de polietileno (con capacidad de 30 ml) y se les agrego 10 ml de la solución amortiguadora (marca comercial y la preparada a base de citratos) se agito y leyó potenciométricamente con un electrodo de ion selectivo para fluoruros.

Se lavó el electrodo con agua desionizada y se seco completamente después de cada determinación.

El análisis se realizó bajo las mismas condiciones de operación, por el mismo analista y por sextuplicado.

F) Especificidad.

Se colocaron 10 g de placebo y placebo cargado (150 y 350 ppm), de manera independiente, en un matraz volumétrico de 100 ml y se aforaron con agua desionizada y se mezclaron por inversión. De las soluciones anteriormente preparadas se tomaron 10 ml y se transfirieron a recipientes de polietileno (con capacidad de 30 ml) y agregaron 10 ml de solución amortiguadora (marca comercial y la preparada a base de citratos) se agitaron y se procedió a leer potenciométricamente con un electrodo de ion selectivo para fluoruros.

De una solución estándar de 250 ppm se tomaron 10 ml y se colocaron en un matraz volumétrico de 100 ml, se aforaron con agua desionizada y se mezcló por inversión. De la solución anteriormente preparada se tomaron 10 ml y se transfirieron a un recipiente de polietileno (con capacidad de 30 ml) y se les agregó 10 ml de solución amortiguadora (marca comercial y la preparada a base de citratos) se agitó y leyó potenciométricamente con un electrodo de ion selectivo para fluoruros.

Se lavó el electrodo con agua desionizada y se secó completamente después de cada determinación.

VII. RESULTADOS.

A) Linealidad del Sistema.

Tabla No 1. Resultados de la **linealidad del sistema** para la determinación del ion fluoruro empleando el método de ion selectivo y una solución amortiguadora de marca comercial (FAD.).

Concentración (ppm)	Lecturas (ppm)	Promedio
15	15.01 15.03 15	15.01
20	20.97 20.03 20.08	20.36
25	24.98 25.15 25.05	25.06
30	30.10 30.11 30.13	30.11
35	35.13 35.15 35.12	35.13

Fuente Directa

$$\begin{aligned} \Sigma X &= 375 \\ \Sigma X^2 &= 10125 \\ \Sigma Y &= 377.04 \\ \Sigma Y^2 &= 10227.87 \\ \Sigma XY &= 10175.90 \end{aligned}$$

Coeficiente de correlación.

$$r = 0.9994$$

Coeficiente de determinación

$$r^2 = 0.9998$$

Pendiente.

$$M = 0.9998$$

Ordenada.

$$B = 0.1385$$

Desviación estándar.

$$\Sigma F = 15.0866$$

$$\Sigma F^2 = 15.1757$$

$$\bar{F} = 1.00577$$

$$DE = 0.0119$$

Coefficiente de variación.

$$CV = 1.1891\%$$

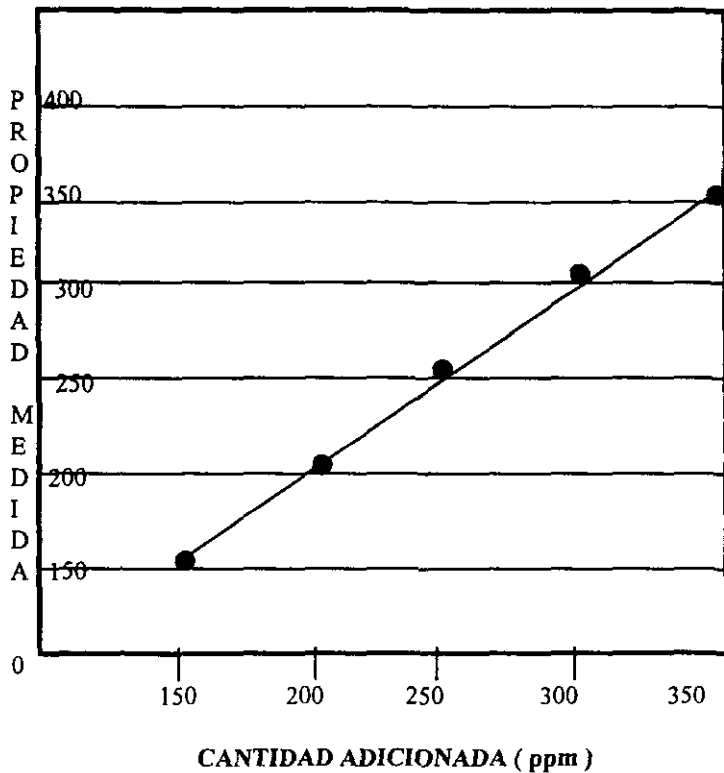
Tabla No 2. Contraste de valores entre el criterio de aceptación y los valores obtenidos experimentalmente para la linealidad del sistema (FAD).

Parámetro evaluado	Valor aceptado	Valor experimental
Coefficiente de variación	$CV < 1.5\%$	C.V. = 1.1891%
Coefficiente de correlación	$r > 0.99$	$r = 0.9994$
Coefficiente de terminación	$r^2 > 0.98$	$r^2 = 0.9998$

Fuente de valor aceptado: Manual de métodos de validación. Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos

Fuente de valor experimental: Directa

**LINEALIDAD DEL SISTEMA.
FAD.**



**FIGURA 1. LINEALIDAD DEL SISTEMA.
FAD**

B) Precisión del Sistema.

Tabla No 3. Resultados de la **precisión del sistema** para la determinación del ion fluoruro empleando el método de ion selectivo y una solución amortiguadora de marca comercial (FAD).

Cantidad adicionada (ppm)	Cantidad recuperada (ppm)	% de recobro
25	25.13	100.52
25	25.23	100.92
25	25.27	101.08
25	25.27	101.08
25	25.07	100.28
25	25.20	100.80

Fuente Directa

$$\begin{aligned}\Sigma R &= 604.68 \\ \Sigma R^2 &= 60940.168 \\ \bar{R} &= 100.78\end{aligned}$$

Desviación estándar.

$$DE = 0.3217$$

Coefficiente de variación.

$$CV = 0.3192 \%$$

Tabla No 4. Contraste de valores entre el criterio de aceptación y los valores obtenidos experimentalmente para precisión del sistema (FAD).

Parámetro evaluado	Valor aceptado	Valor experimental
Coefficiente de variación	CV < 2.0%	CV = 0.3192%
% de recobro	97-103%	101.08%

Fuente de valor aceptado: Manual de métodos de validación. Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos

Fuente de valor experimental: Directa

C) Linealidad del Método

Tabla No 5. Resultados de la **linealidad del método** para la determinación del ion fluoruro empleando el método de ion selectivo y una solución amortiguadora de marca comercial (FAD).

Cantidad adicionada (ppm)	Cantidad recuperada (ppm)	% de recobro
15	15.67	104.47
15	15.73	104.87
15	15.43	102.87
20	20.57	102.85
20	20.20	101
20	20.20	101
25	26	104
25	25.33	101.32
25	25.63	102.52
30	31.97	106.57
30	31.30	104.33
30	30.67	102.23
35	35.93	102.65
35	35.20	100.57
35	35.43	101.22

Fuente Directa

$$\begin{aligned}\Sigma X &= 375 \\ \Sigma X^2 &= 10125 \\ \Sigma Y &= 385.26 \\ \Sigma Y^2 &= 10672.487 \\ \Sigma XY &= 10393.65\end{aligned}$$

Coefficiente de correlación.

$$r = 0.9980$$

Coefficiente de determinación

$$r^2 = 0.9961$$

Pendiente.

$$M = 1.0162$$

Ordenada.

$$B = 0.279$$

Desviación estándar.

$$\begin{aligned}\Sigma R &= 1542.47 \\ \Sigma R^2 &= 158655.8725 \\ \overline{R} &= 102.8313 \\ DE &= 1.7243\end{aligned}$$

Coefficiente de variación.

$$CV = 1.6768\%$$

Tabla No 6. Contraste de valores entre el criterio de aceptación y los valores obtenidos experimentalmente para la linealidad del método (FAD).

Parámetro evaluado	Valor aceptado	Valor experimental
Coefficiente de variación	CV < 3.0%	CV = 1.6768%
Coefficiente de correlación	r > 0.99	r = 0.9980
Coefficiente de determinación	r ² > 0.98	r ² = 0.9961
Ordenada al Origen	B = 0	B = 0.279
Pendiente	M = 1	M = 1.0162
% de recobro	97-103%	102.8313%

Fuente de valor aceptado: Manual de métodos de validación. Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos

Fuente de valor experimental: Directa

Contraste de hipótesis para la pendiente:

$$H_0 : m = 1$$

$$H_a : m \neq 1$$

Error típico:

$$\hat{S}_{y,x} = \sqrt{\frac{(10672.487) - 1.0162 (10393.65) - 0.279 (385.26)}{15}}$$

$$\hat{S}_{y,x} = 3.7844$$

Error típico modificado:

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{15}{15-2}} (3.7844)$$
$$S_{y/x} = 4.06$$

Estadígrafo de contraste para la pendiente:

$$t_{\text{Calc}} = \frac{(1.0162) (1.7243) (3.7416)}{4.06}$$
$$t_{\text{Calc}} = 0.02574$$

Decisión estadística:

$$t_{\text{tablas } (0.95, 15-2)} = 2.1448$$
$$0.02574 < 2.1448$$

Por lo tanto se acepta H_0 y estadísticamente la pendiente es igual a 1
Intervalo de confianza para la pendiente:

$$IC(m) = 1.0162 \pm (2.1448) = \frac{4.06}{(1.7243) ((14)^{1/2})}$$
$$IC(m) = -0.3334 \text{ a } 2.3658$$

Contraste de hipótesis para la ordenada:

$$H_0 : b = 0$$
$$H_a : b \neq 0$$

Estadígrafo de contraste para la ordenada:

$$t_{\text{Calc}} = \frac{0.279 - 0}{(4.06) \sqrt{\frac{10125}{(15)(9750)}}}$$
$$t_{\text{Calc}} = 0.2611$$

Decisión estadística:

$$t_{\text{tablas } (0.95; 15; 2)} = 2.1448$$

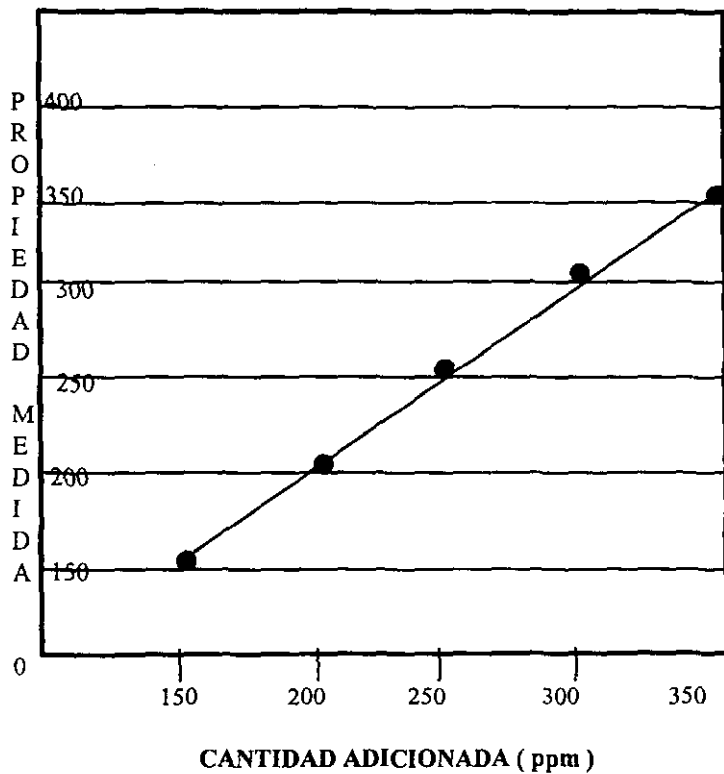
$$0.2611 < 2.1448$$

Por lo tanto se acepta H_0 y estadísticamente la ordenada es igual a 0
Intervalo de confianza para la ordenada:

$$IC (m) = 1.0162 \pm (2.1448) (4.06) \sqrt{\frac{10125}{(15)(9750)}}$$

$$IC (b) = -0.05205 \text{ a } 2.0844$$

**LINEALIDAD DEL METODO.
FAD.**



**FIGURA 2. LINEALIDAD DEL METODO.
FAD**

D) Precisión del método (reproducibilidad).

Tabla No 7. Resultados de la **reproducibilidad** para la determinación del ion fluoruro empleando el método de ion selectivo y una solución amortiguadora de marca comercial (FAD).

		ANALISTA	
		1	2
D	1	25.40	25.27
		25.43	25.27
		24.83	25.43
A	2	25.40	24.97
		25.47	24.87
		25	25

Fuente Directa

Tabla No 8. Porcentaje de recobro para fluoruro obtenidos por dos analistas en dos días diferentes.

		ANALISTA	
		1	2
D	1	101.60	101.08
		101.72	101.08
		99.32	100.72
A	2	101.60	99.88
		101.86	99.48
		100	100

Fuente Directa

$$Y_{11} = 302.64$$

$$\begin{aligned}
Y_{12} &= 303.48 \\
Y_{21} &= 303.88 \\
Y_{22} &= 299.36 \\
Y_{1..} &= 606.12 \\
Y_{2..} &= 603.24 \\
Y_{...} &= 1209.36 \\
\Sigma Y^2_{IJ} &= 365650.54 \\
\Sigma Y^2_{I...} &= 731279.952 \\
\Sigma\Sigma Y^2_{IJK} &= 121889.6512
\end{aligned}$$

Desviación Estándar

$$DE = 0.9700$$

Coefficiente de Variación

$$CV = 0.9625\%$$

Tabla No 22. Tabla de análisis de varianza para la reproducibilidad.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F cal.	$F_{(0.05)}$
Analista	gla = 1	0.6912	0.6912	0.196	38.51
Día	gla = 2	3.5226	1.7613	2.296	6.06
Error	gle = 8	6.1365	0.7670		

Fuente Directa

Decisión estadística:

Como F_{cal} es menor que $F_{(0.05)}$ El método analítico es reproducible por los analistas.

Como F_{cal} es menor que $F_{(0.05)}$ El método analítico es reproducible en distintos días por el mismo analista.

E) Exactitud y Repetibilidad al 100%.

Tabla No 10. Resultados de la **exactitud** y la **repetibilidad** para la determinación del ion fluoruro empleando el método de ion selectivo y una solución amortiguadora de marca comercial FAD.

Cantidad adicionada (ppm)	Cantidad recuperada (ppm)	% de recobro
25	25	100
25	24.80	99.20
25	25.10	100.40
25	25.20	100.80
25	25.13	100.52
25	24.93	99.72

Fuente Directa

$$\begin{aligned}\Sigma R &= 600.64 \\ \Sigma R^2 &= 60129.7888 \\ R &= 100.1067\end{aligned}$$

Desviación estándar.

$$DE = 0.5866$$

Coefficiente de variación.

$$CV = 0.5859\%$$

Tabla No.11 Contraste de valores entre el criterio de aceptación y los valores obtenidos experimentalmente para exactitud y la repetibilidad al 100%

Parámetro evaluado	Valor aceptado	Valor experimental
Coefficiente de variación	CV < 2.0%	CV = 0.5859%
% de recobro	97-103 %	100.1067%

Fuente Directa

Contraste de hipótesis para la exactitud y repetibilidad:

$$H_0: m = 100 \%$$

$$H_a: m \neq 100 \%$$

$$t_{\text{calc}} = \frac{100.1067 - 100}{0.5860 / (6)^{1/2}}$$

$$T_{\text{cal}} = 0.4460$$

Decisión estadística.

$$T_{\text{tab}(n-1;0.95)} = 2.365$$

$$0.4460 < 2.365$$

por lo tanto se acepta H_0

Intervalo de confianza para el porcentaje de recobro:

$$IC = 100.1067 \pm 2.365 \frac{0.5860}{(6)^{1/2}}$$

$$IC = 99.5409\% \text{ a } 100.6724\%$$

F) Especificidad.

Tabla No 12. Resultados de la especificidad para la determinación del ion fluoruro empleando el método de ion selectivo y una solución amortiguadora de marca comercial FAD.

Concentración de F ⁻ en ppm	Respuesta
Placebo	Detectable en 0.93%
Placebo cargado (150 ppm)	Detectable en un 100.46%
Placebo cargado (350 ppm)	Detectable en un 100.98%
Estándar (250 ppm)	Detectable en un 100.28%

Fuente Directa

Tabla No.13 Contraste de valores entre el criterio de aceptación y los valores obtenidos experimentalmente para especificidad.

Parámetro evaluado	Valor aceptado	Valor experimental
Coefficiente de variación	la respuesta debe ser menor al 2%	Respuesta = 0.93%
Placebo cargado	la respuesta debe ser al 100%	150 ppm = 100.46% 350 ppm = 100.28%
Estándar	respuesta al 100%	100.28%

Fuente Directa

G) Linealidad del Sistema .

Tabla No 14. Resultados de la **linealidad del sistema** para la determinación del ion fluoruro empleando el método de ion selectivo y una solución amortiguadora de citratos.

Concentración (ppm)	Lecturas (ppm)			Promedio
15	15.53	15.07	14.87	15.12
20	19.97	20	20.13	20.03
25	24.60	25.20	25.17	24.99
30	30.20	30.13	30.20	30.18
35	35.17	35.27	35.10	35.18

Fuente Directa

$$\begin{aligned}\Sigma X &= 375 \\ \Sigma X^2 &= 10125 \\ \Sigma Y &= 376.61 \\ \Sigma Y^2 &= 10211.9581 \\ \Sigma XY &= 10168.10\end{aligned}$$

Coefficiente de correlación.

$$r = 0.9996$$

Coefficiente de determinación

$$r^2 = 0.9992$$

Pendiente.

$$M = 1.003$$

Ordenada.

$$B = 0.0123$$

Desviación estándar.

$$\Sigma F = 15.0682$$

$$\Sigma F = 15.1384$$

$$\overline{F} = 1.0045$$

$$DE = 0.0108$$

Coefficiente de variación.

$$CV = 1.0789\%$$

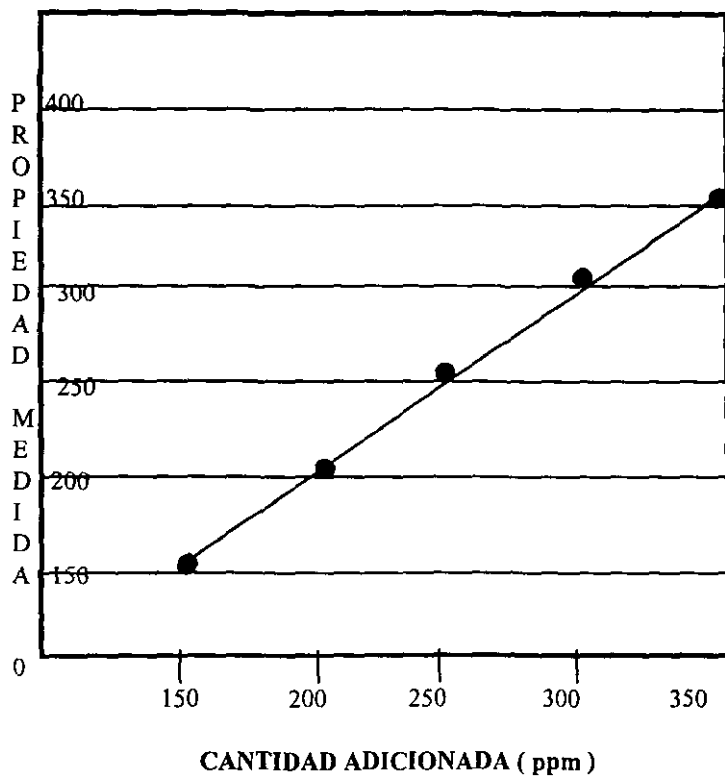
Tabla No 15. Contraste de valores entre el criterio de aceptación y los valores obtenidos experimentalmente para la linealidad del sistema.

Parámetro evaluado	Valor aceptado	Valor experimental
Coefficiente de variación	$CV < 1.5\%$	$CV = 1.0789\%$
Coefficiente de correlación	$r > 0.99$	$r = 0.9996$
Coefficiente de determinación	$r^2 > 0.98$	$r^2 = 0.9992$

Fuente de valor aceptado: Manual de métodos de validación. Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos

Fuente de valor experimental: Directa

**LINEALIDAD DEL SISTEMA.
CITRATOS.**



**FIGURA 3. LINEALIDAD DEL SISTEMA.
CITRATOS**

H) Precisión del Sistema.

Tabla No 1. Resultados de la **precisión del sistema** para la determinación del ion fluoruro empleando el método de ion selectivo y una solución amortiguadora de citratos.

Cantidad adicionada (ppm)	Cantidad recuperada (ppm)	% de recobro
25	25.07	100.28
25	25	100
25	24.90	99.60
25	25	100
25	25.10	100.40
25	25.07	100.28

Fuente Directa

$$\Sigma R = 600.56$$

$$\Sigma R^2 = 60112.47$$

$$\bar{R} = 100.09$$

Desviación estándar.

$$DE = 0.2913$$

Coefficiente de variación.

$$CV = 0.2911 \%$$

Tabla No 17 Contraste de valores entre el criterio de aceptación y los valores obtenidos experimentalmente para precisión del sistema (citrato).

Parámetro evaluado	Valor aceptado	Valor experimental
Coefficiente de variación	CV < 2.0%	CV = 0.2911%

Fuente de valor aceptado: Manual de métodos de validación.Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos

Fuente de valor experimental: Directa

I) Linealidad del Método Citratos.

Tabla No 18. Resultados de la linealidad del método para la determinación del ion fluoruro empleando el método de ion selectivo y una solución amortiguadora de citratos.

Cantidad adicionada (ppm)	Cantidad recuperada (ppm)	% de recobro
15	14.93	99.53
15	15.13	100.87
15	15.07	100.47
20	20.03	100.15
20	20.03	100.15
20	20	100
25	25.03	100.12
25	24.93	99.72
25	25.17	101.68
30	30.33	101.10
30	30.13	100.43
30	30.13	100.43
35	35.27	100.77
35	35.03	100.08
35	35.07	100.20

Fuente Directa

$$\begin{aligned}\Sigma X &= 375 \\ \Sigma X^2 &= 101250 \\ \Sigma Y &= 376.28 \\ \Sigma Y^2 &= 10199.3846 \\ \Sigma XY &= 10162.05\end{aligned}$$

Coefficiente de correlación.

$$r = 0.999$$

Coefficiente de determinación

$$r^2 = 0.998$$

Pendiente.

$$M = 1.0067$$

Ordenada.

$$B = - 0.083$$

Desviación estándar.

$$\begin{aligned}\Sigma R &= 1505.70 \\ \Sigma R^2 &= 151146.37 \\ \bar{R} &= 100.33 \\ DE &= 0.5485\end{aligned}$$

Coefficiente de variación.

$$CV = 0.5464 \%$$

Tabla No 19. Contraste de valores entre el criterio de aceptación y los valores obtenidos experimentalmente para la linealidad del método (citrato).

Parámetro evaluado	Valor aceptado	Valor experimental
Coefficiente de variación	CV < 3.0%	CV = 0.3935%
Coefficiente de correlación	r > 0.99	r = 0.999
Coefficiente de determinación	r ² > 0.98	r ² = 0.998
Ordenada al Origen	B = 0	B = -0.083
Pendiente	M = 1	M = 1.0067
% de recobro	97-103%	100.38%

Fuente de valor aceptado: Manual de métodos de validación.Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos

Fuente de valor experimental: Directa

Contraste de hipótesis para la pendiente:

$$H_0 : m = 1$$

$$H_a : m \neq 1$$

Error típico:

$$\hat{s}_{y,x} = \sqrt{\frac{(10199.3846) - 1.0067(10162.05) - 0.083(376.28)}{15}}$$

$$\hat{s}_{y,x} = 2.032$$

Error típico modificado:

$$S_{y,x} = \sqrt{\frac{15}{15-2} (2.032)}$$

$$S_{y,x} = 2.1827$$

Estadígrafo de contraste para la pendiente:

$$t_{\text{Calc}} = \frac{(1.0067)(0.5485)(3.7416)}{2.1827}$$

$$t_{\text{Calc}} = 0.00629$$

Decisión estadística:

$$t_{\text{tablas } (0.95; 15-2)} = 2.1448$$

$$0.00629 < 2.1448$$

Por lo tanto se acepta H_0 , y estadísticamente la pendiente es igual a 1
Intervalo de confianza para la pendiente:

$$IC(m) = 1.0067 \pm (2.1448) \frac{2.1827}{(0.5485)((14)^{1/2})}$$

$$IC(m) = -1.2743 \text{ a } 3.2877$$

Contraste de hipótesis para la ordenada:

$$H_0 : b = 0$$

$$H_a : b \neq 0$$

Estadígrafo de contraste para la ordenada:

$$t_{\text{Calc}} = \frac{-0.083 - 0}{(2.1827) \sqrt{\frac{10125}{(15)(9750)}}}$$

$$t_{\text{Calc}} = -0.1445$$

$$t_{\text{Clac}} = -0.1445$$

Decisión estadística:

$$t_{\text{tablas } (0.95; 15-2)} = 2.1448$$

$$-0.1445 < 2.1448$$

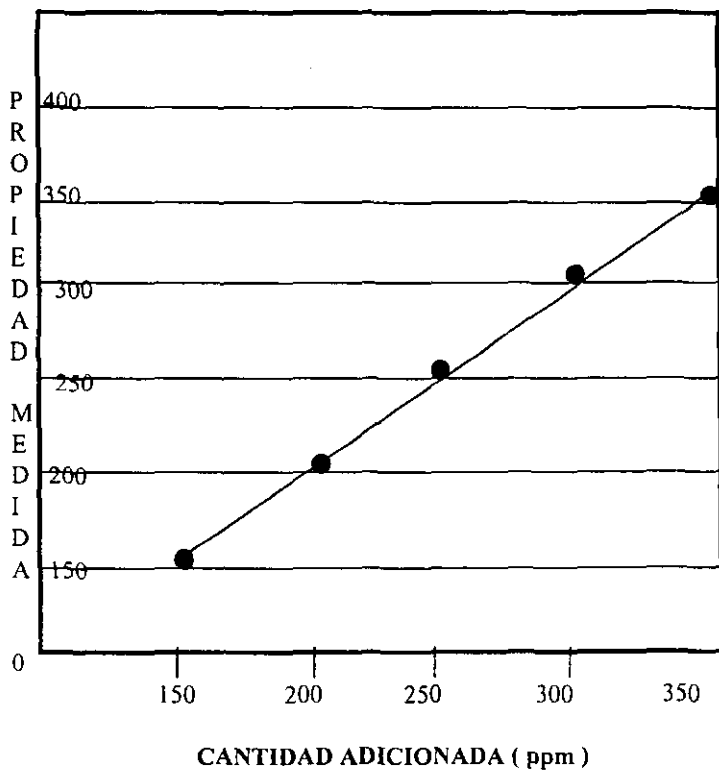
Por lo tanto se acepta H_0 y estadísticamente la ordenada es igual a 0

Intervalo de confianza para la ordenada:

$$IC(m) = -0.1455 \pm (2.1448) \left(2.1827 \sqrt{\frac{10125}{15} (9750)} \right)$$

$$IC(b) = -1.3762 \text{ a } 1.0872$$

**LINEALIDAD DEL METODO.
CITRATOS.**



**FIGURA 4. LINEALIDAD DEL METODO.
CITRATOS**

J) Reproducibilidad .

Tabla No 20. Resultados de la **reproducibilidad** para la determinación del ion fluoruro empleando el método de ion selectivo y una solución amortiguadora de citratos.

		ANALISTA	
		1	2
D	1	25.43	25.97
		25.20	25.13
		25.20	25.03
A	2	25.40	25.97
		25.90	24.87
		25.23	25

Fuente Directa

Tabla No 21. Porcentaje de recobro para ion fluoruro obtenidos por dos analistas en dos días diferentes.

		ANALISTA	
		1	2
D	1	101.72	99.88
		100.80	100.52
		100.80	100.12
A	2	100.60	99.88
		99.60	99.48
		100.92	100

Fuente Directa

$$\begin{aligned}
Y_{11} &= 303.32 \\
Y_{12} &= 302.12 \\
Y_{21} &= 297.52 \\
Y_{22} &= 299.36 \\
Y_{1..} &= 605.44 \\
Y_{2..} &= 599.88 \\
Y_{...} &= 1205.32 \\
\Sigma Y_{2IJ} &= 363208.1968 \\
\Sigma Y_{2I...} &= 726413.608 \\
\Sigma \Sigma Y_{2IJK} &= 121072.3888
\end{aligned}$$

Desviación Estándar

$$DE = 0.7404$$

Coefficiente de Variación

$$CV = 0.7371\%$$

Tabla No 22. Tabla de análisis de varianza para la reproducibilidad.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F cal.	$F_{(0.05)}$
Analista	gla = 1	2.5761	2.5761	11.09	38.51
Día	gla = 2	0.4642	0.2321	0.6210	6.06
Error	gle = 8	2.9898	0.3737		

Fuente Directa

Decisión estadística:

Como F_{cal} es menor que $F_{(0.05)}$, El método analítico es reproducible por los analistas.

Como F_{cal} es menor que $F_{(0.05)}$, El método analítico es reproducible en distintos días por el mismo analista.

k) Exactitud y Repetibilidad al 100%.

Tabla No 23. Resultados de la **exactitud y repetibilidad** para la determinación del ion fluoruro empleando el método de ion selectivo y una solución amortiguadora de citratos.

Cantidad adicionada (ppm)	Cantidad recuperada (ppm)	% de recobro
25	25.20	100.80
25	25.13	100.52
25	25.10	100.40
25	24.90	99.60
25	24.77	99.06
25	24.97	99.87

Fuente Directa.

$$\begin{aligned}\Sigma R &= 600.26 \\ \Sigma R^2 &= 60054.1414 \\ R &= 100.0433\end{aligned}$$

Desviación estándar.

$$DE = 0.6527$$

Coefficiente de variación.

$$C.V. = 24\%$$

Tabla No.24. Contraste de valores entre el criterio de aceptación y los valores obtenidos experimentalmente para exactitud.

Parámetro evaluado	Valor aceptado	Valor experimental
Coefficiente de variación	CV < 2.0%	CV = 0.6524%
% de recobro	97-103 %	100.0433%

Fuente de valor aceptado: Manual de métodos de validación. Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos

Fuente de valor experimental: Directa

Contraste de hipótesis para la exactitud y repetibilidad:

$$H_0: m = 100 \%$$

$$H_a: m \neq 100 \%$$

$$t_{\text{Calc}} = \frac{100.0433 - 100}{0.6227 / (6)^{1/2}}$$

$$T_{\text{cal}} = 0.1625$$

Decisión estadística.

$$T_{\text{tab } (n-1, 0.95)} = 2.365$$

$$0.1625 < 2.365$$

por lo tanto se acepta H_0

Intervalo de confianza para el porcentaje de recobro:

$$IC = 100.0433 \pm 2.365 \frac{0.6527}{(6)^{1/2}}$$

$$IC = 99.4131\% \text{ a } 100.6437\%$$

L) Especificidad.

Tabla No 25. Resultados de la **especificidad** para la determinación del ion fluoruro empleando el método de ion selectivo y una solución amortiguadora de citratos.

Concentración de F- en ppm	Respuesta
Placebo	Detectable en 0.65%
Placebo cargado (15 ppm)	Detectable en un 100.86%
Placebo cargado (35 ppm)	Detectable en un 100.58%
Estándar (250 ppm)	Detectable en un 100.24%

Fuente Directa

Tabla No.26 Contraste de valores entre el criterio de aceptación y los valores obtenidos experimentalmente para especificidad (citratos).

Parámetro evaluado	Valor aceptado	Valor experimental
Coficiente de variación	la respuesta debe ser menor al 2%	Respuesta = 0.65%
Placebo cargado	la respuesta debe ser al 100%	15 ppm = 100.86% 35 ppm = 100.58%
Estándar	respuesta al 100%	100.24%

Fuente de valor aceptado: Manual de métodos de validación.Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos

Fuente de valor experimental: Directa

TABLA GENERAL DE RESULTADOS

PARAMETRO	RESULTADOS		LIMITES
	FAD	CJTRATOS	
LINEALIDAD DEL SISTEMA	$r = 0.9994$ $r^2 = 0.9989$ CV = 1.1891%	$r = 0.9996$ $r^2 = 0.9992$ CV = 1.0789%	$r = > 0.99$ $r^2 = > 0.98$ CV = < 1.5%
PRECISION DEL SISTEMA	C.V. = 0.3192% % de recobro = 102.83%	C.V. = 0.2911% % de recobro = 101.195%	C.V. < 2% % de recobro = 97-103%
LINEALIDAD DEL METODO	$r = 0.9980$ $r^2 = 0.9961$ M = 1.1016 B = 0.2729 C.V. = 1.1891% % de recobro = 102.83 %	$r = 0.9990$ $r^2 = 0.9980$ M = 1.0067 B = 0.0830 CV = 1.0789% % de recobro = 100.38%	$r = > 0.99$ $r^2 = > 0.98$ M = 1 B = 0 CV = < 1.5% % de recobro = 97-103%
REPRODUCIBILIDAD	Fa = 0.196 Fb = 2.296 C.V. = 0.9625%	Fa = 11.09 Fb = 0.6210 C.V. = 0.7404%	F _{0.005} = 38.51 F _{0.005} = 6.06 C.V. = < 2%
EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%	C.V. = 0.5859% % de recobro = 100.10 %	C.V. = 0.6224% % de recobro = 100.04%	C.V. < 2% % de recobro = 97-103%
ESPECIFICIDAD	P. Cargado = 100.46% Estándar = 100.28%	P. Cargado = 100.86% Estándar = 100.24%	P. Cargado = 100% Estándar = 100%

Fuente de valor aceptado: Manual de métodos de validación.Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos

Fuente de valor experimental: Directa

COMPARACION DE LOS DOS METODOS

Los parámetros estadísticos para comparar dos métodos analíticos validados son: Linealidad del método, exactitud, precisión y repetibilidad.

Linealidad del Método.

FAD.	Citratos.
SX = 375	SX = 375
SX ² = 10125	SX ² = 10125
SY = 385.26	SY = 376.30
SY ² = 10672.61	SY ² = 10200.28
SXY = 10390.185	SXY = 10162.50
m = 1.011	m = 1.01
b = 0.137	b = 0.08
t = 5	t = 5
n = 3	n = 3

Fuente Directa

Cálculos:

$$S_e^2 = 0.8232$$

Desviación estándar de pendientes.

$$S^2_{dm} = 0.00219$$

Limite superior para la diferencia de pendientes (LSIC)

$$LSIC = 0.09732$$

Límite inferior para la diferencia de pendientes (LIIC)

$$LIIC = -0.09532$$

Desviación estándar de las ordenadas al origen:

$$S^2_{do} = 0.0479$$

Límite superior para la diferencia de las ordenadas al origen (LSIC)

$$LSIC = 1.9227$$

Límite inferior para la diferencia de las ordenadas al origen (LIIC)

$$LIIC = -1.8087$$

Criterio de aceptación.

En el intervalo de confianza para la diferencia de la pendiente de la cantidad adicionada- cantidad recuperada (-0.09532 a 0.09732) se localiza el valor de cero.

En el intervalo de confianza para la diferencia de las ordenadas al origen de cantidad adicionada-cantidad recuperada (-1.8087 a 1.9227) se localiza el valor de cero.

B) Exactitud.

$$DE_1 = 0.5866$$

$$DE_2 = 0.6527$$

$$N_1 = 6$$

$$N_2 = 6$$

$$R_1 = 100.1067$$

$$R_2 = 100.0433$$

Cálculos.

$$Dep = 0.6205$$

Límite superior del intervalo de confianza para la diferencia de las medias aritméticas (LSIC)

$$LSIC = 0.8615$$

Límite inferior del intervalo de confianza para la diferencia de las medias aritméticas (LIIC)

$$LIIC = -0.7347$$

Criterio de aceptación.

En el intervalo de confianza para la diferencia de las medias aritméticas del porciento recuperado (-0.7347 a 0.8615) se localiza el valor de cero.

C) Precisión.

$$DE_1 = 0.9700$$

$$DE_2 = 0.7404$$

Cálculos.

Límite superior del intervalo de confianza para la razón de varianza (LSIC)

$$LSCI = 3.5781$$

Límite inferior del intervalo de confianza para la razón de varianzas (LIIC)

$$LIIC = 0.1825$$

Criterio de aceptación.

En el intervalo de confianza para la razón de varianzas (calculadas a partir del porciento recuperado al 100 %) (0.1825 a 3.5781) se localiza el valor de 1.

D) Repetibilidad.

$$DE_1 = 0.5866$$

$$DE_2 = 0.6527$$

Cálculos.

Límite superior del intervalo de confianza para la razón de varianzas
(LSIC)

$$LSCI = 5.7751$$

Límite inferior del intervalo de confianza para la razón de varianzas
(LIIC)

$$LIIC = 0.1129$$

Criterio de aceptación.

En el intervalo de confianza para la razón de varianzas (calculadas a partir del porcentaje recuperado de exactitud al (100 %) (0.1129 a 5.7751) se localiza el valor de 1.

VIII. ANALISIS DE RESULTADOS.

La validación del método, empleando una solución amortiguadora de marca comercial y una preparada a partir de citratos llevándose acabo de acuerdo a lo establecido dentro de los parámetros encontrados en la bibliografía y que se detallan en el apartado de fundamentación y de material y método obteniéndose los siguientes resultados, para ambos casos.

De acuerdo a la validación del método empleando una solución amortiguadora de marca comercial (FAD) así como empleando una solución amortiguadora preparada a partir de citratos, se observó que el sistema es adecuado, es decir, presenta una relación lineal a las diferentes concentraciones utilizadas, además de ser preciso. Tanto el coeficiente de variación como el coeficiente de determinación presentan valores dentro de los parámetros establecidos. Las Fig 1 y 2 presentan la linealidad del sistema y muestran que no existe una dispersión significativa.

En la linealidad del método los valores obtenidos con respecto a la t de student indican que estadísticamente la ordenada al origen es igual a cero y la pendiente a uno.

La exactitud y repetibilidad al 100% se evaluaron con 6 muestras al 100% de la concentración a determinar obteniéndose un valor del coeficiente de variación menor al valor teórico (2%) por lo que el método es exacto y repetible en ambos casos, además de que el valor de distribución t calculada es menor al valor t de tablas.

La reproducibilidad se evaluó mediante un análisis de varianza, considerando dos días y dos analistas, observándose que los valores de la distribución F de las fuentes de variación (día, analista) son menores a los valores de tablas considerándose, por lo tanto, que existe reproducibilidad del método para ambos casos.

la distribución F de las fuentes de variación (día, analista) son menores a los valores de tablas considerándose, por lo tanto, que existe reproducibilidad del método para ambos casos.

En cuanto a la especificidad los valores obtenidos fueron menores a los teóricos en lo referente a placebos, sin embargo, con placebos cargados y el estándar los valores obtenidos variaron en 0.46%, 0.28% para el caso de FAD y 0.86%, 0.24% para el caso de citrato, de acuerdo al 100%, no obstante, ello no afecta la especificidad del método.

Al realizar la comparación de ambos métodos analíticos se consideraron los siguientes parámetros estadísticos: linealidad del método, exactitud, repetibilidad y reproducibilidad.

La comparación de la linealidad de ambos casos, presentan los valores de intervalos para las pendientes igual a 0.0289 a 0.0479 mientras que para las ordenadas el intervalo fue de -0.6427 a 1.3667. observándose que ambos intervalos incluyen el valor de cero por lo que se considera que entre ambos casos existe una relación entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada.

En la determinación de la repetibilidad se obtuvo un intervalo de 0.1129 a 5.7721 (determinado a partir de las desviaciones estándar de los métodos) el cual incluye el valor de uno por lo que se considera que se cumple con lo establecido y el método presenta la misma repetibilidad para ambos casos.

Para la determinación de la exactitud y considerando que el método, utilizando ambas sustancias, presenta la misma repetibilidad se observó un intervalo de confianza de -0.7347 a 0.8615, dicho intervalo incluye el valor de cero por lo que cumple con lo establecido.

IX. CONCLUSIONES.

1) Se validó el método potenciométrico para cuantificar al ion fluoruro en muestras de sal para consumo humano.

2) De acuerdo a los resultados obtenidos de la validación del método potenciométrico empleando una solución amortiguadora de marca comercial (FAD), se determinó que éste es lineal en el intervalo de las concentraciones estudiadas, además de ser exacto, preciso, reproducible y específico.

3) Por otra parte, los resultados obtenidos de la validación del método potenciométrico empleando una solución amortiguadora a base de citratos, se determinó que éste también es lineal en el intervalo de concentraciones estudiadas además de ser exacto, preciso, reproducible y específico.

4) En la comparación de los resultados usando FAD y la solución a base citrato, se observa que existe una relación entre ellas, por lo cual se considera que pueden ser utilizadas alternativamente o sustituir una por otra, cuando esto sea necesario, debido a que los resultados arrojados son altamente confiables usando cualquiera de las dos soluciones amortiguadoras.

Finalmente se considera que el método potenciométrico para la determinación de ion fluoruro empleando una solución amortiguadora a base de citratos es la opción más económica y de fácil preparación, por lo que puede recomendarse a la Secretaría de Salud para que sea considerado como método oficial normalizado.

X FORMULARIO ESTADISTICO

La siguiente información se obtuvo de las referencias denominadas como Manual de Métodos de Validación.

A) Linealidad del sistema

1.- Tabular los resultados en base al siguiente formato:

CONCENTRACION (X)	PROPIEDAD MEDIDA (Y)
X1	Y11 , Y12 , , Y1n
X2	Y21 , Y22 , , Y2n
.	.
.	.
Xt	Yt1 , Yt2 , , Ytn

t = Número de diluciones

n = Número de replicaciones (Propiedad medida de cada dilución)

NOTA :Para proceder a la realización de los cálculos de C.V. r y r² es necesario que el número de replicaciones por dilución, sean equivalentes.

2.- Cálculos preliminares para coeficiente de correlación y coeficiente de determinación:

$$\Sigma X = n (X_1 + X_2 + \dots + X_t)$$

$$\Sigma Y = Y_{11} + Y_{12} + \dots + Y_{1n} + Y_{21} + Y_{22} + \dots + Y_{2n} + Y_{t1} + Y_{t2} + \dots + Y_{tn}$$

$$\Sigma X^2 = n (X_1^2 + X_2^2 + \dots + X_t^2)$$

$$\Sigma Y^2 = Y_{11}^2 + Y_{12}^2 + \dots + Y_{1n}^2 + Y_{21}^2 + Y_{22}^2 + \dots + Y_{2n}^2 + Y_{t1}^2 + Y_{t2}^2 + \dots + Y_{tn}^2$$

$$\Sigma XY = X_1 (Y_{11} + Y_{12} + \dots + Y_{1n}) + X_2 (Y_{21} + Y_{22} + \dots + Y_{2n}) + X_t (Y_{t1} + Y_{t2} + \dots + Y_{tn})$$

3- Cálculos finales para coeficiente de correlación y coeficiente de determinación.

$$r = \frac{(nt(SXY) - (SX)(SY))}{\sqrt{(nt(SX^2) - (SX)^2) \times (nt(SY^2) - (SY)^2)}}$$

$$r^2 = \frac{(nt(SXY) - (SX)(SY))^2}{(nt(SX^2) - (SX)^2) \times (nt(SY^2) - (SY)^2)}$$

4.- Cálculos preliminares para coeficiente de variación:

a) Calcular para cada punto de la linealidad del sistema el siguiente factor:

$$F = \frac{\text{Propiedad medida (Y)}}{\text{Concentración de la dilución de la solución patrón (X)}}$$

$$F_{11} = \frac{Y_{11}}{X_1}$$

$$F_{12} = \frac{Y_{12}}{X_1}$$

$$F_{1n} = \frac{Y_{1n}}{X_n}$$

$$F_{21} = \frac{Y_{21}}{X_1}$$

$$F_{22} = \frac{Y_{22}}{X_1}$$

$$F_{2n} = \frac{Y_{2n}}{X_1}$$

b) Calcular la suma de factores, la suma de cuadrados de factores y la media del factor:

$$\Sigma F = F_{11} + F_{12} + \dots + F_{1n} + \dots + F_{21} + F_{22} + \dots + F_{2n}$$

$$\Sigma F^2 = F_{11}^2 + F_{12}^2 + \dots + F_{1n}^2 + \dots + F_{21}^2 + \dots + F_{2n}^2$$

$$F = \frac{\Sigma F}{N}$$

Donde N = número de puntos de la linealidad del sistema.

5- Cálculos finales para el coeficiente de variación.

$$DE = \sqrt{\frac{N(\Sigma F^2) - (\Sigma F)^2}{N(N-1)}}$$

$$CV = \frac{DE}{F} \times 100$$

6.- Pendiente:

$$m = \frac{nt(\Sigma XY) - (\Sigma X)(\Sigma Y)}{nt(\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2}$$

7- Ordenada:

$$b = \frac{(\Sigma Y) - (m)(\Sigma X)}{nt}$$

B)- Precisión del Sistema.

1.- Tabular los resultados.

$$Y_1, Y_2, Y_3, \dots, Y_n$$

2.- Cálculos prelimiliares.

$$\Sigma Y = Y_1 + Y_2 + Y_3 + \dots + F_n$$

$$\Sigma Y_2 = Y_1^2 + Y_2^2 + Y_3^2 + \dots + F_n^2$$

$$Y = \frac{\Sigma Y}{N}$$

3.- Cálculos finales para el coeficiente de variación.

$$DE = \frac{N (\Sigma F^2) - (\Sigma F)^2}{N (N-1)}$$

$$CV = \frac{DE}{Y} \times 100$$

C) Linealidad del Método.

1.- Tabular los resultados en base al siguiente formato: (Cantidad adicionada-Cantidad recuperada)

CANTIDAD ADICIONADA (X)	CANTIDAD RECUPERADA (Y)
X11, X12,, X1n	Y11, Y12,, Y1n
X21, X22,, X2n	Y21, Y22,, Y2n
· · · · ·	· · · · ·
· · · · ·	· · · · ·
Xt1, Xt2,, Xtn	Yt1, Yt2,, Ytn

t = Número de cantidades adicionadas

n = Número de replicaciones (Cantidad recuperada) por cada cantidad adicionada.

NOTA: Para proceder a los siguientes cálculos, es necesario que el número de cantidades recuperadas (replicaciones) de cada cantidad adicionada, sean equivalentes.

2.- Cálculos preliminares:

$$\Sigma X = n (X_1 + X_2 + \dots + X_t)$$

$$\Sigma Y = Y_{11} + Y_{12} + \dots + Y_{1n} + Y_{21} + Y_{22} + \dots + Y_{2n} + Y_{t1} + Y_{t2} + \dots + Y_{tn}$$

$$\Sigma X^2 = n (X_{12} + X_{22} + \dots + X_{t2})$$

$$\Sigma Y^2 = Y_{11}^2 + Y_{12}^2 + \dots + Y_{1n}^2 + Y_{21}^2 + Y_{22}^2 + \dots + Y_{2n}^2 + Y_{t1}^2 + \dots + Y_{tn}^2 + \dots + Y_{tn}^2$$

$$\Sigma XY = X_{11} \times Y_{11} + \dots + X_{1n} \times Y_{1n} + X_{21} \times Y_{21} + X_{22} \times Y_{22} + \dots + X_{2n} \times Y_{2n} + X_{t2} \times Y_{t2} + \dots + X_{tn} \times Y_{tn}$$

4.- Cálculos finales:

a) Pendiente:

$$m = \frac{nt (\Sigma XY) - (\Sigma X)(\Sigma Y)}{nt (\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2}$$

Ordenada:

$$b = \frac{(\Sigma Y) - (m)(\Sigma X)}{nt}$$

Coefficiente de determinación:

$$r = \frac{(nt (\Sigma XY) - (\Sigma X)(\Sigma Y))^2}{nt (\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2 \times nt (\Sigma Y^2) - (\Sigma Y)^2}$$

d) Coeficiente de correlación

$$r^2 = \frac{(nt (\Sigma XY) - (\Sigma X)(\Sigma Y))^2}{nt (\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2 \times nt (\Sigma Y^2) - (\Sigma Y)^2}$$

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

e) Coeficiente de variación:

1.-Porcentaje recuperado.

Calcular el porcentaje recuperado (R) para cada cantidad recuperada con la siguiente ecuación:

$$R = (Y/N) \times 100$$

2.-Tabular los resultados.

$$R_1, R_2, R_3, \dots, R_n$$

3.-Cálculos preliminares:

$$\begin{aligned} \Sigma R &= R_1 + R_2 + R_3 + \dots + R_n \\ \Sigma R^2 &= R_1^2 + R_2^2 + R_3^2 + \dots + R_n^2 \end{aligned}$$

$$DE = \sqrt{\frac{N (\Sigma R^2) - (\Sigma R)^2}{N (N-1)}}$$

$$R = \frac{\Sigma R}{N}$$

4.-Cálculos finales:

$$CV = \frac{DE}{R} \times 100$$

f) Contraste de hipótesis para la pendiente:

$$t_{cal} = \frac{(m - m_0) S_X (N-1)^2}{S_{y/X}}$$

1.-Error típico:

$$S_{y/X} = \sqrt{\frac{(\Sigma Y^2) - b (\Sigma Y) - m (\Sigma XY)}{n}}$$

2.- Error típico modificado:

$$S_{y/X} = \sqrt{\frac{n}{n-2}} (S_{y/X})$$

g) Contraste de hipótesis para la ordenada:

$$t_{cal} = \frac{b - b_0}{\hat{S}_{y/X}}$$

$$\hat{S}_{y/X} = \sqrt{\frac{\sum \chi_i^2}{n \times \sum (\chi_i - \bar{X})^2}}$$

h) Decisión estadística:

$$\text{Si } t_{(0.05, n-2)} < t_{cal} < t_{(0.95, n-2)} \text{ se acepta } H_0$$

i) Intervalo de confianza:

1.- Ordenada

$$b \pm t_{\alpha/2} \times \hat{S}_{y/X} = \sqrt{\frac{\sum \chi_i^2}{n \times \sum (\chi_i - \bar{X})^2}}$$

2.- Pendiente:

$$m \pm t_{\alpha/2} \times \frac{\hat{S}_{y/X}}{S_x (n-1)^{1/2}}$$

D) PRECISION.(Reproducibilidad):

1.- Tabular los resultados en base al siguiente formato (Solo es aplicable cuando se utilizan dos días, dos analistas y tres determinaciones):

		ANALISTA	
		1	2
D	1	Y111	Y211
		Y112	Y212
		Y113	Y213
A	2	Y111	Y211
		Y121	Y212
		Y131	Y213

2.-Calculos preliminares:

$$\Sigma Y = Y_{111} + Y_{112} + Y_{113} + \dots + Y_{223}$$

$$\Sigma Y^2 = Y^2_{111} + Y^2_{112} + Y^2_{113} + \dots + Y^2_{223}$$

$$Y = \frac{\Sigma Y}{N}$$

$$DE = \sqrt{\frac{N(\Sigma Y^2) - (\Sigma Y)^2}{N(N-1)}}$$

N = número total de determinaciones (en este caso en específico N = 12)

3.- Cálculos finales

a) Coeficiente de variación:

$$CV = \frac{DE}{Y} \times 100$$

El modelo estadístico para el estudio de la reproducibilidad es el siguiente modelo cruzado:

$$Y_{ijk} = m + A_i + B_j + AB_{ij} + E_k(i, j)$$

donde:

Y_{ijk} = al recobro experimental asociado a la k -ésimo placebo adicionado en el j -ésimo día para el i -ésimo analista.

m = A la media general.

A_i = Efecto del i -ésimo analista sobre el recobro experimental $i = 1 \dots a$.

B_j = Efecto del j -ésimo día sobre el recobro experimental $j = 1 \dots b$.

AB_{ij} = Efecto de la interacción i -ésimo analista, j -ésimo día sobre el recobro experimental

$E_k(i, j)$ = Error experimental $k = 1 \dots r \cdot (2)(3)$

Una prueba estadística adicional para la prueba de precisión es la siguiente:

1).- Calcular la suma de combinaciones analista día (Y_{ij})

$$Y_{11} = Y_{111} + Y_{112} + Y_{113}$$

$$Y_{12} = Y_{121} + Y_{122} + Y_{123}$$

$$Y_{21} = Y_{211} + Y_{212} + Y_{213}$$

$$Y_{22} = Y_{221} + Y_{222} + Y_{223}$$

2).- Calcular la suma para cada analista ($Y_{i..}$)

$$Y_{1..} = Y_{111} + Y_{112} + Y_{113} + Y_{121} + Y_{122} + Y_{123}$$

$$Y_{2..} = Y_{211} + Y_{212} + Y_{213} + Y_{221} + Y_{222} + Y_{223}$$

3).- Calcular la suma total ($Y_{...}$)

$$Y_{...} = Y_{1..} + Y_{2..}$$

4).- Calcular la suma del cuadrado de cada analista de cada día:

$$\sum \sum Y_{ij}^2 = (Y_{11})^2 + (Y_{12})^2 + (Y_{21})^2 + (Y_{22})^2 \dots$$

5).- Calcular las sumas de cuadrado de cada analista en los dos días:

$$(\sum Y_{i..})^2 = (Y_{1..})^2 + (Y_{2..})^2 \dots$$

6).- Calcular la suma de cada dato elevado al cuadrado:

$$\sum \sum \sum Y_{ijk}^2 = (Y_{111})^2 + (Y_{112})^2 + (Y_{113})^2 + \dots + (Y_{221})^2 + (Y_{222})^2 + (Y_{223})^2$$

7).- Calcular la suma de cuadrados del analista (Sca), efecto del factor analista, con la siguiente formula:

$$Sca = \frac{\sum Y_{i..}^2}{dr} - \frac{Y^2}{adr}$$

8).- Calcular la suma de cuadrados del día y el analista (SCd), con la siguiente formula:

$$SCd = \frac{\sum \sum Y_{ij}^2}{r} - \frac{\sum Y_{i..}^2}{dr}$$

Calcular la suma de cuadrados del error (SCe), con la siguiente formula

$$SCe = \sum \sum \sum Y_{ijk}^2 - \frac{\sum \sum Y_{ij}^2}{r}$$

10).- Con los datos anteriores construir la tabla de análisis de varianza (ANDEVA)

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F cal.	$F_{(0.05)}$
Analista	$gla= a-1$	SCa	$MCa = SCa/gla$	$Fa = MCa/MCd$	$F = gla/gld$
Día	$gld= (d-1)a$	SCd	$M Cd = SCd/gld$	$Fd = M Cd / M Ce$	$F = gld/gle$
Error	$gle = (r-1)ac$	SCe	$M Ce = SCe/gle$		

Criterio: Si F_a es menor que F_{tab} , el método analítico es reproducible por los analistas.

Si F_a es mayor que F_{tab} , el método analítico no es reproducible por los analistas.

Si F_d es menor que F_{tab} , el método analítico es reproducible en distintos días por un mismo analista.

Si F_d es mayor que F_{tab} , el método analítico no es reproducible en distintos días por un mismo analista.

E) Exactitud y Repetibilidad al 100%:

1.- Tabular los siguientes resultados del porcentaje recuperado (R) con base al siguiente formato:

$$R_1, R_2, R_3, \dots, R_n$$

2.-Cálculos preliminares:

$$\begin{aligned} \Sigma R &= R_1 + R_2 + R_3 + \dots + R_n \\ \Sigma R^2 &= R_1^2 + R_2^2 + R_3^2 + \dots + R_n^2 \end{aligned}$$

$$R = \frac{\Sigma R}{N}$$

$$DE = \sqrt{\frac{N(\Sigma R^2) - (\Sigma R)^2}{N(N-1)}}$$

3.-Cálculos finales:

a) Coeficiente de variación

$$CV = \frac{DE}{\bar{R}} \times 100$$

b) Contraste de hipótesis:

$$H_0(m = 100\%)$$

$$H_0(m \neq 100\%)$$

c) Estadígrafo de contraste:

$$t_{calc} = \frac{(\bar{R} - 100)}{DE/N^{1/2}}$$

d) Decisión estadística:

Si $t_{(0.05, n-1)} < t_{calc} < t_{(0.95, n-1)}$ El método se considera exacto.

e) Intervalo de confianza para la media:

$$\bar{R} \pm t_{(0.95, n-1)} DE/(N)^{1/2}$$

F) Especificidad.

Se analizan placebos del producto a analizar con el método propuesto, identificando la respuesta del principio activo, tomando como 100% la cantidad del principio activo en el placebo.

G) Comparación de dos métodos:

1.-Linealidad del método:

$$SE2 = \frac{(\sum Y_1^2 - m_1 (\sum X y_1) - b_1 (\sum Y_1)) + (\sum Y_2^2 - m_2 (\sum X Y^2) - b_2 (\sum Y^2))}{t_1 n_1 + t_2 n_2 - 4}$$

a) Desviación estándar de pendientes:

$$S^2_{dm} = S_E^2 \times \frac{1}{\frac{\sum X_1^2 - (\sum X_1)^2}{t_1 n_1} + \frac{1}{\frac{\sum X_2^2 - (\sum X_2)^2}{t_2 n_2}}}$$

b) Limite superior del intervalo de confianza para la diferencia de pendientes (LSIC):

$$LSIC = (m_1 - m_2) + t \sqrt{S^2_{dm}}$$

c) Limite inferior del intervalo de confianza para la diferencia de pendientes (LIIC):

$$LIIC = (m_1 - m_2) - t \sqrt{S^2_{dm}}$$

d) Desviación estándar de las ordenadas al origen:

$$S^2_{do} = S_E^2 \times \frac{1}{t_1 n_1} + \frac{1}{t_2 n_2} + \frac{(\sum X_1^2)^2}{t_1^2 n_1^2 (\sum X_1^2) - (\sum X_1)^2} + \frac{(\sum X_2)^2}{t_2^2 n_2^2 \sum X_1^2 - (\sum X_2)^2}$$

e) Limite superior del intervalo de confianza para la diferencia de ordenadas al origen (LSIC):

$$LSIC = (b_1 - b_2) + t \sqrt{S^2_{do}}$$

f) Limite inferior del intervalo de confianza para la diferencia de ordenadas al origen (LIIC):

$$LIIC = (b_1 - b_2) - t \sqrt{S^2_{do}}$$

2.-Precisión:

a) Limite superior del intervalo de confianza para la razón de la varianzan (LSIC):

$$LSIC = \frac{DE_1^2}{DE_2^2} \times F$$

b) Limite inferior del intervalo de confianza para la razón de la varianza (LIIC):

$$LIIC = \frac{DE_1^2}{DE_2^2} \times \frac{1}{F}$$

3.-Exactitud:

$$Dep = \sqrt{\frac{(N_1^2 - 1) DE_1^2 + (N_2^2 - 1) DE_2^2}{N_1 + N_2 - 2}}$$

a) Limite superior del intervalo de confianza para la diferencia de las medias aritméticas (LSIC):

$$LSIC = (\bar{R} - \bar{R}) + t \text{ Dep} \sqrt{\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2}}$$

b) Limite inferior del intervalo de confianza para la diferencia de las medias aritméticas (LIIC):

$$LIIC = (\bar{R} - \bar{R}) - t \text{ Dep} \sqrt{\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2}}$$

4.- Repetibilidad:

a) Limite superior del intervalo de confianza para la razón de la varianzan (LSIC):

$$LSIC = \frac{DE_1^2}{DE_2^2} \times F$$

XI. BIBLIOGRAFIA.

1. Barrandey O.S., Cabello A.M., Magaña R.J. 1994. Sal fluorada riesgo o beneficio para la población de la ciudad de Chihuahua *ADM.* 51 (2) pag. 80-89.
2. Cotton F.A., Wilkinson G. 1981. Química inorgánica avanzada. 2ª edición. ed. Limusa. México. Pag 401-412.
3. Haro L.E., Solon C.J., Yacaman B.F. 1991. La importancia del flúor y su adición a la sal como medida masiva de prevención de la caries dental. *ADM.* 48 (3) pag. 175-179.
4. Goodman L.S., Gilman A. 1991. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 8ª edición. ed. Médica Panamericana. México pag. 34-142.
5. Katzung B.G. 1986. Farmacología básica y clínica. 2ª edición Ed. El manual moderno. Pag. 415-427.
6. Instituto de Salud del Estado de México. 1989. Prevención de la caries dental con la sal fluorada. Toluca Estado de México.
7. Gordon N. 1988. Caries dental aspectos básicos y clínicos. Ed. Mundi S.A.I.C. y F. Argentina. Pag. 331-332

8. Silverstone L.M., Jonh N.W. 1985. Caries dental, etiología, patología y prevención. ed. Manual moderno S.A. de C.V. México. Pag.207-217.

9. Olvera V.S. 1994. Determinación de fluoruro en sal y agua de consumo humano en residentes del área metropolitana de la Ciudad de México. Tesis FES-Zaragoza UNAM. Pag 1-4.

10. Diario Oficial de la Federación. 1988. Tomo CDXXIII, N° 16 Capitulo Y Artículo 943. México D.F. Viernes 23 de Diciembre de 1988. Pag. 5-9.

11. Whithford M.G. 1986. Conocimiento y tecnología, fortificación de sal con yodo y flúor para la prevención del bocio, cretinismo y caries dental en América Latina. Informe final de la primera reunión de expertos sobre la fluoración y yodatación de la sal de consumo humano y procedimientos de acción para la prevención del cretinismo y enfermedades dentoperidentarias Organización Panamericana de la Salud. Instituto de Nutrición de Centroamerica y Panamá. Fundación W. K. Kellog. Antigua Guatemala. Pag. 133-238.

12. Subsecretaria de Servicios de Salud. Dirección General de Medicina Preventiva. Instituto de Salud del Estado de México. 1993. Curso nacional de técnicas de análisis para el monitoreo de yodo y flúor. Toluca Estado de México.

13. Skoog D.A., Holler F.J. 1988. Fundamental of analytical chemistry 5ª edición Ed. Logman scientific and technical. Great Britain. Pag. 570-572.
14. ¿ Qué tanto sabe usted de sensores químicos.1993 *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 5 (6).pag 50-51.
15. Kenneth A. Connors.1981. Textbook of pharmaceutical analysis Ed. Wiley Interscience Publications. Pag. 110-146
16. Miogley D. and Torence K.1978. Potentiometric water analysis ed. John Willey and Sons USA. Pag. 298-312.
17. Laitiven A., Harris E.V. 1982. Análisis químico. Ed . Reverte S.A. España Pag. 253-271.
18. Ewing G.W. 1985. Instrumental methods of chemical analysis Ed. Mc Graw Hill Book Company. 5ª edition. USA. Pag 274-288
19. Bernal J.L., Pardo R. Rodríguez J.M. 1980. Determination of cyanide in presence of mercaptans with a selective electrode. *Analytical Chemical Act.* 20 Pag. 367-370.
20. Juri A., Oleg M. 1993. Flow cell with double slope factor for potentiometric determination of fluoride at low concentrations *Analyst* Vol 118 (7) Pag.859-861.
21. Corning incorporated. " instruction Manual coming ion fluoride selective electrode coming New York 1997.pag 1-15

22. Christian G.D. and O'Reilly J.E. 1986 " Instrumental analysis"
Ed. Allyn and Bacon, inc 2° edition. Pag. 30-34
23. Lual. 1993 Modelos estadísticos y validación de métodos analíticos (primera parte). *Pharma News* 4 (7) Pag.32-44.
24. Larry W. 1991. USP Perspectives Analytical Methods
Validation 15 (3) Pag. 130-141.
25. Thomas L., Paul M. 1994. Selection and validation of legal reference methods of analysis for pharmaceutical products in the United States. *Pharmaceutical Tecnology* 16 (9) Pag. 122-126.
26. Lual. 1993. Componentes para un programa de calibración de métodos analíticos. *Pharma News* 4 (5) Pag. 30-40.
27. Manual de métodos de validación. Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos.
28. Mendoza C:A: 1989. Implementación y validación de un método analítico para la cuantificación de acetaminofen en supositorios para producto terminado. Tesis FES-Zaragoza UNAM. Pag.4-12.
29. Duran M.L. 1991. Validación de dos métodos analíticos para la cuantificación de Nureytindrona Etil Etil Estradiol en producto terminado por cromatografía líquida de alta presión. Tesis FES-Zaragoza UNAM. Pag. 30-35.

30. Lual. 1993. Modelos estadísticos y validación de métodos analíticos (tercera parte). *Pharma News* 4 (10) Pag. 16-19.
31. Lual. 1993. Modelos estadísticos y validación de métodos analíticos (cuarta parte). *Pharma News*. 4 (11) Pag. 26-28.
32. Inman E.L., Frischman P.J. 1987. General method validation guidelines for pharmaceutical samples. *J Chom. Sci.* 25 (12) Pag. 252-256.
33. Lual. 1993. Modelos estadísticos y validación de métodos analíticos (segunda parte). *Pharma News* 4 (8) Pag. 24-26.