



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Determinación de Niveles de Plomo y Cadmio en Productos Fitoterapéuticos a Base de Alcachofa (*Cynara scolymus*) y Ajo (*Allivum sativum*) Comercializados en Bogotá

Luz Adriana Ruiz Pérez

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina, Departamento de Toxicología
Bogotá D.C., Colombia
2019

Determinación de Niveles de Plomo y Cadmio en Productos Fitoterapéuticos a Base de Alcachofa (*Cynara scolymus*) y Ajo (*Allivum sativum*) Comercializados en Bogotá

Luz Adriana Ruiz Pérez

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Toxicología

Directora:

MSc. Nancy Patiño Reyes

Profesor asociado

Departamento de Toxicología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia

Codirectora:

MSc. María del Pilar Olaya Osorio

Profesor auxiliar

Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia

Línea de investigación:

Toxicología Analítica

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina, Departamento de Toxicología

Bogotá D.C., Colombia

2019

A Agatha Christie y su fantástico mundo de los venenos, mi primer encuentro con la toxicología.

Agradecimientos

Agradezco enormemente a todas las personas e instituciones que me apoyaron durante el desarrollo de este trabajo:

A la Universidad Nacional por la formación profesional brindada, y en especial al Departamento de Toxicología de la Facultad de Medicina por abrirme sus puertas.

A la profesora Nancy Patiño por ser mi guía y mentora en el camino de la toxicología, por sus enseñanzas académicas y de vida.

A la profesora María del Pilar Olaya por su acompañamiento constante y orientación para el desarrollo de este trabajo.

A las profesoras Alba Isabel Rodríguez y Diana Chaves por permitirme el espacio para el desarrollo del componente de laboratorio de este trabajo.

A Edgar Castro por su apoyo en el laboratorio.

Al profesor William Quevedo por sus palabras de apoyo, y sobre todo por ser uno de los maestros más importantes en mi camino por la toxicología.

Al Laboratorio de Salud Pública de la Secretaría Distrital de Salud, por ser mi mayor espacio de aprendizaje profesional y por el apoyo brindado durante este trabajo.

A Linda Cristal López y Sebastián Ruiz por su invaluable apoyo en la recolección de las muestras.

A Iván Brito por su asesoría en la validación de la metodología analítica y por su amistad.

A todos mis compañeros y amigos de maestría, Paola Acero, Marfy Pinzón, Julieth Angulo, Julián Pulido, Kenee Rico, Margarita Sánchez, Catalina Morales, Catalina Cortés, Catrín Mendoza, Andrés Riaño, por sus enseñanzas, por todo su apoyo y palabras de aliento.

A mis grandes amigos Diana Cortés e Iván Estupiñán, quienes siempre me han apoyado de manera incondicional.

A mis amigos de la Secretaría Distrital de Salud, Natalia Charry y Javier Sánchez, por escucharme constantemente y alentarme siempre a continuar.

A mis maestras y amigas de danza Laura Rubiano, Claudia Ramón, Diana Hernández, Liliana Pardo, Camila Jiménez, Leidy Forero, Oriana Navarrete y Gina Cifuentes, por siempre darme ánimo y soportar mi cansancio durante los ensayos.

A mis padres Luz y Winston, por su entrega, su amor, su apoyo y por todo lo que día a día hacen por mí, y sobre todo por creer en mí.

A mis hermanos Melky, Liliana y Winston por su cariño y apoyo.

A Samuel, por su amor, abrazos, apoyo y sobre todo por su inagotable paciencia durante este proceso. Mil y mil gracias.

A toda mi familia, por su cariño y apoyo.

A Sabrina y Congo, por acompañarme durante las largas noches de estudio.

Resumen

El uso de plantas medicinales, y por lo tanto de productos fitoterapéuticos es un fenómeno que ha adquirido gran popularidad en las últimas décadas a nivel mundial debido a la búsqueda por parte de la población de alternativas para el tratamiento de diversas afectaciones a la salud, lo que se suma al hecho de que se tiene una sensación de falsa seguridad sobre todos los productos considerados como naturales. Asimismo, se cuenta con información limitada sobre su seguridad en lo que se refiere a la presencia de contaminantes químicos de alto impacto como son los metales pesados, hecho del que no escapa el país.

Debido a dicho panorama, esta investigación se enfocó en la determinación de niveles de plomo y cadmio, dos metales de interés en salud pública por su toxicidad, en productos fitoterapéuticos a base de ajo y alcachofa, dos de las plantas más empleadas con fines medicinales en Colombia. Lo anterior requirió la validación de la metodología analítica para el fin propuesto mediante espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito con digestión ácida asistida por baño termostático.

La metodología validada se aplicó al análisis de un total de 105 muestras de productos fitoterapéuticos recolectados en tiendas naturistas de Bogotá, evidenciando que los límites establecidos por la normativa nacional para los metales estudiados (Decreto 2266 de 2004) no se exceden en las muestras analizadas. Sin embargo, este primer acercamiento a la problemática relacionada con las plantas medicinales, evidenció que sí hay presencia de los metales buscados y que es importante vigilar la seguridad de estos productos con el fin de evitar que la población que los consume se encuentre en riesgo, y además que los niveles de estos contaminantes no excedan los valores máximos permisibles establecidos por decreto nacional.

Palabras clave: Plantas medicinales, fitoterapéuticos, plomo, cadmio, espectrofotometría de absorción atómica, ajo, alcachofa.

Abstract

The use of medicinal plants, and therefore of phytotherapeutic products is a phenomenon that has become very popular in recent decades worldwide due to the search by the population of alternatives for the treatment of various health effects, which adds to the fact that there is a sense of false security about all products considered natural. Likewise, there is limited information on its safety in regard to the presence of high impact chemical pollutants such as heavy metals, a fact that does not escape our country.

Due to this panorama, this research focused on the determination of levels of lead and cadmium, two metals of interest in public health due to their toxicity, in phytotherapeutic products based on garlic and artichoke, two of the most commonly used plants for medicinal purposes in Colombia. This required the validation of the analytical methodology for the proposed purpose by means of atomic absorption spectrophotometry with a graphite furnace with acid digestion assisted by a thermostated bath.

The validated methodology was applied to the analysis of 105 samples of phytotherapeutic products collected in naturist stores in Bogotá, showing that the samples analyzed do not exceed the limits established by the national regulations for the metals studied (Decree 2266 of 2004). However, this first approach to the problem related to medicinal plants, evidenced that there is a presence of this metals and that it is important to monitor the safety of these products in order to avoid that the population that consumes them is at risk, and also that the levels of these pollutants do not exceed the maximum permissible values established by national decree.

Keywords: Medicinal plants, phytotherapeutics, lead, cadmium, atomic absorption spectrophotometry, garlic, artichoke.

Contenido

Introducción	1
Definición y planteamiento del problema	9
Justificación	14
Pregunta de Investigación	19
1. Objetivos	20
1.1 Objetivo General	20
1.2 Objetivos Específicos	20
2. Marco teórico	21
2.1 Plantas Medicinales.....	21
2.1.1 Características de las Plantas Medicinales	23
2.2 Fitoterapia	24
2.3 Producto Fitoterapéutico	27
2.3.1 Formas Farmacéuticas	29
2.4 Control de Calidad de Productos Fitoterapéuticos	30
2.5 Estándares Internacionales sobre Metales Pesados en Medicinas Tradicionales....	32
2.6 Metales Pesados en Productos a Base de Plantas Medicinales	33
2.7 Usos Intencionales de Metales Pesados con Propósitos Medicinales.....	36
2.8 Acumulación de Metales Pesados por Plantas Medicinales.....	38
2.8.1 Efecto de los metales pesados en los metabolitos secundarios de las plantas.	40
2.9 Intoxicación por Contaminación por Metales Pesados en Productos Medicinales Tradicionales	41
2.10 Cadmio	44
2.10.1 Generalidades.....	44
2.10.2 Toxicidad del Cadmio en Plantas	46
2.10.3 Movilización, absorción y transporte del cadmio.....	48
2.10.4 Aspectos Epidemiológicos	50

2.10.5 Efectos Clínicos	51
2.10.6 Cinética Ambiental	51
2.10.7 Acumulación de cadmio en ajo	51
2.11 Plomo.....	53
2.11.1 Generalidades.....	53
2.11.2 Toxicidad del Plomo en Plantas.....	53
2.11.3 Acumulación de Plomo en Alcachofa.....	54
2.11.4 Acumulación de plomo en ajo	55
2.12 Comercialización de Plantas Medicinales en Colombia.....	56
2.13 Características Generales de las Plantas Seleccionadas.....	58
2.13.1 Ajo (<i>Allium sativum L.</i>).....	58
2.13.2 <i>Cynara scolymus (Alcachofa)</i>	62
2.14 Método Analítico: Espectrofotometría de Absorción Atómica con Horno de Grafito	64
2.14.1 Fundamento	64
2.14.2. Digestión Ácida.....	66
2.15 Muestreo Estratificado	67
3. Metodología.....	69
3.1 Metodología para la Recolección de Muestras	69
3.1.1 Tipo de estudio.....	69
3.1.2 Definición de las variables	69
3.1.3 Definición del Tamaño de Muestra	70
3.1.4 Definición de las Bases de Datos para Localizar Potenciales Comercializadores de los Productos Seleccionados	70
3.1.5 Selección de las Tiendas Naturistas a Visitar	74
3.1.6 Recolección de las Muestras en las Tiendas Naturistas.....	76
3.2 Metodología Analítica.....	77
3.2.1 Equipos, Reactivos y Materiales	77

3.2.2	Preparación de Reactivos	80
3.2.3	Preparación de los Estándares Maestros de Calibración	81
3.2.4	Preparación de las Soluciones de Fortificación	83
3.2.5	Condiciones Instrumentales.....	83
3.2.6	Validación de la metodología analítica.....	87
3.2.7	Preparación de las Muestras	87
3.28	Consideraciones Éticas para el Estudio.....	95
4.	Resultados y Discusión.....	96
4.1	Descripción General de las Muestras Recolectadas	96
4.1.1	Distribución de las Muestras Recolectadas	96
4.1.2	Distribución de las Formas Farmacéuticas	97
4.1.3	Distribución de Laboratorios Productores.....	99
4.1.4	Muestras Recolectadas por Localidad	101
4.1.5	Dificultades Relacionadas con la Recolección de Muestras	104
4.1.6	Verificación de los Registros Sanitarios.....	105
4.1.7	Indicaciones terapéuticas.....	108
4.2	Validación de la Metodología Analítica	110
4.2.1	Validación para Plomo	110
4.2.2	Validación para Cadmio	147
4.3	Resultados de Análisis de las Muestras Recolectadas	173
4.3.1	Determinación del Peso Promedio y Uniformidad de Peso de las Unidades de Dosificación	173
4.3.2	Niveles de Plomo y Cadmio en las Muestras Recolectadas	175
4.3.3	Cálculo Exposición a Plomo y Cadmio	183
5.	Conclusiones y Recomendaciones	199
5.1	Conclusiones	199
5.2	Recomendaciones	200

6. Bibliografía	202
------------------------------	------------

Lista de tablas

Tabla 2-1. Ejemplos de límites en diferentes países para metales pesados en productos medicinales a base de plantas.

Tabla 2-2. Especies de plantas medicinales comercializadas en Colombia y su frecuencia de comercialización.

Tabla 3-1. Número de tiendas naturistas censadas por localidad en Bogotá, según base de datos de la SDS versión 2017.

Tabla 3-2. Distribución del número de muestras a recolectar por cada localidad.

Tabla 3-3. Equipos empleados en el desarrollo de la metodología analítica.

Tabla 3-4. Materiales empleados para el desarrollo de la metodología analítica.

Tabla 3-5. Reactivos empleados para el desarrollo de la metodología analítica.

Tabla 3-6. Condiciones instrumentales generales para la determinación de plomo en el equipo ICE 3500.

Tabla 3-7. Programa de temperaturas del horno de grafito para la determinación de plomo en el equipo ICE 3500.

Tabla 3-8. Preparación de la curva de calibración para la determinación de plomo mediante dilución inteligente en el equipo ICE 3500.

Tabla 3-9. Condiciones instrumentales generales para la determinación de cadmio en el equipo ICE 3500.

Tabla 3-10. Programa de temperaturas del horno de grafito para la determinación de cadmio en el equipo ICE 3500.

Tabla 3-11. Preparación de la curva de calibración para la determinación de cadmio mediante dilución inteligente en el equipo ICE 3500.

Tabla 3-12. Porcentajes de variación permitidos para comprimidos (tabletas y grageas) de acuerdo a su rango de peso.

Tabla 3-13. Porcentajes de variación permitidos para cápsulas de acuerdo a su rango de peso.

Tabla 3-14. Parámetros para la fortificación de la matriz con plomo.

Tabla 3-15. Volúmenes para la fortificación de la matriz con plomo al 50, 100 y 150% del valor máximo permitido.

Tabla 3-16. Parámetros para la fortificación de la matriz con cadmio.

Tabla 3-17. Volúmenes para la fortificación de la matriz con plomo al 50, 100 y 150% del valor máximo permitido.

Tabla 4-1. Número de muestras recolectadas por planta.

Tabla 4-2. Formas farmacéuticas encontradas para los productos.

Tabla 4-3. Muestras recolectadas por planta y laboratorio.

Tabla 4-4. Número de tiendas visitadas y de productos recolectados por localidad.

Tabla 4-5. Comparación entre las indicaciones terapéuticas aprobadas para ajo y alcachofa según el Vademécum Colombiano de Plantas Medicinales y el INVIMA, versus las indicaciones declaradas en las etiquetas de las muestras recolectadas.

Tabla 4-6. Selectividad del sistema para plomo.

Tabla 4-7. Linealidad del sistema para plomo.

Tabla 4-8. Linealidad del método para plomo.

Tabla 4-9. Pruebas de hipótesis para la evaluación de la linealidad: pendiente, intercepto y correlación.

Tabla 4-10. Estadísticos de linealidad para el plomo – sistema.

Tabla 4-11. Límites de confianza para la pendiente y el intercepto para el plomo – sistema.

Tabla 4-12. Resultados de las pruebas de significancia o pruebas de hipótesis para evaluación de la linealidad del sistema para plomo.

Tabla 4-13. Resultados del análisis ANOVA para la regresión lineal del sistema para plomo.

Tabla 4-14. Estadísticos de linealidad para el plomo – método.

Tabla 4-15. Límites de confianza para la pendiente y el intercepto para el plomo – método.

Tabla 4-16. Resultados de las pruebas de significancia o pruebas de hipótesis para evaluación de la linealidad del método para plomo.

Tabla 4-17. Resultados del análisis ANOVA para la regresión lineal del método para plomo.

Tabla 4-18. Señales obtenidas para el análisis de blancos y determinación del LOD y LOC para plomo – sistema y método.

Tabla 4-19. Resultados de la verificación del límite de cuantificación (LOC) de plomo calculado para el método.

Tabla 4-20. Evaluación de la repetibilidad para el sistema para plomo.

Tabla 4-21. Evaluación de la repetibilidad para el método para plomo.

Tabla 4-22. Evaluación de la repetibilidad para plomo con muestras.

Tabla 4-23. Evaluación de la precisión intermedia del sistema para plomo en diferentes días.

Tabla 4-24. Evaluación de la precisión intermedia del sistema para plomo con diferentes analistas.

Tabla 4-25. Evaluación de la precisión intermedia del método para plomo en diferentes días.

Tabla 4-26. Evaluación de la precisión intermedia del método para plomo con diferentes analistas.

Tabla 4-27. Análisis de varianza ANOVA para la precisión intermedia del sistema y el método para plomo.

Tabla 4-28. Evaluación de la precisión intermedia para plomo (mismo analista, diferentes días) con muestras.

Tabla 4-29. Porcentajes de recuperación de plomo obtenidos para el sistema.

Tabla 4-30. Porcentajes de recuperación de plomo obtenidos para el método.

Tabla 4-31. Análisis de varianza ANOVA para la comparación de pendientes del sistema y del método para análisis de plomo.

Tabla 4-32. Evaluación del efecto memoria del método para plomo.

Tabla 4-33. Evaluación de la estabilidad de la solución de 2 ug/L de plomo.

Tabla 4-34. Evaluación de la estabilidad de la solución de 20 ug/L de plomo.

Tabla 4-35. Evaluación de la estabilidad del plomo en la muestra 001.

Tabla 4-36. Evaluación de la estabilidad del plomo en la muestra 015.

Tabla 4-37. Evaluación de la estabilidad del plomo en la muestra 058.

Tabla 4-38. Fuentes de incertidumbre del método analítico.

Tabla 4-39. Cálculo de la incertidumbre combinada debida al análisis instrumental para plomo.

Tabla 4-40. Cálculo de la incertidumbre combinada debida a la balanza analítica.

Tabla 4-41. Cálculo de la incertidumbre total para el análisis de plomo.

Tabla 4-42. Selectividad del sistema para cadmio.

Tabla 4-43. Linealidad del sistema para cadmio.

Tabla 4-44. Linealidad del método para cadmio.

Tabla 4-45. Estadísticos de linealidad para el cadmio – sistema.

Tabla 4-46. Límites de confianza para la pendiente y el intercepto para el cadmio – sistema.

Tabla 4-47. Resultados de las pruebas de significancia o pruebas de hipótesis para evaluación de la linealidad del sistema para cadmio.

Tabla 4-48. Resultados del análisis ANOVA para la regresión lineal del sistema para cadmio.

Tabla 4-49. Estadísticos de linealidad para el cadmio – método.

Tabla 4-50. Límites de confianza para la pendiente y el intercepto para el cadmio – método.

Tabla 4-51. Resultados de las pruebas de significancia o pruebas de hipótesis para evaluación de la linealidad del método para cadmio.

Tabla 4-52. Resultados del análisis ANOVA para la regresión lineal del método para cadmio.

Tabla 4-53. Señales obtenidas para el análisis de blancos y determinación del LOD y LOC para cadmio – sistema y método.

Tabla 4-54. Resultados de la verificación del límite de cuantificación (LOC) de cadmio calculado para el método.

Tabla 4-55. Evaluación de la repetibilidad para el sistema para cadmio.

Tabla 4-56. Evaluación de la repetibilidad para el método para cadmio.

Tabla 4-57. Evaluación de la repetibilidad para cadmio con muestras.

Tabla 4-58. Evaluación de la precisión intermedia del sistema para cadmio en diferentes días.

Tabla 4-59. Evaluación de la precisión intermedia del sistema para cadmio con diferentes analistas.

Tabla 4-60. Evaluación de la precisión intermedia del método para cadmio en diferentes días.

Tabla 4-61. Evaluación de la precisión intermedia del método para cadmio con diferentes analistas.

Tabla 4-62. Análisis de varianza ANOVA para la precisión intermedia del sistema y del método para cadmio

Tabla 4-63. Evaluación de la precisión intermedia para cadmio (mismo analista, diferentes días) con muestras.

Tabla 4-64. Porcentajes de recuperación de cadmio obtenidos para el sistema.

Tabla 4-65. Porcentajes de recuperación de cadmio obtenidos para el método.

Tabla 4-66. Análisis de varianza ANOVA para la comparación de pendientes del sistema y del método para análisis de cadmio.

Tabla 4-67. Evaluación del efecto memoria del método para cadmio.

Tabla 4-68. Evaluación de la estabilidad de la solución de 0,2 ug/L de cadmio.

Tabla 4-69. Evaluación de la estabilidad de la solución de 5 ug/L de cadmio.

Tabla 4-70. Evaluación de la estabilidad del cadmio en la muestra 017.

Tabla 4-71. Evaluación de la estabilidad del cadmio en la muestra 067.

Tabla 4-72. Evaluación de la estabilidad del cadmio en la muestra 084.

Tabla 4-73. Cálculo de la incertidumbre combinada debida al análisis instrumental para cadmio.

Tabla 4-74. Cálculo de la incertidumbre total para el análisis de cadmio.

Tabla 4-75. Número de formas farmacéuticas que cumplen y no cumplen el parámetro de uniformidad de peso.

Tabla 4-76. Resultados de niveles de plomo y cadmio en las muestras.

Tabla 4-77. Porcentajes de presencia y ausencia de plomo y cadmio en las muestras recolectadas.

Tabla 4-78. Porcentaje de presencia y ausencia simultánea de ambos metales en las muestras recolectadas.

Tabla 4-79. Estadística descriptiva para los niveles de plomo y cadmio (mg/kg) encontrados en la totalidad de las muestras recolectadas.

Tabla 4-80. Estadística descriptiva para los niveles de plomo y cadmio (mg/kg) encontrados en las muestras discriminada por planta.

Tabla 4-81. Niveles de plomo y cadmio en productos analizados discriminados por laboratorio productor.

Tabla 4-82. Cálculos de la cantidad ingerida en ug de plomo/kg peso corporal por mes.

Tabla 4-83. Cálculos de la cantidad ingerida en ug de cadmio/kg peso corporal por mes.

Tabla 4-84. Estadística descriptiva para el cálculo de exposición a cada metal en unidades de ug metal/kg P.C/mes.

Lista de figuras

Figura I-1. Mapa de origen de plantas medicinales en el mundo.

Figura I-2. Diagrama de las diferentes fuentes de contaminación por metales pesados en productos de medicina tradicional.

Figura 2-1. Ejemplos de metales y sales cristalinas disponibles en tiendas medicinales en Pietermaritzburgo.

Figura 2-2. Diagrama de los componentes básicos de un Espectrofotómetro de Absorción Atómica.

Figura 3-1. Ejemplo de ingreso de datos para la generación de números aleatorios por localidad.

Figura 3-2. Ejemplo de números aleatorios generados por localidad.

Figura 3-3. Selección de las tiendas naturistas a visitar para la recolección de las muestras.

Figura 3-4. Fotografía de Espectrofotómetro de Absorción atómica con horno de Grafito Modelo ICE 3500 de Thermo.

Figura 3-5. Alistamiento de tabletas de alcachofa previo a la digestión.

Figura 3-6. Alistamiento de tabletas de ajo previo a la digestión.

Figura 3-7. Alistamiento de cápsulas de alcachofa previo a la digestión.

Figura 3-8. Alistamiento de cápsulas de ajo previo a la digestión.

Figura 3-9. Digestión ácida de las muestras asistida por baño termostataado.

Figura 4-1. Distribución de las muestras recolectadas por planta.

Figura 4-2. Distribución de las formas farmacéuticas según la planta.

Figura 4-3. Fotografías de cápsulas duras de alcachofa y ajo con contenido sólido pulverizado.

Figura 4-4. Fotografía de tabletas o comprimidos de ajo.

Figura 4-5. Fotografía de forma farmacéutica denominada “perlas de ajo”.

Figura 4-6. Distribución de las muestras recolectadas por planta y por laboratorio.

Figura 4-7. Número de tiendas naturistas visitadas por localidad.

Figura 4-8. Mapa de las localidades de Bogotá.

Figura 4-9. Número de productos recolectados por localidad.

Figura 4-10. Gráfico de linealidad para plomo – sistema.

Figura 4-11. Gráfico de linealidad para plomo – método.

Figura 4-12. Gráfico de análisis ANOVA de regresión lineal para plomo – sistema.

Figura 4-13. Gráfico de residuos para plomo – sistema.

Figura 4-14. Gráfico de análisis ANOVA de regresión lineal para plomo – método.

Figura 4-15. Gráfico de residuos para plomo – método.

Figura 4-16. Diagrama de flujo para el análisis de plomo en productos fitoterapéuticos.

Figura 4-17. Diagrama de Ishikawa para la identificación de fuentes de incertidumbre en la medición de plomo en productos fitoterapéuticos.

Figura 4-18. Distribución rectangular en incertidumbre tipo B.

Figura 4-19. Distribución triangular en incertidumbre tipo B.

Figura 4-20. Valor de t para la distribución para n-1 grados de libertad.

Figura 4-21. Gráfico de linealidad para cadmio – sistema.

Figura 4-22. Gráfico de linealidad para cadmio – método.

Figura 4-23. Gráfico de análisis ANOVA de regresión lineal para cadmio – sistema.

Figura 4-24. Gráfico de residuos para cadmio – sistema.

Figura 4-25. Gráfico de análisis ANOVA de regresión lineal para cadmio – método.

Figura 4-26. Gráfico de residuos para cadmio – método.

Figura 4-27. Niveles de plomo obtenidos en las muestras comparados con el valor máximo permitido a nivel nacional.

Figura 4-28. Niveles de cadmio obtenidos en las muestras comparados con el valor máximo permitido a nivel nacional.

Figura 4-29. Ejemplos de recomendaciones de posología o dosis en las etiquetas de las muestras recolectadas.

Figura 4-30. Niveles de plomo hallados en las muestras comparados con los límites permisibles establecidos por la Unión europea.

Figura 4-31. Niveles de cadmio hallados en las muestras comparados con los límites permisibles establecidos por la Unión europea.

teniendo disponibilidad de los productos a bases de plantas o hierbas medicinales no solo en farmacias, sino en tiendas de alimentos y supermercados (Ekor M, 2014).

Se ha estimado que alrededor del 25% de todas las medicinas modernas son derivadas directa o indirectamente de plantas superiores. En algunos casos particulares, como los antitumorales y antimicrobianos, aproximadamente el 60% de los medicamentos disponibles actualmente en el mercado se derivan de productos naturales, principalmente de plantas superiores (Calixto J.B, 2000).

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), se ha estimado que más de 4 billones de personas (que representan el 80% de la población mundial) que viven países en vía de desarrollo, confía en los productos a base de plantas medicinales como fuente para el cuidado primario de la salud, y la práctica médica tradicional que involucra el uso de dichas plantas es vista como parte integral de la cultura en muchas comunidades (Ekor M, 2014). Actualmente, las principales compañías farmacéuticas, siguen interesadas en investigar plantas superiores como fuentes de nuevas estructuras y también para el desarrollo de agentes fitoterapéuticos estandarizados con eficacia, seguridad y calidad demostradas (Calixto J.B, 2000).

Hoy en día, la efectividad de las medicinas tradicionales es un hecho putativo debido a que se considera que tienen mejor compatibilidad con el cuerpo humano, y por lo tanto menos efectos colaterales, así como mayor aceptabilidad cultural en todo el mundo. Es por esto que los llamados “farmacéuticos verdes” han ganado mucha popularidad e importancia, en razón a la cantidad de opciones disponibles para el descubrimiento de nuevos productos con actividad biológica (Mustafa G, 2017).

Para el año 2009, el mercado de productos naturales correspondía a alrededor de 14 billones de dólares anuales. Dentro de los principales consumidores están Italia, Alemania, Francia, el Reino Unido y España; también Japón y Estados Unidos (Sarmiento J, 2011). En estos países en desarrollo, la más importante entre otras razones para la búsqueda de la terapia herbal, es la creencia de que su uso promueve una vida más saludable, pues las plantas medicinales son vistas como un enfoque moderado y equilibrado para la cura de problemas de salud y las personas que las usan como remedios caseros y medicamentos de venta libre gastan grandes cantidades de dinero en productos herbales. Esto explica en parte la razón por las que las ventas de medicinas

herbales están en auge y representan una proporción sustancial del mercado global de medicamentos (Ekor M, 2014).

Así pues, los productos fitoterapéuticos han adquirido una gran popularidad en los últimos años, debido a que están fabricados a partir de plantas medicinales, tradicionales de muchas culturas y empleadas contra diversas enfermedades, lo que para los consumidores implica gran seguridad (Sarmiento J, 2011) al ser comparados con productos alopáticos, preparados a partir de sustancias químicas plenamente caracterizadas. Por otra parte, en las últimas décadas, las enfermedades crónicas complejas se han convertido en un tema de salud principal, para el cual el efecto de la medicina occidental no resulta satisfactorio para los pacientes y los problemas de las reacciones adversas también son muy prominentes, razones por las cuales los tratamientos complementarios o alternativos, especialmente la medicina a base de plantas, han ganado más atención y popularidad (Zhang J, 2015).

En Colombia, los productos naturales son todas aquellas preparaciones farmacéuticas, medicamentos, cosméticos, alimentos y complementos alimenticios cuya base es un recurso natural o una o varias plantas medicinales, y cuya función es mejorar la salud de quien las usa (Sarmiento J, 2011). En ese sentido cabe resaltar que Colombia tiene gran riqueza en recursos naturales por su posición geográfica, lo que le permite tener amplia variedad de ecosistemas y asimismo un amplio potencial en producción de plantas medicinales y productos a base de estas mismas (Sarmiento J, 2011; Guevara H, 2010; SIC, 2015). A pesar de ser un sector relativamente nuevo y en proceso de consolidación, la producción y comercialización de productos naturales se destaca en el ámbito económico del país (Sarmiento J, 2011).

El uso de plantas como fuente de agentes terapéuticos se realiza por varios caminos: 1. Aislamiento de los principios activos para el uso directo como fármacos (digoxina, digitoxina, morfina, etc.). 2. Producción de compuestos de estructuras nuevas o conocidas como compuestos líderes para la síntesis de entidades patentables de mayor actividad y/o menor toxicidad (oxicodona, taxotere y verapamilo, los cuales están basados, respectivamente, en morfina, taxol y khellin). 3. El uso de agentes como herramientas terapéuticas en ciertas culturas (dietilamida del ácido lisérgico, mescalina y yohimbina). 4. El uso de la planta completa o una parte de ella como remedio (aceite de menta, equinácea, ajo y Ginkgo biloba) (Shaban N, 2016), siendo este el caso de los productos fitoterapéuticos, ya sea como extractos o fracciones vegetales.

En general, los estudios sobre plantas medicinales se han encargado de describir la variedad de constituyentes químicos en las especies con algún tipo de actividad biológica, como lo son los terpenos, flavonoides, alcaloides, compuestos aromáticos, lactonas sesquiterpénicas, entre otros, y compuestos con actividad antiviral, antibacteriana, antitumoral, hipoglucemiante, hipotensora, antiparasitaria, antidiarreica, sedante, antiinflamatoria, antiespasmódica, etc. Debido a la diversidad que favorece al país, en materia de plantas medicinales, existe un afán económico en implementar rutas seguras de producción que abarquen desde las materias primas, la caracterización química de compuestos activos, la valoración de la seguridad y toxicidad, la actividad biológica y la armonización con la etnobotánica (SIC, 2015). Dado este campo de acción, se hace necesaria la caracterización de contaminantes químicos antes, durante y después de la fabricación de productos preparados a base de plantas medicinales, teniendo en cuenta su complejidad.

Las preparaciones a base de medicinas herbales normalmente son muy populares en países en desarrollo con una larga tradición de uso de plantas medicinales y también en algunos países desarrollados como Alemania, Francia, Italia y los Estados Unidos donde existen guías apropiadas para el registro de este tipo de productos (Calixto J.B, 2000). Sin embargo, en Colombia, la caracterización de este sector se hace difícil, principalmente por la informalidad de los responsables de la fabricación, que generalmente corresponden a pequeños locales que producen de manera irregular sin la autorización de las entidades sanitarias o llevan al mercado productos sin su respectivo registro sanitario (Guevara H, 2010).

En el país, han sido identificadas aproximadamente 6000 plantas con propiedades terapéuticas, sin embargo, de esta cifra se comercializan 156 plantas a nivel nacional (Sarmiento J, 2011). En este punto es importante mencionar, que el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA), siendo el encargado de la regulación, vigilancia y control de este tipo de productos, cuenta con el listado de “Plantas Medicinales Aceptadas con Fines Terapéuticos” de las Normas Farmacológicas del INVIMA, en el cual se encuentran el ajo y la alcachofa con sus correspondientes usos aceptados y presentaciones farmacéuticas, y donde se estipula que su venta es libre (INVIMA, 2015). Estas dos plantas también se encuentran descritas en el Vademécum Colombiano de Plantas Medicinales (MSPS M. d., 2008).

Pese a su importancia cultural, social y económica, el conocimiento sobre la flora medicinal de Colombia sigue siendo insuficiente. A través de publicaciones científicas se han identificado 2768 especies utilizadas con fines preventivos y terapéuticos por diferentes comunidades en el país, de las cuales solo el 4.3% (119 especies) han sido incluidas en el Vademécum Colombiano de Plantas Medicinales, publicación en la que más del 67% de las plantas corresponden a especies foráneas y menos de 33% a vegetación nativa (Vasquez, 2014).

Según una revisión documental realizada por el Departamento de Farmacia de la Universidad Nacional de Colombia, en el año 2010, la planta con mayor número de autorizaciones de comercialización es la alcachofa *Cynara scolymus* (con 52 registros sanitarios), seguida de caléndula *Calendula officinalis* (51 registros sanitarios), valeriana *Valeriana officinalis* (33 registros sanitarios), ajo *Allium sativum* (32 registros sanitarios), ginkgo *Ginkgo biloba* (29 registros sanitarios), cáscara sagrada *Rhamnus prushiana* (24 registros sanitarios), boldo *Peumus boldus* (23 registros sanitarios), psyllium *Plantago psyllium* (21 registros sanitarios), castaño de indias *Aesculus hippocastanum* (20 registros sanitarios) y diente de león *Taraxacum officinale* (20 registros sanitarios); dichas plantas corresponden a las diez especies más empleadas en productos fitoterapéuticos legalmente autorizados y constituyen 50% de los registros sanitarios de productos fitoterapéuticos otorgados en el país (Guevara H, 2010).

A pesar de su popularidad, el control de calidad que se realiza a este tipo de preparaciones en nuestro país es pobre y no existen suficientes datos sobre su seguridad (Díaz M, 2000; SIC, 2015), razón por la cual se hace necesario generar información al respecto (Díaz M, 2000). Teniendo en cuenta esto, el ánimo de este trabajo es generar un panorama sobre la posible contaminación de los productos fitoterapéuticos preparados a partir de dos de las plantas con propiedades medicinales más usadas en el país (ajo y alcachofa) con plomo y cadmio, metales de gran importancia por sus efectos tóxicos sobre la salud, y asimismo comparar los niveles encontrados con los valores de referencia establecidos a nivel nacional en el Decreto 2266 de 2004 del Ministerio de la Protección Social (Ministerio de la Protección Social, 2004).

Existen aún muchos desafíos asociados con el monitoreo efectivo de la seguridad de estos productos medicinales, que deben resaltarse con el fin de ayudar a dar un nuevo enfoque a las agencias regulatorias en la necesidad de asegurar la protección de la salud pública y la promoción de la seguridad (Ekor M, 2014).

Adicional a lo anterior, es ampliamente conocido que los metales pesados son contaminantes que representan una gran preocupación a nivel ambiental, ya que son peligrosos no solo para los humanos, sino para otra biota (Nasser K, 2012). El término metal pesado hace referencia a cualquier elemento químico metálico que tiene una densidad relativamente alta y es tóxico a bajas concentraciones (Shaban N, 2016) .

La presencia de este tipo de contaminantes en el suelo puede darse de forma natural, o por actividades antropogénicas, como prácticas relacionadas con manufactura o agricultura. Las actividades como las industrias de metales, el uso de fertilizantes, herbicidas o insecticidas contaminados, la irrigación con agua subterránea contaminada y el uso de lodos de aguas residuales contaminadas, son ampliamente responsables de la acumulación de niveles de metales pesados por encima de los límites permitidos en suelos. (Nasser K, 2012).

Existen reportes relacionados con la presencia de metales pesados en algunos productos a base de plantas medicinales, y esto se atribuye a diversas posibilidades, entre las cuales se encuentran los factores ambientales como contribución importante a la contaminación de dichas productos. Esto incluye la contaminación de los suelos agrícolas y el agua de irrigación como resultado de los desechos industriales, las actividades de minería y el uso de cierto tipo de fertilizantes. Adicional a esto, los metales pesados pueden introducirse durante la preparación de la preparación de materias primas para productos fitoterapéuticos o de medicina tradicional, teniendo en cuenta que esto cubre muchos pasos como son el cultivo, la cosecha, la recolección, la limpieza y el secado de las plantas medicinales (Helal A, 2013).

Otra de las posibilidades es la contaminación accidental durante los procesos de manufactura como la molienda, la mezcla y la exposición a metales por liberación de estos a partir de los equipos usados durante el procesamiento o fabricación. Por último, puede haber adición intencional de metales pesados durante la preparación como parte de los ingredientes con propósitos curativos, lo que constituye otra fuente de contaminación (Figura 2) (Helal A, 2013).



Figura I-2. Diagrama de las diferentes fuentes de contaminación por metales pesados en productos de medicina tradicional. Tomado y adaptado de Helal A. (2013). *Diagram of different sources of heavy metals contamination in traditional medicinal products.* En Helal A., A Review of Heavy Metals Contamination in Traditional Medicinal Products, *J App Pharm*, Vol. 4, p. 749

Entre los metales pesados de importancia en salud pública, el plomo (Pb) es reconocido como el contaminante tipo metal más abundante en el ambiente y es potencialmente tóxico pues no tiene una función biológica reconocida. La emisión global de plomo por vehículos motores y plantas industriales se estimó alrededor de 500000 toneladas, las cuales pueden permanecer en el ambiente por 150 a 5000 años. Este metal entra a los suelos agrícolas principalmente a través de automóviles, plantas de fundición de metales, minas, lodos de aguas residuales contaminados con Pb y desechos industriales, etc., desde donde es transferido a la red trófica. Además, la contaminación severa por Pb en el suelo puede causar diversos problemas como pérdida de la vegetación, contaminación de agua subterránea, y por ende toxicidad en plantas, animales y humanos (Nasser K, 2012).

Por su parte, el cadmio (Cd) está presente de manera general en el ambiente a niveles bajos, sin embargo, las actividades humanas han incrementado de forma importante estos niveles. Este metal tiene la capacidad de viajar largas distancias desde la fuente de emisión a través de transporte por la atmósfera. Es fácilmente acumulado por muchos organismos, como moluscos y crustáceos; mientras que se encuentran concentraciones más bajas en vegetales, cereales y raíces almidonadas. Así, la exposición en humanos

ocurre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, la inhalación pasiva o activa de humo de tabaco y la exposición ocupacional en industrias de metales no ferrosos. Adicionalmente, presenta efectos tóxicos en el riñón, el sistema esquelético y el respiratorio, y es clasificado como un carcinógeno humano, por lo cual se requiere, a nivel mundial de la implementación de acciones que lleven a la disminución de las liberaciones de cadmio al ambiente, así como la reducción de la exposición laboral (WHO W. H., 2010).

De acuerdo a lo anterior, se realizó la selección del ajo y alcachofa como plantas de interés para la investigación, debido a que cuentan con una parte importante de los registros sanitarios aprobados para productos fitoterapéuticos, y con base en su capacidad para acumular metales, debido a que tienen mayor biomasa y otras características bioquímicas que favorecen dicho proceso de captación; por ejemplo se conoce que el ajo tiene características que favorecen la captación de cadmio en suelos contaminados (Babula P, 2012; Jiang W, 2001), contiene muchos principios activos principalmente en la forma de derivados de cisteína que se descomponen en una variedad de tiosulfatos y polisulfuros, y dentro de su composición también se encuentra la alicina, un compuesto de azufre con propiedades antioxidantes y otros péptidos no volátiles con grupos sulfuro, que se conoce contribuyen a las propiedades que tiene el ajo para quelar metales (Nwokocha C, 2012). Para el caso de la alcachofa, existen pocos reportes disponibles relacionados con los mecanismos involucrados en la acumulación de metales pesados, sin embargo, se considera que por su biomasa tiene la capacidad de acumular metales pesados en el tejido vegetal (Naser K, 2013).

Teniendo en cuenta el panorama expuesto previamente, este trabajo permite generar información que lleve a la ampliación del conocimiento sobre la calidad y seguridad de los productos a base de dos de las plantas medicinales más consumidas en el país (ajo y alcachofa), con el fin de aportar al bienestar integral y la calidad de vida en el país, buscando la reducción de la exposición a factores que afectan la salud de la población (MSPS, 2012), tal como es el caso de la contaminación ambiental por metales pesados que afecta al recurso hídrico, al suelo y por lo tanto a las plantas y los productos derivados de ellas, como es el caso de las preparaciones fitoterapéuticas.

Definición y planteamiento del problema

La popularidad de las plantas medicinales se debe a que representan una fuente de una amplia variedad de antioxidantes naturales, vitaminas, minerales, carbohidratos, microelementos y agentes terapéuticos específicos, entre los cuales se encuentran algunos de importancia como las hormonas esteroideas (progestágenos, corticosteroides, estrógenos, y agentes anabólicos), hipnoanalgésicos, anticancerígenos, entre otros (Carballo M, 2005). Las plantas como tal, o sus extractos, se han usado en la prevención y tratamiento de muchas enfermedades crónicas cardiovasculares, inflamatorias, artritis, diabetes, etc. a lo largo de la historia (Jamshidi-Kia F, 2018) , y los problemas de alto costo de los fármacos sintéticos, efectos adversos y el desarrollo de resistencia ha llevado a los investigadores a encontrar fuentes naturales de sustancias activas que sean seguras, potentes y económicas (Shaban N, 2016).

Actualmente se ha popularizado el uso de los productos fitoterapéuticos como terapia alternativa para diversas enfermedades, representando cerca del 25% del total de las prescripciones médicas en países industrializados, y el 80% en los países en desarrollo, lo que demuestra la expansión de su uso (Álvarez A, 2008; Shaban N, 2016). Su valor medicinal se debe principalmente a la presencia de compuestos fitoquímicos, de los cuales lo más importantes son los alcaloides, taninos, flavonoides y compuestos fenólicos (Shaban N, 2016).

Al ser preparados a partir de plantas medicinales pueden presentar dos tipos de toxicidad: a. Toxicidad intrínseca, debida a la presencia de algunos metabolitos tóxicos para el ser humano, tales como alcaloides, algunos flavonoides, glicósidos cardiotónicos y cianogénicos, pudiendo generar intoxicaciones agudas o crónicas; y b. Toxicidad extrínseca, debida a la presencia de contaminantes como metales pesados, pesticidas, micotoxinas, o alta carga microbiana (Bejarano Y, 2017).

Así pues, es un hecho conocido que las plantas medicinales pueden contaminarse fácilmente mediante la absorción de metales pesados desde el suelo, agua y aire (AHPA, American Herbal Products Association, 2009). El medio ambiente, la polución, la atmósfera, el suelo, la cosecha y la manipulación son algunos de los factores que juegan

un rol principal en la contaminación de plantas medicinales por metales y microorganismos (Gajalakshmi S, 2012). Así, los elementos tóxicos presentes en aguas residuales pueden contaminar suelos usados en agricultura, los suministros de agua y el ambiente y por lo tanto ingresan a la cadena alimenticia humana (Shaban N, 2016).

Los metales pesados pueden provenir de los suelos donde crecen las plantas, y pueden estar presentes de manera natural o por fuentes antropogénicas como la deposición atmosférica, uso de suelos contaminados, deposición de envases metálicos, aplicación de fertilizantes y pesticidas, así como el uso de combustibles fósiles, fundiciones y otras técnicas que liberan metales al medio ambiente y que luego será depositados en los suelos y en la vegetación (Álvarez A, 2008; Shaban N, 2016; Gajalakshmi S, 2012). Por ejemplo, en el caso del plomo, la contaminación proveniente del humo de los automóviles puede depositarse a 10 metros de las carreteras o vías urbanas (Álvarez A, 2008).

Desde el suelo, el contenido de metales pesados se transfiere a las partes de las plantas de consumo humano y animal (Gajalakshmi S, 2012), y la captación de los metales por las raíces depende principalmente de las características del metal y del suelo, de la especie de la planta, etc. Así, la movilidad del metal en la planta es muy importante para determinar el efecto de la contaminación del suelo en la capacidad de captación del metal por parte de la planta (Shaban N, 2016). Por ejemplo, el cadmio es considerado un elemento fácilmente móvil en el suelo; su disponibilidad para las plantas es dependiente de diversos factores que influyen su unión a los componentes del suelo. El pH del suelo es el principal factor determinante para la transferencia hacia la planta, y el contenido de carbono orgánico es otro de los factores relevantes (Chizzola R, 2012).

Uno de los problemas principales relacionados con la presencia de los metales en los ecosistemas es la bioacumulación (acumulación de sustancias químicas en un organismo vivo) y la biomagnificación (bioacumulación de un tóxico o contaminante que se presenta a bajas concentraciones en organismos al inicio de la cadena trófica y la concentración va en aumento a medida que se asciende en dicha cadena). La peligrosidad de los metales pesados es mayor al no ser degradables; una vez emitidos, permanecen en el ambiente durante muchos años, contaminando el suelo y acumulándose en las plantas (Martin, 2017).

Dicha acumulación es una de las preocupaciones ambientales más serias debido a los efectos dañinos potenciales que pueden causar los metales en la salud de animales y humanos. Algunos metales como el zinc, el hierro, el cobre, el cromo y el cobalto son tóxicos a concentraciones elevadas, mientras que otros como el plomo, el mercurio y el cadmio son tóxicos a cualquier concentración (Gajalakshmi S, 2012). El cadmio, manganeso, plomo, mercurio y algunos metaloides como el arsénico, se encuentran dispersos en el ambiente y presentan características claramente bioacumulativas, por lo que resulta de interés determinar las posibles fuentes de exposición para la población (Martin, 2017).

Se han reportado niveles elevados de metales pesados en plantas cultivadas en áreas que tienen usos a largo plazo de aguas residuales tratadas y no tratadas, en plantas que crecen a lo largo de zonas de tráfico pesado y cerca de vertederos. Después de la recolección y transformación de las plantas en una forma de dosificación, los metales pesados confinados en ellas finalmente ingresan al cuerpo humano y pueden alterar las funciones normales del sistema nervioso central, el hígado, pulmones, corazón, riñón y cerebro, llevando a hipertensión, dolor abdominal, erupciones en la piel, úlceras intestinales y diferentes tipo de cáncer (Shaban N, 2016).

Entre los metales pesados, el mercurio, plomo, arsénico y cadmio son tóxicos y tienen efectos mutagénicos, incluso a muy bajas concentraciones. Se han reportado muchos casos de enfermedades, mal funcionamiento y malformaciones de órganos debido a la toxicidad de estos metales. Junto con los seres humanos, los animales y las plantas también se ven afectados por niveles tóxicos de estos elementos (Shaban N, 2016).

Los efectos tóxicos varían entre metales; por ejemplo, mientras que una intoxicación por cadmio puede causar afectación de las vías respiratorias, lesiones renales, proteinuria y anemia, además de estar relacionado con la generación de cáncer, la intoxicación por plomo interfiere con la función celular normal y afecta varios procesos fisiológicos con una amplia gama de efectos tales como neurológicos (afectación del sistema nervioso central en niños y adultos), hematológicos, endocrinos, renales, sobre los procesos reproductivos y del desarrollo, así como posible cancerígeno (Nordberg G, 2013).

Cabe resaltar que la acumulación de metales en los vegetales va a depender de las especies y su presencia por encima de los niveles permitidos puede ocasionar daños. En

este sentido, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda que el plomo no debe exceder, en productos fitoterapéuticos, niveles de 10 mg/kg, y países como Canadá establecen niveles máximos de 0,2 mg/kg para el mercurio (Álvarez A, 2008).

En países como el Reino Unido y Estados Unidos, los medicamentos a base de plantas se han considerado como la principal causa de intoxicación por plomo, después de la exposición ocupacional. Estudios realizados en Estados Unidos y la India, muestran presencia de cadmio, plomo y níquel en productos naturales por encima de 0,5 mg/kg para el cadmio y 10 mg/kg para el plomo. En Malasia, se han reportado concentraciones de plomo en productos fitoterapéuticos por encima de 10 mg/kg en un 8% de los productos analizados, así mismo se encontraron algunos individuos con niveles de protoporfirina elevados de 2-10 veces por encima de lo normal debido al consumo de productos naturales, así como trazas de mercurio en el producto consumido (Álvarez A, 2008).

En el subcontinente Indo-Paquistaní se han encontrado metales pesados como plomo, mercurio, cadmio y plata en medicamentos a base de plantas. En Sudafrica, algunos fitoterapéuticos fueron asociados a intoxicación por metales pesados, y a esos se les encontró plomo, cinc y mercurio en niveles que ponen en duda la calidad de este tipo de preparaciones (Álvarez A, 2008).

Por otra parte, en un estudio liderado por la Universidad de Granada reveló que el 96,8% de las plantas medicinales adquiridas habitualmente en los supermercados, herbolarios y mercados tradicionales contienen metales pesados y minerales, aunque en bajas concentraciones que se encuentran por debajo de los máximos permisibles. Dentro del estudio se incluyeron productos terminados y plantas vendidas en supermercados como hoja suelta, y se determinaron niveles de arsénico, cadmio, cromo, cobre, hierro, mercurio, manganeso, plomo y zinc, encontrando que el 4,6% de las muestras excedía las recomendaciones de la OMS para cadmio (0.3 mg/kg) (Martin-Domingo M, 2017)

De igual manera se ha reconocido su baja calidad por la falta de conocimiento tecnológico para su fabricación, además los productos fitoterapéuticos que existen en el mercado se caracterizan por la falta de información que certifique su eficacia terapéutica o la ausencia de toxicidad. Los consumidores de estos productos no son conscientes de las interacciones potenciales entre los productos a base de plantas y otros medicamentos, así

como de la presencia de elementos tóxicos como los metales pesados, que pueden surgir por contaminación del producto o porque el metal es parte de su formulación (Álvarez A, 2008).

En Colombia, no se cuenta con información publicada o disponibles relacionada con la contaminación por metales pesados en plantas medicinales ni en los productos fitoterapéuticos u otros productos de medicina tradicional. No se ha implementado un programa de fitovigilancia, necesario debido al uso relevante que se le da a las plantas medicinales en el país. El INVIMA, por su parte, realiza el otorgamiento de registros sanitarios de los productos a base de plantas con actividad terapéutica y a través de la Sala Especializada de Productos Fitoterapéuticos y Suplementos Dietarios se efectúa seguimiento menos exhaustivo que el que se realiza para los medicamento alopáticos y productos biológicos (Bejarano Y, 2017).

Asimismo, los avances hechos en el país sobre la investigación de las plantas medicinales y los productos derivados de ellas, se han enfocado en aspectos etnobotánicos, su mercado y comercialización, aspectos etnofarmacológicos, y el uso tradicional (Jamaica D, 2017).

Teniendo en cuenta lo planteado previamente, se resalta la importancia de la presente investigación como un aporte a la evaluación de la calidad y seguridad de los productos preparados a base plantas medicinales, reconociendo su amplio uso a nivel de todo el mundo y las creencias populares que en ocasiones pueden subestimar el riesgo que implica su consumo de manera indiscriminada, a sabiendas de que se trata de productos que no requieren fórmula médica, se pueden adquirir fácilmente en tiendas especializadas, y por lo tanto no tienen un seguimiento adecuado por parte de los profesionales de la salud. Cabe resaltar, que aún cuando se observe un riesgo aparente para el consumidor, por el evidente exceso de metales, las autoridades sanitarias deben establecer mecanismos de control que garanticen la comercialización de productos seguros.

Justificación

A pesar de la popularidad de las medicinas tradicionales, la investigación científica sobre la seguridad y la eficacia es limitada. Sin embargo, se han documentado y reconocido casos fatales y de enfermedad severa debido a la intoxicación por metales pesados que se han asociado con el uso de medicina tradicional (Helal A, 2013). Por lo tanto, se ha vuelto un tema esencial, proporcionar al público general, incluyendo a los profesionales de la salud, información adecuada que permita un mejor entendimiento de los riesgos asociados con el uso de estos productos y asegurar que todos estos medicamentos son seguros y de la calidad esperada (Ekor M, 2014).

Aunque existe evidencia científica que reconoce sus beneficios, sin embargo quedan muchas preguntas sin contestar sobre la seguridad de estas terapias, si cumplen el objetivo terapéutico para el cual fueron prescritas, y sobre el uso no regulado o inapropiado que puede generar efectos negativos en la salud (Farheen F, 2009).

La contaminación del material vegetal crudo lleva a la contaminación de los productos durante el proceso de manufactura, y aunque se han hecho grandes esfuerzos para lograr la reducción de las emisiones metálicas, los metales pesados siguen presentes en el ambiente (Chizzola R, 2012).

Se han reportado muchos casos clínicos considerados como intoxicación por plomo debido al consumo de diferentes tipos de medicina tradicional. Por mencionar alguno, un caso de intoxicación por plomo fue reportado en Auckland Nueva Zelanda, en un hombre de 51 años con dos semanas de evolución de un dolor abdominal tipo cólico y antecedente de diabetes tipo 2, quien había estado consumiendo tabletas de Jambrulina Ayurvédica. Los niveles de plomo en sangre fueron 375.2 ug/L y el análisis de las tabletas mostró que cada una contenía aproximadamente 10 mg del metal (Helal A, 2013).

Es por esto que la contaminación por metales pesados se encuentra dentro de los principales problemas relacionados con la fitoterapia. Como se ha mencionado previamente, esta contaminación tiene orígenes diversos (agua de irrigación contaminada, material particulado del aire, suelos contaminados, condiciones de almacenamiento o

fabricación inapropiadas, etc.), no obstante la metodología analítica para determinar metales pesados en plantas medicinales no ha recibido los mismos esfuerzos de investigación que se han dedicado a la evaluación de las propiedades de los fitoterapéuticos (Farheen F, 2009).

Se ha establecido claramente que los metales pesados son la causa de enfermedades severas, y este hecho debe ser direccionado hacia la búsqueda de las fuentes de exposición, así como a su control. Los metales, metales pesados y metales tóxicos, todos son términos usados para un grupo de elementos, los cuales incluyen plomo, mercurio, arsénico y otros que se conoce que causan toxicidad en ciertas formas y en ciertas dosis (Street R.A., 2012).

Se considera que la contaminación y la polución con metales pesados son dos problemas principales de las plantas medicinales, y debido al uso expandido de sustancias naturales alrededor del mundo la calidad, la seguridad de los productos medicinales derivados de plantas deben ser estudiados con cuidado, asimismo las tradiciones y las creencias milenarias sobre estos aspectos no pueden considerarse como plenamente verdaderas, por lo que se requiere de investigaciones que permitan obtener información confiable sobre el uso de plantas en el cuidado de la salud (Jamshidi F, 2018).

Dicha contaminación en plantas y vegetales no puede ser subestimada, debido a que su ingesta representa un riesgo para la salud y este debería ser uno de los aspectos más importantes relacionados con el aseguramiento de su calidad, sabiendo que no son biodegradables y persistentes en el ambiente, lo que les permite depositarse en las superficies y luego ser absorbidos en los tejidos de plantas y vegetales (Singh R G. N., 2011).

Adicionalmente, cuando se usan plantas en el tratamiento de ciertas enfermedades, se debe saber, que aparte de su efecto farmacológico, pueden ser tóxicas si el contenido de metales pesados en ellas es elevado. Aunque su efectividad está principalmente asociada con sus constituyentes activos, se considera que la ingesta prolongada puede causar problemas de salud si metales pesados como el plomo, cadmio, zinc, níquel y otras impurezas se encuentran presentes por encima de las concentraciones límite, teniendo en cuenta nuevamente que pueden contaminarse durante el cultivo o durante su procesamiento (Stanojkovic-Sebic A, 2015).

En razón a este panorama, el control de metales pesados en plantas medicinales y aromáticas representa uno de los factores para la evaluación de la calidad. Debido a que estas plantas se originan en diferentes áreas de crecimiento, se esperan grandes diferencias en la captación y la concentración de metales pesados en el tejido de las plantas. Los altos contenidos de metales pesados en algunas plantas medicinales surgen de su habilidad para acumular particularmente algunos metales, especialmente cadmio. Sin embargo, se puede encontrar una alta captación de metales pesados en áreas de cultivo localizadas en regiones montañosas, debido a ciertas propiedades de estos suelos, como la acidez y/o la presencia de minerales metalíferos, lo cual favorece la movilidad de metales pesados en el suelo y su biodisponibilidad para las plantas (Annan K, 2013).

Hasta ahora no existe una colección sistemática de los datos obtenidos sobre elementos metálicos en plantas medicinales y especias (Chizzola R, 2012). Muchos trabajos se han enfocado en reportar información sobre las propiedades fitoquímicas y las actividades biológicas de las plantas medicinales, sin embargo hay disponibles muy pocos reportes en lo que respecta al contenido de metales pesados (Annan K, 2013).

Los datos y reportes disponibles vienen de estudios que fueron realizados con diferentes propósitos, incluyendo datos de encuestas sobre el contenido elemental de plantas que crecen en una región o país específico o productos farmacéuticos en el mercado de una región, experimentos específicos para investigar la captación de cierto metal por una planta, plantas que crece en sitios altamente contaminados con metales, y los estudios para evaluar o desarrollar métodos analíticos para la detección de metales tóxicos en el material vegetal, y el foco de la mayoría de estudios sobre metales tóxicos en plantas medicinales ha sido la determinación de plomo y cadmio, por su toxicidad (Chizzola R, 2012).

Otra razón importante que justifica la monitorización de metales tóxicos en plantas medicinales es la evidencia disponible sobre algunas drogas exóticas a base de hierbas, principalmente de origen asiático, con niveles críticos de metales pesados y arsénico. Recientemente, se han encontrado altas cargas de metales tóxicos en drogas herbales chinas, disponibles en Holanda, lo que se ha convertido en un motivo de preocupación en este país (Chizzola R, 2012). En este sentido, es importante resaltar que se ha

determinado que el 90% del ajo que se comercializa en Colombia proviene de China, por ser este país el principal productor de este vegetal, y por la baja en el área cultivada a nivel nacional (Pinzón H, 2009).

Debido a que la importancia que tienen los productos fitoterapéuticos está incrementando en razón a sus efectos colaterales mínimos y la aceptabilidad en la mayoría de la población en los países del tercer mundo, existe la necesidad urgente de establecer la identidad, pureza y la calidad de dichas preparaciones para obtener eficacia y seguridad plena al consumirlas (Farheen F, 2009). Es por esto que la determinación de metales se hace relevante, puesto que la presencia de estos contaminantes a niveles excesivos en plantas y animales puede inducir una variedad de efectos crónicos y agudos en un amplio rango de organismos en varios ecosistemas (Farheen F, 2009). Con el fin de realizar una evaluación razonable sobre los contenidos de metales en las plantas y en los productos preparados a partir de ellas, es importante conocer los niveles que ocurren generalmente en las muestras aparentemente no contaminadas o que no exceden los valores normados, lo que permite establecer niveles base (Chizzola R, 2012).

Hasta el momento, no existe en el país información disponible relacionada con la caracterización o determinación de niveles pesados en plantas medicinales. Se han realizado algunos avances en lo que respecta al cannabis medicinal dado el auge que tiene actualmente en el país, para evaluar la capacidad de esta planta para absorber metales (Cifuentes V., 2018). Así, la investigación en metales pesados puede generar información útil para generar recomendaciones en la agricultura farmacéutica y evitar daños a la salud y pérdidas económicas (Álvarez A, 2008).

Teniendo en cuenta lo descrito previamente, este estudio pretende determinar los niveles de plomo y cadmio en productos fitoterapéuticos a base de ajo y alcachofa comercializados en Bogotá, teniendo en cuenta que son dos plantas muy utilizadas con fines terapéuticos en todo el territorio nacional. De esta manera se espera aportar información útil para las entidades sanitarias y para la realización de investigaciones posteriores en otras plantas medicinales y en otro tipo de preparaciones fitoterapéuticas, que ayuden a ampliar el conocimiento requerido sobre la seguridad del consumo de este tipo de preparaciones y por lo tanto el riesgo al que se puede exponer la población que

hace uso de ellos, siendo este un primer acercamiento al tema de la contaminación de las plantas medicinales en el país.

Pregunta de Investigación

*¿Cuáles son los niveles de plomo y cadmio presentes en los productos fitoterapéuticos a base de Alcachofa (*Cynara scolymus*) y Ajo (*Allivum sativum*) comercializados en Bogotá, y dichos niveles se encuentran dentro de los límites permisibles establecidos por la norma nacional e internacional?*

1. Objetivos

1.1 Objetivo General

Determinar los niveles de Plomo y Cadmio en productos fitoterapéuticos a base de Alcachofa (*Cynara scolymus*) y Ajo (*Allivum sativum*) comercializados en Bogotá.

1.2 Objetivos Específicos

- Validar la metodología analítica para la determinación de Plomo y Cadmio en productos fitoterapéuticos a base de Alcachofa (*Cynara scolymus*) y Ajo (*Allivum sativum*) por Espectrofotometría de Absorción Atómica con Horno de Grafito.
- Determinar los niveles de Plomo y Cadmio en las muestras de productos fitoterapéuticos a base de Alcachofa (*Cynara scolymus*) y Ajo (*Allivum sativum*) recolectadas en la ciudad y evaluar su distribución por localidad, evaluando las características de los productos recolectados.
- Comparar los niveles de Plomo y Cadmio encontrados en las muestras recolectadas en Bogotá de productos fitoterapéuticos a base de Alcachofa (*Cynara scolymus*) y Ajo (*Allivum sativum*) con los niveles máximos establecidos a nivel nacional e internacional.

2. Marco teórico

2.1 Plantas Medicinales

El término plantas medicinales incluye varios tipos de plantas usadas en fitoterapia gracias a sus actividades biológicas sobre el organismo humano (Singh R, 2015). Se considera que fueron las primeras medicinas empleadas por el hombre, se utilizan como fitofármacos y se definen como todas aquellas que contienen en alguno de sus órganos una mezcla de compuestos químicos como responsable de la actividad farmacológica, y que administrados en dosis suficiente, producen efectos curativos (Álvarez A, 2008). Son fuentes de nuevas drogas, y se estima que existen más de 250.000 especies de plantas de flores. Su estudio ayuda al entendimiento de su toxicidad y permite proteger a los seres humanos y a los animales de los venenos naturales. Los efectos medicinales de las plantas se deben a sus metabolitos, especialmente a los compuestos secundarios. Los metabolitos pueden ser primarios o secundarios; los primarios hacen referencia a compuestos orgánicos que producen las plantas y tienen funciones metabólicas esenciales para el crecimiento y desarrollo. Corresponden a los carbohidratos, aminoácidos, nucleótidos, ácidos grasos, esteroides y lípidos. Por su parte, los metabolitos secundarios también corresponden a compuestos orgánicos producidos por las plantas pero que no tienen funciones aparentes en el desarrollo o crecimiento; se producen en diferentes familias, en grupos específicos de familias de plantas, o en tejidos células o estadios del desarrollo específicos a través del crecimiento de la planta. Estos metabolitos son terpenoides, metabolitos especiales de nitrógeno (aminoácidos no proteicos, aminas, glucósidos cianogénicos, glucosinolatos y alcaloides), y compuestos fenólicos (Singh R, 2015).

Estas plantas son la “columna vertebral” de la medicina tradicional, lo cual implica que más de 3,3 billones de personas en los países en vía de desarrollo o menos desarrollados utilizan plantas medicinales de forma periódica. Asimismo, son consideradas como una fuente importante de ingredientes que pueden ser usados en el desarrollo de medicamentos y síntesis de fármacos; y adicionalmente juegan un papel crítico en el

desarrollo de culturas en todo el mundo, como en religiones y diferentes ceremonias. Muchas de las medicinas modernas son producidas indirectamente a partir de plantas medicinales, como es el caso de la aspirina; asimismo muchos cultivos alimenticios tienen efectos medicinales, como por ejemplo el ajo (Cecchini T, 2008).

Por ejemplo, el subcontinente indio cuenta con una gran diversidad de especies de plantas en un amplio rango de ecosistemas; existen alrededor de 17.000 especies de plantas superiores, de las cuales aproximadamente 8.000 especies son consideradas como medicinales y usadas por comunidades como tribus, o en sistemas medicinales tradicionales como la medicina Ayurveda (Singh R, 2015).

Las medicinas ayurvédicas se dividen en dos clases principales: Herbales y *Rasa Shastra*. *Rasa Shastra* es una práctica antigua que consiste en combinar de forma deliberada las plantas con metales (Hg, Pb, Fe, Zn), minerales (mica) y gemas (perlas). Los expertos afirman que este tipo de productos, si se preparan y administran de forma adecuada son seguros y cuentan con actividades terapéuticas (Farheen F, 2009).

Por su parte, la UNESCO ha observado ampliamente el uso de medicina tradicional y plantas medicinales en los países más desarrollados, como una forma de mantenimiento de la buena salud. Además, el incremento de la confianza en el uso de plantas medicinales en sociedades industrializadas se ha relacionado con la extracción y desarrollo de muchas drogas y quimioterapéuticos a partir de estas plantas así como de remedios herbales usados tradicionalmente (Singh R, 2015).

Durante la última década, los sistemas tradicionales de medicina se han convertido en un tema de importancia global, pues algunos estimados actuales sugieren que, en muchos países desarrollados, una gran parte de la población confía fuertemente en los practicantes tradicionales y en las plantas medicinales para satisfacer las necesidades de cuidado primario de la salud. Aunque la medicina moderna debe estar disponible en estos países, las fitomedicinas han mantenido su popularidad por razones históricas y culturales (Singh R, 2015).

Las plantas medicinales frecuentemente se usan como materiales crudos o materia prima para la extracción de ingredientes activos los cuales son usados en la síntesis de diferentes fármacos. Este es el caso de los laxantes, anticoagulantes, antibióticos y

antimaláricos, los cuales contienen ingredientes de plantas. La medicina, en muchos países en vía de desarrollo, que usa las tradiciones y creencias locales, sigue siendo el pilar del cuidado de la salud (Singh R, 2015).

Algunos estimados recientes sugieren que más de 9000 plantas tienen aplicaciones médicas conocidas en varias culturas y países, incluso sin haber llevado a cabo una investigación exhaustiva entre comunidades indígenas y otras (Singh R, 2015).

Los estudios sobre plantas medicinales han descrito una gran cantidad y variedad de constituyentes químicos con estructuras diversas y complejas que han sido señaladas como responsables de sus actividades biológicas. Ejemplos de dichos constituyentes son los terpenos, flavonoides, alcaloides, compuestos aromáticos, lactonas sesquiterpénicas, etc., con actividad antiviral, antibacteriana, antitumoral, hipoglucemiante, hipotensiva, antiparasitaria, antidiarreíca, sedativa, antiinflamatoria y antiespasmódica, por citar algunas (SIC, 2015).

2.1.1 Características de las Plantas Medicinales

Las plantas medicinales cuentan con las siguientes características que definen su actividad a nivel biológico y su utilidad:

- **Medicina sinérgica:** Los ingredientes de las plantas interactúan de manera simultánea, por lo tanto sus usos pueden complementar o dañar otros o neutralizar sus posibles efectos negativos. También pueden usarse como apoyo a la medicina oficial, por ejemplo en el tratamiento de casos complejos como el cáncer, en los cuales los componentes de las plantas han probado ser efectivos (Singh R, 2015).
- **Medicina preventiva:** Se ha probado que algunos componentes de las plantas se caracterizan por su habilidad para prevenir la aparición de algunas enfermedades. Esto podría llevar a la reducción de uso de remedios químicos empleados para el tratamiento de la enfermedad cuando ya está presente (Singh R, 2015).

2.2 Fitoterapia

La fitoterapia es una práctica medicinal alternativa que tiene como objetivo la prevención o el tratamiento y manejo de algunas enfermedades mediante el empleo de hierbas y plantas con propiedades medicinales. El Vademécum Colombiano de Plantas Medicinales describe 119 especies con propiedades curativas, de las más de 23000 especies que se encuentran listadas y reportadas en el Sistema de Información sobre Biodiversidad en Colombia (SIC, 2015).

En general, las plantas medicinales se usan a través de sus preparaciones en forma de extractos (SIC, 2015; Singh R, 2015; Cañigueral S, 2003), infusiones, jarabes, ungüentos, aceites, cataplasmas, tinturas, tizanas, etc., para el tratamiento de determinadas condiciones de salud; en este sentido se debe aclarar que la fitoterapia no incluye el uso de sustancias activas aisladas sino que conserva la actividad generada por la presencia de diversos compuestos dentro de la misma planta (SIC, 2015). Especialmente se usan plantas que no hacen parte de la dieta normal. Por su parte, la fitoquímica es el estudio de los fitoquímicos que se producen en las plantas, y describe el aislamiento, purificación, identificación, y la estructura de un gran número de metabolitos secundarios presentes en las plantas (Singh R, 2015).

Muchas preparaciones hechas a base de plantas medicinales han demostrado ser efectivas mediante su uso a través de generaciones, sin embargo no hay suficiente evidencia científica sobre su actividad o toxicidad. Es por esta razón que no han sido plenamente implementadas por la medicina occidental o alopática. A pesar de existir cerca de 78000 publicaciones científicas indexadas que describen la actividad biológica de diversos extracto vegetales, aún no ha sido establecido un modelo de investigación y desarrollo que permita validar plenamente su uso en seres humanos y animales. En algunos casos específicos se ha adaptado el modelo de desarrollo de medicamentos, que es de larga duración, pues requiere de 15 a 20 años (SIC, 2015).

La práctica de la medicina tradicional está muy extendida en países como China, India, Japón, Pakistán, Sri Lanka y Tailandia. En China alrededor del 40% del consumo total de medicinas es atribuido a las preparaciones tradicionales provenientes de tribus. Por otra parte, en Japón estas preparaciones tienen más demanda que los productos farmacéuticos convencionales. África, por su parte, es una fuente importante de plantas medicinales. En América, el uso de plantas como el ginseng (*Panax quinquefolium*) específicamente en Estados Unidos, ha sido asociado con indios americanos. En América Central, el uso de estas plantas ha sido amplio por los indios mayas en México, los Miskitos y Sumus en Honduras y Nicaragua, los Pech, Lencas y Xicaques en Honduras, los Pipiles en El Salvador, los Talamancas en Costa Rica, y los Guaymis y Kunas en Panamá. Las hierbas medicinales que tienen actividad sobre la disfunción eréctil y principios activos anticancerígenos son el foco de contrabando para importar mercados en Alemania, Francia, Suiza, Japón, el Reino Unido y los Estados Unidos (Singh R, 2015).

Los usos industriales de las plantas medicinales son muchos, desde medicinas tradicionales, tés herbales, y alimentos saludables como los nutracéuticos, fitofármacos y productos farmacéuticos industriales. Adicionalmente, son un componente integral de los desarrollos de investigación en la industria farmacéutica. Esta investigación se enfoca en el aislamiento y uso directo de constituyentes activos, o en el desarrollo de drogas semisintéticas, o incluso en el tamizaje de productos naturales para producir compuestos sintéticos farmacológicamente activos (Singh R, 2015).

El comercio de plantas medicinales crece en volumen y en exportaciones. Se estima que el comercio global es de 800 millones de dólares por año. En Alemania, por ejemplo, más de 1.500 especies de plantas de 200 familias y 800 géneros han sido utilizadas para la producción de productos medicinales. En Suráfrica, alrededor de 500 especies son productos comerciales. Hoy en día, Bulgaria, Alemania y Polonia son reconocidos como los principales exportadores de productos medicinales a base de plantas. El desarrollo y comercialización de industrias que se dediquen a este tipo de productos en países en vía de desarrollo depende la disponibilidad de instalaciones y la información sobre el procesamiento, extracción, purificación y el potencial industrial de las plantas. Además, la ausencia de sistemas modernizados de asistencia sanitaria y socioeconómica refuerza la confianza de las poblaciones rurales y poblaciones urbanas de bajos ingresos en el uso

de hierbas y plantas medicinales tradicionales como ayudas complementarias a los productos de rutina del mercado farmacéutico (Singh R, 2015).

Colombia, por su ubicación geográfica, presenta unas características envidiables para el desarrollo de la industria de ingredientes naturales; sin embargo, necesita diseñar y desarrollar cadenas de valor de talla mundial, que le permitan ser competitiva en los sectores farmacéutico, cosmético y alimentario (Grande C, 2015). Existe considerable materia prima que no ha sido plenamente aprovechada y aunque se ha avanzado en el desarrollo tecnológico de cultivos y en la industria propiamente dicha, aún queda mucho por hacer en relación con el desarrollo de esta cadena de valor, requiriendo un marco legal eficiente para regular la explotación y el aprovechamiento de estos recursos naturales (Rodríguez L, 2017; Grande C, 2015).

En el territorio nacional, el mercado de las plantas medicinales es básicamente informal y está compuesto por pequeñas tiendas naturistas, algunos laboratorios y ventas ambulantes, cuya actividad se centra en los fitoterapéuticos. Son comercializadas 156 plantas de las cuales 41% son nativas, 50% foráneas y 9% naturalizadas, y entre ellas las especies más demandadas son la caléndula (*Calendula officinalis*), la alcachofa (*Cynara scolymus*), la valeriana (*Valeriana officinalis*) y el ajo (*Allium sativum*). Según el Instituto Alexander von Humboldt, el mercado informal, basado principalmente en las ventas de plazas de mercado, alcanza unos 25 millones de dólares al año (Grande C, 2015).

En Colombia, la industria fitoterapéutica responde al Ministerio de Salud y Protección Social y a la Superintendencia de Industria y Comercio, entidades que establecen el marco de comercialización de esta industria y dan los parámetros para la producción nacional asegurando el cumplimiento de las normas establecidas y estándares para los espacios de manufactura. La actualización del marco legal de la producción, uso y comercialización de los fitoterapéuticos se detuvo en el año 2010, ya que la oficina encargada del INVIMA no presentó novedades al respecto, lo que se considera ha generado una brecha entre el avance de la investigación y las normas relacionadas con la producción de estas preparaciones (Rodríguez L, 2017).

A pesar de esto, el país sí ha tenido avance en la producción de fitoterapéuticos. Busca posicionarse en este comercio para el año 2025, reconociendo que las áreas que más requieren trabajo son la agricultura, considerada la más desarrollada, el área ambiental y

el área de la salud. Estas medidas se promulgan a través del CONPES 3527 y 3697 de 2011, estableciendo los sistemas de aprovechamiento de recursos naturales, y a través del Ministerio de Salud y Protección Social que establece el marco legal y la política para el desarrollo de la industria farmacéutica y terapéutica (Rodríguez L, 2017).

En Colombia, los productores de fitoterapéuticos cuentan con infraestructura de laboratorios con dotación óptima y dando cumplimiento a las regulaciones establecidas, sin embargo, no son tan sofisticados, lo que hace difícil mantener procesos eficaces para la producción de fitoterapéuticos o para la investigación de materias primas (Rodríguez L, 2017; SIC, 2015). A pesar de la existencia del Vademécum de Plantas Medicinales, no todas las plantas allí descritas cumplen con los requisitos establecidos por el Ministerio de Salud y Protección social para ser materias primas de fitoterapéuticos, debido a que este documento está basado en el desarrollado por Estados Unidos en el 2004 (Rodríguez L, 2017).

A la fecha, Colombia sigue por debajo de Países como Brasil, Chile o Argentina en materia de investigación aun cuando maneja una biodiversidad muy alta, por falta de procesos tecnológicos y de investigación científica claros que permitan el avance de esta área, y así estar a la par con otras partes del mundo (Rodríguez L, 2017).

2.3 Producto Fitoterapéutico

Según el Decreto 2266 de 2004 del Ministerio de la Protección Social, un producto fitoterapéutico *“Es el producto medicinal empacado y etiquetado, cuyas sustancias activas provienen de material de la planta medicinal o asociaciones de estas, presentado en estado bruto o en forma farmacéutica que se utiliza con fines terapéuticos. También puede provenir de extractos, tinturas o aceites. No podrá contener en su formulación principios activos aislados y químicamente definidos. Los productos obtenidos de material de la planta medicinal que haya sido procesado y obtenido en forma pura no será clasificado como producto fitoterapéutico”* (Ministerio de la Protección Social, 2004) .

La base de los medicamentos fitoterapéuticos son las drogas vegetales y los diferentes tipos de productos que de ellas se obtienen. El término droga vegetal no debe confundirse con el de planta medicinal. La OMS definió en 1978 estos conceptos (Cañigüeral S, 2003):

- **Planta Medicinal:** Es cualquier planta que en uno o más de sus órganos contiene sustancias que pueden ser utilizadas con finalidad terapéutica o que son precursores para la semisíntesis químico-farmacéutica (Cañigüeral S, 2003).

- **Droga Vegetal:** Es la parte de la planta medicinal utilizada en terapéutica (Cañigüeral S, 2003).

- **Principios Activos:** Son las sustancias responsables de la acción farmacológica (Cañigüeral S, 2003).

El retorno progresivo hacia el uso de los productos de origen natural en terapéutica ha sido estimulado, en parte, por el regreso a lo natural que se ha producido en forma genérica en la sociedad. Sin embargo, existen otros factores que también han jugado un papel importante (WHO, 1998):

- a. El descubrimiento de efectos adversos en fármacos de síntesis (WHO, 1998)
- b. El mejor conocimiento químico, farmacológico y clínico de las drogas vegetales y sus derivados (WHO, 1998).
- c. El desarrollo de nuevos métodos analíticos para el control de calidad (WHO, 1998).
- d. El desarrollo de las nuevas formas de preparación y administración (WHO, 1998).

Por otra parte, los productos fitoterapéuticos no son apropiados para situaciones agudas o de emergencia. Se prescriben principalmente por médicos naturistas o clínicos o son utilizados en régimen de automedicación, con frecuencia como consecuencia del consejo de profesionales sanitarios no médicos (Cañigüeral S, 2003).

Por su parte, Colombia cuenta con una gran riqueza en materia de biodiversidad, y en cada una de sus regiones se usan plantas con fines medicinales. Esto permite divisar claramente el potencial que tiene el país para el desarrollo de productos fitoterapéuticos con una amplia variedad. Sin embargo, para esto se tiene la necesidad de

implementación de agrotecnologías que eviten el extraccionismo fomentado por el afán económico, así como la implementación de una ruta productiva que abarque desde las materias primas, pasando por la caracterización química, la evaluación de la toxicidad, la actividad biológica buscada y la armonización con los conocimientos etnobotánicos de cada especie, llevando a alternativas de productos accesibles y seguros que pueden ser usados a nivel mundial (SIC, 2015).

Según el Decreto 3553 de 2004 del Ministerio de Protección Social, los productos fitoterapéuticos se clasifican en:

1. Preparaciones farmacéuticas con base en plantas medicinales: Definidas como *“el producto fitoterapéutico elaborado a partir de material de la planta medicinal, o preparados de la misma, a la cual se le ha comprobado actividad terapéutica y seguridad farmacológica y que está incluido en las normas farmacológicas colombianas vigentes. Su administración se realiza para indicaciones o uso terapéutico definido y se utiliza para la prevención, alivio, diagnóstico, tratamiento, curación o rehabilitación de la enfermedad.”* (Ministerio de la Protección Social, 2004).
2. Producto fitoterapéutico tradicional: Definido como *“aquel producto fitoterapéutico de fabricación nacional elaborado a partir de material de planta medicinal o asociaciones entre sí cultivadas en nuestro país en las formas farmacéuticas aceptadas cuya eficacia y seguridad, aún sin haber realizado estudios clínicos, se deduce de la experiencia por su uso registrado a lo largo del tiempo y en razón de su inocuidad está destinado para el alivio de manifestaciones sintomáticas de una enfermedad.”* (Ministerio de la Protección Social, 2004).
3. Producto fitoterapéutico de uso tradicional importado: Es aquel producto fitoterapéutico, elaborado a partir de una planta medicinal o asociaciones entre sí, en las formas farmacéuticas aceptadas, cuya eficacia y seguridad, aún sin haber realizado estudios clínicos, se deduce de la experiencia por su uso registrado a lo largo del tiempo y que en razón de su inocuidad, está destinado para el alivio de manifestaciones sintomáticas de una enfermedad (MPS, 2004).

2.3.1 Formas Farmacéuticas

Los productos fitoterapéuticos se presentan en diversas formas farmacéuticas, ya sea líquidas, sólidas, semisólidas, entre otras. Se describen a continuación las formas farmacéuticas objeto del presente estudio:

- **Cápsulas:** corresponden a pequeños recipientes huecos que se fabrican a través de moldeamiento de materiales elásticos y permiten la dosificación de un medicamento, conteniendo una única dosis de un principio activo o a una cantidad específica de material vegetal para el caso de los fitoterapéuticos. El material de la cápsula brinda protección contra condiciones externas y ayuda a la administración del producto, además son fácilmente digeridas lo que permite la liberación rápida del producto una vez es atacada por los jugos digestivos (INVIMA I. N., 2015; Real Farmacopea Española, 2002).
- **Tabletas:** corresponden a formas sólidas de dosificación con o sin excipientes que se obtienen, ya sea, por compresión o por moldeamiento (INVIMA I. N., 2015). Pueden ser cubiertas con diversas sustancias como resinas, gomas, gelatinas, plastificantes, ceras, etc. (Real Farmacopea Española, 2002), con el fin de proteger los ingredientes de algunos factores ambientales o enmascarar sabores u olores desagradables, para mejorar la apariencia o para controlar el sitio donde se libera la sustancia activa en el tracto gastrointestinal.
- **Grageas:** se definen como tabletas cubiertas específicamente con azúcar para proteger ingredientes fácilmente oxidables por contacto con el aire (INVIMA I. N., 2015).

2.4 Control de Calidad de Productos Fitoterapéuticos

Como ya se ha mencionado, los materiales obtenidos de plantas son usados por países desarrollados y en vía de desarrollo como medicina casera, como drogas OTC (Over the Counter) y como material crudo para la industria farmacéutica, y representan una porción sustancial del mercado global de medicamentos. Es por esto que es esencial establecer guías reconocidas internacionalmente para evaluar su calidad. La Asamblea Mundial de

Salud ha enfatizado en la necesidad de asegurar la calidad de los productos fitoterapéuticos mediante el uso de técnicas de control modernas y aplicando estándares adecuados. Teniendo en cuenta lo anterior, el manual *Métodos para el Control de Calidad de Materiales de Plantas Medicinales* de la Organización Mundial de la Salud, describe una serie de pruebas para evaluar la calidad de las plantas medicinales. Estos ensayos están diseñados principalmente para el uso en laboratorios nacionales de control de calidad de drogas en países en vía de desarrollo, y para complementar aquellos descritos en la Farmacopea Internacional (WHO, 1998).

Según lo establecido por el Decreto 3553 de 2004 del Ministerio de Protección Social en el artículo 13, los productos fitoterapéuticos deben estar sujetos a los siguiente controles de calidad, los cuales son responsabilidad del titular del registro sanitario y del fabricante:

1. Las materias primas, antes de su uso, deben someterse a un estricto control de calidad que elimine las posibles falsificaciones o alteraciones y garantice su identidad. Esto comprende:
 - 1.1 Ensayos físicos:
 - a. Características organolépticas.
 - b. Características macroscópicas.
 - c. Características microscópicas, cuando aplique.
 - d. Porcentaje de materias extrañas.
 - e. Pérdida por secado.
 - f. Límites de metales pesados.
 - 1.2 Ensayo fisicoquímico
 - a. Perfil cromatográfico o análisis fitoquímicos
 - b. Ensayos microbiológicos
2. El control de calidad del producto terminado comprende las siguientes actividades:
 - 2.1 Inspección y muestreo
 - 2.2 Verificación de las propiedades organolépticas, peso promedio o volumen promedio, según la forma farmacéutica, y homogeneidad.
 - 2.3 Ensayos fisicoquímicos: Perfil cromatográfico o análisis fitoquímicos.
 - 2.4 Control microbiológico.

Adicional a lo anterior el párrafo 3 del artículo 13 indica que: *“El Invima podrá, cuando lo estime conveniente, tomar muestras de los productos fitoterapéuticos o del material utilizado como materia prima de los mismos, para verificar su calidad.”*

En esta guía se establece que la contaminación de plantas medicinales con arsénico y metales pesados se puede atribuir a muchas causas, entre ellas la polución ambiental y las trazas de pesticidas. Para el caso del plomo y el cadmio, el método de determinación se deja al analista, no obstante, la determinación debe ser consistente y suficientemente sensible para permitir la comparación con un material de referencia (WHO, 1998).

Se especifica en esta guía que el contenido de plomo y cadmio debe ser determinado por voltametría inversa o por espectrofotometría de absorción atómica. Esta guía de la OMS recomienda niveles máximos permisibles en material seco de plantas o material crudo, los cuales están basados en los valores de consumo diario aceptable (ADI) (WHO, 1998; Street R.A., 2012):

- Plomo, 10 mg/kg
- Cadmio, 0.3 mg/kg

Aunque algunos elementos esenciales pueden ser tóxicos a niveles elevados, los límites de la OMS para estos metales aún no han sido establecidos (Street R.A., 2012).

Cabe resaltar que estos son los límites establecidos en la normativa colombiana mediante el decreto 2264 de 2004 del Ministerio de la Protección Social.

2.5 Estándares Internacionales sobre Metales Pesados en Medicinas Tradicionales

Las declaraciones sobre salud, seguridad y calidad son características clave en todo lo que respecta a los requerimientos regulatorios y estándares a nivel mundial. Sin embargo, existen diferencias muy importantes entre países sobre dichos requerimientos normativos para garantizar la seguridad y calidad de los productos a base de plantas. Ya se han establecido muchas regulaciones en todo el mundo para las plantas medicinales y los

productos herbales relacionados comercializados, como por ejemplo en la Farmacopea de Estados Unidos (US Pharmacopoeia – USP), la Farmacopea Italiana (FUI), y la Farmacopea Europea (Ph. Eur.) Además, existen algunos marcos legales a niveles nacionales y/o regionales que tienen como objetivo regular la calidad de los productos a base de plantas. Antes de 1988, únicamente 14 Estados Miembros de la OMS tenían regulaciones relacionadas con los productos de medicina herbal pero en el año 2003, este número incrementó a 53. De aquellos que contaban con leyes o regulaciones, el 49% declaró que dichas normas estaban en proceso de desarrollo. Muchos países incluyendo Canadá, China, Malasia, Singapur y Tailandia, han desarrollado sus propias guías nacionales para asegurar niveles satisfactorios de metales pesados en las plantas medicinales y los productos a base de estas (Tabla 2-1).

Tabla 2-1. Ejemplos de límites en diferentes países para metales pesados en productos medicinales a base de plantas.

País	Producto/Material	Arsénico (As)	Plomo (Pb)	Cadmio (Cd)	Cromo (Cr)	Mercurio (Hg)	Cobre (Cu)
Canadá	Materiales herbales crudos	5 ppm	10 ppm	0.3 ppm	2 ppm	0.2 ppm	
	Productos herbales terminados	0,01 mg/día	0,02 mg/día	0,06 mg/día	0,02 mg/día	0,02 mg/día	
China	Materiales herbales	2 ppm	10 ppm	1 ppm		0,5 ppm	
Malasia	Productos herbales terminados	5 mg/kg	10 mg/kg			0,5 mg/kg	
República de Corea	Materiales herbales		30 ppm				
Singapur	Productos herbales terminados	5 ppm	20 ppm			0,5 ppm	150 ppm
Tailandia	Material herbal, productos herbales terminados	4 ppm	10 ppm	0,3 ppm			
Recomendaciones OMS			10 mg/kg	0,3 mg/kg			

Nota. Tomada y adaptada de *“Heavy Metals in Medicinal Plant Products – An African Perspective”*, de Street, R., 2012, South African Journal of Botany, 82, 67-74.

2.6 Metales Pesados en Productos a Base de Plantas Medicinales

Los metales pesados de origen no antropogénico siempre están presentes en un nivel base en los suelos debido a fenómenos como la meteorización de rocas madre y la pedogénesis. Sin embargo, la concentración de muchos metales pesados se ha

incrementado de una manera drástica en algunos ecosistemas en razón a diversas actividades humanas. Frecuentemente, estos contaminantes se encuentran como cationes que interactúan fuertemente con la matriz del suelo y pueden tener movilidad de acuerdo a la variación de las condiciones ambientales. Las plantas pueden acumular estos metales pesados, dentro o sobre sus tejidos, gracias a la capacidad que tiene de tolerar iones potencialmente tóxicos que se encuentran en su medio ambiente. En este sentido, esto aumenta el potencial de elementos tóxicos de ingresar en la cadena alimenticia (Street R.A., 2012).

A pesar de que los efectos adversos de los metales pesados sobre la salud humana se conocen hace mucho tiempo, la exposición continúa e incluso se ha visto incrementada en algunas áreas. Debido a la alta prevalencia de metales pesados en el ambiente, sus residuos llegan y son asimilados por plantas con propiedades medicinales. Existen tres mecanismos clave que han sido propuestos y que permiten explicar la contaminación por este tipo de elementos en productos a base de plantas con uso médico. Estos mecanismos corresponden a: a. Contaminación durante el cultivo; b. Contaminación cruzada inadvertida durante el procesamiento y; c. Introducción intencional de metales pesados con supuestas propiedades medicinales (Street R.A., 2012).

Se han desarrollado un gran número de estudios en todo el mundo con el fin de determinar los niveles de metales pesados en plantas medicinales y productos fabricados a base de estas. Tanto en los países desarrollados como en los que se encuentran en vía de desarrollo, se han encontrado altos niveles de metales pesados potencialmente tóxicos en productos disponibles para el público. Estos productos no se obtienen únicamente de fuentes locales sino que frecuentemente son importados. Uno de estos estudios se dedicó a examinar el contenido de metales pesados en remedios a base de hierbas asiáticas, adquiridos en Estados Unidos, Vietnam y China revelando que la mayoría de los productos tenían niveles detectables de metales pesados, con cerca de un 74% con contenidos superiores a lo recomendado actualmente por las guías de salud pública (Street R.A., 2012).

La creación de un mecanismo que permita solucionar de manera efectiva la importación de medicinas tradicionales que contienen metales pesados, representa un verdadero desafío. Se espera que estos productos sean importados en pequeñas cantidades

mediante muchas rutas diferentes, incluyendo el servicio postal y con viajeros intercontinentales. Adicional a esto, el etiquetado y empaque puede ser engañoso ya que da al público una sensación de falsa seguridad sobre el producto. Como ejemplo de la problemática, en África la formalización y el registro de productos herbales no son la norma y las preparaciones frecuentemente carecen de un etiquetado apropiado relacionado con el contenido, contraindicaciones, lugar y fecha de manufactura y fecha de expiración. La recolección de las plantas medicinales generalmente se realiza de la naturaleza, lo que lleva a que las locaciones no sean divulgadas. Por lo tanto, la trazabilidad de las plantas medicinales que son vendidas en mercados tradicionales, es inexistente. Un estudio realizado en 2008 por Street et al. mostró que algunas partes de plantas medicinales cosechadas en un amplio rango de lugares no declarados por los recolectores y vendidas en mercados informales, tenían contaminación por múltiples metales. Pb y níquel (Ni) fueron detectados en todas las muestras y en algunas especies se encontraron niveles elevados de hierro (Fe) y manganeso (Mn) (Street R.A., 2012).

Teniendo en cuenta lo anterior, la única manera de asegurar la seguridad del consumidor es muestrear estas plantas de manera periódica en los mercados de medicina tradicional, sin embargo, incluso esto es difícil debido a que las plantas de la misma especie se recolectan a partir de varias fuentes y se adicionan juntas en un mismo contenedor de almacenamiento. En todo caso, es muy importante que las plantas medicinales sean examinadas para contaminación por metales, ya que son usadas como material de partida para muchos productos herbales. Un procesamiento post cosecha correcto puede contribuir a la minimización de metales en dichos materiales de partida. Un estudio realizado en el año 2000 por Abou-Arab y Abou Donia, en el cual se investigaron plantas medicinales egipcias procesadas por dos métodos diferentes para determinar el comportamiento de su contenido de metales. En general, se evidenció que hervir las plantas en agua lleva a la extracción de mayores cantidades del metal presente en la planta en comparación con sumergirla en agua caliente, sin embargo, los metales estudiados fueron transferidos desde el tejido de la planta hacia el agua usada a diferentes proporciones dependiendo del metal, la planta, y el método de extracción (Street R.A., 2012).

Un estudio realizado por Adepoju-Bello et al. en 2012 sobre la concentración de arsénico (As), Cd, Pb y Hg realizado en 20 productos herbales registrados y listos para el uso,

comprados al azar en farmacias de Lagos (Nigeria) reveló que ninguna de las muestras contenía niveles detectables de Pb; sin embargo, todas las muestras contenían cantidades detectables de uno o más de los otros metales de interés. A pesar de los estudios realizados para determinar los niveles de metales pesados en plantas medicinales africanas y los productos a base de estas, sin una guía regulatoria o métodos para hacer cumplir los límites, estos estudios simplemente ilustran el potencial que tiene esta situación de causar daño a la salud humana sin ninguna resolución.

2.7 Usos Intencionales de Metales Pesados con Propósitos Medicinales

En algunos casos, los metales pesados son un componente regular y deliberado de ciertos remedios tradicionales en todo el mundo, por lo tanto el uso del término “contaminación” refiriéndose a la presencia de estos metales en estas preparaciones, puede no ser real. En la medicina tradicional china, los metales se han usado para varios problemas de salud. Por ejemplo, el Hg hace parte de preparaciones conocidas como “cinnabaris” (sulfuro de mercurio), “calomel” (cloruro de mercurio) o “hydrargyri oxydum rubrum” (óxido de mercurio). En la medicina tradicional de India, también conocida como ayurveda, el *bhasma* (polvo calcificado/cenizas) corresponde a formulaciones herbo-minerales o herbo-metálicas. La parte de la práctica ayurveda que involucra el uso de *bhasma* se conoce como “Rasa Sastra”. El filósofo budista Nagarjuna, quien fue considerado el padre de la medicina metálica en India, usaba metales y minerales en la forma de *bhasma* como remedios. Los metales mezclados con compuestos orgánicos obtenidos de extractos de plantas los hace biocompatibles de acuerdo a las tradiciones antiguas.

Mientras algunos metales pesados han sido detectados en remedios tradicionales africanos, pocos estudios han documentado los metales disponibles comúnmente usados en la medicina tradicional africana o han investigado la razón detrás de su uso. El cromo hexavalente (Cr(VI)), un carcinógeno clase 1, es usado comúnmente en medicinas tradicionales surafricanas conocidas como *ndonya* (Street R.A., 2012), este es el nombre

coloquial que se le da a una sal de color naranja característico (Figura 2-1), que se ha identificado corresponde a dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) (Streer R.A., 2013)



Figura 2-1. Tomado de Street R.A. (2013). *Ejemplos de sales metálicas y cristalinas fácilmente disponibles en tiendas de medicamentos en Pietermaritzburg* [Fotografía]. En Street R.A., *Commonly Used Metals and Crystalline Salts in south African Traditional Medicine*, *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 148, p. 330.

Un estudio realizado por Sewram et al. en 2010, reveló que el 72% de los practicantes de la medicina tradicional prescribían medicinas que contenían *ndonya* con propósitos curativos. Otra gran parte (50%) admitieron sustituir la sal *ndonya* con sulfato de cobre si la primera no estaba disponible. El problema de la toxicidad depende del método de preparación y de la forma de administración, mientras que los efectos farmacológicos se dijo pueden ser alterados por la comida ingerida así como por la tolerancia individual. La concentración de Cr(VI) en estas preparaciones medicinales tradicionales varía considerablemente de 4 ug/L a 53 g/L (Street R.A., 2012), por lo tanto la ingesta humana de Cr(VI) puede estar dentro de 7,5 mg a 4,5 g por una única dosis, lo que indica que estos productos son una fuente de exposición extremadamente alta a Cr(VI) (Streer R.A., 2013). Estos hallazgos son motivo de preocupación y justifica la necesidad de tener conciencia sobre su toxicidad (Street R.A., 2012).

Dentro de la práctica ayurvédica también existen los *bhasmas*, que corresponden a drogas basadas en metales y son nanopartículas producidas biológicamente que se consumen con leche, mantequilla, miel o *ghee* (mantequilla clarificada), lo que hace a estos elementos fácilmente asimilables, eliminando sus efectos dañinos y mejorando su

biocompatibilidad. Involucran la conversión de un metal en sus óxidos. Durante estas transformaciones, el estado de valencia cero del metal se convierte en una forma con un estado de oxidación mayor y el aspecto más importante de esta modificación (conocida tradicionalmente como "*bhasmikarana*") es que la naturaleza tóxica del óxido resultante se destruye completamente mientras se inducen las propiedades medicinales en él. El paso importante involucrado en el procedimiento de fabricación del *bhasma* es el tratamiento repetido de un metal particular con jugos de plantas y altas temperaturas de calcinación en una olla de barro. Varios ensayos tanto físicos y químicos para la confirmación de la formación del óxido del metal se han descrito en la literatura ayurvédica antigua, y confirman que el metal se ha transformado totalmente en su forma de óxido. Sin embargo, todo esto es altamente empírico y difícilmente provee alguna información sobre la composición y las propiedades estructurales de esta mezcla de óxidos de metales. Por lo tanto, es importante que estos productos puedan ser caracterizados con la ayuda de métodos modernos (Farheen F, 2009).

2.8 Acumulación de Metales Pesados por Plantas Medicinales

Las plantas son sensibles a las condiciones ambientales y pueden acumular metales pesados en sus partes cosechables por diferentes vías como son captación a través de la raíz, por adsorción foliar y por la deposición de elementos específicos en las hojas, y la intensidad de este proceso de captación puede cambiar la composición elemental general de la planta. La posibilidad de que los metales tóxicos puedan ser translocados a los humanos y a los animales a través de hierbas o plantas medicinales que crecen en áreas contaminadas es una preocupación importante para la medicina tradicional (Behera B, 2016).

Actualmente hay un gran interés en el transporte de metales pesados a través de plantas que son tolerantes a ellos, denominadas metalofitas, debido a la importancia de esta característica en fitoremediación. El uso de plantas para remediar suelos contaminados es muy prometedor comparado con métodos convencionales. Un alto número de plantas han sido estudiadas para ser usadas en procesos de fitoremediación, sin embargo, la acumulación de metales en plantas comestibles y medicinales requiere investigación

exhaustiva para prevenir la presencia de niveles elevados de estos contaminantes que finalmente llegan al organismo del consumidor. El origen y contenido de metales pesados, así como su posible interacción con las propiedades del suelo son objetivos principales del monitoreo ambiental; esto debido al hecho de que además de la fuente de los metales, las propiedades fisicoquímicas del suelo pueden afectar también la concentración de estos. Muchos factores abióticos influyen en la disponibilidad de los metales en las plantas, incluyendo el pH, la temperatura, el potencial redox, la capacidad de intercambio catiónico y la materia orgánica. Además. Las interacciones suelo-raíz de la planta-microorganismos juegan papeles muy importantes en la regulación del movimiento de los metales desde el suelo a las partes comestibles de la planta. La acumulación de metales tanto por las raíces como por las hojas incrementa a medida que hay mayor disponibilidad de estos en el medio externo. Factores como biomasa reducida, longitud de la raíz y brotes son indicadores comunes de toxicidad por metales pesados. Cambios en las células, tejidos u órganos son resultado, ya sea, de una interacción directa entre el metal y los componentes estructurales de los sitios, o consecuencia de cambios en las señales de transducción y/o metabólicas (Street R.A., 2012).

El término “hiperacumulador” describe una especie de plata que tiene la capacidad de crecer en suelo metalíferos y acumulan niveles extremadamente altos de metales pesados, en comparación con la mayoría de especies, sin mostrar efectos fitotóxicos. Sin embargo, las hiperacumuladoras habitualmente se encuentran confinadas en suelos enriquecidos con metales como los afloramientos serpentinos y otras rocas metalíferas (Street R.A., 2012).

Un gran número de plantas medicinales tienen la capacidad de acumular metales pesados cuando crecen bajo condiciones naturales. El cultivo de estas plantas, contrario a lo que ocurre con la recolección de otro tipo de especies, debería permitir un crecimiento controlado y el monitoreo de parámetros potencialmente peligrosos. Sin embargo, muchos agroquímicos contiene metales como Cd y Pb, los cuales ingresan al suelo como impurezas de los fertilizantes, por lo que la contaminación por estos elementos generalmente se presenta por el uso repetido de fertilizantes enriquecidos con metales. Como resultado de esto, los suelos y las fuentes primarias y secundarias de agua, necesitan ser monitoreadas periódicamente mediante la instauración de Buenas Prácticas

de Agricultura y Colección (GACP por sus siglas en inglés, *Good Agricultural and collection Practice*) (Street R.A., 2012).

El ajo, *Allium sativum*, por su parte, es una de las plantas más antiguas conocidas y cultivadas. Los egipcios antiguos usaban el ajo con fines médicos en problemas del corazón, cefaleas, mordeduras, parásitos y tumores. El ajo se conoce como una fuente de gran variedad de compuestos de azufre, los cuales comparten parcialmente las rutas metabólicas con las fitoquelatinas, empleando la cisteína como un precursor básico para la síntesis de fitoquelatina, tiosulfonato y sulfóxido. Por lo tanto, la alta capacidad para la captación y el almacenamiento de metales pesados es de esperarse. La hieacumulación de cadmio por *A. sativum* ha sido reportada por diferentes autores, así como la acumulación de plomo, , la estimulación de las actividades de enzimas antioxidantes en hojas de plántulas de ajo cultivadas en presencia de cadmio, y el estrés oxidativo en ajo expuesto a plomo. También, *Xu et al.* reportó la influencia del cadmio en el contenido de malondialdehído, pigmentos fotosintéticos y fluorescencia de la clorofila en plántulas de ajo (Soudek P, 2011).

Respecto a la alcachofa, no hay disponible información relacionada con los mecanismos de captación de metales, sin embargo se considera, que su biomasa le permite acumular metales a partir del suelo y emisiones ambientales (Naser K, 2013; Nasser K, 2012).

Las Buenas Prácticas de Agricultura (BPA) son el primer paso en el aseguramiento de la calidad, de la cual dependen directamente la seguridad y eficacia de los productos a base de plantas medicinales. La elección del lugar debe basarse en un fuente de irrigación y un suelo libre de contaminantes. Hasta el momento, la Unión Europea (UE) y unos pocos países como China y Japón han desarrollado guías regionales y nacionales para GACP en relación a las plantas medicinales. Estas guías son reguladas y monitoreadas con el fin de asegurar de que se colecta y/o cultiva el material correcto de la planta y que el suelo y el agua de irrigación se encuentran dentro de los límites, o libres de metales pesados inseguros y otras sustancias toxicológicamente peligrosas. En países en vía de desarrollo, las regulaciones como las GACP son raramente implementadas y mucho menos ejecutadas (Street R.A., 2012).

2.8.1 Efecto de los metales pesados en los metabolitos secundarios de las plantas

Los elementos minerales están involucrados en la estructura de algunos metabolitos secundarios, sin embargo, también pueden tener efectos no deseados en su regulación. A pesar de esto, muy pocos estudios se han dedicado a revisar los efectos de los metales pesados en las características ultramorfológicas y los componentes activos de las plantas medicinales. Las plantas expuestas a metales pesados sufren estrés y muestran diversos grados de respuestas de sus metabolitos secundarios. Por ejemplo, el estrés por exposición a cromo (Cr) induce la producción de eugenol. De igual manera, la producción de compuestos activos como la filatina e hipofilatina, mejora con la presencia de ciertos niveles de Cd en plantas como la *Phyllanthus amarus Schum y Thonn*. Por el contrario, la contaminación del aire y el suelo a una distancia de 400 metros desde la fuente, suprime el crecimiento de *Mentha piperita L* y *Mentha arvensis var piperascens*. Asimismo el rendimiento de producción del aceite esencial se puede reducir hasta en un 14% en comparación con el control, sin que se afecten de manera negativa el contenido de este y su calidad (Street R.A., 2012).

Es claro que la estimulación de plantas medicinales inducida por metales pesados está fuertemente influenciada por muchos aspectos que incluyen la etapa de crecimiento, la concentración y duración del tratamiento, y la composición del medio de crecimiento. Por lo tanto, la optimización del suministro de nutrientes es un factor clave en la calidad de estas plantas. De igual manera se ha sugerido que algunas plantas se cultivan en suelos contaminados con el fin de obtener un mayor rendimiento de metabolitos secundarios, sin embargo esto debe depender de la parte de la planta usada como medicinal pues la seguridad del consumidor debe ser lo primero y más importante (Street R.A., 2012).

2.9 Intoxicación por Contaminación por Metales Pesados en Productos Medicinales Tradicionales

Muchos productos a base de plantas son inofensivos o poseen mínima toxicidad, sin embargo, algunos contienen ingredientes tóxicos que pueden no estar identificados o declarados en la etiqueta, debido a la falta de control de calidad. A través de los años, muchos reportes de casos y estudios han documentado que las medicinas a base de plantas pueden contener sustancias o elementos tóxicos. De manera específica, diversos

estudios han documentado que algunos productos a base de plantas contienen altas concentraciones de metales pesados, como plomo, mercurio y arsénico. En uno de dichos estudios se encontró que de 247 medicinas tradicionales de origen chino analizadas, del 5 al 15% tenían arsénico, 5% plomo y 65% mercurio (Sakharkar P, 2017).

Se ha mostrado que las plantas medicinales son, por un lado, una fuente rica de iones metálicos esenciales, y por otro una fuente peligrosa de metales no esenciales. Las intoxicaciones a partir de productos medicinales tradicionales que contienen metales pesados se encuentran bien documentadas, sus efectos tóxicos se deben a que obstaculizan la bioquímica regular del cuerpo en los procesos metabólicos normales. Por ejemplo el As, Cr y magnesio (Mg) son los más frecuentemente implicados en la morbilidad y muerte en Sur África. Una investigación del registro forense de Johannesburgo sobre un periodo de 5 años (1991 a 1995) identificó 206 casos en los cuales un remedio tradicional fue declarado como la causa de la muerte, o estaba presente en algún caso de envenenamiento por una sustancia desconocida; los metales pesados fueron responsables del 10% de dichos envenenamientos. Un estudio realizado por Steenkamp et al. en el año 2000, sobre las concentraciones de metales pesados en plantas, remedios a base de plantas y orina de pacientes tratados con estos productos tradicionales concluyó que de las 12 preparaciones investigadas, los niveles de cobre (Cu) fueron extremadamente altos en 4. Un gran número de pacientes (34%) mostró concentraciones de zinc (Zn) elevadas, de hecho en uno de los pacientes fue 10 veces el valor máximo de referencia. Después de una semana de vómito con hepatomegalia, y deshidratación, el paciente murió de falla hepática. Se reportó también el caso de un niño de 7 meses que fue hospitalizado después de la ingesta de una medicina tradicional, lo que resultó en un caso severo de intoxicación por múltiples metales (Street R.A., 2012).

Infortunadamente, en países como África, no es habitual que los productos de medicina tradicional contengan detalles como el lugar de producción o manufactura, por lo tanto no hay responsabilidad por las reacciones adversas. Así, el establecimiento de regulaciones estrictas con respecto a la clasificación y al etiquetado podrían prevenir intoxicaciones futuras (Street R.A., 2012).

Se cuenta con algunos reportes de casos de intoxicación por plomo. Por ejemplo, uno de ellos reportado en Bangalore, de un hombre de 45 años que fue ingresado en dos

ocasiones a una institución de salud debido a dolor abdominal y vómito. La historia del paciente reveló que había estado consumiendo 12 medicamentos ayurvédicos para la liberación del estrés durante los últimos 4 años. El nivel de plomo en la sangre del paciente fue de 1224 ug/L, lo cual permitió confirmar la intoxicación por el metal. Por su parte, el análisis de los 12 productos ayurvédicos reveló que el 75% de ellos contenía niveles de plomo, arsénico y mercurio en concentraciones superiores a los límites establecidos (Helal A, 2013).

Por otra parte, la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA) considera los suplementos herbales como alimentos y no como medicamentos, por lo tanto, no se someten a los mismos estándares y regulaciones de control, manufactura y etiquetado. En un estudio en el que participaron 6712 mujeres de 20 años o más, usuarias de suplementos a base de plantas, se encontró que los niveles sanguíneos de plomo de dichas usuarias eran 10% más altos que los de las no usuarias (Sakharkar P, 2017).

En China, un hombre de 66 años fue ingresado al Centro de Enfermedades Infecciosas en el Hospital del Oeste de China, por presentar dolor periumbilical después de la ingesta de comidas. Esto había estado ocurriendo por un mes, acompañado de constipación en los últimos 10 días. Los exámenes de laboratorio revelaron anemia normocítica moderada, hiperbilirrubinemia y un ligero incremento de las transaminasas. Al revisar la historia de medicación del paciente se encontró que había estado consumiendo un remedio tradicional casero para la prevención de la arterosclerosis obtenido de un practicante de medicina china. El paciente había estado tomando una dosis aproximada de 15 g/día durante 8 meses, por lo cual se realizó la determinación de metales en sangre, encontrando un nivel elevado de plomo en sangre de 657 ug/L (normal < 400 ug/L), y 127.5 ug/L en orina (normal < 70.38 ug/L). De igual manera, se realizaron los análisis de laboratorio a su esposa, quien había estado tomando la misma preparación por los últimos meses pero era asintomática, descubriendo niveles sanguíneos de 488 ug/L y urinarios de 97.1 ug/L. Los dos individuos fueron advertidos a discontinuar esta medicación y se inició quelación en el esposo, logrando el alivio del dolor periumbilical y la disminución de los niveles de plomo en sangre después de meses de tratamiento (Tang G, 2017).

En el continente asiático, un hombre de 60 años con diabetes presentó movilidad pobre y creciente confusión. Presento anemia, y después de 12 horas de admisión se mostró deteriorado con somnolencia, depresión respiratoria y convulsiones. Su nivel sanguíneo de plomo fue marcadamente elevado en 3290 ug/L. Adicionalmente se encontró que tenía polineuropatía sensorial y motora severa de las cuatro extremidades, los estudios de conexión nerviosa revelaron neuropatía periférica axonal. El paciente había estado consumiendo una medicina ayurvédica, comprada en la India para el tratamiento de la diabetes, de forma intermitente los últimos 6 a 8 años. En el análisis de las tabletas implicadas se encontró contenido de plomo del 6,8% por peso (Dargan P, 2008).

Otros cinco casos reportados en el continente asiático, en los que se presentaron síntomas diversos como anemia, dolor abdominal, letargia, entre otros, se relacionaron con el consumo de medicina tradicional con presencia de plomo (Dargan P, 2008).

Es claro que los usuarios de medicinas a base de plantas y la población general necesita aprender más a partir de la evidencia científica disponible en la literatura sobre las toxicidades asociadas con las medicinas herbales. De igual manera, la industria necesita ser regulada apropiadamente con el fin de introducir un control de calidad estricto que evite este tipo de riesgos para la salud y permita el mejoramiento de la salud pública (Sakharkar P, 2017).

2.10 Cadmio

2.10.1 Generalidades

El cadmio es un metal encontrado en la corteza terrestre en una concentración de 0.1 - 0,5 ppm, asociado con otros elementos como zinc, plomo y minerales de cobre. Es un constituyente natural del agua de mar con niveles entre 5 y 110 ng/L (1). Es un metal pesado tóxico que se puede acumular en el cuerpo humano y en el ambiente por largos periodos de tiempo (Zhang W, 2014).

El cadmio es un metal suave, blanco-azulado que es químicamente similar al zinc y al mercurio. Está presente como un componente menor en minerales de zinc, no se conocen minerales que contengan cadmio. Existe solo una excepción, la greenockita (CdS) que está estrechamente asociada con el mineral de zinc conocido como esfalerita (ZnS). El cadmio tiene muchas aplicaciones industriales. Se usa en baterías, en galvanoplastia, como barrera para controlar la fisión nuclear, para la manufactura de pigmentos, como estabilizador de plásticos, etc. En los laboratorios se usa para la preparación de puntos de quantum de seleniuro de cadmio, los cuales emiten luminiscencia después de ser excitados. El cadmio no tiene ningún rol biológico en los organismos vivos. Sin embargo, las diatomeas marinas (*Thalassiosira weissflogii*) contiene una enzima dependiente de cadmio llamada anhidrasa carbónica CDCA1, enzima que cataliza la hidratación reversible del dióxido de carbono. El cadmio ejerce la misma función del zinc en esta enzima. Parece que el cadmio está involucrado en la función de esta enzima en lugar de los iones de zinc que pueden ser reemplazados por iones cadmio (Babula P, 2012).

El cadmio es uno de los contaminantes más importantes del ambiente. Se estima que la industria del acero y la incineración de residuos, seguido de la actividad volcánica y la producción de zinc son responsables de las grandes emisiones de cadmio atmosférico. La principal fuente de contaminación de suelos y agua por cadmio, son los fertilizantes (fertilizantes de fosfato), pero también los pesticidas, fungicidas, y las aguas residuales. La contaminación del suelo y el agua por cadmio está conectada con su absorción por parte de las plantas (cultivos y vegetales) cultivadas para el consumo humano. Fumar representa una de las fuentes de exposición a cadmio más importantes para los humanos. Numerosos estudios se han enfocado en la formación de compuestos orgánicos de cadmio por parte de los organismos, los cuales son más tóxicos en comparación con las formas inorgánicas, especialmente los derivados tipo dimetil (Babula P, 2012).

La toxicidad del cadmio ha sido conocida por muchos años. La ingesta crónica de cadmio se conoce en Japón como la enfermedad Itai-Itai. En humanos, la exposición a niveles tóxicos causa daño en los riñones debido al daño tubular renal. El cadmio también puede afectar los huesos por efecto directo sobre el tejido óseo y por efecto indirecto asociado con la disfunción renal. Únicamente la enfermedad Itai-Itai está conectada con el daño de los huesos y se caracteriza por múltiples fracturas de los huesos largos en el esqueleto. La carcinogenicidad del cadmio es ampliamente discutida. Se ha propuesto como

carcinógeno de la próstata y renal, sin embargo, los datos disponibles aún son controversiales. La generación de especies reactivas de oxígeno, la interacción con proteínas, y la inducción de apoptosis por iones cadmio se han descrito en muchos estudios in vitro. La toxicidad del cadmio en las plantas incluye la inhibición de muchas enzimas generando la interrupción de procesos fisiológicos como la fotosíntesis y causando alteraciones del crecimiento (Babula P, 2012).

2.10.2 Toxicidad del Cadmio en Plantas

La contaminación ambiental por metales se extendió a medida que las actividades de minería e industriales incrementaban a finales del siglo 19 y comienzos del siglo 20. La producción minera mundial actual de Cu, Cd, Pb, y Hg es considerable. Estos contaminantes, derivados en última instancia a partir de un número creciente de diversas fuentes antropogénicas (efluentes industriales y desechos, escorrentía urbana, plantas de tratamiento de aguas residuales, actividades de navegación en botes, escorrentía de fungicidas agrícolas, vertederos domésticos, y operaciones de minería), han afectado de manera progresiva más y más diferentes ecosistemas (Benavides M, 2005).

La toxicidad de los metales y la tolerancia de las plantas es un hecho que ha sido ampliamente revisado en muchas ocasiones en los últimos 30 años. Cincuenta y tres de los 90 elementos de ocurrencia natural son metales pesados. Entre estos metales, Fe, Mo y Mn son importantes como micronutrientes, mientras que el Zn, Ni, Cu, Co, V y Cr son elementos tóxicos, con alta o baja importancia como elementos traza. Ag, As, Hg, Cd, Pb y Sb no tienen funciones conocidas como nutrientes y parecen ser más o menos tóxicos para las plantas y los microorganismos (Benavides M, 2005).

La presencia de metales pesados tanto esenciales como no esenciales en la atmósfera, suelo y agua, en cantidades excesivas, puede causar problemas serios para todos los organismos. El conocimiento de las interacciones metal-planta es importante no solo para la seguridad ambiental, sino también para reducir los riesgos asociados con la introducción de metales traza en la cadena alimenticia (Benavides M, 2005).

Con base en su solubilidad bajo condiciones fisiológicas, 17 metales pesados son considerados accesibles para las células vivas y tienen un rol significativo en

comunidades de plantas y animales dentro de varios ecosistemas. Estos metales son considerados como contaminantes ambientales importantes. Por su parte, un suelo no contaminado contiene una concentración de cadmio que va desde 0.04 a 0.32 mM, mientras que un suelo con concentraciones de cadmio en el rango de 0.32 a 1 mM es considerado como contaminado a nivel moderado. Debido a que el cadmio está presente de forma natural en todos los suelos, por lo tanto las plantas y alimentos contienen algún nivel de cadmio, y subsecuentemente todos los seres vivos, incluyendo los seres humanos, están expuestos a niveles naturales de cadmio (Jali P, 2016).

Su acumulación en el ambiente se ha convertido en una razón esencial de la contaminación ambiental y se destaca entre los metales pesados más deletéreos tanto para plantas como para animales. La investigación se ha interesado en el estudio del Cd^{2+} , pues es captado fácilmente por las raíces de la mayoría de especies de plantas y su toxicidad es 2 a 20 veces mayor que la de otros metales pesados (Jali P, 2016).

Es captado a través de varios mecanismos como la translocación, mediante la cual es transportado dentro de las plantas como complejos organometálicos, o través de la competencia en las raíces por los sitios de absorción de nutrientes minerales que tienen propiedades químicas similares. Se ha observado la disminución de metales como potasio, calcio y magnesio en los tejidos de la planta debido a los altos niveles de cadmio, principalmente en plantas de tomate, pepino, maíz y lechuga (Jali P, 2016).

El cadmio entra a las raíces y daña el sistema radicular primero. Su absorción ocurre tanto por complejos inorgánicos como $CdCl^+$, $CdCl_2$ y $CdSO_4$, como por complejos orgánicos como los complejos fitometalóforos (Jali P, 2016).

La clorosis, hojas enrolladas y retraso en el crecimiento son los síntomas principales y más fácilmente visibles de la toxicidad del cadmio en las plantas. La clorosis puede aparecer debido a la deficiencia de hierro, de fósforo o por la reducción del transporte de manganeso. La inhibición de la hierro (III) reductasa de la raíz inducida por el cadmio, lleva a la deficiencia de hierro (II), lo que afecta seriamente la fotosíntesis. Adicionalmente, el cadmio afecta la captación de minerales y agua, afectando el balance de agua en la planta, y produce alteraciones en la funcionalidad e la membrana induciendo la peroxidación lipídica, y alteraciones en el metabolismo de los cloroplastos

inhibiendo la biosíntesis de clorofila y reduciendo la actividad de las enzimas involucradas en la fijación de CO₂ (Benavides M, 2005).

También disminuye las tasas de fotosíntesis, perturba la proliferación celular, impide la respiración, reduce el transporte de electrones mitocondrial, disminuye las actividades enzimáticas e inhibe la captación de otros elementos, como el zinc y el calcio (Jiang W, 2001).

Una vez en la planta retarda varias actividades fisiológicas, morfológicas, bioquímicas y moleculares en las plantas y a altas concentraciones puede llevar a su muerte. A bajas concentraciones puede inducir la producción de proteínas de estrés y otros metabolitos secundarios que de manera indirecta ayudan a la planta a resistir el daño oxidativo causado por el cadmio (Jali P, 2016).

El estrés oxidativo es uno de los síntomas de la fitotoxicidad por metales. El balance entre especies reactivas de oxígeno (ROS) y los antioxidantes es afectado por la presencia de metales pesados. Los organismos deben movilizar sistemas de defensa para proteger las células contra su destrucción. El sistema de defensa celular consiste en compuestos no enzimáticos, como el glutatión, ácido ascórbico, tocoferol, caroteno y las enzimas antioxidantes, las cuales incluyen superóxido dismutasas, catalasas, peroxidasas, glutatión reductasas y enzimas reductoras de NADP⁺. Para prevenir el impacto negativo de los metales pesados en un organismo, las plantas desarrollan un sistema de detoxificación basado en fitoquelatinas, metalotioneinas y otros compuestos ricos en azufre. Estos sistemas también ayudan a controlar la concentración de metales pesados en las células (Soudek P, 2011).

2.10.3 Movilización, absorción y transporte del cadmio

La biodisponibilidad de algunos metales es limitada debido a la baja solubilidad en agua oxigenada y la fuerte unión a partículas del suelo. Tanto la acidificación de la rizosfera como la exudación de carboxilatos son considerados objetivos potenciales para mejorar la acumulación de metales. El grado al cual las plantas superiores son capaces de captar cadmio depende de su concentración en el suelo y su biodisponibilidad, modulada por la presencia de materia orgánica, el pH, el potencial redox, la temperatura y las

concentraciones de otros elementos. Con excepción del hierro, el cual es solubilizado tanto por la reducción a Fe (II) o por la extrusión de fitosideróforos quelantes de Fe (III), poco se sabe sobre la movilización activa de elementos traza por las raíces de las plantas. En particular, la absorción de los iones Cd parece estar en competencia por el mismo transportador transmembrana con nutrientes como el K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn, Ni. La membrana celular juega un papel importante en la homeostasis, previniendo o reduciendo la entrada a la célula. Sin embargo, los ejemplos de mecanismos de exclusión o absorción reducida en plantas superiores son limitados. El cadmio es uno de los metales más peligrosos debido a su alta movilidad y la baja concentración a la cual empiezan a aparecer sus efectos en las plantas. La vía apoplástica de la epidermis de la raíz y la corteza es fácilmente permeable a los solutos. Las paredes celulares de la capa endodérmica celular actúan como una barrera para la difusión apoplástica en el sistema vascular. En general, los solutos deben ser captados en el simplasto de la raíz antes de que puedan entrar al xilema. Posterior a la captación del metal en el simplasto de la raíz, tres procesos gobiernan el movimiento del metal desde la raíz al xilema: secuestro de los metales dentro de las células de la raíz, transporte simplástico dentro de la estela y liberación dentro del xilema. El potencial de membrana, el cual es negativo en el interior de la membrana plasmática y podría exceder -200 mV en las células epidermales de la raíz, provee una importante fuerza motriz para la captación de cationes a través de transportadores secundarios (Benavides M, 2005).

A pesar de la diferente movilidad de los iones de metales en las plantas, el contenido de metal es generalmente mayor en las raíces que en los tejidos que están sobre el suelo. En la mayoría de condiciones ambientales, el Cd ingresa primero a las raíces y por consiguiente es probable que experimenten primero el daño causado por el Cd. El Cd fácilmente penetra la raíz a través del tejido cortical y es translocado a los tejidos sobre el suelo. Tan pronto el Cd ingresa a las raíces, puede alcanzar el xilema a través de una vía apoplástica y/o simplástica, complejado por muchos ligandos, como ácidos orgánicos y/o fitoquelatinas. Normalmente, los iones de Cd son retenidos principalmente en las raíces, y únicamente pequeñas cantidades son transportadas a los brotes. En general, el contenido de Cd en plantas disminuye en el siguiente orden: raíces>tallos>hojas>frutos>semillas (Benavides M, 2005).

2.10.4 Aspectos Epidemiológicos

El cadmio es un problema epidemiológico debido a que es emitido al suelo, al agua y al aire por la minería y refinamiento de metales no ferrosos, la manufactura y aplicación de fertilizantes tipo fosfato, la combustión de combustibles fósiles, y la disposición e incineración de residuos, además se puede acumular en organismos acuáticos y en cultivos (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2012).

La media de la emisión global total del metal a partir de fuentes antropogénicas fue de 7570 toneladas en 1983, representando alrededor de la mitad de la cantidad total de cadmio producido en ese mismo año. En la escala de la Comunidad Económica Europea (CEE) y en la escala mundial, alrededor del 10-15% del total de las emisiones de cadmio transportadas por el aire provienen de procesos naturales, siendo la principal fuente la actividad volcánica (Dobson S., 1992).

Debido a sus altas tasas de transferencia suelo a planta, el cadmio es un contaminante encontrado en la mayoría de alimentos de consumo humano, lo que convierte a la dieta en la principal fuente de exposición entre las poblaciones no fumadoras y no expuestas ocupacionalmente. La acumulación de evidencia conecta la exposición ambiental a cadmio con un incremento en la incidencia de cáncer (Satarug S, 2010).

Puede viajar largas distancias desde la fuente de emisión por transporte atmosférico. Es fácilmente acumulado en muchos organismos, principalmente moluscos y crustáceos. Se encuentra a bajas concentraciones en vegetales, cereales y tubérculos. Su producción comercial inició a comienzos del siglo 20, su uso principal era el electroplateado, pero desde 1960 ha sido usado para la fabricación de baterías de níquel-cadmio, también es usado en pinturas y en la fabricación de plásticos de cloruro de polivinilo (WHO W. H., 2010).

Las operaciones de fundición y minería contaminan los medios acuáticos, y su deposición atmosférica en suelos arables excede su eliminación en muchos países, lo que lleva al aumento gradual de este contaminante en suelos y cultivos. Algunos cultivos, como el de arroz, pueden acumular grandes concentraciones de cadmio si crecen en suelos

contaminados, mientras que la exposición a través del agua no se considera importante comparada con la dieta (WHO W. H., 2010).

Por otra parte, la planta de tabaco acumula concentraciones relativamente altas de cadmio en sus hojas, por lo que se considera al tabaco una fuente de exposición importante, pudiendo exceder la exposición a través de la dieta en el caso de los fumadores pesados, pues se ha evidenciado que el uso de cigarrillo causa incrementos significativos en las concentraciones de cadmio en el riñón, considerado el principal órgano blanco para la toxicidad de este metal (WHO W. H., 2010).

2.10.5 Efectos Clínicos

Los órganos diana para el cadmio por la exposición oral son el riñón y el hueso, mientras que por la inhalación son el riñón y el pulmón. De igual manera existe evidencia que indica que el cadmio es un carcinógeno humano (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2012).

2.10.6 Cinética Ambiental

Las formas solubles del cadmio pueden migrar hacia el agua, mientras que las formas insolubles se depositan y adsorben en los sedimentos (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2012).

Generalmente, se une fuertemente a materia orgánica, lo que inmoviliza gran parte del metal. Sin embargo, también varía dependiendo de las condiciones ambientales (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2012).

2.10.7 Acumulación de cadmio en ajo

Los niveles de cadmio en la atmósfera y el suelo incrementan de forma notable como resultado de operaciones industriales como la fundición de zinc. El cadmio es un contaminante particularmente peligroso debido a su alta toxicidad y gran solubilidad en agua. A bajas concentraciones el cadmio no es tóxico para las plantas, pero a

concentraciones más altas es tóxico e inhibe de forma característica el crecimiento de las raíces y la división celular en plantas como la cebolla, el ajo y frijoles (Jiang W, 2001).

Se le ha atribuido considerable importancia a los problemas asociados con la contaminación por cadmio con el desarrollo de la industria y agricultura moderna. Sin embargo, las aproximaciones de la remediación más convencionales no proveen soluciones aceptables a la contaminación por metales tóxicos (Jiang W, 2001).

Se conoce que el ajo, una planta de cultivo con muchas raíces y alta biomasa, puede acumular cantidades considerables de cadmio. Tiene la habilidad de captar y acumular cadmio principalmente en sus raíces con concentraciones mucho menores en los bulbos y brotes. Estas diferencias en la captación por parte de la raíz y del brote puede explicarse por el hecho de que una de las funciones normales de las raíces es obtener iones selectivamente desde la solución del suelo, mientras que el tejido del brote normalmente no desempeña este rol. En estudios realizados con lechuga y lupino se confirmó que existe un componente metabólicamente activo en la captación de cadmio por parte de las raíces, sugiriendo que está involucrada una H-ATPasa (Jiang W, 2001).

Se cree que las metalotioneinas secuestran las cantidades excesivas de ciertos iones metálicos y reducen los efectos tóxicos del cadmio en las plantas. En estudios realizados en *Nicotiana rustica* var. Pavonni, las metalotioneinas y el cadmio fueron encontrados en vacuolas, lo cual sugiere que esta puede ser una forma de reducir el efecto tóxico en la planta. Por otro lado, se cree que las fitoquelatinas funcionan como agentes detoxificantes para cadmio en virtud de su capacidad de ligarlo y así evitar que reaccione con los grupos sulfhidrilo de enzimas y proteínas vitales. Se encontró en un estudio realizado por Salt et al de 1995 que la *B. juncea* puede acumular cantidades importante de cadmio con coeficientes de acumulación (concentración de cadmio en tejido de la planta seco/concentración en solución) por encima de 1100 en brotes y 6700 en raíces a concentraciones no fitotóxicas de cadmio (0.1 ug/ml), lo cual está asociado con una rápida acumulación de fitoquelatinas en la raíz, donde la mayoría del cadmio se coordina con ligandos tipo sulfuro, probablemente como complejos Cd-S₄. Las fitoquelatinas pueden ser un posible mecanismo de detoxificación para la alta resistencia del ajo al cadmio (Jiang W, 2001).

Para el caso de la alcachofa, no se encuentra literatura científica disponible que describa la acumulación de cadmio por parte de la planta. Los estudios han estado dirigidos a la investigación de su efecto protector contra la toxicidad del cadmio (daño oxidativo sobre órganos) en ratas, y que han sugerido resultados prometedores (El-Boshy M, 2017).

Por otra parte, se ha estudiado la absorción de cadmio a través de otras especies del género *Cynara* (*Cynara cardunculus*), encontrando que la concentración de cadmio disminuye en las raíces a medida que aumenta en las hojas a través del tiempo (Leonardi C, 2016).

2.11 Plomo

2.11.1 Generalidades

El plomo (Pb) y sus compuestos son conocidos como los principales contaminantes ambientales que afectan negativamente la salud humana. El plomo se acumula rápidamente en el hígado, riñón y otros órganos humanos después de ser absorbido vía intestinal. Muchos estudios han sugerido que el plomo puede inducir complicaciones indeseables en animales de laboratorio y en humanos, tales como disfunciones fisiológicas, bioquímicas, neurológicas, comportamentales y reproductivas. Asimismo, se han sugerido muchos mecanismos para describir las intoxicaciones inducidas por plomo.

2.11.2 Toxicidad del Plomo en Plantas

La exposición al Pb en las plantas causa efectos como la perturbación de la mitosis, alteración celular, disminución en la germinación de semillas, inducción de clorosis en las hojas, depresión de la tasa fotosintética, inhibición en el crecimiento de la raíz y brotes, y la inhibición y activación de procesos enzimáticos. La contaminación por plomo en suelos puede llevar a una variedad de problemas ambientales tales como la reducción de la estructura de la vegetación y la biodiversidad, contaminación de agua subterránea, y finalmente la toxicidad en humanos (Nasser K, 2012).

La sensibilidad de las plantas a los metales pesados como el plomo depende de una red interconectada de mecanismos fisiológicos y moleculares como: 1. Captación y acumulación de metales a través de la unión a exudados extracelulares y constituyentes de la pared celular; 2. Eflujo de metales pesados desde el citoplasma a compartimentos extranucleares incluyendo las vacuolas; 3. Complejación de iones de metales pesados dentro de la célula por diversas sustancias, como por ejemplo, ácidos orgánicos, aminoácidos, fitoquelatinas, y metalotioneinas; 4. Acumulación de osmolitos y osmoprotectores e inducción de enzimas antioxidantes; 5. Activación o modificación del metabolismo de las plantas que permita un adecuado funcionamiento de las rutas metabólicas y una rápida reparación de las estructuras celulares dañadas (Nasser K, 2012).

En algunos estudios se han observado rasgos fitotóxicos visibles generados por la exposición a plomo que corresponden a manchas cloróticas, lesiones necróticas, etc. (Nasser K, 2012).

2.11.3 Acumulación de Plomo en Alcachofa

La alcachofa (*Cynara scolymus L.*) es una planta herbácea perenne que pertenece a la familia Compositae (Asteraceae) que se cultiva en el área Mediterránea. Las cabezas de la alcachofa son comestibles y se usan en todo el mundo; las hojas son una medicina herbal reconocida por largo tiempo debido a sus efectos benéficos contra problemas del hígado y por su acción antioxidante. El extracto seco de la alcachofa contiene ácidos polifenólicos, flavonoides y taninos, y tiene algunas acciones farmacológicas serias como la estimulación de la metabolización del colesterol en el hígado, además se usa como diurético, tónico, depurativo e hipoglucémico (Nasser K, 2012).

La alcachofa es una planta de crecimiento rápido que produce una biomasa relativamente alta. En un clima moderado se cultiva exitosamente como planta anual a partir de semillas esparcidas directamente en el suelo o a partir de trasplantes (Nasser K, 2012).

En el estudio realizado por Nasser en 2012, se encontró que hay acumulación de Pb en las raíces y tallos de alcachofa cultivada en perlita suplementada con nitrato de plomo

($\text{Pb}[\text{NO}_3]_2$), y dichas concentraciones captadas por la planta se ven afectadas de manera significativa tanto por el contenido de Pb suministrado en el medio de crecimiento y por el tejido de la planta, y en todos los casos, la concentración de Pb en las raíces es siempre mayor que en los brotes (Nasser K, 2012).

2.11.4 Acumulación de plomo en ajo

El ajo es una especie de importancia económica en todo el mundo y es bien conocido por sus resistencia característica a diversas formas de estrés biótico y abiótico, como son los metales pesados, viral, bacteriano y oxidativo. El plomo causa un importante estrés oxidativo en las plantas, y el ajo tiene una fuerte resistencia al plomo, pero no se conoce mucho sobre los efectos de este metal de los procesos fisiológicos de las plantas de ajo (Liu D, 2008).

La captación y acumulación del plomo en las raíces, bulbos y brotes varía con la concentración disponible del metal, y se ha encontrado que la acumulación ocurre principalmente en las raíces y solo pequeñas cantidades son translocadas a los bulbos y brotes. Las concentraciones de plomo en los tejidos siguen el orden raíz > bulbo > brote, de manera general, sugiriendo que el plomo es excluido de los brotes lo que le permite a las plantas sobrevivir tanto como puedan evitar la acumulación del metal en esta parte de la planta, sin embargo, el ajo no es considerado un hiperacumulador de plomo (Liu D, 2008).

Por otra parte, se ha reportado que la captación de plomo no requiere ningún gasto de energía, y la alta acumulación puede ser atribuida a su unión a la pared celular y otros ligandos como el glutatión. A la pared celular se fija a través de componentes funcionales de la célula, como los polisacáridos. También se ha demostrado que el plomo transportado hacia las células de las raíces cruza la membrana plasmática y los canales catiónicos presentes en ella, por lo que se ha considerado que los canales de calcio son una posible ruta de transporte (Liu D, 2008).

En las raíces de diversas especies, incluyendo al ajo, las paredes celulares que son la primera barrera contra el plomo, pueden inmovilizar y acumular algunos o la mayoría de

iones plomo. Es muy importante el rol de la pared celular en la respuesta de defensa de las plantas a los metales traza, debido a su capacidad para unir cationes divalentes, lo que depende principalmente de la cantidad de polisacáridos con muchos grupos carboxilo (Fahr M, 2013).

2.12 Comercialización de Plantas Medicinales en Colombia

Se considera que Colombia es uno de los países con mayor diversidad florística, representada en gran variedad de ecosistemas (Guevara H, 2010; Instituto de investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt; Sarmiento J, 2011) como los Bosques húmedos tropicales, las sabanas llaneras y los bosques aluviales o de vegas, entre otros. Esta "megadiversidad" ecosistémica está directamente relacionada con el número de especies existentes en el territorio nacional. En Colombia se reportan aproximadamente 50.000 especies de flora, de las cuales, cerca de 6.000 poseen algún tipo de característica medicinal (Instituto de investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt).

No obstante y a pesar de este enorme potencial, en el Instituto Nacional de Vigilancia de Alimentos y Medicamentos - INVIMA, se tiene un registro de tan sólo 95 especies aprobadas para uso medicinal, de las cuales únicamente 11 son nativas (Instituto de investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt)

Según algunas investigaciones, de 100 a 243 especies medicinales y aromáticas son vendidas en las plazas de mercado de la ciudad de Bogotá; de ellas, entre un 50 y 60% corresponde a especies nativas (no se tiene conocimiento sobre si son silvestres o cultivadas), mientras que entre el 20 y el 40% son naturalizadas (Instituto de investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt).

En la *Encuesta Nacional de Plantas Medicinales y Aromáticas* realizada por el Instituto Alexander von Humboldt en el año 2001, distribuida a noventa (90) laboratorios naturistas del país, de los cuales respondieron catorce (14), se realizó la siguiente pregunta: "Con

base en su experiencia y criterio, ¿Cuáles son las plantas medicinales con mayor volumen de comercialización en el mercado nacional?. Según las respuestas dadas por los 14 laboratorios, en total, son 26 las plantas medicinales y aromáticas que presentan el mayor volumen de comercialización a nivel nacional según estiman los laboratorios naturistas productores. Dichas plantas se muestran en la tabla 2-2 (Instituto de investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt).

Tabla 2-2. Especies de plantas medicinales comercializadas en Colombia y su frecuencia de comercialización.

Especie	Frecuencia Absoluta	Frecuencia Relativa (%)	Especie	Frecuencia Absoluta	Frecuencia Relativa (%)
Ajenjo	1	3,8	Limoncillo	1	3,8
Ajo	4	15,4	Manzanilla	2	7,7
Alcachofa	6	23,1	Marrubio	1	3,8
Berenjena	1	3,8	Ortiga	3	11,5
Boldo	1	3,8	Prontoalivio	1	3,8
Caléndula	7	26,9	Sábila	1	3,8
Chuchuguaza	1	3,8	Toronjil	1	3,8
Cidrón	2	7,7	Totumo	3	11,5
Cola de caballo	1	3,8	Uña de gato	2	7,7
Diente de León	3	11,5	Valeriana	5	19,2
Eucalipto	1	3,8	Yerbabuena	1	3,8
Gingko biloba	1	3,8	Zarzaparrilla	2	7,7
Ginseng	1	3,8			

Nota. Tomada de *Informe Técnico. Caracterización del Mercado Colombiano de Plantas Medicinales y Aromáticas*, de Díaz, J.A, 2003, Instituto Alexander von Humboldt.

Para el año 2000, con base en los datos del INVIMA, hay un total de 67 laboratorios registrados como productores de "productos con base en recursos naturales" de los cuales 35 tienen registros sanitarios exclusivamente para recursos naturales. Así, cerca del 50% de los laboratorios tendrán que parar toda actividad por cuanto según la reglamentación, se considerarían productos fraudulentos (Rivera A, 2000).

2.13 Características Generales de las Plantas Seleccionadas

2.13.1 Ajo (*Allium sativum* L.)

Pertenciente a la familia de las Liliáceas, el ajo es una planta herbácea que puede alcanzar la altura aproximada de 70 cm. Se cultiva de forma habitual en los huertos porque se emplea mucho en la preparación y el condimento de numerosos platos. La planta está provista de un bulbo muy prolífico. Las flores, agrupadas en umbelas, son de color blanco verdoso; la floración se produce en junio y julio. El ajo tiene un sabor fuerte (Cecchini T, 2008)

Partes utilizadas: El bulbo turgente y bien maduro (Cecchini T, 2008).

Principios activos: El aceite esencial contiene bisulfuro de alilo, alilopropilo, alicina (sustancia de acción antibiótica), garlicina (antibiótica), alihina, vitaminas A, B y C, azúcares, fitosteroles, lípidos, mucílagos (Cecchini T, 2008).

Propiedades: Además de dar sabor a los alimentos, el ajo se ha usado siempre y se usa aún, para tratar diversos trastornos como la hipertensión, la hipercolesterolemia y las infecciones (es un potente antiséptico y aumenta la resistencia del organismo a las infecciones); además, ayuda a eliminar los radicales libres (estimula la producción de la enzima glutatión peroxidasa), trata las afecciones pulmonares (el aceite esencial se elimina sobre todo a través del aparato respiratorio, ejerciendo una acción antiséptica y balsámica), fluidifica la sangre (con función contra la agregación de plaquetas) y es útil contra las lombrices y los callos. Su consumo está recomendado por la Organización Mundial de la Salud. En cambio, deben tener cuidado las madres que amamantan (se modifica el sabor de la leche) y quienes están en tratamiento con otros anticoagulantes, porque su uso puede causar sangrado (Cecchini T, 2008).

Es una de las plantas que fue seriamente investigada por muchos años y usada por siglos para combatir enfermedades infecciosas. Su posición taxonómica y la de géneros relacionados ha sido motivo de controversia por mucho tiempo. El esquema de clasificación más reciente es clase Liliopsida, subclase Liliidae, superorden Liliianaes,

orden Amaryllidales, familia Alliaceae, subfamilia Allioideae, tribu Allieae y género Allium, el cual está basado principalmente en las secuencias del ADN ribosomal nuclear (Gebreyohannes G, 2013).

Los primeros egipcios usaban el ajo para tratar la diarrea y su poder medicinal fue descrito en las paredes de templos antiguos y en los papiros que datan del año 1500 A.C. Fue usado por los médicos griegos Hipócrates y Galeno para tratar enfermedades intestinales y extraintestinales; los chinos y japoneses antiguos lo usaban para tratar el dolor de cabeza, la gripe, el dolor de garganta y la fiebre. En África, particularmente en Nigeria, es usado para tratar el malestar abdominal, diarrea, otitis media e infecciones del tracto respiratorio. En Europa e India fue usado para tratar los resfriados comunes, la fiebre de heno y el asma. Incluso, es llamado la penicilina rusa por su uso generalizado como agente antimicrobiano tópico y sistémico; es usado comúnmente en muchas culturas por su reputación de poder curativo (Gebreyohannes G, 2013).

Constituyentes químicos potencialmente activos del ajo

El ajo contiene al menos 33 compuestos de azufre, diversas enzimas y minerales como el germanio, calcio, cobre, hierro, potasio, magnesio, selenio y zinc; vitaminas A, B1 y C, fibra y agua. También contiene varios aminoácidos: lisina, histidina, arginina, ácido aspártico, treonina, glutamina, prolina, glicina, alanina, cisteína, valina, metionina, isoleucina, leucina, triptófano y fenilalanina. Tiene una concentración más alta de compuesto de azufre que otras especies del género Allium, los cuales son responsables tanto de del olor picante del ajo y de muchos de sus efectos medicinales. Uno de los compuestos con mayor actividad biológica en el ajo es la alicina (tiosulfonato de dialilo o disulfuro de dialilo). Por su parte, el compuesto de azufre más abundante es la aliína (sulfóxido de S-alilcisteína); estos dos compuestos están presente en cantidades de 10 y 30 mg/g en ajo seco fresco, respectivamente (Gebreyohannes G, 2013).

Aunque la alicina es considerada el principal antioxidante y compuesto de barrido, algunos estudios recientes han mostrado que existen otros compuestos con funciones más importantes, como algunas sustancias polares de origen fenólico o esterooidal, los cuales confieren diversas propiedades farmacológicas sin olor, y son termoestables (Gebreyohannes G, 2013).

Rol del Ajo en la Salud

El ajo puede llamarse una de las plantas maravillosas de la naturaleza con poder curativo. Puede inhibir y matar bacterias, hongos, reducir la presión sanguínea, el colesterol y el azúcar en la sangre, prevenir la coagulación de la sangre, y además tiene propiedades antitumorales. También puede estimular el sistema inmune para combatir enfermedades potenciales y mantener la salud. Tiene la habilidad de estimular el sistema linfático lo que acelera la remoción de productos de desecho del cuerpo. Adicionalmente, es considerado un antioxidante efectivo que protege las células contra el daño generado por radicales libres. Puede ayudar a prevenir algunas formas de cáncer, enfermedad cardíaca, accidentes cerebrovasculares e infecciones virales. Cuenta con alrededor de doscientos compuestos químicos que tienen la capacidad de proteger el cuerpo humano de una amplia variedad de enfermedades. Los compuestos de azufre con los que cuenta, brindan protección al cuerpo humano a través de la estimulación de la producción de algunas enzimas benéficas (Gebreyohannes G, 2013).

- Tratamiento de Enfermedades Cardiovasculares

El papel del ajo en la enfermedad coronaria fue evidenciado en conejos, se encontró que incluso los depósitos arteroescleróticos y las lesiones podían ser reversadas con un consumo permanente de ajo. Se ha reportado ampliamente que permite eliminar los oxidantes, incrementando la superóxido dismutasa, la catalasa, la glutatión peroxidasa, los niveles de glutatión, además inhibe la peroxidación lipídica y reduce la síntesis de colesterol mediante la inhibición de la 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA. Se ha mostrado que reduce la agregación plaquetaria, la formación de placa arterial, disminuye la homocisteína, la presión sanguínea, e incrementa la microcirculación (Gebreyohannes G, 2013).

Puede ayudar a la prevención el deterioro cognitivo mediante la protección de las neuronas de procesos de neurotoxicidad y apoptosis, de este modo, evitando la isquemia o la muerte neuronal relacionada con reperusión y mejorando el aprendizaje y la retención de memoria (Gebreyohannes G, 2013).

- Reducción de la Presión Sanguínea/Hipertensión

El ajo es, probablemente, la terapia complementaria más popularizada para el control de la presión sanguínea. Estudios recientes han demostrado, a través de estudios *in vitro*, que la capacidad vasoactiva de los compuestos de azufre presentes en el ajo, hace que los eritrocitos conviertan los polisulfuros orgánicos en sulfuro de hidrógeno, una molécula endógena conocida de señalización celular vascular cardio-protectora. El uso de una tableta de ajo de 2400 mg que contiene 31.2 mg de alicina reduce la presión diastólica en 16 mmHg después de 5 horas de la administración. Un metaanálisis realizado sobre datos almacenados de 415 pacientes mostró también la reducción de la presión diastólica en 7.7 mmHg (Gebreyohannes G, 2013).

- Anticoagulante

Los constituyentes del ajo pueden reducir la formación de fibrina y asimismo ayudan a reducir la fibrina existente en la sangre, incluso más que la aspirina. El ajoeno, un compuesto de azufre presente en el ajo parece ser responsable de su efecto anticoagulante, pero esta molécula solo es viable a temperatura ambiente o por debajo de esta, no está presente en el ajo crudo o liofilizado (Gebreyohannes G, 2013).

Cifras de comercialización del ajo

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, en el año 2015 el cultivo mundial de ajo (*Allium sativum L.*) alcanzó alrededor de 25 millones de toneladas y 17 toneladas/hectárea, en producción y rendimientos, respectivamente. Su uso no solo se extiende a la culinaria, también ha ido ganando espacio en la medicina alternativa o tradicional, y como insecticida o alelopático para la agricultura biológica. En 2007 se sembraron 375 hectáreas, estimándose una producción de 4.300 toneladas y rendimientos de 11,5 toneladas/hectárea (Prato-Sarmiento A, 2016).

En Colombia, existe desconocimiento en los rendimientos y precios de venta para los cultivares sembrados. Esta incertidumbre dificulta la toma de decisiones de comercialización, con especial atención a la masiva y económica producción de ajo

proveniente de China que inunda los mercados mundiales y amenaza el sector nacional. La importación de ajo peruano en Colombia, tanto para consumo en fresco como para la utilización de la semilla de propagación asexual (dientes de ajo), se ha venido incrementando fuertemente en los últimos años. Para el primer semestre de 2010, respecto al mismo periodo de 2009, las exportaciones de ajo a Colombia crecieron un 182%, convirtiéndose en uno de sus principales destinos. En el periodo 2012-2014, el precio promedio de ajo fresco para la venta hacia Colombia se ha mantenido alrededor de los US\$0,35/kg, con tendencia a la baja (Prato-Sarmiento A, 2016).

En Colombia, se procesa el bulbo del ajo en una cantidad promedio por laboratorio de 28.78 kilogramos al mes, con precios que varían entre los \$1.500/kg (fresco) y los \$6.000/kg (pulverizado). Por otra parte, 17 laboratorios (68%) emplean diente de león (*Taraxacum officinale*) y ajo (*Allium sativum*) como materia prima para la elaboración de sus productos (Diaz J.A, 2003).

2.13.2 *Cynara scolymus* (Alcachofa)

Planta de la familia de las Compuestas. El tallo es alto, recto, acanalado; las hojas, lobuladas y espinosas, tienen el haz de color verde oscuro y el envés blanquecino. Las ramas terminan con grandes cabezuelas carnosas compuestas de brácteas que constituyen el fruto comestible. La alcachofa no solo se aprecia como alimento, sino también por sus virtudes terapéuticas, ya que regula la renovación y las funciones del hígado y, dado que contiene mucho hierro, es muy valiosa para todas las personas que sufren de anemia y raquitismo (Cecchini T, 2008).

Partes utilizadas: Hojas y raíces (Cecchini T, 2008).

Principios activos: Cinarina (dépsido, diéster cafeico del ácido quinónico), ácido 1,3 dicafenilquinico, flavonoides, éter-óxidos de luteol, cinarosido, escolimosido, mucílagos, sales de potasio, sales de magnesio, hierro orgánico, vitaminas A, B y C, ácido pantoténico, proteínas, ácido glicólico, glicérico, glucósidos, taninos, inulina (Cecchini T, 2008).

Propiedades: Aperitivas, digestivas, diuréticas, depurativas, hipocolesterolemiantes, hipoglucemiantes, contra las hiperlipidemias y las hipertrigliceridemias, antiarterioscleróticas, antibacterianas, coleréticas, protectoras y curativas del hígado (Cecchini T, 2008).

Es una planta perenne de la familia Compositae que crece hasta 1.5-2 m de altura. Las flores se desarrollan en una cabeza grande a partir de un brote o botón comestible de aproximadamente 8-15 cm de diámetro con una gran cantidad de escalas triangulares. Los extractos de la cabeza y las hojas han sido usados por mucho tiempo en la medicina popular por su actividad colerética y hepatoprotectora, principalmente para mejorar la función hepática y para tratar enfermedades crónicas del hígado y de la vesícula biliar, ictericia, hepatitis, arterioesclerosis y síntomas de diabetes; estas actividades están usualmente relacionadas con el contenido de cinarina. Estas propiedades terapéuticas también se le atribuyen a los ácidos mono y dicafoilquínicos. Las hojas de alcachofa contienen hasta un 2% de ácidos fenólicos, principalmente ácido clorogénico, cinarina, y ácido cafeico; 0.4% de lactonas sesquiterpénicas amargas de las cuales del 47-83% son cinaropicrina y groseimina; 0.1-1% de flavonoides como la luteolina incluyendo los glicósidos como luteolina-7-orutinosido (escolimosida), luteolina-7-O- β -glucopiranosido (cinarosida), apigenina-7-O-ritunosido, cinarasaponinas e inulina. Algunas investigaciones realizadas sobre el extracto de las hojas de la alcachofa han mostrado actividad antioxidante, antibacterial, anti-VIH, sobre la expulsión de bilis, hepatoprotectora, urinaria y colerética, así como la habilidad para inhibir la biosíntesis de colesterol y la oxidación de LDL. A pesar de que el extracto ha sido usado con fines medicinales por muchos años, no ha sido estudiado ampliamente como agente antimicrobiano (Tsevegsuren N, 2014).

La alcachofa puede ser consumida como vegetal fresco, enlatado o congelado. Históricamente, esta planta se ha usado en medicina popular desde época romanas, por los beneficios que trae a la salud los cuales se deben principalmente al alto contenido de polifenoles e inulina. Estas sustancias son muy importantes para la nutrición humana debido a que están involucradas en la prevención del cáncer. Dentro de las plantas de consumo común, se considera como la mayor fuente de antioxidantes en la dieta, por lo se usa en aplicaciones fitofarmacéuticas (Tsevegsuren N, 2014).

Cifras de comercialización de alcachofa

La alcachofa puede alcanzar densidades de siembra hasta de 9.000 plantas/hectárea. Los rendimientos que alcanza esta hortaliza es de 12-18 toneladas/hectárea, siendo la Cuenca Mediterránea la genera el 90% de la producción mundial. Algunos países, como Italia, Francia y España, donde su producción y consumo es tradicional, producen el 80%. Italia produjo para el 2002, 470.225 toneladas de alcachofa. España es el segundo productor mundial después de Italia con aproximadamente el 30% de la producción y el primer exportador, realizando el 50-60% de las exportaciones (Valderrama M, 2014).

Su producción también es importante en oriente medio, América y China. En el 2008 se cultivaron a nivel mundial aproximadamente 126.429 hectáreas con una producción de 1'386.848 toneladas. En América del Sur se destacan como productores Perú, Argentina y Chile, aunque también se produce en Colombia y Ecuador (Castellanos L, 2016).

En nuestro país el área sembrada es escasa, en el 2006 fue de 44 hectáreas con un producción total de 161 toneladas, los cultivos son pequeños y se encuentran ubicados en Cundinamarca, Boyacá y Antioquia. La mayoría de la producción se destina a mercados locales como centros de acopio y almacenes de cadena, sin embargo no hay disponibles datos de consumo a nivel nacional (Castellanos L, 2016).

2.14 Método Analítico: Espectrofotometría de Absorción Atómica con Horno de Grafito

2.14.1 Fundamento

La absorción atómica se basa en la absorción de luz por parte de un elemento en estado atómico. La longitud de onda a la cual la luz es absorbida es específica de cada elemento. Se mide la atenuación de la intensidad de la luz como resultado de la absorción, siendo la cantidad de radiación absorbida proporcional a la cantidad de átomos del elemento

presente. La técnica de horno de grafito permite bajar los límites de detección al rango de partes por billón (ppb) o ug/kg (Mañay N, 2009).

El atomizador de horno de grafito, también llamado atomizador electrotérmico utiliza un tubo hecho de grafito, y el horno de calentamiento provee la energía térmica para romper los enlaces químicos dentro de la muestra produciendo átomos libres en estado basal del analito (Simulab, s.f.).

El método involucra fundamentalmente dos procesos: la atomización de la muestra y la absorción de radiación proveniente de una fuente por los átomos libres. El tratamiento de la muestra hasta la atomización comprende las siguientes etapas:

- Secado: Una vez que la muestra ha sido inyectada en el tubo de grafito, se calienta a una temperatura algo inferior al punto de ebullición del solvente (usualmente entre 80 a 180 °C). En esta etapa se logra la evaporación del solvente y los componentes volátiles de la matriz (Mañay N, 2009).
- Calcinado: Se incrementa la temperatura para remover la mayor cantidad de material (materia orgánica) de la muestra como sea posible, sin pérdida del analito. La temperatura de calcinación usada varía típicamente en el rango de 350 a 1600 °C. Durante el calcinado, el material sólido es descompuesto mientras que los materiales refractarios, como por ejemplo los óxidos, permanecen inalterados (Mañay N, 2009).
- Atomización: En esta etapa, el horno es calentado rápidamente a altas temperaturas (1800-2800 °C) para vaporizar los residuos del paso de calcinado. Este proceso lleva a la creación de átomos libres en el camino óptico. Se mide la absorbancia durante este paso. La temperatura de atomización depende de la volatilidad del elemento. Cuanto mejor sea la separación de los elementos concomitantes del analito, mejor será la atomización y la determinación estará mas libre de interferencias (Mañay N, 2009).
- Limpieza: Se calienta el horno a una temperatura algo superior a la temperatura de atomización (Mañay N, 2009).

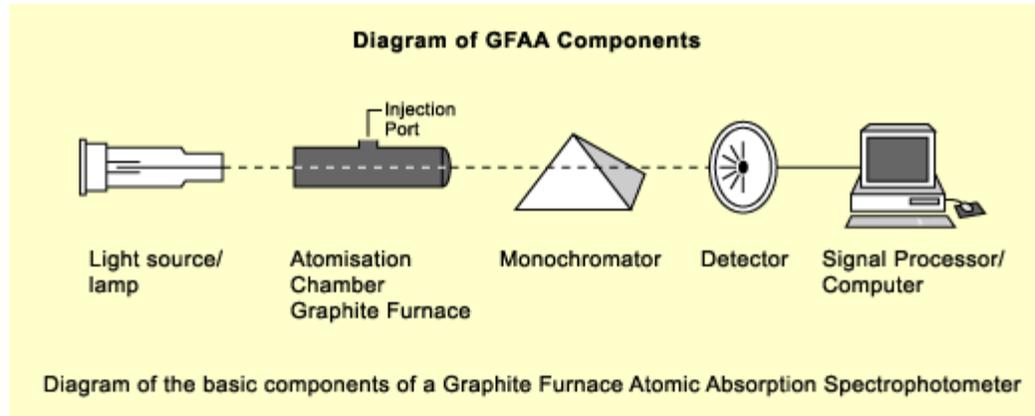


Figura 2-2. Diagrama de los componentes básicos de un Espectrofotómetro de Absorción Atómica. Tomado de:
<http://simulab.ltt.com.au/5/Laboratory/StudyNotes/snGrapFurnAtom.htm>

2.14.2. Digestión Ácida

La mayoría de los procedimientos adoptados involucran la obtención de cenizas secas o la digestión húmeda usando ácido nítrico solo o en combinación con ácido perclórico o peróxido de hidrógeno (Gajalakshmi S, 2012).

El análisis de metales pesados en la mayoría de matrices orgánicas, requiere de una parcial o total disolución de la muestra previo al análisis instrumental, en donde la instrumentación está fundamentalmente dedicada al análisis de muestras líquidas; tal es el caso en la determinación de mercurio mediante el análisis de su vapor frío por espectrofotometría de absorción atómica y la determinación de plomo mediante la espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito. Para esto es necesario que la muestra se encuentre en forma líquida, con un contenido limitado de sólidos disueltos; por lo tanto, en el caso de tejidos y otras muestras biológicas (matrices orgánicas) se requiere una etapa de mineralización previa, convirtiendo la materia orgánica en dióxido de carbono, óxido de nitrógeno y agua, seguida de una dilución. Para llevar a cabo dicha mineralización se realizan procesos de digestión que pueden ocurrir en sistemas abiertos y cerrados (Luna J, 2010).

Los tratamientos de digestión convencionales, generalmente corresponden a calentamiento en medio ácido por períodos bastante largos; este proceso se lleva a cabo

con ácidos minerales concentrados, los que actúan más rápidamente a temperaturas y presiones elevadas aunque requieren supervisión constante (Luna J, 2010).

En la descomposición de la muestra para la determinación de los elementos totales, la mayoría de los métodos de digestión húmeda necesitan de reactivos que destruyan la materia orgánica; el ácido nítrico es el más utilizado como oxidante primario, además comúnmente es utilizado con peróxido de hidrogeno para una oxidación más eficiente, debido a que el peróxido de hidrogeno refuerza el poder de oxidación y disminuye los residuos sólidos y el contenido de carbón residual (Luna J, 2010).

2.15 Muestreo Estratificado

El muestreo estratificado es un diseño de muestreo probabilístico en el que se divide la población en subgrupos o estratos. La estratificación puede basarse en una amplia variedad de atributos o características de la población como edad, género, nivel socioeconómico, ocupación, etc (Universidad de Extremadura, s.f.).

Se considera una población heterogénea con N unidades, en la que se subdivide en L subpoblaciones denominadas estratos, lo más homogéneas posible no solapadas, atendiendo a criterios que puedan ser importantes para el estudio, de tamaños N_1, N_2, \dots, N_L , donde:

$$N_1 + N_2 + \dots + N_L = N$$

donde N es el total de individuos de la población. La muestra estratificada de n tamaño se obtiene seleccionando una muestra aleatoria simple de tamaño n_h ($h=1,2,\dots, L$) de cada uno de los estratos en los que se subdivide la población de forma independiente (Universidad de Extremadura, s.f.).

De igual modo,

$$n_1 + n_2 + \dots + n_L = n$$

donde n es el tamaño de la muestra que se quiere seleccionar.

Este muestreo se utiliza cuando la población de estudio es muy heterogénea ya que se necesitaría de un gran esfuerzo muestral para obtener cierta precisión mientras que si la población está dividida en grupos, bloques o estratos que sean internamente homogéneos, el esfuerzo en cada grupo será mínimo resultando globalmente un esfuerzo menor (Universidad de Extremadura, s.f.).

Las razones para el uso del muestreo estratificado son las siguientes:

- El muestreo estratificado puede aportar información más precisa de algunas subpoblaciones que varían bastante en tamaño y propiedades entre sí, pero que son homogéneas dentro de sí. Los estratos deberían en lo posible estar constituidos por unidades homogéneas.
- El uso adecuado del muestro estratificado puede generar ganancia en precisión, pues al dividir una población heterogénea en estratos homogéneos, el muestreo en estos estratos tiene poco error debido precisamente a la homogeneidad.
- Motivaciones de tipo geográfico ya que se requieren estimaciones para ciertas áreas o regiones geográficas (Universidad de Extremadura, s.f.).

3. Metodología

3.1 Metodología para la Recolección de Muestras

3.1.1 Tipo de estudio

El estudio se define como descriptivo de corte transversal, teniendo en cuenta que la recolección de las muestras y el análisis de plomo y cadmio se realizó en un periodo de tiempo definido. Las muestras fueron recolectadas en las localidades de Bogotá, de acuerdo a la información registrada en la base de datos de tiendas naturistas vigiladas por la Secretaría Distrital de Salud, por la línea de Medicamentos Seguros del área de Vigilancia en Salud Pública, versión 2017.

3.1.2 Definición de las variables

Para el estudio se definieron las siguientes variables:

Planta medicinal: Corresponde a la planta a base de la cual se prepara el producto fitoterapéutico (ajo y alcachofa); se define como variable cualitativa nominal.

Niveles de plomo y cadmio: Corresponde al nivel de plomo y cadmio encontrado en cada producto posterior al análisis por Espectrofotometría de Absorción Atómica; se define como variable cuantitativa continua con unidades de medida de miligramos por kilogramo de producto (mg/kg).

Localidad: Corresponde a la zona dentro de la cual se recolectó la muestra; se define como variable cualitativa nominal.

Forma farmacéutica: Corresponde a la forma de dosificación de la planta (cápsula, tableta, etc.); se define como variable cualitativa nominal.

Laboratorio productor: Corresponde al laboratorio declarado en la etiqueta como fabricante o distribuidor del producto fitoterapéutico; se define como variable cualitativa nominal.

Cabe resaltar que se tuvieron en cuenta los productos con forma farmacéutica sólida (tabletas y cápsulas), correspondientes en su mayoría a preparaciones realizadas a partir de la planta seca y triturada, o pulverizada y comprimida, representando mejor los niveles de los metales buscados en la planta base como materia prima, al considerarse esta como la fuente principal del contaminante en el producto final. No se tuvieron en cuenta las formas farmacéuticas líquidas, debido a que a partir de la extracción con los solventes, se puede diluir el metal de interés en el producto final.

3.1.3 Definición del Tamaño de Muestra

Teniendo en cuenta que el presente estudio es exploratorio ya que no se cuenta con información sobre la presencia de metales pesados en plantas medicinales ni en productos a base de estas en el país, se definió el número de muestras a recolectar a conveniencia, adicionalmente por los recursos disponibles en el laboratorio destinado a los procesos analíticos y las limitaciones en el presupuesto, debido a que la parte operativa fue lograda mediante autofinanciación. En este sentido se estableció un número total de 80 pares de productos, donde la unidad muestral corresponde a dos productos: uno a base de alcachofa y uno a base de ajo (160 muestras).

3.1.4 Definición de las Bases de Datos para Localizar Potenciales Comercializadores de los Productos Seleccionados

Para la recolección de productos fitoterapéuticos a base de ajo y alcachofa a nivel de Bogotá, se requirió conocer el número y la distribución de establecimientos que dentro de sus actividades comercializaran productos fitoterapéuticos, específicamente las denominadas tiendas naturistas. Para esto se consultó la base de datos de tiendas naturistas vigiladas por la Secretaría Distrital de Salud (SDS), por la línea de

Medicamentos Seguros del área de Vigilancia en Salud Pública, versión 2017, para cuya consulta se contó con la autorización de la línea de acción.

A partir del censo de tiendas naturistas 2015 a Junio de 2017 de la SDS, se planteó la realización de un muestreo estratificado por las localidades de Bogotá para la recolección de los productos fitoterapéuticos de interés con registro sanitario Invima comercializados en dichas tiendas. Se tuvieron en cuenta los productos con forma farmacéutica sólida (cápsulas y tabletas) que se administran por vía oral, debido al riesgo que representan para la salud, en el caso de que contaran con niveles importantes de plomo y cadmio. Se limitó la recolección a formas farmacéuticas sólidas debido a que en ellas se encuentra, en la mayoría de los casos, la planta pulverizada, ya sea comprimida o encapsulada, siendo esto más diciente sobre la contaminación del material vegetal base del producto, mientras que las formas líquidas generalmente se tratan de extractos del o los compuestos activos de la planta.

En muchos casos, no la planta medicinal como tal es consumida, sino el extracto de ella. Este es el caso, especialmente, de los tés herbales, que son preparados como infusión o por decocción usando agua caliente o hirviendo como medio de extracción. Por lo tanto, surge la pregunta sobre qué proporción de elementos metálicos, presentes originalmente en la planta, se recuperan en la preparación específica. La transferencia del metal desde la planta al medio de infusión o extracción depende de varios factores; existe una clara dependencia entre el metal considerado, la especie de la planta y la parte de esta. El tamaño de partícula, es decir qué tan fino es cortado o pulverizado en material vegetal, puede ser un factor importante. La extracción de varios elementos pueden incrementar o disminuir incluso con el tiempo de infusión. Para el caso del plomo y cadmio, se ha evidenciado que a través de infusiones de diversas plantas medicinales se puede recuperar un 6-35% y un 9-16%, respectivamente (Chizzola R, 2012).

El muestreo estratificado se llevó a cabo por localidad, teniendo en cuenta el número de tiendas naturistas en cada uno de estos sectores geográficos. En el censo distrital de tiendas naturistas versión 2017 se registró un total de 1027 tiendas naturistas en toda la ciudad; para realizar el muestreo por localidad, se determinó el número de tiendas por cada localidad y el porcentaje que cada una representa del total. La información se consigna en la siguiente tabla:

Tabla 3-1. Número de tiendas naturistas censadas por localidad en Bogotá, según base de datos de la SDS versión 2017.

Localidad	Número de Tiendas	
	Naturistas	Porcentaje de Tiendas (%)
Usaquén	86	8,37
Chapinero	60	5,84
Santa Fe	96	9,35
San Cristóbal	37	3,60
Usme	21	2,04
Tunjuelito	33	3,21
Bosa	52	5,06
Kennedy	130	12,66
Fontibón	50	4,87
Engativá	67	6,52
Suba	115	11,20
Barrios Unidos	33	3,21
Teusaquillo	42	4,09
Mártires	17	1,66
Antonio Nariño	31	3,02
Puente Aranda	65	6,33
Candelaria	10	0,97
Rafael Uribe	36	3,51
Ciudad Bolívar	46	4,48
Total	1027	100,00

A partir de la información del porcentaje de tiendas naturistas por localidad (cada una representa un estrato para el muestreo) y al número total de muestras establecido (80), se definió el número de muestras a recolectar en cada sector, de acuerdo a la contribución porcentual de cada una de las localidades, siguiendo la siguiente operación matemática:

Por ejemplo, la localidad de Usaquén cuenta con un total de 86 tiendas naturistas censadas según lo registrado en la base de datos consultada, este número representa el 8.37% del total de establecimientos (1027). Teniendo en cuenta que el número total de muestras a recolectar corresponde a 80, se realiza el siguiente cálculo:

$$Muestras Localidad = 80 \times \frac{\% Tiendas Localidad}{100}$$

Así, en el caso de Usaquén, el cálculo se realizó como se indica a continuación:

$$\text{Muestras Usaquén} = 80 \times \frac{8.37}{100} = 6.69 \sim 7$$

De la misma manera, se calculó el número de muestras a recolectar por cada localidad. Los datos se consignan en la siguiente tabla:

Tabla 3-2. Distribución del número de muestras a recolectar por cada localidad.

Localidad	Porcentaje (%)	Número de Muestras
Usaquén	8,37	7
Chapinero	5,84	5
Santa Fe	9,35	7
San Cristóbal	3,60	3
Usme	2,04	2
Tunjuelito	3,21	3
Bosa	5,06	4
Kennedy	12,66	10
Fontibón	4,87	4
Engativá	6,52	5
Suba	11,20	9
Barrios Unidos	3,21	3
Teusaquillo	4,09	3
Mártires	1,66	1
Antonio Nariño	3,02	2
Puente Aranda	6,33	5
Candelaria	0,97	1
Rafael Uribe	3,51	3
Ciudad Bolívar	4,48	4
Total	100,00	80

De acuerdo a esta información se estableció que la recolección de las muestras definidas por localidad se llevaría a cabo visitando el mismo número de tiendas naturistas. Por ejemplo, para Usaquén se calculó que las muestras a recolectar eran 7 (cada unidad muestral corresponde a un producto a base de ajo y otro de alcachofa, así pues este número de muestras corresponde a 14 productos, 7 de ajo y 7 de alcachofa), por lo tanto se visitarían 7 tiendas naturistas seleccionadas al azar, a partir de los registros de la base de datos.

3.1.5 Selección de las Tiendas Naturistas a Visitar

De acuerdo a la distribución de muestras a recolectar por localidad relacionada en la tabla 4, la selección de las tiendas naturistas a visitar se hizo de la siguiente manera:

- Por cada localidad se numeraron las tiendas naturistas registradas en la base de datos, desde el número 1 hasta el número n . Por ejemplo, en el caso de Usaquén, los registros de establecimientos se numeraron de 1 a 86.
- Para la selección aleatoria de las tiendas, se hizo uso de la página web www.openepi.com, en la opción “Números Aleatorios”. Por cada localidad se ingresaron los datos de la numeración realizada previamente, siendo 1 el valor más bajo y n el valor más alto. De acuerdo a la distribución de la tabla 4, se ingresó el número de datos deseados en la casilla “¿Cuántos números quiere?”. Por ejemplo, para Usaquén, la generación de números aleatorios se hizo de acuerdo a la siguiente imagen:

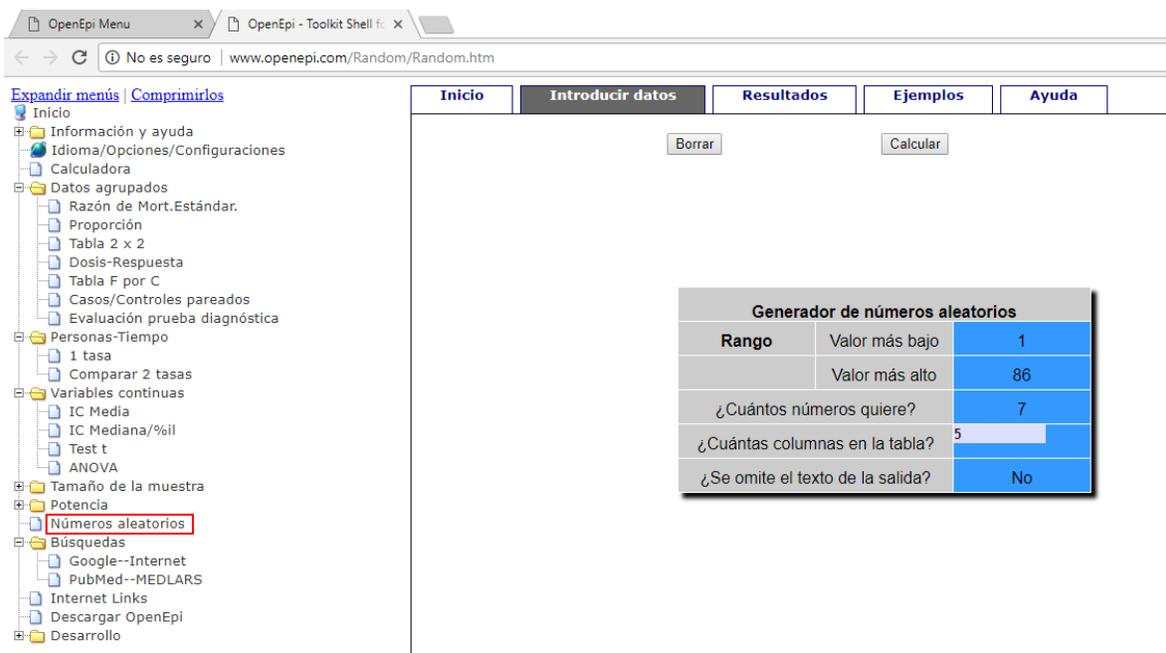


Figura 3-1. Ejemplo del ingreso de datos para la generación de números aleatorios por localidad. Página web OpenEpi, URL: <http://www.openepi.com/Random/Random.htm>

Una vez ingresados estos datos, al seleccionar la opción “Calcular” se generaron los números aleatorios deseados de la siguiente manera:

The screenshot shows a web browser window with the URL www.openepi.com/Random/Random.htm. The page has a navigation menu with tabs: Inicio, Introducir datos, Resultados, Ejemplos, and Ayuda. The 'Resultados' tab is active. The main content area displays the title '7 Números aleatorios desde 1 hasta 86' and 'Generados por el programa OpenEpi'. Below this is a table with 5 columns and 2 rows of random numbers. The table is followed by instructions to print the numbers and a note about the use of JavaScript's Math.random() function. At the bottom, it mentions 'Resultados de OpenEpi, versión 3, la calculadora de código abiertoRandom' and provides instructions on how to print the results.

Inicio	Introducir datos	Resultados	Ejemplos	Ayuda
19	86	65	47	72
22	6			

Figura 3-2. Ejemplo de números aleatorios generados por localidad. Página web OpenEpi, URL: <http://www.openepi.com/Random/Random.htm>

- c. Por último, se seleccionaron las tiendas naturistas correspondientes a los números aleatorios generados por cada una de las localidades, obteniendo un total de 80 establecimientos a visitar, distribuidos como se indicó en la tabla 3-2.

En resumen, la selección de las tiendas naturistas a visitar y dentro de las cuales se realizaría la adquisición de los productos, se hizo de acuerdo al siguiente diagrama:

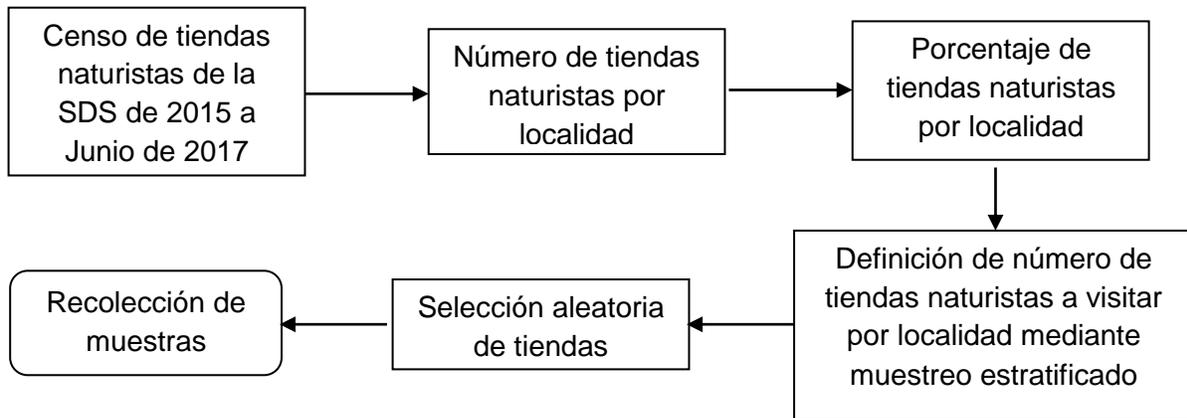


Figura 3-3. Selección de las tiendas naturistas a visitar para la recolección de las muestras.

3.1.6 Recolección de las Muestras en las Tiendas Naturistas

La recolección de las muestras se hizo a través de compra directa en los establecimientos seleccionados. En cada una de las tiendas naturistas se indagó por la existencia de productos a base de ajo y alcachofa que cumplieran los criterios de inclusión.

Para la recolección de los productos se contó con un Acta de Toma de Muestras (Anexo 1) que permitió tener trazabilidad sobre cada una de las muestras. En el acta se consignó la información correspondiente a la localidad donde se realizó la recolección, el nombre del barrio, los datos del establecimiento, datos del producto tales como marca, lote, registro sanitario y fecha de vencimiento, así como los datos del responsable de la recolección y fecha de toma de la muestra.

Una vez recolectadas las muestras, fueron transportadas al Laboratorio de Toxicología de la Universidad Nacional de Colombia, de acuerdo al protocolo establecido por la entidad para el transporte y entrega, para ser almacenadas allí bajo condiciones controladas hasta el momento del análisis.

3.1.6.1 Criterios de Inclusión

- a. Productos fitoterapéuticos a base de ajo y alcachofa sin combinación con otras plantas (perejil, boldo, etc.) con registro sanitario.
- b. Formas farmacéuticas solidas de consumo oral, específicamente comprimidos (tabletas), cápsulas de gelatina rígida con relleno sólido y grageas.
- c. Productos con lote y fecha de vencimiento declarados.

3.1.6.2 Criterios de Exclusión

- a. Productos con lotes recolectados previamente en otros establecimientos.
- b. Productos que declaren en su etiqueta ser homeopáticos.

La adquisición de cada muestra se registró en el formato de “Acta de Toma de Muestras” (Anexo 1), en el cual se le asignó un número consecutivo a cada uno de los productos recolectados, y se diligenciaron datos como la dirección del establecimiento donde se hizo la compra, el barrio, la localidad, nombre del producto, características, presentación, laboratorio fabricante, entre otros.

3.2 Metodología Analítica

3.2.1 Equipos, Reactivos y Materiales

a. Equipos

Para el desarrollo de la metodología analítica se emplearon los siguientes equipos:

Tabla 3-3. Equipos empleados en el desarrollo de la metodología analítica

Equipo	Marca y Referencia	Características
Espectrofotómetro de absorción atómica con horno de grafito.	Thermo, ICE 3500.	Automuestreador de 60 posiciones FS95, horno de grafito GF95 y sistema de

		refrigeración, software SOLAAR AA versión 11,03 para análisis de datos.
Balanza analítica digital	Sartorius	División de escala 0,0001 g
Cabina desecadora		
Cilindro para almacenamiento de argón	Capacidad de 7 m ³ . Pureza del 99.5%	Con regulador de estación en la central de gases y en el puesto de trabajo para suministro al espectrofotómetro y válvula de paso.
Baño termostático		



Figura 3-4. Fotografía del Espectrofotómetro de Absorción Atómica con Horno de Grafito Modelo ICE 3500 de Thermo.

b. Materiales

Para el desarrollo de la metodología analítica se emplearon los siguientes materiales:

Tabla 3-4. Materiales empleados para el desarrollo de la metodología analítica.

Nombre	Marca/Clase/Referencia	Características
Vidrio de reloj.	-	Diámetro.
Frascos de vidrio con tapa rosca.	-	Boca ancha y 20 ml de capacidad.
Tubos cónicos de centrífuga de polipropileno	Falcon	Capacidad de 50 ml, graduados, tapa rosca
Dispensador de reactivos líquidos	Brand	Acoplable a boca de frascos y botellas de reactivos líquidos, capacidad de 10 ml
Gradillas plásticas y de icopor		Para tubos de ... ml
Vasos de precipitado	Clase B	Vidrio, capacidades de 50, 100, 200, 500 y 1000 ml
Papel filtro	Whatman, No. 1	Diámetro de 125 mm
Copas para muestras para equipo ICE 3500		Polipropileno, capacidad de 2 y 20 ml
Balones aforados	Clase A	Vidrio, capacidad de 10, 20, 50 y 100 ml
Balones aforados	Clase B	Vidrio, capacidad de 500 y 1000 ml
Tubos de grafito para equipo ICE 3500	Normales	Sin recubrimiento pirolítico, con cuneta interna para inyección de muestra
Lámpara de cátodo hueco de plomo para equipo ICE 3500	Thermo	Codificada
Lámpara de cátodo hueco de cadmio para equipo ICE 3500	Thermo	Codificada
Pipetas pasteur	-	Polipropileno, graduadas, capacidad de 3 ml
Micropipeta de volumen fijo		Capacidad 1000 ml
Micropipetas de volumen variable		Capacidad 100 a 1000 ml Capacidad 10 a 100 ml
Pipetas graduadas	Clase A	Vidrio, capacidad 10 ml
Argón alta pureza	Grado 4.8	

c. Reactivos

Para el desarrollo de la metodología analítica se emplearon los siguientes reactivos:

Tabla 3-5. Reactivos empleados para el desarrollo de la metodología analítica

Reactivo	Marca/Grado/Pureza	Características
----------	--------------------	-----------------

Agua alta pureza	Tipo 1, desionizada	Conductividad 18,2 uΩ.cm
Ácido nítrico	Suprapuro, 65%	Libre de trazas de metales
Estándar de plomo	Estándar de referencia de 1000 ug/ml	Trazable a NIST (National Institute of Standards and Technology Reference Materials) Concentración de 1000 ug/ml de plomo (II), diluido en ácido nítrico 1-2%
Estándar de cadmio	Estándar de referencia de 1000 ug/ml	Trazable a NIST (National Institute of Standards and Technology Reference Materials) Concentración de 1000 ug/ml de cadmio, diluido en ácido nítrico 1-2%
Dihidrogeno fosfato de amonio	Modificador de matriz, 40%	Diluido en agua
Nitrato de magnesio	Reactivo	-
Peróxido de hidrógeno	Reactivo, 30%	-
Metanol	Reactivo	-
Octil fenoxi polietoxietanol (Tritón x-100)	Reactivo	-
Bicarbonato de sodio	Reactivo	-

3.2.2 Preparación de Reactivos

a. Preparación Modificadores de Matriz

- **Modificador de Matriz para Plomo: Dihidrogeno Fosfato de Amonio 2%**

En un balón aforado de 10 ml se dispensaron 500 ul de la solución de dihidrogeno fosfato de amonio al 40% y se completó el volumen con agua desionizada. Se recomienda preparar esta solución el mismo día de la corrida analítica.

- **Modificador de Matriz para Cadmio: Nitrato de Magnesio 2%**

En una balanza analítica se pesaron 2 g de nitrato de magnesio dentro de un vaso de precipitados de 50 ml. Se adicionó agua desionizada al vaso y con ayuda de un agitador de vidrio, se disolvió el sólido. Posteriormente se realizó la transferencia cuantitativa a un balón aforado de 100 ml, lavando, por lo menos 3 veces, el vaso de precipitados. Se completó el volumen con agua desionizada.

b. Preparación del Diluyente para las Curvas de Calibración

Tanto para el plomo como para el cadmio el diluyente para la construcción de la curva de calibración correspondió a ácido nítrico suprapur al 10 y al 5%, respectivamente.

- Ácido Nítrico Suprapur al 10%

En un balón aforado de 20 ml, se dispensó un pequeño volumen de agua desionizada y posteriormente se agregaron 2 ml de ácido nítrico concentrado suprapur. Se completó el volumen con agua desionizada.

- Ácido Nítrico Suprapur al 5%

En un balón aforado de 20 ml, se dispensó un pequeño volumen de agua desionizada y posteriormente se agregó 1 ml de ácido nítrico concentrado suprapur. Se completó el volumen con agua desionizada.

c. Preparación de la Solución del Lavado del Equipo ICE 3500

La solución de lavado siempre debe estar disponible en el equipo en el frasco marcado como "Wash". Se debe evitar que el volumen de dicha solución esté por debajo de una cuarta parte de la capacidad del frasco para asegurar la limpieza del sistema capilar y para impedir que se llene de burbujas, lo cual afecta directamente la inyección.

En un balón aforado de 1000 ml se dispensó un volumen aproximado de 100 ml de agua desionizada, luego se adicionaron 1 ml de ácido nítrico y 5 ml de metanol. Posteriormente se dispensó 1 ml de Tritón x-100 y se agitó suavemente para evitar la formación excesiva de espuma. Se completó el volumen con agua desionizada y antes de usar la solución, siempre se verificó que el Tritón x-100 se haya disuelto en su totalidad.

3.2.3 Preparación de los Estándares Maestros de Calibración

a. Preparación Estándar Maestro de Calibración de Plomo

Para la preparación del estándar maestro de calibración de plomo se requirió la preparación previa de una solución intermedia, a partir de la cual se obtuvo la solución final. Esto se realizó según se indica a continuación:

- **Preparación Solución Intermedia de Plomo de 1000 ug/L en HNO₃ 10%**

En un balón aforado de 100 ml se dispensó un volumen pequeño de agua desionizada, luego se adicionaron lentamente 10 ml de ácido nítrico concentrado suprapur y posteriormente se agregaron 100 ul del estándar de referencia de plomo de 1000 ug/ml. Se completó el volumen con agua desionizada.

- **Preparación Estándar Maestro de Calibración de Plomo de 20 ug/L en HNO₃ 10%**

En un balón aforado de 50 ml se dispensó un volumen pequeño de agua desionizada, luego se adicionaron 5 ml de ácido nítrico concentrado suprapur y posteriormente se agregó 1 ml de la solución intermedia de plomo de 1000 ug/L.

b. Preparación del Estándar Maestro de Calibración de Cadmio

Para la preparación del estándar maestro de calibración de cadmio se requirió la preparación previa de una solución intermedia, a partir de la cual se obtuvo la solución final. Esto se realizó según se indica a continuación:

- **Preparación Solución Intermedia de Cadmio de 1000 ug/L en HNO₃ 5%**

En un balón aforado de 100 ml se dispensó un volumen pequeño de agua desionizada, luego se adicionaron lentamente 5 ml de ácido nítrico concentrado suprapur y posteriormente se agregaron 100 ul del estándar de referencia de cadmio de 1000 ug/ml. Se completó el volumen con agua desionizada.

- **Preparación Estándar Maestro de Calibración de Cadmio de 5 ug/L en HNO₃ 5%**

En un balón aforado de 100 ml se dispensó un volumen pequeño de agua desionizada, luego se adicionaron 5 ml de ácido nítrico concentrado suprapur y posteriormente se agregaron 500 ul de la solución intermedia de cadmio de 1000 ug/L.

3.2.4 Preparación de las Soluciones de Fortificación

a. Preparación de la Solución de Fortificación de Plomo de 5 mg/L en HNO₃ 10%

En un balón aforado de 50 ml, se adicionó un pequeño volumen de agua desionizada, luego se adicionaron 5 ml de ácido nítrico suprapur y posteriormente se agregaron 250 ul del estándar de referencia de plomo de 1000 mg/L.

b. Preparación de la Solución de Fortificación de Cadmio de 1,5 mg/L en HNO₃ 5%

En un balón aforado de 100 ml, se adicionó un pequeño volumen de agua desionizada, luego se adicionaron 5 ml de ácido nítrico suprapur y posteriormente se agregaron 150 ul del estándar de referencia de cadmio de 1000 mg/L.

3.2.5 Condiciones Instrumentales

Para cada uno de los metales se optimizaron las condiciones instrumentales relacionadas con las temperaturas de secado, y atomización de la muestra dentro del sistema, con el fin de obtener las mejores respuestas. De igual manera se establecieron las condiciones ópticas del método (longitud de onda para cada metal).

a. Condiciones Instrumentales para la Determinación de Plomo

Las condiciones que se establecieron para la determinación de plomo fueron las siguientes:

Tabla 3-6. Condiciones instrumentales generales para la determinación de plomo en el equipo ICE 3500.

Condición/Parámetro	Descripción
---------------------	-------------

Longitud de onda (nm)	217,0
Tipo de tubo	Normal, sin recubrimiento pirolítico
Corriente lámpara (%)	90
Rendija (nm)	0,5
Corrección fondo	D2 Quadline (Deuterio)
Volumen de inyección (ul)	20
Gas de arrastre	Argón

Tabla 3-7. Programa de temperaturas del horno de grafito para la determinación de plomo en el equipo ICE 3500.

Fase	Temperatura (°C)	Tiempo (s)	Rampa (°C/s)	Tipo de gas	Flujo de gas (L/min)
1	115	30	10	2 inerte	0,2
2	700	20	150	2 inerte	0,2
3	1200	3	0	2 inerte	Apagado
4	2500	3	0	2 inerte	0,2

La construcción de la curva de calibración se realizó mediante la opción de “Dilución inteligente” con la que cuenta el equipo ICE 3500. Los estándares de calibración se prepararon *in situ*, a partir del estándar maestro de 20 ug/L, de acuerdo a los volúmenes (en ul) descritos a continuación:

Tabla 3-8. Preparación de la curva de calibración para la determinación de plomo mediante dilución inteligente en el equipo ICE 3500.

Solución	Blanco	Muestra	Est. 1 (2,0 ug/L)	Est. 2 (4,0 ug/L)	Est. 3 (6,0 ug/L)	Est. 4 (8,0 ug/L)	Est. 5 (10,0 ug/L)	Est. 6 (20,0 ug/L)
Blanco (HNO3 10%)	15	-	-	-	-	-	-	-
Diluyente (HNO3 10%)	-	-	13,5	12,0	10,5	9,0	7,5	0,0
Muestra	-	15	-	-	-	-	-	-
Est. Maestro (Pb 20 ug/L)	-	-	1,5	3,0	4,5	6,0	7,5	15
Mod. Matriz (Dihidrogeno fosfato de amonio 2%)	5	5	5	5	5	5	5	5
Volumen total	20	20	20	20	20	20	20	20

a. Condiciones Instrumentales para la Determinación de Cadmio

Las condiciones que se establecieron para la determinación de cadmio fueron las siguientes:

Tabla 3-9. Condiciones instrumentales generales para la determinación de cadmio en el equipo ICE 3500.

Condición/Parámetro	Descripción
Longitud de onda (nm)	228,8
Tipo de tubo	Normal, sin recubrimiento pirolítico
Corriente lámpara (%)	50
Rendija (nm)	0,5
Corrección fondo	D2 Quadline (Deuterio)
Volumen de inyección (ul)	20
Gas de arrastre	Argón

Tabla 3-10. Programa de temperaturas del horno de grafito para la determinación de cadmio en el equipo ICE 3500.

Fase	Temperatura (°C)	Tiempo (s)	Rampa (°C/s)	Tipo de gas	Flujo de gas (L/min)
1	100	30	10	2 inerte	0,2
2	800	20	150	2 inerte	0,2
3	1000	3	0	2 inerte	Apagado
4	2500	3	0	2 inerte	0,2

La construcción de la curva de calibración se realizó mediante la opción de “Dilución inteligente” con la que cuenta el equipo ICE 3500. Los estándares de calibración se prepararon *in situ*, a partir del estándar maestro de 5 ug/L, de acuerdo a los volúmenes (en ul) descritos a continuación:

Tabla 3-11. Preparación de la curva de calibración para la determinación de cadmio mediante dilución inteligente en el equipo ICE 3500.

Solución	Blanco	Muestra	Est. 1 (0,2 ug/L)	Est. 2 (0,5 ug/L)	Est. 3 (1,0 ug/L)	Est. 4 (2,0 ug/L)	Est. 5 (5,0 ug/L)
----------	--------	---------	-------------------	-------------------	-------------------	-------------------	-------------------

Blanco (HNO3 5%)	15	-	-	-	-	-	-
Diluyente (HNO3 5%)	-	-	14,4	13,5	12	9,0	0,0
Muestra	-	15	-	-	-	-	-
Est. Maestro (Cd 5 ug/L)	-	-	0,6	1,5	3,0	6,0	15,0
Mod. Matriz (Nitrato de Magnesio 2%)	5	5	5	5	5	5	5
Volumen total	20	20	20	20	20	20	20

Para cada corrida analítica se llevó a cabo el siguiente protocolo:

- a. **Limpieza del material:** Se realizó mediante lavado con ácido nítrico al 10%. El material incluyó vidrio y polipropileno con el fin de evitar contaminación. La limpieza consistió en dejar durante toda la noche el material sumergido en la solución de ácido nítrico. Posteriormente, antes de la corrida analítica, se procedió a su secado, colocando el material boca abajo sobre una gasa absorbente.
- b. **Limpieza del sistema capilar y del tubo de grafito:** Previó al análisis se realizó, en todas las corridas analíticas, la limpieza del sistema capilar interno del equipo y el quemado del tubo de grafito para eliminar posibles residuos.
- c. **Verificación de blancos:** Posteriormente se realizó la verificación de las absorbancias obtenidas del análisis de vacíos (aire) y blancos de agua destilada desionizada, para descartar contaminación interna del sistema capilar del equipo y de las copas para muestra.
- d. **Verificación de la curva de calibración:** Se verificó que la curva cumpliera con los parámetros de linealidad establecidos mediante la validación, así como con las señales esperadas.
- e. **Verificación de las Recuperaciones:** Para todas las corridas analíticas se ingresaron, dentro de la secuencia de análisis, fortificados de muestras al 50, 100 y 150%, preparados según lo descrito en el numeral 3.2.6 literal b (fortificación de muestras).
- f. **Secuencia:** La secuencia de las corridas analíticas siempre se distribuyó de la siguiente manera: curva de calibración, blanco, fortificados, blanco, grupos de tres muestras, blanco por cada grupo de muestras, y blanco de limpieza final. Los blancos dispuestos después de la curva de calibración se colocaron allí con el fin

de descartar efecto de arrastre, posterior al análisis del estándar de mayor concentración para cada curva de calibración. Asimismo, los blancos ubicados cada tres grupos de muestras cumplieron la misma función, así como ayudar a la limpieza continua del sistema capilar evitando así su saturación.

3.2.6 Validación de la metodología analítica

La validación se realizó de acuerdo a diversas recomendaciones nacionales e internacionales, tales como las *Eurachem*, *IUPAC*, entre otras. La validación permitió definir los parámetros propios de la metodología analítica como son la linealidad, precisión, selectividad, exactitud, límite de detección y cuantificación, principalmente. La metodología empleada para la validación se describe posteriormente en los numerales 4.2.1 y 4.2.2.

3.2.7 Preparación de las Muestras

a. Determinación del Peso Promedio y Uniformidad de Masa

De acuerdo a lo establecido en el artículo 13 del Decreto 3553 de 2004 del Ministerio de Protección Social, un producto fitoterapéutico debe someterse a una serie de controles de calidad, dentro de los cuales se encuentra la determinación del peso promedio. De acuerdo a lo establecido por la USP, el control de peso se realizó de la siguiente manera:

- Se tomaron al azar 10 unidades de dosificación (capsula, tableta o gragea) de cada uno de los productos.
- Para el caso de las tabletas y grageas, se registró el peso de manera directa de cada una de las unidades, en una balanza analítica sobre un vidrio de reloj.
- Para el caso de las cápsulas, se vació el contenido de cada unidad sobre un vidrio de reloj y se registró el peso de forma individual.
- Se calculó el promedio de las medidas de peso obtenidas, y este se comparó con cada medida individual.

- Para la evaluación de la variación de peso de las unidades de dosificación se siguieron los siguientes parámetros establecidos por la USP y la BP, de acuerdo al rango de peso de las tabletas, cápsulas o grageas de cada producto:

Tabla 3-12. Porcentajes de variación permitidos para comprimidos (tabletas y grageas) de acuerdo a su rango de peso.

Rango de Peso (mg) BP	Rango de Peso (mg) USP	Variación Permitida (%)	Número de Tabletas
Menos de 80	130 o menos	± 10	Máximo 2
80 a 250	130 a 324	± 7,5	Máximo 2
Más de 250	Más de 324	± 5	Máximo 2

Nota. Tomada y adaptada de *Parámetros de Calidad de Comprimidos* de Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, 2015, Universidad Nacional de Rosario; *Parámetros de Calidad de los Comprimidos* de Palomino E., Disponible en: <https://es.calameo.com/read/00025658657a448e76188>

Tabla 3-13. Porcentajes de variación permitidos para cápsulas de acuerdo a su rango de peso.

Rango de Peso (mg)	Variación Permitida (%)	Número de Cápsulas
Menos de 300	± 20	Máximo 2
300 o más	± 15	Máximo 2

Nota. Tomada de *Uniformity of Weight of Tablets and Capsule*, 2013. Disponible en: <https://beautifultf.wordpress.com/2013/12/21/experiment-3-uniformity-of-weight-of-tablets-and-capsule/>

- El porcentaje de variación se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Variación} = \frac{|Peso \text{ promedio} - Peso \text{ individual}|}{Peso \text{ promedio}} \times 100$$

b. Alistamiento de las Muestras

Posterior a la determinación del peso promedio de las unidades de dosificación de cada producto, se tomaron las 10 unidades seleccionadas al azar de cada presentación comercial y se alistaron según se indica a continuación:

- En el caso de las tabletas, grageas o comprimidos en general, las 10 unidades se traspasaron a un mortero para ser maceradas hasta obtener un polvo homogéneo, tal como se muestra en las figuras 3-2 y 3-3.



Figura 3-5. Alistamiento de tabletas de alcachofa previo a la digestión.



Figura 3-6. Alistamiento de tabletas de ajo previo a la digestión.

- En el caso de las cápsulas, se vació el contenido de las 10 unidades seleccionadas al azar, como se indica en las figuras 3-4 y 3-5.



Figura 3-7. Alistamiento de cápsulas de alcachofa previo a la digestión.



Figura 3-8. Alistamiento de cápsulas de ajo previo a la digestión.

Los polvos obtenidos se almacenaron en frascos de vidrio en una cabina desecadora para evitar la absorción de humedad, hasta el momento del pesaje para la digestión.

c. Fortificación de las Muestras

Las soluciones de fortificación se emplearon para ser adicionadas a muestras con cantidad conocida de cada metal y así evaluar la recuperación dentro de la validación de la metodología analítica y como control de calidad en cada corrida analítica. Los niveles de los fortificados se calcularon de acuerdo a los valores máximos permitidos para plomo y cadmio en plantas medicinales en el Decreto 2264 de 2004, que corresponden a 10 mg/kg y 0,3 mg/kg, respectivamente. Sin embargo, teniendo en cuenta el rango de linealidad establecido por el fabricante del equipo ICE 3500 para la técnica de

determinación de plomo por horno de grafito, este valor de referencia se asumió como 1 mg/kg.

Partiendo de los valores máximos permitidos, se prepararon soluciones de los metales a adicionar a la matriz, con el fin de fortificar al 50, 100 y 150% de dicho valor. Así en el caso de plomo se obtuvieron tres fortificados de 0.5, 1.0 y 1,5 mg/kg, y para el cadmio de 0.15, 0.3 y 0.45 mg/kg. Las concentraciones de las soluciones de fortificación se calcularon de acuerdo a lo indicado en las tablas 3-14, 3-15, 3-16 y 3-17.

- Fortificación de la Matriz con Plomo

La concentración de la solución de fortificación de plomo se calculó de acuerdo a lo indicado en las tablas 16 y 17.

Tabla 3-14. Parámetros para la fortificación de la matriz con plomo.

Metal	Matriz	Valor máx. permitido Pb (mg/kg)	Valor máx. permitido Pb (ug/g)	Peso muestra (g)	Cantidad Pb en peso muestra (ug)	Volumen final (L)	Conc. final Pb (ug/L) * <i>Conc. = $\frac{0,5 \text{ ug}}{0,05 \text{ L}}$</i>
Plomo	Producto fitoterapéutico	1	1	0,5	0,5	0,5	10

d. * Esta concentración final corresponde a la que tendría una muestra preparada con 0,5 g de producto que contiene 0,5 ug de plomo, y se encuentra disuelta en un volumen de 0,05 L. Por lo tanto, es la concentración 100%.

De acuerdo a la concentración 100% obtenida, se calculó la concentración de la solución de fortificación con la siguiente ecuación:

$$C_i * V_i = C_f * V_f$$

Donde,

C_i = Concentración inicial, corresponde a la concentración de la solución de fortificación.

V_i = Volumen inicial, corresponde al volumen a adicionar a la matriz para fortificar al 100%. Se asumió un volumen pequeño que permitió la adición de una mínima cantidad de solución. En este caso se asumió 100 ul o 0,1 ml.

Cf = Concentración final, corresponde la concentración 100% (10 ug/L)

Vf = Volumen final, corresponde el volumen final al que se llevaron las preparaciones (0,05 L o 50 ml)

Así,

$$C_i = \frac{10 \frac{ug}{L} * 50 ml}{0,1 ml} = 5000 \frac{ug}{L} = 5 mg/L$$

A partir de esta concentración, se calcularon los volúmenes a adicionar para obtener los fortificados al 50 y 150%.

Tabla 3-15. Cantidades para la fortificación de la matriz con plomo al 50, 100 y 150% del valor máximo permitido.

Metal	Matriz	Conc. Solución Fort. Pb (mg/L)	Conc. Final Fortificado (ug/L)	Volumen final (L)	Vol. a adicionar de Sol. Fort. (ul)	Porcentaje de fortificación (%)
Plomo	Producto fitoterapéutico	5	5	0,05	50	50
			10		100	100
			15		150	150

Así, para fortificar una muestra de 0,5 g al 50% se adicionaron 50 ul de la solución de 5 mg/L, 100 ul para el 100%, y para el 150% se adicionaron 150 ul de la misma solución.

- Fortificación de la Matriz con Cadmio

La concentración de la solución de fortificación de cadmio se calculó se acuerdo a lo indicado en las tablas 18 y 19.

Tabla 3-16. Parámetros para la fortificación de la matriz con cadmio.

Metal	Matriz	Valor máx. permitido Cd (mg/kg)	Valor máx. permitido Cd (ug/g)	Peso muestra (g)	Cantidad Cd en peso muestra (ug)	Volumen final (L)	Conc. final Cd (ug/L) * <i>Conc.</i> $= \frac{0,15 ug}{0,05 L}$
Cadmio	Producto	0,3	0,3	0,5	0,15	0,5	3

fitoterapéutico						
-----------------	--	--	--	--	--	--

* Esta concentración final corresponde a la que tendría una muestra preparada con 0,5 g de producto que contiene 0,15 ug de cadmio, y se encuentra disuelta en un volumen de 0,05 L. Por lo tanto, es la concentración 100%.

De acuerdo a la concentración 100% obtenida, se calculó la concentración de la solución de fortificación de la misma manera como se realizó con el plomo en el ítem anterior.

$$C_i = \frac{3 \frac{\mu g}{L} * 50 \text{ ml}}{0,1 \text{ ml}} = 1500 \frac{\mu g}{L} = 1,5 \text{ mg/L}$$

A partir de esta concentración, se calcularon los volúmenes a adicionar para obtener los fortificados al 50 y 150%.

Tabla 3-17. Volúmenes para la fortificación de la matriz con cadmio al 50% y 150% del valor máximo permitido.

Metal	Matriz	Conc. Solución Fort. Cd (mg/L)	Conc. Final Fortificado (ug/L)	Volumen final (L)	Vol. a adicionar de Sol. Fort. (ul)	Porcentaje de fortificación (%)
Cadmio	Producto fitoterapéutico	1,5	1,5	0,05	50	50
			3		100	100
			4,5		150	150

Así, para fortificar una muestra de 0,5 g al 50% se adicionaron 50 ul de la solución de 1,5 mg/L, 100 ul para el 100%, y para el 150% se adicionaron 150 ul de la misma solución.

e. Digestión de las Muestras

- Alistamiento de Tubos Falcon

Los tubos Falcon (tubos cónicos de centrifuga) se lavaron previo al pesaje de las muestras con el fin de evitar la presencia de cualquier tipo de suciedad que pudiera afectar el análisis. El lavado se realizó dejando los tubos en una tina con agua desionizada por tres horas, junto con sus tapas. Pasado este tiempo, se dejaron secar al ambiente, boca abajo en una gasa absorbente.

- Pesaje y Preparación de las Muestras

Se siguieron los pasos a continuación:

- En los tubos Falcon previamente lavados se pesaron 0,5 gramos de la muestra pulverizada, en una balanza analítica.
- En una cabina de extracción se adicionó a cada tubo con muestra, 1 ml de peróxido de hidrógeno 30%.
- Posteriormente, se adicionaron lentamente 7 ml de ácido nítrico concentrado suprapur.
- Los tubos se taparon, verificando que el cierre fuera fuerte.
- Las muestras así preparadas se dejaron en la cabina durante la noche, para favorecer la destrucción del material por parte del ácido.
- **Digestión Ácida Asistida por Calor de las Muestras**

Pasada la noche, los tubos se dispusieron en gradillas de polipropileno y se colocaron en un baño termostático (ubicado dentro de la cabina de extracción) previamente ajustado a 90°C. La digestión se programó por un tiempo de 4 horas y 15 minutos, una vez alcanzada la temperatura establecida para el baño. Durante el tiempo de digestión, se verificó periódicamente la temperatura y la integridad de los tubos, pues debido a los gases generados por el calentamiento del ácido, en algunas ocasiones se estallaron, haciendo necesario desechar esa muestra.



Figura 3-9. Digestión ácida asistida por calor de las muestras.

Una vez completado el tiempo de digestión, los tubos se retiraron del baño y se permitió que alcanzaran la temperatura ambiente en la cabina de extracción. Posteriormente se llevaron a un volumen de 50 ml con agua desionizada. Se homogenizaron mediante agitación. Se verificó con cada muestra la ausencia de sólidos suspendidos, y en el caso de que estuvieran presentes, se procedió a retirarlos a través de papel filtro. Las muestras así preparadas, quedaban listas para el análisis en el equipo ICE 3500.

3.28 Consideraciones Éticas para el Estudio

De acuerdo a lo establecido en el Artículo 11 de la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud, este proyecto se clasificó como una investigación sin riesgo, ya que no se realizó ningún tipo de intervención sobre individuos y las muestras recolectadas fueron de tipo no biológico por tratarse de productos de distribución comercial.

En este sentido, las consideraciones éticas fueron dirigidas al aseguramiento de la confiabilidad de los datos obtenidos, así como de una correcta custodia de las muestras. Al tratarse de productos comercializados, no se revelaron las marcas ni los laboratorios productores. De igual manera, en el caso de que se recolectaran productos sin registro sanitario Invima, que pudieran contener niveles altos de metales pesados, se estableció como necesario informar a los entes reguladores.

La disposición final de las muestras se realizó de acuerdo a los protocolos y procedimientos internos del Laboratorio de Toxicología de la Universidad Nacional de Colombia, cuyo tratamiento es especial por tratarse de un producto con fines terapéuticos, evitando impactos ambientales.

El comité de ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, indicó que el proyecto no presenta dilemas éticos por lo tanto se emitió concepto aprobatorio (Ver Anexo 1), mediante acta de evaluación número 013-211-17 del 14 de septiembre de 2017.

4. Resultados y Discusión

4.1 Descripción General de las Muestras Recolectadas

4.1.1 Distribución de las Muestras Recolectadas

Se recolectaron 105 productos fitoterapéuticos en las 19 localidades de Bogotá. El 64% (67) de las muestras recolectadas correspondió a productos a base de alcachofa, y el 36% (38) correspondió a productos a base de ajo.

Tabla 4-1. Número de muestras recolectadas por planta

Planta Base	Número de Muestras	Porcentaje (%)
Alcachofa (<i>Cynara scolimus</i>)	67	64
Ajo (<i>Allium sativum</i>)	38	36
Total	105	100



Figura 4-1. Distribución de las muestras recolectadas por planta.

Se evidenció que en gran parte de los establecimientos se encontraban disponibles productos de ajo en formas líquidas (gotas o cápsulas blandas), por lo cual no fue posible hacer la recolección. Es por esto, que la mayoría de las muestras recolectadas correspondió a productos de alcachofa.

4.1.2 Distribución de las Formas Farmacéuticas

Para el caso de la alcachofa se encontraron dos formas farmacéuticas, que correspondieron a cápsulas y tabletas; mientras que para ajo se encontraron seis formas farmacéuticas, de acuerdo a lo especificado en las etiquetas de los productos, que fueron cápsulas, tabletas, tabletas cubiertas, grageas, tabletas en forma de perla, y perlas. Ver tabla 4-2 y figura 4-2.

Tabla 4-2. Formas farmacéuticas encontradas para los productos.

Forma farmacéutica	Alcachofa	Porcentaje (%)	Ajo	Porcentaje (%)
Cápsulas	38	57	19	50,0
Tabletas	29	43	6	15,8
Tabletas cubiertas	0	0	6	15,8
Grageas	0	0	5	13,2
Tabletas en forma de perla	0	0	1	2,6
Perlas	0	0	1	2,6
Total	67	100	38	100

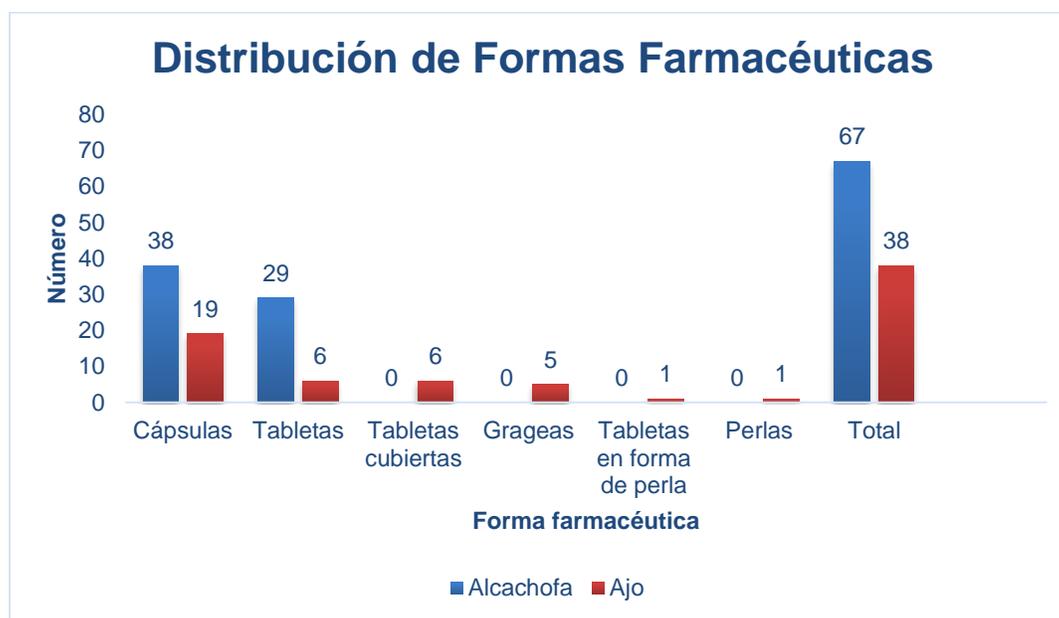


Figura 4-2. Distribución de las formas farmacéuticas según la planta.

La totalidad de los productos recolectados correspondieron a cápsulas de gelatina dura, con contenido sólido pulverizado de la planta y con dos partes cilíndricas que se deslizan una sobre otra. A continuación se muestran las fotografías ejemplo de las muestras recolectadas y las formas farmacéuticas encontradas.

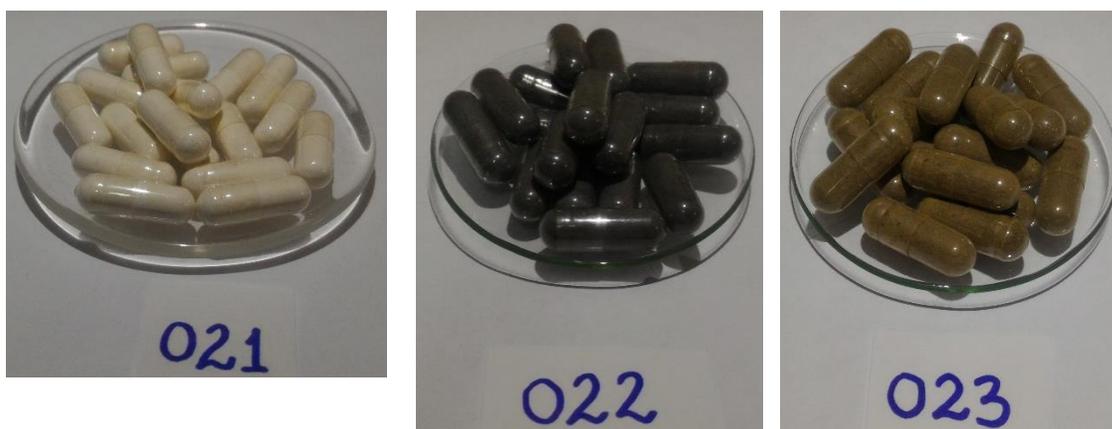


Figura 4-3. Fotografías de cápsulas duras de alcachofa y ajo con contenido sólido pulverizado.

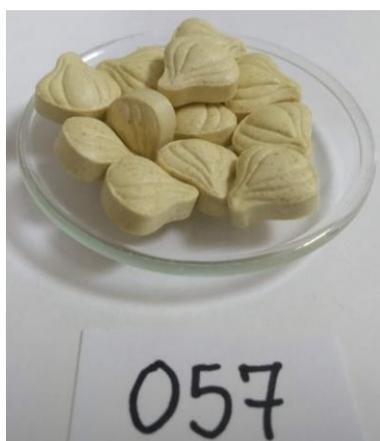


Figura 4-4. Fotografía de tabletas o comprimidos de ajo.

La denominación “perlas” hace referencia a la forma esférica de la tableta, correspondiendo esta a un comprimido sólido, adoptada por el laboratorio productor que lo declara así en el empaque correspondiente.



Figura 4-5. Fotografía de forma farmacéutica denominada “perlas de ajo”.

De lo anterior se concluye que la variedad de formas farmacéuticas encontradas para los productos de ajo, puede deberse a la búsqueda de una presentación que permita enmascarar el fuerte olor y sabor de los bulbos.

4.1.3 Distribución de Laboratorios Productores

Para las 105 muestras recolectadas se identificaron 12 laboratorios productores, identificados con las letras A a la L. El número de muestras recolectadas por planta y el porcentaje de muestras recolectadas por cada laboratorio se presenta en la tabla 4-3.

Tabla 4-3. Muestras recolectadas por planta y por laboratorio.

Laboratorio	No. Productos Ajo	No. Productos Alcachofa	Total Recolectados	Porcentaje (%)
A	14	9	23	22
B	0	19	19	18
C	3	10	13	12
D	7	0	7	7
E	0	5	5	5
F	5	0	5	5
G	0	5	5	5
H	0	5	5	5
I	5	0	5	5
J	0	5	5	5
K	0	4	4	4
L	2	2	4	4

M	0	2	2	2
N	0	1	1	1
O	1	0	1	1
P	1	0	1	1
Total	38	67	105	100

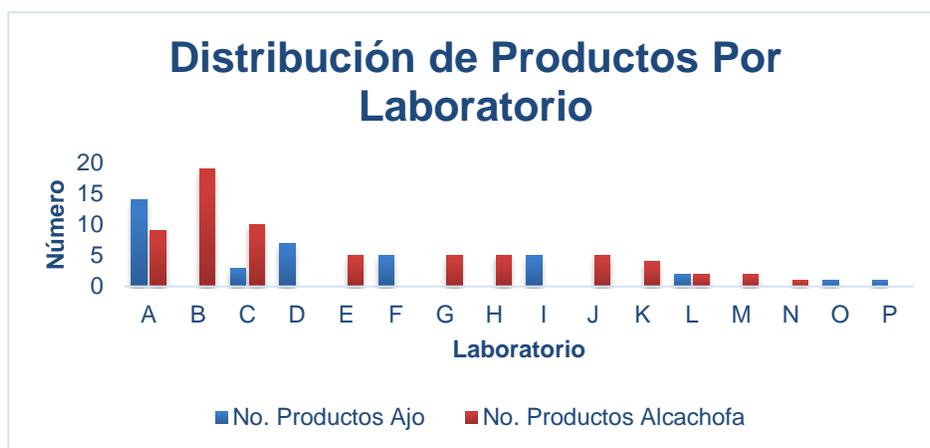


Figura 4-6. Distribución de las muestras recolectadas por planta y por laboratorio.

Se evidenció que solo los laboratorios identificados como A, C y L comercializan productos elaborados con ajo y alcachofa, mientras que de los demás laboratorios se encontró uno de los dos productos en las tiendas naturistas visitadas. Asimismo, los laboratorios A, B y C cuentan con la mayor cantidad de productos recolectados con un 22, 18 y 12%, respectivamente.

La industria farmacéutica colombiana agrupa a los subsectores de medicamentos y fitoterapéuticos, y se caracteriza por su gran dependencia tecnológica, representada en la importación de materias primas y otros materiales para la producción, poco desarrollo en equipos y en materiales para su diseño y elaboración y escasa inversión en laboratorios de investigación y desarrollo de los establecimientos productores. En el caso especial de las industrias productoras de fitoterapéuticos, se trata de un subsector joven con poca tradición que se ha consolidado por medio de algunos laboratorios productores, apoyado en la legislación sanitaria vigente, y que además ha sido identificado como un subsector promisorio para el desarrollo del país (Vallejo B, 2007).

Actualmente, la industria productora de medicamentos y la de fitoterapéuticos son en su mayoría de carácter nacional. En este sentido, se requiere la participación conjunta de

Estado, academia e industria como medio de desarrollo, investigación y generación de nuevos conocimientos para ser aplicados a campos específicos (Vallejo B, 2007), como lo es el de la seguridad de los fitoterapéuticos.

Al contrario de lo que ocurre en otros lugares, en Colombia, un país en vía de desarrollo, los trabajos entre academia e industria se llevan a cabo de forma desarticulada, lo cual duplica esfuerzos, desgasta recursos y los resultados que se obtienen no son satisfactorios (Vallejo B, 2007).

4.1.4 Muestras Recolectadas por Localidad

Se recolectaron 105 muestras en las 19 localidades de Bogotá, dentro de las cuales se visitaron 84 direcciones de establecimientos clasificados como tiendas naturistas,

Tabla 4-4. Número de tiendas visitadas y de productos recolectados por localidad.

Localidad	No. de Tiendas Visitadas	No. Productos recolectados
Santa Fe	7	13
Kennedy	10	13
Chapinero	5	7
Bosa	5	7
Ciudad Bolívar	4	7
Suba	11	7
Rafael Uribe	3	6
Engativá	5	6
Tunjuelito	3	6
Usaquén	7	6
Barrios Unidos	3	4
Fontibón	4	4
Puente Aranda	5	4
Teusaquillo	3	4
Usme	2	3

San Cristóbal	3	3
Antonio Nariño	2	2
Candelaria	1	2
Mártires	1	1
Total	84	105



Figura 4-7. Número de tiendas naturistas visitadas por localidad.

De acuerdo a la gráfica anterior, la mayor concentración de tiendas naturistas visitadas se encontró en las localidades de Suba y Kennedy, donde se visitaron 13 direcciones de establecimientos clasificados como tiendas naturistas. Esto es debido a que corresponden a dos de localidades de mayor extensión en la ciudad (Ver Figura 4-8) con una gran cantidad de tiendas naturistas de acuerdo lo relacionado en la tabla 3.



Figura 4-8. Mapa de las localidades de Bogotá. Tomado de:

<https://www.compensar.com/convenios-alianzas/Privilegios/red-tenderos.aspx> [Diagrama]



Figura 4-9. Número de productos recolectados por localidad.

El mayor número de productos fue recolectado en las localidades Santa Fe y Kennedy (con 13 productos cada una), a pesar de que en la primera se visitaron siete establecimientos. Esto se debió a que en gran parte de las tiendas visitadas en las localidades no se encontraron productos de ajo en forma sólida, los lotes encontrados correspondían a productos ya recolectados en otras tiendas, no había disponibilidad de

ninguno de los dos productos solicitados, el establecimiento vendía mercancía relacionada con suplementos para entrenamiento físico, prácticas de esoterismo o la dirección ya no correspondía a una tienda naturista sino a otros negocios como lavanderías, barberías, farmacias o se trataba de una vivienda familiar. En el Anexo 3 se especifican las observaciones relacionadas con la recolección de muestras en las tiendas seleccionadas por localidad.

4.1.5 Dificultades Relacionadas con la Recolección de Muestras

Durante el trabajo de campo se presentaron una serie de dificultades que impidieron la recolección de la totalidad de las muestras planteada inicialmente en los establecimientos seleccionados. Dichas dificultades a saber son las siguientes:

- En algunas tiendas naturistas no fue posible recolectar los dos productos (uno de ajo y uno de alcachofa) porque alguno de los dos no estaba disponible o porque se contaba con un producto combinado con otras plantas o con otra forma farmacéutica. Generalmente el producto no disponible fue el de ajo.
- Al llegar a algunas de las direcciones registradas en la base de datos de las tiendas seleccionadas de forma aleatoria, se encontró que correspondían a establecimientos que no comercializan estos productos fitoterapéuticos. Se encontró, por ejemplo, una tienda dedicada a la venta de productos para entrenamiento físico, una tienda esotérica, o algunos lugares en los que estuvo la tienda naturista pero actualmente corresponden a otro tipo de establecimiento, como jugueterías, lavanderías, farmacias, barberías o viviendas familiares.
- En algunos establecimientos se encontraron los dos productos, pero con lotes que ya habían sido recolectados previamente, por lo cual no se realizó la adquisición.
- En el caso de no encontrar la tienda naturista en la dirección registrada por la base de datos, se tomaron tiendas cercanas (máximo dos cuadras) para recolectar los productos. En otros casos, la tienda no se reemplazó debido a las implicaciones económicas de los desplazamientos.

4.1.6 Verificación de los Registros Sanitarios

Para cada uno de los productos recolectados se revisó la vigencia del registro sanitario declarado en la etiqueta. Se revisó un total de 22 registros sanitarios, de los cuales 13 (59%) correspondieron a productos a base de ajo y 9 (41%) a productos a base de alcachofa. A continuación se indican algunos hallazgos hechos a partir de la revisión de registros sanitarios:

- A partir de la revisión se encontró un producto (correspondiente a la muestra identificada con el consecutivo 014), que declaraba en su etiqueta “no requiere registro sanitario” por tratarse de un medicamento homeopático oficial. Según lo establecido en el decreto 3554 de 2004 del Ministerio de Salud y Protección Social, un medicamento homeopático se define como *“el preparado farmacéutico obtenido por técnicas homeopáticas, conforme a las reglas descritas en las farmacopeas oficiales aceptadas en el país, con el objeto de prevenir la enfermedad, aliviar, curar, tratar y/o rehabilitar un paciente. Los envases, rótulos, etiquetas y empaques hacen parte integral del medicamento, por cuanto estos garantizan su calidad, estabilidad y uso adecuado.”* (MSPS, Ministerio de Salud y Protección Social, 2004).

En este punto cabe resaltar que la homeopatía se define como un método terapéutico que se basa en el principio de la similitud, el cual está basado en la teoría que indica que las enfermedades pueden ser tratadas con dosis infinitesimales de sustancias que en dosis elevadas pueden provocar los síntomas de la enfermedad que se pretende tratar. Adicional a esto, la práctica del método homeopático también se rige por el empleo de sustancias con efecto biológico en dosis infinitesimales (Echegaray J, 2011). Con relación a este último punto, es reconocido que los medicamentos homeopáticos no tienen moléculas, pues las diluciones que se realizan son de gran magnitud, resultando en ausencia de la sustancia activa; es por esto que se han acuñado los conceptos de dinamización y

memorización de las moléculas con actividad biológica, mediante los cuales se explica que la actividad y eficacia de los homeopáticos se debe a que, durante el proceso de dilución de la sustancia con propiedades terapéuticas, el medio en el que se diluye tiene la capacidad de memorizar las características del agente activo, pero evitando la toxicidad (De Sagrera J, 2006).

Por todo lo anterior, la muestra clasificada como medicamento homeopático, fue excluida del análisis de resultados, debido a que se cometió un error durante su recolección por una verificación insuficiente al momento de la adquisición al no corresponder a un producto fitoterapéutico propiamente dicho a base de la planta alcachofa, sino a un producto diluido, que declara en su etiqueta que cada tableta contiene “Alcachofa 3D Maltodextrina”, haciendo referencia a la dilución empleada y al medio. El producto no contiene la planta o se encuentra en una cantidad tan baja, que no es lógico realizar la determinación de metales pesados en él.

- De los 22 registros revisados, 17 correspondieron a preparaciones farmacéuticas con base en plantas medicinales con registro sanitario identificado con la sigla PFM. Estas preparaciones se encuentran definidas, según el Decreto 2266 de 2004 del Ministerio de Salud y Protección Social.

Uno de los registros sanitarios no fue encontrado en la base datos del INVIMA, ni como vigente ni como vencido, a pesar de tratarse de un laboratorio que cuenta con otros registros de las plantas de interés en otras formas farmacéuticas. Es importante acotar, que bajo este registro sanitario, se recolectaron 9 productos a base de alcachofa en la forma farmacéutica de tabletas, que igualmente fueron incluidos dentro de análisis.

- De los 22 registros revisados, uno correspondió a producto fitoterapéutico tradicional con registro sanitario identificado con la sigla PFT. Estos productos se encuentran definidos, según el Decreto 2266 de 2004 del Ministerio de Salud y Protección social. Este registró se encontró como vigente al momento de la consulta.

- Uno de los registros sanitarios encontrados se identificó con la sigla RSAD. Es importante aclarar que las letras RSA corresponden a registro sanitario de alimentos. Según lo establecido por la Secretaría Distrital de Salud, dentro de algunos establecimientos farmacéuticos pueden comercializarse alimentos con registros sanitarios como RSAD, RSAID y RSAED, sin embargo no pueden tener indicaciones terapéuticas, por prohibición de la Ley 9 de 1979, dado que no son medicamentos (SDS, 2011). Cabe resaltar que la muestra identificada con el consecutivo 072, con el tipo de registro sanitario mencionado, relacionaba en su empaque las siguientes propiedades: *“Para el cultivo general de la salud el fomento de los procesos de digestión y como profilaxia contra los síntomas de una vejez prematura arterioesclerosis general y las afecciones de la menopausia”*, y adicionalmente contaba con un inserto en el que se explican todas sus propiedades. Al tratarse de un producto a base de ajo, el único uso terapéutico aceptado es el de hipotensor, de acuerdo a lo aprobado por el Vademécum Nacional de Plantas Medicinales, y además, al contar con un registro de alimento no debería indicar ningún tipo de uso terapéutico. Este producto, por considerarse de interés particular, fue incluido dentro del análisis.

Adicional a las observaciones previamente descritas, al ingresar a la base de registros sanitarios de INVIMA se constató que el registro relacionado en el empaque de la muestra 072 no existe, así como el nombre del producto tampoco es reconocido en dicha base. Al realizar la búsqueda del nombre a través de internet, se evidenció que existe un producto a base de ajo con nombre similar (se cambia una de las letras), que es importado y que sí cuenta con registro sanitario vigente en la categoría de fitoterapéuticos. Lo anterior permitió concluir que la muestra recolectada se trataba de un producto fraudulento. Por tratarse de un hallazgo de alto impacto dentro de la investigación, la situación fue informada al comité asesor de la Maestría en Toxicología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional para posteriormente elevar el caso a la autoridad competente y tomar las medidas sanitarias correspondientes.

- Tres de los 22 registros revisados, correspondieron a suplementos dietarios, identificados con la sigla SD. Los suplementos dietarios son definidos por el

INVIMA como “*aquel producto cuyo propósito es adicionar la dieta normal y que es fuente concentrada de nutrientes y otras sustancias con efecto fisiológico o nutricional que puede contener vitaminas, minerales, proteínas, aminoácidos, otros nutrientes y derivados de nutrientes, plantas, concentrados y extractos de plantas solas o en combinación.*” (INVIMA I. N., 2012). Los registros se encontraron como vigentes al momento de la consulta.

A pesar de no tratarse de productos fitoterapéuticos propiamente dichos, las 11 muestras que fueron recolectadas con registros de suplementos dietarios se tuvieron en cuenta dentro del total, pues se verificó que fueran a base de alguna de las dos plantas seleccionadas para la investigación y que no tuvieran dentro de su composición otro material vegetal.

4.1.7 Indicaciones terapéuticas

Se realizó la revisión de las indicaciones terapéuticas declaradas en las etiquetas de las muestras recolectadas, y posteriormente fueron comparadas con las indicaciones aprobadas por el Vademécum Colombiano de Plantas Medicinales (VCPM) y el Listado de Plantas Medicinales Aceptadas con Fines Terapéuticos del INVIMA. En la tabla 4-5 se relaciona la información encontrada.

Tabla 4-5. Comparación entre las indicaciones terapéuticas aprobadas para ajo y alcachofa según el Vademécum Colombiano de Plantas Medicinales y el INVIMA, versus las indicaciones declaradas en las etiquetas de las muestras recolectadas.

Planta Base	Indicaciones Aprobadas VCPM	Indicaciones Aprobadas INVIMA	Indicaciones Declaradas
Ajo (<i>Allium sativum</i> L.)	Hipotensor, coadyuvante en el tratamiento de hiperlipidemias y en la profilaxis de la arterosclerosis.	Hipotensor. Coadyuvante en el tratamiento de hiperlipidemias y en la profilaxis de la arterosclerosis.	Hipotensor.
			Hipotensor, coadyuvante en el manejo de la hipertensión.
			Hipotensor, coadyuvante en

			el tratamiento de hiperlipidemias y en la profilaxis de la arterosclerosis.
Alcachofa <i>(Cynara scolymus L.)</i>	Colerético, colágeno, coadyuvante en el tratamiento de dispepsias.	Colerético y colágeno. Coadyuvante en el tratamiento de dispepsias y disfunciones hepatobiliares menores.	Colerético y colágeno. Coadyuvante en el tratamiento de dispepsias y disfunciones hepatobiliares menores.
			Colerético, colágeno.
			Colerético, colágeno. Este producto tradicionalmente ha sido utilizado como coadyuvante en el tratamiento de dispepsias.

Inicialmente, es importante aclarar que los usos o indicaciones previamente descritos en la tabla 4-5 aplican únicamente para los productos fitoterapéuticos en cualquiera de sus categorías, teniendo en cuenta que los productos identificados como suplementos dietarios no describían dentro de sus etiquetas ninguna indicación de efecto biológico o terapéutico. Por otra parte, vale la pena mencionar que las plantas medicinales objeto de esta investigación cuentan con algunos usos que han sido atribuidos de manera tradicional, de lo cual da cuenta el Vademécum Nacional de Plantas Medicinales.

En este sentido, el ajo se ha usado como antihelmíntico, hipotensor, hipoglicemiante, antiespasmódico, hipolipemiante y para desórdenes intestinales; mientras que a la alcofa se le han atribuido efectos benéficos sobre el tracto gastrointestinal y usos como la activación de la vesícula, protección del hígado, disminución del colesterol en la sangre y mejora en la digestión (MSPS M. d., 2008). Sin embargo, los usos aprobados por las entidades reguladoras, son los relacionados en la tabla 4-5. Este revisión permitió evidenciar que todos los productos cumplen con la descripción acertada de las indicaciones aprobadas tanto por el Vademécum Nacional como por el INVIMA.

4.2 Validación de la Metodología Analítica

El desarrollo de la metodología analítica correspondió a un método propio, principalmente por el hecho de no contar con un digestor microondas en el laboratorio, equipo recomendado para la preparación de las muestras de cualquier tipo, previo al análisis por espectrofotometría de absorción atómica (WHO W. H., 1998). No se contó con un método oficial o método guía, debido a que todos exigen la preparación de la muestra a través de digestión por microondas.

La validación se realizó con base a lo recomendado por las guías *Eurachem* (Eurachem, 2016). La validación permitió definir los parámetros propios de la metodología analítica como son la selectividad, rango de trabajo y linealidad, límite de detección y cuantificación, precisión (repetibilidad y precisión intermedia), exactitud, , efecto matriz, efecto memoria, estabilidad e incertidumbre

Se llama sistema al analito de interés en solución acuosa y se denomina método cuando dicho analito se encuentra en la matriz analizada, en este caso la forma farmacéutica.

4.2.1 Validación para Plomo

a. Selectividad

Para el sistema, la selectividad se evaluó mediante la medición de una solución acuosa de plomo de concentración conocida (10 ug/L) y cinco réplicas de la misma solución adicionadas con otros metales (cadmio, cromo y hierro) de manera intencional, con el fin de evaluar la respuesta. Se analizaron las muestras adicionadas con metales, así como la solución sin adicionar. Se calculó el porcentaje de variación de la concentración obtenida para cada una de las muestras adicionadas, respecto a la muestra sin adición, mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Variación} = \frac{|\text{Concentración con adición} - \text{Concentración sin adición}|}{\text{Concentración sin adición}} * 100$$

Los porcentajes de variación obtenidos se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 4-6. Selectividad del sistema para plomo.

Concentración Pb (ug/L)	Concentración obtenida	Porcentaje variación (%)
10	10,1026	-
10 + interferencias	10,1156	0,13
10 + interferencias	9,9878	1,14
10 + interferencias	10,2103	1,07
10 + interferencias	10,1505	0,47
10 + interferencias	9,8754	2,25
10 + interferencias	10,5441	4,37

No se encontraron variaciones en la concentración respecto a la solución sin interferencias, superiores al 5%.

Para el método, se tomaron cinco muestras cuyas concentraciones fueron no detectables para plomo, se adicionaron con los mismos metales (cadmio, cromo y hierro) y se evaluó la respuesta instrumental. No se encontró variación en la respuesta instrumental, las concentraciones de las muestras adicionadas fueron no detectables.

El método es selectivo, dado que la selectividad de un método está dada por su habilidad de medir el analito de interés en muestras a las cuales se les agregan interferencias, que se considere probable encontrar, de manera intencional (Eurachem, 2016). Adicionalmente, se sabe que en los métodos de absorción atómica no son frecuentes las interferencias espectrales debido a la naturaleza muy específica de la longitud de onda, que es propia para cada elemento (FAO, 1986).

b. Rango de Trabajo y Linealidad

La linealidad del método analítico se estableció de acuerdo a una revisión de los niveles máximos permitidos en plantas medicinales (Decreto de 2264 de 2004 del Ministerio de Salud y Protección Social) y en hortalizas (Resolución 4506 de 2013 del Ministerio de

Salud y Protección Social). Dicha revisión se llevó a cabo debido a la amplia diferencia que existe entre los niveles permitidos por cada norma, una considerando al ajo y a la alcachofa como plantas medicinales, y la segunda como alimentos para el consumo humano. Para plantas medicinales el valor máximo permitido es de 10 mg/kg, mientras que para hortalizas es 0,10 mg/kg; por esto se decidió tomar un valor referencia de 1 mg/kg para la construcción de la curva de calibración.

Para el sistema se trabajó en un rango de calibración que se construyó con siete puntos, incluyendo al blanco y seis niveles de concentración (2, 4, 6, 8 10 y 20 ug/L). Los patrones de calibración se prepararon en medio acuoso con ácido nítrico al 10%, según lo descrito en el numeral 3.2.3. Se prepararon 6 réplicas.

Tabla 4-7. Linealidad del sistema para plomo

ANÁLISIS DE LINEALIDAD PLOMO - SISTEMA										
ESTÁNDAR [µg/L]	SEÑAL-ABSORBANCIA						Promedio	Desviación estándar	CV%	Y calculado
	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 4	LOTE 5	LOTE 6				
0,0	0,0065	0,0059	0,0061	0,0069	0,0052	0,0055	0,00602	0,0006	10,428	0,0118
2	0,0512	0,0575	0,0569	0,0602	0,0598	0,0611	0,05778	0,0036	6,245	0,0538
4	0,0898	0,0914	0,0965	0,1023	0,1102	0,0995	0,09828	0,0075	7,643	0,0958
6	0,1328	0,1368	0,1403	0,1426	0,1509	0,1325	0,13932	0,0069	4,985	0,1378
8	0,1621	0,1753	0,1621	0,1709	0,1778	0,1863	0,17241	0,0094	5,472	0,1798
10	0,2269	0,2301	0,2326	0,2142	0,2345	0,2459	0,23070	0,0104	4,489	0,2218
20	0,4027	0,4163	0,4209	0,4506	0,4388	0,4525	0,43030	0,0201	4,675	0,4318

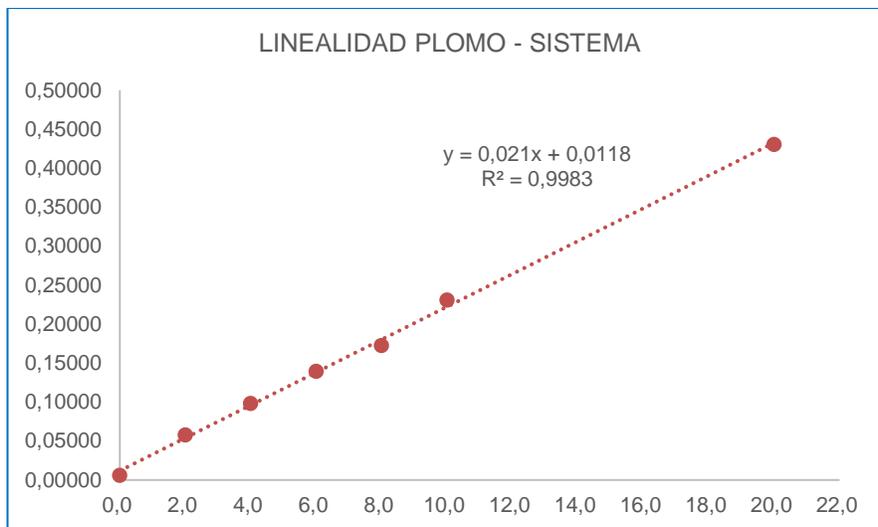


Figura 4-10. Gráfico de linealidad para plomo – sistema.

Para el método se trabajó en el mismo rango de calibración construido con los siete puntos (blanco, 2, 4, 6, 8, 10 y 20 ug/L) preparados en la matriz digestada según lo descrito en el numeral 3.2.6 literal e. La matriz digestada consistió en una muestra con contenido no detectable de plomo sometida al proceso de digestión ácida con calentamiento, a partir de la cual se prepararon los patrones de calibración. Se prepararon 6 réplicas.

Tabla 4-8. Linealidad del método para plomo.

ANÁLISIS DE LINEALIDAD PLOMO – MÉTODO										
ESTÁNDAR[µg/L]	SEÑAL-ABSORBANCIA						Promedio	Desviación estándar	CV%	Y calculado
	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 4	LOTE 5	LOTE 6				
0,0	0,0083	0,0088	0,0101	0,0090	0,0091	0,0087	0,00900	0,0006	6,740	0,0137
2	0,0650	0,0601	0,0719	0,0615	0,0563	0,0635	0,06305	0,0053	8,362	0,0575
4	0,1103	0,0969	0,1282	0,0974	0,1139	0,1167	0,11057	0,0120	10,852	0,1013
6	0,1416	0,1262	0,1761	0,1375	0,1676	0,1614	0,15173	0,0195	12,834	0,1451
8	0,1719	0,1586	0,2252	0,1790	0,2381	0,2190	0,19863	0,0328	16,516	0,1889
10	0,2168	0,1924	0,2614	0,2254	0,2936	0,2726	0,24370	0,0383	15,710	0,2327
20	0,3993	0,3544	0,4546	0,4506	0,5798	0,4785	0,45287	0,0766	16,916	0,4517

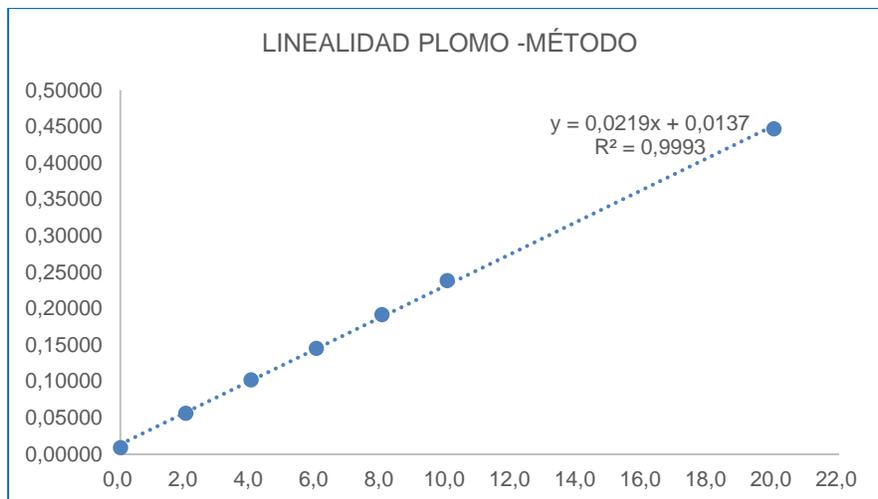


Figura 4-11. Gráfico de linealidad para plomo – método.

Para la determinación de la linealidad se aplicaron las *pruebas t* para la pendiente, el intercepto y la correlación mediante los siguientes estadísticos:

Tabla 4-9. Pruebas de hipótesis para la evaluación de la linealidad: pendiente, intercepto y correlación.

Prueba de Hipótesis	Hipótesis	Resultado esperado
Pendiente	H0 : $m=0$ H1 : $m \neq 0$	$t > t_{tab}$ se rechaza H0, la pendiente es significativamente diferente de cero.
Intercepto	H0 : $b=0$ H1 : $b \neq 0$	$t < t_{tab}$ no se rechaza H0, el intercepto no es significativamente diferente de cero.
Coefficiente de Correlación	H0 : No existe correlación entre las variables de concentración y respuesta H1 : Existe correlación entre las variables de concentración y respuesta	$t > t_{tab}$ se rechaza H0, entonces existe correlación entre las variables de concentración y respuesta.

Nota: Tomada de *Determinación de Niveles Sanguíneos de Plomo en una Muestra de Niños Mediante Espectroscopía de Absorción Atómica con Horno de Grafito*, de Cortés, T., 2016, Universidad Nacional de Colombia.

Las ecuaciones aplicadas para la evaluación de los diferentes parámetros de validación se encuentran consignadas en el Anexo 5.

De acuerdo a las ecuaciones previamente descritas, en las tablas 4-10, 4-11 y 4-12 se relacionan los estadísticos calculados para la evaluación de la linealidad del sistema para plomo, y los límites de confianza del intercepto y la pendiente, respectivamente. Los niveles de calibración fueron 6, al igual que las réplicas, así el valor N correspondió a 36.

Tabla 4-10. Estadísticos de linealidad para el plomo – sistema.

ESTADÍSTICOS SISTEMA PLOMO					
Pendiente	Intercepto	Coefficiente de determinación (R^2)	Coefficiente de correlación (R)	N	K
0,0210	0,0118	0,9983	0,9991	36	6
Error pendiente	Error intercepto				
0,0005	0,0046				

N : Producto de las réplicas por los niveles de calibración.

K : Niveles de calibración

Tabla 4-11. Límites de confianza para la pendiente y el intercepto para el plomo – sistema.

LÍMITES PARA 95% CONFIANZA SISTEMA PLOMO					
Error Típico Pendiente	Error Típico Intercepto	Límite superior Pendiente	Límite inferior Pendiente	Límite superior Intercepto	Límite inferior Intercepto
0,0009	0,0093	0,0219	0,0201	0,0211	0,0025

Tabla 4-12. Resultados de las pruebas de significancia o pruebas de hipótesis para evaluación de la linealidad del sistema para plomo.

PRUEBA DE SIGNIFICANCIA	t calculado	t tab	Criterio de aceptación	
Prueba de t Pendiente	46,35	1,7	$t_{cal} > t_{tab}$	La pendiente es significativamente diferente de cero
Prueba de t Intercepto	2,56	1,7	$t_{cal} < t_{tab}$	Intercepto no es significativamente diferente de cero
Prueba de t Correlación	418,32	1,7	$t_{cal} > t_{tab}$	Existe correlación lineal significativa

Adicionalmente, se construyó un gráfico con las señales de todas las réplicas por nivel de calibración con el fin de evaluar la regresión mediante análisis ANOVA.

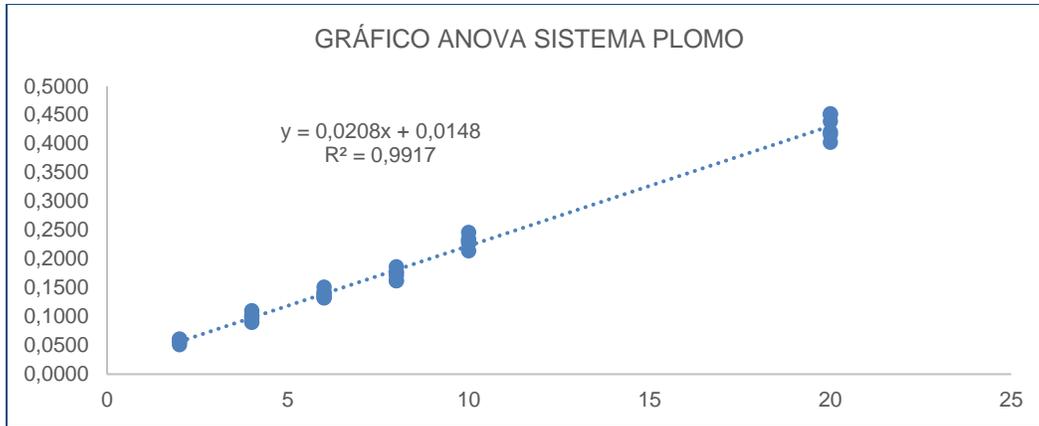


Figura 4-12. Gráfico de análisis ANOVA de regresión lineal para plomo-sistema.

Tabla 4-13. Resultados del análisis ANOVA para la regresión lineal del sistema para plomo.

FUENTE	GL	SC	CM	Fcal	Ftab	Criterio de aceptación	
Regresión	1	0,5281	0,5281	4039,69	4,13	Fcal > Ftab	Regresión significativa
Error exp.	34	0,0044	0,0001	1,78	2,69	Fcal < Ftab	Desvío no es significativo
Desvío	4	0,0009	0,0002				
Error Puro	30	0,0036	0,0001				
Total	35	0,5325	0,0152				

Por otra parte, se realizó el gráfico de análisis de residuos para el sistema para plomo (figura 4-13), en el cual se observa que los residuos no presentan una tendencia clara o una estructura definida, respecto a los valores reales asignados a los estándares de calibración, por lo que se acepta hay homocedasticidad en la regresión lineal.



Figura 4-13. Gráfico de residuos para plomo - sistema.

En las tablas 4-14, 4-15 y 4-16 se relacionan los estadísticos calculados para la evaluación de la linealidad del método para plomo, y los límites de confianza del intercepto y la pendiente, respectivamente. Los niveles de calibración fueron 6, al igual que las réplicas, así el valor N correspondió a 36.

Tabla 4-14. Estadísticos de linealidad para el plomo – método.

ESTADÍSTICOS MÉTODO PLOMO					
Pendiente	Intercepto	Coefficiente de determinación (R^2)	Coefficiente de correlación (R)	N	K
0,0219	0,0137	0,9993	0,9996	36	6
Sxy	Syx	Sxx	Error pendiente	Error intercepto	
26,3455	0,0026	1220	0,0015	0,0150	

N: Producto de las réplicas por los niveles de calibración.

K: Niveles de calibración

Tabla 4-15. Límites de confianza para la pendiente y el intercepto para el plomo – método.

LÍMITES DE PARA 95% CONFIANZA MÉTODO PLOMO					
Error Típico Pendiente	Error Típico Intercepto	Límite superior Pendiente	Límite inferior Pendiente	Límite superior Intercepto	Límite inferior Intercepto
0,0030	0,0304	0,0249	0,0189	0,0441	-0,0167

Tabla 4-16. Resultados de las pruebas de significancia o pruebas de hipótesis para evaluación de la linealidad del método para plomo.

PRUEBA DE SIGNIFICANCIA	t calculado	t tab	Criterio de aceptación	
Prueba de t Pendiente	14,87	2,03	$t_{cal} > t_{tab}$	La pendiente es significativamente diferente de cero
Prueba de t Intercepto	0,91	2,03	$t_{cal} < t_{tab}$	Intercepto no es significativamente diferente de cero
Prueba de t Correlación	652,24	2,03	$t_{cal} > t_{tab}$	Existe correlación lineal significativa

Se construyó el gráfico con las señales de todas las réplicas por nivel de calibración con el fin de evaluar la regresión mediante análisis ANOVA.

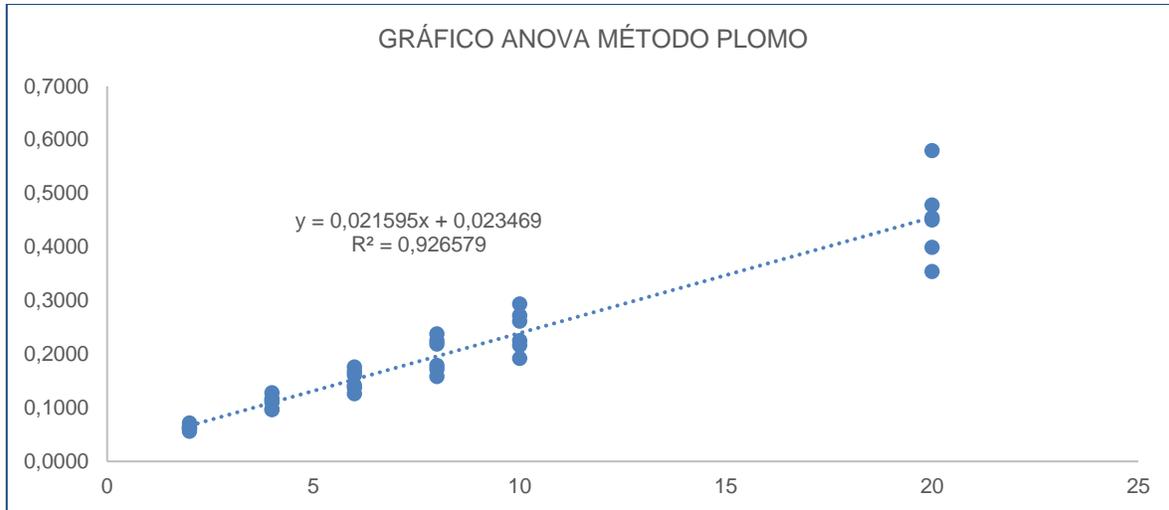


Figura 4-14. Gráfico de análisis ANOVA de regresión lineal para plomo-método.

Tabla 4-17. Resultados del análisis ANOVA para la regresión lineal del método para plomo.

FUENTE	GL	SC	CM	Fcal	Ftab	Criterio de aceptación	
Regresión	1	0,5689	0,5689	429,08	4,13	$F_{cal} > F_{tab}$	Regresión significativa
Error exp.	34	0,0451	0,0013	0,05	2,69	$F_{cal} < F_{tab}$	Desvío no es significativo
Desvío	4	0,0003	0,0001				
Error Puro	30	0,0448	0,0015				
Total	35	0,6140	0,0175				

Se realizó el gráfico de análisis de residuos para el método para plomo (figura 4-15), en el cual se observa que los residuos no presentan una tendencia clara o una estructura definida, respecto a los valores reales asignados a los estándares de calibración, por lo que se acepta hay homocedasticidad en la regresión lineal.



Figura 4-15. Gráfico de residuos para plomo - método.

De acuerdo a los estadísticos obtenidos para la evaluación de linealidad del sistema, se concluye que existe una respuesta lineal adecuada para el rango de trabajo establecido, teniendo en cuenta lo siguiente:

- Para la prueba de hipótesis de la pendiente (sistema y método), el t calculado fue mayor al t tabulado, se rechazó la hipótesis nula, indicando que la pendiente del sistema y el método son significativamente diferentes de cero.
- Para la prueba de hipótesis del intercepto (sistema y método), el t calculado fue menor al t tabulado, se aceptó la hipótesis nula, indicando que los interceptos del sistema y el método no son significativamente diferentes de cero.
- Para la prueba de hipótesis de la correlación (sistema y método), el t calculado fue mayor al t tabulado, se rechazó la hipótesis nula, indicando que existe correlación entre las variables concentración y respuesta instrumental.

Por lo anterior se concluye que el método analítico para la determinación de plomo en productos fitoterapéuticos es lineal en el rango de concentraciones de 2 ug/L a 20 ug/L.

c. Límite de Detección (LOD) y Límite de Cuantificación (LOQ)

La determinación de los límites de detección y cuantificación se realizó, según lo recomendado por la guía Eurachem 2016, mediante el análisis de 10 blancos, y a partir de las señales obtenidas, se calculó la desviación estándar de las mediciones y se empleó la pendiente obtenida de la curva de calibración.

Para el sistema, los blancos correspondieron a 10 soluciones de ácido nítrico 10% v/v, mientras que para el método se seleccionó una muestra con una cantidad no detectable de plomo, sobre la cual se realizaron 10 réplicas que fueron sometidas a todo el proceso de preparación y digestión.

Los cálculos de LOD y LOQ se realizaron a través de las siguientes relaciones matemáticas:

$$LOD = \frac{3S}{m}$$

$$LOQ = \frac{10S}{m}$$

Donde,

S corresponde a la desviación estándar obtenida para las 10 mediciones de blancos y,

m corresponde a la pendiente de la curva de calibración.

En la tabla 4-18 se relacionan las señales obtenidas para los blancos tanto para el sistema como para el método.

Tabla 4-18. Señales obtenidas para el análisis de blancos y determinación del LOD y LOC para plomo.

MÉTODO		SISTEMA	
CÁLCULO DE LÍMITE DE DETECCIÓN (LOD) Y CUANTIFICACIÓN (LOQ)		CÁLCULO DE LÍMITE DE DETECCIÓN (LOQ) Y CUANTIFICACIÓN (LOQ)	
Ecuación de la curva	Y = 0,02330x + 0,0233	Ecuación de la curva	Y = 0,01901x + 0,0183
Pendiente (m)	0,0233	Pendiente (m)	0,0190
Intercepto (b)	0,0233	Intercepto (b)	0,0232
Coefficiente de determinación	0,9961	Coefficiente de determinación	0,9956
LECTURA DE BLANCOS	SEÑAL NETA	LECTURA DE BLANCOS	SEÑAL NETA
BK1	0,0177	BK1	0,0083

BK2		0,0188		BK2	0,0088
BK3		0,0115		BK3	0,0094
BK4		0,0138		BK4	0,0091
BK5		0,0175		BK5	0,0080
BK6		0,0129		BK6	0,0098
BK7		0,0229		BK7	0,0105
BK8		0,0228		BK8	0,0087
BK9		0,0201		BK9	0,0092
BK10		0,0211		BK10	0,0086
Promedio		0,0179		Promedio	0,0090
Desviación estándar (s)		0,0040		Desviación estándar (s)	0,0007
LDD [µg/L]	3*(s/m)	0,52		LDD [µg/L]	3*(s/m) 0,12
LDC [µg/L]	10*(s/m)	1,74		LDC [µg/L]	10*(s/m) 0,39

En la tabla 4-18 se observa que el límite de detección (LOD) obtenido para el método fue de 0,52 ug/L, esta se considera la concentración más baja que puede ser detectada por el método analítico. Teniendo en cuenta la metodología empleada, en la que se pesan 0,5 g de la muestra y se llevan a un volumen final de digestión de 50 ml, esta concentración en mg/kg equivale a:

$$LOD \left(\frac{mg}{kg} \right) = \frac{\text{Concentración} \left(\frac{\mu g}{L} \right) * \text{Volumen final digestión (L)}}{\text{Peso muestra (kg)} * 1000}$$

$$LOD \left(\frac{mg}{kg} \right) = \frac{0,52 \mu g/L * 0,05L}{0,0005 kg * 1000} = 0,052 mg/kg$$

Por su parte, el límite de cuantificación (LOQ) obtenido para el método fue de 1,74 ug/L, el cual debe ser más alto que el límite de detección, y en este caso particular, cumple dicha condición. Realizando la conversión a unidades de mg/kg, según lo descrito en el párrafo anterior, el LOQ es de 0,174 mg/kg, y corresponde al nivel más bajo en el cual el desempeño del método es aceptable, por lo cual es posible cuantificar.

Teniendo en cuenta que el punto más bajo de la curva de calibración fue de 2 ug/L, cercano a LOQ calculado (1,74 ug/L), se realizó la verificación mediante la preparación de 5 réplicas de soluciones de concentración 1,7 ug/L, con el fin de desafiar el LOQ calculado. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 4-19.

Tabla 4-19. Resultados de la verificación del límite de detección (LOQ) calculado para el método.

No. Réplica	Concentración real (ug/L)	Concentración obtenida (ug/L)
1	1,7	1,3602
2	1,7	1,5877
3	1,7	1,8540
4	1,7	1,7952
5	1,7	1,5559
Promedio	-	1,6306
Desviación Estándar	-	0,1775
Coefficiente de variación (%)	-	10,9

En la tabla 4-19 se observa que el límite de cuantificación calculado presenta un respuesta aceptable ya que el coeficiente de variación obtenido al medir réplicas individuales de la concentración es inferior al 15%.

d. Precisión

- Repetibilidad

La repetibilidad es una medida de la variabilidad en los resultados cuando una medición se lleva a cabo por un solo analista utilizando el mismo equipo en un corto plazo de tiempo. Es importante considerar que la precisión es dependiente de la concentración del analito, por lo que debe determinarse en diferentes concentraciones a lo largo del intervalo de trabajo (Eurachem, 2016).

Para la evaluación de la repetibilidad se realizó la preparación de 6 réplicas de soluciones de concentraciones 2, 6, 10 y 20 ug/L (tanto para el sistema como para el método), cubriendo así todo el rango de trabajo. Las mediciones se realizaron por el mismo analista en el mismo día. Los resultados se consignan en las siguientes tablas:

Tabla 4-20. Evaluación de la repetibilidad para el sistema para plomo.

REPETIBILIDAD SISTEMA PLOMO (MISMO DÍA – MISMO ANALISTA)									
Conc. [µg/L]	CONCENTRACIÓN OBTENIDA						Promedio	Desviación estándar	C.V Sistema (%)
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	Rep. 5	Rep. 6			
2	1,8975	2,0325	2,1756	1,9562	2,2103	2,1126	2,0641	0,1237	5,9
6	5,6975	6,2356	6,0026	5,8205	6,1112	5,7896	5,9428	0,2080	3,5
10	11,3652	9,4423	10,2563	10,0987	9,7652	9,2315	10,0265	0,7605	7,6
20	21,6500	17,3655	19,2031	20,1750	19,8223	21,3629	19,9298	1,5613	7,8

Tabla 4-21. Evaluación de la repetibilidad para el método para plomo.

REPETIBILIDAD MÉTODO PLOMO (MISMO DÍA – MISMO ANALISTA)									
Conc. [µg/L]	CONCENTRACIÓN OBTENIDA						Promedio	Desviación estándar	C.V Método (%)
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Lote 5	Lote 6			
2	2,3156	2,2328	2,1745	1,8547	1,9312	2,2306	2,1232	0,1855	8,7
6	6,1519	6,6211	5,6321	5,8664	5,5996	6,8995	6,1284	0,5352	8,7
10	11,8989	9,5741	10,5601	11,2993	9,5623	9,5585	10,4089	1,0171	9,8
20	18,6985	18,0214	17,9651	22,0155	19,0659	21,0369	19,4672	1,6767	8,6

En las tablas 4-20 y 4-21 se observa que para los 4 niveles de concentración (2, 6 10 y 20 ug/L) se cumple el parámetro de repetibilidad (6 réplicas analizadas el mismo día por el mismo analista), ya que los coeficientes de variación obtenidos, tanto para el sistema como para el método, se encuentran por debajo del 10% (DANE, 2008).

Adicional a lo anterior, se realizó la evaluación de la repetibilidad (mismo día, mismo analista) con cinco muestras seleccionadas al azar (058, 063, 065, 066 y 067), de las cuales se prepararon dos réplicas de manera individual y fueron analizadas dentro de la misma corrida analítica. Los resultados obtenidos se encuentran consignados en la siguiente tabla:

Tabla 4-22. Evaluación de la repetibilidad para plomo con muestras.

Muestra	Concentración (ug/L)		Promedio	C.V (%)
	Medida 1	Medida 2		
058	2,1583	2,1056	2,1320	1,7
063	4,6995	4,6882	4,6939	0,2
065	9,4582	9,3791	9,4187	0,6
066	9,0102	8,9650	8,9876	0,4
067	10,4408	10,6140	10,5274	1,2

En la tabla 4-22 se observa que el coeficiente de variación para todos los casos es inferior al 10%, lo que permite confirmar a través del análisis de muestras reales, que el método goza de repetibilidad para el análisis de plomo.

- **Precisión intermedia**

La precisión intermedia es una estimación de la variación en los resultados cuando las mediciones se realizan en el mismo laboratorio en condiciones que representan más variación que las condiciones de repetibilidad. Su evaluación tiene como fin estimar la precisión bajo diferentes fuentes de variación que se producen en la rutina del laboratorio (Eurachem, 2016).

Para la evaluación de la precisión intermedia se realizó el mismo ensayo descrito en el apartado de repetibilidad con 4 niveles de concentración, pero con dos analistas y en 3 días diferentes. Los resultados se consignan en las siguientes tablas:

Tabla 4-23. Evaluación de la precisión intermedia del sistema para plomo en diferentes días.

PRECISIÓN INTERMEDIA SISTEMA PLOMO (DIFERENTES DÍAS)						
CONCENTRACIÓN [µg/L]	CONCENTRACIÓN OBTENIDA			Promedio	Desviación estándar	C.V Sistema (%)
	Día 1	Día 2	Día 3			
2	2,1156	2,0564	1,9722	2,0481	0,0721	3,5
6	5,8063	6,3201	6,1556	6,0940	0,2624	4,3
10	9,8622	10,2369	9,9154	10,0048	0,2027	2,0
20	18,5632	19,3621	20,1136	19,3463	0,7753	4,0

Tabla 4-24. Evaluación de la precisión intermedia del sistema para plomo con diferentes analistas.

PRECISIÓN INTERMEDIA SISTEMA PLOMO (DIFERENTES ANALISTAS)					
CONCENTRACIÓN [µg/L]	CONCENTRACIÓN OBTENIDA		Promedio	Desviación estándar	C.V Sistema (%)
	Analista 1	Analista 2			
2	2,1156	2,0564	2,0860	0,0419	2,0
6	5,8063	6,3201	6,0632	0,3633	6,0
10	9,8622	10,2369	10,0496	0,2650	2,6
20	18,5632	19,3621	18,9627	0,5649	3,0

En las tablas 4-23 y 4-24 se observa que para los 4 niveles de concentración (2, 6 10 y 20 ug/L) se cumple el parámetro de precisión intermedia (análisis realizado en diferentes días y por diferentes analistas), ya que los coeficientes de variación obtenidos para el sistema, se encuentran por debajo del 10%.

Tabla 4-25. Evaluación de la precisión intermedia del método para plomo en diferentes días.

PRECISIÓN INTERMEDIA MÉTODO PLOMO (DIFERENTES DÍAS)						
CONCENTRACIÓN [µg/L]	CONCENTRACIÓN OBTENIDA			Promedio	Desviación estándar	C.V Método (%)
	Día 1	Día 2	Día 3			
2	1,9865	1,9322	2,2780	2,0656	0,1860	9,0
6	6,1655	6,2344	5,9871	6,1290	0,1276	2,1
10	10,8870	11,7643	9,7348	10,7954	1,0178	9,4
20	18,5409	18,1455	21,0987	19,2617	1,6031	8,3

Tabla 4-26. Evaluación de la precisión intermedia del método para plomo con diferentes analistas.

PRECISIÓN INTERMEDIA MÉTODO PLOMO (DIFERENTES ANALISTAS)					
CONCENTRACIÓN [µg/L]	CONCENTRACIÓN OBTENIDA		Promedio	Desviación estándar	C.V Método (%)
	Analista 1	Analista 2			
1	1,9865	1,9322	1,9593	0,0384	2,0
8	6,1655	6,2344	6,1999	0,0487	0,8
15	10,8870	11,7643	11,3256	0,6203	5,5
20	18,5409	18,1455	18,3432	0,2796	1,5

En las tablas 4-25 y 4-26 se observa que para los 4 niveles de concentración (2, 6 10 y 20 ug/L) se cumple el parámetro de precisión intermedia (análisis realizado en diferentes días y por diferentes analistas), ya que los coeficientes de variación obtenidos para el método, se encuentran por debajo del 10%.

Por otra parte, se realizó una comparación de datos mediante análisis de varianza ANOVA para cada uno de los niveles de concentración, con el fin de determinar que no existe variación entre días y analistas, entre sí. Las hipótesis planteadas para cada nivel fueron las siguientes:

Hipótesis nula (H0): No existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos (sistema y método) para el nivel de concentración (2, 6, 10 y 20 ug/L).

Hipótesis alterna (H1): Existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos (sistema y método) para el nivel de concentración (2, 6, 10 y 20 ug/L).

Los resultados del análisis de varianza ANOVA se consignan en la siguiente tabla:

Tabla 4-27. Análisis de varianza ANOVA para la precisión intermedia del sistema y el método para plomo.

Concentración (ug/L)	F calculado	F crítico	
		Sistema	Método
2	4,45	0,08	0,70
6		0,44	0,02
10		0,02	0,70
20		0,48	0,40

En la tabla 4-27 se observa que los F calculados para cada uno de los niveles de concentración, tanto en el sistema como en el método, son menores al F crítico, por lo cual se aceptan las hipótesis nulas de cada concentración, indicando que no existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos en el mismo día, diferentes días y diferentes analistas.

En algunos casos, los coeficientes de variación de la repetibilidad fueron mayores que los obtenidos para la precisión intermedia, probablemente por el material aforado empleado, la dispensación de volúmenes a partir de las micropipetas, o el estado de los tubos de grafito instalados en el equipo, que pueden generar variaciones en los resultados, debido al desgaste, lo que requiere que se lleve a cabo el cambio, una vez se detecten absorbancias no correspondientes con lo esperado.

Adicional a lo anterior se realizó la evaluación de la presión intermedia (diferentes días, mismo analista) a partir de cinco muestras seleccionadas al azar (058, 063, 065, 066 y 067), de las cuales se prepararon dos réplicas de manera individual y fueron analizadas

dentro en corridas analíticas de dos días diferentes. Los resultados obtenidos se encuentran consignados en la siguiente tabla:

Tabla 4-28. Evaluación de la precisión intermedia para plomo (mismo analista, diferentes días) con muestras.

Muestra	Concentración (ug/L)		Promedio	C.V
	Día 1	Día 2		
058	2,1583	2,3128	2,2356	4,9
063	4,6995	5,0698	4,8847	5,4
065	9,4582	10,3655	9,9119	6,5
066	9,0102	9,9601	9,4852	7,1
067	10,4408	11,3259	10,8834	5,8

En la tabla 4-28 se observa que el coeficiente de variación para todos los casos es inferior al 10%, lo que permite confirmar a través del análisis de muestras reales, que el método goza de precisión para el análisis de plomo.

e. Exactitud

La exactitud de una medición expresa la proximidad de un resultado obtenido al ser comparado con el valor considerado como real o verdadero. Una de las formas de determinar la exactitud se basa en la evaluación de la veracidad que se entiende como la proximidad de la media de un número infinito de resultados, producidos por el método, a un valor de referencia (Eurachem, 2016). Por su parte, la recuperación se entiende como la fracción del analito agregado a la muestra (muestra fortificada) antes del análisis, al ser analizadas muestras fortificadas y sin fortificar. La recuperación permite ver el rendimiento de un método analítico respecto al proceso de extracción del analito de interés en la muestra original, por lo cual está intrínsecamente relacionada con las características de la matriz (ISPCH I. d., 2010).

Para el sistema, dicha evaluación de veracidad se realizó a través del cálculo de porcentaje de recuperación relativa o aparente $R(\%)$, empleando la siguiente fórmula:

$$R(\%) = \frac{\text{Conc. obtenida} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{L}}\right)}{\text{Conc. real} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{L}}\right)} * 100$$

Se prepararon soluciones de 5, 10 y 15 $\mu\text{g/L}$ (3 soluciones para cada nivel de concentración), de acuerdo a lo descrito en el numeral 3.2.6 literal c, referente a la fortificación para el 50, 100 y 150% respecto al valor de referencia establecido para el plomo (1 mg/kg). Las recuperaciones del sistema para estos niveles de concentración se indican en la siguiente tabla:

Tabla 4-29. Porcentajes de recuperación de plomo obtenidos para el sistema.

Concentración Verdadera ($\mu\text{g/L}$)	Concentración Hallada ($\mu\text{g/L}$)	% Recuperación	Promedio	Desv. Est. Promedio
5	4,6532	93,1	100,8	8,8809
	5,1864	103,7		
	4,4907	89,8		
	5,389	107,8		
	5,4806	109,6		
10	9,2315	92,3	99,4	4,3049
	9,4423	94,4		
	10,2563	102,6		
	10,0987	101,0		
	9,7652	97,7		
15	13,8907	92,6	98,1	9,7188
	14,0122	93,4		
	15,7895	105,3		
	16,7002	111,3		
	13,2209	88,1		

En la tabla 4-29 se observa que los porcentajes de recuperación oscilan entre 98,1 y 100,8%, lo cual está acorde con la Decisión 567 de 2002 de la Comunidad Europea, indicando que el sistema goza de exactitud para el análisis de plomo.

Para la evaluación de la exactitud del método, se prepararon muestras fortificadas con el fin de calcular la recuperación relativa de adiciones $R'(\%)$. Los fortificados se prepararon de acuerdo a lo descrito en el apartado de metodología en el numeral 3.2.6 literal c. Teniendo en cuenta que el valor de referencia asumido para plomo fue de 1 mg/kg , las

fortificaciones se hicieron al 50, 100 y 150%, es decir a niveles de 0.5, 1.0 y 1,5 mg/kg, que en niveles de concentración, para las condiciones del análisis, corresponden a 5, 10 y 15 ug/L de plomo.

Las fortificaciones se realizaron sobre 5 muestras de productos fitoterapéuticos seleccionadas al azar, a las cuales se les adicionó cantidades conocidas de plomo a partir de la solución de fortificación de 5 mg/L (para el 50, 100 y 150%). El $R'(\%)$ se calculó a partir de la siguiente fórmula:

$$R'(\%) = \frac{\text{Diferencia cantidades (mg)}}{\text{Cantidad adicionada (mg)}} * 100$$

La diferencia de cantidades correspondió al resultado de la resta de la cantidad obtenida en mg para las muestras fortificadas (50, 100 y 150%) menos la cantidad obtenida para las muestras sin fortificación. Por su parte, la cantidad adicionada correspondió a la cantidad con la que se fortificó cada muestra, calculada a partir del producto de la concentración de la solución de fortificación (5 mg/L) y el volumen tomado de dicha solución para llevar a cabo la adición de plomo. Los datos se relacionan en la tabla 4-30.

Tabla 4-30. Porcentajes de recuperación de plomo obtenidos para el método.

Muestra	Peso (g)	Vol. (L)	Plomo (ug/L)	Cantidad Pb (mg)	Diferencia Pb (mg)	Solución fortificación (mg/L)	Volumen tomado (L)	Cantidad adicionada (mg)	R'(%)
018	0,5069	0,05	2,0394	0,00010	0,00000	5	0	0	-
018 F50%	0,5032	0,05	6,9987	0,00035	0,00025	5	0,00005	0,00025	99,2
018 F100%	0,5018	0,05	10,4591	0,00052	0,00042	5	0,00010	0,00050	84,2
018 F150%	0,5045	0,05	17,6321	0,00088	0,00078	5	0,00015	0,00075	103,9
023	0,5075	0,05	2,1841	0,00011	0,00000	5	0	0	-
023 F50%	0,5073	0,05	7,3546	0,00037	0,00026	5	0,00005	0,00025	103,4
023 F100%	0,5008	0,05	12,99164	0,00065	0,00054	5	0,00010	0,00050	108,1
023 F150%	0,5016	0,05	19,7789	0,00099	0,00088	5	0,00015	0,00075	117,3
050	0,5066	0,05	2,7381	0,00014	0,00000	5	0	0	-
050 F50%	0,5092	0,05	7,3521	0,00037	0,00023	5	0,00005	0,00025	92,3
050 F100%	0,5011	0,05	13,5821	0,00068	0,00054	5	0,00010	0,00050	108,4
050 F150%	0,5027	0,05	18,7161	0,00094	0,00080	5	0,00015	0,00075	106,5
075	0,504	0,05	2,5699	0,00013	0,00000	5	0	0	-
075	0,5078	0,05	6,9059	0,00035	0,00022	5	0,00005	0,00025	86,7

F50%									
075 F100%	0,5013	0,05	12,0159	0,00060	0,00047	5	0,00010	0,00050	94,5
075 F150%	0,5007	0,05	18,7539	0,00094	0,00081	5	0,00015	0,00075	107,9
098	0,5034	0,05	1,4483	0,00007	0,00000	5	0	0	-
098 F50%	0,5009	0,05	5,6223	0,00028	0,00021	5	0,00005	0,00025	83,5
098 F100%	0,5093	0,05	10,5803	0,00053	0,00046	5	0,00010	0,00050	91,3
098 F150%	0,5036	0,05	17,9863	0,00090	0,00083	5	0,00015	0,00075	110,2

En la tabla 4-30 se observa que los porcentajes de recuperación del método oscilan entre 83,5 y 117,3%, rango que excede los límites de los establecido por la Decisión 567 de 2002, sin embargo se considera una recuperación aceptable debido a las características de la matriz y el método de digestión empleado. Con esto se concluye que el método goza de exactitud para el análisis de plomo, teniendo en cuenta los límites máximos de recuperación dados por FDA, que pueden encontrarse entre 80 y 120% cuando se realiza a través de fortificados (FDA, 2014).

f. Efecto Matriz

El efecto matriz se define como el efecto combinado de todos los componentes de una muestra distintos al analito en la medida de una cantidad. Así, si un componente específico puede ser identificado como causante de un efecto, entonces corresponde a una interferencia (IUPAC, 2014).

La evaluación del efecto matriz se realizó mediante la comparación de las funciones de calibración obtenidas para el sistema y para el método. Para esto se empleó un test de análisis de varianzas ANOVA, en el cual se compararon las medias de las pendientes de ambas funciones de calibración para establecer si existía alguna diferencia estadísticamente significativa. Las hipótesis del test fueron las siguientes:

Hipótesis nula (H0): $b_1=b_2$; $F_{cal} < F_{tab}$. Si t calculado es menor al t tabulado, se acepta la hipótesis nula, es decir no existen diferencia significativa entre las medias de las pendientes obtenidas para el sistema y del método.

Hipótesis alterna (H1): $b_1 \neq b_2$; $F_{cal} \geq F_{tab}$. Si t calculado es mayor o igual al t tabulado, se rechaza la hipótesis nula, es decir existe diferencia significativa entre las medias de las pendientes obtenidas para el sistema y el método.

Los resultados obtenidos para la comparación de las pendientes se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 4-31 Análisis de varianza ANOVA para la comparación de pendientes del sistema y el método para análisis de plomo.

No.	PENDIENTES SISTEMA	PENDIENTES MÉTODO
1	0,0199	0,0190
2	0,0205	0,0168
3	0,0206	0,0218
4	0,0217	0,0219
5	0,0213	0,0289
6	0,0223	0,0235
Media	0,0211	0,0220

Fuente de Varianza	Grados Libertad	Suma Cuadrados	Cuadrados Medios	F. Calculado	F. teórico
Tratamiento	1	2,43E-06	2,43E-06	0,27	4,96
Error	10	9,0007E-05	9,0007E-06		
Total	11	9,2437E-05			

Se evidencia que el F calculado es menor al F tabulado, por lo cual se acepta la hipótesis nula indicando que no existe diferencia significativa entre las pendientes obtenidas para el sistema y el método, lo que permite concluir que no existe efecto generado por la matriz en el análisis de plomo en productos fitoterapéuticos.

g. Efecto Memoria

El efecto memoria, arrastre o *carry over* se define como la aparición de una señal causada por la contaminación de una inyección previa o anterior.

El efecto memoria se evaluó con el fin de determinar que no existe arrastre del analito de interés entre una muestra y la siguiente, evitando la sobreestimación de un resultado. Se trató de una verificación adicional debido a que el instrumento analítico cuenta con un sistema de limpieza interno del sistema capilar que se activa entre muestras. Esta verificación se realizó mediante la lectura de tres muestras de un blanco, posterior a la medición del estándar de mayor concentración de la curva de calibración (20 ug/L). La lectura de blancos se realizó en tres días y se comparó con la lectura obtenida por el punto más bajo de la curva (2 ug/L), como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 4-32. Evaluación del Efecto Memoria del Método para Plomo.

	Concentración (ug/L)	Respuesta (Abs)	Porcentaje Respuesta Respecto al Punto Bajo
Día 1	20	0,3993	
	2	0,0650	
	Blanco 1	0,0107	16,5
	Blanco 2	0,0117	18,0
	Blanco 3	0,0115	17,7
Día 2	20	0,3544	
	2	0,0601	
	Blanco 1	0,0101	16,8
	Blanco 2	0,0089	14,8
	Blanco 3	0,0097	16,1
Día 3	20	0,4546	
	2	0,0719	
	Blanco 1	0,0096	13,4
	Blanco 2	0,0109	15,2
	Blanco 3	0,0104	14,5

Como se observa en la tabla 4-32, la respuesta de los blancos medidos posterior a la inyección del estándar de calibración de concentración más alta (20 ug/L), no excede el 20% de la respuesta obtenida por el punto más bajo de la calibración (2 ug/L), cumpliendo con lo establecido por diversas guías de validación en las que se indica que el efecto *carry over* no debe superar el 20% del punto más bajo de calibración (ISPCH, 2005), por lo cual el método no cuenta con efecto de arrastre y los sistemas de limpieza instrumental son suficientes para el análisis continuo de muestras. Sin embargo, es recomendable programar un blanco cada grupo de 3 muestras para asegurar que no se presente dicho efecto.

h. Estabilidad

- Estabilidad de las soluciones preparadas en ácido nítrico

Se evaluó la estabilidad de las soluciones de 2 y 20 ug/L (punto más bajo y más alto de la calibración , respectivamente) a las 24 horas, 72 horas, 1 semana y 4 semanas, almacenadas bajo condiciones de refrigeración a 2-8°C con el fin de establecer el tiempo máximo de almacenamiento de los estándares de calibración. Las soluciones previamente mencionadas se analizaron durante las corridas analíticas y se evaluó el porcentaje de recuperación de la concentración inicial obtenido a lo largo del tiempo de almacenamiento, mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Recuperación Conc. Inicial} = \frac{\text{Concentración hallada}}{\text{Concentración inicial}} * 100$$

Cabe resaltar que, como se indicó previamente en la metodología, las soluciones de calibración se prepararon en ácido nítrico al 10%, lo cual ayuda a la conservación del metal a concentraciones al nivel de partes por billón.

En las siguientes tablas se muestran los porcentajes de recuperación la concentración inicial, así como los coeficientes de variación, obtenidos para las soluciones de 2 y 20 ug/L en los diferentes tiempos:

Tabla 4-33. Evaluación de la estabilidad de la solución de 2 ug/L de plomo.

Tiempo	Concentración (ug/L)	Promedio	C.V	% Recuperación
0 horas	2,1545	-	-	-
24 horas	2,0756	2,1151	2,6	96,34
72 horas	1,9562	2,0554	6,8	90,80
1 semana	1,9123	2,0334	8,4	88,76
4 semanas	1,7522	1,9534	14,6	81,33

Tabla 4-34. Evaluación de la estabilidad de la solución de 20 ug/L de plomo.

Tiempo	Concentración (ug/L)	Promedio	C.V	% Recuperación
0 horas	20,9502			
24 horas	19,6854	20,3178	4,4	93,96

72 horas	19,6123	20,2813	4,7	93,61
1 semana	18,2569	19,6036	9,7	87,14
4 semanas	17,0658	19,0080	14,5	81,46

Como se observa en las tablas 4-33 y 4-34, las mediciones de las soluciones de 2 y 20 ug/L, en todos los tiempos, muestran porcentajes de recuperación aceptables, evidenciando que a medida que transcurre el tiempo, ocurre un ligero descenso respecto a la concentración hallada en el tiempo cero. A pesar de obtener porcentajes de recuperación adecuados, se observa que para el tiempo de 4 semanas, los coeficientes de variación superan el 10%, por lo cual se recomienda, que las soluciones se almacenen durante un máximo de 1 semana bajo condiciones de refrigeración (2-8°C) en frascos de polipropileno debidamente tapados. La estabilidad no fue evaluada a temperatura ambiente.

- **Estabilidad de las Muestras Posterior a la Digestión**

Adicional a la evaluación de estabilidad previamente descrita, se realizó el seguimiento del comportamiento de las concentraciones recuperadas de 3 muestras (001, 015 y 058), posterior a la digestión, con el fin de conocer el tiempo máximo de almacenamiento de las muestras bajo condiciones de refrigeración (2-8°C), una vez preparadas para el análisis. Los resultados de porcentaje de recuperación y coeficiente de variación se muestran en las siguientes tablas:

Tabla 4-35. Evaluación de la estabilidad del plomo en la muestra 001.

Estabilidad Muestra 001				
Tiempo	Concentración (ug/L)	Promedio	C.V	% Recuperación
0 horas	20,2379	-	-	-
24 horas	18,6879	19,4629	5,6	92,34
72 horas	17,8265	19,0322	9,0	88,08
1 semana	18,2312	19,2346	7,4	90,08
4 semanas	16,2230	18,2305	15,6	80,16

Tabla 4-36. Evaluación de la estabilidad del plomo en la muestra 015.

Estabilidad Muestra 015				
Tiempo	Concentración (ug/L)	Promedio	C.V	% Recuperación
0 horas	6,1723	-	-	-
24 horas	5,9652	6,0688	2,4	96,64
72 horas	5,6908	5,9316	5,7	92,20
1 semana	5,1326	5,6525	13,0	83,16
4 semanas	4,8902	5,5313	16,4	79,23

Tabla 4-37. Evaluación de la estabilidad del plomo en la muestra 058.

Estabilidad Muestra 058				
Tiempo	Concentración (ug/L)	Promedio	C.V	% Recuperación
0 horas	2,1583	-	-	-
24 horas	2,0895	2,1239	2,3	96,81
72 horas	1,8563	2,0073	10,6	86,01
1 semana	1,8103	1,9843	12,4	83,88
4 semanas	1,7636	1,9610	14,2	81,71

Como se observa en las tablas 4-35 a 4-37, las muestras digestadas presentan una buena recuperación durante todos los tiempos de almacenamiento, sin embargo, la muestra 058, arrojó un coeficiente de variación superior a 10% en el tiempo de 72 horas, siendo esta la muestra con el nivel de plomo más bajo encontrado entre las tres evaluadas. Esto permite concluir, que pasadas 72 horas, no es posible asegurar una buena reproducibilidad de los resultados obtenidos con una muestra recién preparada, a pesar de mantenerse bajo condiciones de refrigeración. Se evidencia que el comportamiento de las soluciones almacenadas es diferente cuando se trata de muestras digestadas respecto a estándares preparados en ácido nítrico, posiblemente por el tratamiento al que ha sido sometido la matriz previamente. Se concluye que las muestras para la determinación de plomo, una vez sometidas al proceso de digestión, deben ser analizadas inmediatamente o dentro de las próximas 24 horas si se mantienen refrigeradas; posterior a este tiempo, no es posible asegurar reproducibilidad en los datos obtenidos.

i. Estimación de la Incertidumbre

La incertidumbre se define como un parámetro asociado con el resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que podrían ser atribuidos razonablemente al mesurando (Eurachem, 2000).

Para la estimación de la incertidumbre es necesario saber que esta tiene diversos componentes que provienen de muchas fuentes posibles como son (Eurachem, 2000):

- Extracción incompleta y/o preconcentración del mesurando.
- Efectos de matriz e interferencias.
- Contaminación durante el muestreo o en la preparación de la muestra.
- Sesgo debido al personal.
- Incertidumbre de pesadas y de equipo volumétrico.
- Valores asignados a estándares de medición o materiales de referencia.
- Variación aleatoria.

Asimismo, para la estimación de la incertidumbre se requiere seguir los siguientes pasos (Eurachem, 2000):

- Especificación: Consiste en identificar claramente qué está siendo medido, incluyendo la relación entre el mesurando y los parámetros (cantidades medidas, constantes, patrones de calibración, etc.) de los cuales depende.
- Identificación de las fuentes de incertidumbre: Consiste en listar las posibles fuentes de incertidumbre.
- Cuantificación de los componentes de la incertidumbre: Consiste en medir o estimar el tamaño de la incertidumbre asociada con cada fuente identificada.
- Cálculo de la incertidumbre total: Consiste en combinar los componentes de incertidumbre identificados expresados como desviaciones estándar y aplicar el factor de cobertura apropiado para dar una incertidumbre combinada expandida.

De acuerdo a lo anterior, se siguieron los pasos citados estableciendo para cada uno lo que se indica a continuación:

- Especificación

El analito de interés es plomo, que se determinó en muestras de productos fitoterapéuticos sólidos (comprimidos y capsulas duras). La matriz correspondió al producto en cuestión sometido a un proceso de digestión ácida asistida por calor. El proceso analítico completo se describe en el siguiente diagrama:

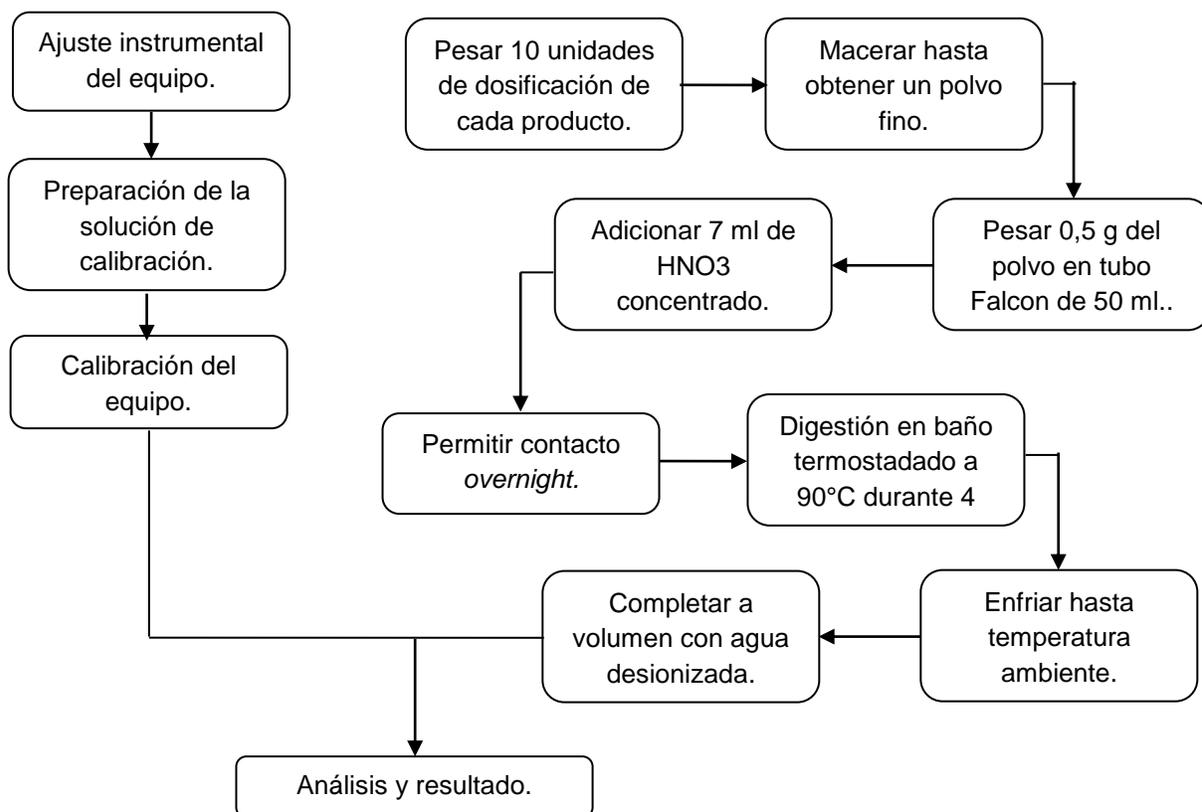


Figura 4-16. Diagrama de flujo para el análisis de plomo en productos fitoterapéuticos

El resultado arrojado por el equipo se da en unidades de microgramo por litro (ug/L). Este dato se obtiene de la interpolación de la absorbancia medida, en la curva de calibración obtenida. El dato se convierte a unidades de miligramo por kilogramo (mg/kg), teniendo en cuenta el peso de la muestra sometido a digestión, mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Cantidad Pb} \left(\frac{mg}{kg} \right) = \frac{\text{Concentración} \left(\frac{\mu g}{L} \right) * \text{Volumen final (L)}}{\text{Peso Muestra (g)}}$$

- Identificación de las fuentes de incertidumbre

Las fuentes de incertidumbre se identificaron a través de un diagrama de causa-efecto o diagrama Ishikawa. Este diagrama, también llamado diagrama de espina de pescado, es una herramienta útil para identificar los parámetros influyentes en una metodología que aportan a la incertidumbre de la medida, mediante el dibujo de esta estructura. Se realiza mediante flechas de primer orden, segundo, y si es necesario causas de ordenes más altos que van desde las causas (por ejemplo la repetibilidad de una pipeta) hasta los efectos (el resultado analítico) (Meyer V, 2007). El diagrama planteado para la determinación de plomo se muestra a continuación:

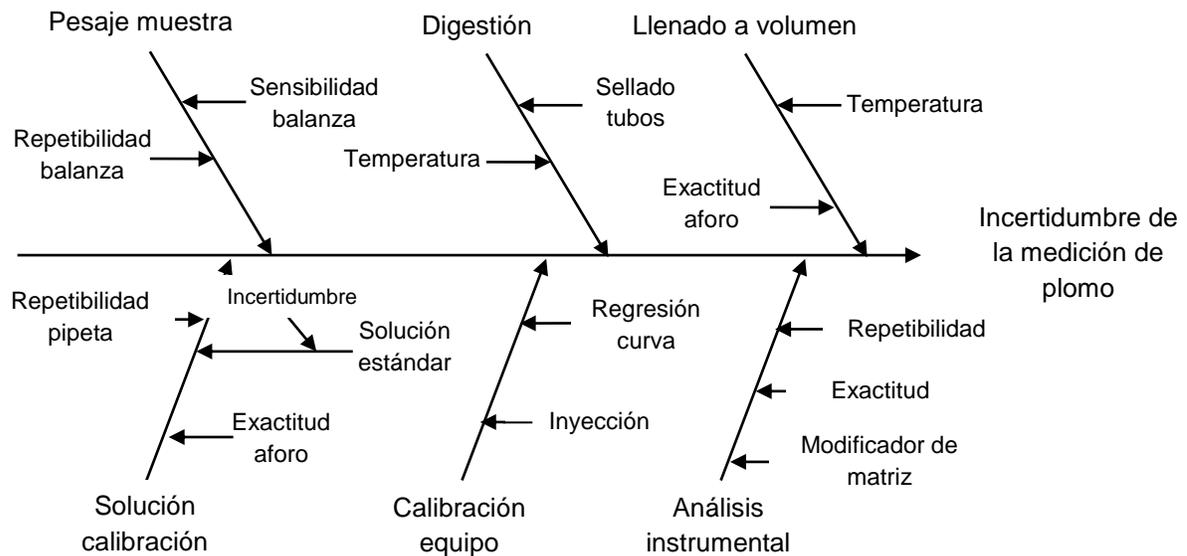


Figura 4-17. Diagrama de Ishikawa para la identificación de fuentes de incertidumbre en la medición de plomo en productos fitoterapéuticos. Tomado y adaptado de: Meyer V. (2007). *Diagrama de Ishikawa con las fuentes de incertidumbre de la incertidumbre de una medición.* En Meyer V., *Measurement Uncertainty, J. Chromatogr. A, Vol. 1158, p. 18*

De acuerdo a lo descrito en el diagrama de Ishikawa, se establecieron como las principales fuentes de incertidumbre el análisis instrumental, refiriéndose al resultado

obtenido en el equipo en unidades de ug/L, resultado que contiene a su vez, la calibración del equipo, y por otra parte, la balanza, teniendo en cuenta que el resultado final se reporta como mg del metal por kg de la muestra.

Se empleó un cálculo de incertidumbre basado en la información dada por el fabricante del patrón de la solución estándar de plomo, los balones aforados empleados, los tubos Falcon y las pipetas automáticas.

Este tipo de cálculo de incertidumbre se conoce como Tipo B, y se utiliza cuando la estimación de una magnitud de entrada no ha sido obtenida a partir de observaciones repetidas. La varianza estimada asociada o la incertidumbre típica se obtiene mediante decisión científica basada en la información disponible acerca de la variabilidad posible de la magnitud (Pérez M, 2012). Dicha información puede consistir en:

- Resultados de medidas anteriores,
- La experiencia o conocimiento general del comportamiento y propiedades de los materiales y los instrumentos utilizados,
- Las especificaciones del fabricante,
- Los datos suministrados por certificados de calibración u otros certificados,
- La incertidumbre asignada a valores de referencia procedentes de libros y manuales (Pérez M, 2012).

Según la fuente de la que se obtiene esta incertidumbre tipo B, esta se estima de distinta manera, generalmente dividiendo la incertidumbre expandida dada en el certificado de calibración por el factor de cobertura indicado, expresado mediante la siguiente relación (Pérez M, 2012):

$$u(p) = \frac{U(p)}{k}$$

Donde,

u corresponde a la incertidumbre típica,

U corresponde a la incertidumbre expandida reportada y,

K corresponde al factor de cobertura

De acuerdo a lo anterior, las fuentes de incertidumbre se clasificaron en tres grupos: instrumentales, preparación del estándar analítico y preparación de las muestras, y sus contribuciones se pueden ver en la tabla 4-38.

Tabla 4-38. Fuentes de Incertidumbre del método analítico

Fuentes de Incertidumbre	Contribuciones
Instrumental	Curva de calibración
Preparación del patrón analítico	Pureza del estándar de plomo
	Material aforado (Balones de 50 y 100 ml)
	Micropipetas (100 y 1000 uL)
Preparación de las muestras	Balanza analítica
	Tubos Falcon

- **Cuantificación de los componentes de la incertidumbre**

a. Instrumental (curva de calibración)

De acuerdo a lo descrito en la tabla ..., para la cuantificación de la incertidumbre debida al análisis instrumental, en este caso la curva de calibración, se emplea la siguiente fórmula:

$$u(C_o) = \frac{S}{m} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_o - \bar{C})^2}{S_{xx}}}$$

Donde:

S= Desviación estándar de los residuales

m= Pendiente de la curva de calibración

p= Réplicas de la curva de calibración

n= Niveles de la curva de calibración

Co= Concentración del analito

\bar{C} = Promedio de las concentraciones de la curva de calibración

Sxx= Suma de cuadrados de x

Los datos relacionados con la cuantificación de esta fuente de incertidumbre se encuentran en el Anexo 6. Se obtuvo como resultado un valor de incertidumbre relativa de la curva de calibración (UR C.C) de 0,0869.

b. Preparación del patrón analítico

Incertidumbre asociada a la pureza del estándar

Para esta fuente se realizó una estimación de incertidumbre tipo B, basada en la información obtenida del certificado de análisis del estándar de plomo. En este caso se usa la distribución o forma rectangular (Ver figura 4-18), cuya aplicación se recomienda cuando un certificado da unos límites sin especificar el nivel de confianza, es decir que se ha hecho una estimación en forma de un rango máximo ($\pm a$), sin conocimiento de la forma de distribución (Eurachem, 2000), es decir, se puede presentar cualquier valor dentro del rango calculado con la misma probabilidad. Para esta distribución el factor de cobertura es igual a 3. Se tuvo en cuenta la información del certificado de análisis del estándar de plomo correspondiente al Anexo 6.

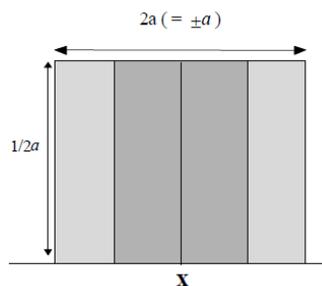


Figura 4-18. Distribución rectangular en incertidumbre tipo B. Tomado de: Eurachem. (2000). *Diagrama forma distribución rectangular*. En Eurachem., Cuantificación de la Incertidumbre en Mediciones Analíticas. *Primera Edición*, p. 76

Para la estimación de esta fuente de incertidumbre se empleó la siguiente fórmula:

$$UE P = \frac{a}{\sqrt{3}} = \frac{4}{1,7320} = 2,3094$$

Donde:

$UE P$ = Incertidumbre estándar asociada a la pureza del patrón.

a = Incertidumbre reportada en el certificado de calibración

La incertidumbre relativa ($UR P$) se calculó dividiendo la incertidumbre estándar en la magnitud reportada para el estándar:

$$UR P = \frac{2,3094}{1000} = 0,0023$$

Incertidumbre asociada al material aforado

Para esta fuente se realizó una estimación de incertidumbre tipo B, basada en la información declarada en el material de vidrio. En este caso se usa la distribución o forma triangular (Ver figura 4-19), cuya aplicación se recomienda cuando la información disponible referida a la magnitud está más delimitada que en una distribución rectangular, por lo tanto los valores cercanos a X son más probables que los próximos a los límites. Así, se cuenta con una estimación en forma de rango máximo ($\pm a$) descrito por una distribución simétrica (Eurachem, 2000). Esta distribución aplica para el material que permita la medida de volumen, debido a que su gradación o calibración, permite que los valores medidos sean más cercanos a la magnitud X que a los extremos del rango de incertidumbre. Para este caso, el factor de cobertura es igual a 6.

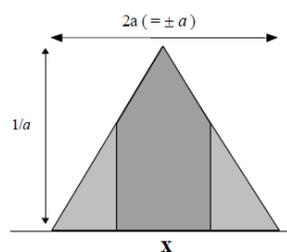


Figura 4-19. Distribución triangular en incertidumbre tipo B. Tomado de: Eurachem. (2000). *Diagrama forma distribución triangular*. En Eurachem., *Cuantificación de la Incertidumbre en Mediciones Analíticas. Primera Edición, p. 76*

Para la estimación de esta fuente de incertidumbre se empleó la siguiente fórmula:

$$UE MA = \frac{a}{\sqrt{6}} = \frac{0,1}{2,4495} = 0,0408$$

Donde:

$UE MA$ = Incertidumbre estándar asociada al material aforado.

a = Incertidumbre declarada en el balón aforado de 100 ml.

La incertidumbre relativa ($UR MA$) se calculó dividiendo la incertidumbre estándar en la magnitud reportada para el balón:

$$UR MA = \frac{0,0408}{100} = 0,0004$$

Se aplicaron las mismas fórmulas para el balón aforado de 50 ml obteniendo una incertidumbre relativa de 0,0005.

Incertidumbre asociada a las micropipetas

Para las micropipetas se aplicó la distribución rectangular, obteniendo una incertidumbre relativa ($UR MP$) de 0,0020 para la de 100 μ L y 0,0012 para la de 1000 μ L. Los datos se encuentran en el Anexo 8.

c. Preparación de las muestras

Incertidumbre asociada a los Tubos Falcon

Debido a que los tubos Falcon no cuentan con incertidumbre declarada ni certificado de calibración, se realizó una estimación de incertidumbre tipo A, mediante una serie de 10 verificaciones del volumen de llenado a la gradación de 50 ml, mediante el peso obtenido con agua, asumiendo densidad de 1 g/ml (Los datos de la verificación se encuentran en el Anexo 9). Se aplicó la siguiente fórmula para obtener la incertidumbre estándar:

$$UE TF = \frac{Desv. Est.}{\sqrt{10}} = \frac{0,1341}{3,1623} = 0,0424$$

Donde:

$UE TF$ = Incertidumbre estándar asociada a los tubos Falcon.

Desv. Est.= Desviación estándar obtenida para las 10 mediciones.

Por su parte, la incertidumbre relativa (UR TF) se obtuvo dividiendo la UE TF en 50, obteniendo un valor de 0,0008.

Combinación de las incertidumbres relativas asociadas al análisis instrumental

Para la combinación de las incertidumbres relativas (adimensionales) halladas previamente se emplea la siguiente fórmula:

$$U \text{ combinada} = \sqrt{(UR C.C)^2 + (UR P)^2 + (UR MA)^2 + (UR MP)^2 + (UR TF)^2}$$

Los datos de las incertidumbres relativas, los cuadrados de cada una y el cálculo de la incertidumbre combinada se encuentran consignados en la siguiente tabla:

Tabla 4-39 Cálculo de la incertidumbre combinada debida al análisis instrumental para plomo.

Fuente	Incertidumbre relativa (UR)	Cuadrado de la incertidumbre relativa (UR ²)
Curva de calibración (C.C)	0,0869	0,0076
Pureza del patrón (P)	0,0023	0,0000
Material aforado (MA) - Balón 100 ml	0,0004	0,0000
Material aforado (MA) - Balón 50 ml	0,0005	0,0000
Micropipeta (MP) - 100 uL	0,0020	0,0000
Micropipeta (MP) - 1000 uL	0,0012	0,0000
Tubos Falcon (TF)	0,0008	0,0000
Suma de los cuadrados	-	0,0076
U combinada relativa	-	0,0870

Incertidumbre asociada a la balanza analítica

Se determinó la incertidumbre aportada por la balanza analítica teniendo en cuenta tres fuentes importantes relacionadas a cualquier instrumento de medida, que corresponden a:

- Incertidumbre por repetibilidad,

- Incertidumbre debida a la resolución,
- Incertidumbre debida al patrón de medida (Pérez M, 2012).

Los datos se tomaron a partir del certificado de verificación de la balanza empleada (Anexo 10).

La incertidumbre de la repetibilidad se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$U_{rep} = \frac{S * t}{\sqrt{n}} = \frac{0 * 2,32}{\sqrt{10}} = 0$$

Donde:

S= Desviación estándar de la repetibilidad de la masa patrón.

t= t tabulado de la distribución t-student para n-1 grados de libertad

n= Número de repeticiones hechas con la masa patrón

El valor de t tabulado se obtuvo de la siguiente tabla:

Extracto de la tabla G.2 GUM **(Traducción libre)**
 Valor de $t_p(v)$ para la distribución t para v grados de libertad definidos en el intervalo de $-t_p(v)$ a $t_p(v)$ comprende una fracción de p de la distribución.

Grados de libertad v	Fracción de p en porcentaje		
	68,27	95,45	99,73
1	1,84	13,97	235,80
2	1,32	4,53	19,21
3	1,20	3,31	9,22
4	1,14	2,87	6,62
5	1,11	2,65	5,51
6	1,09	2,52	4,90
7	1,08	2,43	4,53
8	1,07	2,37	4,28
9	1,06	2,32	4,09
10	1,05	2,28	3,96

Figura 4-20. Tomado de: Pérez M. (2012). *Valor de t para la distribución para n-1 grados de libertad* [Tabla]. En Pérez M.,. Evaluación de Incertidumbres Guía GUM, *Revista Española de Metrología*. p. 117

Se tomó la masa verificada en el certificado, más cercana a la cantidad pesada para la preparación de las muestras (500 mg), que en este caso fue de 3 g. Según lo descrito en el certificado de calibración se realizaron 10 repeticiones sobre la masa patrón y la desviación estándar fue igual a cero, por lo cual no hay aporte de la repetibilidad.

La incertidumbre debida a la resolución se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$U_{res} = \frac{R}{2\sqrt{3}} = \frac{0,0001}{3,4641} = 2,8867 \times 10^{-5}$$

Donde:

R= Resolución de la balanza (obtenida de certificado de calibración)

La incertidumbre debida al patrón de medida se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$U_{p.m} = \frac{U_p}{k} = \frac{0,0001}{2} = 0,0001$$

La incertidumbre combinada para la balanza analítica se calculó aplicando la misma fórmula descrita para la combinación de las fuentes del análisis instrumental, teniendo en cuenta los datos obtenidos de incertidumbre de la repetibilidad, resolución y patrón de medida. Por su parte, la incertidumbre relativa se obtuvo dividiendo la U combinada en la magnitud de la masa patrón con la que se realizó la verificación (3 g) Los datos se consignan en la siguiente tabla:

Tabla 4-40. Cálculo de la incertidumbre combinada debida a la balanza analítica.

Fuente	Incertidumbre fuente	Cuadrado de la incertidumbre (U ²)
Repetibilidad	0	0
Resolución	0,0000	0,0000
Patrón de medida	0,0001	0,0000
Suma de los cuadrados	-	0,0000
U combinada	-	5,7735 x 10 ⁻⁵
U combinada relativa	-	1,9245 x 10⁻⁵

- Cuantificación de la incertidumbre total

Para la cuantificación de la incertidumbre total se calculó la raíz cuadrada de la suma de cuadrados de la incertidumbre relativa del análisis instrumental y de la balanza analítica, tal como se mencionó previamente. La incertidumbre combinada se multiplicó por 2, conocido como factor de cobertura para un nivel de confianza del 95% que implica que el rango obtenido se moverá más o menos dos desviaciones estándar, obteniendo así la incertidumbre expandida. Los datos se consignan en la siguiente tabla:

Tabla 4-41. Cálculo de la incertidumbre total.

Fuente	Incertidumbre combinada (Uc)	Cuadrado de la incertidumbre (Uc ²)
Análisis instrumental	0,0870	0,0076
Balanza analítica	1,9245 x 10 ⁻⁵	3,7037 x 10 ⁻¹⁰
Suma de los cuadrados	-	0,0076
U estándar combinada	-	0,0870
U expandida	-	0,1740

Así, el valor de incertidumbre corresponde al factor 0,1740, que debe aplicarse a los resultados obtenidos en mg/kg, es decir la incertidumbre total para cada dato obtenido corresponde a:

$$U_{total} = \pm Nivel \left(\frac{mg}{Kg} \right) * 0,1740$$

El factor debe ser aplicado a cada valor de plomo obtenido en mg/kg.

4.2.2 Validación para Cadmio

a. Selectividad

Para el sistema, la selectividad se evaluó mediante la medición de una solución acuosa de cadmio de concentración conocida (1 ug/L) y cinco réplicas de la misma solución adicionadas con otros metales (plomo, cromo y hierro) de manera intencional, con el fin de evaluar la respuesta. Se analizaron las muestras adicionadas con metales, así como la solución sin adicionar. Se calculó el porcentaje de variación de la concentración obtenida

para cada una de las muestras adicionadas, con la fórmula empleada previamente para el plomo.

Los porcentajes de variación obtenidos se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 4-42. Selectividad del sistema para cadmio.

Concentración Cd (ug/L)	Concentración obtenida	Porcentaje variación (%)
1	1,1132	-
1 + interferencias	1,0708	3,81
1 + interferencias	1,0898	2,10
1 + interferencias	1,0665	4,20
1 + interferencias	1,0972	1,44
1 + interferencias	1,1605	4,25
1 + interferencias	1,1501	3,31

No se encontraron variaciones en la concentración respecto a la solución sin interferencias, superiores al 5%.

Para el método, se tomaron cinco muestras cuyas concentraciones fueron no detectables para cadmio, se adicionaron con los mismos metales (plomo, cromo y hierro) y se evaluó la respuesta instrumental. No se encontró variación en la respuesta instrumental, las concentraciones de las muestras adicionadas fueron no detectables.

De acuerdo a lo anterior, se concluye que el método para la determinación de cadmio es selectivo.

b. Rango de Trabajo y Linealidad

La linealidad del método analítico se estableció de acuerdo al nivel máximo permitido de cadmio en plantas medicinales (Decreto de 2264 de 2004 del Ministerio de Salud y Protección Social), equivalente a 0,30 mg/kg. A partir de este valor se establecieron los niveles de concentración para la curva de calibración.

Para el sistema se trabajó en un rango de calibración que se construyó con seis puntos, incluyendo al blanco y cinco niveles de concentración (0.2, 0.5, 1, 2 y 5 ug/L). Los patrones de calibración se prepararon en medio acuoso con ácido nítrico al 10%, según lo descrito en el numeral 3.2.3 literal b. Se prepararon 6 réplicas.

Tabla 4-43. Linealidad del sistema para cadmio

ANÁLISIS LINEALIDAD CADMIO - SISTEMA										
ESTÁNDAR[µg/L]	SEÑAL-ABSORBANCIA						Promedio	Desviación estándar	CV%	Y calculado
	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 4	LOTE 5	LOTE 6				
0,0	0,0025	0,0028	0,0027	0,0032	0,0029	0,0028	0,0028	0,0002	8,2	0,0028
0,2	0,0075	0,0079	0,0085	0,0081	0,0089	0,0085	0,0082	0,0005	6,1	0,0109
0,5	0,0151	0,0162	0,0149	0,0144	0,0166	0,0169	0,0157	0,0010	6,5	0,0230
1	0,0318	0,0331	0,0405	0,0351	0,0318	0,0374	0,0350	0,0035	9,9	0,0431
2	0,0756	0,0736	0,0799	0,0685	0,0702	0,0685	0,0727	0,0045	6,2	0,0834
5	0,1699	0,1596	0,1732	0,1653	0,1578	0,1402	0,1610	0,0118	7,3	0,2043

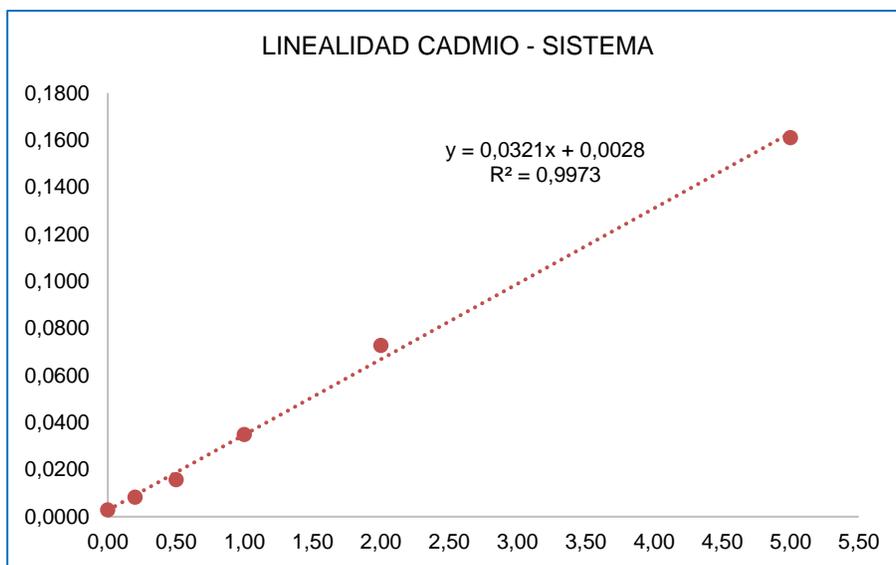


Figura 4-21. Gráfico de linealidad para cadmio – sistema.

Para el método se trabajó en el mismo rango de calibración construido con los seis puntos (blanco, 0.2, 0.5, 1, 2, y 5 ug/L) preparados en la matriz digestada según lo descrito en el numeral 3.2.6 literal e. La matriz digestada consistió en una muestra con contenido no

detectable de cadmio sometida al proceso de digestión ácida con calentamiento, a partir de la cual se prepararon los patrones de calibración. Se prepararon 6 réplicas.

Tabla 4-44. Linealidad del método para cadmio.

ANÁLISIS LINEALIDAD CADMIO - MÉTODO										
ESTÁNDAR[µg/L]	SEÑAL-ABSORBANCIA						Promedio	Desviación estándar	CV%	Y calculado
	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 4	LOTE 5	LOTE 6				
0,0	0,0036	0,0033	0,0032	0,0032	0,0033	0,0035	0,0034	0,0002	4,9	0,0028
0,2	0,0086	0,0099	0,0115	0,0093	0,0092	0,0104	0,0098	0,0010	10,5	0,0109
0,5	0,0163	0,0175	0,0184	0,0210	0,0143	0,0180	0,0176	0,0022	12,7	0,0230
1	0,0389	0,0472	0,0430	0,0376	0,0391	0,0334	0,0399	0,0047	11,9	0,0431
2	0,0823	0,0862	0,0779	0,0712	0,0725	0,0679	0,0763	0,0070	9,2	0,0834
5	0,1840	0,1912	0,1729	0,1627	0,1646	0,1560	0,1719	0,0135	7,9	0,2043

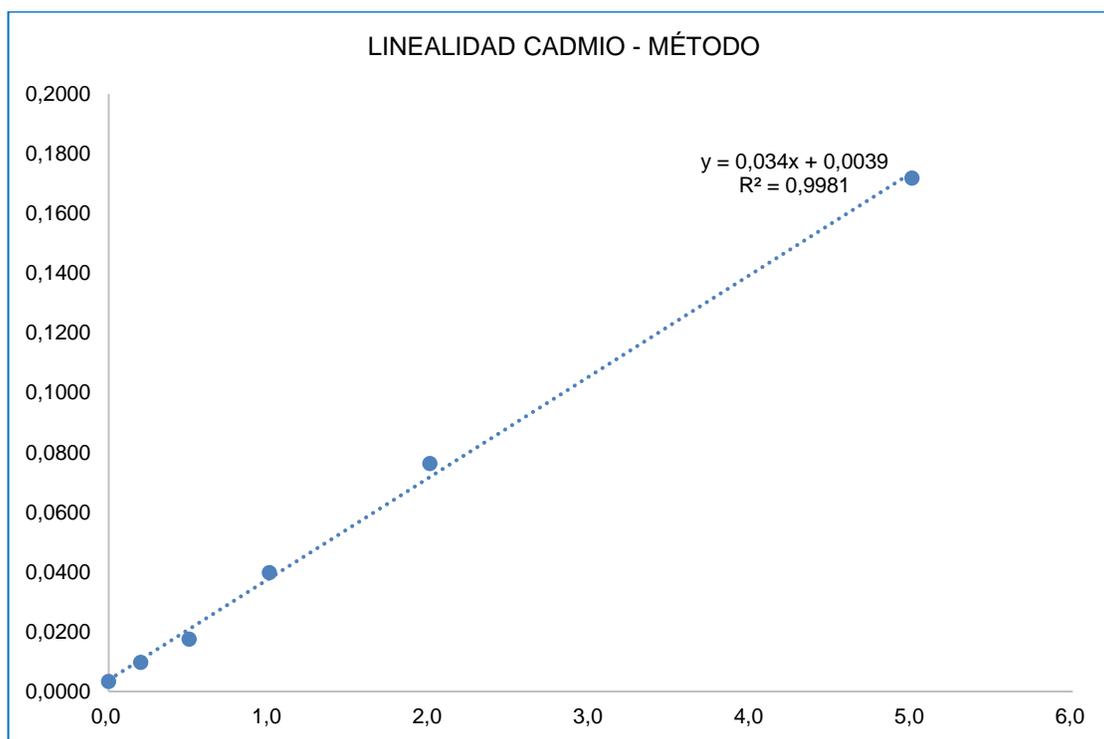


Figura 4-22. Gráfico de linealidad para cadmio – método.

Para la determinación de la linealidad se aplicaron las *pruebas t* para la pendiente, el intercepto y la correlación mediante los siguientes previamente mencionados en el numeral 4.2.1, literal b (validación para plomo – rango de trabajo y linealidad).

A continuación se relacionan los estadísticos calculados para la evaluación de la linealidad del sistema para cadmio, y los límites de confianza del intercepto y la pendiente, respectivamente. Los niveles de calibración fueron 5, y las réplicas 6, así el valor N correspondió a 30.

Tabla 4-45. Estadísticos de linealidad para el cadmio – sistema.

ESTADÍSTICOS LINEALIDAD SISTEMA CADMIO					
Pendiente	Intercepto	Coefficiente de determinación (R^2)	Coefficiente de correlación (R)	N	K
0,0321	0,0028	0,9973	0,9986	30	5
Error pendiente	Error intercepto				
0,0006	0,0014				

N : Producto de las réplicas por los niveles de calibración.

K : Niveles de calibración

Tabla 4-46. Límites de confianza para la pendiente y el intercepto para el cadmio – sistema.

LÍMITES DE PARA 95% CONFIANZA SISTEMA CADMIO					
Error Típico Pendiente	Error Típico Intercepto	Límite superior Pendiente	Límite inferior Pendiente	Límite superior Intercepto	Límite inferior Intercepto
0,0011	0,0028	0,0332	0,0310	0,0056	0,0000

Tabla 4-47. Resultados de las pruebas de significancia o pruebas de hipótesis para evaluación de la linealidad del sistema para cadmio.

PRUEBA DE SIGNIFICANCIA	t calculado	t tab	Criterio de aceptación	
Prueba de t Pendiente	57,38	1,7	$t_{cal} > t_{tab}$	La pendiente es significativamente diferente de cero
Prueba de t Intercepto	2,03	1,7	$t_{cal} < t_{tab}$	Intercepto no es significativamente diferente de cero
Prueba de t Correlación	136,17	1,7	$t_{cal} > t_{tab}$	Existe correlación lineal significativa

Adicionalmente, se construyó un gráfico con las señales de todas las réplicas por nivel de calibración con el fin de evaluar la regresión mediante análisis ANOVA.

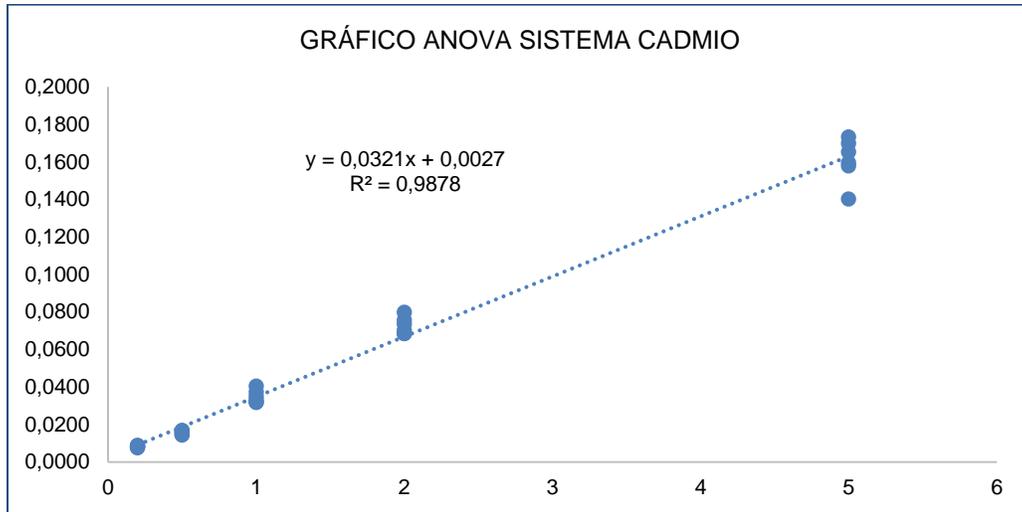


Figura 4-23. Gráfico de análisis ANOVA de regresión lineal para cadmio-sistema.

Tabla 4-48. Resultados del análisis ANOVA para la regresión lineal del sistema para plomo.

FUENTE	GL	SC	CM	Fcal	Ftab	Criterio de aceptación	
Regresión	1	0,09344	0,09344	2268,00	4,20	Fcal > Ftab	Regresión significativa
Error exp.	28	0,00115	0,00004	2,84	2,99	Fcal < Ftab	Desvío no es significativo
Desvío	3	0,00029	0,00010				
Error Puro	25	0,00086	0,00003				
Total	29	0,09460	0,00326				

Por otra parte, se realizó el gráfico de análisis de residuos para el sistema para cadmio (figura 4-24), en el cual se observa que los residuos no presentan una tendencia clara o una estructura definida, respecto a los valores reales asignados a los estándares de calibración, por lo que se acepta hay homocedasticidad en la regresión lineal.

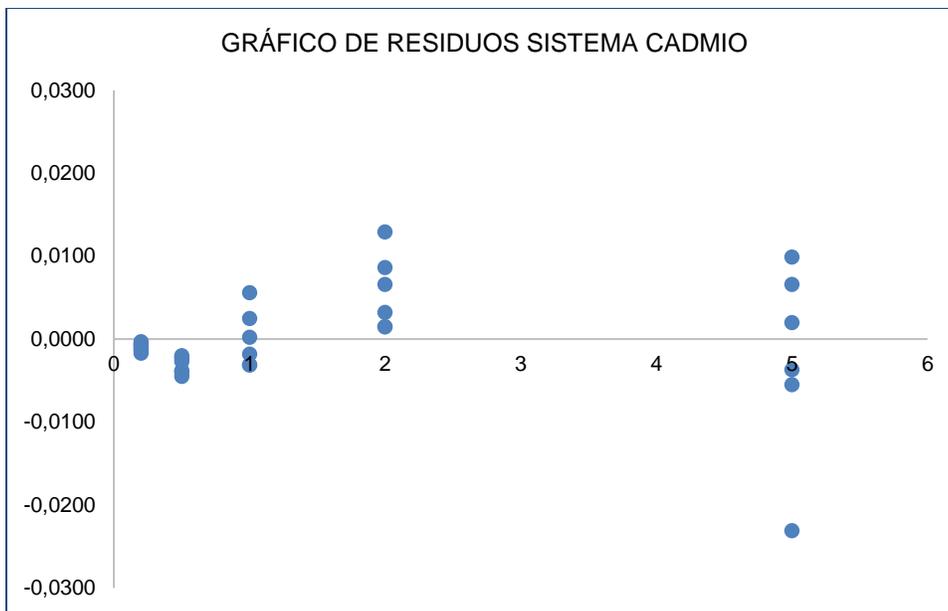


Figura 4-24. Gráfico de residuos para cadmio - sistema.

En las tablas 4-49, 4-50 y 4-51 se relacionan los estadísticos calculados para la evaluación de la linealidad del método para cadmio, y los límites de confianza del intercepto y la pendiente, respectivamente. Los niveles de calibración fueron 5, y las réplicas, así el valor N correspondió a 30.

Tabla 4-49. Estadísticos de linealidad para el cadmio – método.

ESTADÍSTICOS MÉTODO CADMIO					
Pendiente	Intercepto	Coefficiente de determinación (R^2)	Coefficiente de correlación (R)	N	K
0,034	0,0039	0,9981	0,9990	30	5
Sxy	Syx	Sxx	Error pendiente	Error intercepto	
3,0829	4,77393E-05	90,912	0,0007	0,0018	

N : Producto de las réplicas por los niveles de calibración.

K : Niveles de calibración

Tabla 4-50. Límites de confianza para la pendiente y el intercepto para el cadmio – método.

LÍMITES DE PARA 95% CONFIANZA MÉTODO CADMIO					
Error Típico Pendiente	Error Típico Intercepto	Límite superior Pendiente	Límite inferior Pendiente	Límite superior Intercepto	Límite inferior Intercepto
0,0012	0,0030	0,0352	0,0328	0,0069	0,0009

Tabla 4-51. Resultados de las pruebas de significancia o pruebas de hipótesis para evaluación de la linealidad del método para cadmio.

PRUEBA DE SIGNIFICANCIA	t calculado	t tab	Criterio de aceptación	
Prueba de t Pendiente	46,92	1,7	tcal > t tab	La pendiente es significativamente diferente de cero
Prueba de t Intercepto	2,19	1,7	tcal > t tab	Intercepto no es significativamente diferente de cero
Prueba de t Correlación	162,39	1,7	tcal > t tab	Existe correlación lineal significativa

Se construyó el gráfico con las señales de todas las réplicas por nivel de calibración con el fin de evaluar la regresión mediante análisis ANOVA.

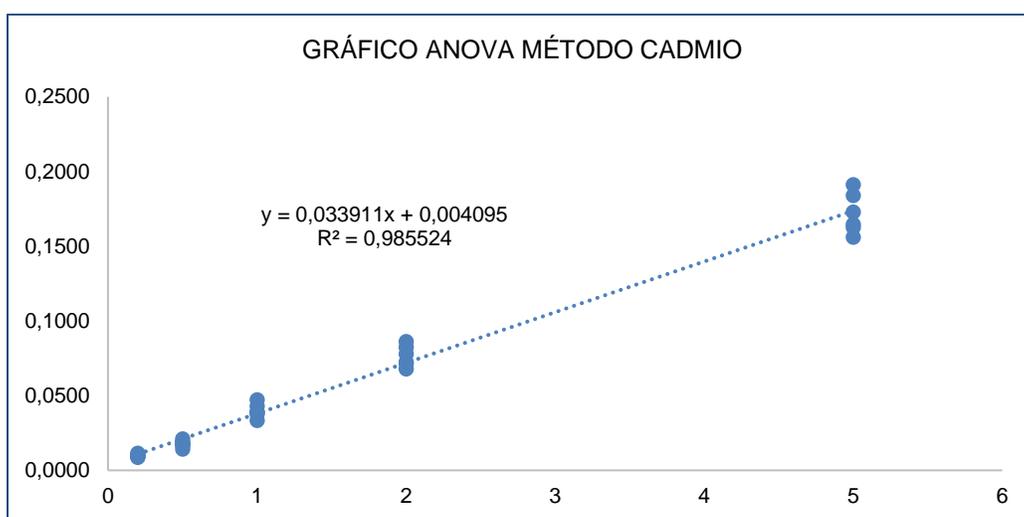


Figura 4-25. Gráfico de análisis ANOVA de regresión lineal para cadmio-método.

Tabla 4-52. Resultados del análisis ANOVA para la regresión lineal del método para cadmio.

FUENTE	GL	SC	CM	Fcal	Ftab	Criterio de aceptación	
Regresión	1	0,10454	0,10454	1906,26	4,20	$F_{cal} > F_{tab}$	Regresión significativa
Error exp.	28	0,00154	0,00005	1,51	2,99	$F_{cal} < F_{tab}$	Desvío no es significativo
Desvío	3	0,00024	0,00008				
Error Puro	25	0,00130	0,00005				
Total	29	0,10608	0,00366				

Se realizó el gráfico de análisis de residuos para el método para cadmio (figura 4-26), en el cual se observa que los residuos no presentan una tendencia clara o una estructura definida, respecto a los valores reales asignados a los estándares de calibración, por lo que se acepta hay homocedasticidad en la regresión lineal.

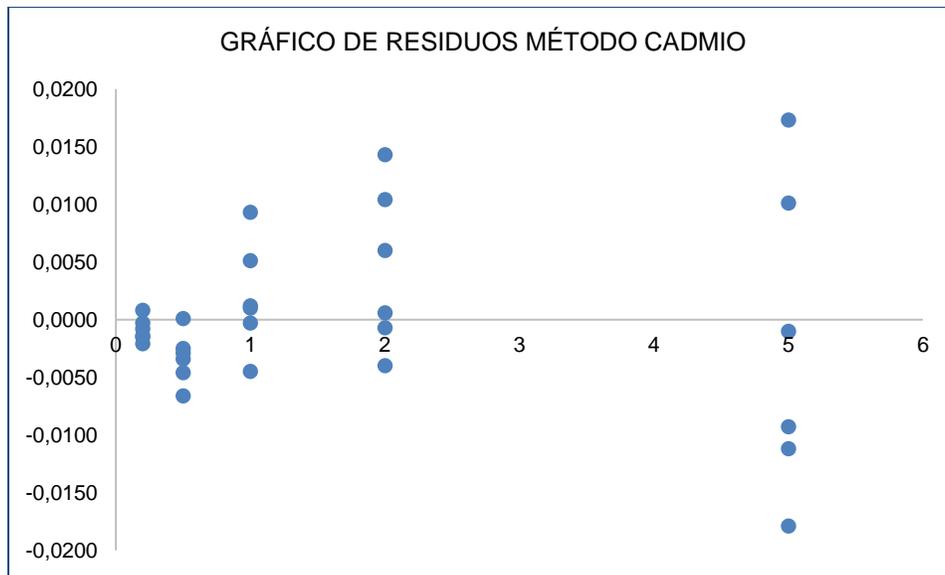


Figura 4-26. Gráfico de residuos para cadmio - método.

De acuerdo a los estadísticos obtenidos para la evaluación de linealidad del sistema y el método, se concluye que existe una respuesta lineal adecuada para el rango de trabajo establecido, teniendo en cuenta lo siguiente:

- Para la prueba de hipótesis de la pendiente (sistema y método), el t calculado fue mayor al t tabulado, se rechazó la hipótesis nula, indicando que la pendiente del sistema y el método son significativamente diferentes de cero.

- Para la prueba de hipótesis del intercepto (sistema y método), el t calculado fue menor al t tabulado, se aceptó la hipótesis nula, indicando que los interceptos del sistema y el método no son significativamente diferentes de cero.

- Para la prueba de hipótesis de la correlación (sistema y método), el t calculado fue mayor al t tabulado, se rechazó la hipótesis nula, indicando que existe correlación entre las variables concentración y respuesta instrumental.

Por lo anterior se concluye que el método analítico para la determinación de cadmio en productos fitoterapéuticos es lineal en el rango de concentraciones de 0,2 ug/L a 5 ug/L.

c. Límite de Detección (LOD) y Límite de Cuantificación (LOQ)

La determinación de los límites de detección y cuantificación se realizó, según lo recomendado por la guía Eurachem 2016, mediante el análisis de 10 blancos, y a partir de las señales obtenidas, se calculó la desviación estándar de las mediciones y se empleó la pendiente obtenida de la curva de calibración.

Para el sistema, los blancos correspondieron a 10 soluciones de ácido nítrico 5% v/v, mientras que para el método se seleccionó una muestra con una cantidad no detectable de plomo, sobre la cual se realizaron 10 réplicas que fueron sometidas a todo el proceso de preparación y digestión.

Los cálculos de LOD y LOQ se realizaron a través de las relaciones matemáticas indicadas previamente en la validación para plomo.

Tabla 4-53. Señales obtenidas para el análisis de blancos y determinación del LOD y LOC.

MÉTODO		SISTEMA	
CÁLCULO DE LÍMITE DE DETECCIÓN (LDD) Y		CÁLCULO DE LÍMITE DE DETECCIÓN (LDD) Y	
Ecuación de la curva	$Y = 0,03399x + 0,0052$	Ecuación de la curva	$Y = 0,03096x + 0,0036$
Pendiente (m)	0,03399	Pendiente (m)	0,03096
Intercepto (b)	0,0052	Intercepto (b)	0,0036
Coefficiente de determinación	0,9971	Coefficiente de determinación	0,9991
LECTURA DE BLANCOS	SEÑAL	LECTURA DE BLANCOS	SEÑAL

		NETA			NETA
BK1		0,0036		BK1	0,0027
BK2		0,0034		BK2	0,0025
BK3		0,0031		BK3	0,0028
BK4		0,0035		BK4	0,0025
BK5		0,0036		BK5	0,0028
BK6		0,0037		BK6	0,0025
BK7		0,0038		BK7	0,0025
BK8		0,0039		BK8	0,0025
BK9		0,0039		BK9	0,0026
BK10		0,0032		BK10	0,0024
Promedio		0,0036		Promedio	0,0026
Desviación estándar (s)		0,0003		Desviación estándar (s)	0,0001
LOD [µg/L]	3*(s/m)	0,02		LOD [µg/L]	3*(s/m)
LOQ [µg/L]	10*(s/m)	0,08		LOQ [µg/L]	10*(s/m)

En la tabla 4-53 se observa que el límite de detección (LOD) obtenido para el método fue de 0,01 ug/L, esta se considera la concentración más baja que puede ser detectada por el método analítico. Teniendo en cuenta la metodología empleada, en la que se pesan 0,5 g de la muestra y se llevan a un volumen final de digestión de 50 ml, esta concentración en mg/kg equivale a:

$$LOD \left(\frac{mg}{kg} \right) = \frac{0,01 \text{ ug/L} * 0,05L}{0,0005 \text{ kg} * 1000} = 0,001 \text{ mg/kg}$$

Por su parte, el límite de cuantificación (LOQ) obtenido para el método fue de 0,08 ug/L, el cual debe ser más alto que el límite de detección, y en este caso particular, cumple dicha condición. Realizando la conversión a unidades de mg/kg, según lo descrito en el párrafo anterior, el LOQ es de 0,008 mg/kg, y corresponde al nivel más bajo en el cual el desempeño del método es aceptable, por lo cual es posible cuantificar.

Teniendo en cuenta que el punto más bajo de la curva de calibración fue de 0,2 ug/L, se realizó la verificación mediante la preparación de 5 réplicas de soluciones de concentración 0,08 ug/L, con el fin de desafiar el LOQ calculado. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 4-54.

Tabla 4-54. Resultados de la verificación del límite de detección (LOQ) calculado para el método.

No. Réplica	Concentración real (ug/L)	Concentración obtenida (ug/L)
1	0,08	0,0637
2	0,08	0,0522
3	0,08	0,0908
4	0,08	0,1011
5	0,08	0,0701
Promedio	-	0,0756
Desviación Estándar	-	0,0200
Coefficiente de variación (%)	-	26,4679

En la tabla 4-54 se observa que el límite de cuantificación calculado no presenta una respuesta aceptable ya que el coeficiente de variación obtenido al medir réplicas individuales de la concentración es superior al 15%, por lo cual se acepta como límite de cuantificación el punto más bajo de la curva que corresponde a 0,2 ug/L equivalente a 0,02 mg/kg.

d. Precisión

- Repetibilidad

Para la evaluación de la repetibilidad se realizó la preparación de 6 replicas de soluciones de concentraciones 0,2, 1, 3 y 5 ug/L (tanto para el sistema como para el método), cubriendo así todo el rango de trabajo. Las mediciones se realizaron por el mismo analista en el mismo día. Los resultados se consignan en las siguientes tablas:

Tabla 4-55. Evaluación de la repetibilidad para el sistema para cadmio.

REPETIBILIDAD SISTEMA CADMIO (MISMO DÍA - MISMO ANALISTA)									
Conc. [µg/L]	CONCENTRACIÓN OBTENIDA						Promedio	Desviación estándar	C.V Sistema (%)
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	Rep. 5	Rep. 6			

0,2	0,1765	0,1998	0,2133	0,2097	0,1801	0,1755	0,1925	0,0172	8,9
1	1,0565	1,1002	0,9728	1,0978	0,8814	0,8892	0,9997	0,0999	10,0
3	3,1654	3,0987	2,8705	2,9122	3,1009	3,1280	3,0460	0,1229	4,0
5	5,2100	5,0982	4,8765	5,1263	5,1911	4,7662	5,0447	0,1812	3,6

Tabla 4-56. Evaluación de la repetibilidad para el método para cadmio.

REPETIBILIDAD MÉTODO CADMIO (MISMO DÍA - MISMO ANALISTA)									
Conc. [µg/L]	CONCENTRACIÓN OBTENIDA						Promedio	Desviación estándar	C.V Sistema (%)
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	Rep. 5	Rep. 6			
0,2	0,2121	0,2367	0,1976	0,2303	0,2191	0,1887	0,2141	0,0186	8,7
1	1,1518	1,2008	0,9572	0,9601	1,0762	1,0144	1,0601	0,1011	9,5
3	3,2569	3,1761	3,0008	3,0132	2,8801	2,9191	3,0410	0,1470	4,8
5	4,8901	4,7633	5,1230	5,0761	4,9109	5,1795	4,9905	0,1604	3,2

En las tablas 4-55 y 4-66 se observa que para los 4 niveles de concentración (0.2, 1, 3 y 5 ug/L) se cumple el parámetro de repetibilidad (6 réplicas analizadas el mismo día por el mismo analista), ya que los coeficientes de variación obtenidos, tanto para el sistema como para el método, se encuentran por debajo del 10%.

Adicional a lo anterior, se realizó la evaluación de la repetibilidad (mismo día, mismo analista) con cinco muestras seleccionadas al azar (052, 058, 063, 065 y 066), de las cuales se prepararon dos réplicas de manera individual y fueron analizadas dentro de la misma corrida analítica. Los resultados obtenidos se encuentran consignados en la siguiente tabla:

Tabla 4-57. Evaluación de la repetibilidad para cadmio con muestras.

Muestra	Concentración (ug/L)		Promedio	C.V (%)
	Medida 1	Medida 2		
052	1,5630	1,6402	1,6016	3,4
058	0,5446	0,5561	0,5504	1,5
063	0,6991	0,7849	0,7420	8,2
065	1,0853	1,1740	1,1297	5,6
066	0,8593	0,9852	0,9223	9,7

En la tabla 4-57 se observa que el coeficiente de variación para todos los casos es inferior al 10%, lo que permite confirmar a través del análisis de muestras reales, que el método goza de repetibilidad para el análisis de cadmio.

- **Precisión intermedia**

Para la evaluación de la precisión intermedia se realizó el mismo ensayo descrito en el apartado de repetibilidad con 4 niveles de concentración, pero con dos analistas y en 3 días diferentes. Los resultados se consignan en las siguientes tablas:

Tabla 4-58. Evaluación de la precisión intermedia del sistema para cadmio en diferentes días.

PRECISIÓN INTERMEDIA SISTEMA CADMIO (DIFERENTES DÍAS)						
CONCENTRACIÓN [µg/L]	CONCENTRACIÓN OBTENIDA			Promedio	Desviación estándar	C.V Sistema (%)
	Día 1	Día 2	Día 3			
0,2	0,1998	0,1832	0,2176	0,2002	0,0172	8,6
1	1,0565	0,9232	1,1125	1,0307	0,0972	9,4
3	3,0987	2,8721	3,2155	3,0621	0,1746	5,7
5	5,0982	5,2644	4,8771	5,0799	0,1943	3,8

Tabla 4-59. Evaluación de la precisión intermedia del sistema para cadmio con diferentes analistas.

PRECISIÓN INTERMEDIA SISTEMA CADMIO (DIFERENTES ANALISTAS)					
CONCENTRACIÓN [µg/L]	CONCENTRACIÓN OBTENIDA		Promedio	Desviación estándar	C.V Sistema (%)
	Analista 1	Analista 2			
0,2	0,1998	0,2108	0,2053	0,0078	3,8
1	1,0565	1,1621	1,1093	0,0747	6,7
3	3,0987	2,8522	2,9755	0,1743	5,9
5	5,0982	5,1752	5,1367	0,0545	1,1

En las tablas 4-58 y 4-59 se observa que para los 4 niveles de concentración (0.2, 1, 3 y 5 ug/L) se cumple el parámetro de precisión intermedia (análisis realizado en diferentes días y por diferentes analistas), ya que los coeficientes de variación obtenidos para el sistema, se encuentran por debajo del 10%.

Tabla 4-60. Evaluación de la precisión intermedia del método para cadmio en diferentes días.

PRECISIÓN INTERMEDIA MÉTODO CADMIO (DIFERENTES DÍAS)						
CONCENTRACIÓN [µg/L]	CONCENTRACIÓN OBTENIDA			Promedio	Desviación estándar	C.V Método (%)
	Día 1	Día 2	Día 3			
0,2	0,1976	0,2246	0,2301	0,2174	0,0174	8,0
1	1,0144	1,2302	1,1763	1,1403	0,1123	9,9
3	3,0008	3,2109	3,1806	3,1308	0,1136	3,6
5	5,0761	5,2599	5,2908	5,2089	0,1161	2,2

Tabla 4-61. Evaluación de la precisión intermedia del método para cadmio con diferentes analistas.

PRECISIÓN INTERMEDIA MÉTODO CADMIO (DIFERENTES ANALISTAS)					
CONCENTRACIÓN [µg/L]	CONCENTRACIÓN OBTENIDA		Promedio	Desviación estándar	C.V Método (%)
	Analista 1	Analista 2			
0,2	0,1976	0,2270	0,2126	0,0212	9,8
1	1,0144	1,1509	1,0827	0,0965	8,9
3	3,0008	3,2789	3,1399	0,1967	6,3
5	5,0761	4,9223	4,9992	0,1088	2,2

En las tablas 4-60 y 4-61 se observa que para los 4 niveles de concentración (0.2, 1, 3 y 5 ug/L) se cumple el parámetro de precisión intermedia (análisis realizado en diferentes días y por diferentes analistas), ya que los coeficientes de variación obtenidos para el método, se encuentran por debajo del 10%.

Por otra parte, se realizó una comparación de datos mediante análisis de varianza ANOVA para cada uno de los niveles de concentración, con el fin de determinar que no existe variación entre días y analistas, entre sí. Las hipótesis planteadas para cada nivel se relacionaron previamente en el apartado de validación para plomo (Numeral 4.2.1, literal d). Los resultados del análisis de varianza ANOVA se consignan en la siguiente tabla:

Tabla 4-62. Análisis de varianza ANOVA para la precisión intermedia del sistema y el método para cadmio.

Concentración (ug/L)	F calculado	F crítico	
		Sistema	Método
0,2	4,46	0,54	0,05
1		0,97	0,60
3		0,24	0,55
5		0,21	2,44

En la tabla 4-62 se observa que los F calculados para cada uno de los niveles de concentración, tanto en el sistema como en el método, son menores al F crítico, por lo cual se aceptan las hipótesis nulas de cada concentración, indicando que no existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos en el mismo día, diferentes días y diferentes analistas.

Adicional a lo anterior se realizó la evaluación de la presión intermedia (diferentes días, mismo analista) a partir de cinco muestras seleccionadas al azar (058, 063, 065, 066 y 067), de las cuales se prepararon dos réplicas de manera individual y fueron analizadas dentro en corridas analíticas de dos días diferentes. Los resultados obtenidos se encuentran consignados en la siguiente tabla:

Tabla 4-63. Evaluación de la precisión intermedia para cadmio (mismo analista, diferentes días) con muestras.

Muestra	Concentración (ug/L)		Promedio	C.V
	Día 1	Día 2		
052	1,5630	1,5652	1,5641	0,1
058	0,5446	0,5541	0,5494	1,2
065	1,0853	1,1149	1,1001	1,9
066	0,8593	0,9457	0,9025	6,8
067	0,8722	1,0033	0,9378	9,9

En la tabla 4-63 se observa que el coeficiente de variación para todos los casos es inferior al 10%, lo que permite confirmar a través del análisis de muestras reales, que el método goza de precisión para el análisis de cadmio.

e. Exactitud

Para el sistema, la evaluación de la exactitud se realizó a través del cálculo de porcentaje de recuperación relativa o aparente $R(\%)$. Se prepararon soluciones de 1.5, 3 y 4.5 ug/L (5 soluciones para cada nivel de concentración), de acuerdo a lo descrito en el numeral 3.2.6 literal c, referente a la fortificación para el 50, 100 y 150% respecto al valor de referencia establecido para el cadmio (0,3 mg/kg). Las recuperaciones del sistema para estos niveles de concentración se indican en la siguiente tabla:

Tabla 4-64. Porcentajes de recuperación de cadmio obtenidos para el sistema.

Concentración Verdadera (ug/L)	Concentración Hallada (ug/L)	% Recuperación	Promedio	Desv. Est. Promedio
1,5	1,2766	85,1	96,4	11,1105
	1,6931	112,9		
	1,3202	88,0		
	1,5159	101,1		
	1,4208	94,7		
3	3,1654	105,5	97,9	4,3268
	3,0987	103,3		
	2,8705	95,7		
	2,9122	97,1		
	3,1009	103,4		
4,5	4,8299	107,3	107,2	4,9848
	5,1726	114,9		
	4,6702	103,8		
	4,8522	107,8		
	4,5889	102,0		

En la tabla 4-64 se observa que los porcentajes de recuperación oscilan entre 96,4 y 107,2%, lo cual está acorde con la Decisión 567 de 2002 de la Comunidad Europea, indicando que el sistema goza de exactitud para el análisis de cadmio.

Para la evaluación de la exactitud del método, se prepararon muestras fortificadas con el fin de calcular la recuperación relativa de adiciones $R'(\%)$. Los fortificados se prepararon de acuerdo a lo descrito en el apartado de metodología en el numeral 3.2.6 literal c.

Teniendo en cuenta que el valor de referencia para cadmio es de 0,3 mg/kg, las fortificaciones se hicieron al 50, 100 y 150%, es decir a niveles de 0.15, 0.3 y 0,15 mg/kg, que en niveles de concentración, para las condiciones del análisis, corresponden a 1.5, 3 y 4.5 ug/L de cadmio.

Las fortificaciones se realizaron sobre 5 muestras de productos fitoterapéuticos seleccionadas al azar, a las cuales se les adicionó cantidades conocidas de cadmio a partir de la solución de fortificación de 1,5 mg/L (para el 50, 100 y 150%). El $R'(\%)$ se calculó a partir de la fórmula descrita previamente en validación para plomo.

La diferencia de cantidades correspondió al resultado de la resta de la cantidad obtenida en mg para las muestras fortificadas (50, 100 y 150%) menos la cantidad obtenida para las mismas muestras sin fortificación. Por su parte, la cantidad adicionada correspondió a la cantidad con la que se fortificó cada muestra, calculada a partir del producto de la concentración de la solución de fortificación (1,5 mg/L) y el volumen tomado de dicha solución para llevar a cabo la adición de cadmio. Los datos se relacionan en la tabla 4-65.

Tabla 4-65 Porcentajes de recuperación de cadmio obtenidos para el método.

Muestra	Peso (g)	Vol. Final (L)	Cadmio (ug/L)	Cantidad Cd (mg)	Diferencia Pb (mg)	Solución fortificación (mg/L)	Volumen tomado (L)	Cantidad adicionada (mg)	$R'(\%)$
018	0,5069	0,05	0,7859	0,00004	0,00000	1,5	0,00000	0,00000	
018 F50%	0,5032	0,05	2,4321	0,00012	0,00008	1,5	0,00005	0,00008	109,7
018 F100%	0,5019	0,05	3,4452	0,00017	0,00013	1,5	0,00010	0,00015	88,6
018 F150%	0,5045	0,05	4,6870	0,00023	0,00020	1,5	0,00015	0,00023	86,7
020	0,5051	0,05	0,0706	0,00000	0,00000	1,5	0,00000	0,00000	
020 F50%	0,5029	0,05	1,6800	0,00008	0,00008	1,5	0,00005	0,00008	107,3
020 F100%	0,5012	0,05	3,4748	0,00017	0,00017	1,5	0,00010	0,00015	113,5
020 F150%	0,5024	0,05	3,6710	0,00018	0,00018	1,5	0,00015	0,00023	80,0
45	0,5018	0,05	0,4102	0,00002	0,00000	1,5	0,00000	0,00000	
045 F50%	0,5021	0,05	1,7902	0,00009	0,00007	1,5	0,00005	0,00008	92,0
045 F100%	0,5018	0,05	3,0622	0,00015	0,00013	1,5	0,00010	0,00015	88,4
045 F150%	0,5022	0,05	5,2364	0,00026	0,00024	1,5	0,00015	0,00023	107,2
63	0,5034	0,05	0,6991	0,00003	0,00000	1,5	0,00000	0,00000	

063 F50%	0,5008	0,05	2,0191	0,00010	0,00007	1,5	0,00005	0,00008	88,0
063 F100%	0,5081	0,05	4,0349	0,00020	0,00017	1,5	0,00010	0,00015	111,2
063 F150%	0,5023	0,05	6,0903	0,00030	0,00027	1,5	0,00015	0,00023	119,8
79	0,5021	0,05	0,7465	0,00004	0,00000	1,5	0,00000	0,00000	
079 F50%	0,5092	0,05	1,9865	0,00010	0,00006	1,5	0,00005	0,00008	82,7
079 F100%	0,5018	0,05	3,4715	0,00017	0,00014	1,5	0,00010	0,00015	90,8
079 F150%	0,5089	0,05	5,3887	0,00027	0,00023	1,5	0,00015	0,00023	103,2

En la tabla ... se observa que los porcentajes de recuperación del método oscilan entre 80,0% y 119,8%, rango que excede los límites de los establecido por la Decisión 567 de 2002, sin embargo se considera una recuperación aceptable debido a las características de la matriz y el método de digestión empleado. Con esto se concluye que el método goza de exactitud para el análisis de cadmio, de acuerdo a lo especificado por FDA para recuperaciones evaluadas mediante fortificados (FDA, 2014).

f. Efecto Matriz

La evaluación del efecto matriz se realizó mediante la comparación de las funciones de calibración obtenidas para el sistema y para el método. Para esto se empleó un test de análisis de varianzas ANOVA, en el cual se compararon las pendientes de ambas funciones de calibración para establecer si existía alguna diferencia estadísticamente significativa. Las hipótesis del test fueron las siguientes:

Hipótesis nula (H0): $b_1=b_2$; $F_{cal} < F_{tab}$. Si t calculado es menor al t tabulado, se acepta la hipótesis nula, es decir no existen diferencia significativa entre las medias de las pendientes obtenidas para el sistema y del método.

Hipótesis alterna (H1): $b_1 \neq b_2$; $F_{cal} \geq F_{tab}$. Si t calculado es mayor o igual al t tabulado, se rechaza la hipótesis nula, es decir existe diferencia significativa entre las medias de las pendientes obtenidas para el sistema y el método.

Los resultados obtenidos para la comparación de las pendientes se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 4-66. Análisis de varianza ANOVA para la comparación de pendientes del sistema y el método para análisis de cadmio.

No.	Pendientes Sistema	Pendientes Método
1	0,0341	0,0367
2	0,0318	0,0380
3	0,0346	0,0340
4	0,0328	0,0319
5	0,0313	0,0326
6	0,0276	0,0306
Media	0,0320	0,0340

Fuente de Varianza	Grados Libertad	Suma Cuadrados	Cuadrados Medios	F. Calculado	F. teórico
Tratamiento	1	0,000012	0,000012	1,66	4,96
Error	10	0,000072	7,212E-06		
Total	11	0,000084			

Se evidencia que el F calculado es menor al F tabulado, por lo cual se acepta la hipótesis nula indicando que no existe diferencia significativa entre las medias de las pendientes obtenidas para el sistema y el método, lo que permite concluir que no existe efecto generado por la matriz en el análisis de cadmio en productos fitoterapéuticos.

g. Efecto Memoria

La verificación del efecto memoria o *carry over* se realizó mediante la lectura de tres muestras de un blanco, posterior a la medición del estándar de mayor concentración de la curva de calibración (5 ug/L). La lectura de blancos se realizó en tres días y se comparó con la lectura obtenida por el punto más bajo de la curva (0,2 ug/L), como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 4-67. Evaluación del Efecto Memoria del Método para Cadmio.

	Concentración (ug/L)	Respuesta	Porcentaje Respuesta Respecto al
--	----------------------	-----------	----------------------------------

		(Abs)	Punto Bajo
Día 1	5	0,184	
	0,2	0,0086	
	Blanco 1	0,0011	12,8
	Blanco 2	0,0013	15,1
	Blanco 3	0,0016	18,6
Día 2	5	0,1912	
	0,2	0,0099	
	Blanco 1	0,0016	16,2
	Blanco 2	0,0015	15,2
	Blanco 3	0,0017	17,2
Día 3	5	0,1729	
	0,2	0,0115	
	Blanco 1	0,0015	13,0
	Blanco 2	0,0017	14,8
	Blanco 3	0,0013	11,3

Como se observa en la tabla 4-67, la respuesta de los blancos medidos posterior a la inyección del estándar de calibración de concentración más alta (5 ug/L), no excede el 20% de la respuesta obtenida por el punto más bajo de la calibración (0,2 ug/L), cumpliendo con lo establecido por diversas guías de validación en las que se indica que el efecto *carry over* no debe superar el 20% del punto más bajo de calibración (ISPCH, 2005), por lo cual el método no cuenta con efecto de arrastre y los sistemas de limpieza instrumental son suficientes para el análisis continuo de muestras. Sin embargo, es recomendable programar un blanco cada grupo de 3 muestras para asegurar que no se presente dicho efecto.

h. Estabilidad

- Estabilidad de las soluciones preparadas en ácido nítrico

Se evaluó la estabilidad de las soluciones de 0,2 y 5 ug/L (punto más bajo y más alto de la calibración, respectivamente) a las 24 horas, 72 horas, 1 semana y 4 semanas, almacenadas bajo condiciones de refrigeración a 2-8°C con el fin de establecer el tiempo máximo de almacenamiento de los estándares de calibración. Las soluciones previamente mencionadas se analizaron durante las corridas analíticas y se evaluó el porcentaje de

recuperación de la concentración inicial obtenido a lo largo del tiempo de almacenamiento.

Cabe resaltar que, como se indicó previamente en la metodología, las soluciones de calibración se prepararon en ácido nítrico al 5%, lo cual ayuda a la conservación del metal a concentraciones al nivel de partes por billón.

En las siguientes tablas se muestran los porcentajes de recuperación la concentración inicial, así como los coeficientes de variación, obtenidos para las soluciones de 0,2 y 5 ug/L en los diferentes tiempos:

Tabla 4-68. Evaluación de la estabilidad de la solución de 0,2 ug/L de cadmio.

Tiempo	Concentración (ug/L)	Promedio	C.V	% Recuperación
0 horas	0,2429	-	-	-
24 horas	0,2218	0,2324	6,4	91,31
72 horas	0,2226	0,2328	6,2	91,64
1 semana	0,2181	0,2305	7,6	89,79
4 semanas	0,2187	0,2308	7,4	90,04

Tabla 4-69. Evaluación de la estabilidad de la solución de 5 ug/L de cadmio.

Tiempo	Concentración (ug/L)	Promedio	C.V	% Recuperación
0 horas	5,1162	-	-	-
24 horas	5,1218	5,1190	0,1	100,11
72 horas	5,0303	5,0733	1,2	98,32
1 semana	5,0901	5,1032	0,4	99,49
4 semanas	4,8512	4,9837	3,8	94,82

Como se observa en las tablas 4-68 y 4-69, las mediciones de las soluciones de 0,2 y 5 ug/L, en todos los tiempos, muestran porcentajes de recuperación aceptables, evidenciando que a medida que transcurre el tiempo, ocurre un ligero descenso respecto a la concentración hallada en el tiempo cero. Adicionalmente, se observa que para todos los tiempos, los coeficientes de variación no superan el 10%, por lo cual se puede recomendar, que las soluciones se almacenen durante un máximo de 4 semanas bajo

condiciones de refrigeración (2-8°C) en frascos de polipropileno debidamente tapados. La estabilidad no fue evaluada a temperatura ambiente.

- **Estabilidad de las Muestras Posterior a la Digestión**

Adicional a la evaluación de estabilidad previamente descrita, se realizó el seguimiento del comportamiento de las concentraciones recuperadas de 3 muestras (017, 067 y 084), posterior a la digestión, con el fin de conocer el tiempo máximo de almacenamiento de las muestras bajo condiciones de refrigeración (2-8°C), una vez preparadas para el análisis. Los resultados de porcentaje de recuperación y coeficiente de variación se muestran en las siguientes tablas:

Tabla 4-70. Evaluación de la estabilidad del cadmio en la muestra 017.

Estabilidad Muestra 017				
Tiempo	Concentración (ug/L)	Promedio	C.V	% Recuperación
0 horas	3,1665	-	-	-
24 horas	3,1521	3,1593	0,3	99,55
72 horas	3,1309	3,1487	0,8	98,88
1 semana	3,0503	3,1084	2,6	96,33
4 semanas	2,8712	3,0189	6,9	90,67

Tabla 4-71. Evaluación de la estabilidad del cadmio en la muestra 067.

Estabilidad Muestra 067				
Tiempo	Concentración (ug/L)	Promedio	C.V	% Recuperación
0 horas	0,8722	-	-	-
24 horas	0,8652	0,8687	0,6	99,20
72 horas	0,8309	0,8516	3,4	95,26
1 semana	0,8015	0,8369	6,0	91,89
4 semanas	0,7657	0,8190	9,2	87,79

Tabla 4-72. Evaluación de la estabilidad del cadmio en la muestra 084.

Estabilidad Muestra 084				
Tiempo	Concentración (ug/L)	Promedio	C.V	% Recuperación
0 horas	0,4035	-	-	-
24 horas	0,3825	0,3930	3,8	94,80
72 horas	0,3766	0,3901	4,9	93,33
1 semana	0,3526	0,3781	9,5	87,39

4 semanas	0,3332	0,3684	13,5	82,58
------------------	--------	--------	------	-------

Como se observa en las tablas 4-70 a 4-72, las muestras digestadas presentan una buena recuperación durante todos los tiempos de almacenamiento, sin embargo, la muestra 084, arrojó un coeficiente de variación superior a 10% en el tiempo de 4 semanas, siendo esta la muestra con el nivel de cadmio más bajo encontrado entre las tres evaluadas. Esto permite concluir, que pasadas 4 semanas, no es posible asegurar una buena reproducibilidad de los resultados obtenidos con una muestra preparada, a pesar de mantenerse bajo condiciones de refrigeración. Se evidencia que el comportamiento de las soluciones almacenadas es diferente cuando se trata de muestras digestadas respecto a estándares preparados en ácido nítrico, posiblemente por el tratamiento al que ha sido sometido la matriz previamente. Se concluye que las muestras para la determinación de cadmio, una vez sometidas al proceso de digestión, deben ser analizadas en un tiempo máximo de 1 semana si se mantienen refrigeradas; posterior a este tiempo, no es posible asegurar reproducibilidad en los datos obtenidos.

i. Estimación de la incertidumbre

Para la estimación de la incertidumbre del método analítico para la determinación de niveles de cadmio en los productos fitoterapéuticos, aplica el mismo análisis de fuentes descrito en la validación para plomo, numeral 4.2.1, literal i, así como las fórmulas y cálculos relacionados. A continuación se describen únicamente los datos obtenidos para cada componente y la estimación total.

- Cuantificación de los componentes de la incertidumbre

b. Instrumental (curva de calibración)

Los datos relacionados con la cuantificación de esta fuente de incertidumbre se encuentran en el Anexo 11. Se obtuvo como resultado un valor de incertidumbre relativa de la curva de calibración (UR C.C) de 0,0491.

b. Preparación del patrón analítico

Incertidumbre asociada a la pureza del estándar

Para esta fuente se realizó una estimación de incertidumbre tipo B, basada en la información obtenida del certificado de análisis del estándar de cadmio correspondiente al Anexo 12.

Para la estimación de esta fuente de incertidumbre se empleó la siguiente fórmula:

$$UE P = \frac{a}{\sqrt{3}} = \frac{5}{1,7320} = 2,8868$$

Donde:

$UE P$ = Incertidumbre estándar asociada a la pureza del patrón.

a = Incertidumbre reportada en el certificado de calibración

La incertidumbre relativa ($UR P$) se calculó dividiendo la incertidumbre estándar en la magnitud reportada para el estándar:

$$UR P = \frac{2,8868}{1000} = 0,0029$$

Incertidumbre asociada al material aforado

Para esta fuente se aplicó la misma estimación realizada para el plomo en el numeral 4.2.1 literal i. Cabe resaltar que para el análisis de cadmio únicamente se emplearon balones aforados de 100 ml. La incertidumbre relativa asociada al material aforado equivale a 0,0004.

Incertidumbre asociada a las micropipetas

Para esta fuente se aplicó la misma estimación realizada para el plomo en el numeral 4.2.1 literal i. Las incertidumbres relativas ($UR MP$) obtenidas fueron de 0,0020 para la de 100 uL y 0,0012 para la de 1000 uL.

c. Preparación de las muestras

Incertidumbre asociada a los Tubos Falcon

Para esta fuente se aplicó la misma estimación realizada para el plomo en el numeral 4.2.1 literal i. La incertidumbre relativa (UR TF) calculada fue de 0,0008.

Combinación de las incertidumbres relativas asociadas al análisis instrumental

La combinación de las incertidumbres relativas se realizó según lo establecido para el plomo en el numeral 4.2.1 literal i. Los datos de las incertidumbres relativas, los cuadrados de cada una y el cálculo de la incertidumbre combinada se encuentran consignados en la siguiente tabla:

Tabla 4-73. Cálculo de la incertidumbre combinada debida al análisis instrumental para cadmio.

Fuente	Incertidumbre relativa (UR)	Cuadrado de la incertidumbre relativa (UR ²)
Curva de calibración (C.C)	0,0491	0,0024
Pureza del patrón (P)	0,0029	0,0000
Material aforado (MA) - Balón 100 ml	0,0004	0,0000
Micropipeta (MP) - 100 uL	0,0020	0,0000
Micropipeta (MP) - 1000 uL	0,0012	0,0000
Tubos Falcon (TF)	0,0008	0,0000
Suma de los cuadrados	-	0,0024
U combinada relativa	-	0,0493

Incertidumbre asociada a la balanza analítica

Para la estimación de esta fuente de incertidumbre se aplicó el mismo procedimiento establecido para plomo en el numeral 4.2.1 literal i. El dato obtenido para la incertidumbre combinada relativa fue de $1,9245 \times 10^{-5}$.

- Cuantificación de la incertidumbre total

Para esta cuantificación se aplicó el mismo procedimiento establecido para plomo en el numeral 4.2.1 literal i. Los datos se consignan en la siguiente tabla:

Tabla 4-74. Cálculo de la incertidumbre total para el análisis de cadmio.

Fuente	Incertidumbre combinada (Uc)	Cuadrado de la incertidumbre (Uc ²)
Análisis instrumental	0,0493	0,0024
Balanza analítica	1,9245 x 10 ⁻⁵	3,7037 x 10 ⁻¹⁰
Suma de los cuadrados	-	0,0024
U estándar combinada	-	0,0493
U expandida	-	0,0985

Así, el valor de incertidumbre corresponde al factor 0,0985, que debe aplicarse a los resultados obtenidos en mg/kg, es decir la incertidumbre total para cada dato obtenido corresponde a:

$$U_{total} = \pm \text{Nivel Cd} \left(\frac{mg}{kg} \right) * 0,0985$$

El factor debe ser aplicado a cada valor de cadmio obtenido en mg/kg.

4.3 Resultados de Análisis de las Muestras Recolectadas

4.3.1 Determinación del Peso Promedio y Uniformidad de Peso de las Unidades de Dosificación

De acuerdo a lo descrito previamente en el numeral 3.2.6 literal a, en lo referente a la determinación del peso promedio y uniformidad de peso de las unidades de dosificación o formas farmacéuticas para cada producto, se tomó el peso de 10 unidades (tabletas, cápsulas, grageas, perlas, etc.), se halló el peso promedio y se calculó la variación de peso por cada unidad mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Variación} = \frac{|\text{Peso promedio} - \text{Peso individual}|}{\text{Peso promedio}} \times 100$$

Los datos obtenidos para el porcentaje de variación de peso fueron comparados con los establecido en las tablas 14 y 15, en las cuales se relacionan las variaciones permitidas de acuerdo al rango de peso de la unidad de dosificación para establecer si se cumple o no con la uniformidad de peso en el producto. Los datos de pesos individuales y promedio se muestran en el Anexo 3. En la tabla 4-75 se indica el número de productos que cumplen y no cumplen con el parámetro de uniformidad de peso.

Tabla 4-75. Número de formas farmacéuticas que cumplen y no cumplen el parámetro de uniformidad de peso.

Forma Farmacéutica	Cumple	No cumple
Cápsula	55	2
Comprimido	46	2

El parámetro de uniformidad de peso fue aplicado a estos productos como un indicador del grado de homogeneidad en la cantidad de sustancia o sustancias activas en la unidad de dosificación (ANMAT, Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica, 2013). En este sentido es importante acotar que por la naturaleza de los productos evaluados no es posible hablar del contenido de principio activo como tal, ya que se trata de una mezcla de diversos compuestos orgánicos presentes en cada una de las plantas y se requeriría del análisis y valoración de una sustancia activa trazadora. Por lo tanto, este indicador de homogeneidad se evaluó con el fin de orientar hacia las prácticas de manufactura de los laboratorios productores en lo que se refiere al tableteado, compresión o llenado de cápsulas, lo que permitió evidenciar que al cumplir con el parámetro mencionado, la persona que hace uso de este tipo de productos ingiere la misma cantidad de planta medicinal en cada dosis consumida.

En la tabla 475 se observa que de las 105 muestras evaluadas, solo 4 (3,81%) no cumplieron el parámetro de uniformidad de peso. Esto puede deberse a fallas en el llenado de punzones de máquinas tableteadoras o de las maquinas dosificadoras de cápsulas. Cabe resaltar que el llenado de cápsulas también se realiza de forma manual en algunos laboratorios que no realizan producciones a gran escala, dependiendo de la disponibilidad de tecnología, lo que puede llevar más fácilmente a variaciones importantes

en el peso de estas unidades de dosificación. Sin embargo, la mayoría de los productos cumplió con el parámetro de uniformidad.

4.3.2 Niveles de Plomo y Cadmio en las Muestras Recolectadas

El análisis de los niveles de plomo y cadmio en las muestras se realizó mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica con Horno de Grafito. La preparación previa de las muestras se realizó mediante digestión ácida asistida por calentamiento con baño termostático.

En la tabla 4-76 se relacionan los resultados de los análisis de plomo y cadmio obtenidos para las 105 muestras recolectadas.

Tabla 4-76. Resultados de niveles de plomo y cadmio en las muestras.

No. Muestra	Resultado Pb (mg/kg)	Incertidumbre (±)	Resultado Cd (mg/kg)	Incertidumbre (±)
001	2,0097	0,3497	0,0694	0,0068
002	1,3202	0,2297	N.C	N.A
003	1,0086	0,1755	0,0635	0,0063
004	0,6739	0,1173	0,0411	0,0040
005	1,4781	0,2572	0,0320	0,0032
006	N.D	N.A	N.D	N.A
007	1,5565	0,2708	0,1403	0,0138
008	0,7534	0,1311	0,0747	0,0074
009	0,2869	0,0499	N.D	N.A
010	0,4464	0,0777	0,0456	0,0045
011	0,6297	0,1096	N.C	N.A
012	N.C	N.A	0,1044	0,0103
013	0,3378	0,0588	N.C	N.A
014	N.D	N.A	N.D	N.A
015	0,6080	0,1058	0,0743	0,0073
016	0,3704	0,0644	N.C	N.A
017	1,9130	0,3329	0,3153	0,0311
018	0,2012	0,0350	0,0775	0,0076
019	N.C	N.A	0,0916	0,0090
020	N.D	N.A	N.C	N.A
021	N.D	N.A	N.D	N.A
022	0,5576	0,0970	N.C	N.A

023	0,2152	0,0374	0,1430	0,0141
024	0,3931	0,0684	N.C	N.A
025	0,3293	0,0573	N.C	N.A
026	N.D	N.A	N.D	N.A
027	1,8237	0,3173	0,0217	0,0021
028	2,2717	0,3953	0,0939	0,0092
029	0,1886	0,0328	0,0840	0,0083
030	N.D	N.A	0,0272	0,0027
031	1,1265	0,1960	N.C	N.A
032	N.C	N.A	0,0970	0,0096
033	0,3853	0,0670	0,0924	0,0091
034	0,3905	0,0679	0,1129	0,0111
035	N.D	N.A	0,0400	0,0039
036	0,3245	0,0565	0,0948	0,0093
037	1,4965	0,2604	0,0850	0,0084
038	N.C	N.A	0,0246	0,0024
039	N.C	N.A	N.C	N.A
040	0,2300	0,0400	0,1064	0,0105
041	N.C	N.A	N.C	N.A
042	0,6249	0,1087	0,0835	0,0082
043	1,0251	0,1784	0,1055	0,0104
044	0,7452	0,1297	0,0830	0,0082
045	N.C	N.A	0,0409	0,0040
046	1,2310	0,2142	0,0550	0,0054
047	0,1907	0,0332	0,0276	0,0027
048	0,1771	0,0308	N.D	N.A
049	N.D	N.A	N.C	N.A
050	0,2702	0,0470	0,0216	0,0021
051	0,5339	0,0929	0,0610	0,0060
052	1,4566	0,2535	0,1544	0,0152
053	0,1750	0,0304	0,0787	0,0078
054	0,2536	0,0441	0,0628	0,0062
055	N.C	N.A	N.C	N.A
056	N.D	N.A	N.D	N.A
057	0,3051	0,0531	N.C	N.A
058	0,2129	0,0370	0,0537	0,0053
059	0,8875	0,1544	0,0869	0,0086
060	N.D	N.A	N.D	N.A
061	1,0672	0,1857	0,0567	0,0056
062	N.C	N.A	N.D	N.A

063	0,4668	0,0812	0,0694	0,0068
064	N.D	N.A	N.C	N.A
065	0,9415	0,1638	0,1080	0,0106
066	0,8885	0,1546	0,0852	0,0084
067	1,0601	0,1845	0,0871	0,0086
068	0,1754	0,0305	N.C	N.A
069	N.D	N.A	0,0241	0,0024
070	N.C	N.A	N.D	N.A
071	0,5586	0,0972	0,0989	0,0097
072	N.C	N.A	N.D	N.A
073	0,8232	0,1432	0,0468	0,0046
074	N.C	N.A	N.C	N.A
075	0,2550	0,0444	N.D	N.A
076	0,3743	0,0651	N.C	N.A
077	0,6567	0,1143	0,0872	0,0086
078	0,6738	0,1172	N.C	N.A
079	0,9853	0,1714	0,0743	0,0073
080	0,1746	0,0304	N.C	N.A
081	1,5327	0,2667	0,1561	0,0154
082	0,2444	0,0425	N.C	N.A
083	1,8516	0,3222	0,1345	0,0132
084	0,7845	0,1365	0,0402	0,0040
085	N.C	N.A	N.C	N.A
086	1,3559	0,2359	0,0890	0,0088
087	N.D	N.A	0,0448	0,0044
088	0,4670	0,0813	0,0390	0,0038
089	N.D	N.A	0,0621	0,0061
090	0,3047	0,0530	0,0228	0,0023
091	0,6757	0,1176	0,0527	0,0052
092	N.D	N.A	0,0639	0,0063
093	N.D	N.A	0,0921	0,0091
094	N.D	N.A	N.C	N.A
095	1,2918	0,2248	0,0405	0,0040
096	N.D	N.A	N.C	N.A
097	N.D	N.A	N.D	N.A
098	N.C	N.A	0,0898	0,0088
099	0,5858	0,1019	0,0444	0,0044
100	N.C	N.A	N.C	N.A
101	N.C	N.A	N.D	N.A
102	N.D	N.A	0,0628	0,0062

103	0,6361	0,1107	0,1141	0,0112
104	N.C	N.A	0,0251	0,0025
105	N.D	N.A	0,0607	0,0060

Nota: Para el caso de plomo, los resultados encontrados por debajo del límite de detección calculado (0,052 mg/kg) corresponden a las siglas N.D (no detectable). Los resultados encontrados por debajo del límite de cuantificación calculado (0,174 mg/kg) corresponden a las siglas N.C (no cuantificable). Para el caso del cadmio, el límite de detección calculado fue de 0,02 mg/kg y el de cuantificación se estableció en 0,2 mg/kg.

Se muestran a continuación las gráficas de los niveles obtenidos de cada uno de los metales, respecto al valor de referencia establecido en el país.

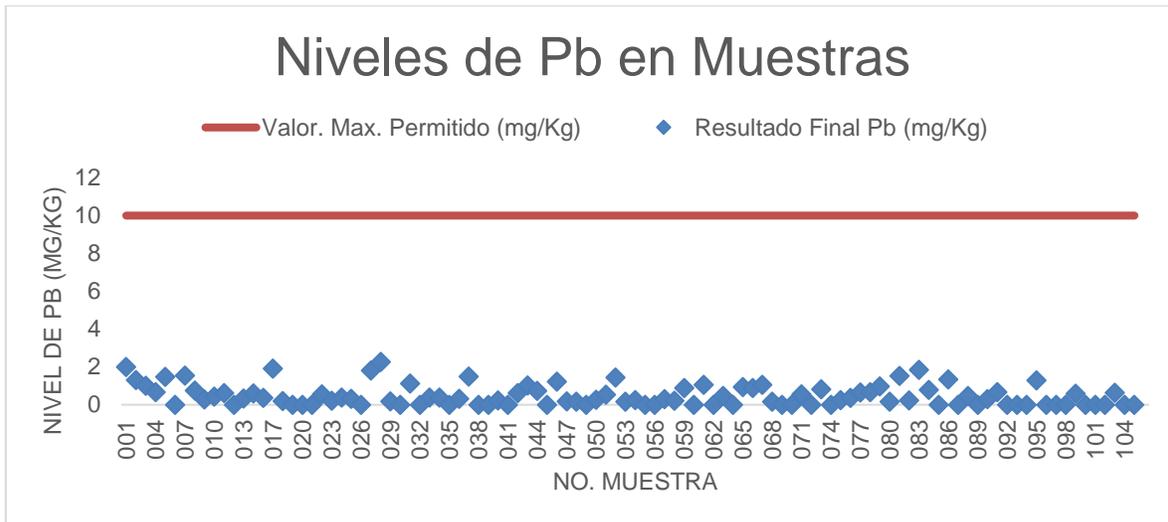


Figura 4-27. Niveles de plomo obtenidos en las muestras comparados con el valor máximo permitido a nivel nacional.

En la figura 4-27 se observa que ninguna de las muestras analizadas presentó niveles de plomo que superen el valor de referencia o máximo permitido (10 mg/kg).

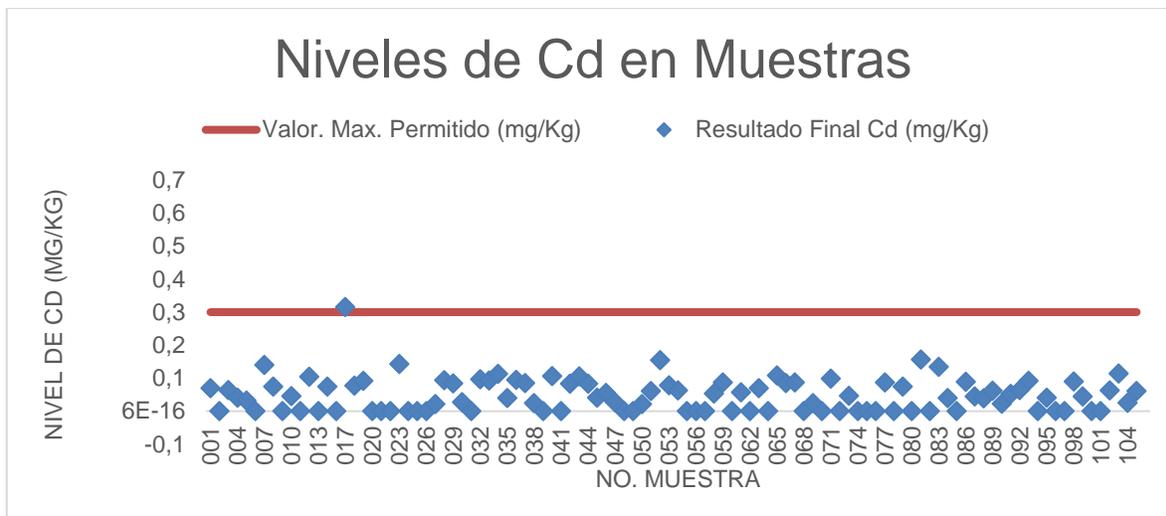


Figura 4-28. Niveles de cadmio obtenidos en las muestras comparados con el valor máximo permitido a nivel nacional.

En la figura 4-28 se observa que una de las muestras analizadas presentó niveles de cadmio que superaron el valor de referencia o máximo permitido (0,3 mg/kg).

Teniendo en cuenta los resultados de los niveles de plomo y cadmio, relacionados previamente, se calcularon los porcentajes de presencia y ausencia de cada uno de los metales de interés en las muestras recolectadas discriminando por planta. Los resultados se indican en la siguiente tabla:

Tabla 4-77. Porcentajes de presencia y ausencia de plomo y cadmio en las muestras recolectadas.

	Plomo				Cadmio			
	Presencia	%	Ausencia	%	Presencia	%	Ausencia	%
Ajo	20	19	18	17	11	11	27	26
Alcachofa	47	45	19	18	55	53	11	11
Total	67	64	37	36	66	63	38	37

De acuerdo a la tabla anterior (Tabla 4-77) se evidencia que el 64% (n=67) de las muestras tuvo presencia de plomo (entendiendo esto como niveles por encima del límite de detección obtenido en la validación de la metodología analítica), 19% para ajo y 45% para alcachofa, mientras que el 36% (n=37) del total de las muestras no arrojó niveles de

plomo. Para el caso del cadmio, el 63% (n=66) de las muestras tuvo presencia de este metal, 11% para ajo y 53% para alcachofa, mientras que el 37% (n=38) no arrojó niveles de cadmio. Cabe resaltar, como se ha indicado en apartados previos, que se habla de presencia de los metales estudiados, más no de excedencia, pues solo hubo una muestra (1%) que excedió el nivel de cadmio establecido como máximo permitido establecido por la legislación. La única muestra con excedencia correspondió a un producto a base de alcachofa.

Adicional a lo anterior, se determinó el porcentaje de muestras con presencia y ausencia de los dos metales a la vez. Así, se evidenció que el 48% (n=50) de las muestras tuvo presencia de los dos metales de manera concomitante, con un aporte del 7% y 41% de los productos a base de ajo y alcachofa, respectivamente; mientras que el 20% (n=21) de las muestras, no presentaron niveles de ninguno de los dos metales analizados, con un aporte del 13% y 7% de los productos a base de ajo y alcachofa, respectivamente. Es importante acotar que el 64% de las muestras recolectadas fueron de alcachofa, correspondiente a la mayoría de las muestras. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 4-78. Porcentaje de presencia y ausencia de ambos metales en las muestras recolectadas.

	Presencia	%	Ausencia	%
Ajo	7	7	14	13
Alcachofa	43	41	7	7
Total	50	48	21	20

De otro lado, en la siguiente tabla se relacionan los valores de la media, mediana, mínimo, máximo y percentil 90 para cada uno de los metales analizados:

Tabla 4-79. Estadística descriptiva para los niveles de plomo y cadmio (mg/kg) encontrados en la totalidad de muestras recolectadas.

Metal	n	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	Percentil 95
Plomo	67	0,7499	0,6249	0,1746	2,2717	1,8885
Cadmio	66	0,0764	0,0743	0,0216	0,3153	0,1504

En la tabla 4-79 se observa que para el caso del plomo, la media y la mediana, correspondientes a medidas de posición, no se encuentran lejos, la una de la otra, y que dichas medidas junto con el valor máximo en mg/kg, obtenido para este metal, se encuentra muy por debajo del límite máximo permisible establecido a nivel nacional (10 mg/kg). Para el cadmio, las medidas de posición también son cercanas y se encuentran por debajo de lo establecido por norma, sin embargo el valor máximo, excede por poco, el límite máximo legislado (0,3 mg/kg). Sin embargo, el percentil 95 para el cadmio indica que el 95% de los datos obtenidos se encuentran por debajo de 0,1504 mg/kg. En este sentido, se evidencia que los niveles obtenidos en las 104 muestras cumplen con la normativa nacional, a excepción del único dato excedente para cadmio. Cabe resaltar que la normativa nacional está basada en lo establecido por la Organización Mundial de la Salud, y que está dispuesto así para plantas medicinales como materia prima y no para producto terminado, pues para este último no existe normatividad específica.

Adicional a lo anterior, se calcularon los mismos estadísticos descriptivos discriminados por planta. Los datos se consignan en la siguiente tabla:

Tabla 4-80. Estadística descriptiva para los niveles de plomo y cadmio (mg/kg) encontrados en las muestras discriminadas por planta.

Planta	Metal	n	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	Percentil 95
Ajo	Plomo	20	0,5994	0,3837	0,1746	1,8237	1,8064
	Cadmio	11	0,0378	0,0276	0,0217	0,0747	0,0746
Alcachofa	Plomo	47	0,8140	0,6739	0,1750	2,2717	1,9711
	Cadmio	55	0,0841	0,0835	0,0216	0,3153	0,1548

En la tabla 4-80 se evidencia que las medias obtenidas para los dos metales en los productos a base de alcachofa son más altas que las obtenidas para el ajo. De igual manera ocurre con los máximos encontrados y en los percentiles 95 hallados. Esto indica que en los productos recolectados, los preparados a base de alcachofa contienen niveles más altos de los dos metales que los basados en ajo. En este punto vale la pena aclarar que la parte de la planta empleada en la fabricación de los productos fitoterapéuticos corresponde a las hojas de la alcachofa. Inicialmente, podría deducirse que esto se encuentra íntimamente relacionado con la capacidad que tiene la planta de acumular metales, sin embargo, es importante traer a discusión otros aspectos de la fabricación de

este tipo de productos que van desde el suelo donde se cultiva la planta materia prima, la zona y sus características ambientales, el agua empleada, las prácticas agrícolas, y la demás preparación del producto final.

Adicionalmente, se realizó el análisis de niveles de plomo y cadmio obtenidos para cada uno de los laboratorios productores identificados. Los datos se incluyen en la siguiente tabla:

Tabla 4-81. Niveles de plomo y cadmio en productos analizados discriminados por laboratorio productor.

Lab.	Planta	Numero Muestras Recolectadas	Metal	Número Muestras con Presencia del Metal	Nivel Promedio (mg/kg)
A	Ajo	14	Pb	10	0,6036
			Cd	6	0,0377
	Alcachofa	9	Pb	3	0,2396
B	Alcachofa	19	Pb	12	0,4925
			Cd	18	0,0719
C	Ajo	3	Pb	1	0,3704
			Cd	2	0,0336
	Alcachofa	10	Pb	5	0,9486
			Cd	10	0,0834
D	Ajo	7	Pb	1	0,2444
E	Alcachofa	5	Pb	4	0,8539
			Cd	5	0,0934
F	Ajo	5	Pb	5	0,5922
			Cd	1	0,0747
G	Alcachofa	5	Pb	5	1,3005
			Cd	5	0,0997
H	Alcachofa	5	Pb	5	0,9902
			Cd	4	0,0655
I	Ajo	5	Pb	1	0,6738
			Cd	1	0,0241
J	Alcachofa	5	Pb	5	0,7453
			Cd	5	0,076
K	Alcachofa	4	Pb	4	1,1871
			Cd	4	0,1634
L	Ajo	2	Pb	1	0,3047
			Cd	1	0,0228

	Alcachofa	2	Pb	2	0,9904
			Cd	2	0,0863
M	Alcachofa	2	Pb	2	0,781
			Cd	2	0,031
O	Ajo	1	N.A	N.A	N.A
P	Ajo	1	Pb	1	0,3051

De acuerdo a la tabla 4-81, para todos los laboratorios identificados se encontraron niveles cuantificables de los metales analizados en las muestras recolectadas, a excepción del laboratorio O, para el cual solo se recolectó una muestra a base de ajo que presentó niveles no detectables de plomo y cadmio. Para el laboratorio G se recolectaron 5 productos a base de alcachofa, todos con presencia de plomo, que arrojaron el nivel promedio más alto de este metal (1,3005 mg/kg), mientras que el laboratorio A obtuvo el nivel más bajo de plomo (0,2396 mg/kg) en 3 muestras de alcachofa con presencia del contaminante, de un total de 9 recolectadas a base de esta planta (6 con niveles no detectables). Para el caso del cadmio, el laboratorio K arrojó los niveles más altos (0,1634 mg/kg) en 4 muestras de alcachofa con niveles cuantificables de 4 recolectadas, mientras que el nivel más bajo (0,0228 mg/kg) lo presentó el laboratorio L en una muestra a base de ajo, de dos recolectadas a base de esta planta (1 con nivel no detectable). Sin embargo, los valores promedio para cada metal por cada laboratorio no presentan diferencias evidentes. De igual manera, para algunos laboratorios se recolectó un número de productos mucho más elevado que para otros en los que sólo se encontró 1 producto en las tiendas naturistas visitadas, lo que no permite hacer comparables los datos obtenidos.

Es importante resaltar que no es posible establecer la trazabilidad de las plantas base de estos productos a partir de la información disponible en las etiquetas, razón por la cual no se puede establecer la procedencia de las mismas en lo que respecta, por ejemplo, a áreas de cultivo.

4.3.3 Cálculo Exposición a Plomo y Cadmio

A partir de los niveles de plomo y cadmio obtenidos para las muestras, los pesos promedio determinados para cada unidad de dosificación, y las recomendaciones de consumo diario descritas en las indicaciones de las etiquetas de cada producto, se realizó un cálculo aproximado de la exposición a los metales, que fue descrito en las unidades de la ingesta mensual tolerable provisional (IMTP) de cada metal (ug/kg peso corporal/mes) con el fin de realizar la comparación.

Para esto, se asumió un peso promedio de 65,29 kg para adultos entre los 20 y 60 años, según lo descrito por la Encuesta Nacional de Demografía y Salud (ENDS) realizada por Profamilia y el Ministerio de Salud del año 2005 (Gamboa L, 2008). No se encuentran disponibles datos más actuales sobre peso promedio, por lo que se tuvo en cuenta esta encuesta.

En este sentido, es de suma importancia resaltar que la JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) declaró en el año 2011 que no es posible considerar una IMTP para el plomo que sea protectora de la salud y dicho límite fue retirado, esto debido a que los análisis realizados por el comité experto no indicaron un umbral para los efectos importantes del plomo. El comité hizo hincapié en que esto se basó principalmente en la exposición alimentaria y que también deben considerarse otras fuentes de exposición (JECFA J. F., 2011). De igual manera, la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR) no cuenta con límites de residuos máximos para plomo (MRLs), puesto que la EPA decidió que es inapropiado desarrollar una dosis de referencia (nivel de exposición diaria que no produce un riesgo apreciable de daño en poblaciones humanas, incluyendo las poblaciones sensibles) para el plomo y sus compuestos debido a que algunos efectos en salud asociados a la exposición ocurren a niveles sanguíneos muy bajos como para establecer un umbral (ATSDR, 2005).

En el caso del cadmio, la JECFA estableció una IMTP de 25 ug/kg peso corporal/mes (JECFA J. F., 2011). Cabe aclarar que se toman los datos de JECFA, que son para alimentos, pero permiten un acercamiento a la exposición con productos de la naturaleza de los fitoterapéuticos, y más en este caso por tratarse de plantas medicinales que también tienen uso como alimentos.

A partir de los datos obtenidos de peso promedio de unidades de dosificación y niveles de cada metal en mg/kg, se calculó de la cantidad ingerida de cada metal por kilogramo de

peso corporal (asumido en 65,29 kg), por mes (Tablas 4-81 y 4-82). Para el consumo diario de cada unidad de dosificación se asumió el caso más extremo en el que se consume la mayor cantidad de producto, siguiendo las recomendaciones de la etiqueta. En la figura 4-29 se muestran algunos ejemplos de recomendaciones de dosis o posología encontradas en las muestras recolectadas.

Así, tomando como ejemplo la muestra 010, cuyo nivel de plomo fue de 0,4464 mg/kg, la recomendación de posología declarada en la etiqueta fue de 3 unidades de dosificación al día, peso promedio de cada unidad de dosificación de 0,4280 g, y el peso corporal asumido para un adulto colombiano de 65,29 kg, el cálculo de la cantidad ingerida como ug Pb/Peso corporal kg/mes, se realizó de la siguiente manera:

$$\frac{\frac{ug Pb}{kg P.C}}{mes} = \frac{0,4464 \frac{mg}{kg} * 0,0004kg * 3}{65,29 kg} * 30 * 1000 = 0,2029 \frac{ug Pb}{kg PC} /mes$$

En la ecuación previa, el peso promedio de la unidad de dosificación se emplea en kilogramos, el número 30 corresponde a los días en un mes y el número 1000 permite convertir los mg a ug.

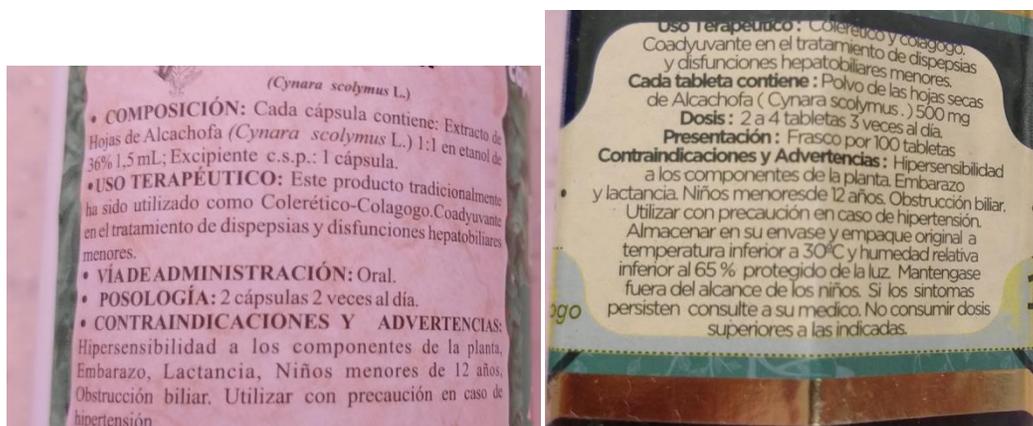




Figura 4-29. Ejemplos de recomendaciones de posología o dosis en las etiquetas de las muestras recolectadas.

Tabla 4-82. Cálculos de cantidad ingerida en ug de plomo/kg peso corporal por mes

Muestra	IMTP Pb (ug Pb/kg P.C/mes)		
001	3,3553	020	1,3897
002	1,1179	022	11,7575
003	1,4391	023	0,2974
004	7,2014	024	13,5912
005	0,8290	025	0,1822
006	5,5317	026	23,5938
007	0,5512	027	1,0595
008	4,3634	028	27,3074
009	0,2029	029	0,1810
010	5,9001	030	10,9489
011	1,0546	031	0,5895
012	11,7237	032	31,3765
013	0,1877	033	0,5279
015	0,3377	034	13,8705
016	5,9889	036	49,6337
017	0,6632	037	0,9630
018	24,8357	038	54,1333
		040	41,1086
		042	138,0276

043	1,3983
044	80,3924
046	26,9090
047	0,1038
048	42,9128
050	16,7309
051	0,7465
052	32,4310
053	0,2489
054	96,8278
056	54,5721
057	0,1758
058	105,9463
059	1,8636
060	30,7012
061	1,0175
062	5,2715
063	0,2917
064	27,4981
065	1,5701
066	61,1286
067	2,2404
068	40,6400
070	65,7269
071	1,0186
072	24,9255
073	1,4872
074	41,6329
075	0,2354

076	42,3370
077	0,9355
078	24,1017
079	0,9211
080	48,7370
081	2,1399
082	5,1653
083	1,2463
084	136,8766
086	296,1045
088	33,7240
090	38,3442
091	0,2379
092	90,4840
094	49,2116
095	0,4064
096	27,2738
098	123,8528
099	0,9975
100	6,5721
102	183,4369
103	1,3096
104	56,2216
Media	27,3205
Mediana	5,9889
Mínimo	0,1038
Máximo	296,1045
Percentil 95	117,5855

Tabla 4-83. Cálculos de cantidad ingerida en ug de cadmio/kg peso corporal por mes

Muestra	IMTP Cd (ug Cd /kg P.C/mes)
001	0,1159
003	0,0906
004	0,0740
005	0,0180
007	0,0497
008	0,0408

010	0,0269
012	0,1020
015	0,0412
017	0,1093
018	0,1070
019	0,0912
023	0,1976

027	0,0126
028	0,0916
029	0,0807
030	0,0099
032	0,0951
033	0,1265
034	0,0461
035	0,0172
036	0,1307
037	0,0547
038	0,0351
040	0,1094
042	0,2745
043	0,1439
044	0,1516
045	0,0592
046	0,0322
047	0,0150
050	0,0072
051	0,0853
052	0,0963
053	0,1120
054	0,1126
058	0,0981
059	0,1825
061	0,0541
063	0,0434
065	0,1802
066	0,0789
067	0,1841

069	0,0068
071	0,1804
073	0,0846
077	0,1242
079	0,0695
081	0,2179
083	0,0905
084	0,0655
086	0,3065
087	0,0802
088	0,0150
089	0,0608
090	0,0097
091	0,0186
092	0,0628
093	0,1232
095	0,0127
098	0,1135
099	0,0756
102	0,1129
103	0,2348
104	0,0136
105	0,1108
Media	0,0905
Mediana	0,0850
Mínimo	0,0068
Máximo	0,3065
Percentil 95	0,2129

De acuerdo a lo descrito previamente, se obtuvieron los siguientes resultados para el cálculo de exposición:

Tabla 4-84. Resultados para el cálculo de exposición a cada metal en unidades de ug metal/kg P.C./mes.

Metal	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	Percentil 95
Plomo	27,3205	5,9889	0,1038	296,1045	117,5855

Cadmio	0,0905	0,0850	0,0068	0,3065	0,2129
---------------	--------	--------	--------	--------	--------

En la tabla anterior se observa que los datos obtenidos para el cadmio no superan el IMTP establecido por JECFA (25 ug Cd/kg P.C/mes). La media y la mediana son cercanas, lo que permite establecer que no hay datos extremos. Para el caso del plomo no es posible realizar una comparación debido a la ausencia de un valor de referencia, sin embargo se observa que la media y la mediana se encuentran alejadas, indicando la presencia de datos extremos, lo cual se corrobora con el máximo obtenido, respecto al percentil 95. A pesar de no contar con un dato de comparación, es evidente que la exposición a plomo es mayor a la exposición a cadmio para las muestras analizadas, en la población consumidora de estos productos. Se resalta que por lo general, este tipo de productos se usan para el tratamiento de condiciones crónicas y las personas pueden usarlos por periodos de tiempo largos, lo que hace importante evaluar el riesgo de su consumo.

Como ya se ha venido mencionando, los productos fitoterapéuticos se utilizan ampliamente en todo el mundo, por esta razón, es importante que las entidades de regulación de cada país garanticen la calidad, seguridad y eficacia de los mismos. Estos productos fabricados a partir de plantas con usos medicinales pueden constituir una fuente importante de metales tóxicos, ya sea por los problemas conocidos de contaminación en el aire, suelos y agua relacionada con actividades humanas, así como por la adición intencional. La exposición a algunos metales tóxicos tales como plomo, cadmio y mercurio debe ser controlada debido a los efectos nocivos para la salud que representan estos metales (Luna J, 2010). Con los datos obtenidos se evidencia que, si bien los niveles no exceden la normativa nacional, la sola presencia de los metales es amplia en los productos evaluados, lo que da cuenta de un posible problema de contaminación en los lugares donde se cultivan estas plantas y de posibles prácticas agrícolas no adecuadas. Además, pocos pacientes o incluso profesionales de la salud, son conscientes de las interacciones potenciales entre los productos a base de hierbas o plantas medicinales y los demás medicamentos alopáticos consumidos, así como la presencia de elementos tóxicos tales como los metales pesados, que pueden surgir por contaminación del producto o por que el metal es parte de su formulación.

De igual manera, es importante aclarar que no es posible determinar si los excipientes empleados en la formulación de los productos analizados aportan algún nivel de los metales analizados, sin embargo, se considera que la planta empleada como materia prima de la preparación es la fuente principal del contaminante por la dinámica de absorción de metales. En algunos productos se declaraba la presencia de excipientes mientras que en otros se indicaba que la forma farmacéutica consistía únicamente en la planta pulverizada ya sea comprimida o dentro de una cápsula.

La acumulación de metales por parte de las plantas puede ser utilizado en diversas áreas como lo son la biofortificación de alimentos con minerales esenciales y la descontaminación de suelos. Por lo tanto, la comunidad dedicada a la agricultura está enfocada en la producción de plantas de cultivo que contengan mayores concentraciones de micronutrientes. Sin embargo, la gran contaminación del ambiente por compuestos originados a partir de actividades antropogénicas se ha convertido actualmente en un problema extensivo, incluyendo a los metales pesados. Algunas especies de plantas son capaces de crecer en sitios contaminados y acumular grandes cantidades de metales en su organismo. Por lo tanto, es importante estudiar la captación de metales por parte de las plantas de cultivo con el fin de dar solución a este tipo de problemas (Soudek P, 2011). En el presente estudio solo fueron evaluados productos a partir de dos plantas medicinales de amplio uso, que también son alimentos frecuentemente consumidos por la población colombiana.

El plomo es el contaminante ambiental tóxico más reconocido. Reacciona o se acompleja con muchas biomoléculas y afecta de manera diversa los sistemas reproductivo, nervioso, gastrointestinal, inmune, renal, cardiovascular, esquelético y muscular, así como los procesos de desarrollo. En el estudio realizado por Krejpcio, dedicado al análisis de una variedad de metales en plantas utilizadas como especias, dentro de las cuales clasifica el ajo, se encontró que de 16 muestras de esta planta analizadas, una contenía cantidades excesivas de plomo (0.14 – 1.03 mg/kg). Por su parte, el cadmio parece imitar al zinc y en menor medida al calcio, y los compuestos de cadmio son clasificados como carcinógenos humanos. Por lo tanto, el incremento de este elemento tóxico en plantas como el ajo es peligroso. Se encontraron niveles de cadmio entre 0.01 y 0.08 mg/kg en ajo (Krejpcio Z, 2007). Estos niveles son comparables a los obtenidos en el presente trabajo, a pesar de haber sido realizados en la planta empleada como alimento. Se puede inferir que la

presencia de los metales en el producto final no está relacionado con una adición o incorporación de los contaminantes durante los procesos de fabricación, sino que viene desde la materia prima. Esto evidencia la importancia de realizar un control de las plantas medicinales como material de fabricación de productos fitoterapéuticos, teniendo en cuenta que existe una gran diversidad de plantas con propiedades medicinales y aquí solo fueron evaluadas dos de ellas.

A partir de la revisión de las etiquetas de los productos recolectados se estableció que las partes de las plantas usadas en la fabricación fueron los bulbos, para el caso del ajo y las hojas para el caso de la alcachofa. Chizzola et al. sugirió que los niveles de plomo son generalmente más altos en las hojas que en otras partes, probablemente porque las contaminaciones por plomo ocurren principalmente a través de la atmósfera (Krejpcio Z, 2007). Esto puede ayudar a explicar la presencia de niveles de plomo ligeramente más elevados en los productos a base de alcachofa.

En países como Alemania y Austria, los valores de referencia para vegetales de hoja están fijados en 0.8 mg/kg para plomo y 0.2 mg/kg para cadmio en base de peso fresco. En la Unión Europea, los metales pesados en alimentos están regulados por el Reglamento de la Comisión (EC/446/2001), fijando los límites para plomo en 0.3 mg/kg y para cadmio en 0.2 mg/kg. Por otra parte, las recomendaciones de la OMS son menos restrictivas; los límites máximos permisibles en plantas medicinales y productos herbales son 10 mg/kg y 0.3 mg/kg para plomo y cadmio, respectivamente (Krejpcio Z, 2007). Se hace evidente, que los valores de referencia establecidos por OMS, y asimismo por Colombia, son los más elevados, y al comparar los datos obtenidos con los niveles máximos establecidos por otras legislaciones las excedencias de plomo y cadmio serían mayores, principalmente en el caso del plomo, cuya brecha es mucho más amplia, y aún más teniendo en cuenta que se están abordando plantas medicinales que también son alimentos, y tienen la misma vía de ingreso al organismo. En las siguientes figuras (4-30 y 4-31) se visualizan las excedencias al comparar con los niveles establecidos por la unión europea, evidenciando que para el caso del plomo que las excedencias son mucho mayores (85,6%) respecto a la comparación hecha con los niveles recomendados por OMS (adoptados por Colombia).

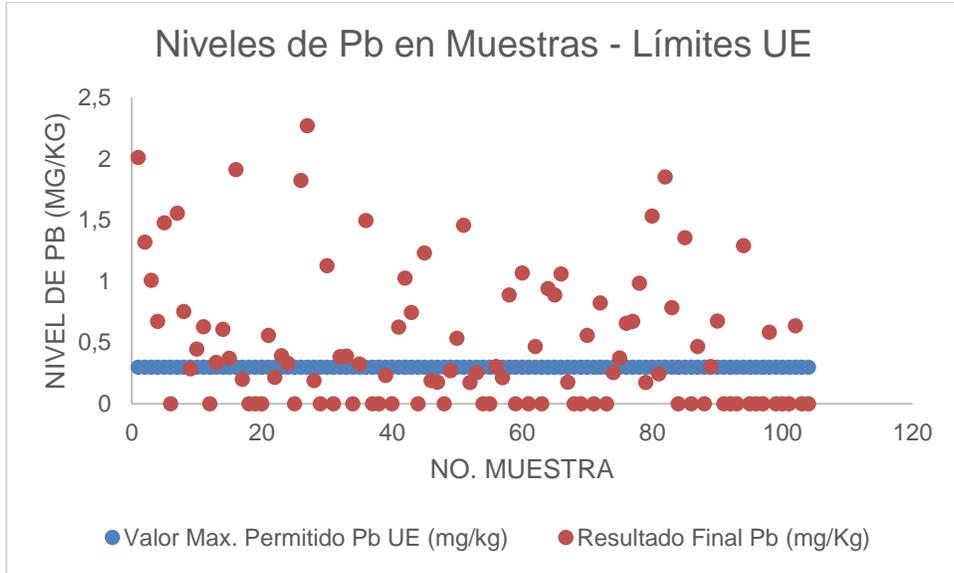


Figura 4-30. Niveles de plomo hallados en las muestras comparados con los límites permisibles establecidos por la Unión europea.

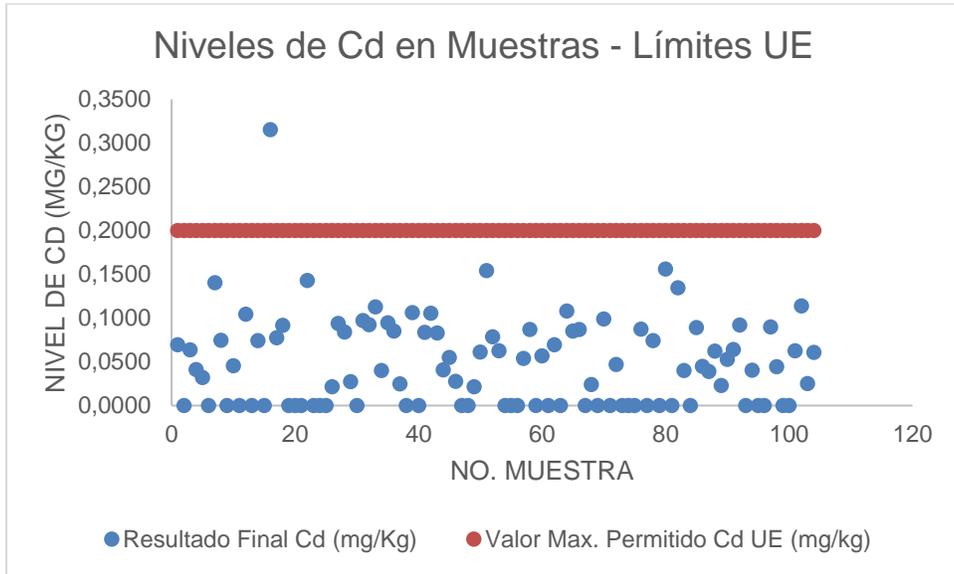


Figura 4-31. Niveles de cadmio hallados en las muestras comparados con los límites permisibles establecidos por la Unión europea.

En la investigación realizada por Ata S (2013), en la que se llevó a cabo la determinación de metales, entre ellos plomo y cadmio, en muestras de suelo y ajo, se encontró que las

muestras de suelo contenían niveles más altos, indicando que el suelo juega un rol importante en la acumulación de niveles de metales tóxicos presentes en las plantas.

Los productos a base de plantas son ampliamente usados en Asia (especialmente en Pakistán e India), muchos países africanos y occidentales, dentro del sistema de medicina complementaria y alternativa. El ajo es un ingrediente importante de muchas preparaciones alimenticias y es ampliamente usado en Pakistán por su actividad antioxidante, antimicrobiana, y antifúngica. También es usado como condimento como remedio para varios desórdenes, por ejemplo es efectivo en pacientes con presión alta, reduce el colesterol, previene el cáncer y los ataques cardiacos (Ata S, 2013). A pesar de que en el país se encuentran aprobadas ciertas indicaciones terapéuticas tanto para el ajo como para la alcachofa, dentro de la comunidad se consumen buscando fines adicionales que son conocidos y adjudicados a dichas plantas por tradición oral, sumándole a esto el hecho de que se adquieren bajo venta libre y se consumen sin ningún esquema terapéutico recomendado por un profesional de salud, en la mayoría de los casos.

Asimismo, los metales pesados se convierten en tóxicos cuando no son metabolizados por el cuerpo y se acumulan en los tejidos blandos. Ocupan un lugar destacado entre los principales contaminantes de hortalizas y plantas medicinales debido a que no son biodegradables y por lo que causan graves riesgos para la salud humana y animal. Como se ha venido mencionando, la principal fuente de acumulación de metales en humanos son las plantas y vegetales que consumen, que crecen en áreas contaminadas. La presencia de elementos traza en las plantas fluctúa y depende principalmente de varios factores como el pH del suelo y el contenido de materia orgánica y la deposición de metales en el ambiente se debe tanto a procesos naturales como al resultado de actividades humanas. Se conoce que los factores responsables de la contaminación del suelo corresponden al uso extensivo de fertilizantes químicos y pesticidas, procesos de minería, industrialización, escapes vehiculares y muchos otros (Ata S, 2013).

En cuanto a los efectos en salud, la exposición crónica a plomo resulta en defectos de nacimiento, retardo mental y efectos potencialmente tóxicos en el feto. Por su parte, niveles elevados de cadmio y cromo son responsables de enfermedades pulmonares, renales y cardiovasculares (Ata S, 2013).

La intoxicación relacionada con la presencia de metales en plantas medicinales ha sido reportada en algunos países de Asia, Europa y Estados Unidos, por lo tanto se requiere de un monitoreo continuo con el fin de asegurar los menores niveles posibles de metales tóxicos en plantas medicinales y vegetales, puesto que los niveles pueden llegar a ser excesivos cuando las plantas crecen en suelo contaminados. Dicha contaminación resulta del uso de agua de riego en agricultura, procesos de fundición y minería, el uso de fertilizantes químicos, etc. Así pues, las concentraciones elevadas de estos metales, no solo plomo y cadmio, representan un peligro para la salud debido a que interfieren con el funcionamiento normal del cuerpo, en este sentido el monitoreo en productos a base de plantas medicinales se requiere para evitar efectos tóxicos (Ata S, 2013). En el país no existen reportes sobre la vigilancia de estos contaminantes en plantas medicinales, generalmente estos estudios se han adelantado en alimentos como leche, hortalizas, entre otros, por lo que se considera esta investigación como un primer acercamiento al seguimiento y aseguramiento de la calidad de las materias primas de productos tan comúnmente usados como son los fitoterapéuticos y los suplementos dietarios que usan plantas dentro de sus formulaciones.

La determinación del contenido de plomo y cadmio en vegetales y productos farmacéuticos, tales como los productos fitoterapéuticos es un asunto importante que actualmente atrae la atención de la comunidad científica en todo el mundo (Ramezani Z, 2012). El ajo es tanto un aditivo alimentario como una planta medicinal, lo que implica que su uso es amplio, trayendo como resultado que la exposición a los metales que pueda llegar a contener sea alta. Es por esto que el monitoreo periódico de metales pesados en el ajo y en otras plantas usadas con fines medicinales para conocer el nivel de posible contaminación de ser obligatorio (Ramezani Z, 2012).

Es importante realizar esta vigilancia puesto que el plomo y el cadmio son dos elementos innecesarios que se acumulan en órganos específicos. Por su parte, el plomo se acumula en el cuerpo e interfiere con el metabolismo de la vitamina D y el calcio, también presenta efectos tóxicos a nivel neurológico causando alteraciones del comportamiento. De otro lado, el cadmio es fácilmente absorbido por los vegetales y encontrado en diversos alimentos de origen animal, se distribuye a riñón e hígado conllevando a diversas

alteraciones del estado de salud. Por ejemplo, se ha encontrado acumulación de cadmio en arroz, ostras, mejillones y la corteza renal de algunos animales contiene niveles importantes de cadmio. Los vegetales, especialmente las hortalizas o vegetales de hoja pueden contener niveles elevados de plomo cuando crecen en lugares cercanos a fuente de este metal, y asimismo, los vegetales que crecen en suelos altamente contaminados con cadmio tendrán altos niveles de dicho elemento tóxico (Ramezani Z, 2012).

Asimismo, dentro de las prácticas agrícolas se conoce el uso de fertilizantes a base de compuestos organofosforados que pueden contener cantidades elevadas de cadmio y plomo. Sin embargo, la biodisponibilidad del plomo puede verse reducida por vías como la complejación de estos iones a través de aniones como hidróxido, carbonato, sulfato, sulfuro y especialmente fosfatos presentes en el suelo (Ramezani Z, 2012).

De otro lado, es importante mencionar que, aunque no es un uso aprobado en el país, la alcachofa es empleada en el tratamiento de intoxicaciones causadas por plomo. Las hojas de alcachofa, *Cynara scolymus*, han sido usadas en la medicina tradicional para el tratamiento de enfermedades como las hiperlipidemias, principalmente, sin embargo, algunos investigadores han aislado e identificado varios componentes bioactivos como el ácido caféico, ácido clorogénico, cinarina y luteolina. Estos compuestos disminuyen la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), la peroxidación lipídica y la oxidación de lipoproteínas de baja densidad en experimentos *in vitro*. Por otra parte, diversos estudios han reportado que la vitamina C tiene algún efecto protector contra la intoxicación por plomo, esto debido a su eficacia antioxidante que inhibe la peroxidación lipídica aumentada por el plomo, por lo cual, considerando las propiedades antioxidantes de la alcachofa, se ha evaluado su efecto protector contra la intoxicación por plomo en modelos animales (Heidarian E, 2013). Esta situación es contradictoria, pues a pesar de las propiedades descritas para la alcachofa que pueden ayudar a la intoxicación por plomo, no es posible que la planta per se tenga niveles del mismo contaminante. Esto reafirma la importancia de asegurar la calidad de las preparaciones a base de plantas, con el fin de que sus efectos no sean contraproducentes.

Adicionalmente, según la Declaración de Alma-Ata y la Declaración de Beijing, adoptadas por la OMS en lo que respecta a la medicina tradicional, el uso de plantas medicinales es

un componente esencial dentro de la atención y el cuidado en salud, principalmente en países en vía de desarrollo. De igual manera manifiestan la necesidad de que los gobiernos y los profesionales de la salud asuman la responsabilidad de velar por que la medicina tradicional se use de forma adecuada, contribuyendo esto a la salud de la comunidad (Giraldo S, 2015).

Colombia es reconocida como el segundo país más diverso en especies vegetales, dentro de las cuales, miles de especies cuentan con alguna propiedad medicinal, lo que hace que su uso sea amplio, y su presencia importante dentro de los mercados populares. En Bogotá, existe una importante y amplia comercialización de plantas medicinales en mercados distritales, soportado por conocimiento etnobotánico que ha trascendido a través de generaciones y que merece la atención de los entes de control en salud, porque además de su venta y uso, ya sea en su estado original o en el desarrollo de productos fitoterapéuticos, existe la creencia por parte de la comunidad de la ausencia de toxicidad llevando a un uso inapropiado e inseguro (Giraldo S, 2015). Esta sensación de falsa seguridad o ausencia de efectos secundarios o toxicidad es popular entre la comunidad, lo que lleva a un uso indebido, no controlado y no supervisado por profesionales de salud, junto con el hecho de que su venta sea libre.

El regreso a lo natural es una de las premisas que actualmente rige a los consumidores de todo tipo de productos en el mundo, debido a la disponibilidad de transgénicos, daño de la capa de ozono, deforestación, seguridad alimentaria, etc., llevando a que se valoren mucho más los productos de origen natural que aseguren en cierta medida el cuidado del medio ambiente. Esto ha tenido como resultado la difusión de llamado "consumo verde", correspondiendo a nuevas prácticas de consumo y hábitos de vida, que no es ajeno a nuestro país, donde las plantas medicinales y los productos naturales se han convertido en piezas esenciales para el cuidado de la salud (ICEX, 2005).

El país tiene una tradición importante relacionada con el alto grado de propensión al consumo de productos de origen natural, con una importante tendencia al uso de remedios naturales. Por otro lado, dentro de la sociedad existe una conciencia notoria sobre el consumo de productos sanos, remedios de origen natural y dietas equilibradas (ICEX, 2005).

El valor y los efectos de todos estos productos de origen natural han alcanzado su popularidad gracias a los medios masivos de comunicación a través de la promoción de la fitoterapia, la homeopatía, la automedicación con preparaciones caseras, entre otras, siendo un hecho expreso su uso para el tratamiento de enfermedades menores, al tiempo que se incrementa el temor de los usuarios a los efectos secundarios que tienen los medicamentos de origen sintético (ICEX, 2005).

Los consumidores colombianos basan su decisión de compra en el asesoramiento de la persona que vende el producto, por encima del precio o la imagen. Este vendedor, además de vender el producto, hace recomendaciones al cliente dentro de la tienda naturista, establecimiento muy común en la actualidad. Respecto a las presentaciones, se usan formas farmacéuticas como tabletas, cápsulas, jarabes, etc., debido a la identificación que se le da al producto natural con el medicamento convencional (ICEX, 2005).

Respecto a la metodología analítica, es necesario acotar que la mayor parte de la preparación de las muestras para determinar metales se realiza por digestión húmeda con ácidos oxidantes. No obstante, hoy en día es conocido que los hornos microondas aligeran enormemente la eficiencia de la disolución y digestión (Luna J, 2010). Es por esto que es recomendable contar con este tipo de equipos que faciliten la preparación de la muestra y eviten pérdidas de los analitos de interés. Dentro de la estandarización y validación de la metodología analítica, se identificó que la preparación mediante digestión es absolutamente crítica, principalmente para el plomo, debido a las características de los tubos de digestión disponibles empleados para el desarrollo del método. Debe asegurarse el cierre completo del sistema de digestión, teniendo en cuenta que el tiempo requerido para lograr la preparación de la muestra fue de 4 horas, y de no asegurarse un buen sellado, se perderá el analito.

Finalmente es importante acotar que se logró la recolección de 105 muestras de productos fitoterapéuticos y suplementos dietarios en 84 tiendas naturistas seleccionadas de manera aleatoria en todas las localidades de Bogotá. Aunque el número de muestras planteadas inicialmente para la recolección era superior, no fue posible completar el valor

establecido, debido a diversas circunstancias operativas dentro del trabajo de campo. Sin embargo, se considera que las 105 muestras son suficientes para establecer un primer panorama o acercamiento sobre los contaminantes analizados en este tipo de productos.

5. Conclusiones y Recomendaciones

5.1 Conclusiones

- Se validó la metodología para la determinación de niveles de plomo y cadmio en muestras de productos fitoterapéuticos en formas farmacéuticas sólidas, mediante espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito, con digestión ácida asistida por calentamiento en baño termostático.
- Se identificaron las formas farmacéuticas, los laboratorios fabricantes y/o distribuidores y las marcas de los productos fitoterapéuticos a base de ajo y alcachofa, siendo las cápsulas y tabletas, las más frecuentes. Se reconocieron 12 laboratorios productores. Las marcas no se divulgaron por razones éticas.
- Se determinaron los niveles de plomo y cadmio en las muestras recolectadas, encontrando que el 64% de las muestras tuvo presencia de niveles de plomo y el 63% tuvo presencia de cadmio, mientras que el 48% de las muestras tuvo presencia de los dos metales de manera concomitante. Por su parte, para un 20% de las muestras no se obtuvieron niveles de ninguno de los dos metales.
- No se evaluó la distribución de niveles por localidad, debido a que en algunas de estos sectores el número de muestras recolectadas fue muy bajo (1 muestra para Mártires y 3 muestras para Usme), por lo que los datos no son comparables entre localidades.
- Los niveles obtenidos para las muestras recolectadas no superan los límites máximos permitidos a nivel nacional (10 mg/kg y 0,3 mg/kg para plomo y cadmio, respectivamente) establecidos por el Decreto 2266 de 2004 de Ministerio de Salud y Protección Social, a excepción de un producto a base de alcachofa que excedió ligeramente el valor normado.
- Al comparar los resultados obtenidos con otras normas más estrictas tal como los límites establecidos por la Unión Europea (0,3 mg/kg para plomo y 0,2 mg/kg para cadmio), las excedencias se aumentan al 85,6%, y se presenta no cumplimiento en varias muestras.
- Las exposiciones calculadas no superan la ITMP (ingesta mensual tolerable provisional) del cadmio establecido por JECFA, sin embargo, en el caso del plomo,

no existe tal umbral en razón a sus importantes efectos en salud, por lo que no se considera actualmente que se pueda hablar de un nivel seguro. Adicionalmente, se evidenció que las exposiciones a plomo son superiores a las obtenidas para el cadmio.

- Se logró la recolección de 105 muestras, en razón a las dificultades relacionadas con esta actividad como fueron la no disponibilidad de formas farmacéuticas solidas en las tiendas visitadas, lotes repetidos, y direcciones no encontradas o no correspondientes a tiendas naturistas.
- Se identificó y reportó un producto fraudulento ante la entidad sanitaria correspondiente, preparado a base de ajo.

5.2 Recomendaciones

Siendo este un primer acercamiento a la situación actual de contaminantes como son los metales pesados en productos farmacéuticos preparados a partir de plantas medicinales, es recomendable ampliar la gama de plantas, así como de metales estudiados, puesto que el presente trabajó se centró en dos metales de alto impacto en salud pública (plomo y cadmio) y dos plantas medicinales de amplio uso (ajo y alcachofa). Es bien sabido, que en el país existe una gran variedad de plantas medicinales que no necesariamente se usan en una forma farmacéutica definida y que la población tiene fácil acceso al material crudo, por lo que sería importante también incluirlo dentro de la vigilancia de contaminantes.

Por otra parte, se recomienda a la entidad sanitaria correspondiente exigir estudios que permitan asegurar que los productos fabricados a base de plantas medicinales son seguros en cuanto a contaminantes se refiere.

Se recomienda fortalecer la investigación dentro del campo de la toxicología en este tipo de productos empleados para el cuidado de la salud, teniendo en cuenta que si no se asegura su calidad, su uso puede ser contraproducente, mediante el mejoramiento de la tecnología disponible en el laboratorio. Cabe resaltar, que en el caso de productos a base de plantas medicinales, se requiere tener en cuenta otros factores como lo son el agua, el

suelo, el aire, estableciendo así, un panorama de la contaminación ambiental en la ciudad y en el país.

Asimismo, se recomienda generar debate sobre la posición de las plantas medicinales en la cadena del cuidado de la salud de la población, esto en vista de su uso poco controlado y vigilado, y la sensación de falsa seguridad y amplia aceptabilidad entre la comunidad. Se requiere la educación de la población general y del personal de salud, al respecto, orientada al conocimiento de los riesgos que implica el uso de productos a base de material vegetal de manera indiscriminada por largos periodos de tiempo.

6. Bibliografía

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2012). Toxicological Profile for Cadmium. (D. o. Services, Ed.) *Public Health Service*.
- AHPA, American Herbal Products Association. (2009). *Heavy Metals: Analysis and Limits in Herbal Dietary Supplements*. Silver Spring.
- Álvarez A, A. Y. (2008). Cuantificación de Plomo y Mercurio en Productos Naturales con Fines Terapéuticos Comercializados en Venezuela. *Retel*, 35-48.
- ANMAT, Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica. (2013). *Farmacopea Argentina* (Séptima ed., Vol. IV). Argentina. Obtenido de http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/flip_pages/Farmacopea_Vol_IV/files/assets/basic-html/page194.html
- Annan K, D. R. (2013). The Heavy Metal Contents of Some Selected Medicinal Plants Sampled From Different Geographical Locations. *Pharmacognosy Res.*, 5(2), 103-108.
- Ata S, T. S. (2013). Analysis of Non-Volatile Toxic Heavy Metals (Cd, Pb, Cu, Cr and Zn) in *Allium sativum* (Garlic) and Soil Samples, Collected from Different Locations of Punjab, Pakistan by Atomic Absorption Spectroscopy. *ISHMET: E3S Web of Conferences*, 1, 1-3.
- ATSDR, A. f. (2005). *Regulations and Advisories: Lead*.
- Babula P, A. V. (2012). Cadmium Accumulation by Plants of Brassicaceae Family and Its Connection with Their Primary and Secondary Metabolism. *Environmental Pollution*, 21, 71-97. Recuperado el 18 de 01 de 2016
- Behera B, B. S. (2016). The Importance of Assessing Heavy Metals in Medicinal Herbs: A Quantitative Study. *Tang Humanitas Medicine*, 6(1), 1-4.

- Bejarano Y, P. Y. (2017). *Revisión Documental de los Aspectos Técnicos Relacionados con la Dispensación y Gestión del Riesgo de Productos Fitoterapéuticos en Colombia*. Villavicencio, Meta: Universidad de los Llanos.
- Benavides M, G. S. (2005). Cadmium Toxicity in Plants. *Braz. J. Plant Physiol.*, 17(1), 21-34.
- Calixto J.B. (2000). Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Braz J Med Biol Res*, 33(2), 179-189.
- Cañigüeral S, D. E. (2003). Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿Indicadores de Dependencia o Factores de Desarrollo? *Acta Farm. Bonaerense*, 22(3), 265-278.
- Carballo M, C. C. (2005). Riesgos y Beneficios en el Consumo de Plantas Medicinales. *Theoria*, 14(2), 95-108.
- Castellanos L. (2016). *Determinación de Vida Útil Acelerada de Fondos de Alcachofa (Cynara scolymus L.) Pre-cocidos y empacados al Vacío para la Empresa Agri M.V.C.M. LTDA*. Bogotá: Universidad de La Salle.
- Cecchini T, T. B. (2008). *Las Plantas Medicinales*. Barcelona, España: Editorial de Vecchi.
- Chizzola R. (2012). Metallic Mineral Elements and Heavy Metals in Medicinal Plants. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 6(1), 39-53.
- Cifuentes V. (6 de Diciembre de 2018). *Agronegocios*. Recuperado el 14 de Junio de 2019, de <https://www.agronegocios.co/agricultura/investigadores-de-la-nacional-caracterizan-cannabis-para-producir-medicamentos-de-alta-calidad-2802900>
- DANE, D. A. (2008). Estimación e Interpretación del Coeficiente Variación de la Encuesta Censal. Recuperado el 12 de Marzo de 2019, de https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/boletines/censo/est_interp_coefvariacion.pdf
- Dargan P, G. I. (2008). Heavy Metal Poisoning from Ayurvedic Traditional Medicines: An Emerging Problem? *Int. J. Environment and Health*, 2(3/4), 463-474.
- De Sagrera J. (2006). La Homeopatía. *Offarm*, 25(4), 86-91.

- Díaz J.A. (2003). *Caracterización del Mercado Colombiano de Plantas Medicinales y Aromáticas*. Bogotá: Instituto Alexander von Humboldt. Recuperado el 16 de 06 de 2019, de <https://sioc.minagricultura.gov.co/PlantasAromaticas/Documentos/005%20-%20Documentos%20T%C3%A9cnicos/D.T.%20%E2%80%93%202014%20Mayo%20%E2%80%93%20Caracterizacion%20del%20Mercado%20Colombiano.pdf>
- Díaz M, S. M. (2000). Preparaciones Farmacéuticas Elaboradas con Base en Productos Naturales Regulación Sanitaria. *Pontificia Universidad Javeriana*.
- Dobson S. (1992). *International Programme on Chemical Safety*. Recuperado el 16 de 06 de 2019, de <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc135.htm>
- Echegaray J, E. P. (2011). Homeopatía. Principales Remedios Homeopáticos. *Revista Española de Podología*, 22(6), 226-233.
- Ekor M. (2014). The Growing Use of Herbal Medicines: Issues Relating to Adverse Reactions and Challenges in Monitory Safety. *Front Pharmacol.*, 4, 1-10.
- El-Boshy M, A. A. (2017). Studies on the Protective Effect of the Artichoke (*Cynara scolymus*) Leaf Extract Against Cadmium Toxicity-Induced Oxidative Stress, Hepatorenal Damage, and Immunosuppressive and Hematological Disorders in Rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(13), 12372-12383.
- Eurachem. (2000). Cuantificación de la Incertidumbre en Mediciones Analíticas. *Co-Operation on International Traceability in Analytical Chemistry*.
- Eurachem. (2016). Guía Eurachem: La Adecuación del Uso de los Métodos Analíticos - Una Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Temas Relacionados. *Primera Edición*.
- Fahr M, L. L. (2013). Effect of Lead on Root Growth. *Frontiers in Plant Science*, 4(175), 1-7.
- FAO, F. a. (1986). *Espectroscopía de Absorción Atómica*. Recuperado el 2 de Diciembre de 2018, de <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab482s/AB482S04.htm>

- Farheen F. (2009). Investigation of Heavy Metal Content in Selected Top Traded Medicinal Plants Collected from Different Sources. *University of Health Sciences of Kantaka, Bangalore*.
- FDA, F. a. (2014). *Validation and Verification Guidance for Human Drug Analytical Methods*. Obtenido de Food and Drug Administration: <https://www.fda.gov/downloads/scienceresearch/fieldscience/laboratorymanual/ucm292774.pdf>
- Gajalakshmi S, I. V. (2012). Evaluation of Heavy Metals in Medicinal Plants Growing in Vellore District. *Euro. J. Exp. Bio.*, 2(5), 1457-1461.
- Gamboa L, F. N. (2008). Diferencias en los Índices de Masa Corporal en Colombia en 2005: Una Aplicación de los Indicadores de Desigualdad. *Serie de Documentos de Trabajo, Universidad del Rosario*(38), 1-21.
- Gebreyohannes G, G. M. (2013). Medicinal Values of Garlic: A Review. *International journal of Medicine and Medical Sciences*, 5(9), 401-408.
- Giraldo S, B. M. (2015). Descripción del Uso Tradicional de Plantas Medicinales en Mercados Populares de Bogotá, D.C. *NOVA*, 13(23), 73-80.
- Grande C, D. J. (2015). *Cadena de Valor de Plantas Aromáticas, Medicinales y Condimentarias. Una Industria en Pleno Desarrollo*. Cali: Editorial Bonaventuriana.
- Guevara H, L. P. (2010). Revisión Documental de los Productos Naturales Legalmente Autorizados para su Mercadeo en Colombia. *Colomb. Med.*, 41(2).
- Heidarian E, R.-K. M. (2013). Protective Effect of Artichoke (*Cynara scolymus*) Leaf Extract Against Lead Toxicity in Rat. *Pharm Biol*, 51(9), 1104-1109.
- Helal A, K. R. (2013). A Review of Heavy Metals Contamination in Traditional Medicinal Products. *J App Pharm*, 4(2), 748-756.
- ICEX, I. E. (2005). *El Sector de Productos Naturales en Colombia*. Oficina Económica y Comercial de la Embajada de España en Bogotá. Notas Sectoriales.

- Instituto de investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. (s.f.). *Encuesta Nacional de Plantas Medicinales y Aromáticas: Una Aproximación al Mercado de las PMyA en Colombia*. Recuperado el 07 de Octubre de 2014, de <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/Comercio.pdf>
- INVIMA, I. N. (2012). *Glosario de Términos*. Recuperado el 25 de Noviembre de 2018, de <https://www.invima.gov.co/servicios-de-informacion-al-ciudadano/glosario-de-terminos.html>
- INVIMA, I. N. (2015). *Guía de Definiciones de Formas Farmacéuticas*. Obtenido de <https://www.invima.gov.co/procesos/archivos/ASS/RSA/ASS-RSA-GU005.pdf>
- INVIMA, I. N. (2015). *Listado de Plantas Medicinales Aceptadas con Fines Terapéuticos*.
- ISPCH, I. d. (2005). *Guía Técnica G-VMBA*. Recuperado el 21 de Enero de 2019, de <http://www.ispch.cl/sites/default/files/GU%C3%8DA%20T%C3%89CNICA%20G-VMBA.pdf>
- ISPCH, I. d. (2010). *Validación de Métodos y Determinación de la Incertidumbre en la Medición: "Aspectos Generales sobre la Validación de Métodos"*.
- IUPAC. (2014). *Gold Book*. Recuperado el 21 de Enero de 2019, de <http://goldbook.iupac.org/html/M/M03759.html>
- Jali P, P. C. (2016). Effects of Cadmium Toxicity in Plants: A Review Article. *Sch. Acad. J. Biosci.*, 4(12), 1074-1081.
- Jamaica D, C. M. (2017). *Descripción del Uso Tradicional de Plantas Medicinales con Potencial Actividad Antimicrobiana y Sobre el Sistema Nervioso Central Comercializadas en Mercados Populares de la Zona Sur de Bogotá, D.C. y Propuesta para su Uso Adecuado en la Comunidad*. Bogotá: Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD.
- Jamshidi F, L. Z. (2018). Medicinal Plants: Past, History and Future Perspective. *J Herbmed Pharmacol*, 7(1), 1-7.
- JECFA, J. F. (2011). Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants: Cadmium. 305-380.

- JECFA, J. F. (2011). Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants: Lead.
- Jiang W, L. D. (2001). Hyperaccumulation of cadmium by roots, bulbs and shoots of garlic (*Allium Sativum* L.). *Bioresource Technology*, 9-13.
- Krejpcio Z, K. E. (2007). Evaluation of Heavy Metals Contents in Spices and Herbs Available on the Polish Market. *Polish J. of Environ. Stud.*, 16(1), 97-100.
- Leonardi C, P. H. (2016). Mechanisms of Phytoextraction in *cynara cardunculus* L. Growing Under Cadmium and Arsenic Stress. *Acta Hortic.*, 1147(19), 139-144.
- Liu D, Z. J. (2008). Uptake and Accumulation and Oxidative Stress in Garlic (*Allium sativum* L.) Under Lead Phytotoxicity. *Ecotoxicology*, 18(1), 134-143.
- Luna J, D. B. (2010). Digestión de Productos Fitoterapéuticos, Asistido por Microondas, para el Análisis Espectrofotométrico de Plomo. *Revista de Toxicología en Línea*, 20-32.
- Mañay N, C. G. (2009). Capítulo 5. Absorción Atómica con Horno de Grafito. En A. M. Litter M, *Metodologías analíticas para la Determinación y Especiación de Arsénico en Aguas y Suelos* (págs. 79-80). Argentina: Iberoarsen.
- Martin, M. (2017). *Análisis de Contaminantes Metálicos y Minerales en Plantas Medicinales. Evaluación del Riesgo para la Salud Humana*. Granada, España: Universidad de Granada.
- Martin-Domingo M, P. A.-A.-P. (2017). Determination of Metalloid, Metallic and Mineral Elements in Herbal Teas. Riskassessment for the Consumers. *Journal of Food Composition and Analysis*, 60, 81-89.
- Meyer V. (2007). Measurement Uncertainty. *J. Chromatogr. A*, 1158, 15-24.
- Ministerio de la Protección Social. (2004). Decreto 2266. Colombia.
- MPS, M. d. (2004). Decreto 3553 .
- MSPS, M. d. (2008). Vademécum Colombiano de Plantas Medicinales.
- MSPS, M. d. (2012). Obtenido de Plan Decenal de Salud Pública 2012-2021.

- MSPS, Ministerio de Salud y Protección Social. (2004). *Decreto 3554*.
- Mustafa G, A. R. (2017). Bioactive Compounds from Medicinal Plants and their Importance in Drug Discovery in Pakistan. *MSP*, 1(1), 17-26.
- Naser K, K. M. (2013). The Effecto of Arsenic and Heavy Metals on Growth and Metal Accumulation by Artichoke (*Cynara scolymus* L.) and Savory (*Satureja hortensis* L.). *Iranian Journal of Plant Physiology*, 3(3), 737-747.
- Nasser K, K. M. (2012). Accumulation and Phytotoxicity of Lead in *Cynara scolymus*. *Indian Journal of Science And Technology*, 5(11), 3634-3641.
- Nordberg G. (2013). Metales: Propiedades Químicas y Tóxicas. En I. N. Trabajo, *Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo* (3ra ed.). Obtenido de <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/EnciclopediaOIT/tomo2/63.pdf>
- Nwokocha C, O. D. (2012). Comparative Study on the Efficacy of *Allium sativum* (Garlic) in Reducing Some Heavy Metal Accumulation in Liver of Wistar Rats. *Food and Chemical Toxicology*, 50, 222-226.
- Pérez M. (2012). Estimación de Incertidumbres. Guía GUM. *Centro Español de Metrología*, 113-130.
- Pinzón H. (2009). Los Cultivos de Cebolla y Ajo en Colombia: Estado del Arte y Perspectivas. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 3(1), 45-55.
- Prato-Sarmiento A. (2016). Evaluación Financiera de Ajo (*Allium sativum* L.) Morado Nacional y Peruano en el Altiplano Cundiboyacense, Colombia. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria, Mosquera, Colombia*, 17(1), 43-53.
- Ramezani Z, A. N. (2012). Determination of Pb and Cd in Garlic Herb (*Allium sativum*) Planted in Gilan and Khuzestan Provinces Using Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. *Jundishapur J Nat Pharm Prod*, 7(2), 41-44.
- Real Farmacopea Española. (2002). *Fromas Farmacéuticas. Segunda Edición*. Obtenido de http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Lecturageneralidades-3_15034.pdf

- Rivera A, B. X. (2000). Uso y Comercio Sostenible de Plantas Medicinales en Colombia. *Memorias del Seminario Taller*.
- Rodríguez L. (2017). *Estudio de la Situación en Colombia Acerca de la Producción de Fitoterapéuticos a Través de Procesos Biotecnológicos*. Bogotá, D.C.: Pontificia Universidad Javeriana.
- Sakharkar P. (2017). Letter to the Editor Lead Poisoning Due to Herbal Medicines. *Ind J Clin Biochem*, 32(4), 500-501.
- Sarmiento J, Q. P. (2011). Turbulencia empresarial en Colombia: Caso Sector de Laboratorios Fitoterapéuticos. *Universidad del Rosario*.
- Satarug S, G. S. (2010). Cadmium, Environmental Exposure, and Health Outcomes. *Environmental Health Perspectives*, 118(2), 182-190.
- SDS, S. D. (2011). *Vigilancia en Salud Pública*. Recuperado el 24 de Noviembre de 2018, de Medicamentos Seguros: <http://www.saludcapital.gov.co/sitios/VigilanciaSaludPublica/Paginas/MedicamentosAlterados.aspx>
- Shaban N, A. K. (2016). Impact of Toxic Heavy Metals and Pesticide Residues in Herbal Products. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 5, 102-106.
- SIC, S. d. (Junio de 2015). *Boletín Tecnológico: Productos Fitoterapéuticos*. Recuperado el 10 de Agosto de 2017, de http://www.sic.gov.co/recursos_user/documentos/publicaciones/Productos_Fitoterapeuticos.pdf
- Simulab. (s.f.). *Study Notes: Graphite Furnace Atomiser*. Recuperado el 16 de Junio de 2019, de Simulab Testing Laboratory: <http://simulab.ltt.com.au/5/Laboratory/StudyNotes/snGrapFurnAtom.htm>
- Singh R. (2015). Medicinal Plants: A Review. *Journal of Plant Sciences*, 3(1-1), 50-55.
- Singh R, G. N. (2011). Heavy Metals and Living Systems: An Overview. *Indian J. Pharmacol.*, 43(3), 243-253.

- Soudek P, P. S. (2011). Heavy Metal Uptake and Stress Responses of Hidroponically Cultivated Garlic (*Allium Sativum* L.). *Enviromantal and Experimental Botany*, 74, 289-295.
- Stanojkovic-Sebic A, P. R. (2015). Heavy Metals Content in Selected Medicinal Plants Commonly Used as Components for Herbal Formulations. *Journal of Agricultural Sciences*, 21, 317-325.
- Streer R.A., C. M. (2013). Commonly Used Metal and Crystalline Salts in South African Traditional Medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 148, 329-331.
- Street R.A. (2012). Heavy Metals in Medicinal Plant Products - An African Perspective. *South African Journal of Botany*, 82, 67-74.
- Tang G, T. X. (2017). Lead Poisonig Caused By Traditional Chinese Medicine: A Case Report and Literature Review. *Tohoku J. Exp. Med.*, 243, 127-131.
- Tsevegsuren N, D. G. (2014). Phytochemical analysis of *Cynara scolimus* L. Cultivated in Mongolia. *Mongolian Journal of chemistry*, 15(41), 40-42.
- Universidad de Extremadura. (s.f.). *Capitulo 1. Muestreo Estratificado*. Recuperado el 16 de Junio de 2019, de http://matematicas.unex.es/~inmatorres/teaching/muestreo/assets/cap_4.pdf
- Valderrama M. (2014). *Evaluación de Diferentes Niveles de Alcachofa (Cynara scolymus) en Dietas para Pollos de Engorde y siu Efecto sobre Parámetros Productivos, Alometría del Intestino Delgado y Órganos Linfoides*. Palmira: Universidad Nacional de Colombia.
- Vallejo B, T. N. (2007). Estudio Descriptivo de los Subsectores Productores y Comercializadores de Medicamentos y Fitoterapéuticos en Bogotá. *Rev. colomb. Cienc. Quím. Farm.*, 36(2), 175-191.
- Vasquez, C. (2014). Avances en la Investigación Sobre Plantas Medicinales. En I. C. Humboldt, *Biodiversidad 2014. Estado y Tendencias de la Biodiversidad Continental en Colombia*. Bogotá D.C., Colombia.

WHO, W. H. (1998). Recuperado el 02 de Septiembre de 2014, de <http://whqlibdoc.who.int/publications/1998/9241545100.pdf>

WHO, W. H. (2010). Obtenido de Exposure to Cadmium: A Major Public Health Concern: <http://www.who.int/ipcs/features/cadmium.pdf?ua=1>

Zhang J, O. I. (2015). The Safety of Herbal Medicine: From Prejudice to Evidence. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-3.

Zhang W, D. Y. (2014). Cadmium Exposure and its Health Effects: A 19-year Follow-up Study of a Polluted Area in China. *Science of the Total Environment*, 470-471, 224-228.

ANEXOS

ANEXO 1

ACTA DE TOMA DE MUESTRAS

Localidad	
Barrio	
Nombre establecimiento	
Dirección establecimiento	

Código Muestra	
-----------------------	--

Nombre del producto	Características	Presentación	Lote	Fecha de vencimiento (AAAA-MM-DD)	Registro Sanitario	Unidades recolectadas
Observaciones						

Fecha de recolección de la muestra (AAAA-MM-DD)	Responsable	Firma

ANEXO 2

APROBACIÓN COMITÉ DE ÉTICA FACULTAD DE MEDICINA


Comité de Ética
Facultad de Medicina
Sede Bogotá

UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

ACTA DE EVALUACIÓN: N°. 013-211-17
Fecha: 14 de septiembre de 2017

Nombre completo del proyecto: "DETERMINACIÓN DE NIVELES DE PLOMO Y CADMIO EN PRODUCTOS FITOTERAPÉUTICOS A BASE DE ALCACHOFA (CYNARA SCOLYMUS) Y AJO (ALLIUM SATIVUM) COMERCIALIZADOS EN BOGOTÁ".

Versión número: 01

Sometido por: la estudiante Luz Adriana Ruiz Pérez

Dirigido por: la profesora Nancy Patiño Reyes

Presentado por: la profesora Alba Isabel Rodríguez Pulido, Coordinadora Académica

Departamento o Sección: Maestría en Toxicología de la Facultad de Medicina

Fecha en que fue sometido a consideración del Comité: 14 de septiembre de 2017

EL COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACION DE LA FACULTAD DE MEDICINA. Se constituyó mediante la Resolución 152, (Acta No. 43 del 5 de diciembre de 1996) actualizado mediante resolución 008 (Acta 03 de 27 de enero de 2011), de Consejo de Facultad el Comité de Ética de investigación, el cual está regido por la Resolución 008430 del 4 de octubre de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia que estableció las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud; los principios de la Asamblea Médica Mundial expuestos en su Declaración de Helsinki de 1964, última revisión del año 2000; y el código de regulaciones federales, título 45, parte 46, para la protección de los sujetos humanos, del departamento de salud y servicios humanos de los institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos (Junio 18 de 1991).

1. Sus miembros revisaron los siguientes documentos del presente proyecto:

- ✓ Carta de presentación del proyecto generada por la unidad básica o el departamento.
- ✓ Copia de la evaluación de los jurados o pares académicos que evaluaron y aprobaron el trabajo).
- ✓ Copia del proyecto completo de investigación,
- ✓ Dos resúmenes ejecutivos
- ✓ Dos copias del consentimiento informado (en español y cuando la investigación lo amerite).
- ✓ Hojas de vida resumidas de los investigadores y coinvestigadores del proyecto.
- ✓ Consideraciones éticas según resolución 8430 Ministerio de Salud.
- ✓ Resultados de evaluación por otros comités (si aplica).

2. El presente proyecto fue evaluado y aprobado por los siguientes miembros del Comité:

1	Amador Luis Roberto	Departamento de Patología
2	Duarte Gutiérrez Liz Marcela	Asesora Jurídica Facultad de Medicina
3	Guerrero Fonseca Carlos Arturo	Departamento de Ciencias Fisiológicas
4	Parra Pineda Mario Orlando	Departamento de Obstetricia y Ginecología

3. El Comité consideró que el presente estudio:

a. Es válido desde el punto de vista ético. La investigación involucra un riesgo igual al promedio para los sujetos que participan en ella. La investigación se ajusta a los estándares de la buena práctica clínica.

[Página 1/1]
Elaboró Jeannette Pineda A.

Carrera 30 N°. 45-03
FACULTAD DE MEDICINA, Edificio 471 - 1 piso, Of. 136
Commutador: (57) (1) 316 5000 ext. 15167
Bogotá, Colombia
eticassalud_fmboep@unal.edu.co

Patrimonio
de todos
los colombianos

SESQUICENTENARIO
UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA


Comité de Ética
Facultad de Medicina
Sede Bogotá

UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

b. El Comité considera que las medidas que están siendo tomadas para proteger a los sujetos humanos son adecuadas.

4. El Comité informará inmediatamente a las directivas institucionales:

- a. Todo desacato de los investigadores a las solicitudes del Comité.
- b. Cualquier suspensión o terminación de la aprobación por parte del Comité.

5. El Comité informará inmediatamente a las directivas, toda información que reciba acerca de:

- a. Lesiones o daños a sujetos humanos con motivo de su participación en la investigación Problemas imprevistos que involucren riesgos para los sujetos u otras personas.
- b. Cualquier cambio o modificación a este proyecto que haya sido revisado y aprobado por este comité

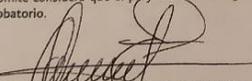
6. Cuando el proyecto sea aprobado, será por un periodo de un (1) año a partir de la fecha de aprobación.

7. El Investigador principal deberá:

- a. Informar de cualquier cambio que se proponga introducir en el proyecto. Estos cambios no podrán ejecutarse sin la aprobación previa del COMITÉ DE ÉTICA DE LA FACULTAD DE MEDICINA) excepto cuando sean necesarios para minimizar o suprimir un peligro inminente o un riesgo grave para los sujetos que participan en la investigación.
- b. Avisar de cualquier situación imprevista que se considere implica algún signo de riesgo para los sujetos o la comunidad o el medio en el cual se lleva a cabo el estudio.
- c. Informar de cualquier evento adverso serio de algún paciente, comunicando la situación al secretario y al presidente del Comité de Ética), de acuerdo con la normatividad que el INVIMA ha generado a este respecto.
- d. Poner en conocimiento del comité toda información nueva importante respecto al estudio, que pueda afectar la relación riesgo/beneficio de los sujetos participantes.
- e. Comunicar cualquier decisión tomada por otros comités con respecto a la investigación que se lleva a cabo.
- f. Informar de la terminación prematura o suspensión del proyecto explicando las causas o razones.
- g. Presentar a este comité un informe cuando haya transcurrido un año, contado a partir de la aprobación del proyecto. Los proyectos con duración mayor a un año, serán reevaluados a partir del informe de avance integrado.
- h. Todos los proyectos deben entregar al finalizar un informe final de cierre del estudio, este cierre puede ser el informe final en formato completo o en formato de resumen de cierre de estudio, firmado por el investigador responsable del estudio.

8. Observaciones:

El comité considera que el proyecto de investigación no presenta dilemas éticos por lo tanto emite Concepto Aprobatorio.



Nombre: CARLOS ARTURO GUERRERO FONSECA
Título: PhD Doctorado en Bioquímica, MSc. en Farmacología y MSc. en Genética Humana
Cargo: Presidente Comité de Ética

[Página 2/2]
Elaboró Jeannette Pineda A.

Carrera 30 N°. 45-03
FACULTAD DE MEDICINA, Edificio 471- 1 piso, Of. 136
Commutador: (57) (1) 316 5000 ext. 15167
Bogotá, Colombia
eticassalud_fmboep@unal.edu.co

Patrimonio
de todos
los colombianos

SESQUICENTENARIO
UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

ANEXO 3

DIRECCIONES DE ESTABLECIMIENTOS VISITADOS Y OBSERVACIONES RELACIONADAS CON LA ACTIVIDAD DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

No. Aleatorio	Nombre Comercial	Dirección Comercial	Localidad	Barrio	Observaciones
8	CLINICA MARCO MARTINEZ EU	KR 7 C 124 52	1. USAQUÉN	NO REGISTRA	No se encontró ajo, solo compuesto con perejil.
23	EL ARCA NATURAL	CL 140 17 10 LC 102	1. USAQUÉN	LOS CEDRITOS	No se encontró ajo.
25	VIDA Y SALUD MRV	CL 156 8 09	1. USAQUÉN	BARRANCAS	
39	NATURAL + PLUS S.A.	CL 114 6A 92 LC C-219	1. USAQUÉN	USAQUEN	No se recogió ninguna muestra. Lotes repetidos.
53	SUPERMERCADO NATURISTA	AK 7 108 58	1. USAQUÉN	SANTA ANA OCCIDENTAL	No se recogió ajo. Lote repetido.
54	GLOVAL NUTRITION STORE ÉXITO CARULLA 140	KR 11 140 52	1. USAQUÉN	CEDRITOS	No se recogió ajo. Lote repetido.
66	TIENDA DIETETICA	AC 127 13A 60	1. USAQUÉN	LA CAROLINA	No se recogió ninguna muestra. Lotes repetidos.
22	CENTRO NATURISTA LA CASA VERDE	CL 57 13 42	2. CHAPINERO	NO REGISTRA	
24	EN FORMA NATURAL	CL 64 7 30	2. CHAPINERO	NO REGISTRA	No se recogió ninguna muestra. Tienda en la cual venden productos para entrenamiento físico (proteínas, suplementos, etc.)
48	LUZ Y VIDA CENTRO NATURISTA	CL 76 15 25	2. CHAPINERO	NO REGISTRA	No se encontró ajo.
49	EN FORMA NATURAL	KR 11 90 23 LC 1	2. CHAPINERO	S.C. EL CHICO	
50	TIENDA DIETETICA	CL 73 9 17	2. CHAPINERO	NO REGISTRA	
3	LAS FARLA	CL 12 13 47 LC 126-127	3. SANTA FE	SANTA INES	No se encontró ajo. Nombre establecimiento es Distribuciones Daniel
20	HOJITA DE TE	KR 13 11 03 LC 05A	3. SANTA FE	SANTA INES	
27	DISTRIVIDA S.A.	KR 13 11 03 LC 130	3. SANTA FE	SANTA INES	
46	SUPERMERCADO NATURALS HELIOS	KR 8 17 21 LC 1	3. SANTA FE	VERACRUZ	

48	SUPLEMENT STORE	KR 8 17 79	3. SANTA FE	VERACRUZ	
79	SALUD Y VIDA	KR 9 15 70	3. SANTA FE	VERACRUZ	
80	NATURCENTRO	KR 9 17 92	3. SANTA FE	VERACRUZ	
12	TIENDA NATURISTA LA MEJORANA	TV 3G ESTE 42 92 SUR	4. SAN CRISTÓBAL	LA VICTORIA	Dirección no corresponde a tienda naturista. Vivienda.
18	BODY MAGIC PRODUCTOS NATURALES Y DE BELLEZA	CL 11 SUR 7B 04	4. SAN CRISTÓBAL	NARIÑO SUR	No se encontró ajo. Tienda naturista, venta de productos de belleza y productos para entrenamiento físico.
36	CENTRO NATURISTA EL NARANJAL	CL 20A SUR 7 23	4. SAN CRISTÓBAL	NO REGISTRA	
15	TIENDA NATURISTA SUNEY	CL 69F SUR 14C 53	5. USME	LA AURORA	No se encontró ajo.
16	TIENDA NATURISTA NATURES STORES	KR 1A 65D 58 SUR	5. USME	NO REGISTRA	
2	CENTRO NATURISTA NATURAL LIGHT	CL 54 SUR 16 64 LC 2	6. TUNJUELITO	TUNJUELITO	
19	EDENTIA	DG 49A SUR 53 32	6. TUNJUELITO	VENECIA	
26	DISTRICERES	TV 30 52B 06 SUR	6. TUNJUELITO	EL CARMEN	
21	TIENDA NATURISTA UNIVERSAL	CL 57B SUR 62 64 LC 1	7. BOSA	VILLA DEL RIO	Dirección no corresponde a tienda naturista.
39	TIENDA NATURISTA EL POLEN MOT	KR 88C 56 08 SUR	7. BOSA	HOLANDA	
46	PRODUCTOS NATURALES NISSI	CL 59 SUR 78D 26	7. BOSA	JOSE ANTONIO GALAN	
50	TIENDA NATURISTA SALUD Y VIDA	KR 87C 60 15 SUR	7. BOSA	BOSA NOVA	No se encontró ajo.
14	PRODUCTOS NATURALES CHAIN NATURAL	CL 40 SUR 78J 34	8. KENNEDY	CIUDAD KENNEDY SUPERMANZANA 8	
34	AL NATURAL TE	CL 37 SUR 78J 21	8. KENNEDY	CIUDAD KENNEDY SUPERMANZANA 8	Nombre establecimiento es Eco Vie
35	CENTRO DE PRODUCTOS NATURALES SHADDAY	CL 37 SUR 78H 27	8. KENNEDY	CIUDAD KENNEDY SUPERMANZANA 8	
42	NO REGISTRA	KR 81G BIS 42 62 SUR	8. KENNEDY	EL AMPARO	Nombre establecimiento es Naturity.
51	NO REGISTRA	KR 78K 39 58 SUR	8. KENNEDY	CIUDAD KENNEDY SUPERMANZANA 8	Nombre establecimiento: T.N Onix
55	CLOROFILA TIENDA SALUDABLE	CL 26 SUR 73 82	8. KENNEDY	NO REGISTRA	Dirección corresponde a Farmacia. Dirección antigua.
56	T.N PHARMA NATURAL	CL 38C SUR 86G 20	8. KENNEDY	PATIO BONITO I SECTOR	No se encontró ajo, solo forma líquida.
94	TIENDA NATURISTA LAS RECETAS DE LA ABUELA	CL 11A 72B 28	8. KENNEDY	VILLA ALSACIA	No se recogió ninguna muestra. Alcachofa no disponible y ajo líquido.

104	TIENDA NATURISTA POPURRY	CL 6 B 78 C 63 LC 1	8. KENNEDY	CASTILLA LA NUEVA	Nombre establecimiento: Tienda María del Ángel
129	TIENDA NATURISTA MARIA DEL ANGEL	CL 1 68 18	8. KENNEDY	LA IGUALDAD	No se recogió ninguna muestra. Alcachofa no disponible y ajo líquido.
27	CENTRO NATURISTA BIOFARMA	KR 100 16J 17 LC 1	9. FONTIBÓN	CENTRO FONTIBON	No se encontró ajo, solo en capsula blanda.
34	TIENDA NATURISTA URANO	AC 24 75 11	9. FONTIBÓN	MODELIA	No se encontró ajo.
44	HILDA STRAUS	KR 100 18 59 LC 5	9. FONTIBÓN	CENTRO FONTIBON	
49	AVANTA	AC 24 69C 35	9. FONTIBÓN	CIUDAD SALITRE	Dirección corresponde a una lavandería.
14	TIENDA NATURISTA LA BOTICA	AC 72 69 20 LC 04	10. ENGATIVÁ	LAS FERIAS	No se encontró ajo, solo forma líquida.
30	TIENDA NATURISTA NATURAL LIGHT CORTIJO	KR 116A 81 16	10. ENGATIVÁ	EL CORTIJO	No se encontró ajo.
38	TIENDA NATURISTA NATURAL PLUS	CL 79 89A 40 LC 131	10. ENGATIVÁ	S.C. PRIMAVERA	
50	ENFORMA PORTAL 80	TV 100A 80A 20 LC 3001	10. ENGATIVÁ	BOCHICA II	Nombre establecimiento: Naturals Barding. Local 3052. No se encontró ajo, solo en cápsula blanda.
56	TIENDA NATURISTA ALL NATURAL MARKETING A.C.	DG 77 123A 88 LC 116	10. ENGATIVÁ	GRAN GRANADA	No se encontró ajo, solo forma líquida.
8	MUNDO NATURAL	CL 147 101 56 LC 228	11. SUBA	URB. BALCONES DE ALCUDIA	Nombre establecimiento es Productos Naturales Alacataya. No se encontró ajo, solo forma líquida.
19	BIOMARKET PRADO	KR 51A 134A 58 LC 108C	11. SUBA	SAN JOSE DEL PRADO	Dirección no corresponde a tienda naturista. Se reemplazó
36	NATURAL LIGHT S.A	AK 72 146B 25 LC 0138A	11. SUBA	ESCUELA DE CARABINEROS	No se recogió ninguna muestra. No se encontró ajo (forma líquida). Lote alcachofa repetido.
37	PUNTO NATURISTA	DG 139A BIS 127A 21	11. SUBA	TIBABUYES UNIVERSAL	Dirección no corresponde a tienda naturista (Droguería). Se reemplazó.
56	ENFORMA PASADENA	KR 53 101A 36 LC 01	11. SUBA	S.C. PASADENA	Nombre establecimiento es Tienda Naturista Alfa y Omega. No se encontró ajo, solo forma líquida.
61	CENTRO NATURISTA EL GRAN AMARANTO	KR 55 170A 10	11. SUBA	VILLA DEL PRADO	Nombre establecimiento Centro Naturista EL Gran Amaranto 2. No se encontró ajo, solo forma líquida.
84	TIENDA NATURISTA SALUD Y ALEGRIA	KR 91 145 43 LC 1 114	11. SUBA	S.C. SUBA URBANO	No se encontró ajo, solo forma líquida.
86	TIENDA NATURISTA LA FAVID DE SUBA	KR 92 146B 65	11. SUBA	NO REGISTRA	No se encontró ajo, solo forma líquida.
87	TIENDA NATURISTA A & O	KR 55 170A 35 LC 11	11. SUBA	NO REGISTRA	Nombre establecimiento: Naturshop. No se recogió ninguna muestra. No se encontró ajo (forma líquida). Lote alcachofa repetido.
2	NATURAL LIGHT	AK 68 90 88 LC 107A	12. BARRIOS UNIDOS	NO REGISTRA	Nombre establecimiento: Salud y Bienestar.
7	PRODUCTOS NATURALES NATURAL LIGHT	AC 68 54 20 PI 2	12. BARRIOS UNIDOS	POPULAR MODELO	Dirección corresponde a una barbería.

16	TIENDA NATURISTA ALGAS MARINAS	KR 64 77 21	12. BARRIOS UNIDOS	NO REGISTRA	
6	NATURAL CENTER	KR 16 33 36	13. TEUSAQUILLO	NO REGISTRA	
27	TIENDA NATURISTA+ PLUS	CL 53 19 22 LC 103	13. TEUSAQUILLO	GALERIAS	No se encontró ajo.
38	MARANATHA PRODUCTOS NATURALES	KR 24 51 04	13. TEUSAQUILLO	NO REGISTRA	No se encontró ajo.
15	DISTRIBUCIONES DERLY	CL 8 20 30 LC 172	14. MÁRTIRES	LA ESTANZUELA	No se encontró ajo, solo forma líquida. Se encuentra "Circulin" con lote repetido.
19	TIENDA NATURISTA TRIANGULO DEL PODER	TV 21A 21A 52 SUR	15. ANTONIO NARIÑO	RESTREPO	No se recogió ninguna muestra. Tienda esotérica.
20	M Y K ARMONIA NATURAL	TV 21A 21A 56 SUR	15. ANTONIO NARIÑO	RESTREPO	
2	CONSTRUYENDO EXITO CLUB DE BIENESTAR	CL 5A 53B 17	16. PUENTE ARANDA	GALAN	No se recogió ajo. Lote repetido.
35	TIENDA NATURISTA MARIA DEL MAR	CL 3 56 23	16. PUENTE ARANDA	GALAN	No se encontró ajo. Solo en forma líquida.
41	CLUB DE BIENESTAR HERBALIFE	KR 38 3B 03	16. PUENTE ARANDA	TIBANA	Establecimiento donde solo se comercializan productos de marca Herbalife.
50	CENTRO NATURISTA EL OASIS	CL 1F 32A 54	16. PUENTE ARANDA	LA ASUNCION	
53	TIENDA NATURISTA SALUD EQUILIBRIO Y BIENESTAR	CL 4C BIS 54 32	16. PUENTE ARANDA	COLON	No se recogió ninguna muestra. No se encontró ajo. Lote alcachofa repetido.
4	PRODUCTOS NATURALES JULIETH	CL 12 9 68 LC 3	17. CANDELARIA	LA CATEDRAL	
12	TIENDA NATURISTA NATURAL GP	CL 48L SUR 5H 21	18. RAFAEL URIBE	NO REGISTRA	
31	NATURISTA PANORAMA	KR 27 47 18 SUR	18. RAFAEL URIBE	S.C. CLARET	
34	NATURISTA EGP	CL 49G SUR 5X 40	18. RAFAEL URIBE	LOS MOLINOS I SECTOR	
20	GREEN PLANET LIFE	KR 17F 69B 11 SUR LC 2	19. CIUDAD BOLÍVAR	NO REGISTRA	
25	EL NENUFAR	KR 75 59A 04 SUR	19. CIUDAD BOLÍVAR	LA ESTANCIA	
28	NATURAL JIRETH	KR 19D 65 73 SUR	19. CIUDAD BOLÍVAR	NO REGISTRA	
29	TIENDA NATURISTA	CL 70 SUR 49C 09	19. CIUDAD BOLÍVAR	NO REGISTRA	Nombre establecimiento: Naturaleza es Vida. No se encontró ajo, solo forma líquida.
	NATURISTA RENACER	CL 57 B SUR 63-21	7. BOSA	VILLA DEL RIO	Se tomó en lugar de tienda no encontrada en Bosa (21)
	TIENDA NATURISTA NASSER NATURALS	CL. 134 55 30 LC 106	11. SUBA	SAN JOSE DEL PRADO	Se tomó en lugar de tienda no encontrada en Suba (19)

	TIENDA NATURISTA LA GAITANA	CL 137 126A 15	11. SUBA	LA GAITANA	Se tomó en lugar de tienda no encontrada en Suba (37)
--	--------------------------------	-------------------	----------	------------	-------------------------------------------------------

ANEXO 4

DATOS DE PESO INDIVIDUAL, PESO PROMEDIO Y UNIFORMIDAD DE PESO PARA LAS FORMAS FARMACÉUTICAS

No.	Forma Farmacéutica	P1 (g)	P2 (g)	P3 (g)	P4 (g)	P5 (g)	P6 (g)	P7 (g)	P8 (g)	P9 (g)	P10 (g)	Peso promedio (g)	No. Unidades Fuera de Límites	Cumple
001	Tabletas	0,5824	0,6029	0,6007	0,6087	0,6197	0,6214	0,6188	0,6044	0,5991	0,5976	0,6056	0	Sí
002	Tabletas en forma de perla	0,2099	0,2152	0,2069	0,1791	0,1947	0,209	0,1873	0,2128	0,2098	0,2027	0,2027	2	Sí
003	Cápsulas	0,5187	0,5354	0,5277	0,4775	0,5292	0,5216	0,4986	0,529	0,5387	0,4987	0,5175	0	Sí
004	Tabletas	0,649	0,6638	0,6487	0,6428	0,6497	0,66	0,6545	0,6563	0,6641	0,6414	0,6530	0	Sí
005	Cápsulas	0,4026	0,4111	0,4035	0,4063	0,4212	0,4036	0,4164	0,3993	0,3954	0,4094	0,4069	0	Sí
006	Cápsulas	0,445	0,5226	0,4524	0,4467	0,5323	0,5187	0,5449	0,5591	0,4738	0,5207	0,5016	0	Sí
007	Cápsulas	0,2534	0,2407	0,2651	0,2641	0,2438	0,2363	0,2735	0,2555	0,2582	0,2785	0,2569	0	Sí
008	Tabletas	0,1965	0,1991	0,2025	0,1937	0,2002	0,2016	0,193	0,1967	0,1969	0,1982	0,1978	0	Sí
009	Cápsulas	0,503	0,5046	0,5184	0,5123	0,4966	0,5012	0,5465	0,5177	0,5215	0,508	0,5130	0	Sí
010	Cápsulas	0,4168	0,4148	0,3854	0,4567	0,459	0,4979	0,4305	0,3597	0,4264	0,433	0,4280	2	Sí
011	Tabletas	0,6007	0,5975	0,6223	0,6104	0,6132	0,6296	0,582	0,6232	0,5882	0,6078	0,6075	0	Sí
012	Tabletas	0,7109	0,7159	0,7046	0,7049	0,708	0,7152	0,7025	0,7163	0,6898	0,7193	0,7087	0	Sí
013	Tabletas	0,2158	0,2088	0,2137	0,1914	0,1808	0,1852	0,2101	0,2053	0,2098	0,1945	0,2015	2	Sí
014	Cápsulas	0,6004	0,5659	0,5921	0,5943	0,5816	0,6061	0,5951	0,5816	0,5189	0,5689	0,5805	0	Sí
015	Cápsulas	0,349	0,3907	0,3874	0,4318	0,4441	0,4511	0,3765	0,3813	0,4103	0,4069	0,4029	0	Sí
016	Cápsulas	0,2337	0,2551	0,2915	0,2665	0,2824	0,2919	0,3353	0,2593	0,2868	0,2129	0,2715	2	Sí
017	Cápsulas	0,259	0,2651	0,2393	0,2615	0,2497	0,2378	0,2669	0,2355	0,2572	0,243	0,2515	0	Sí
018	Cápsulas	0,5005	0,5011	0,5043	0,4985	0,5021	0,505	0,4986	0,4977	0,502	0,4949	0,5005	0	Sí
019	Tabletas	0,7193	0,7202	0,7301	0,7237	0,7188	0,7345	0,7197	0,7158	0,7178	0,7226	0,7223	0	Sí
020	Tabletas	0,1547	0,1581	0,1494	0,1506	0,1473	0,1511	0,1552	0,1419	0,1508	0,1531	0,1512	0	Sí
021	Cápsulas	0,528	0,5367	0,5148	0,5191	0,5351	0,5442	0,5261	0,5045	0,524	0,5226	0,5255	0	Sí
022	Cápsulas	0,3743	0,4071	0,3924	0,3858	0,3763	0,4013	0,405	0,3811	0,3816	0,3721	0,3877	0	Sí
023	Cápsulas	0,4556	0,5469	0,5388	0,5159	0,4621	0,5096	0,4796	0,5298	0,4737	0,5011	0,5013	0	Sí

024	Cápsulas	0,4293	0,3574	0,3825	0,3775	0,4179	0,4534	0,4284	0,4192	0,421	0,4216	0,4108	0	Sí
025	Cápsulas	0,4022	0,396	0,4083	0,3773	0,3811	0,4283	0,4162	0,3856	0,4004	0,4193	0,4015	0	Sí
026	Cápsulas	0,4303	0,4263	0,5136	0,5324	0,4647	0,5189	0,5314	0,5257	0,4636	0,5304	0,4937	0	Sí
027	Cápsulas	0,4417	0,3927	0,4211	0,4261	0,4254	0,4258	0,4391	0,4325	0,4178	0,3925	0,4215	0	Sí
028	Tabletas	0,7004	0,7136	0,7033	0,6957	0,7123	0,6985	0,7063	0,7172	0,7087	0,719	0,7075	0	Sí
029	Tabletas	0,6938	0,7042	0,6971	0,6826	0,705	0,6955	0,6834	0,6936	0,703	0,7062	0,6964	0	Sí
030	Cápsulas	0,293	0,2536	0,251	0,2517	0,2074	0,2645	0,2068	0,3142	0,2773	0,3281	0,2648	3	No
031	Cápsulas	0,3839	0,3829	0,3623	0,3898	0,3933	0,4024	0,3747	0,3597	0,3746	0,3727	0,3796	0	Sí
032	Tabletas	0,7167	0,7117	0,7101	0,711	0,7142	0,6935	0,6952	0,7086	0,7371	0,715	0,7113	0	Sí
033	Cápsulas	0,5073	0,4877	0,4643	0,4965	0,5123	0,512	0,5246	0,4665	0,487	0,5115	0,4970	0	Sí
034	Cápsulas	0,3082	0,2677	0,3197	0,3008	0,2595	0,2662	0,335	0,3258	0,2829	0,2937	0,2960	0	Sí
035	Cápsulas	0,2687	0,2937	0,3587	0,2978	0,3266	0,3484	0,3373	0,2768	0,3032	0,3168	0,3128	1	Sí
036	Cápsulas	0,501	0,481	0,5216	0,5132	0,5072	0,4768	0,5041	0,495	0,5153	0,4857	0,5001	0	Sí
037	Cápsulas	0,4352	0,4925	0,4577	0,5006	0,4619	0,4841	0,4169	0,4676	0,4672	0,4843	0,4668	0	Sí
038	Cápsulas	0,5063	0,5156	0,4429	0,569	0,4816	0,5293	0,5706	0,5102	0,5487	0,493	0,5167	0	Sí
039	Tabletas cubiertas	0,1569	0,1534	0,1488	0,1537	0,1366	0,1525	0,1534	0,1468	0,141	0,1524	0,1496	1	Sí
040	Tabletas	0,7553	0,7403	0,7641	0,7407	0,7468	0,7472	0,7266	0,7478	0,7412	0,7455	0,7456	0	Sí
041	Tabletas cubiertas	0,1449	0,1448	0,1542	0,146	0,1598	0,1429	0,1413	0,1638	0,1433	0,1426	0,1484	2	Sí
042	Tabletas	0,5666	0,5994	0,562	0,607	0,6228	0,6053	0,632	0,5947	0,6104	0,56	0,5960	4	No
043	Cápsulas	0,4296	0,5665	0,5758	0,4667	0,4889	0,4839	0,4526	0,4905	0,5108	0,4821	0,4947	2	Sí
044	Tabletas	0,6716	0,6596	0,6573	0,6543	0,6583	0,666	0,6666	0,6571	0,6673	0,6692	0,6627	0	Sí
045	Cápsulas	0,5231	0,521	0,5217	0,5347	0,5305	0,5254	0,5304	0,5226	0,5275	0,5165	0,5253	0	Sí
046	Cápsulas	0,4174	0,4053	0,4018	0,4703	0,4336	0,4132	0,4407	0,4454	0,4107	0,4053	0,4244	0	Sí
047	Cápsulas	0,3682	0,4124	0,3853	0,4062	0,3462	0,4555	0,3755	0,3872	0,4082	0,4027	0,3947	0	Sí
048	Cápsulas	0,4366	0,4691	0,4740	0,5184	0,5028	0,5046	0,4831	0,4761	0,4844	0,5151	0,4864	0	Sí
049	Grageas	0,2122	0,2060	0,2074	0,2088	0,2097	0,2073	0,208	0,2142	0,2023	0,2069	0,2083	0	Sí
050	Cápsulas	0,3869	0,3448	0,3667	0,3732	0,3714	0,3484	0,3635	0,3659	0,376	0,3444	0,3641	0	Sí

051	Cápsulas	0,544	0,4563	0,5335	0,5007	0,4548	0,4815	0,5499	0,504	0,5223	0,5243	0,5071	0	Sí
052	Cápsulas	0,4555	0,4339	0,4536	0,4382	0,4644	0,4657	0,4521	0,4756	0,431	0,4544	0,4524	0	Sí
053	Cápsulas	0,5316	0,4837	0,4815	0,511	0,5492	0,5124	0,5015	0,5355	0,5381	0,5159	0,5160	0	Sí
054	Tabletas	0,6573	0,649	0,6648	0,6363	0,6565	0,6561	0,6352	0,6622	0,634	0,6526	0,6504	0	Sí
055	Cápsulas	0,4651	0,5069	0,5021	0,5394	0,5009	0,5045	0,5241	0,4745	0,4978	0,5015	0,5017	0	Sí
056	Cápsulas	0,5613	0,56	0,4764	0,5393	0,5173	0,5491	0,5846	0,5645	0,483	0,4666	0,5302	0	Sí
057	Tabletas	0,6284	0,6272	0,6267	0,6246	0,6277	0,628	0,623	0,6264	0,629	0,6281	0,6269	0	Sí
058	Tabletas	0,6793	0,6235	0,6647	0,6723	0,6612	0,6655	0,6585	0,6612	0,6774	0,6621	0,6626	1	Sí
059	Tabletas	0,7576	0,7608	0,7616	0,7535	0,7606	0,7676	0,7606	0,7614	0,7702	0,7623	0,7616	0	Sí
060	Cápsulas	0,3761	0,3902	0,4359	0,3991	0,3144	0,4208	0,3506	0,3972	0,3255	0,3022	0,3712	3	No
061	Tabletas	0,7151	0,7089	0,7186	0,7214	0,6804	0,6699	0,6558	0,6965	0,6759	0,6739	0,6916	1	Sí
062	Tabletas cubiertas	0,1989	0,1763	0,1949	0,1775	0,1727	0,1856	0,183	0,1823	0,1735	0,2057	0,1850	2	Sí
063	Cápsulas	0,4918	0,3913	0,3929	0,4916	0,4471	0,4973	0,4945	0,3831	0,4719	0,4717	0,4533	1	Sí
064	Cápsulas	0,4423	0,4492	0,4839	0,4171	0,5027	0,4594	0,4784	0,4643	0,473	0,5051	0,4675	0	Sí
065	Tabletas	0,5976	0,6074	0,6262	0,6045	0,6035	0,6201	0,5946	0,5917	0,5919	0,6116	0,6049	0	Sí
066	Cápsulas	0,3117	0,3567	0,3547	0,3155	0,3387	0,3572	0,3295	0,3445	0,3539	0,2971	0,3360	0	Sí
067	Tabletas	0,7904	0,7597	0,7587	0,7497	0,7801	0,7407	0,761	0,7587	0,7973	0,7692	0,7666	0	Sí
068	Tabletas	0,2142	0,2185	0,2177	0,2181	0,2178	0,213	0,2219	0,2125	0,2196	0,2145	0,2168	0	Sí
069	Grageas	0,2048	0,2037	0,2073	0,2075	0,2023	0,2058	0,2053	0,2022	0,2049	0,2013	0,2045	0	Sí
070	Cápsulas	0,5001	0,413	0,5736	0,5312	0,5623	0,5495	0,524	0,4893	0,4776	0,4881	0,5109	1	Sí
071	Tabletas	0,6763	0,6467	0,6788	0,6599	0,6479	0,6505	0,6659	0,6559	0,6611	0,6718	0,6615	0	Sí
072	Perlas	0,1258	0,1324	0,1244	0,1213	0,1141	0,1237	0,1302	0,1332	0,1307	0,1199	0,1256	1	Sí
073	Tabletas	0,6649	0,6593	0,6592	0,6575	0,6552	0,6593	0,652	0,627	0,6512	0,6676	0,6553	0	Sí
074	Cápsulas	0,4126	0,4626	0,4359	0,3966	0,3897	0,4493	0,3702	0,412	0,3865	0,366	0,4081	0	Sí
075	Cápsulas	0,5347	0,4801	0,5472	0,4959	0,5085	0,4931	0,5214	0,4854	0,5018	0,4552	0,5023	0	Sí
076	Tabletas	0,2007	0,2026	0,199	0,199	0,2052	0,2048	0,2005	0,2008	0,2021	0,2059	0,2021	0	Sí
077	Cápsulas	0,5216	0,5254	0,5156	0,5169	0,5174	0,5188	0,5089	0,5139	0,5206	0,5082	0,5167	0	Sí
078	Grageas	0,2249	0,2252	0,2222	0,2224	0,2238	0,2239	0,2243	0,2204	0,2246	0,2299	0,2242	0	Sí

079	Tabletas	0,6677	0,65	0,7033	0,6593	0,6953	0,6809	0,7082	0,6736	0,6728	0,671	0,6782	0	Sí
080	Cápsulas	0,4153	0,3339	0,4986	0,4704	0,4911	0,4385	0,4718	0,3983	0,4343	0,4673	0,4420	1	Sí
081	Cápsulas	0,5084	0,5204	0,537	0,4966	0,5389	0,5229	0,4313	0,4736	0,5117	0,5235	0,5064	1	Sí
082	Tabletas cubiertas	0,1261	0,1344	0,1551	0,1427	0,1326	0,1434	0,1294	0,139	0,1501	0,1181	0,1371	4	No
083	Cápsulas	0,5044	0,5162	0,5098	0,4537	0,4696	0,5269	0,4643	0,4365	0,4396	0,5619	0,4883	1	Sí
084	Tabletas	0,6094	0,5892	0,6029	0,6016	0,5966	0,5944	0,5948	0,5737	0,5629	0,585	0,5911	1	Sí
085	Grageas	0,206	0,2104	0,2139	0,2104	0,2117	0,2084	0,2184	0,2129	0,2057	0,2096	0,2107	0	Sí
086	Tabletas	0,6296	0,6326	0,6285	0,6241	0,6292	0,6248	0,606	0,6206	0,6223	0,6267	0,6244	0	Sí
087	Tabletas	0,6631	0,6492	0,6186	0,6400	0,6556	0,6527	0,6613	0,6345	0,6549	0,6626	0,6493	0	Sí
088	Cápsulas	0,2645	0,2456	0,2601	0,2784	0,3241	0,3372	0,2667	0,2647	0,2451	0,2937	0,2780	1	Sí
089	Tabletas	0,7096	0,6857	0,7206	0,7211	0,7027	0,7079	0,7187	0,7145	0,7163	0,7021	0,7099	0	Sí
090	Cápsulas	0,4655	0,442	0,4624	0,494	0,4642	0,4457	0,4712	0,4672	0,459	0,4649	0,4636	0	Sí
091	Cápsulas	0,2621	0,2897	0,292	0,2951	0,2251	0,2395	0,2627	0,2759	0,2416	0,1707	0,2554	1	Sí
092	Tabletas	0,7451	0,7269	0,7162	0,6989	0,6966	0,7027	0,7016	0,7378	0,7096	0,6995	0,7135	0	Sí
093	Cápsulas	0,4795	0,5266	0,4696	0,5212	0,5239	0,4408	0,4578	0,4989	0,4925	0,443	0,4854	0	Sí
094	Cápsulas	0,3709	0,3829	0,3593	0,386	0,3504	0,4139	0,3849	0,3658	0,4096	0,3742	0,3798	0	Sí
095	Cápsulas	0,3016	0,3306	0,3737	0,3601	0,3739	0,3421	0,3246	0,3229	0,333	0,3606	0,3423	0	Sí
096	Grageas	0,2067	0,2026	0,2044	0,2017	0,2052	0,2068	0,2051	0,2066	0,213	0,2089	0,2061	0	Sí
097	Cápsulas	0,5127	0,5051	0,5298	0,5313	0,5135	0,5146	0,5041	0,5338	0,5119	0,5287	0,5186	0	Sí
098	Cápsulas	0,4311	0,4956	0,4293	0,4717	0,4566	0,4575	0,4955	0,4526	0,4163	0,4779	0,4584	0	Sí
099	Tabletas	0,6174	0,6168	0,638	0,6129	0,6117	0,6367	0,6122	0,6032	0,6088	0,6185	0,6176	0	Sí
100	Tabletas cubiertas	0,1346	0,1519	0,1503	0,1358	0,1355	0,1369	0,1564	0,1483	0,1457	0,1349	0,1430	0	Sí
101	Tabletas cubiertas	0,1965	0,2076	0,2005	0,1964	0,196	0,1976	0,1974	0,1902	0,224	0,2174	0,2024	1	Sí
102	Tabletas	0,6253	0,631	0,6586	0,6552	0,6487	0,6535	0,6656	0,6658	0,6452	0,6743	0,6523	0	Sí
103	Tabletas	0,7467	0,7432	0,7433	0,7575	0,7406	0,746	0,743	0,7519	0,7417	0,7534	0,7467	0	Sí
104	Cápsulas	0,3785	0,3954	0,3982	0,3963	0,3971	0,3549	0,4041	0,4281	0,3993	0,3698	0,3922	0	Sí
105	Tabletas	0,671	0,6693	0,6184	0,6557	0,6692	0,6889	0,6694	0,6577	0,6706	0,657	0,6627	0	Sí

ANEXO 5

ECUACIONES APLICADAS PARA LA EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE VALIDACIÓN

- Prueba de t para la correlación

H0: no existe correlación entre $x - y$

H1: existe correlación entre $x - y$

Grados de libertad = $n-2$, siendo $n = k * c$, donde k : niveles y c : réplicas

t experimental para el coeficiente de correlación (tr): $tr = |r| \sqrt{(n-2) / (1-r^2)}$

Donde,

r : coeficiente de correlación

Criterio de aceptación: Si $tr > t_{tab}$ entonces se rechaza H_0 , es decir existe correlación lineal significativa.

- Prueba de t para el intercepto

H0: $b = 0$

H1: $b \neq 0$

Grados de libertad = $n-2$, siendo $n = k * c$, donde k : niveles y c : réplicas

t experimental para el intercepto (**tb**): $tb = bSb$

Donde,

b : intercepto de la curva

Sb : desviación estándar del intercepto

Criterio de aceptación: Si $tb < t_{tab}$ entonces no se rechaza H_0 , el intercepto no es significativamente diferente de cero.

- **Límites de confianza**

Límites de confianza para el intercepto (**LCb**): $LCb = b \pm t(n-2) \times Sb$

Desviación estándar del intercepto (**Sb**): $Sb = S_{yx} \times \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{\sum \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2}}$

Donde,

$n = \text{número de datos}$

$S_{yx} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}}$

Donde,

\hat{y}_i es el y estimado del modelo lineal.

- **Prueba de t para la pendiente**

$H_0: m = 0$

$H_1: m \neq 0$

Grados de libertad = $n-2$, siendo $n = k * c$, donde k : niveles y c : réplicas

t experimental para la pendiente (**t_m**): $t_m = m / S_m$

Criterio de aceptación: Si **$t_m > t_{tab}$** entonces se rechaza H_0 , la pendiente es significativamente diferente de cero.

ANEXO 6

DATOS PARA CÁLCULO DE INCERTIDUMBRE - PLOMO

- Curva de Calibración

INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR DEBIDA AL CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN DE PLOMO A PARTIR DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN $\mu(x)$																
STD [$\mu\text{g/L}$]	SEÑAL-ABSORBANCIA (Y)							FUENTE DE VARIACIÓN EN Y								SUMA CUADRADOS RESIDUOS
	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 4	LOTE 5	LOTE 6	\bar{y}	\hat{Y}	$Y - \hat{Y}$						$\hat{Y} - \bar{y}$	
0,0	0,0083	0,0088	0,0094	0,0090	0,0091	0,0087	0,0089	0,0137	-0,0054	-0,0049	-0,0043	-0,0047	-0,0046	-0,0050	0,0048	0,0462
2	0,0650	0,0601	0,0484	0,0450	0,0563	0,0635	0,0564	0,0575	0,0075	0,0026	-0,0091	-0,0125	-0,0012	0,0060	0,0011	GRADOS DE LIBERTAD
4	0,1103	0,0969	0,0880	0,0880	0,1139	0,1167	0,1023	0,1013	0,0090	-0,0044	-0,0133	-0,0133	0,0126	0,0154	-0,0010	36
6	0,1416	0,1262	0,1524	0,1225	0,1676	0,1614	0,1453	0,1451	-0,0035	-0,0189	0,0073	-0,0226	0,0225	0,0163	-0,0002	DESVEST RESIDUAL
8	0,1719	0,1586	0,1961	0,1661	0,2381	0,2190	0,1916	0,1889	-0,0170	-0,0303	0,0072	-0,0228	0,0492	0,0301	-0,0027	0,0369
10	0,2168	0,1924	0,2427	0,2127	0,2936	0,2726	0,2385	0,2327	-0,0159	-0,0403	0,0100	-0,0200	0,0609	0,0399	-0,0058	
20	0,3993	0,3544	0,4526	0,4167	0,5798	0,4785	0,4469	0,4517	-0,0524	-0,0973	0,0009	-0,0350	0,1281	0,0268	0,0048	

FUENTE DE VARIACIÓN EN X	Xcalculado					
	2,3425	2,1187	1,5845	1,4260	1,9452	2,2740
	4,4110	3,7991	3,3927	3,3927	4,5753	4,7032
	5,8402	5,1370	6,3333	4,9648	7,0274	6,7443
	7,2237	6,6164	8,3288	6,9589	10,2466	9,3744
	9,2740	8,1598	10,4566	9,0836	12,7808	11,8219
	17,6073	15,5571	20,0411	18,4018	25,8493	21,2237
	RESIDUOS DE X (Xcalculado - Cmedio)					
	-5,9909	-6,2146	-6,7489	-6,9073	-6,3881	-6,0594
	-3,9224	-4,5342	-4,9406	-4,9406	-3,7580	-3,6301
-2,4932	-3,1963	-2,0000	-3,3685	-1,3059	-1,5890	
-1,1096	-1,7169	-0,0046	-1,3744	1,9132	1,0411	

	0,9406	-0,1735	2,1233	0,7502	4,4475	3,4886
	9,2740	7,2237	11,7078	10,0685	17,5160	12,8904
SUMA DE CUADRADOS DE X						
1291,7247						

PARÁMETROS Y = mx + b	Concentración hallada 1		Concentración hallada 2		Concentración hallada 3		Concentración hallada 4	
	m	0,0219	m	0,0219	m	0,0219	m	0,0219
	b	0,0137	b	0,0137	b	0,0137	b	0,137
	s	0,0369	s	0,0369	s	0,0369	s	0,0369
	p	6	p	6	p	6	p	6
	n	36	n	36	n	36	n	36
	Co	1,9312	Co	6,1519	Co	9,5741	Co	19,0659
	Cmedio	8,3333	Cmedio	8,3333	Cmedio	8,3333	Cmedio	8,3333
	Sxx	1291,7247	Sxx	1291,7247	Sxx	1291,7247	Sxx	1291,7247
	μ(x)	0,801	μ(x)	0,750	μ(x)	0,745	μ(x)	0,897

Concentraciones de Trabajo Halladas		Incertidumbre Estándar Hallada	
1,9312		0,801	
6,1519		0,750	
9,5741		0,745	
19,0659		0,897	
PROMEDIO	9,1808	PROMEDIO	0,798

La incertidumbre relativa de la curva de calibración se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$UR C.C = \frac{UE C.C}{Concentración promedio} = \frac{0,798}{9,1808} = 0,087$$

Donde:

UR C.C = Incertidumbre relativa de la curva de calibración

UE C.C = Incertidumbre estándar de la curva de calibración

ANEXO 7

CERTIFICADO DE ANÁLISIS DEL

ESTÁNDAR DE PLOMO



Certificate of Analysis

Certipur® Certified Reference Material

Producer: Merck KGaA, Frankfurter Str. 250, 64293 Darmstadt, Germany.

Accreditation: Merck KGaA, Darmstadt, Germany is accredited as calibration Laboratory according to DIN EN ISO/IEC 17025.

Description of CRM: Lead standard solution 1000 mg/l Pb

Ord. No.: 1.19776.0100

Lot No.: HC72674776

Composition: Pb(NO₃)₂ in HNO₃ Suprapur® 0.5 mol/l

Certified value and uncertainty: **987 mg/kg Pb ± 4 mg/kg Pb**
Mass fraction (w/w) ± expanded measurement uncertainty
The expanded measurement uncertainty U is calculated as $U = k \cdot u_{\text{combined}}$, where $k = 2$ is the coverage factor for a 95% coverage probability and u_{combined} is the combined measurement uncertainty in accordance to DIN EN ISO/IEC 17025.

Density: The density of the standard solution is 1.0128 g/cm³ at 20°C.

Calculated mass concentration: **999 mg/l Pb**

Method of Analysis: Inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES).

Traceability: This reference material has been measured applying high precision ICP-OES and is directly traceable to the corresponding **NIST SRM® 3128, lot 101626**.
NIST: National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, USA.

Storage: Store at +15°C to +25°C tightly closed in the original container.

Application and correct use: This reference material is intended for use as calibration standard for atomic absorption spectrometry, spectrophotometry and other analytical techniques. Shake well before use and never pipet directly from the original container.

Date of release: 2017/05/04

Minimum shelf life: 2020/04/30

Dipl.-Ing. Ayfer Yildirim
(Laboratory Manager)

Merck KGaA - Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt, Germany; +49 (0)151 72-0
BDI Millipore Corp. - 290 Crossroad Road, Billerica, MA 01831, USA; +1-781-533-6000

ANEXO 8

DATOS DE INCERTIDUMBRE REPORTADAS PARA LAS MICROPIPETAS

Cat. No.	Volume	Inaccuracy	Imprecision Tip Type
BOE 9620005	5 µl	± 1,30 %	± 1,20 % D,E,F
BOE 9620010	10 µl	± 0,80 %	± 0,80 % D,E,F
BOE 9620020	20 µl	± 0,60 %	± 0,50 % D,E,F
BOE 9620025	25 µl	± 0,50 %	± 0,30 % D,E,F
BOE 9620050	50 µl	± 0,50 %	± 0,30 % D,E,F
BOE 9620100	100 µl	± 0,50 %	± 0,30 % D,E,F
BOE 9620200	200 µl	± 0,40 %	± 0,20 % D,E,F
BOE 9620250	250 µl	± 0,40 %	± 0,20 % G,H,I
BOE 9620500	500 µl	± 0,30 %	± 0,20 % G,H,I
BOE 9621000	1000 µl	± 0,30 %	± 0,20 % G,H,I
BOE 9622000	2000 µl	± 0,30 %	± 0,15 % J
BOE 9625000	5000 µl	± 0,30 %	± 0,15 % J
BOE 9621111	10000 µl	± 0,60 %	± 0,20 % L

*The 10.000 µl (10 ml) models BOE 9621111 and BOE 9611111 do have a blocked tip ejector. The 10 ml tips have to be removed by hand

Tomado de: <https://www.boeco.com/artikelShow.php?ID=404>

Se emplearon los errores asociados a las pipetas de 100 uL y 100 uL de marca BOECO para el cálculo de la incertidumbre. Para la magnitud de 100 uL la incertidumbre equivale a $\pm 0,5$ uL, mientras que para la magnitud de 1000 uL la incertidumbre equivale a ± 3 uL.

ANEXO 9

DATOS VERIFICACIÓN TUBOS FALCON PARA ESTIMACIÓN DE INCERTIDUMBRE

No.	Peso (g)
1	49,5742
2	49,529
3	49,5878
4	49,7682
5	49,5194
6	49,8376
7	49,7894
8	49,4676
9	49,5956
10	49,4828
Desv. Est.	0,1341
UE	0,0424
UR	0,0008

ANEXO 10

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE LA BALANZA ANALÍTICA



METROLABOR
 CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN
 CALIBRATION CERTIFICATE



NÚMERO: MET-LM-CC 14717
Number:

LABORATORIO:	MASA	Este certificado expresa fielmente el resultado de las mediciones realizadas. No podrá ser reproducido total o parcialmente, excepto cuando haya obtenido permiso por escrito del laboratorio que lo emite. Los resultados contenidos en el presente certificado se refieren al momento y condiciones en que se realizaron las mediciones. El laboratorio que lo emite no se responsabiliza de los perjuicios que puedan derivarse del uso inadecuado de los instrumentos calibrados. El usuario es responsable de la calibración de sus instrumentos a intervalos apropiados.
INSTRUMENTO:	BALANZA ANALÍTICA MULTIRANGO DIGITAL (RANGO 1)	
FABRICANTE:	SARTORIUS	
MODELO:	BP 160 P	
NÚMERO DE SERIE:	60703667	
CÓDIGO INTERNO:	21000000280031	
RANGO DE MEDICIÓN:	0 g ... 30 g	
RANGO DE CALIBRACIÓN:	0 g ... 30 g	
RESOLUCIÓN:	0,0001 g	
UBICACIÓN:	LABORATORIO DE TOXICOLOGÍA	
SOLICITANTE:	FONDO FINANCIERO DISTRITAL DE SALUD	This certificate faithfully expresses the results of the measurements. This certificate may not be partially or totally reproduced, except when you have obtained written permission from the issuing laboratory. The results contained in this certificate refer to the moment and conditions under which measurements were made. The issuing laboratory assumes no responsibility to the issuer of the calibrated instruments. The user is responsible to have the object calibrated at appropriate intervals.
DIRECCIÓN:	CARRERA 32 No 12 - 81, BOGOTÁ D.C. - COLOMBIA	
FECHA DE RECEPCIÓN:	2018-11-22	
FECHA DE CALIBRACIÓN:	2018-11-22	
NÚMERO DE PÁGINAS INCLUYENDO ANEXOS:	TRES (3)	

1. CONDICIONES AMBIENTALES DURANTE LA CALIBRACIÓN / ENVIRONMENTAL CONDITIONS DURING CALIBRATION

Temperatura del aire [°C] / Air Temperature	23.6 ± 0.3
Humedad Relativa [%] / Rel. Humidity	52.4 ± 0.5
Presión Atmosférica [mbar] / Air Pressure	750.2 ± 0.3

Los datos suministrados de las condiciones ambientales, se refieren al momento y lugar en el que se realizaron las mediciones. Those provided environmental condition, concern the time and place at where the measurement were made.

2. TRAZABILIDAD/ TRACEABILITY:

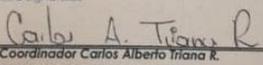
El laboratorio de calibración de Masa y Balanzas de Metrolabor Ltda., asegura la trazabilidad de los patrones y de los equipos de pesaje no automáticos utilizados en estas mediciones, a patrones Nacionales o Internacionales de referencia.

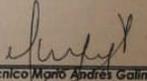
The Metrolabor Ltd., Mass and Scale Lab., ensures traceability of scale calibration weights and non-automatic weighing equipment used in these measurements, to national or international reference standards.

2.1. IDENTIFICACIÓN DEL PATRÓN DE REFERENCIA Y TRAZABILIDAD / REFERENCE WEIGHT IDENTIFICATION AND TRACEABILITY

Peso Clase / Class:	E2	Serie No. / Serial:	2520613
Rango Patrón / Range:	1 mg a 200 g	Código Interno / Internal code:	LMB035
Certificado de Calibración / Calibration certificate No.:	DKD 73686	Certificado vigente hasta / Certificate valid until:	2019-05-04
Termohigrómetro Patrón / Standard Thermohygrometer:	Lufft / Opus 20	Serie / Serial:	074.0214.0802.021
Certif. Calibración Temperatura / Calibration cert. No.:	MET-LT-CC 19253	Código Interno / Internal code:	LMB040
Certif. Calibración Humedad / Calibration certificate No.:	MET-LH-CC 10026	Certificado vigente hasta / Certificate valid until:	2019-02-26

Firmas Autorizadas:


 Coordinador Carlos Alberto Triana R.
 Calibrado por: Calibrated by:


 Director Técnico Mario Andrés Galindo
 Revisado por: Checked by:

Página 1 de 3

Bogotá, D.C. | Carrera 25A No. 394 - 45, piso 2 / Bogotá | 368.6091 - 368.8077 | 310.577.3130 | metrologia@metrolabor.com.co | www.metrolabor.com.co



METROLABOR
 CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN
 CALIBRATION CERTIFICATE



NÚMERO: MET-LM-CC 14717
Number:

3. PROCEDIMIENTO DE CALIBRACIÓN / CALIBRATION PROCEDURE:

Para la calibración del IBC, se empleó el método de comparación directa con los patrones de masa y se sometió a las pruebas de: excentricidad de carga, repetibilidad y exactitud. De acuerdo con los lineamientos de la SIM MWG7/cg01/v00:2009, "Guía para la calibración de los instrumentos para pesar de funcionamiento no automático.

To calibrate the instrument under operating conditions, a direct comparison method involving standard weights was employed, and it was submitted to tests of load eccentricity, repeatability, and accuracy. According to the guidelines of the SIM MWG7 / CG01 / V00: 2009, "Guidelines on the calibration of the instruments for non-automatic weighing operation."

4. RESULTADOS DE LA CALIBRACIÓN / RESULTS OF MEASUREMENT:

4.1 PRUEBA DE EXCENTRICIDAD DE CARGA / ECCENTRICITY TEST:

En esta prueba se evalúan las indicaciones para diferentes posiciones de una misma carga sobre el dispositivo receptor de carga del IBC. En la tabla 4.1.1, se expresa la variación máxima obtenida en la prueba de carga excéntrica.

In this test, the indications of different positions of the test load on the UIF load receptor, are evaluated. Table 4.1.1 shows the maximum variation obtained in the test with eccentric load.

4.1.1 Tabla de resultados / Results Table

División de Escala (g) Scale Interval (g)	Carga (g) Load (g)	Δlect[cc] (g)
0,0001	10	0,0001

Δlect[cc]: Variación máxima de lectura en la prueba de excentricidad de carga.
Δlect[cc]: Maximum variation obtained in the eccentricity test.



4.2 PRUEBA DE REPETIBILIDAD / REPEATABILITY TEST:

Es la desviación estándar de 10 mediciones en cada punto, con un tiempo de estabilidad de 10 segundos entre cada medición. La prueba se realizó aproximadamente al 10%, 50% y 100% de la carga máxima del equipo (Tabla de resultados 4.2.1).

This test is the standard deviation of 10 measurements of each point, with a 10s of stability time between measurements. Testing was performed at 10%, 50% and 100% of the unit maximum capacity. (Result Table 4.2.1)

4.2.1 Tabla de resultados / Results Table

División de Escala (g) Scale Interval (g)	Carga (g) Load (g)	Desviación (g) Deviation (g)
0,0001	3	0,0000
0,0001	15	0,0001
0,0001	30	0,0000

4.3 PRUEBA DE DESVIACIÓN LINEAL (EXACTITUD) / ACCURACY TEST:

Con esta prueba se determina en todo el campo de pesada que la indicación del instrumento sea acorde con la carga aplicada, de acuerdo con los límites o desviación lineal señalada por el fabricante.

This test determines in the entire weighing range, that the instrument indication is commensurate with the applied load, according to the limits or linear deviation specified by the manufacturer.

Página 2 de 3

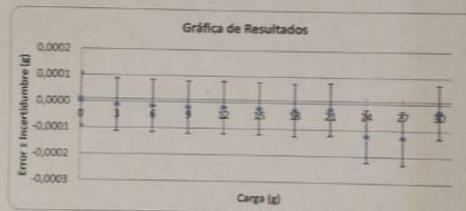
Bogotá, D.C. | Carrera 25A No. 394 - 45, piso 2 / Bogotá | 368.6091 - 368.8077 | 310.577.3130 | metrologia@metrolabor.com.co | www.metrolabor.com.co



4.3.1 Tabla de resultados / Results Table

Carga (g) Load (g)	Error Calculado (g) Calculated Error (g)	Incertidumbre (g) Uncertainty (g)
0	0.00000	0.00010
0,01	-0.00001	0.00010
3	-0.00002	0.00010
6	-0.00003	0.00010
9	-0.00003	0.00010
12	-0.00003	0.00010
15	-0.00003	0.00010
18	-0.00004	0.00010
21	-0.00003	0.00010
24	-0.00013	0.00010
27	-0.00014	0.00010
30	-0.00004	0.00010

4.3.2 Gráfica de resultados / Results Chart



5. INCERTIDUMBRE DE LA MEDICIÓN / UNCERTAINTY OF MEASUREMENT:

El valor de la Incertidumbre de medición está calculado para un nivel de confianza de 95,45 % y con un factor de cubrimiento $k=2,0$.
The measurement uncertainty estimated value, was determined for a confidence level of 95,45% with a coverage factor $k=2,0$.

6. OBSERVACIONES / COMMENTS:

- * Revisar periódicamente el comportamiento del instrumento, para asegurar la trazabilidad de las mediciones con él realizadas.
- * El sticker de calibración se adhirió al instrumento bajo calibración.
- * Encender el instrumento por lo menos 30 minutos antes de iniciar las mediciones.
- * La versión en inglés de este documento no es una traducción literal, si en algún ítem surgen dudas en la lectura, por favor remítase al texto original en español.
- * Periodically check the performance of the instrument, in order to ensure the traceability of measurements performed with it.
- * Turn the instrument on, at least 30 minutes before starting the measurements.
- * The english version of the document is not a binding translation, if any matter gives rise to doubts, please refer to the original text in spanish.

FIN DEL CERTIFICADO / END OF CERTIFICATE

Página 3 de 3

ANEXO 11

DATOS PARA CÁLCULO DE INCERTIDUMBRE - CADMIO

INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR DEBIDA AL CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN DEL ANALITO A PARTIR DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN $\mu(x)$																
STD [$\mu\text{g/L}$]	SEÑAL-ABSORBANCIA (Y)							FUENTE DE VARIACIÓN EN Y								SUMA CUADRADOS RESIDUOS
	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 4	LOTE 5	LOTE 6	\bar{y}	\hat{y}	$y - \hat{y}$					$\hat{Y} - \bar{y}$		
0,0	0,0036	0,0033	0,0032	0,0032	0,0033	0,0035	0,0034	0,0039	-0,0003	-0,0006	-0,0007	-0,0007	-0,0006	-0,0004	0,0006	0,0015
0,2	0,0086	0,0099	0,0115	0,0093	0,0092	0,0104	0,0098	0,0107	-0,0021	-0,0008	0,0008	-0,0014	-0,0015	-0,0003	0,0009	GRADOS DE LIBERTAD
0,5	0,0163	0,0175	0,0184	0,0210	0,0143	0,0180	0,0176	0,0209	-0,0046	-0,0034	-0,0025	0,0001	-0,0066	-0,0029	0,0033	30
1	0,0389	0,0472	0,0430	0,0376	0,0391	0,0334	0,0399	0,0379	0,0010	0,0093	0,0051	-0,0003	0,0012	-0,0045	-0,0020	DESVEST RESIDUAL
2	0,0823	0,0862	0,0779	0,0712	0,0725	0,0679	0,0763	0,0719	0,0104	0,0143	0,0060	-0,0007	0,0006	-0,0040	-0,0044	0,0074
5	0,1840	0,1912	0,1729	0,1627	0,1646	0,1560	0,1719	0,1739	0,0101	0,0173	-0,0010	-0,0112	-0,0093	-0,0179	0,0020	

FUENTE DE VARIACIÓN EN X	Xcalculado					
	0,1382	0,1765	0,2235	0,1588	0,1559	0,1912
	0,3647	0,4000	0,4265	0,5029	0,3059	0,4147
	1,0294	1,2735	1,1500	0,9912	1,0353	0,8676
	2,3059	2,4206	2,1765	1,9794	2,0176	1,8824
	5,2971	5,5088	4,9706	4,6706	4,7265	4,4735
	RESIDUOS DE X (Xcalculado - Cmedio)					
	-1,6018	-1,5635	-1,5165	-1,5812	-1,5841	-1,5488
	-1,3753	-1,3400	-1,3135	-1,2371	-1,4341	-1,3253
	-0,7106	-0,4665	-0,5900	-0,7488	-0,7047	-0,8724
	0,5659	0,6806	0,4365	0,2394	0,2776	0,1424
	3,5571	3,7688	3,2306	2,9306	2,9865	2,7335
	SUMA DE CUADRADOS DE X					
91,7647						

PARÁMETROS Y = mx + b	Concentración hallada 1		Concentración hallada 2		Concentración hallada 3		Concentración hallada 4	
	m	0,034	m	0,034	m	0,034	m	0,034
	b	0,0039	b	0,0039	b	0,0039	b	0,0039
	s	0,0074	s	0,0074	s	0,0074	s	0,0074
	p	5	p	5	p	5	p	5
	n	30	n	30	n	30	n	30
	Co	0,1976	Co	1,0144	Co	3,0008	Co	5,0761
	Cmedio	1,74	Cmedio	1,74	Cmedio	1,74	Cmedio	1,74
	Sxx	91,7647	Sxx	91,7647	Sxx	91,7647	Sxx	91,7647
	μ(x)	0,1109	μ(x)	0,1065	μ(x)	0,1091	μ(x)	0,1297

Concentraciones de Trabajo Halladas		Incertidumbre Estándar Hallada	
0,1976		0,1109	
1,0144		0,1065	
3,0008		0,1091	
5,0761		0,1297	
PROMEDIO	2,3222	PROMEDIO	0,1141

Teniendo en cuenta lo establecido en el Anexo 6, la incertidumbre relativa de la curva de calibración se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$UR C.C = \frac{UE C.C}{Concentración\ promedio} = \frac{0,1141}{2,3222} = 0,0491$$

ANEXO 12

CERTIFICADO DE ANÁLISIS DEL ESTÁNDAR DE CADMIO

125 Market Street
New Haven, CT 06513
USA

AccuStandard, Inc.
CERTIFICATE OF ANALYSIS
AccuTrace™ Reference Standard
Item Number: AA08N-1

Tel: (203) 786-5290
Fax: (203) 786-5287
www.AccuStandard.com

Element: Cadmium
Storage Condition: Ambient
Hazards: CORROSIVE
Matrix: 2-5% Nitric acid

Lot: 211095083-01
Date Certified: 10/1/2013
Expiration: Oct / 2018
Sample Size: 100 mL

Included on ISO/IEC 17025 Scope of Accreditation
 Included on ISO Guide 34 Scope of Accreditation

Actual Lot Analysis
Cadmium 1000 µg/mL

The gravimetric uncertainty for this product is $\pm 0.24\%$. The CRM uncertainty is $\pm 5\%$. See reverse side for details.
The concentration of the final solution was verified by ICP against NIST SRM# 3108

RESULTS: This solution standard was certified for accuracy of major elemental constituency via methodology traceable to primary or well characterized secondary standards. All trace level elements and impurities were determined via plasma emission spectroscopy on the concentrate.

This standard was prepared gravimetrically to contain the elemental concentrations shown above. Balances, used in the preparation, are calibrated regularly using NIST-traceable weights. All glassware is Class A.

Use good laboratory procedure when diluting this product. Shake bottle prior to use and do not pipette directly out of the bottle. Use only cleaned Class A volumetric glassware.

We certify the accuracy of this standard to be $\pm 0.5\%$ of the stated value until the expiration date listed above, provided it is kept tightly capped and stored under normal laboratory conditions.

For use in routine laboratory analysis.

L. Snyder
Lydia Snyder
Inorganic QC Supervisor

AccuStandard is accredited to ISO Guide 34, ISO/IEC 17025 and certified to ISO 9001

OR-CP-IND-001
Rev. 7/11