UNIVERSIDAD CENTRAL "MARTA ABREU" DE LAS VILLAS
VERITATE SOLA NOVIS INPONETUR VIRILIS TOGA. 1948

Facultad de Química y Farmacia
Departamento de Licenciatura en Química

Tesis presentada en opción al Título Académico de
Master en Química Analítica

Titulo: "Determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural: validación de la técnica y mejoramiento de los resultados".

Autor: Lic. Teresita F. Ramos Gómez
Tutores: Dr. Sergio Morales Fernández
Dr. Rafael Ramos Gómez

Santa Clara, Cuba
2008
"Año 50 de la Revolución"

A mis padres,

mi esposo

y a mis maravillosos hijos Jorgito y Rosario.

Quisiera trasmitirles mis agradecimientos a todas aquellas personas que con su ayuda y cooperación hicieron posible la realización de este trabajo:

– *Amalia por ser mi compañera de trabajo y amiga durante muchos años y haberme prestado su apoyo y ayuda desinteresada durante el desarrollo de la investigación.*

– *A mis tutores Sergio y a mi hermano Rafael , que siempre han tenido un lugar para mí a pesar de sus complicaciones.*

– *A toda mi familia, que siempre me ha tendido su mano cuando la he necesitado.*

– *A todo el colectivo del Laboratorio de Control de la Calidad: Adalberto, Robelio, Ada, Belkis, Marlen, Dianelys, Yaima y Maritza.*

– *A mis amigas Heidy, Lourdes, Maria Isabel, Neyda …..*

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN 1

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 3

2.1 Generalidades 3

2.1.1 Características fundamentales de la molécula de G-1 3

2.1.2 Características fundamentales del Vitrofural 3

2.1.3 Características del laboratorio de control de la calidad 4

2.2 Técnicas analíticas empleadas en la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural 5

2.2.1 Espectrofotometría UV-VIS. Generalidades 5

2.2.2 Cromatografía. Generalidades 7

2.2.2.1 Cromatografía liquida de alta eficacia 7

2.3 Validación. Generalidades 8

2.3.1 Desarrollo del proceso de validación. Evaluación de los parámetros de desempeño 9

2.3.1.1 Linealidad 10

2.3.1.2 Precisión 11

2.3.1.3 Exactitud 13

2.3.1.4 Límite de detección y cuantificación 13

2.3.1.5 Especificidad 14

2.3.1.6 Robustez 14

2.4 Mejoramiento de la calidad de los resultados 14

2.4.1 Generalidades 14

2.4.2 Fundamento de algunas de las herramientas utilizadas en el proceso de mejora 15

2.4.2.1 Histograma de frecuencia 15

2.4.2.2 Gráficos de control 16

2.4.2.3 Diagrama de flujo del proceso 18

2.4.2.4 Diagrama de afinidad 18

2.4.2.5 Método de expertos 19

2.4.2.5.1 Técnica 6.3.5 20

2.4.2.6 Matriz de decisión 20
3. MATERIALES Y MÉTODOS 21
3.1 Procedimiento para la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural por espectrofotometría UV-VIS 21
3.2 Cualificación del Espectrofotómetro UV-VIS 22
3.2.1 Control de la absorbancia 23
3.2.2 Límite de stray light 23
3.3 Desarrollo del proceso de validación del procedimiento para la determinación del contenido de G-1 por espectrofotometría UV-VIS 23
3.3.1 Linealidad 23
3.3.2 Precisión 24
3.3.3 Exactitud 25
3.3.4 Robustez 25
3.4 Mejoramiento de la calidad de los resultados 27
3.4.1 Análisis del comportamiento del proceso y detección de desviaciones 27
3.4.1.1 Histograma de frecuencia 27
3.4.1.2 Elaboración de los gráficos de control 27
3.4.2 Identificación de las causas que afectan la calidad de los resultados en la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural 29
3.4.2.1 Diagrama de flujo del proceso 29
3.4.2.2 Aplicación de la técnica 6.3.5 29
3.4.2.3 Elaboración del diagrama de afinidad 29
3.4.2.4 Procedimiento para la toma de decisiones en el trabajo con expertos 30
3.4.2.4.1 Elaboración de la matriz de rango 32
3.4.2.4.2 Cálculo del coeficiente de concordancia de Kendall 33
3.4.3 Confección de los Procedimientos Normalizados de Operaciones (PNO) para la toma de las medidas iniciales 33
3.5 Análisis estadístico 34
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 35
4.1. Generalidades 35
4.2 Cualificación del espectrofotómetro UV-VIS 35

4.2.1 Control de la absorbancia 36
4.2.2 Límite de stray light 36
4.3 Validación del procedimiento para la determinación del contenido de G-1 por espectrofotometría UV-VIS 37
4.3.1 Linealidad 38
4.3.2 Precisión 40
4.3.2.1 Repetibilidad 40
4.3.2.2 Precisión intermedia 40
4.3.3 Exactitud 41
4.3.4 Robustez 44
4.4 Mejoramiento de la calidad de los resultados 44
4.4.1 Análisis del comportamiento del proceso y detección de desviaciones. 44
4.4.1.1 Histogramas de frecuencia 44
4.4.1.2 Realización de los gráficos de control 45
4.4.2 Identificación de las causas que afectan la calidad de los resultados de la Determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural. 48
4.4.2.1 Diagrama de flujo 48
4.4.2.2 Aplicación de la técnica 6.3.5 y diagrama de afinidad 49
4.4.2.3 Procedimiento para tomar decisiones en el trabajo con expertos y elaboración de la matriz de rango 51
4.4.2.4 Medidas para eliminar los problemas detectados 54
4.4.2.5 Resultados obtenidos después de aplicar las medidas de mejora 58
5. CONCLUSIONES 60
6. RECOMENDACIONES 61
7. BIBLIOGRAFÍA 62
8. ANEXOS

RESUMEN

En el presente trabajo se realizó la validación de la técnica espectrofotométrica ultravioleta – visible utilizada en el laboratorio de control de calidad, para la determinación del contenido de G-1 en Vitrofural, el cual se emplea como esterilizante químico en la micropropagación de especies vegetales en la biotecnología agrícola.

El procedimiento analítico resultó ser lineal en el intervalo de concentraciones de 4 a 16 mg/L, preciso y exacto a las condiciones de estudio, no resultando robusto al cambio en la calidad del alcohol.

Además, se realizó el mejoramiento de los resultados analíticos con el uso de histogramas de frecuencia, gráficos de control de recorridos móviles y valores individuales. Se identificaron las causas que afectaban la calidad de los resultados, utilizando para ello procedimientos de toma de decisiones con expertos y la matriz de rango, la cual relacionó las ideas que fueron sometidas a la consideración de los expertos y la puntuación otorgada por cada uno de ellos. Finalmente se implantaron las medidas de mejora en el laboratorio, realizándose los gráficos de control de recorridos móviles y valores individuales, estando el proceso bajo control estadístico.

1. INTRODUCCIÓN

La situación del mundo actual hace necesario el desarrollo de nuevos medicamentos que necesitan su registro, por lo que es preciso contar con laboratorios de control de la calidad que cumplan con todos los requisitos establecidos para estos. Con los años se han desarrollando recomendaciones e incorporando requerimientos que han evolucionado con reglamentaciones para el cumplimiento de estrictas normas y regulaciones como la NC ISO/IEC 17025:2006 y la Regulación 37-2004.

El Centro de Bioactivos Químicos (CBQ) es un caso especifico de organización dedicada a la producción de ingredientes farmacéuticos activos (IFA) obtenidos por vía sintética, que además produce una forma terminada denominada Vitrofural, cuyo ingrediente farmacéutico es el [2-bromo-5-(2-bromo-2-nitrovinil)-furano] (G-1) utilizada como esterilizante químico para la producción de vitroplantas, [Vitrofural, 1999]

Como parte integrante del CBQ se encuentra el laboratorio de control de la calidad en el que se han aplicado varias técnicas para la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural, entre los que se encuentran métodos de cuantificación por: cromatografía de gases, cromatografía líquida de alta eficacia, cromatografía de placa delgada y espectrofotometría ultravioleta – visible (UV-VIS) por vía directa. Este último resulta muy sencillo, rápido y económico, por lo que es ampliamente utilizado en trabajos de rutina, como en el control de la calidad de los lotes producidos. El laboratorio es el responsable de la validez de los resultados de los ensayos realizados y que los mismos sean confiables para el uso que se les tiene destinado. En este sentido debe demostrarse que los métodos de ensayo que se aplican tienen un desempeño adecuado en las condiciones de estos así como sus equipos y personal técnico, entre otros aspectos. Por ello, en estos se exige la existencia de procedimientos encaminados a asegurar la confiabilidad de los resultados analíticos obtenidos.

Por todo lo anterior se ha identificado como **problema científico** a resolver el hecho de que el laboratorio de control de la calidad del CBQ no cuenta con un procedimiento sencillo, económico y fiable que permita determinar el contenido de G-1 en el Vitrofural.

Como vía para solucionar el problema científico se formula la siguiente **hipótesis**:

Es posible mejorar la calidad de los resultados analíticos de la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural, si se valida el procedimiento y se realiza el análisis del

comportamiento del proceso y detección de las desviaciones mediante el empleo de las herramientas de calidad.

Teniendo en cuenta lo anterior, se propone como **objetivo general**:

Realizar la validación y mejoramiento del procedimiento para la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural .por espectrofotometría UV-VIS.

Como **objetivos específicos** se proponen:

1. Validar el procedimiento para la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural por espectrofotometría UV- VIS.
2. Desarrollar el mejoramiento de la calidad de los resultados analíticos obtenidos en la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural por espectrofotometría UV- VIS.
3. Elaborar los procedimientos necesarios para el mejoramiento de la calidad de los resultados analíticos en la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural por espectrofotometría UV- VIS.

Organización del informe

La tesis está estructurada de la forma siguiente: Una **Introducción**, en él **Capitulo I** que hace referencia al problema científico a resolver, se formula la hipótesis y se proponen los objetivos generales y específicos que se deben cumplir al culminarse el trabajo, él **Capitulo II** aborda la **Revisión Bibliográfica**, un **Capitulo III** que refiere los **Materiales y Métodos** utilizados en el desarrollo de la investigación y él **Capitulo IV** que muestra los **Resultados y Discusión** de los temas abordados. Culmina con las **Conclusiones** y **Recomendaciones** derivadas de la investigación realizada, una relación de la **Bibliografía consultada** y los **anexos** necesarios.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

En el presente capítulo se hace referencia a los principales aspectos teóricos necesarios para llevar a cabo la fundamentación de la investigación realizada y de los modos de actuación resultantes de las aplicaciones prácticas.

2.1 Generalidades

2.1.1 Características fundamentales de la molécula de G-1

El ingrediente farmacéutico activo G-1 es obtenido por vía sintética, presenta propiedades bactericidas fungicidas, con un mecanismo de acción que difiere de los antibióticos y fungicidas que se utilizan en la actualidad, su fórmula estructural se muestra en la Figura 1.

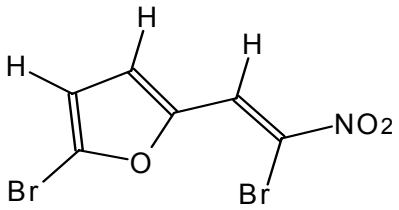


Figura 1 Fórmula estructural del (G-1) 2-bromo-5-(2-bromo-2-nitrovinil)-furano

El G-1 se presenta en forma de polvo cristalino de color amarillo con olor característico tiene una masa molecular de 296,924 g/mol y su temperatura de fusión es de 89-92 ^{o}C, es muy fácilmente soluble en dimetilformamida, fácilmente soluble en éter etílico, cloroformo, dimetilsulfóxido y benceno; soluble en tetracloruro de carbono y polietilenglicol 400, poco soluble en metanol absoluto y etanol 90^{o}, difícilmente soluble en etanol 70^{o} y n-hexano, y muy difícilmente soluble en agua [Jorge, E. y Col.1993 II].

2.1.2 Características fundamentales del Vitrofural

El sistema disperso G-1 en polietilenglicol (PEG) 6000 fue obtenido por González a través del método de fusión directa de sus componentes con posterior solidificación, molinado y tamizado hasta el tamaño de partícula deseado, debe almacenarse protegido de la luz y la humedad [González, L., 2002; Morales, L., 2003].

La potente actividad antimicrobiana del ingrediente farmacéutico activo (IFA) G-1 y la problemática de la alta contaminación en la micro propagación de especies vegetales

constituyeron las premisas fundamentales para la utilización del Vitrofural como esterilizante químico en los cultivos *in vitro* de papa plátanos, ajo, cítricos, cerezos, arándanos, malanga, eucalipto, crisantemos y caña de azúcar [González, O. y Col., 1993, I; González, O. y Col., 1993, II; González, O. y Col., 1993, III; González, O. y Col., 1993, IV].

Estudios realizados por Blondeau y col. en 1997, amplían y corroboran estos resultados de actividad *in vitro* frente a 2702 microorganismos multi-resistentes [Blondeau, J.M., 1997].

El Vitrofural se encuentra en el Registro Central de Plaguicidas de Cuba con el número de permiso 013/99, avalándose su producción y libre venta. La marca fue registrada en las clases 1 y 5 según la clasificación Internacional de Productos y Servicios para el registro de marcas [Hernández, R., 2007].

2.1.3 Características del laboratorio de control de la calidad

El laboratorio de control de la calidad es parte integrante del CBQ de la Universidad Central de las Villas (UCLV), en él se analizan todas las materias primas que van hacer utilizadas en la planta de producción del centro, el ingrediente farmacéuticos activo G-1 y el Vitrofural. El laboratorio está formado por:

- Laboratorio químico-físico
- Laboratorio de cromatografía
- Laboratorio de control microbiológico

Para cumplir con la Norma Cubana ISO/IEC 17025:2006 y la Regulación 37-2004 del Centro Estatal para el Control de los Medicamentos (CECMED) es imprescindible que el laboratorio valide todos los métodos que se utilicen, tanto los desarrollados internamente como aquellos procedentes de fuentes bibliográficas o desarrollados por otros laboratorios. Además se exige por la Regulación No 41-2007 del CECMED que al método analítico se le realicen las pruebas de adecuación al sistema y que los ensayos validados sean monitoreados a intervalos regulares, a través de gráficos de control (donde proceda) u otras herramientas estadísticas que posibiliten mantener el control sobre el desempeño rutinario de los ensayos.

2.2 Técnicas analíticas empleadas en la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural

La determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural, se puede realizar utilizando diferentes procedimiento normalizado de operación (PNO), en ellos varía el grado de complejidad del método, los equipos y reactivos utilizados. A continuación son citadas las técnicas que pueden ser utilizadas:

I. Determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural por cromatografía de placa delgada y espectrofotometría UV-VIS [Pérez, M.,2000].
II. Determinación del Contenido de G-1 en el Vitrofural por cromatografía de gases con detector de ionización por llama y columna empacada [Laboratorio de Control de la Calidad CBQ UCLV, 2005}.
III. Determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural por cromatografía líquida de alta eficacia [Laboratorio de Control de la Calidad CBQ UCLV, 2006].
IV. Determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural por espectrofotometría UV-VIS [Laboratorio de Control de la Calidad CBQ UCLV, 2006].

2.2.1 Espectrofotometría UV-VIS. Generalidades

En la espectrofotometría de absorción se mide la fracción de luz de una longitud de onda determinada que pasa a través de una muestra. La mayoría de las fuentes producen luz con longitudes de ondas no deseadas, el paso de luz a través de un monocromador selecciona la longitud de onda deseada para realizar la determinación. Para el análisis se hacen dos medidas de la cantidad de luz absorbida. En la primera se mide la cantidad de luz (a la longitud de onda elegida) que llega al transductor, cuando se coloca un blanco. Se denomina intensidad Po del blanco, cuando la concentración del material analizado es cero. La medida final se obtiene comparando la medida de las muestras o los patrones de calibración con la medida del blanco, se denomina P a la intensidad que se mide con las muestras o los estándares, la comparación realizada implica la relación P/Po, con ambas intensidades medidas en las mismas condiciones del instrumento, (longitud de onda, geometría, etcétera). Se utilizan tres términos diferentes para expresar esta relación: transmitancia (T), porcentaje de transmitancia (%T) y el tercero es el logaritmo negativo de la transmitancia que se denomina

absorbancia (A). La absorbancia de la muestra es proporcional a la concentración de la sustancia que absorbe la luz incidente [Rubinson, K.A & Rubinson, J.F., 2001].

Absorbancia = $-\log (I / I_0) = \varepsilon.c.l$

donde:

I = Intensidad de luz transmitida.

I_0 = Intensidad de luz incidente

ε = coeficiente de extinción molar (M^{-1}. $cm.^{-1}$). Representa a cada longitud de onda la capacidad que tiene una sustancia de absorber la radiación electromagnética.

c = concentración molar del soluto

l = longitud de la cubeta (habitualmente 1 cm.)

Esta relación está basada en la Ley de Bouquer-Lambert-Beer y permite corregir la dependencia de la concentración y otros factores operacionales al comparar distintos compuestos. Cuando la l se expresa en cm y c en moles por litro, la expresión A (1%, 1 cm.) representa la absorbancia especifica.

La precisión de las mediciones de absorbancia puede verse afectada por factores como:

- Error en la posición de la cubeta, debido a variaciones en la geometría que modifican el paso de luz, mediante ligeras diferencias en la reflexión y refracción de cada superficie.
- Por problemas de contaminación cruzada. Cuando se desea obtener mayor precisión y exactitud se recomienda utilizar siempre la misma cubeta para una muestra determinada.
- Diferencias en la preparación de las muestras, así como suciedades y erosiones en las cubetas [Skoog, D. A. & West, D. M., 1989].

La espectrofotometría UV-VIS puede aplicarse en la identificación y cuantificación del G-1: los grupos cromóforos y la conjugación presente originan dos bandas una n - π*de menor intensidad a 250 nm y otra de mayor intensidad π*- π * que aparece a 372 nm. En la Figura 2 se puede observar el espectro de identificación del G-1 en alcohol.

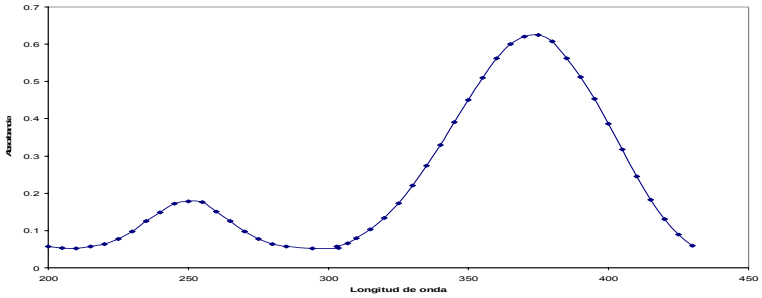


Figura 2 Espectro de identificación del G-1 en alcohol

2.2.2 Cromatografía. Generalidades

La cromatografía es la ciencia encargada de separar entre sí los componentes de una sustancia por una gran variedad de técnicas cuyos fundamentos tienen diferencias muy diversas.

Las separaciones cromatograficas pueden llevarse a cabo en fase líquida o en fase gaseosa, la muestra se introduce en una fase fluida en movimiento (un líquido o un gas) denominado fase móvil, durante toda la separación la fase móvil transporta la muestra a través de un volumen o una capa de partículas de materia sólida (fase estacionaria), las interacciones químicas de los analitos pueden ocurrir a lo largo de toda la fase estacionaria. Posteriormente, son detectados los componentes separados midiendo los cambios que se producen en una serie de diferentes propiedades físicas o químicas (conducción de corriente eléctrica, absorción de luz o habilidad para conducir el calor). La gran aplicabilidad de la cromatografía se debe a la amplia variedad de condiciones que pueden utilizarse para separar los componentes de una sustancia.

Se pueden utilizar distintas fases móviles (gases, líquidos o fluidos supercríticos) y distintas fases estacionarias (minerales, polímeros orgánicos e inorgánicos y sólidos recubiertos de líquidos) de ahí la denominación de cromatografía de gases (GC), cromatografía líquida (LC) y cromatografía de fluidos supercríticos (SFC), respectivamente [Rubinson, K.A & Rubinson, J.F., 2001].

2.2.2.1 Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC)

El gran poder y utilización de la cromatografía líquida reside en la combinación de un amplio intervalo de posibles propiedades para la fase móvil, junto con la elección de numerosos tipos de fases estacionarias, significativamente diferentes, así como una

amplia variedad de detectores, por eso la cromatografía líquida trata una gran cantidad de combinaciones.

La separación por cromatografía líquida no se produce por un único tipo de interacción entre los analitos y la fase estacionaria, siempre existen otras interacciones, pero la predominante indicará el tipo de cromatografía.

En la cromatografía líquida en fase reversa la fase estacionaria es menos polar que la fase móvil. Se utilizan fundamentalmente dos tipos de fases estacionarias estando formada la más común por grupos no polares unidos a la sílice, siendo los más utilizados los grupos orgánicos, de ellos la cadena de 18 carbonos es la más común. Estos grupos orgánicos ligados producen un efecto similar al que tendría una capa extremadamente fina de disolvente orgánico sobre la superficie de las partículas de sílice.

El segundo tipo de fase estacionaria usado está compuesto de partículas esféricas de polímetro orgánico. Un polímetro típico es la resina compuesta de poliestireno y divinilbenceno. La cromatografía reversa es relativamente popular ya que en las separaciones en fase reversa los picos tienden a ser agudos y simétricos y el equilibrio en las reacciones de absorción / desorción tiende a ser rápido [Cela, R., 2002]**.**

2.3 Validación. Generalidades

El concepto de validación en la fabricación de productos farmacéuticos surgió hace más de 20 años, fue cuando la *Food and Drug Administration* (FDA) revisó las normas relativas al control de la fabricación de los productos farmacéuticos, dichas normas son conocidas como Buenas Prácticas de Fabricación (BPP) y en 1978, la palabra validación apareció por vez primera en algunas de sus secciones. Posteriormente en un documento interno de la FDA se definió validación de forma sencilla como, el proceso validado, es uno que ha sido comprobado que hace lo que se proponía o intentaba hacer.

Existen otras definiciones para el término validación.

- La confirmación mediante la aportación de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos para una utilización o aplicación específica prevista [ISO 9000, 2005].

- Son las mediciones realizadas para comprobar y describir que un método opera en todo momento de acuerdo con las expectativas y los requisitos impuestos respecto a su exactitud, uso, implantación y fuentes de error [NC-CS-368, 2004].
- Es la demostración planificada y documentada de que cualquier proceso, método de ensayo, sistema, equipo o actividad previamente planificadas para un fin específico, se realizará uniformemente, cumpliendo con los requisitos establecidos para su conformidad con los clientes [Alonso, H.,2006].
- Establecimiento de pruebas documentales que aportan un alto grado de seguridad, de que un proceso planificado se efectuará uniformemente en conformidad con los resultados previstos especificado. [Regulación No. 41 del CECMED, 2007].

El desarrollo de técnicas analíticas o la adecuación de algunas ya reportadas es un problema cotidiano. Siempre que esto suceda se exige como parte integral del estudio la validación del método en cuestión. Los parámetros de desempeño que caracterizan la validación de cada método analítico son distintos y dependen de la categoría a la que pertenece el método y del propósito para el cual fue concebido [USP 27, 2004; http://www.saludcapital.gov.co/secsalud/navleft/investigaciones/articulos/resumen13.doc].

La validación de un método analítico implica la determinación de las fuentes de variabilidad y del error sistemático y al azar de un procedimiento, no sólo dentro de la calibración sino también en el análisis de muestras reales. [ICH., 2005; http://www.reglatec.go.cr/descargas/RTCA_11_01_35_06_ValidacionMetodosAnaliticos.pdf].

2.3.1 Desarrollo del proceso de validación. Evaluación de los parámetros de desempeño

Las características de funcionamiento que definen la aptitud de un método analítico para el uso al que se destina son las siguientes [Calpena, A. C., 1990].

Características de practicabilidad: Son las que deciden si el procedimiento analítico es fácil o difícilmente realizable en la práctica. Los parámetros de practicabilidad se evalúan en la fase de desarrollo del método analítico: tiempo, costo, tamaño de la muestra, calificación del personal, tipo de equipo e instrumentación, condiciones de seguridad, etc.

Características de idoneidad: Son el conjunto de parámetros que garantizan que el sistema responde, en el momento del análisis, a los requisitos fijados en la validación

del método. La idoneidad verifica el buen funcionamiento del sistema (instrumento y método) en el momento de su uso.

Características de fiabilidad: Son las que demuestran la capacidad de un método analítico para mantener a lo largo del tiempo los criterios fundamentales de validación. Los parámetros que expresan la fiabilidad de los métodos analíticos son: linealidad, exactitud, precisión, límite de detección y cuantificación y especificidad [Eurachem, 1998].

.

2.3.1.1 Linealidad

La linealidad de un procedimiento analítico es su capacidad (dentro de un intervalo dado) para obtener resultados que sean directamente proporcionales a la característica del analito.

En ensayos físicos – químicos, el comportamiento lineal de un método debe ser demostrado y varía dependiendo del tipo de determinación a realizar. Por esta razón se establecen los intervalos dentro de los cuales deben llevarse a cabo las pruebas para cada análisis. Cuando se trata de la valoración del principio activo en un producto terminado se analizarán entre 5 y 7 disoluciones patrón, en un intervalo de concentraciones entre 50 y 150% de la concentración teórica del principio activo en la muestra [Regulación 41del CEDMEC, 2007].

Evaluación de los datos estadísticamente

1. Significación de la regresión:

El coeficiente de correlación (r) refleja el grado de relación entre las variables *X* (concentración), y *Y* (respuesta). Su valor máximo es 1. Si r es cercano a 0, el ajuste es pobre y la relación es débil; si r es cercano a la unidad, el ajuste es bueno y esto es indicativo de una fuerte relación entre *X* e *Y*, es decir, existe correlación con una probabilidad elevada.

El coeficiente de correlación (r) debe ser ≥ 0,990 y el de determinación (r^2), superior a 0,98.

2. Verificación de linealidad: Se efectuará por determinación del coeficiente de variación (CV) de los factores de respuesta (cociente respuesta / concentración), el cual no será superior al 5%.

Factores de respuesta: $f_i = \frac{Y}{X}$

Coeficiente de variación de *f:* $CVf = \frac{Sf}{\bar{f}} 100$

donde:

$X \equiv$ concentración

$Y \equiv$ respuesta

$Sf \equiv$ desviación estándar de los factores de respuesta

$\bar{f}$ = factores de respuesta medios

Evaluación de la varianza de la pendiente de la recta de regresión:

La pendiente b se llama también coeficiente de regresión. A mayor pendiente, mayor sensibilidad (respuesta del método frente a los cambios de concentración del analito).

La varianza de la pendiente (S^2b) se utiliza como expresión matemática de la linealidad: a menor varianza mejor linealidad.

La desviación estándar o error estándar de la pendiente *Sb* y la desviación estándar relativa Sb_{rel} *(%)*, también pueden ser empleadas para expresar la linealidad. Sus fórmulas son:

$Sb = \sqrt{Sb^2}$

$Sb_{rel}(\%) = \frac{Sb}{b} 100$

Sb_{rel} *(%)* $\leq 2\%$.

3. Verificación de proporcionalidad:

En el caso ideal, el valor de la intercepción de la línea de regresión con el eje de ordenadas debe ser cero, pues indica el error sistemático del método El intervalo de confianza del intercepto deberá incluir el 0 para el grado de probabilidad definido [Castro, M., 1989; Fernández, A., 1996].

4. Prueba de bondad de ajuste: Se implementa para demostrar que los valores se ajustan a una línea recta.

2.3.1.2 Precisión

La precisión de un método analítico es el grado de concordancia de los valores de una serie repetida de ensayos analíticos, efectuados sobre una muestra homogénea. Es la

distribución de los valores analíticos alrededor de su media, se expresa como el (CV) y refleja el error aleatorio. Esta puede relacionarse a tres niveles, mediante la repetibilidad, la precisión intermedia y la reproducibilidad [NC-CS-368, 2004; ICH., 2005].

Repetibilidad:

Es la medida de la precisión de un método, llevada a cabo sobre la base de un número suficiente de determinaciones de una mezcla homogénea del producto, en las mismas condiciones, sobre la misma muestra, por un mismo analista, en el mismo laboratorio, con los mismos equipos y reactivos. Esto generalmente se hace en un corto intervalo de tiempo por lo que evalúa la variabilidad intrínseca del proceso.

La repetibilidad debe evaluarse con un mínimo de 6 determinaciones a 100% de la concentración nominal.

Precisión intermedia:

Es la medida de la precisión dentro de un laboratorio cuando se emplea una muestra homogénea y se analiza en condiciones diferentes, es decir analistas diferentes, días diferentes, en equipos diferentes. No es necesario estudiar los efectos de estos factores de forma independiente. Se recomienda el uso de un diseño de experimento. Refleja las condiciones reales dentro del laboratorio.

Reproducibilidad:

Medida de la precisión de los resultados de un método analítico que se efectúa sobre la misma muestra pero en condiciones diferentes: analistas, laboratorios, equipos, días, entre otras, es decir, evalúa la variabilidad debida a un factor intrínseco al método. Expresa la precisión entre los laboratorios.

Expresión de la precisión de un método analítico:

En cada caso se evalúa la media, desviación estándar y el coeficiente de variación. Los resultados de los estudios de precisión se expresan en términos de CV, el cual, en métodos espectrofotométricos, no excederá el 3% de la variabilidad total. [Regulación 41 del CEDMEC, 2007]

2.3.1.3 Exactitud

La exactitud de un procedimiento analítico expresa la cercanía entre el valor que es aceptado como convencional verdadero (material de referencia certificado o estándar) y el valor encontrado (valor promedio), obtenido al aplicar el procedimiento de análisis a un cierto número de muestras [ICH., 2005].

Matemáticamente la exactitud se expresa en forma de porcentaje de recuperación de la cantidad de analito presente en la muestra, o bien en forma de diferencia entre el valor hallado y el valor verdadero.

Otro método es el de comparar los resultados obtenidos con un segundo procedimiento bien caracterizado y validado previamente probando que no hay diferencias entre ambos [Regulación 41 del CEDMEC, 2007].

2.3.1.4 Límite de detección y cuantificación

El límite de detección de un procedimiento analítico es la cantidad más baja de analito en una muestra que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, como un valor exacto.

El límite de cuantificación de un procedimiento analítico es la cantidad más baja de analito en una muestra que puede ser cuantitativamente determinada con precisión y exactitud. Es un parámetro de ensayo cuantitativo para niveles bajos de compuestos en la muestra y se usa, particularmente, para la determinación de impurezas y/o productos de degradación [ICH., 2005].

Pueden utilizarse diferentes procedimientos para realizar la determinación del límite de detección y cuantificación:

a. Relación señal / ruido.
b. Estudio de la menor cantidad detectable.
c. Estimación del límite de detección mediante el valor de la ordenada en el origen expresado en unidades de concentración.
d. Análisis repetido del blanco de la muestra.
e. Extrapolación a concentración cero de muestras que contienen baja concentración de analito.

2.3.1.5 Especificidad

La especificidad es la capacidad de un método analítico de detectar inequívocamente el analito en presencia de compuestos que pueden estar presentes en la muestra (impurezas, productos de degradación, componentes de la matriz, etc.).

Esto implica en ensayos de identificación asegurar la identidad del analito en cuestión y en ensayos cuantitativos asegurar que todo el procedimiento analítico ejecutado brinda una respuesta exacta del contenido del analito en la muestra.

La tendencia mayoritaria es la utilización de métodos separativos (cromatografía líquida y de gases) en los que la presencia de otros componentes tienen escasa influencia en los resultados.

La especificidad de un método analítico se determina comparando los resultados del análisis de muestras conteniendo impurezas, productos de degradación, sustancias relacionadas o excipientes con los resultados del análisis de muestras que no contienen dichas sustancias [ICH., 2005].

2.3.1.6 Robustez

La evaluación de la robustez debe mostrar la capacidad de un método analítico con respecto a pequeñas variaciones en los parámetros del método. Cuando las mediciones son susceptibles a variaciones estas deben ser controladas, tomándose precauciones que deben ser incluidas en el procedimiento [ICH., 2005]**.**

2.4 Mejoramiento de la calidad de los resultados

2.4.1 Generalidades

La aplicación del mejoramiento continuo ha mostrado una importancia relevante en la cual tienen que estar implicados directivos y trabajadores, como consecuencia de ello es imprescindible el conocimiento de algunas herramientas para el desarrollo exitoso de este.

Dentro del variado espectro de herramientas de gestión utilizadas en los procesos de mejora continua, existen dos macro enfoques que la literatura sobre el tema diferencia claramente, el primer enfoque está relacionado con las situaciones tal vez más convencionales, donde la información está disponible. Este tipo de enfoque generalmente se aplica a áreas de producción y es bien conocido a través de las siete

herramientas, a través de las cuales es posible obtener resultados satisfactorios en dependencia de las circunstancias. [Ishikawa,K.1988;http://www.uh.cu/infogral /areasuh/vri/archivos/Calidad/talleracreditlab/CIGB.pdf].

- Diagrama de causa – efecto.
- Diagrama de pareto.
- Hojas de chequeo.
- Histograma.
- Estratificación.
- Diagrama de dispersión y correlación.
- Gráficos de control.

El segundo macro enfoque corresponde a aquellas situaciones en donde no todos los datos para la resolución de los problemas están disponibles y está compuesto también por un conjunto de siete nuevas herramientas conocidas como las 7 herramientas de planificación y dirección.
[http://biblioteca.iapg.org.ar/iapg/ArchivosAdjuntos/CongresodeCalidad/099.pdf]

- Diagrama de relaciones.
- Diagrama de afinidad.
- Diagrama sistemático o de árbol.
- Diagrama matriz.
- Matriz de análisis de datos.
- Diagrama del proceso de decisiones.
- Diagrama de flujo.

A continuación se describirán brevemente algunas de las herramientas utilizadas en el desarrollo del proceso de mejora para el análisis del comportamiento del proceso y la identificación de las causas que afectan la calidad de los resultados [NC ISO 9001, 2000].

2.4.2 Fundamento de algunas de las herramientas utilizadas en el proceso de mejora.

2.4.2.1 Histograma de frecuencia

Un histograma es un gráfico de barras que permite describir el comportamiento de un conjunto de datos en cuanto a forma, valor central, dispersión y dan idea del

desempeño del proceso o acción de la mejora, observando su forma y la dispersión de los datos. Su explicación debe basarse en los conocimientos del equipo y en la observación de las situaciones específicas que deben ser confirmadas mediante un análisis adicional [http://www.unalmed.edu.co/~erodrigu/cc/histogramas1.htm]

Las formas más comunes de variación que pueden tener los histogramas son la distribución en campana, es la normal, obtenida de un proceso estable su histograma es más elevado en el centro y declina simétricamente hacia los dos lados. Otros con apariencia anormal pueden ser con dos picos, plana, en peine, sesgada, truncada, con un pico aislado, o con un pico en el extremo. [http://www.fundibeq.org/metodologias/herramientas/histograma.pdf]

Los histogramas pueden ser muy útiles cuando se tiene un amplio número de datos que es preciso organizar para analizar más detalladamente o tomar decisiones sobre la base de ellos, siendo posible, con su utilización aumentar, la conciencia de los trabajadores debido a que pueden observar las mejoras reales que pueden tener en su trabajo. Además, el histograma permite hacer la comparación de los resultados de un proceso con las especificaciones previamente establecidas para el mismo. En este caso, mediante el histograma puede determinarse en qué grado el proceso está produciendo buenos resultados y hasta qué punto existen desviaciones respecto a los límites fijados en las especificaciones [Juran, J. M. & Godfrey, B., 2001].

2.4.2.2 Gráficos de control

El objetivo del control estadístico del proceso es servir para establecer y mantener un proceso a un nivel aceptable y estable, de modo que se garantice la conformidad de los productos con los requisitos especificados. La herramienta fundamental que se utiliza para hacerlo es el gráfico de control [NC- ISO 7870, 2000]. Existen dos tipos generales de gráficos de control: para variables, aplicable a variables (o características de calidad) de tipo continuo y, para atributos, el cual se utiliza para características de calidad que no son medidas con un instrumento de escala continua [Juran, J. M. & Godfrey, B., 2001].

El gráfico de control como medio gráfico de aplicación de principios estadísticos de significación fue propuesto por primera vez por *Shewhart* [NC-ISO 8258, 2002], realizando una distinción entre las causas de variación común y especial En la actualidad se conocen estas variaciones como causas naturales y asignables. El primer

caso se refiere a la variabilidad debida a causas aleatorias que está originada por la amplia variedad de causas que siempre están presentes y no son fácilmente identificables, y donde cada una constituye un componente muy pequeño de la variabilidad total, pero ninguna aporta una cantidad significativa. Sin embargo, la suma de las contribuciones de todas estas causas aleatorias no identificables es medible y se asume como inherente al proceso. La eliminación o corrección de causas comunes requiere una decisión de la dirección para asignar recursos destinados a mejorar el proceso.

Las causas asignables representan el segundo tipo de variabilidad, donde un cambio real en el proceso puede atribuirse a algunas causas identificables que no forman parte inherente del proceso y que, al menos teóricamente, se pueden eliminar.

Se plantea que un proceso está operando bajo control estadístico cuando la única fuente de variación son las causas comunes (naturales). El proceso se deberá someter a control estadístico para detectar y eliminar las causas de variación especiales (asignables). De acuerdo con la observación de Edwards Deming una situación de control estadístico no es una condición natural, es un logro al que se llegó poco a poco y como resultado de un decidido esfuerzo de eliminación de las causas especiales de variación excesiva. [Render, B. & Heizer, J., 1996]

Los límites de control son la frontera dentro de las cuales puede ser esperado que los estadísticos muestrales varíen debido simplemente a la aleatoriedad del muestreo empleado. Son calculados a partir de las distribuciones muéstrales relativamente estrechas y son establecidas en 3 (o posiblemente en 2) errores estándares promedio del proceso. Cuando un proceso está en control, el 99,7 % de los promedios de las muestras están dentro de ± 3 errores estándar de la línea central de la gráfica. Si los promedios muestrales caen fuera de los limites de control alguna causa asignada es probablemente la responsable y debe ser tomada una acción correctiva. [Chase, B. R.; Aquilano J. N. & Jacobs R.F., 2000]

Un gráfico de control de *Shewhart* se obtiene distribuyendo los valores de la variable, medidos sobre un material de control, en series sucesivas, sobre un eje vertical, frente al número de series que se grafica en el eje horizontal. Si en una serie se efectúan varios análisis de un material de control en particular, los resultados individuales o el valor promedio pueden ser utilizados para formar un gráfico de control. El gráfico se

completa por líneas horizontales derivadas de la distribución normal que es utilizada para describir las variaciones aleatorias en los valores representados. Las líneas elegidas para el control son μ, μ±2σ y μ±3σ.

Los gráficos de control son el procedimiento interno que se realiza para verificar que el método validado cumple con los requisitos establecidos siendo necesario llevar un registro diario del procedimiento, cuando se realice un método analítico. [http://www.saludcapital.gov.co/secsalud/navleft/investigaciones/articulos/resumen13.doc]

Para la interpretación de los gráficos de control (carta de control) se divide el gráfico en seis zonas o bandas iguales, cada una con una amplitud similar a una desviación estándar de la variable que se grafica. Para la aplicación de pruebas estadísticas se parte del supuesto de normalidad e independencia en los datos. Para la identificación de las anomalías en los gráficos, se utilizan patrones de comportamiento de los puntos en una carta. Cuando alguna de las 8 pruebas utilizadas para evaluar los gráficos de control es positiva, entonces el proceso está fuera de control estadístico. Esto significa que un factor específico de variación está presente y se debe investigar cuál es, para prevenir su ocurrencia.

2.4.2.3 Diagrama de flujo del proceso

Es una descripción de las distintas etapas del proceso, ordenadas secuencialmente desde su inicio hasta el final, con el objetivo de comprender detalladamente cómo funciona en realidad. A través del examen de la forma en que los diversos pasos de un proceso se relacionan entre sí, se puede descubrir, a menudo, las fuentes potenciales de los problemas [Juran, J. M. & Godfrey, B., 2001].

2.4.2.4 Diagrama de afinidad

Con el uso del diagrama de afinidad se puede organizar un gran número de ideas en función de su afinidad, por la relación que existe entre cada una de ellas. Se emplea para ayudar a entender mejor problemas que deben resolverse. El método emplea palabras que expresan hechos, predicciones, ideas, opiniones y expresiones similares sobre situaciones confusas o temas no experimentados previamente. El método constituye un fundamento para datos verbales de muchas fuentes diferentes, con base

en similares, elementos comunes y relaciones expresadas en los informes del usuario o en los supuestos [Gutiérrez, H., 1996].

2.4.2.5 Método de expertos

Los métodos de expertos permiten obtener realmente la experiencia y sabiduría de un grupo de personas (expertos) dentro de un ambiente de franqueza, no sujeto a restricciones ni censuras de ningún tipo.

En situaciones cuando no se puede medir; se adolece de instrumentos o de unidades de medidas y sin embargo, se necesita tener una comparación como, ¿cuál es el mejor, cuál está después, cuál está antes del malo, etc.?y hay que acudir a un experto. El uso de estas técnicas es muy amplio, al utilizarla como elemento de medición, su empleo puede ser para medir importancia de factores, medir calidad, medir conocimientos o realizar comparación entre factores.

El experto es un especialista con determinadas características que le permitan trabajar en la evaluación de los productos o servicios como parte de una comisión de expertos.

Selección de los expertos

Esto es uno de los aspectos más importantes para realizar un trabajo creativo en grupo que tenga resultados positivos. Es necesario analizar cuál es la posición a priori del experto antes de participar en el trabajo. Los expertos seleccionados deben ser tales que sus motivaciones e intereses no se superpongan con el problema que deben abordar, evidenciando imparcialidad.

Algunas reglas prácticas son útiles para la selección de los expertos:

I. La selección del grupo de expertos se realiza en correspondencia con el objetivo del trabajo a realizar.
II. La cantidad de expertos no debe ser tan pequeña que se pierda la idea de la valoración colectiva y no debe ser tan grande que aumente innecesariamente los gastos para la elaboración de los criterios colectivos.
III. Se necesita la imparcialidad del experto y la motivación en el tema.
IV. Los elementos que determinan la idoneidad son:

- La especialidad del experto.
- La experiencia acumulada.

- El nivel de conocimientos.
- El grado de compromiso ante el problema que se analiza.

En la medida en que se disminuya la cantidad de expertos disminuye el nivel de confianza de los resultados. De la cantidad de expertos depende la complejidad y las características del trabajo a realizar [NC – ISO – 8586 – 2, 2005; Rodríguez, L., 2003]**.**

2.4.2.5.1 Técnica 6.3.5

Es una técnica de dinámica de grupos en la cual se colocan seis personas preferiblemente en forma de circunferencia, cada uno debe escribir 3 ideas acerca del problema planteado en un plazo máximo de 5 minutos. A los cinco minutos pasa su papel a su vecino de la izquierda (o de la derecha, según se acuerde). Cada participante puede añadir, en el papel que recibió, hasta 3 ideas más en un nuevo plazo de 5 minutos.

2.4.2.6 Matriz de decisión

Se emplea para mostrar la relación entre causa y resultado, o entre métodos y objetivos, cuando cada uno de dichos métodos consiste en dos o más elementos o factores. La identificación de relaciones entre dos elementos o factores, en las intersecciones de filas y columnas, clarifica el problema y ayuda a encontrar medidas para resolverlos [Pons, R., 1996]

Esta herramienta se utiliza cuando se posee una gran lista de problemas, las cuales deben reducirse, cuando se tiene una gran lista de soluciones potenciales o después de una tormenta de ideas para reducir el número de ideas a una lista manejable [Romero, C., 1996].

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los métodos analíticos utilizados en las actividades de control de la calidad del Vitrofural deben cumplir con determinadas características de fiabilidad, practicabilidad y de idoneidad por lo cual como vía para cumplimentar los objetivos de la presente investigación y mejorar la calidad de los resultados analíticos en este capítulo, será abordado: La validación del procedimiento para la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural por espectrofotometría UV-VIS utilizada por el laboratorio de control de calidad del CBQ y el mejoramiento de la calidad de los resultados analíticos obtenidos.

3.1 Procedimiento para la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural por espectrofotometría UV-VIS

La determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural se realizó siguiendo el procedimiento que se muestra a continuación:

Equipos

- Balanza analítica Sartorius CP 225 D, d=0,01 mg (80g) 0,1 mg (220 g).
- Espectrofotómetro UV-VIS Single Beam Scanning UV/Visible Camspec, M501

Materiales

- Espátula
- Volumétricos de 10 y 25 mL
- Pipeta graduada de 1mL.
- Embudo.
- Beaker.

Reactivos químicos

- Alcohol fino Clase A. Ver certificado de calidad en Anexo 1.
- Alcohol técnico. Ver certificado de calidad en Anexo 2.

Procedimiento

- Se pesó separadamente y con exactitud 0,01 g de G-1 muestra de referencia (MR). (Ver certificado de calidad en Anexo 3) y 0,033 3 g de Vitrofural.

- Se transfirió cuantitativamente a dos matraces de 10 mL protegido de la luz, y se enrasó con alcohol (disolución A y disolución C, 1000 µg/mL de G-1).

- Se tomó una alícuota de 0,25 mL de disolución A y 0,25 mL de disolución C y se transfirió a dos matraces de 25 mL, completando el volumen con alcohol (10 µg/mL), se protegió de la luz. (disolución B y disolución D).

donde:

disolución A: disolución de la MR de G-1

disolución C: disolución de la muestra de Vitrofural

disolución B: alícuota de la disolución A

disolución D: alícuota de la disolución C

Determinación

- Se lee la absorbancia de las disoluciones B y D a 372 nm utilizando como blanco alcohol,

- Se calcula el contenido de G-1 (%G-1) utilizando las absorbancias dadas por las disoluciones B y D, según la fórmula:

$$\%\,\mathrm{G\text{-}1} = \frac{\mathrm{Am}\cdot\mathrm{Mp}}{\mathrm{Ap}\cdot\mathrm{Mm}}\cdot\mathrm{Pp}$$

donde:

Am: absorbancia de la muestra a la longitud de onda especificada.

Mp: masa de la MR de G-1.

Pp: pureza de la MR de G-1 (%).

Ap: absorbancia de la MR de G-1 a la longitud de onda especificada.

Mm: masa de muestra

3.2 Cualificación del espectrofotómetro UV-VIS

La cualificación del Espectrofotómetro UV-VIS fue realizada según lo establecido en la *Bristish Pharmacopeia* [BP., 2004].

3.2.1 Control de la absorbancia

Se realizo utilizando una disolución patrón de dicromato de potasio 0,005 M en ácido sulfúrico 0,005 M. Las mediciones se realizaron a 235, 257, 313 y 350 nm, utilizando como blanco ácido sulfúrico 0,005 M. Este procedimiento se repitió 5 veces, cambiando la muestra y lavando la cubeta con agua destilada.

Evaluación de los resultados:

Con los resultados experimentales obtenidos se realizó el cálculo de la absorbancia específica A (1 %, 1 cm).para cada longitud de onda, la cual debe estar dentro de los límites permisibles que se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1 Límites permisibles de la absorbancia específica para cada longitud de onda

Longitudes de onda	235 nm	257 nm	313 nm	350 nm
A (1 %, 1 cm) tab.	122,9 – 126,2	142,4 – 145,7	47,0 – 50,3	104,9 – 109,2

3.2.2 Límite de *stray light*

Se midió la absorbancia de una disolución de cloruro de potasio 1,2 % m/v en agua en cubetas de 1 cm de paso óptico a 200 nm, utilizando agua destilada como blanco.

Criterio de evaluación:

El valor de absorbancia obtenido debe ser mayor que 2.

3.3 Desarrollo del proceso de validación del procedimiento para la determinación del contenido de G-1 por espectrofotometría UV-VIS

3.3.1 Linealidad

Para realizar la evaluación de la linealidad se prepararon tres curvas de calibración, tres días diferentes en un intervalo de concentraciones desde 4,0 μg/mL hasta 16 μg/mL, que incluye 7 concentraciones diferentes. Para ello se pesó con exactitud 0,0100 g de G-1 muestra de referencia, se transfirió cuantitativamente a un matraz de 10 ml protegido de la luz y se enrasó con alcohol (disolución A, 1000 μg/mL).

Se tomaron las alícuotas de disolución A, (Tabla 2) y se transfirieron a un matraz de 25 mL completando volumen con alcohol. Las disoluciones se protegieron de la luz. Se leyeron las absorbancias de las disoluciones a 372 nm utilizando como blanco alcohol.

Tabla 2 Curva de calibrado de la linealidad

% de analito	Alícuota de disolución A (mL)	Concentración (μg/mL)
40	0,10	4
60	0,15	6
80	0,20	8

100	0,25	10
120	0,30	12
140	0,35	14
160	0,40	16

Con los resultados experimentales obtenidos se construyó la recta de regresión de la linealidad, se calculó el coeficiente de correlación lineal (r), el coeficiente de variación de los factores de respuesta (CV_f), la varianza de la pendiente de la línea de regresión (Sb^2) y el intervalo de confianza del intercepto (a).

Criterios de aceptación

-Coeficiente de correlación lineal: $r \geq 0{,}99$.

-Pendiente: $b \neq 0$.

-Coeficiente de variación de los factores de respuesta: $CV_f \leq 5$ %.

-Desviación estándar relativa de la pendiente de la línea de regresión ($Sb_{rel.}$): $Sb_{rel} \leq 2\%$

-Intervalo de confianza del intercepto: a (que contenga al cero).

3.3.2 Precisión

La determinación de la precisión se realizó intraensayo para la repetibilidad e interensayo para la precisión intermedia.

Repetibilidad

Se siguió el procedimiento descrito en el epígrafe 3.1. Se realizaron 6 réplicas del procedimiento. Se determinó la concentración media del contenido de G-1, la desviación estándar y desviación estándar relativa (coeficiente de variación).

Precisión intermedia

Se siguió el procedimiento descrito en el epígrafe 3.1, se varió en el estudio: día y analista

Se calculó el coeficiente de variación por analista y día independientes y el global además se compararon las medias y las varianzas entre los grupos.

Criterios de evaluación de la precisión de la técnica analítica

Se tomó como criterio de aceptación que el coeficiente de variación obtenido no exceda el 3 %.

En el estudio de la precisión intermedia se realizó un análisis de varianza para determinar el efecto de cada uno de los factores (día y analista) por separado. Si en el análisis de varianza (ANOVA) Fcal < Ftab para α=0,05 y (n_1-1 grados de libertad del factor 1 y n_2-1 grado de libertad del factor 2) desde el punto de vista estadístico no hay diferencias significativas entre los resultados obtenidos.

3.3.3 Exactitud

La exactitud de la técnica analítica se probó por diferentes métodos, en todos los casos las muestras de Vitrofural y de G-1 (MR) se analizaron siguiendo el procedimiento descrito en el epígrafe 3.1.

- Se determinó la exactitud por el método de comparación de dos series, comparándose las absorbancias obtenidas por una muestra preparada de placebo (contiene todos los ingredientes de la muestra excepto el analito) más G-1(30 %) con los de la disoluciones patrón de G-1 a la misma concentración.

Criterios de evaluación:

Se compararon las dos series, mediante sus varianzas (*test* de F) y por la diferencia de medias (*test* de t.). Al realizar los *test* se debe cumplir el criterio de homogeneidad de varianza y no deben existir diferencias significativas entre las medias de las dos variables para la probabilidad escogida de 0,05.

- Para la determinación de la exactitud por el porcentaje de recuperación respecto al valor teórico (30 %) del contenido de G-1, para 6 muestras de Vitrofural.

Criterios de evaluación:

Se realizó un *test t de student* para probar que no existe diferencia significativa del porcentaje de recuperación obtenido respecto al teórico.

- Determinación de la exactitud a través de la comparación con otro método validado: se compararon los resultados obtenidos en la determinación del contenido de G-1 por espectrofotometría UV- VIS con la determinación realizada por cromatografía líquida de

alta eficacia (HPLC), método validado en estudios anteriores. [Jiménez, E.; Bravo. L.; Morales, S., 1993]

Criterios de evaluación:

Se realizó el análisis estadístico para probar mediante un test F que las desviaciones típicas son similares y un *test de Mann-Whitney W* para comparar las medianas de las dos muestras y probar que no hay diferencias significativas entre los valores obtenidos experimentalmente por ambos métodos.

3.3.4 Robustez

Se realizó el análisis con muestras de Vitrofural siguiendo todos los pasos especificados en el procedimiento para la determinación del contenido de G-1 por espectrofotometría UV-VIS, donde se varió la calidad del alcohol (fino clase A y técnico), en las determinaciones se compararon las medias y las varianzas de los dos grupos de resultados obtenidos.

Criterios de evaluación:

Si en el ANOVA Fcal < Ftab para α=0,05 y n_1-1 grados de libertad del factor 1 (alcohol fino clase A) y n_2-1 grado de libertad del factor 2 (alcohol técnico), desde el punto de vista estadístico no deben existir diferencias significativas entre los resultados obtenidos al evaluar los dos grupos.

3.4 Mejoramiento de la calidad de los resultados

Se realizó utilizando los resultados analíticos obtenidos en el año 2006 por el laboratorio de control de la calidad del CBQ en la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural por espectrofotometría UV- VIS.

3.4.1 Análisis del comportamiento del proceso y detección de desviaciones.

Para analizar el comportamiento del proceso de determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural se utilizaron histogramas de frecuencia y gráficos de control de *shewhart* de recorridos móviles y valores individuales.

3.4.1.1 Histograma de frecuencia

Los histogramas de frecuencias son la herramienta que se utilizó para analizar el comportamiento de la tendencia central y dispersión de los datos correspondientes a las absorbancias del patrón de G-1 empleado en la realización de la técnica analítica.

Se empleó el programa *Statgraphics* para la construcción de los histogramas.

Para su interpretación fue necesario responder 8 preguntas:

1. ¿Cuáles son las mediciones más comunes? Para ello de observó la barra o grupos de barras más altas.
2. ¿Hay un comportamiento simétrico?, ¿Hay sesgo?, ¿Hacia que lado?
3. ¿Cómo es la dispersión?
4. ¿Está centrado el proceso?
5. ¿Cuántos picos hay?
6. ¿Hay acantilados?
7. ¿Hay datos aislados o raros?
8. ¿Hay que estratificar?

3.4.1.2 Elaboración de los gráficos de control

Previamente a la realización de los gráficos de control se probó la normalidad de lo datos con el programa *Statgraphics.* Se construyeron los gráficos de control de Shewhart de recorrido y valores individuales, para observar la variabilidad y tendencia central de los resultados analíticos obtenidos en la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural. El gráfico se construyó en base a las absorbancias obtenidas para el patrón de G-1 durante 103 análisis del contenido de G-1 en el Vitrofural (total de análisis efectuados en el año 2006). La construcción e interpretación de los gráficos de control se realizó según la NC-ISO 8258 : 2002.

Patrones que se tuvieron en cuenta para conocer el comportamiento de los puntos en los gráficos de control.

Patrón 1. Cambios (brincos) en el nivel del proceso

Un cambio en el nivel de proceso ha ocurrido cuando.

Prueba 1. Un punto fuera de los límites de control.

Prueba 2. Dos de tres puntos consecutivos en la zona A, o mas allá.

Prueba 3. Cuatro de cinco puntos consecutivos en la zona B o mas allá.

Prueba 4. Ocho puntos consecutivos de un solo lado de la línea central.

Patrón 2. Tendencia en el nivel del proceso

Para determinar si hay una tendencia en el proceso se tiene la prueba 5:

Prueba 5 Hay seis puntos consecutivos ascendentes (o descendentes) en el gráfico de control.

Patrón 3. Ciclos recurrentes (Periodicidad)

Se debe observar que el ciclo se repita periódicamente y se cumpla la prueba 6.

Prueba 6. Catorce puntos consecutivos alternando entre altos y bajos.

Patrón 4. Mucha variabilidad

Una señal de que en el proceso hay una causa especial de variación se manifiesta mediante una alta proporción de puntos cerca de los límites de control, a ambos lados de la línea central y muy pocos o ningún punto en la parte central de la carta.

Prueba 7. Ocho puntos consecutivos a ambos lados de la línea central con ninguno en la zona C.

Patrón 5. Falta de variabilidad (Estratificación)

Una señal de que hay algo anormal es que todos los puntos se concentran en la parte central del gráfico, es decir que los puntos reflejan poca variabilidad cumpliéndose la prueba 8 que plantea:

Prueba 8. Quince puntos consecutivos en la zona C, arriba o debajo de la línea central.

Después de realizadas las 8 pruebas anteriores, si alguna de ellas es positiva, entonces el proceso está fuera de control estadístico y significa que el proceso esta trabajando con variaciones debido a una causa específica que debe ser investigadas para prevenir su ocurrencia.

3.4.2 Identificación de las causas que afectan la calidad de los resultados en la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural

3.4.2.1 Diagrama de flujo del proceso

Con vistas a describir esquemáticamente el proceso y facilitar la comprensión de la secuencia de pasos a seguir, se confeccionó un diagrama de flujo para la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural.

3.4.2.2 Aplicación de la técnica 6.3.5

Para lograr la identificación de las causas que afectan la calidad de los resultados de la determinación de G-1 por espectrofotometría UV- VIS en Vitrofural, se aplican técnicas de trabajo en grupo, basándose en el diagrama de flujo, previamente preparado, se determinaron los factores que influían sobre este proceso utilizándose la técnica 6.3.5.

Los expertos en la actividad de control de la calidad fueron seleccionados de forma intencional y se construyó con seis expertos del laboratorio de control de la calidad, tres de ellos técnicos medios que se desempeñan como químicos analistas y tres graduados de nivel superior, ellos plasmaron por escrito individualmente tres ideas relacionadas con los factores que influyen en la calidad de los resultados de la determinación de G-1 por espectrofotometría UV- VIS en Vitrofural, pasado un tiempo de cinco minutos, fue pasado el papel al compañero de la derecha y se repitió la acción hasta que se agotan las ideas de los participantes sobre el asunto que se investiga.

3.4.2.3 Elaboración del diagrama de afinidad

Para organizar la información obtenida en la técnica 6.3.5 se realizó un diagrama de afinidad, para lo cual cada dato se registra en una tarjeta. Sobre un gran plano de papel se colocaron todas las tarjetas en la que se anotó los factores influyentes en el proceso que se estudió y se fueron ordenando por su similitud, creando grupos de familias de los factores expresados, se prepararon otras tarjetas llamadas tarjetas de afinidad en las que se hizo una exposición corta pero completa, de las características de cada grupo de tarjetas de datos con las que se enlazaron y se colocaron de modo que estas encabezaran cada conjunto de tarjetas. Posteriormente, se realizó la distribución de las tarjetas en los grupos por su afinidad.

3.4.2.4 Procedimiento para la toma de decisiones en el trabajo con expertos

Para realizar la evaluación de los resultados del diagrama de afinidad y poder establecer un orden de prioridad entre ellas, el resultado obtenido se sometió a un análisis, utilizándose para ello un procedimiento de toma de decisiones con expertos.

Para calcular el número de expertos encargados de valorar en orden de importancia cada uno de los factores que influyeron en la calidad del resultado obtenido en la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural, se utilizó la siguiente expresión:

$$N = \frac{p(1-p)*K}{i^2}$$

donde:

N : Cantidad de expertos.

p : Proporción de error estimada.

K : Constante cuyo valor está asociado al nivel de confianza elegido.

i : Nivel de precisión.

Los valores de se muestran en la Tabla 3:

Tabla 3 Valores de K relacionados con los niveles de confianza

Nivel de confianza (%)	Valor de K
99	6,6564
95	3,8416
90	2,6896

Tomando como nivel de confianza un 95 %, un valor de K igual a 3,8416, una proporción de error estimada (p) de 0,05 y un nivel de precisión (i) igual a 0,14 se determinó el número de expertos necesarios.

La selección de los expertos no fue al azar deberían cumplir con los siguientes requisitos generales:

• Conocimientos sobre la temática en cuestión.

• Docentes o investigadores

a) Más de diez años de experiencia de trabajo.

b) Relación de su trabajo con el CBQ y la Facultad de Química y Farmacia.

A los expertos seleccionados se le entregó la encuesta Tabla 4 y se fijó un tiempo mínimo de 72 horas para entregar la respuesta. Las opiniones expresadas fueron ponderadas mediante la elaboración de la matriz de rango y el cálculo del coeficiente de concordancia de *Kendall.*

Tabla 4 Encuesta aplicada a los expertos

Asunto: Evaluación de las posibles causas de problemas en la calidad de los resultados de la determinación del contenido de G-1 por espectrofotometría UV-VIS en el Vitrofural.	
Estimados expertos: Con vistas a determinar las posibles causas de problemas en la calidad de los resultados de la determinación del contenido de G-1 por espectrofotometría UV-VIS en el Vitrofural, se hace necesario contar con su opinión sobre los aspectos que se relacionan a continuación y que deben ser valorados de acuerdo con la importancia que usted le atribuye otorgándole una calificación desde **0 a 10.**	
Factores que influyen en la calidad del resultado de la determinación del contenido de G-1 por espectrofotometría UV-VIS en el Vitrofural.	**Calificación**
1. Experiencia del analista.	
2. Entrenamiento del analista en la técnica analítica en cuestión.	
3. Atención que brinda el analista durante la realización de la técnica.	
4. Calibración y limpieza de la balanza analítica.	
5. Calibración del espectrofotómetro.	
6. Adecuada limpieza y utilización de las cubetas.	
7. Calidad de los reactivos.	
8. Verificación y limpieza de la cristalería.	

3.4.2.4.1 Elaboración de la matriz de rango

Para ayudar a la clarificación de las causas y a la identificación de la relación entre ellas se confeccionó una matriz de rango (Tabla 5) donde fueron relacionados en las filas los factores que influyen en la calidad del resultado de la determinación del contenido de G-1 por espectrofotometría UV-VIS y en las columnas la puntuación otorgada por cada uno de los expertos.

Tabla 5 Matriz de rango

Factores	E_1	E_2	E_3	E_4	E_5	E_6	E_7	E_8	E_9	Σa_{iij}	**D**	D^2

1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												
Σ												

E_1 – E_9: Expertos consultados.

F1 – F8: Factores que influyen en la calidad de la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural

Se calculó la desviación del valor medio (D)

$D = \Sigma (a_{ij} - T)$

$T = {}^{1}/_{2}\, N(K+1)$

donde:

D: desviación del valor medio respecto a T

N: Número de expertos

K: Número total de problemas a evaluar

aij: rango dado al problema i por el experto j

T: Factor de comparación (Valor medio de los rangos)

3.4.2.4.2 Cálculo del coeficiente de concordancia de *Kendall*

Con el objetivo de conocer la confiabilidad del juicio de los expertos se determinó el coeficiente de concordancia de *Kendall* (W)

$$W = \frac{12(\sum_{i=1}^{n} D^2)}{M^2(K^3 - K)}$$

donde:

W: coeficiente de concordancia de Kendall

D: desviación respecto a T

M : cantidad de expertos

K : cantidad total de factores

Se probó la significación del grado de concordancia de los expertos (significación de W).

A partir de la evaluación de los expertos se determino su nivel de concordancia mediante la hipótesis siguiente:

H_o= No es concordante el juicio de los expertos

H_1= Es concordante el juicio de los expertos

Para muestras grandes (K > 7)

$\chi^2 = M(K-1)W$

Región critica (RC): $\chi^2 > \chi^2_{(\alpha, K-1)}$

donde:

rechazar H_o significa que el juicio de los expertos es consistente y que el orden de los factores es el obtenido como resultado de dicho criterio.

3.4.3 Confección de los Procedimientos Normalizados de Operaciones (PNO) para la toma de las medidas iniciales

✓ **Inclusión de nuevos acápites en el PNO "Funcionamiento y cuidado del espectrofotómetro UV- VIS".**

Con vistas a solucionar los problemas detectados en la utilización del espectrofotómetro y el lavado y manipulación de las cubetas se procedió a la elaboración de nuevos acápites a incluir en el PNO "Funcionamiento y cuidado del espectrofotómetro UV- VIS.

✓ **Confección del PNO "Control Interno de los Resultados Analíticos"**

El control interno de la calidad es el procedimiento empleado por el personal del laboratorio para dar seguimiento a las operaciones y los resultados de las mediciones con el objetivo de decidir si los resultados son lo suficientemente fiables para ser entregados. Este permite al analista aceptar, rechazar o repetir el análisis.

Por lo que se procedió a la elaboración de un PNO de "Control Interno de los Resultados" en el Laboratorio de Control de la Calidad del CBQ.

✓ **Confección del PNO "Resultados fuera de especificaciones".**

Un resultado fuera de especificaciones es aquel que no cumple con las especificaciones de calidad por diferentes causas desconocidas que deben ser investigadas. Con este objetivo se confeccionó el PNO titulado “Resultados fuera de especificaciones”.

Estos procedimientos son un requisito obligatorio para dar cumplimiento a la NC ISO/IEC 17025:2000. y para la implantación del Sistema de Calidad en el Laboratorio de Control de la Calidad del CBQ.

Los PNO se elaboraron utilizando la Metodología establecida en la Regulación No. 16-2006 del CECMED. y en la NC-ISO 9001:2000.

3.5 Análisis estadístico

Para realizar los cálculos y el análisis estadísticos cuando se realizó la validación y el mejoramiento de la calidad de los resultados de la técnica analítica para la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural por espectrofotometría UV-VIS, fue necesario utilizar los programas *Statgraphics Plus for Windows 5.1, Professional Versión, 1994 - 2001 y Microsoft® Office Excel 2003.*

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Generalidades

El desarrollo de los análisis que aquí se describen se hizo con lotes de Vitrofural producidos en la planta de producción del CBQ en el año 2006 y liberados por la Unidad de Aseguramiento de la Calidad (UAC).

A lo largo de la investigación se realizó la validación exhaustiva del procedimiento para la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural por espectrofotometría UV- VIS. Los parámetros de validación estudiados en este trabajo fueron la linealidad, precisión, exactitud y la robustez, realizada variando la calidad del alcohol utilizado en la técnica analítica. Por otra parte, se identificaron las causas que afectan la calidad de los resultados en el procedimiento estudiado, con el uso de diferentes herramientas y se tomaron las medidas apropiadas para eliminar los problemas detectados. Finalmente se exponen los resultados obtenidos, después de aplicar dichas medidas de mejora en el laboratorio de control de la calidad del CBQ.

4.2 Cualificación del espectrofotómetro UV-VIS

En el sistema de calidad de un laboratorio, los equipos de medición constituyen la herramienta principal del trabajo. De ahí que la cualificación de los equipos sea de gran importancia, tanto para la correcta ejecución de los ensayos como para la obtención de resultados analíticos con la fiabilidad y la precisión requerida. La NC ISO/IEC 17025 contiene los requisitos que un laboratorio tiene que cumplir si desea demostrar que es técnicamente competente y que es capaz de producir resultados técnicamente válidos. En ella se especifica que *"deben establecerse programas de calibración para las magnitudes o valores clave de los instrumentos cuando estas propiedades tengan un efecto significativo en los resultados y que antes de ponerse en funcionamiento, los equipos, se deben calibrar y verificar para demostrar que cumplen los requisitos especificados del laboratorio y las especificaciones contenidas en las normas aplicables, y deben someterse a un control y/o calibración antes de ser utilizados"*.

A continuación se describen las pruebas y los resultados que se obtuvieron al realizar la cualificación del espectrofotómetro UV-VIS utilizado en el desarrollo de la investigación.

4.2.1 Control de la absorbancia

Al espectrofotómetro UV-VIS sometido al proceso de cualificación se le realizó primeramente la prueba para el control de la absorbancia, según se describe en la *Bristish Pharmacopeia* [BP., 2004].

En la Tabla 6 se muestran los valores de absorbancia específica [A(1%, 1 cm)] a cuatro longitudes de onda, los cuales fueron calculados a partir de las absorbancias obtenidas para 5 réplicas de una disolución patrón de dicromato de potasio.

Tabla 6 Resultados de la prueba para el control de la absorbancia

N° de réplica	λ=235 nm	λ=257 nm	λ=313 nm	λ=350 nm
1	0,742	0,860	0,294	0,640
2	0,741	0,859	0,293	0,638
3	0,741	0,859	0,294	0,640
4	0,742	0,859	0,294	0,638
5	0,742	0,860	0,293	0,639
Media	0,7416	0,8594	0,2936	0,6390
S	0,0005	0,0005	0,0005	0,0010
CV	0,0739	0,0637	0,1866	0,1565
A (1 %, 1 cm.) tab.	122,9 – 126,2	142,4 – 145,7	47,0 – 50,3	104,9 – 109,2
A (1 %, 1 cm.) exp.	123,6	143,2	48,9	106,5

De los resultados obtenidos se puede concluir que el espectrofotómetro cumplió con la prueba para el control de la absorbancia, ya que los valores de absorbancia específica obtenidos experimentalmente están dentro del intervalo de tolerancia tabulado para cada longitud de onda. Esto constituye una evidencia objetiva de que el instrumento está funcionando correctamente en lo que a este parámetro se refiere.

4.2.2 Límite de *stray light*

Se realizó la determinación del límite de *stray light* con una disolución de cloruro de potasio utilizando como blanco agua destilada, obteniéndose una absorbancia de 2,52 resultando este valor mayor que 2, que es el valor mínimo de absorbancia reportado para la prueba en la literatura.

El espectrofotómetro UV-VIS Camspec, M501 utilizado para realizar la validación y mejoramiento de la técnica analítica para la determinación del contenido de G-1 por espectrofotometría UV-VIS cumplió con las pruebas realizadas para su cualificación reportadas en la literatura [BP., 2004]. Cuando el equipo no cumple con las pruebas realizadas no puede ser utilizado porque es señal de que ha ocurrido algún problema en él y ya no está apto para el uso para el cual fue destinado, ya sea por rotura o envejecimiento de sus componentes que se van deteriorando con el paso del tiempo. Cuando esto sucede las medidas realizadas en él comienzan a perder confianza reflejándose en la calidad del análisis.

4.3 Validación del procedimiento para la determinación del contenido de G-1 por espectrofotometría UV-VIS

En el procedimiento analítico utilizado para la determinación del contenido de G-1 por espectrofotometría UV-VIS en el producto terminado Vitrofural, fue necesario evaluar todos los parámetros de desempeño establecidos por la Regulación N^{o} 41-07, ya que se trata de un método desarrollado en el laboratorio de control de la calidad del CBQ. No se realizó la evaluación de la especificidad, por las siguientes razones:

1. El hecho conocido de que, por su naturaleza, los métodos espectrofotométricos no son específicos.
2. El procedimiento va a ser empleado para evaluar lotes de Vitrofural recientemente elaborados, a base de materiales primas puras y con calidad certificada, lo que garantiza la ausencia de interferencias en el producto final.

Por último, atendiendo a lo establecido en las regulaciones de la [ICH., 2005] en cuanto a las características que deben ser validadas según el propósito del método, no fue necesario determinar los límites de cuantificación y de detección, por cuanto se trata de un procedimiento de determinación del contenido de IFA en un producto terminado.

4.3.1 Linealidad

En la Tabla 7 y Figura 4 se muestran los valores experimentales de absorbancia y los factores respuesta calculados para las tres curvas de calibración de G-1, en el intervalo de 4 a 16 μg/mL.

Tabla 7 Valores experimentales obtenidos para la curva de calibración de G-1 en alcohol por Espectrofotometría UV-VIS

X (μg/mL)	Y (Abs)	Y/X
4	0,279	0,0697
4	0,272	0,068
4	0,288	0,072
6	0,45	0,075
6	0,43	0,0717
6	0,41	0,0683
8	0,578	0,0722
8	0,559	0,0699
8	0,536	0,067
10	0,731	0,0731
10	0,715	0,0715
10	0,705	0,0705
12	0,843	0,0702
12	0,841	0,0701
12	0,811	0,0676
14	0,981	0,0701
14	0,979	0,0699
14	0,967	0,0691
16	1,087	0,0679
16	1,079	0,0674
16	1,066	0,0666

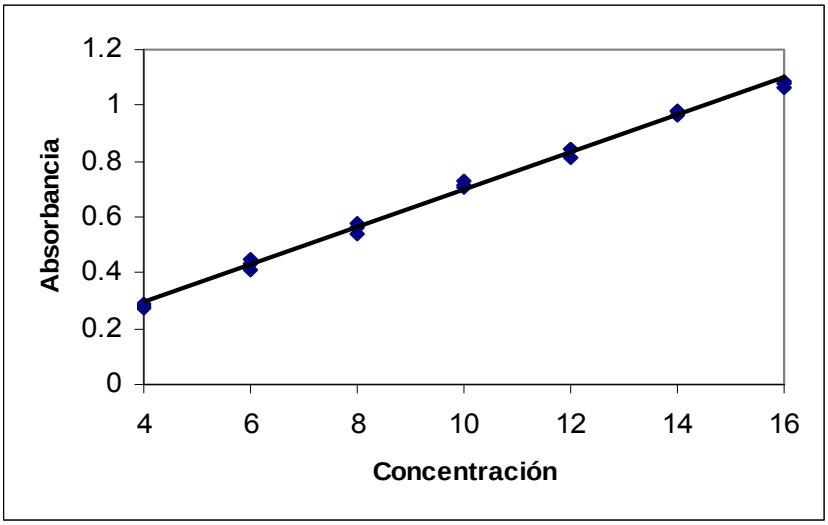


Figura 4 Linealidad Curva de calibración para el G-1 en alcohol por Espectrofotometría UV-VIS

Los parámetros evaluados para verificar la linealidad y proporcionalidad cumplen con los criterios de aceptación correspondientes, según se expone en la Tabla 8.

Tabla 8 Parámetros de la recta de regresión de G-1 en alcohol por Espectrofotometría UV-VIS

Parámetro	Valor experimental	Criterio de aceptación
Número de datos (*n*)	21	-
Intervalo de linealidad (μg/mL)	4 - 16	-
Coeficiente de correlación (*r*)	0,9977	$r \geq 0,99$
Coeficiente de determinación (r^2)	0,9954	$r^2 \geq 0,98$
Pendiente (*b*)	0,0671	-
Ordenada en el origen (*a*)	0,0244	Cercano a cero
Intervalo de confianza de *a*	- 0,00388 a 0,05268	que contenga al cero
Desviación estándar relativa de la pendiente de la línea de regresión ($Sb_{rel.}$)	1,83 %	$Sb_{rel} \leq 2$ %
Coeficiente de variación de los factores respuesta CV_f (%).	3,09 %	$CV_f \leq 5$ %
Test estadístico de *b* (t tab 19, p=0,05	53,466 ≥ 2,093	$t_{exp} \geq t_{tab}$ probabilidad de $b \neq 0$ es elevada, superior al 95 %.

El método cumple con todos los criterios evaluados, lo que indica que la técnica analítica es lineal en el intervalo de concentraciones estudiado, de 4 μg/mL – 16 μg/mL.

4.3.2 Precisión

4.3.2.1 Repetibilidad

Una vez realizadas las 6 réplicas del procedimiento, los valores experimentales obtenidos para la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural por espectrofotometría UV- VIS se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9 Valores experimentales de la repetibilidad

Réplicas	Cont. de G-1 (%)
1	29,43
2	29,87
3	29,62
4	29,27
5	30,13
6	29,59
Media (%)	29,65
S	0,2816
CV (%)	0,95

El coeficiente de variación obtenido de 1,42 % no excede al 3 % que es el valor aceptable para ensayos físico – químicos, por lo tanto el método resulta preciso en cuanto a la repetibilidad. [Regulación 41 del CECMED, 2007]

4.3.2.2 Precisión intermedia

Los valores experimentales, obtenidos del estudio de la precisión intermedia se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10 Valores experimentales de la precisión intermedia

Analista	Día 1 (%)	Día 2 (%)
Analista 1	29,54	29,57
Analista 2	29,55	29,53

Analista	Día 1 (%)	Día 2 (%)
Analista 3	29,56	29,58
Media	29,55	29,56
Desv. estándar	0,010	0,0265
CV “por día” (%)	0,03	0,09
CV “global”(%)	0,058	

Tanto los valores del coeficiente de variación para cada día como la cifra global, están dentro de los límites admisibles para métodos espectrofotométricos, donde el límite de aceptación del coeficiente de variación es: CV < 3 %.

Por otra parte, según los resultados del ensayo ANOVA que se muestran en el Anexo 4, el valor de probabilidad obtenido de 0,3385 es mayor que el fijado de 0,05, lo cual refleja que para un nivel de confianza de un 95 % no existen diferencias significativas entre los factores estudiados (día y analista), lo que confirma que la técnica analítica cumple con los criterios establecidos para la precisión intermedia.

En resumen, la técnica analítica es precisa en las condiciones estudiadas cumpliendo con todos los criterios evaluados para la repetibilidad y precisión intermedia.

4.3.3 Exactitud

Los resultados obtenidos de la evaluación de la exactitud por los diferentes métodos estudiados se muestran a continuación:

1. Determinación de la exactitud por el método de comparación de dos series:

Para realizar la determinación de la exactitud por el método de comparación de dos series se compararon las absorbancias obtenidas para una disolución patrón de G-1 y las obtenidas para una disolución de placebo, a la que se adiciona G-1 suficiente para alcanzar una concentración del 30%. En este caso se denomina placebo a la disolución preparada a base de las sustancias auxiliares utilizadas para formular el Vitrofural.

Los resultados de absorbancia obtenidos para ambas series se muestran en la Tabla 11 y Anexo 5.

Tabla 11. Exactitud por el método de comparación de dos series

Abs. Placebo +G-1	Abs. Disolución patrón de G-1
0,690	0,681
0,686	0,697
0,686	0,683
0,689	0,693
0,687	0,687
0,688	0,691

Al realizar el análisis de varianza se obtuvo una probabilidad de 0,7071, superior a la probabilidad fijada de 0,05, por lo tanto el método analítico estudiado es exacto, ya que no hay diferencias significativas entre el valor medio de absorbancia de la disolución patrón de G-1 y la media obtenida para de la disolución de placebo más G-1 al 30%.

2. Determinación de la exactitud por el porcentaje de recuperación:

La Tabla 12 contiene los resultados de la determinación de la exactitud en base al porcentaje de recuperación de G-1 en muestras de Vitrofural. La concentración teórica de G-1 en el formulado es 30 %, valor este que se usa como referencia para el cálculo del porcentaje de recuperación.

Tabla 12 Resultados del estudio de la exactitud por el porcentaje de recuperación

No. de réplica	Porcentaje de G-1	Recuperación (%)
1	29,43	98,10
2	29,871	99,57
3	29,616	98,72
4	30,21	100,70
5	30,132	100,44
6	29,589	98,63
	Recuperación media (%)	99,36
	CV (%)	1,059
	t exp.	1,480
	$t_{tabla(0,05;5)}$	2,571

La $t_{exp} < t_{tabla(0,05;5)}$, por lo tanto, el valor de recuperación media obtenido para la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural no difiere estadísticamente del valor de 100 % de recuperación, resultando el método analítico exacto.

3. Comparación con un método validado:

Se evaluó la exactitud del método comparando la determinación del contenido de G-1 por espectrofotometría UV- VIS con los valores obtenidos por el método validado de determinación del contenido de G-1 por Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (HPLC). Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 13 y Anexo 6

Tabla 13 Exactitud por comparación con HPLC

Réplicas	UV-VIS (% G-1)	HPLC (% G-1)
1	29,60	30,94
2	29,87	29,54
3	29,62	30,41
4	29,80	30,33
5	30,13	30,20
6	29,59	29,77
Media (%)	29,77	30,20
S	0,2118	0,4958

Al realizar el análisis estadístico de la exactitud por comparación con un método previamente validado se obtuvo, con la prueba Fisher que el valor de probabilidad calculado es de 0,2990, superior a 0,05, cumpliéndose la hipótesis nula que plantea la igualdad de las desviaciones típicas de las poblaciones. Además se realizó un *test t de student* de comparación de medias y el *test* de Mann-Whitney W para comparar las medianas de las dos series de valores, obteniéndose en todos los casos que el valor de probabilidad obtenido es mayor que 0,05, no existiendo diferencias significativas entre los resultados de ambos métodos, para un nivel de confianza del 95,0 %. En base a estos resultados podemos concluir que el método analítico es exacto.

4.3.4 Robustez

Para analizar la robustez del método se varió la calidad del alcohol utilizado en la técnica analítica. En el Anexo 7 se muestra un resumen del análisis estadístico realizado: puesto que el valor de probabilidad del *test* de Fisher es inferior a 0,05, lo que indica que hay diferencias significativas entre los valores medios del contenido de G-1 al variar la calidad del alcohol utilizado en las determinaciones, para un nivel de confianza del 95,0 %. Se puede concluir entonces que la técnica analítica no es robusta en cuanto a la calidad del alcohol utilizado, por lo tanto, no se puede sustituir el alcohol fino clase A por otro de inferior calidad.

4.4 Mejoramiento de la calidad de los resultados

4.4.1 Análisis del comportamiento del proceso y detección de desviaciones.

4.4.1.1 Histogramas de frecuencia

La Figura 5 muestra el histograma de frecuencias construido con los valores de absorbancia correspondientes a todas las disoluciones patrón de G-1 utilizadas para la determinación espectrofotométrica del contenido de G-1 en Vitrofural, durante el año 2006.

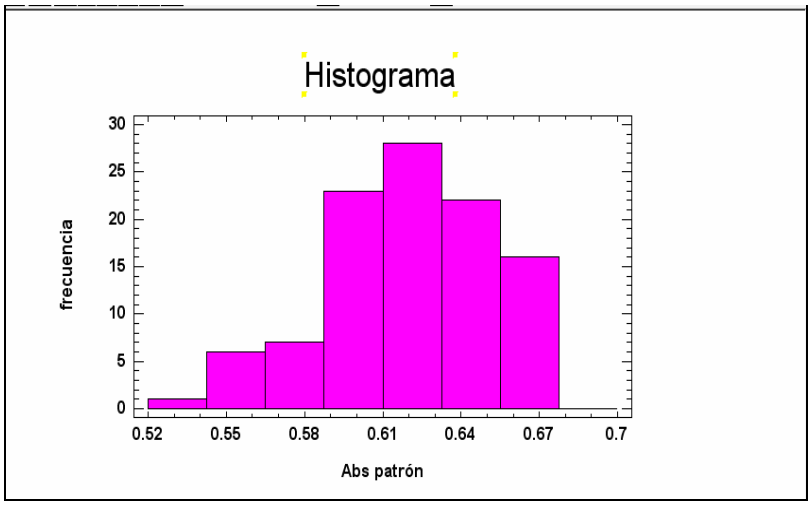


Figura 5 Histograma de frecuencia de las absorbancias del patrón de G-1

Para interpretar el histograma de frecuencias se respondieron las 8 preguntas formuladas en el punto 3.4.1.1 de la sección Materiales y Métodos. Las respuestas a dichas preguntas son:

1. Las absorbancias más comunes se encuentran en el intervalo de 0,61 a 0,64.
2. Se observó un histograma no simétrico con sesgo hacia la izquierda debido a la presencia de algún problema.
3. Variabilidad o dispersión de los resultados expresado en variaciones bruscas de la frecuencia.
4. El proceso no está centrado.
5. La construcción del histograma se realizó de forma correcta, hay un solo pico o agrupación de barras por lo que todos los analista han trabajado de la misma forma.
6. Acantilados,. lo que indica que puede existir algún problema con el equipo donde se realizó la medición
7. En el histograma hay un solo grupo de barras, no encontrándose datos aislados ni raros.
8. No es necesario estratificar, todos los técnicos trabajan de la misma forma.

4.4.1.2 Realización de los gráficos de control

Previo a la realización de los gráficos de control se comprobó (Figura 6) y (Anexo 8) que los datos se ajustan a una distribución normal, según la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

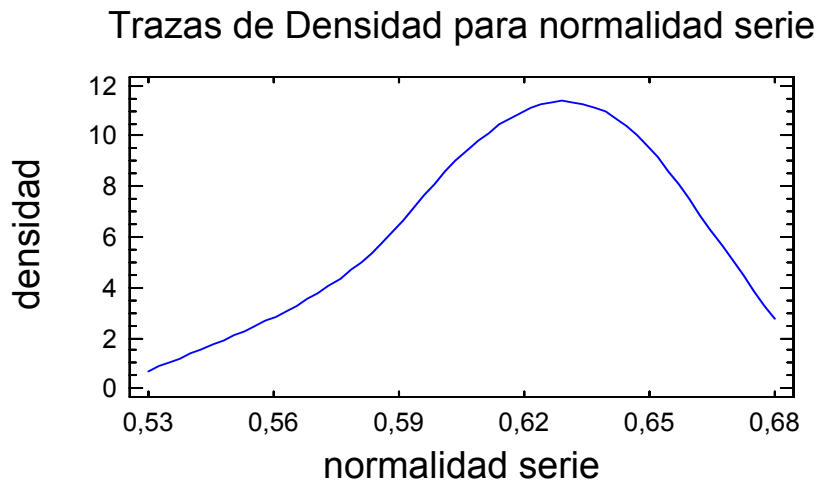


Figura 6 Prueba de normalidad de los datos

Se emplearon gráficos de control para observar la variabilidad y tendencia central de los resultados analíticos obtenidos en la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural. Esta es la herramienta más sencilla empleada dentro de un laboratorio de análisis para decidir si los resultados son lo suficientemente fiables, permitiendo, una vez obtenido un dato, detectar si este es anómalo o normal desde el punto de vista estadístico.

Para la construcción del gráfico de control de recorridos móviles y de valores individuales se empleó un tamaño de muestra igual a 103, correspondientes a las absorbancias del patrón de G-1 utilizado en la realización de la técnica analítica en el período de un año (2006). Los gráficos de control se muestran en la Figura 7y Figura 8.

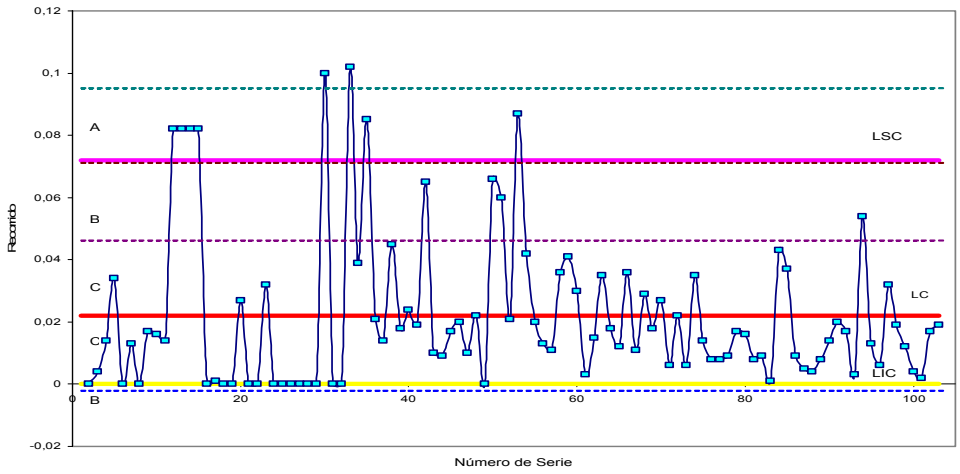


Figura 7 Gráfico de control de recorridos móviles inicial

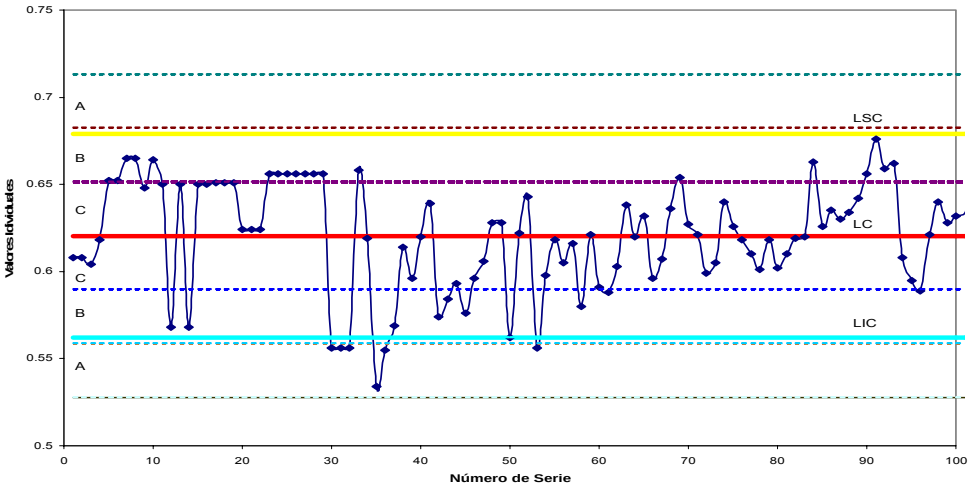


Figura 8 Gráfico control de valores individuales inicial

En ambos gráficos se observa que la zona A se encuentra por encima del Límite Superior de Control (LSC), lo cual indica una gran dispersión de los valores alrededor de la media. Como es conocido, el LSC debe ser aproximadamente 3 veces la desviación estándar y cada zona (A, B y C) tiene la amplitud de una desviación estándar.

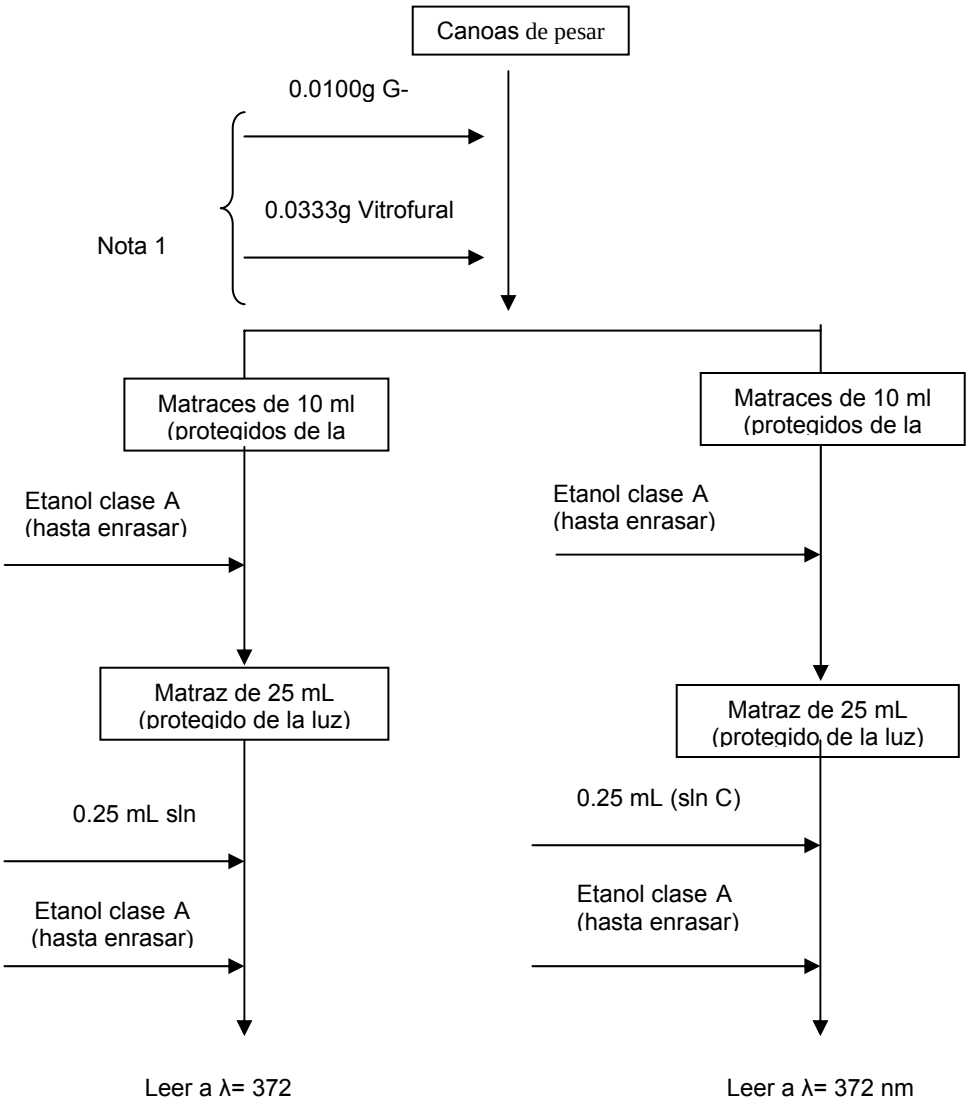
En el análisis del gráfico de recorridos móviles se apreció que los valores se encontraban fuera de control estadístico. Se observó la existencia de cambios y tendencias en el nivel del proceso, ya que se encontraron 8 puntos encima del LSC, 9 puntos consecutivos de un lado de la línea central y 4 puntos consecutivos en la zona A. Igualmente, en el gráfico de valores individuales se observó que los valores se encontraban fuera de control estadístico, corroborándose la existencia de un cambio en el nivel del proceso, ya que se encontraron 6 puntos fuera del Límite Inferior de Control (LIC), 3 puntos consecutivos en la zona A, 7 puntos consecutivos en la zona B y más de 8 puntos consecutivos de un solo lado de la Línea Central (LC).

Basándose en estos resultados, se corroboró la existencia de un problema de dispersión en los resultados analíticos de la técnica, no debido al azar, ni al método analítico en cuestión, ya que esta técnica fue validada previamente. La identificación de las causas de esta dispersión será objeto de análisis en los siguientes apartados.

4.4.2 Identificación de las causas que afectan la calidad de los resultados de la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural.

4.4.2.1 Diagrama de flujo

En el diagrama de flujo, Figura 9, se describieron todos los pasos a seguir en la realización de la técnica, por lo que su utilización en la búsqueda de las posibles causas que afectaban la calidad de los resultados analíticos es de suma importancia para lograr una mejor comunicación en las discusiones y análisis.



Nota 1: Pesar separadamente y con exactitud

Figura 9 Diagrama de flujo para la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural

4.4.2.2 Aplicación de la técnica 6.3.5 y diagrama de afinidad

Los planteamientos resultantes de la aplicación de la técnica 6.3.5 se agruparon en el diagrama de afinidad, tomando en consideración la similitud entre las ideas aportadas, creando grupos de familias de los factores expresados por los expertos del laboratorio de control de calidad y el interés por destacar algunos de los aspectos más significativos que habían ocurrido en la realización de esta técnica, los cuales afectaban la calidad de los resultados analíticos. En total fueron formuladas 26 ideas que finalmente se agruparon de la forma siguiente:

1. Experiencia del analista. (2)
   - No imparcialidad del analista al mostrar los resultados.
   - Posesión de costumbres de trabajo no adecuadas
2. Entrenamiento del analista en la técnica en cuestión (2)
   - Poco adiestramiento del analista en la técnica en cuestión.
   - Cálculos mal realizados.
3. Atención que brinda el analista durante la realización de la técnica. (5)
   - Errores del analista al desarrollar la técnica como, por ejemplo, la no protección del producto de la luz
   - Imprecisión en el momento de la pesada.
   - Imprecisión en los enraces.
   - Disposición anímica inadecuada del analista.
   - Interferencias ocurridas por el trabajo simultáneo de otros analistas.
4. Calibración y limpieza de la balanza analítica. (4)
   - No encender la balanza al menos una hora antes de su utilización.
   - No calibrar la balanza adecuadamente antes de su utilización.
   - No limpiar la balanza antes de su utilización.
   - La ocurrencia de derrames de productos en el momento de la pesada.
5. Calibración del espectrofotómetro. (4)
   - No contar con un estabilizador de voltaje para evitar las variaciones de corriente que afectan el funcionamiento del equipo.
   - No mantener el equipo correctamente calibrado.
   - No cumplir con el programa de verificación del equipo.

- Trabajar con el equipo con desperfectos técnicos

6. Adecuada limpieza y utilización de las cubetas. (5)

- Utilizar cubetas sucias.
- Trabajar con las mismas cubetas, al unísono, en diferentes técnicas con muestras diferentes.
- No endulzar correctamente las cubetas antes de proceder a la lectura.
- Utilizar cubetas de diferente material para la misma lectura.
- Trabajar con burbujas de aire en las cubetas.

7. Calidad de los Reactivos (1)

- Utilizar alcohol no certificado, sin comprobar su calidad.

En este punto se expresó esta única idea pero fue expresada por la totalidad de los participantes.

8. Verificación y limpieza de la cristalería (3)

- Utilizar cristalería mal fregada, sucia, o no correctamente secada.
- No poseer suficiente cristalería, ni los utensilios y aditamentos adecuados en el laboratorio.
- Trabajar con la cristalería de medición, pipetas y volumétricos, no correctamente verificados.

Los dos aspectos en relación con los cuales los participantes de la técnica 6.3.5 expresaron el mayor número de ideas fueron:

- Atención del analista durante la realización de la técnica.
- Adecuada limpieza y utilización de las cubetas.

Esto muestra el interés del grupo participante por resaltar la significación que se concede a la influencia de los aspectos subjetivos, en el momento de la realización de cualquier técnica analítica y la importancia de la limpieza y cuidado de todos los utensilios empleados, sobre todo las cubetas, teniendo en cuenta su importancia en la exactitud de las técnicas espectrofotométricas.

4.4.2.3 Procedimiento para tomar decisiones en el trabajo con expertos y elaboración de la matriz de rango

El número de expertos a consultar se calculó según la formula descrita en Materiales y Métodos, apartado 3.4.2.4. El número resultante de expertos a opinar acerca de los factores que influyen en la calidad de los resultados de la determinación de G-1 en el Vitrofural es nueve.

A los expertos seleccionados y que cumplían los requisitos expuestos en el mismo punto de Materiales y Métodos, se les informó en forma breve en qué consistía la investigación y se les dio a conocer la importancia de su participación así como los argumentos que originaron su selección.

Se le entregó la encuesta (Tabla 4) y se fijó un tiempo mínimo de 72 horas para entregar la respuesta. Las opiniones expresadas fueron ponderadas mediante la elaboración de la matriz de rango y el cálculo del coeficiente de concordancia de Kendall.

En Tabla 14 se muestra la matriz donde se expresa la relación de los factores que fueron sometidas a la consideración de los expertos y la puntuación otorgada por cada uno.

Tabla 14 Matriz de rango

Factores	E_1	E_2	E_3	E_4	E_5	E_6	E_7	E_8	E_9	Σa_{iij}	D	D^2
1	6	8	10	10	3	8	5	7	8	65	24,5	600,25
2	8	9	10	10	9	8	5	9	10	78	37,5	1406,25
3	10	10	10	10	8	10	6	9	8	81	40,5	1640,25
4	10	10	10	10	9	10	7	10	9	85	44,5	1980,25
5	10	10	10	10	10	10	7	10	10	87	46,5	2162,25
6	8	10	10	10	10	10	5	9	8	80	39,5	1560,25
7	8	9	10	10	9	10	7	8	10	81	40,5	1640,25
8	8	10	10	10	9	10	6	10	9	82	41,5	1722,25
∑												**12712**

E_1 – E_9: Expertos consultados

F_1 – F_8: Factores que influyen en la calidad del resultado de la determinación del contenido de G-1 por espectrofotometría UV- VIS en el Vitrofural

Factores: $F_1 – F_8$

1. Experiencia del analista.
2. Entrenamiento del analista en la técnica en cuestión.
3. Atención que brinda el analista durante la realización de la técnica.
4. Calibración y limpieza de la balanza analítica.
5. Calibración del espectrofotómetro.
6. Adecuada limpieza y utilización de las cubetas.
7. Calidad de los reactivos.
8. Verificación y limpieza de la cristalería.

Con el resultado de la evaluación de los expertos, se determinó si fue o no confiable el juicio de los mismos, utilizándose para ello el coeficiente de concordancia de Kendall.

$$W = \frac{12(\sum_{i=1}^{n} D^2)}{M^2(K^3 - K)}$$

donde:

W : coeficiente de concordancia de Kendall

D : desviación respecto a T

M : cantidad de expertos

K : cantidad total de factores

W= 12 (12712) / 9^2 (8^3 - 8) = 152544 / 40824 = 3,74

Evaluando para muestras grandes ya que K = 8

$X^2_{cal} = N(K – 1) W$

donde:

N: cantidad de expertos

K: número de factores

W: coeficiente de concordancia de *Kendall*

X^2_{cal} = 9 (8-1) 3,74 = 209,44

$\chi^2_{cal} > X^2_{tab}$ para α =0,05 y k-1 grados de libertad

X^2_{cal} = 209,44 y X^2_{tab} = 14,067

209,44 > 14,067

Con el valor del coeficiente de concordancia de *Kendall* calculado y considerando que 8 eran los factores que afectaban la calidad de los resultados, se realizó la determinación

de χ^2 calculado, y como este valor es mayor que χ^2 tabulado, para una probabilidad de 0,05 y n-1 grados de libertad, podemos aceptar como válido el criterio de los expertos.

Por otra parte, el cálculo de la desviación del valor medio (D) incluido en la matriz de rango (Tabla 14), permite confeccionar el gráfico de causas ponderadas (Figura 9), donde se observa con mayor claridad la significación de los factores influyentes en el proceso estudiado.

.

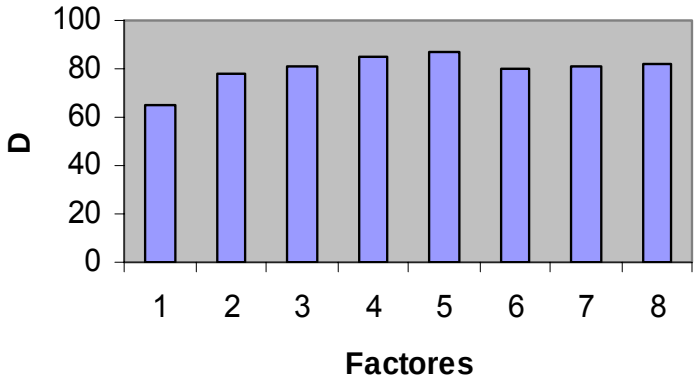


Figura 10 Causas ponderadas como resultado del trabajo con expertos

Como se aprecia en el gráfico, todos los resultados son fundamentales, reflejándose con la mayor importancia los factores 3, 4, 5, 7 y 8. Esto no implica que se deba trabajar sobre todos los aspectos a la vez, sino que se puede comenzar por aquellos que han sido más destacados por los expertos, o sea, que es necesario trazar una prioridad de trabajo fundamentada y no arbitraria.

Se aprecia también que el análisis de los expertos participantes en la técnica 6.3.5 no se corresponde con el efectuado por los expertos participantes en la encuesta. Esto puede deberse a que los participantes en la técnica 6.3.5 expresaron los factores que mayormente afectaban la calidad de la realización de la técnica analítica, en la práctica habitual del laboratorio de control de la calidad del CBQ, minimizando los aspectos en los cuales no existen problemas reales en dicho laboratorio. No obstante, ambos grupos coinciden en la importancia de la atención que debe brindar el analista durante la

realización de la técnica, lo cual lo convierte en un aspecto de gran relevancia para el control de la calidad de los resultados analíticos de esta técnica.

4.4.2.4 Medidas para eliminar los problemas detectados

Sobre la base de los resultados obtenidos con las herramientas de mejora de la calidad, se procedió a la toma de medidas, para el mejoramiento de la calidad de los resultados analíticos de la determinación del contenido de G-1 por espectrofotometría UV- VIS en el Vitrofural. Estas medidas fueron:

1. Incluir en el PNO “Funcionamiento y cuidado del espectrofotómetro UV- VIS” nuevos acápites sobre la limpieza de las cubetas y el calibrado del equipo:

- Acápite 8.4 que trata sobre la realización de la limpieza del espectrofotómetro.
- Acápite 8.6 para la verificación o calibración que se realizará de acuerdo a un plan de verificación y que está contratada con la OTN.
- Acápite 8.8 que incluye todos los pasos a realizar para la limpieza de las cubetas y las pruebas para eliminar los errores producidos por falta de limpieza, o por diferencias en el espesor de las paredes o alteraciones en las propiedades ópticas de las mismas antes de su utilización.
- El 8.8.1 sobre las pruebas de absorbancia con referencia al aire.
- El 8.8.2 que se refiere a la aptitud para el uso analítico y que consiste en realizar la corrección de la cubeta para la disolución de ensayo y la que contendrá la disolución de ensayo en blanco, llenas ambas con el disolvente que se esté utilizando a la longitud de onda de trabajo. Se considera que las cubetas coinciden si la diferencia en absorbancia entre las mismas es menor que 0,01 unidades. El valor de la absorbancia encontrada en la cubeta para la disolución de ensayo será la corrección para dicha cubeta y se sustraerá del valor de las lecturas de absorbancia para disoluciones de ensayo con el mismo disolvente, siempre que se use la misma cubeta para la disolución de ensayo y la misma para la disolución de ensayo en blanco. [Control de la Calidad CBQ UCLV, 2006]

2. No trabajar con pipetas y volumétricos no verificados por la OTN.
3. Verificar que se utiliza en el análisis un alcohol liberado de clase A.

4. Los técnicos que ejecuten la técnica tienen que estar correctamente adiestrados en la misma quedando constancia de ello en su plan de capacitación.

5.

Realizar los cálculos uniformemente por todo el personal técnico que realice los análisis.

6. Confección de un PNO de "Control Interno de los Resultados".

Se confeccionó un PNO de "Control Interno de los Resultados" que consta de 8 epígrafes y 4 anexos. Los primeros cuatro epígrafes le corresponden a los objetivos, alcance, responsabilidades y locales, respectivamente, el epígrafe 5 describe el procedimiento a seguir, el epígrafe 6 explica cómo se realizarán los controles, en el 7 se contemplan los requisitos de la documentación y en el epígrafe 8 se encuentran las referencias y documentos aplicables. [Control de la Calidad CBQ UCLV, 2006]

A continuación se describe un resumen del contenido de este procedimiento:

- Para realizar el control sistemático se compara el recorrido de los resultados obtenidos con la repetibilidad del método (r) y se procede de la siguiente forma:

Comparación del recorrido con la repetibilidad de la técnica analítica:

$|R| < r \Rightarrow$ Sí $\Rightarrow$ se determina $\bar{X}$

$|R| < r \Rightarrow$ No $\Rightarrow$ se obtienen dos resultados más.

$|R| < 3r \Rightarrow$ Sí $\Rightarrow$ se determina $\overline{X}$ con todos los valores.

$|R| < 3r \Rightarrow$ No $\Rightarrow$ se calcula la mediana (X_1, X_2, X_3, X_4) Ejemplo ($X_2 + X_3$) / 2, donde: X_2 y X_3 son los valores intermedios una vez ordenados de mayor a menor o de menor a mayor.

$|R|$: recorrido

r: repetiblidad de la técnica analítica

$\bar{X}$: media

X_1, X_2, X_3: número de réplicas del análisis.

Si en el PNO de la técnica analítica no está reportado el valor de r, éste debe ser determinado como se describe a continuación:

En condiciones de repetibilidad se realizan 10 determinaciones según el PNO de la técnica analítica. Se calcula la desviación estándar y r, según la siguiente ecuación:

$$r = \sqrt{2}\ S$$

r = repetibilidad del método

S = desviación estándar de las determinaciones en condiciones de repetibilidad.

- Ejecución del programa de control interno.

El Jefe del laboratorio de control de la calidad confecciona el programa de control interno (Tabla 15), el cual puede realizarse para los siguientes tipos de pruebas:

- Duplicados aleatorios: El jefe de área, cuando el técnico está realizando la determinación, le cambia las muestras, para lo cual utiliza una clave.
- Ensayo de muestras ciegas. Asignar a las muestras claves no conocidas por el técnico.

Tabla 15 Formato del programa de control interno

Nombre del producto	Tipo de prueba	Método de ensayo	Fecha de análisis	Analista	Observaciones
Supervisado por:		Fecha:		Firma:	

- Para realizar el control sistemático, duplicados aleatorios, y muestras ciegas se emplean las muestras de retención, de ensayo y muestras de referencias.
- Todas las anotaciones de los ensayos se realizan en el registro de control interno (Tabla 16).

Tabla 16 Registro de control interno

Nombre del producto: _____ Ensayo: _____		Tipo de prueba:_____ Referencia al método:_____
Clave	Resultado	Firma del analista
Evaluación: _____		
Confeccionado por: _____		Fecha:_____ Firma: _____

Supervisado por: _____	Fecha: _____ Firma: _____

- Análisis estadístico.

Para probar que la media de las determinaciones no difiere significativamente del valor verdadero, para un nivel de confianza de 95 % y n-1 grados de libertad se efectúa una t de *student.*

$$\text{texp} = \frac{/ m - x / \sqrt{n}}{s}$$

donde:

m = valor verdadero

x = media

n = número de determinaciones

s = desviación estándar de la media

Si texp < t tab para el riesgo escogido (generalmente p=0,05 y n-1 grados de libertad), los valores no son estadísticamente diferentes.

- Gráficos de control de *Shewhart*:: Los gráficos de control se realizarán teniendo en cuenta el recorrido de las determinaciones. Los datos se obtienen por muestreo del proceso a intervalos aproximadamente regulares y se registran en la Tabla de control de los resultados (Tabla 17).

Tabla 17 Tabla de control de los resultados

Nombre del producto: _____				Método de control: _____		
Especificaciones de calidad: _____					r: _____	
Lote	Analista	Fecha de análisis	Valor 1	Valor 2	Valor 3	Recorrido

Supervisado por:_____			Fecha: _____		Firma: _____	

7. Confección de un PNO de “Resultados fuera de especificaciones”

Se confeccionó un PNO de “Resultados fuera de especificaciones” que consta con 12 epígrafes (Anexo 9). Los primeros cinco epígrafes corresponden a los objetivos, alcance, responsabilidades, términos y definiciones y locales, respectivamente. En el epígrafe 6 se describen las operaciones preliminares que se deben realizar para evitar un resultado fuera de especificaciones, producto de un error técnico. El epígrafe 7 detalla el procedimiento a seguir para investigar un resultado fuera de especificaciones, en el 8 se explica cómo realizar la interpretación de los resultados, en el 9 cómo se realizarán los controles, en el 10 se incluyen varias observaciones, el 11 se refiere a los requisitos de la documentación y finalmente en el 12 se muestra la bibliografía. [Laboratorio de Control de la Calidad CBQ UCLV, 2006].

4.4.2.5 Resultados obtenidos después de aplicar las medidas de mejora

Después de implantarse las medidas de mejora en el laboratorio de control de la calidad del CBQ, se realizaron nuevamente los gráficos de control, tanto de recorridos móviles como de valores individuales con 29 valores de absorbancia de la muestra de referencia de G-1.

Al interpretar estos gráficos se confirmó que el proceso estaba bajo control estadístico pues no se observa ninguna de las 8 anomalías que pueden aparecer en este tipo de gráfico. Ver Figuras 10 y 11.

Con la información resultante del análisis de los gráficos de control se comprobó que para obtener resultados confiables en el laboratorio, es necesario controlar todos los parámetros que puedan influir en el buen funcionamiento de la técnica analítica y cumplir estrictamente con los requisitos establecidos en la NC ISO/IEC 17025:2000 y la Regulación 37-2004 del CECMED.

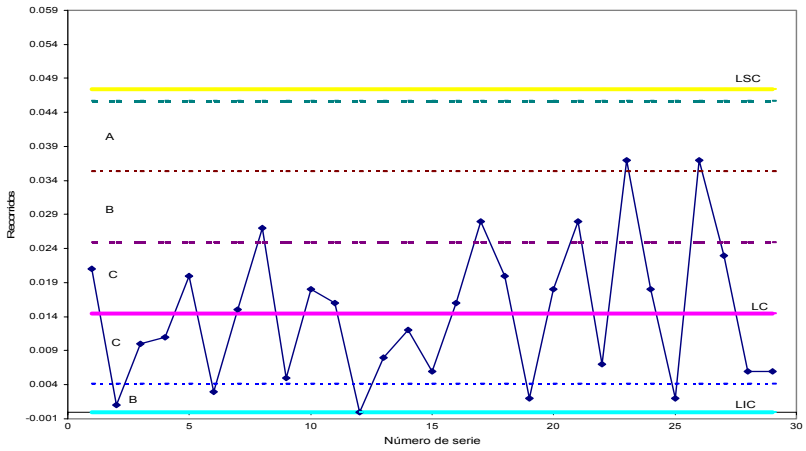


Figura 11 Gráfico de control de recorridos móviles después del proceso de mejoramiento

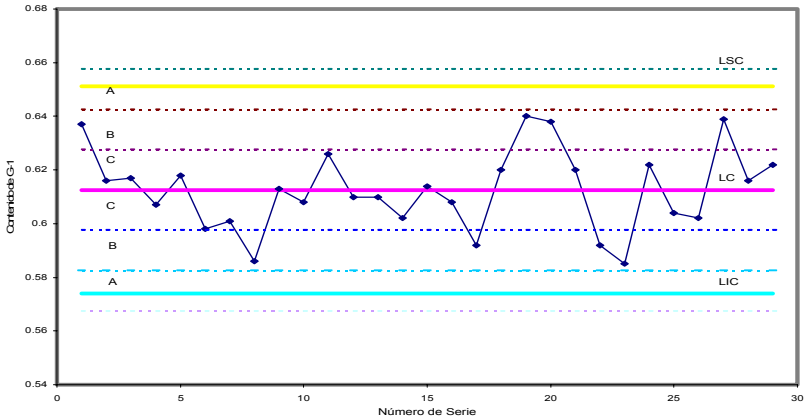


Figura 12 Gráfico de control de valores individuales después del proceso de mejoramiento

5. CONCLUSIONES

1. La técnica analítica para la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural resultó ser precisa, exacta y lineal en el intervalo de concentraciones evaluado.
2. La técnica analítica no resultó ser robusta en cuanto a la calidad del alcohol. Debe ser empleado Alcohol Fino clase A
3. La aplicación de herramientas de calidad permitió identificar las causas de las desviaciones del proceso que afectan la calidad de los resultados analíticos.
4. Se confeccionó el PNO de “Control Interno de los Resultados” y el de “Resultados fuera de especificaciones” para el mejoramiento de la calidad de los resultados analíticos en la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural por espectrofotometría UV- VIS.

6. RECOMENDACIONES

1. Sugerir que los resultados de este trabajo se apliquen en el laboratorio de control de la calidad del CBQ.
2. Dar continuidad a los estudios iniciados en este trabajo, con el cálculo de incertidumbre de la técnica analítica para la determinación del contenido de G-1 en el Vitrofural.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Alonso, H. (2006). Sistema de Validación para el proceso de Fabricación del Ingrediente Farmacéutico Activo G-1. Tesis de Maestría. Departamento de Ingeniería Industrial. Universidad Central de Las Villas.

2. Blondeau, J.M., González, O. & Medina, R. (1997). In vitro evaluation of G-1: A novel antimicrobial compound. Technical Report. Saskatoon. Department of Clinical Microbiology, St. Paul's Hospital.

3. Bristish Pharmacopeia (2004). 4ta edición. London: The Stationery Office.

4. Calpena, A. C. (1990). Validación de los métodos analíticos. Barcelona: Universidad de Barcelona.

5. Castro, C. M; Gastón, F. S.; Pujol, F. M.; Sans Roca, J. M. & Vicente Pla, L. (1989). Validación de métodos analíticos. Monografía A.E.F.I.

6. Cela, R., Lorenzo, R. & Casais, M. (2002). Técnicas de Separación en Química Analítica., España. Síntesis Santiago de Compostela.

7. Chase, B. R; Aquilano, J. N. & Jacobs R. F. (2001). Operations Management for Competitive Advantage. Boston: McGraw- Hill.

8. Costa, L. Implementación de un Sistema de Calidad en los laboratorios de control del CIGB. [on line] Disponible URL: [consultado 8 de noviembre de 2007] http://www.uh.cu/infogral/areasuh/vri/archivos/Calidad/talleracreditlab/CIGB.

9. Desarrollo y aplicación de herramientas de Gestión para la elaboración del Plan de Calidad de los Laboratorios de Ensayos Físicos y del Plan General de Calidad de Tenaris Siderca. [on line] en URL: http://biblioteca.iapg.org.ar/iapg/Archivos Adjuntos/Congreso de Calidad/099.pdf [consultado 18 de octubre 2007].

10. Eurachem. (1998). The fitness for purpose of analytical methods. First Englisch Edition.

11. Fernández, S. A. (1996). Ciclo de conferencias sobre validación de métodos analíticos. La Habana: Editorial Pueblo y Educación.

12. Food and Drug Administration. (2001). Guidance for industry. Bioanalytical Method Validation.

13. González, L. (2002). Influencia de factores degradativos en la estabilidad de la Dispersión Sólida de G-1 30 % / PEG 6000. Métodos de Control y Especificaciones de

Calidad. Tesis de Maestría. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana.

14. González, O., Ramírez, T., Silveira, E. A., Herrada, N. & Machado, R. (1993) I. Estandarización de la técnica para la evaluación "in vitro" de la actividad antifúngica del producto G-1 frente a los hongos dermatofitos. En: Queratofural®, ungüento de uso oftálmico veterinario. Registro Nacional de Medicamentos de Uso Veterinario. N^{o} 211. Ministerio de la Agricultura, La Habana, Cuba. Renovación 2001.
15. González, O., Ramírez, T., Silveira, E.A., Medina, R., Delgado, M.S., Castañedo, N.R. & Col. (1993) II. Mínima Concentración Inhibitoria del G-1 frente a bacterias y levaduras del género Candida. En: Queratofural®, ungüento de uso oftálmico veterinario. Registro Nacional de Medicamentos de Uso Veterinario. N^{o} 211. Ministerio de la Agricultura, La Habana, Cuba. Renovación 2001.
16. González, O., Silveira, E. A., Reyes, T., Hidalgo, P. y Chirino-Trejo, J. (1993) IV. Actividad antifúngica *in vitro* del 2-bromo-5-(2-bromo-2-nitrovinil)-furano frente a bacterias enteropatógenas. En: Queratofural®, ungüento de uso oftálmico veterinario. Registro Nacional de Medicamentos de Uso Veterinario. N^{o} 211. Ministerio de la Agricultura, La Habana, Cuba. Renovación 2001.
17. González, O., Silveira, E., Castañedo, N., Magariño, O. y Gómez, R. (1993) III. Actividad antimicrobiana del 2-bromo-5-(2-bromo-2-nitrovinil)-furano. En: Queratofural®, ungüento de uso oftálmico veterinario. Registro Nacional de Medicamentos de Uso Veterinario. N^{o} 211. Ministerio de la Agricultura, La Habana, Cuba. Renovación 2001.
18. Gutiérrez, H. (1996). Calidad Total y Productividad. México: McGraw- Hill.
19. Hernández, R. (2007). Estrategia de marketing del producto Vitrofural para penetrar el mercado latinoamericano. CBQ. UCLV.
20. Histogramas. [on line] Disponible en URL: http://www.fundibeq.org/metodologias/herramientas/histograma.pdf. [consultado 7de noviembre de 2007].
21. Harmonised Tripartite Guideline (ICH). (2005). International conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. Validation of analytical procedures: Text and Methodology.
22. Ishikawa, K. (1988) ¿ Que es el control total de la calidad ?. La Modalidad Japonesa. La Habana: Editorial Revolucionaria.

23. Jiménez, E.; Bravo. L.; Morales, S. (1993) I. Validación de la técnica de determinación por cromatografía líquida de alta eficacia del contenido de 2-bromo-5-(2-nitrovinil)-furano. Método de control En: Dermofural®, ungüento de uso tópico. Registro de Medicamentos de Uso Humano. No M-07-020-D01. CECMED. Ministerio de Salud Pública, La Habana, Cuba, 2007.
24. Jorge, E; Jimenez, I; Calvo, A & col. (1993). 2-bromo-5-(2-bromo -2-nitrovinil)-furano. Materia prima. Metodos de Control. En: Queratofural , unguento de uso oftalmico veterinario.Registro Nacional de Medicamentos de Uso Veterinario. No 211. Ministerio de la Agricultura, La Habana, Cuba. Renovación 2001.
25. Juran, M. J. & Godfrey B. A. (2001). Manual de Calidad. Madrid. Mc Graw Hill. 5ta edición.
26. Laboratorio de Control de la Calidad CBQ UCLV (2006). PNO: 02.2.407 Procedimiento Normalizado de Operación Dispersión Sólida de G-1. Determinación de la pureza por Espectrofotometría Ultravioleta – Visible.
27. Laboratorio de Control de la Calidad CBQ UCLV (2005). PNO: 02.2.407-1. Procedimiento Normalizado de Operación. Dispersión Sólida de G-1. Determinación de la pureza por Cromatografía de gases.
28. Laboratorio de Control de la Calidad CBQ UCLV (2006). PNO: 02.G.010. Procedimiento Normalizado de Operación. Control interno de los resultados.
29. Laboratorio de Control de la Calidad CBQ UCLV (2006). PNO: 02.G.015. Procedimiento Normalizado de Operación. Resultado fuera de especificaciones.
30. Laboratorio de Control de la Calidad CBQ UCLV (2006). PNO: FCE.02.00 Procedimiento Normalizado de Operación. Funcionamiento y Cuidado del Espectrofotómetro Ultravioleta Visible.
31. Laboratorio de Control de la Calidad CBQ UCLV. (2006). PNO: 02.4.402. Procedimiento Normalizado de Operación. Dispersión Sólida. Determinación de la pureza por HPLC.
32. Laboratorio de Salud Pública de la Secretaría de Salud de Bogotá. (2002). Estandarización de metodologías analíticas en el laboratorio de salud publica. [on line]. Disponible en URL: http://www.saludcapital.gov.co/secsalud/navleft/investigaciones/articulos/resumen13.doc [consultado 18 de octubre 2007].

33. Morales, L. (2003). Evaluación y planeación del estudio de estabilidad de estante del Vitrofural y el 2 – bromo – 5 – (2- bromo -2 – nitrovinil)- furano. Trabajo de Diploma. Departamento de Química – Farmacia. UCLV.
34. NC-ISO 9001 : 2000. Sistemas de Gestión de la Calidad. Requisitos. Ciudad de la Habana.
35. NC-CS-368 : 2004. Guía para la Validación de Métodos de Ensayos Químicos para Alimentos. Ciudad de la Habana.
36. NC-ISO 7870 : 2000. Gráficos de Control. Ciudad de la Habana.
37. NC-ISO 8258 : 2002. Gráficos de Control de Shewhart. Ciudad de la Habana.
38. NC-ISO/IEC 17025 : 2006. Requisitos Generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. Ciudad de la Habana.
39. NC-ISO-8586-2 : 2005. Análisis sensorial. Guía general para la selección, entendimiento de los jueces. Expertos. Ciudad de la Habana.
40. NC-ISO-9000 : 2005. Sistemas de Gestión de la Calidad. Fundamentos y Vocabulario.
41. Osorio, O., y Col. Histogramas. [on line] DisponibleURL: http://www.unalmed.edu.co/~erodrigu/cc/histogramas1.htm. [consultado 7de noviembre de 2007].
42. Pérez, M. (2000). Desarrollo y validación de técnicas analíticas para la cuantificación de G-1 en el Vitrofural. Trabajo de Diploma. Departamento de Química – Farmacia. UCLV.
43. Pons, R. (1996). Gestión para la Calidad Total. Monografía. Universidad Nacional de Ingeniería. Managua.
44. Productos Farmacéuticos. Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos. Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.01.35: 06 [on line] Disponible en URL: http://www.reglatec.go.cr/descargas/ RTCA_11_01_35_06_Validación_Métodos_Analiticos.pdf. [consultado 18 de octubre 2007].
45. Regulación No. 37-2004. Buenas Prácticas de Laboratorio para el Control de Medicamentos. CECMED.
46. Regulación No. 16-2006. Directrices sobre Buenas Prácticas de Fabricación de Productos Farmacéuticos. CECMED

47. Regulación No. 41-2007. Validación de Métodos Analíticos. CECMED.
48. Render, B. & Heizer, J. (1996). Principios de administración de operaciones. México: Prentice-Hall HISPANOAMERICA.
49. Rodríguez, L. (2003). Estrategia para el desarrollo del sistema de calidad del Laboratorio de Medio Ambiente. Trabajo de Diploma. Facultad de Química – Farmacia. UCLV.
50. Romero, C. (1996). Análisis de las decisiones multicriterio. Madrid: Editora Isdefe
51. Rubinson, K.A. & Rubinson, J.F. (2001). Análisis Instrumental: Madrid: Pearson Educación.
52. Skoog, D.A. & West, D.M. (1989) Análisis Instrumental. Madrid: Mc Graw Hill. 4ta edición.
53. United State Pharmacopoeia Convention (USP 27), 2004. Validation of compendial methods. 27 ed. Rockville: Mack Printing.
54. Vitrofural®. Registro Central de Plaguicidas. N^{o} de permiso 013/99, Tomo 3, Folio 249. Ministerio de la Agricultura, La Habana, Cuba. 1999.