

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

“Validación del Método Analítico para la Cuantificación de Sodio y Potasio en Sales de Rehidratación Oral por Fotometría de Llama en el Laboratorio de Producción de Medicamentos LAPROMED”

Informe de Tesis

Presentado por:

Guicela Yesenia Godínez Fuentes

Para optar al título de

Química Farmacéutica

Guatemala, noviembre de 2009

INDICE

<u>CONTENIDO</u>	<u>PAGINA</u>
1. Resumen	3 – 4
2. Introducción	5 - 6
3. Antecedentes	7 - 8
4. Justificación	9
5. Objetivos	10
6. Hipótesis	11
7. Materiales y métodos.....	12 - 23
8. Resultados	24 - 46
9. Discusión de resultados	47 - 54
10. Conclusiones	55
11. Recomendaciones	56
12. Referencias	57 – 60
13. Anexos	61 - 75

1. RESUMEN

Debido a que las normas ISO 17025 exigen la validación de los procesos de control de calidad de las formulaciones farmacéuticas, LAPROMED ha iniciado el proceso de acreditación de la metodología de cuantificación de sodio y potasio por fotometría de llama en sales de rehidratación oral, para lo cual se realizó el procedimiento de validación, tomando en cuenta aspectos determinantes para respaldar esta metodología, siendo estos los siguientes:

- a. *Especificidad*: para evaluar éste aspecto se preparó una solución sin cloruro de sodio, cloruro de potasio y sin citrato de sodio, con el objetivo de evaluar lo específico del método, haciendo una serie de mediciones en el fotómetro de llama tanto en el filtro de sodio como en potasio, dando como resultado que este método es específico para la cuantificación de sodio y potasio, ya que los resultados dieron 0 en cada uno de los filtros, del fotómetro de llama
- b. *Linealidad*: en este caso se seleccionó 5 estándares que estuvieran alrededor del valor ideal que es 100, a cada uno se le realizaron 5 lecturas, para luego obtener que la ecuación de la recta para sodio es de $y=0.82x+16.10$, con $R^2 = 0.992$, en potasio la ecuación de la recta es de $y= -0.836x+3.303$ y $R^2 = 0.994$, y para ambos casos un valor $p \leq 0.0005$ concluyendo en base a los resultados que el método es lineal.
- c. *Exactitud*: de los estándares usados en la linealidad para cada uno se obtuvo el % de recuperación, luego se realizó la prueba de t de student con el objetivo de evaluar $H_a=100$ y $H_o \neq 100$. Dando resultados en el porcentaje de recuperación dentro de los rango de 98%-101% por lo que se encuentran

dentro de los límites de sodio como de potasio, para la t de student los valores obtenidos de cada estándar en sodio y en potasio fueron menores a los establecidos en tablas como límite superior, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta que H_a es igual a 100.

d. *Precisión*: para este aspecto se evaluaron tres parámetros

- ❖ Repetibilidad: al estándar del 100% se le realizó una serie de 10 lecturas tanto en sodio como en potasio, y se obtuvo luego la desviación estándar y el coeficiente de variación, siendo estos menor al 2% por lo que se demostró así la Repetibilidad del método.
- ❖ Reproducibilidad: se formulo el modelo 3x3x2, donde se varió tres estándares, tres analistas y dos balanzas, y se le realizó un análisis de varianza que dio como resultado que no existe variabilidad al modificar estos factores, lo cual dio a conocer que el método es reproducible.
- ❖ Perfil de precisión: con los valores de la linealidad se calculó el coeficiente de variación, el cual fue menor al 2 % que en este caso es el límite lo cual permitió afirmar que el perfil de precisión del método es el adecuado para asegurar que es confiable.

Con los resultados mencionados con anterioridad se puede decir que el método de cuantificación de sodio y potasio por fotometría de llama en sales de rehidratación oral es específico, lineal, exacto y preciso.

2. INTRODUCCION

La validación de métodos analíticos se hace necesaria para determinar la efectividad y las limitaciones de los mismos. Todo proceso de validación es único: por lo que cada método analítico es elaborado específicamente para cada objetivo de la validación y su aplicabilidad (9,5).

En la actualidad es indispensable que un laboratorio analítico cuente con la acreditación respectiva de todos los ensayos que se practican para el análisis de productos farmacéuticos y cumplir con las exigencias del mercado, garantizando la calidad del producto que se está analizando. Según la norma ISO/IEC 17025,' los laboratorios deben validar todos los métodos que utilicen en el laboratorio, tanto los desarrollados por ellos mismos como aquellos procedentes de fuentes bibliográficas o desarrolladas por otros laboratorios (10,24).

La Farmacopea de los Estados Unidos (USP) ha clasificado los estudios de validación en cuatro categorías según el tipo de información que se requiera obtener de dicho estudio, es decir el objetivo que se persigue; ubicando el presente estudio de validación en la Categoría I, titulada como: *Métodos analíticos para la cuantificación de los principales componentes de fármacos o de principios activos en productos farmacéuticos terminados* (8, 10,26).

Es importante mencionar que los métodos analíticos deben validarse en siguientes casos:

- 1 Cuando se desea verificar que los parámetros de rendimiento son adecuados para usarlos en un problema analítico específico
- 2 Al incorporar mejoras en el método
- 3 Cuando se amplíe el alcance del método para nuevas matrices
- 4 Cuando control de calidad indique que el método está cambiando con el tiempo
- 5 Cuando el método se use en un laboratorio diferente o con diferentes analistas o instrumentos (10,26).

LAPROMED es un laboratorio de producción de medicamentos, que ha iniciado el proceso de acreditación de los ensayos requeridos para los análisis de control de calidad de las sales de rehidratación oral, producto líder del laboratorio y que son utilizadas a nivel nacional. Por lo anterior, se realizó la validación del método de cuantificación de sodio y potasio por fotometría de llama, validando cuatro aspectos principales como son: exactitud, precisión, linealidad y robustez del método. Para lo cual se realizó el análisis para sodio y potasio como se hace actualmente; seleccionando cinco estándares a diferentes concentraciones de acuerdo a la metodología utilizada en el laboratorio de análisis.

3. ANTECEDENTES

- 1 En el año de 1997 Ana Carolina Toledo, calibra la balanza OHAUS PLUS Ap210S, llegando a la conclusión que cumple con los parámetros establecidos para la calibración de balanzas analíticas.
- 2 En 1999 Ury Morataya, realizó la calibración de la balanza analítica OHAUS PLUS Ap210S, concluyendo que la misma se encuentra apta para ser utilizada en los procedimientos de análisis de control de calidad de los productos que en LAPROMED se analizan.
- 3 En el año 2002 Anabelly Carolina Franco Flores realizó una guía para la validación de métodos analíticos nuevos o modificados para productos farmacéuticos. En el cual utilizó como ejemplo la validación de la cuantificación de sodio y potasio en el fotómetro de llama, sin embargo no dio a conocer la metodología utilizada, por lo cual no pudo concluir si el método de cuantificación es válido.
- 4 En el año 2003 Ana Silvia Lara Way, efectuó la calibración de la balanza OHAUS PLUS Ap210S, concluyendo mediante este procedimiento que la balanza posee exactitud y precisión aceptables, por lo que su funcionamiento es el adecuado en todo procedimiento analítico.

- 5 En el año 2004 Aída Guadalupe Castillo Orrego, realizó la verificación de pesos de la balanza analítica OHAUS PLUS Ap210S, quien llegó a la conclusión de que la balanza no presenta variaciones fuera de los límites por lo que su funcionamiento es aceptable para los usos del laboratorio de control de calidad y los procedimientos de análisis que se realizan en el.

- 6 En el año 2004 Yadira Eugenia Navas realizó la validación del fotómetro de llama Jenway modelo pfp7, determinando que el fotómetro es exacto, preciso, lineal, específico, por lo que concluyo que los resultados que en el se obtienen son aceptables y confiables, y que además es apto para todo procedimiento de análisis que para el aplique.

- 7 Según las referencias bibliográficas revisadas no se encontró reporte de algún estudio de validación y comparación del método analítico, en el cual se cuantifica sodio y potasio en sales de rehidratación oral por fotometría de llama.

4. JUSTIFICACION

Para que un laboratorio de análisis pueda ser acreditado con un ensayo de control de calidad de un producto farmacéutico es necesario validar el método analítico y cumplir así con lo especificado en la norma COGUANOR NTG/ISO/IEC 17025 “Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración”, quien controla todo este proceso (24).

Con el fin de obtener la acreditación para los ensayos de control de calidad en las sales de rehidratación oral el Laboratorio de Producción de medicamentos LAPROMED se encuentra en la segunda fase de acreditación con el ensayo de cuantificación de sodio y potasio por fotometría de llama, para lo cual es necesario validar la metodología de estos ensayos y cumplir así con los requerimientos de la acreditación y garantizar con ello la calidad de las sales de rehidratación oral.

5. OBJETIVOS

5.1 GENERAL:

Validar el método de análisis para sodio y potasio por fotometría de llama, en sales de rehidratación oral producidas por LAPROMED.

5.2 ESPECIFICOS:

5.2.1 Establecer la precisión, exactitud y linealidad del método de análisis de sodio y potasio por fotometría de llama utilizando el fotómetro de llama Jenway modelo Pfp-7 en sales de rehidratación oral, utilizado en el laboratorio de control de calidad de LAPROMED.

5.2.2 Determinar la especificidad del método de análisis de sodio y potasio por fotometría de llama, en sales de rehidratación oral utilizando el fotómetro de llama Jenway modelo pfp-7.

6. HIPOTESIS

El método de cuantificación de sodio y potasio para el análisis de sales de rehidratación oral por fotometría de llama utilizado en LAPROMED es específico para dicho análisis, es lineal, exacto y preciso.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 UNIVERSO DE TRABAJO:

Esta constituido por cinco muestras siendo ellos estándares de cloruro de sodio y cloruro de potasio grado USP a concentraciones de 90%, 95%, 100%, 105%, 110%, según la metodología utilizada. Otro de los componentes es una muestra conteniendo los componentes de un sobre de suero de rehidratación oral producido en LAPROMED, pero sin la presencia de cloruro de sodio, cloruro de potasio, citrato de sodio, siendo estos los analitos en cuestión.

7.2 MEDIOS:

7.2.1 Recursos humanos:

- 1 Autor: Br. Guicela Yesenia Godínez Fuentes
- 2 Asesor: Licda. Lesbia Arriaza Salguero

7.2.2 Materiales:

- 1 Equipo:
 - Fotómetro de llama marca Jenway, modelo pfp7.
 - Bomba de vacío modelo 004-D704-AA
 - Balanza analítica marca OHAUS PLUS modelo Ap210S
- 2 Cristalería:
 - Balones aforados de 100ml, 250ml, 500ml y 1000ml tipo A
 - Pipeta de 5 ml tipo A
 - Pizetas plásticas de 25 ml

- Cubetas de lectura para fotómetro de llama 5 ml
- Tubos ensayo 250 ml
- Espátulas de acero inoxidable

3 Reactivos:

- Agua destilada
- Cloruro de potasio grado reactivo
- Cloruro de sodio grado reactivo
- Estándar de sodio y potasio al 90%, 95%, 100%, 105%, 110%.

Materiales de oficina:

- Marcadores
- Papel bond carta
- Cronometro
- Maskin tape
- Computadora
- Impresora
- Tinta para impresión

7.3 METODOLOGIA:

Para realizar la validación de la metodología de la determinación de sodio y potasio en sales de rehidratación oral de LAPROMED se tomaron en cuenta los siguientes factores:

7.3.1 ESPECIFICIDAD:

Se define como la capacidad de un método que tiene para medir o identificar simultánea o separadamente los analitos de interés, aunque exista la presencia de otras sustancias químicas en la muestra (2,3).

Es la propiedad del método por medio del cual se obtienen respuestas que corresponden exclusivamente al compuesto que se desea identificar y cuantificar, sin la interferencia por parte de los demás componentes de la muestra (1,9).

El estudio de la especificidad es uno de los parámetros con mayor importancia dentro de la validación de un método analítico. Atendiendo criterios técnicos se deberá establecer en cada caso, hasta qué punto se debe buscar interferencias, debido a reflejar todas las situaciones y consideraciones posibles (2).

La evaluación de la especificidad se hizo preparando una matriz sin el analito, en este caso se preparo una sin cloruro de sodio y otra sin cloruro de potasio, de la cuales cada una se midió 10 veces y evaluándose la respuesta analítica, la cual se esperaba debe dar 0, por medio de la prueba de t de student.

$$H_0: \mu = 0$$

$$H_a: \mu \neq 0$$

7.3.2 LINEALIDAD:

La linealidad de un método analítico es posible definirlo como la característica que este tiene para producir resultados que estén directamente (o por una bien definida transformación matemática) proporcionales a la concentración del analito a las muestras dentro de un rango dado (2,5,9,27).

Normalmente el proceso consistiría en evaluar los límites de concentración en los que el método analítico pierde su linealidad, sin embargo generalmente se toma un intervalo de concentración previamente definido en base a la experiencia, el conocimiento analítico de la técnica empleada y principalmente en función de las especificaciones (1,2).

El estudio de la linealidad es aplicable en métodos de tipo cuantitativo tales como: Valoración del contenido del principio activo, uniformidad de contenido, velocidad de disolución y cuantificación de impurezas (2,9).

En este caso se aplica a valoración del contenido de principio activo. Debido a esto la linealidad de los métodos analíticos se evalúan en rango más amplio según las ICH (International Conference of Harmonisation) recomiendan del 80-120% (4,17).

Se realizó el análisis bajo 5 niveles de concentración 90%, 95%, 100%, 105%, 110%, cada estándar se midió 5 veces para sodio y 5 veces para potasio. Se hizo una tabla donde se recopilaron los datos y al mismo tiempo relacione las

concentraciones que fueron representadas como **X**, y la respuesta obtenida como **Y** de la siguiente manera:

ESTANDAR	CONCENTRACION CONOCIDA	RESPUESTA
1	90% (81.1 mmol/L Na) (18.1 mmol/LK)	
2	95% (85.6 mmol/L Na) (19.1 mmol/L K)	
3	100% (90.1 mmol/L Na) (20.1 mmol/L K)	
4	105% (94.6 mmol/L Na) (21.1 mmol/L K)	
5	110% (99.11 mmol/L Na) (22.11 mmol/L K)	

Para evaluar la linealidad se hizo una regresión lineal (r) con cada uno de los resultados y establecer de esta forma la ecuación de la recta que da a conocer el comportamiento de los datos, donde se plantea de la siguiente manera $Y = bx + a$, siendo x la concentración, y la respuesta, b el valor de la pendiente y a el término independiente (2,4,9).

Estadísticamente se evaluó la ecuación a través del coeficiente de determinación (r^2) y un análisis de varianza para la regresión.

7.3.3 EXACTITUD:

La exactitud expresa proximidad entre el valor aceptado convencionalmente como verdadero o un valor de referencia y el valor experimental encontrado (2,5,23). Puede definirse también como la medida de la fidelidad de los resultados obtenidos por el método comparado a los valores reales, habitualmente la exactitud se expresa como el porcentaje que el método puede detectar del valor

real de un principio activo cuya concentración es conocida. Si la diferencia entre el valor hallado y el valor verdadero es pequeña, la exactitud es buena, de lo contrario podemos afirmar que la exactitud es inadecuada, lo cual es indicativo que existen errores determinados que deberían corregirse (1,9).

Es importante mencionar que precisión y exactitud no tienen la misma definición, ya que la precisión está relacionada con la dispersión de una serie de mediciones y la exactitud con la proximidad de las mediciones a un valor verdadero.

La exactitud se evaluó utilizando los estándares y valores obtenidos en la linealidad. Para cada uno de los valores obtenidos se determinó el % de recuperación.

ESTANDAR	CONCENTRACION CONOCIDA	RESPUESTA	% RECUPERACION
1	90% (81.1 mmol/L Na) (18.1 mmol/LK)		
2	95% (85.6 mmol/L Na) (19.1 mmol/L K)		
3	100% (90.1 mmol/L Na) (20.1 mmol/L K)		
4	105% (94.6 mmol/L Na) (21.1 mmol/L K)		
5	110% (99.11 mmol/L Na) (22.11 mmol/L K)		

Los cálculos para determinar el porcentaje de recuperación se realizaron mediante la fórmula:

$$R = \frac{\bar{X}_m}{\mu} * 100$$

$$\text{Diferencia} = X_m - \mu$$

En donde:

\bar{X}_m = valor medio hallado

μ = valor aceptado como verdadero

$$H_0: \mu = 100 \%$$

$$H_a: \mu \neq 100 \%$$

Se evaluó por la prueba de t de student.

7.3.4 DETERMINACION DE LA PRECISION

La precisión es la capacidad de un método de expresar resultados próximos entre si. La precisión expresa el grado de concordancia (grado de dispersión) entre una serie de medidas de tomas múltiples de una misma muestra homogénea en las condiciones prescritas (2,9,23).

Precisión también puede definirse como una medida del grado de reproducibilidad de un método analítico bajo circunstancias normales de operación (1,9).

El objetivo principal de evaluar la precisión en un método analítico es conocer la variabilidad del método en ensayo (2,5).

La precisión engloba diferentes tipos de estudios.

1 **Repetibilidad:** es la medida de la precisión de un método en las mismas condiciones, sobre la misma muestra, realizado por un mismo analista, en el mismo laboratorio, con los mismos aparatos y reactivos, efectuado en un período corto de tiempo (1,2).

La repetibilidad del método se realiza sobre una serie de alícuotas de una muestra homogénea que se analiza independientemente desde el principio (preparación de la muestra) hasta el final (lectura de resultados) por el mismo instrumento y el mismo analista, se requiere un mínimo de 6 muestras a la concentración nominal. La estimación de la repetibilidad del método se realiza con el cálculo del coeficiente de variación de los resultados obtenidos, que se expresa con la siguiente fórmula (2,23).

En la evaluación de este aspecto se eligió un estándar dentro del rango esperado en este caso que contenga 90.1 mmol/L (estándar al 100%) de Sodio y 20.1 mmol/L (estándar al 100%) de potasio, y se realizaron las lecturas en el fotómetro de llama un total de 10 veces, realizadas por un mismo analista y en un período corto de tiempo. En este aspecto se evaluó la media (X), la desviación estándar (S), coeficiente de variación $CV = (S/X)*100$.

El coeficiente de variación permitido para este método analítico es de 2.0% (28).

2.**Reproducibilidad:** en este aspecto se estudia la variabilidad de los resultados variando aspectos que puedan afectar la precisión del método, dentro de los cuales se puede mencionar las condiciones de trabajo como cambio de aparatos,

analistas, días de trabajo. En este estudio de validación se evaluaron 3 variantes siendo las siguientes:

2.1 Estándares

2.2 Personal que realiza el análisis

2.3 Balanzas

Con el objetivo de evaluar mejor la reproducibilidad se realizó un diseño factorial siendo el siguiente: $3 \times 3 \times 2$ el cual consistía en escoger tres estándares de concentración conocida y que estén dentro del rango, siendo estos 90%, 100% y 110% de sodio y de potasio; luego se eligió a 3 técnicos del laboratorio y se les entregó a cada uno una muestra de cada estándar, se les indicó que deben pesar por triplicado cada muestra, luego prepararlas y leerlas en el fotómetro de llama tanto en sodio como en potasio, y deben hacerlo primero en la balanza 1 y volver a pesar las muestras por triplicado en la balanza 2. Se hizo un análisis de varianza con los resultados obtenidos del diseño factorial, y se analizaron las variaciones debidas a los factores y si existen interacciones.

3. Perfil de precisión: permite evaluar la capacidad del método de generar resultados próximos al valor esperado. En este caso se tomaron en cuenta los estándares evaluados en la linealidad y para cada uno de los resultados obtenidos se obtuvo la media, la desviación estándar (S), coeficiente de variación $CV = S/X \times 100$. Luego de realizar el procedimiento se hizo una gráfica colocando en el eje las x concentraciones y en el eje Y el coeficiente de variación, de lo cual se evaluó el comportamiento de los datos obtenidos con respecto al coeficiente de variación permitido para el método.

7.4 PROCEDIMIENTOS TECNICOS PARA LA PREPARACION DE LAS MUESTRAS:

7.4.1 PREPARACION DE ESTANDARES:

Estándar	Gramos
90%	3.15g NaCl y 1.35g KCl
95%	3.325g NaCl y 1.425 g KCl
100%	3.5 g NaCl y 1.5 g KCl
105%	3.675 g NaCl y 1.575g KCl
110%	3.85 g NaCl y 1.65 g KCl

7.4.2 PREPARACION DE LA MUESTRAS USP XIX:

1. Se pesó la cantidad necesaria para cada estándar en gramos de Cloruro de potasio y de Cloruro de sodio grado reactivo, en la balanza analítica
2. Se transfirieron a un balón aforado de 250ml
3. Se aforó con agua destilada luego se mezcló bien (solución A)
4. De la solución A se tomaron 5ml medidos con una pipeta volumétrica
5. Se traspaso a un balón de 500ml y se aforó con agua destilada
6. Se agregó una alícuota a las cubetas de lectura del fotómetro de llama (25,28).

7.4.3 PREPARACION DE MUESTRAS PARA EVALUAR ESPECIFICIDAD

1. Pesar los ingredientes de un sobre de suero Vida para evaluar la metodología en sodio se excluirá cloruro de sodio y citrato de sodio, en el caso de potasio se pesó todo menos cloruro de potasio, siendo los siguientes:

Cloruro de sodio 3.5 gramos
Cloruro de potasio..... 1.5 gramos
Citrato trisodico dihidratado.. 2.9 gramos
Glucosa anhidra 20.0 gramos

1. transferir cada uno de los ingredientes a un balón de 1000 ml aforar y agitar (solución A).
2. de la solución A medir con una pipeta volumétrica 5ml y transferirlos a un balón de 500 ml aforar y agitar.
3. medir una alícuota en la cubeta de lectura para el fotómetro de llama y leer la muestra en los filtros del fotómetro (sodio, potasio).

7.4.4 LECTURAS EN EL FOTOMETRO DE LLAMA JENWAY modelo Pfp-7

4. Encender el fotómetro de llama 15 minutos antes de usarlo
 - 1.1 Abrir la llave de gas (1/2 vuelta)
 - 1.2 Presionar el botón de encendido y colocarlo en ON
 - 1.3 Presionar el botón de ignición hasta que aparezca la llama
 - 1.4 Encender la bomba de vacío
 - 1.5 Seguir presionando ignición hasta que encienda la señal de flama (FLM)
 - 1.6 Controlar que la cubeta de lectura tenga agua destilada durante los 15 minutos de espera.
2. seleccionar el filtro que se desee (sodio o potasio)
3. Calibrar el fotómetro de llama
 - 3.1 Usar como blanco agua destilada y colocar en la manguera de succión y

ajustar a 0, controlar durante 15 segundos hasta que se estabilice.

3.2 Colocar el estándar de sodio y potasio a 100% y ajustar a 100, medir 15 segundos cuando se estabilice.

3.3 Realizar por triplicado.

- 4 Colocar la muestra No. 1 y esperar 15 segundos para que se estabilice y tomar la lectura
- 5 Leer muestra No.2 y No. 3 como se indica en el paso 4
- 6 A cada 3 muestras calibrar el fotómetro de llama según lo indica el paso 3
- 7 al terminar de leer las muestras en el filtro seleccionado mover la perilla que selecciona el filtro a la posición del filtro deseado.
- 8 Repetir pasos 2-6 hasta terminar de leer las muestras
- 9 dejar reposar por 15 minutos el fotómetro de llama cerrando la llave de gas y con agua destilada.
- 10 Apagar el fotómetro (12,20,21,22).

8. RESULTADOS

8.1 ESPECIFICIDAD

8.1.1 Especificidad para sodio

Al realizar las lecturas de la muestra preparada para el análisis de sodio dieron como resultado 0 mmol/L.

8.1.2 Especificidad para potasio

Al realizar las lecturas de la muestra preparada para el análisis de potasio dieron como resultado 0 mmol/L.

8.2 LINEALIDAD

8.2.1 Linealidad para sodio

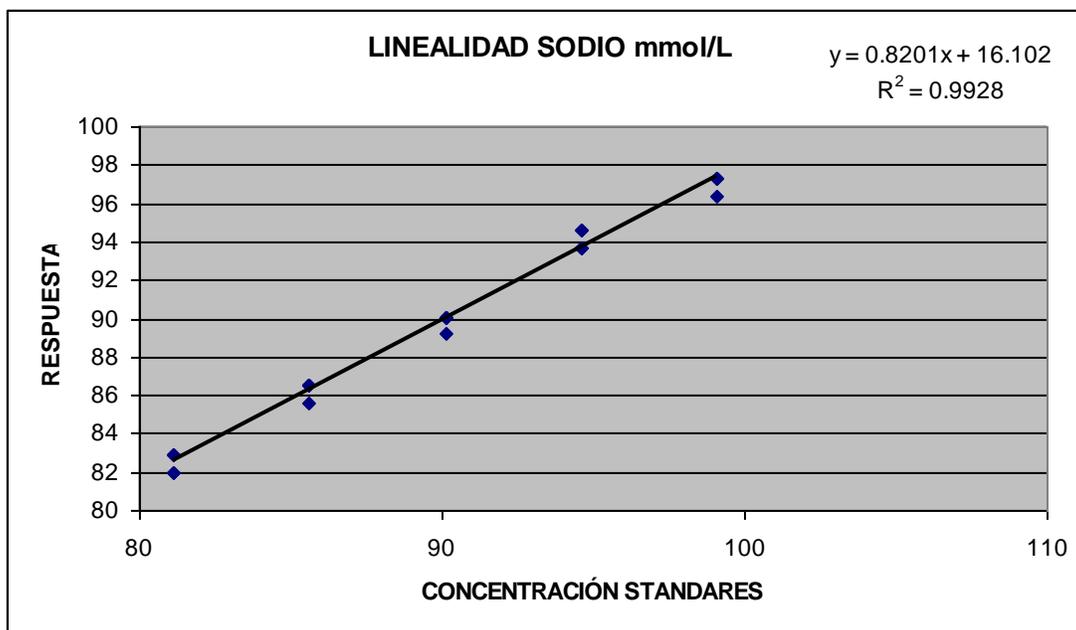
Tabla No.1

Linealidad en mmol/L de sodio

St	Concentración Conocida	Respuesta
90%	81.09	82.89
	81.09	82.89
	81.09	81.99
	81.09	82.89
	81.09	81.99
	Media	82.53
95%	85.6	86.5
	85.6	86.5
	85.6	86.5
	85.6	85.6
	85.6	86.5
	Media	86.32
100%	90.1	90.1
	90.1	89.2
	90.1	90.1
	90.1	90.1
	90.1	90.1
	Media	89.92
105%	94.61	94.61
	94.61	93.7
	94.61	93.7
	94.61	93.7
	94.61	94.61
	Media	94.06
110%	99.11	97.31
	99.11	97.31
	99.11	96.41
	99.11	97.31
	99.11	97.31
	Media	97.13

Grafica 1

Linealidad de sodio mmol/L



$r = 0.996$

$R^2 = 0.992$

$P = < 0.05$

8.2.2 Linealidad para potasio

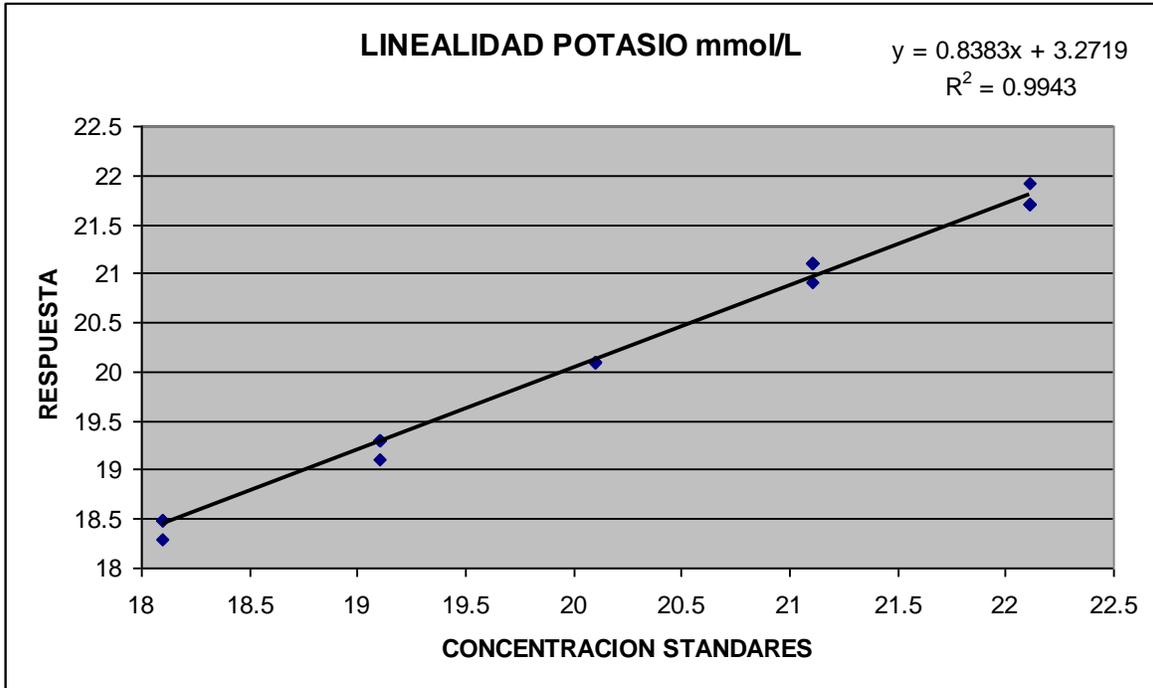
Tabla No. 2

Linealidad en mmol/L de potasio

st	Concentración conocida	Respuesta
90%	18.1	18.49
	18.1	18.49
	18.1	18.49
	18.1	18.29
	18.1	18.49
	Media	18.45
95%	19.1	19.3
	19.1	19.3
	19.1	19.3
	19.1	19.1
	19.1	19.3
	Media	19.26
100%	20.1	20.1
	20.1	20.1
	20.1	20.1
	20.1	20.1
	20.1	20.1
	Media	20.1
105%	21.11	20.9
	21.11	21.11
	21.11	21.11
	21.11	21.11
	21.11	21.11
	Media	21.07
110%	22.11	21.71
	22.11	21.71
	22.11	21.91
	22.11	21.71
	22.11	21.71
	Media	21.75

Grafica 2

Linealidad de potasio mmol/L



$r = 0.997$

$R^2 = 0.994$

$P < 0.05$

8.3 EXACTITUD

8.3.1 Exactitud para sodio

Tabla No.3

Exactitud para sodio en mmol/L

Porcentaje de recuperación

Estándar	Concentración conocida	respuesta	% Recuperación
90%	81.09	82.89	102.22
	81.09	82.89	102.22
	81.09	81.99	100.98
	81.09	82.89	102.22
	81.09	81.99	100.98
	Media	82.53	101.78
95%	85.6	86.5	101.05
	85.6	86.5	101.05
	85.6	86.5	101.05
	85.6	85.6	100
	85.6	86.5	101.05
	Media	86.32	100.84
100%	90.1	90.1	100
	90.1	89.2	99.01
	90.1	90.1	100
	90.1	90.1	100
	90.1	90.1	100
	Media	89.92	99.8
105%	94.61	94.61	100
	94.61	93.7	99.04
	94.61	93.7	99.04
	94.61	93.7	99.04
	94.61	94.61	100
	Media	94.06	99.42
110%	99.11	97.31	98.18
	99.11	97.31	98.18
	99.11	96.41	97.28
	99.11	97.31	98.18
	99.11	97.31	98.18
	Media	99.11	98

Tabla No. 4

Exactitud para sodio mmol/L (media)

St.	Concentración conocida	respuesta	% Recuperación
90%	81.09	82.53	101.78
95%	85.6	86.32	100.84
100%	90.1	89.92	99.8
105%	94.61	94.06	99.42
110%	99.11	97.13	98
sd			1.44
t de student			0.96

$P < 0.05$

Prueba de hipótesis:

$$H_0: \mu = 100\%$$

$$H_a: \mu \neq 100\%$$

Análisis estadístico:

$$t_{exp} < t_{tabla} = H_0 \text{ no se rechaza}$$

$$n=5, 95\% \text{ de confianza, } p=0.05$$

$$t_{tabla} = (gl = n-1; \alpha = 1-p)$$

$$t_{tabla} = (gl = 5-1=4; \alpha = 1-0.05) = 2.132 \text{ (véase anexo de la tabla)}$$

$$t_{exp} = 0.96 < t_{tabla} = 2.132$$

Conclusión: H_0 no se rechaza, lo que indica que los resultados no difieren del valor esperado que es el 100%, lo cual se reafirma al obtener P , siendo su valor menor a 0.05.

Fórmula para obtener porcentaje de recuperación:

$$\% \text{ rec} = \frac{\bar{X}_m}{\mu} * 100$$

8.3.2 Exactitud para potasio

Tabla No. 5

Exactitud para potasio en mmol/L

Porcentaje de recuperación

Estándar	Concentración conocida	respuesta	% Recuperación
90%	18.1	18.49	102.15
	18.1	18.49	102.15
	18.1	18.49	102.15
	18.1	18.29	101.05
	18.1	18.49	102.15
	Media	18.45	101.99
95%	19.1	19.3	101.04
	19.1	19.3	101.04
	19.1	19.3	101.04
	19.1	19.1	100
	19.1	19.3	101.04
	Media	19.26	100.84
100%	20.1	20.1	100
	20.1	20.1	100
	20.1	20.1	100
	20.1	20.1	100
	20.1	20.1	100
	Media	20.1	100
105%	21.11	20.9	99.01
	21.11	21.11	100
	21.11	21.11	100
	21.11	21.11	100
	21.11	21.11	100
	Media	21.07	99.81
110%	22.11	21.71	98.19
	22.11	21.71	98.19
	22.11	21.91	99.1
	22.11	21.71	98.19
	22.11	21.71	98.19
	Media	21.75	98.37

Tabla No.6

Exactitud para potasio mmol/L (media)

St.	Concentración conocida	respuesta	% Recuperación
90%	18.1	18.45	101.99
95%	19.1	19.26	100.84
100%	20.1	20.1	100
105%	21.11	21.07	99.81
110%	22.11	21.75	98.37
Sd			1.3374
t de student			0.8949

$P < 0.05$

Prueba de hipótesis:

$$H_0: \mu = 100\%$$

$$H_a: \mu \neq 100\%$$

Análisis estadístico:

$$t_{exp} < t_{tabla} = H_0 \text{ no se rechaza}$$

$$n=5, 95\% \text{ de confianza, } p=0.05$$

$$t_{tabla} = (gl = n-1; \alpha = 1-p)$$

$$t_{tabla} = (gl = 5-1=4; \alpha = 1-0.05) = 2.132 \text{ (véase anexo de la tabla)}$$

$$t_{exp} = 0.8949 < t_{tabla} = 2.132$$

Conclusión: : H_0 no se rechaza, lo que indica que los resultados no difieren del valor esperado que es el 100%, lo cual se reafirma al obtener P , siendo su valor menor a 0.05.

Fórmula para obtener porcentaje de recuperación:

$$\% \text{ rec} = \frac{X_m}{\mu} * 100$$

8.4 PRECISION

8.4.1 Repetibilidad

8.4.1.1 Repetibilidad para sodio

Tabla No.7
Repetibilidad para sodio en mmol/L

No.	Concentración Conocida	Respuesta
1	90.1	90.1
2	90.1	90.1
3	90.1	90.1
4	90.1	90.1
5	90.1	90.1
6	90.1	90.1
7	90.1	90.1
8	90.1	90.1
9	90.1	90.1
10	90.1	90.1
Media		90.1
sd		3E-14
cv		3.3E-14

8.4.1.2 Repetibilidad para potasio

Tabla No.8
Repetibilidad para potasio mmol/L

No.	Concentración Conocida	mmol/L
1	20.1	20.1
2	20.1	20.1
3	20.1	20.1
4	20.1	20.1
5	20.1	20.1
6	20.1	20.1
7	20.1	20.1
8	20.1	20.1
9	20.1	20.1
10	20.1	20.1
media		20.1
sd		3.7E-15
cv		1.9E-14

8.4.2 Reproducibilidad (modelo 3x3x2)

8.4.2.1 Reproducibilidad para sodio

Tabla No. 9

Reproducibilidad sodio mmol/L balanza 1

Balanza 1						
st	analista/ repetición	1	2	3	Media	Sd
95% 84.6	1	86.5	84.6	86.5	85.87	1.10
	2	86.5	87.4	86.5	86.8	0.52
	3	87.4	88.3	87.4	87.7	0.52
100% 90.1	1	90.1	90.1	90.1	90.1	0.00
	2	90.1	90.1	90.1	90.1	0.00
	3	90.1	90.1	90.1	90.1	0.00
105% 94.6	1	94.6	93.7	93.7	94	0.44
	2	93.1	92.8	93.1	93	0.17
	3	92.8	92.8	93.1	92.9	0.17

Tabla No.10

Reproducibilidad para sodio mmol/L balanza 2

Balanza 2						
st	analista/ repetición	1	2	3	Media	sd
95% 84.6	1	84.6	86.5	86.5	85.87	1.10
	2	88.3	87.4	88.3	88	0.52
	3	86.5	87.4	86.5	86.8	0.52
100% 90.1	1	90.1	90.1	90.1	90.1	0.00
	2	91	90.1	90.1	90.06	0.00
	3	90.1	90.1	90.1	90.1	0.00
105% 94.6	1	93.7	93.7	93.7	93.7	0.44
	2	93.1	93.1	94.6	93.6	0.87
	3	93.1	93.1	93.1	93.7	0.00

Tabla No.11

Análisis de varianza para sodio (Reproducibilidad)

. ANOVA sodio estándar balanza analista, cat (estándar balanza analista)

Number of obs =		54	R-squared =		0.9392
Root MSE =		.719675	Adj R-squared =		0.9328
Source	Partial SS	df	MS	F	Prob > F
-----+					
Model	383.891649	5	76.7783297	148.24	0.0000
estandar	383.517948	2	191.758974	370.24	0.0000
balanza	.166665819	1	.166665819	0.32	0.5732
analista	.207034703	2	.103517352	0.20	0.8195
-----+					
Residual	24.8607674	48	.517932654		
-----+					
Total	408.752416	53	7.71230974		

CONCLUSION: No existe diferencia significativa entre balanzas (p=0.5732), ni entre analistas (p=0.8195). Sí existe diferencia significativa entre estándares (p<0.00001), pero era lo esperado.

Tabla 12
Promedios balanzas:

```
. tabulate balanza, summ(sodio)
```

Balanza	Summary of Sodio		Freq.
	Mean	Std. Dev.	
1	90.074074	2.7782937	27
2	90.185184	2.8277059	27
Total	90.129629	2.7771046	54

Gráfica No. 3
Balanzas Sodio

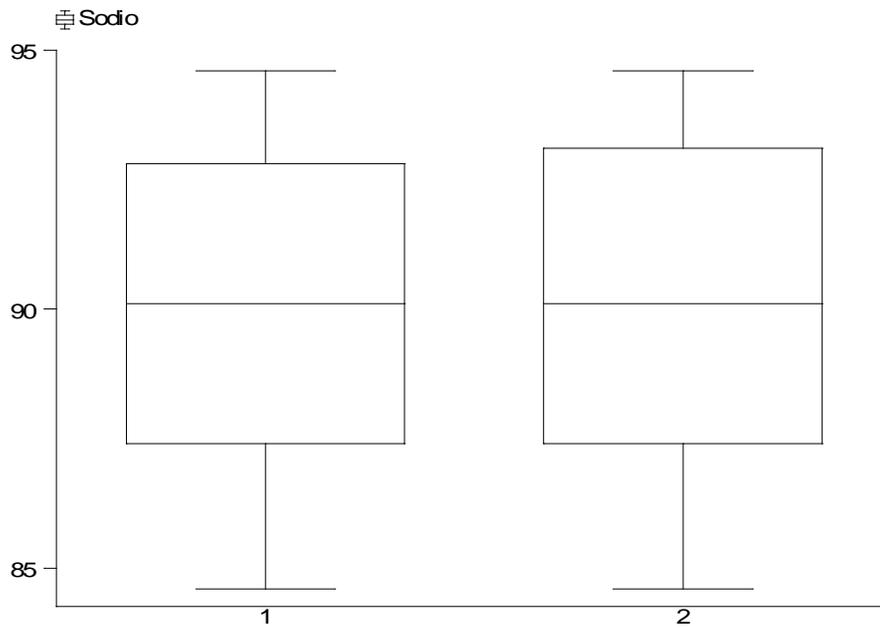


Tabla 13
Promedios analistas:

. tabulate analista, summ(sodio)

Analista	Summary of Sodio		
	Mean	Std. Dev.	Freq.
1	90.094444	2.9502681	18
2	90.077777	2.7312038	18
3	90.216665	2.8050891	18
Total	90.129629	2.7771046	54

Gráfica No.4
Analistas Sodio

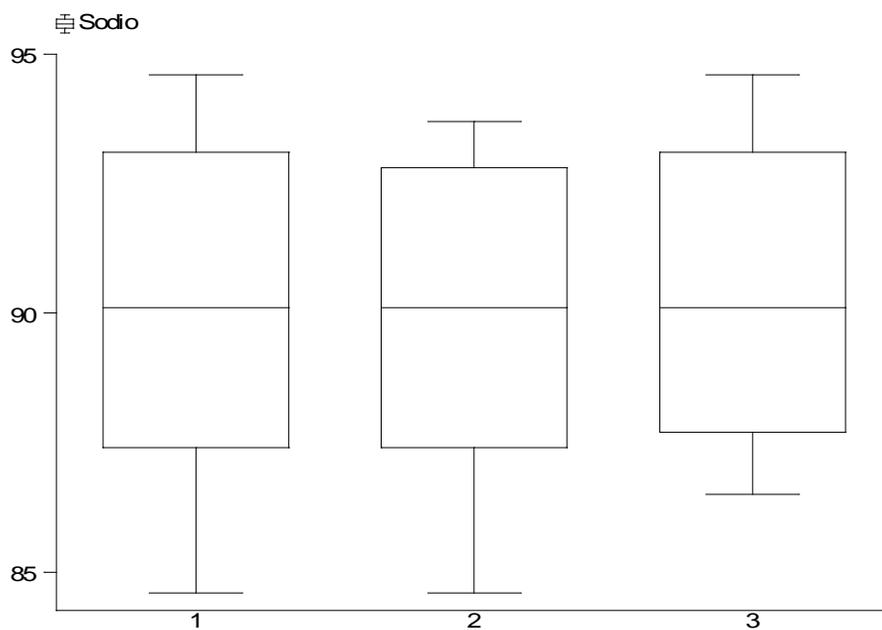
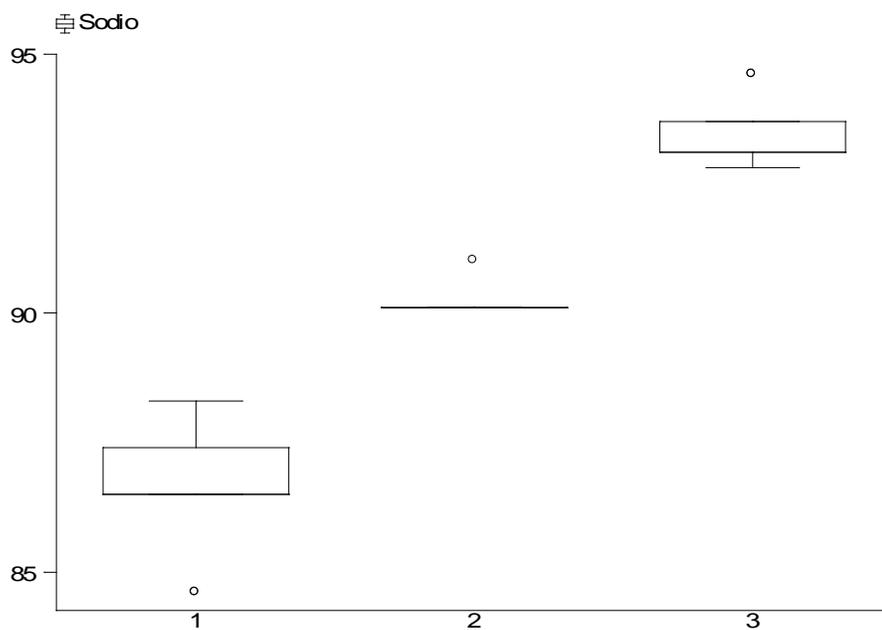


Tabla No 14
Promedios estándares:

tabulate estandar, summ(sodio)			
Summary of Sodio			
Estandar	Mean	Std. Dev.	Freq.
1	86.855556	1.0667291	18
2	90.149999	.21213239	18
3	93.383332	.54906226	18
Total	90.129629	2.7771046	54

Gráfica No.5
Estándares Sodio



8.4.2.2 Reproducibilidad para potasio

Tabla No.15

Reproducibilidad potasio mmol/L balanza 1

Balanza 1						
st	analista/ repeticion	1	2	3	Media	Sd
95% 19.1	1	19.1	19.3	19.1	19.17	0.12
	2	19.3	19.3	19.3	19.3	0.00
	3	19.3	19.3	19.3	19.3	0.00
100% 20.1	1	20.3	20.1	20.1	20.17	0.09
	2	19.9	20.1	20.1	20.03	0.00
	3	20.1	20.1	20.1	20.1	0.00
105% 21.1	1	21.1	21.1	20.9	21.03	0.05
	2	20.9	20.9	20.7	20.83	0.12
	3	20.9	21.1	20.9	20.97	0.12

Tabla No.16

Reproducibilidad sodio mmol/L balanza 2

Balanza 2						
St	analista/ repeticion	1	2	3	Media	Sd
95% 19.1	1	19.3	19.3	19.5	19.37	0.12
	2	19.7	19.3	19,5	19.5	0.28
	3	19.3	19.3	19.3	19.3	0.00
100% 20.1	1	20.1	20.1	20.1	20.1	0.00
	2	20.3	20.3	20.3	20.3	0.00
	3	20.1	20.1	20.1	20.1	0.00
105% 21.1	1	21.1	21.1	21.1	21.1	0.12
	2	21.1	20.9	21.1	21.03	0.12
	3	21.1	21.1	21.1	21.1	0.00

Tabla No.17

Análisis de varianza para potasio (Reproducibilidad)

. ANOVA potasio estándar balanza analista , cat(estándar balanza analista)

Number of obs =	54	R-squared =	0.9781		
Root MSE =	.109713	Adj R-squared =	0.9759		
Source	Partial SS	df	MS	F	Prob > F
Model	25.8555742	5	5.17111484	429.60	0.0000
Estándar	25.6844629	2	12.8422315	1066.89	0.0000
Balanza	.166666879	1	.166666879	13.85	0.0005
Analista	.004444394	2	.002222197	0.18	0.8320
Residual	.577777905	48	.01203704		
Total	26.4333521	53	.498742493		

CONCLUSION: Sí existe diferencia significativa entre balanzas ($p=0.0005$), no existe diferencia significativa entre analistas ($p=0.8320$). Sí existe diferencia significativa entre estándares ($p<0.00001$), pero era lo esperado.

Tabla No. 18
Promedios balanzas:

```
. tabulate balanza, summ(potasio)
```

Summary of Potasio			
Balanza	Mean	Std. Dev.	Freq.
1	20.1	.71036304	27
2	20.211111	.71108471	27
Total	20.155555	.70621703	54

Gráfica No. 6
Balanzas Potasio

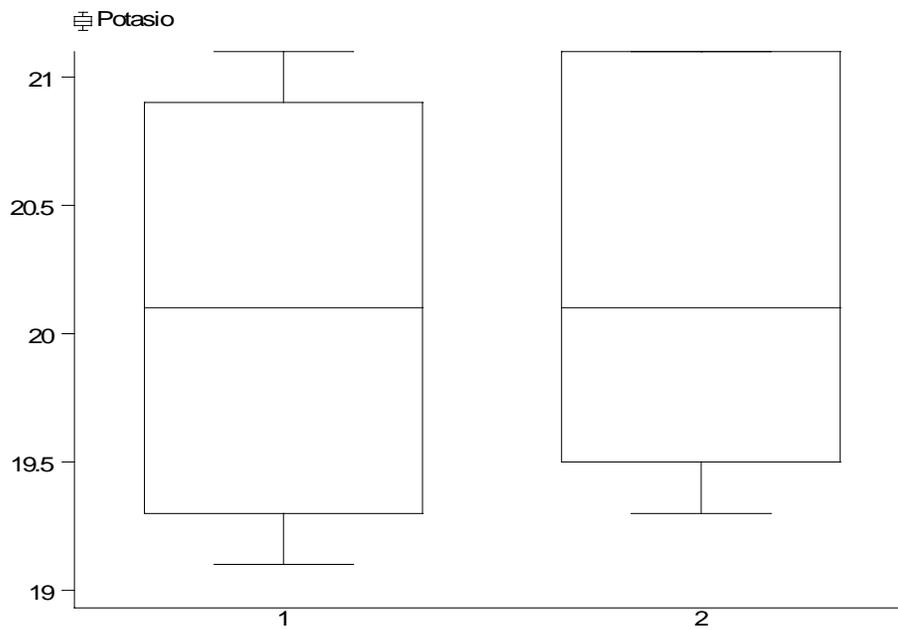


Tabla No. 19

Promedios analistas:

```
. tabulate analista, summ(potasio)
```

Analista	Mean	Std. Dev.	Freq.
1	20.166667	.72922219	18
2	20.155555	.73181698	18
3	20.144444	.69808347	18
Total	20.155555	.70621703	54

Gráfica No. 7

Analistas Potasio

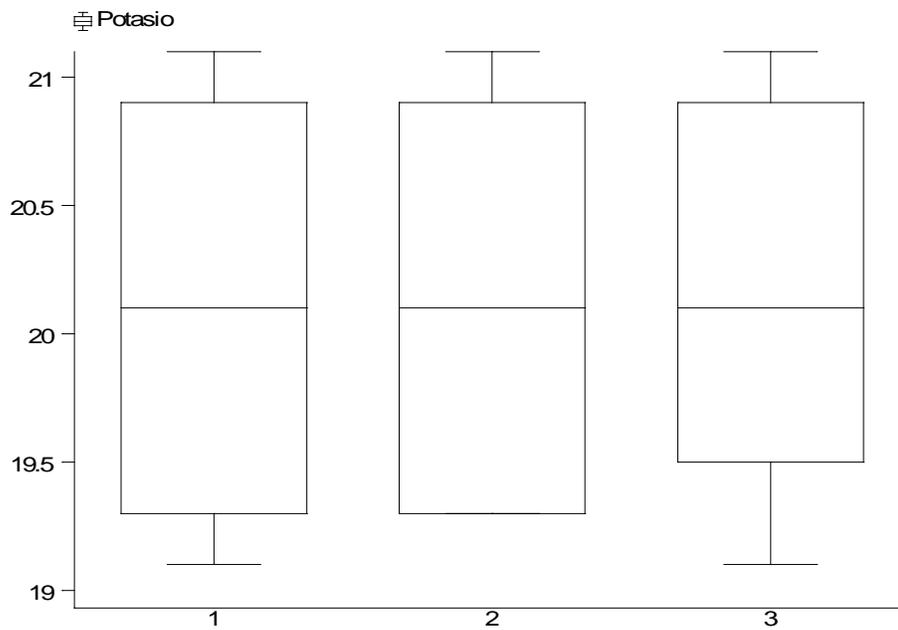
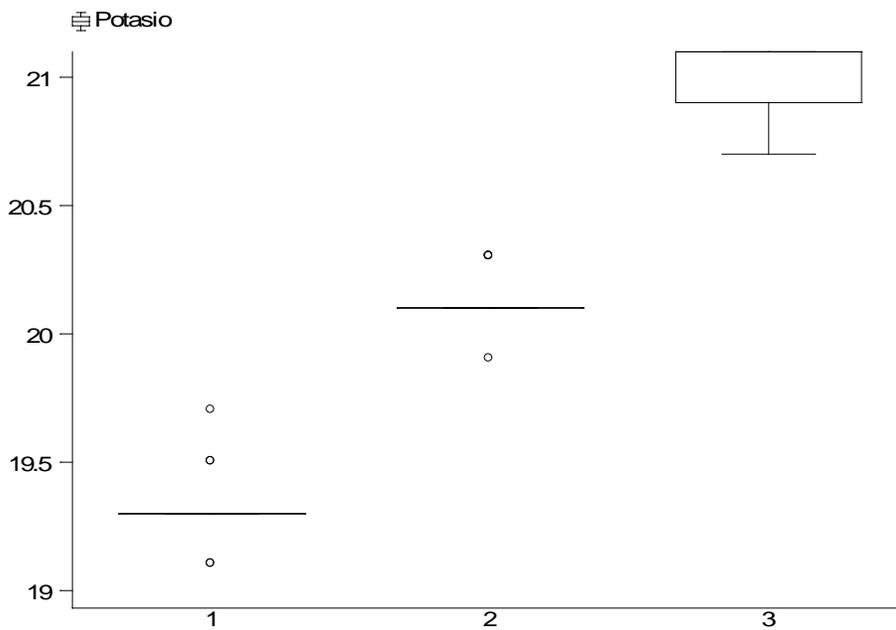


Tabla No.20
Promedios estándares:

```
. tabulate estandar, summ(potasio)
```

Estandar	Mean	Std. Dev.	Freq.
1	19.322222	.13528006	18
2	20.133333	.10289882	18
3	21.011111	.12313994	18
Total	20.155555	.70621703	54

Gráfica No 8.
Estándares Potasio



8.4.3 Perfil de precisión

8.4.3.1 perfil de precisión sodio

*Tabla No.21
Perfil de precisión sodio mmol/L*

St	Concentración conocida	Respuesta
90%	81.09	82.89
	81.09	82.89
	81.09	81.99
	81.09	82.89
	81.09	81.99
	Media	82.53
	Sd	0.49
	Cv	0.6
95%	85.6	86.5
	85.6	86.5
	85.6	86.5
	85.6	85.6
	85.6	86.5
	Media	86.32
	Sd	0.4
	Cv	0.47
100%	90.1	90.1
	90.1	89.2
	90.1	90.1
	90.1	90.1
	90.1	90.1
	Media	89.92
	Sd	0.4
	Cv	0.45
105%	94.61	94.61
	94.61	93.7
	94.61	93.7
	94.61	93.7
	94.61	94.61
	Media	94.06
	Sd	0.5
	Cv	0.53
110%	99.11	97.31
	99.11	97.31
	99.11	96.41
	99.11	97.31
	99.11	97.31
	Media	97.13
	Sd	0.4
	Cv	0.41

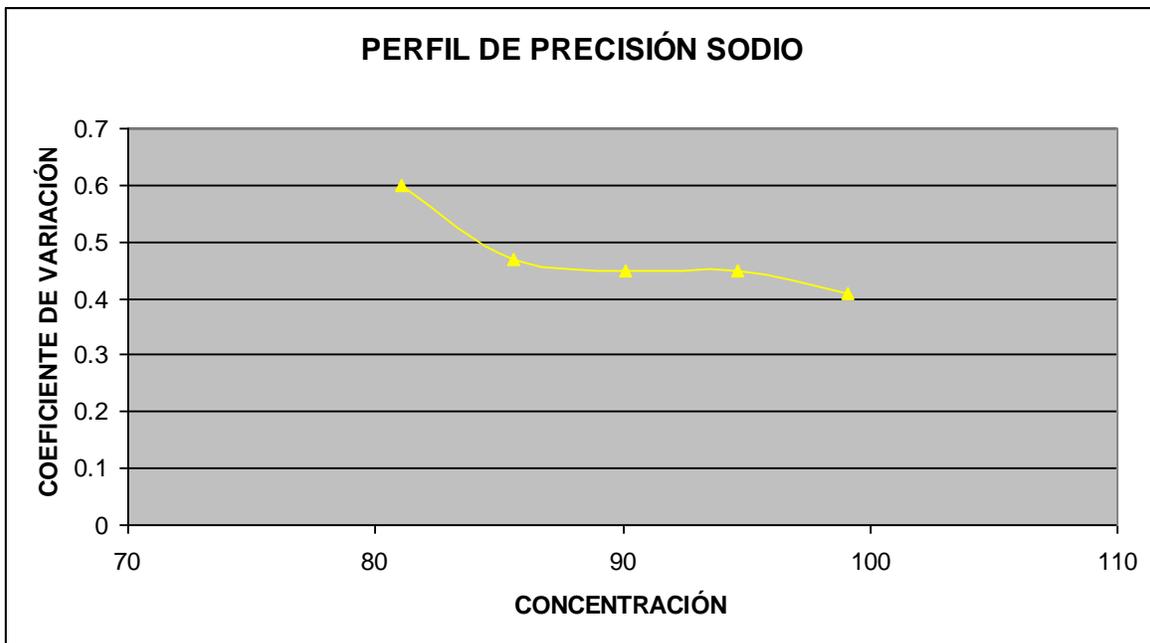
Tabla No 22

Perfil de precisión sodio mmol/L (media)

concentración	Respuesta (Media)	Cv
81.09	82.53	0.6
85.6	86.32	0.47
90.1	89.92	0.45
94.61	94.06	0.45
99.11	97.13	0.41

Grafica 9

Perfil de precisión sodio



8.4.3.2 Perfil de precision potasio

Tabla No.23

Perfil de precision sodio mmol/L

St	Concentración conocida	Respuesta
90%	18.1	18.49
	18.1	18.49
	18.1	18.49
	18.1	18.29
	18.1	18.49
	Media	18.45
	Sd	0.09
	Cv	0.49
95%	19.1	19.3
	19.1	19.3
	19.1	19.3
	19.1	19.1
	19.1	19.3
	Media	19.26
	Sd	0.09
	Cv	0.47
100%	20.1	20.1
	20.1	20.1
	20.1	20.1
	20.1	20.1
	20.1	20.1
	Media	20.1
	Sd	0
	Cv	0
105%	21.11	20.9
	21.11	21.11
	21.11	21.11
	21.11	21.11
	21.11	21.11
	Media	21.07
	Sd	0.09
	Cv	0.43
110%	22.11	21.71
	22.11	21.71
	22.11	21.91
	22.11	21.71
	22.11	21.71
	Media	21.75
	Sd	0.09
	Cv	0.41

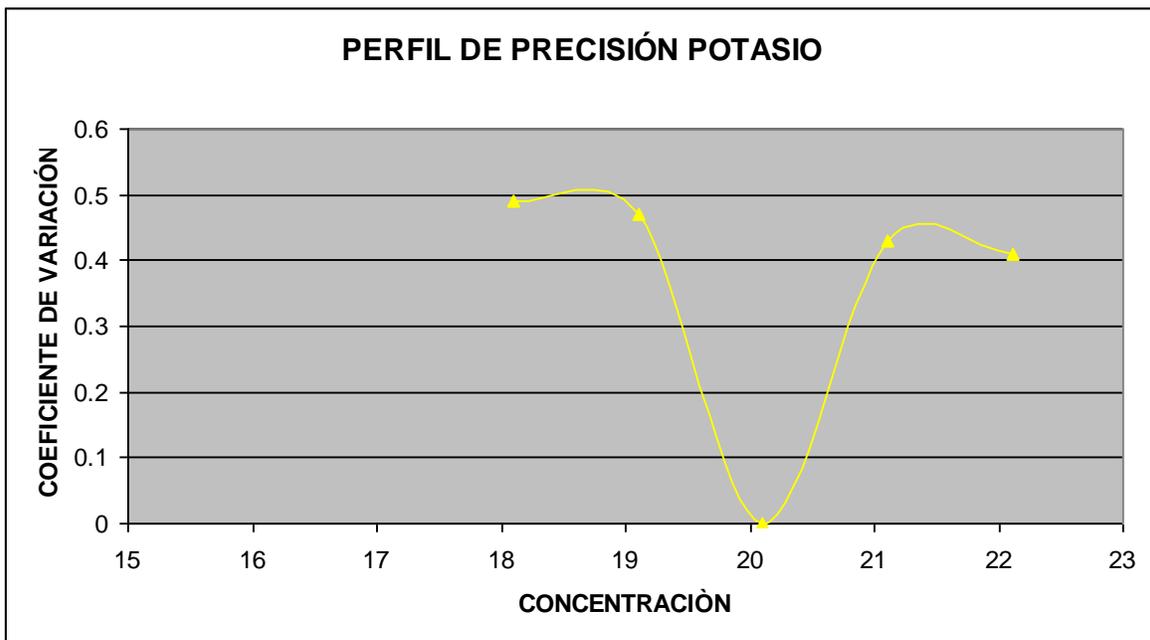
Tabla No. 24

Perfil de precision potasio mmol/L (media)

concentración	Respuesta (Media)	Cv
18.1	18.45	0.49
19.1	19.26	0.47
20.1	20.1	0
21.11	21.07	0.43
22.11	21.75	0.41

Grafica 10

Perfil de precision potasio mmol/L



9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos y tabulados anteriormente nos dan a conocer las características del método analítico para la determinación de sodio y potasio en sales de rehidratación oral producidos en LAPROMED.

La evaluación de la especificidad es importante ya que nos garantiza que un método sea exclusivo para la cuantificación de un analito en especial en este caso para sodio y potasio; para evaluar este aspecto es importante mencionar que a la muestra que se preparó además de no agregarle cloruro de sodio y cloruro de potasio, no se le agregó citrato de sodio ya que este en su composición contiene sodio y también influye en las lecturas en el fotómetro_(14,26). En base a los resultados obtenidos no es necesarios colocar las tablas que dan conocer los resultados ya que tanto en sodio como en potasio no se obtuvo una respuesta cuantificable y los valores obtenidos son igual a 0, es importante mencionar que aunque la muestra contenía únicamente glucosa no pudo ser cuantificada en el fotómetro de llama ya que este no tiene un filtro para realizar la lectura de este compuesto. Al hacer el análisis estadístico con respecto a las hipótesis planteadas en este caso, no fue necesario realizar una prueba de t de student por no tener valores concretos con que realizarla; sin embargo se realizó el análisis con el valor obtenido para ambos analitos concluyendo que la hipótesis verdadera (H_a) es aceptada donde se afirma que no hay ningún elemento cuantificable y la hipótesis nula es rechazada (H_o) ya que afirmaba que el valor no era igual a 0.

Sabiendo que la linealidad es un aspecto que da a conocer el grado de proporcionalidad entre la concentración teórica y la respuesta de un analito (2), los resultados obtenidos para sodio se observan en la tabla 1, los cuales al analizarlos detalladamente dan a conocer una relación muy cercana entre la concentración conocida y la respuesta obtenida. El comportamiento es proporcionalmente ascendente, sin embargo para tener mayor veracidad de los resultados fue necesario graficar y obtener la ecuación de la recta juntamente con el coeficiente de determinación observando los resultados obtenidos claramente en la gráfica 1. En cuanto a “b” que es la pendiente se obtuvo un valor de 0.82, lo cual nos da a conocer el cambio dado de la concentración (eje x) con respecto a la respuesta obtenida de los estándares de sodio (eje y) lo cual nos demuestra que la relación entre ambas variables es proporcional y esta dada en forma lineal, principalmente este valor indica que el método tiene una sensibilidad aceptable, ya que mientras mayor sea la pendiente (en este caso se acerca a 1) mayor respuesta se obtiene por parte del método frente a los cambios de la concentración del analito. (2,4,15). En cuanto al valor del intercepto “a” que se observa en la grafica 1 es de 16.10 punto en el cual se da la intersección de ambos ejes x ,y y es indicativo del error sistemático ya que el valor obtenido es diferente a 0.(2,4). El coeficiente de determinación en este caso esta representado por R^2 y obtenido por el cuadrado de r (coeficiente de correlación), siendo R^2 el valor de mayor importancia en este análisis ya que expresa la proporción de la variación de la variable “y”. Se sabe que mientras mas se acerca a 1 es mejor la linealidad del método (6,9). En este caso el valor obtenido y observado tanto en la tabla 3 como en la gráfica 1 es de

0.992 valor cercano a 1 tomando en cuenta que el cloruro de sodio puede contener impurezas en su composición química, es importante también mencionar que el valor P que es menor de 0.05 indica que la regresión es significativa, lo que podemos interpretar afirmando que la linealidad esta explicada en forma estadística, por lo que el método cumple con una linealidad adecuada para el análisis de sodio en las sales de rehidratación oral elaboradas en LAPROMED (16).

En cuanto al potasio los resultados se observan en la tabla 2 donde se presenta detalladamente el resultado obtenido al hacer las cinco lecturas de cada estándar en el fotómetro de llama; si observamos los datos la interpretación es parecida a la de sodio, al observar el valor de la pendiente “b” es 0.8383 se observa que el comportamiento de los estándares de concentración conocida (x) es proporcional a la respuesta obtenida (y), por lo que ambas dan una respuesta lineal, además de ello el valor de la pendiente es alto ya que se acerca a 1 y nos indica una buena sensibilidad del método ante los cambios de la concentraciones de “y” o del analito (2,15). En cuanto a R^2 el valor es de 0.994 (gráfica 2) muy cercano a 1 por lo que el coeficiente de determinación expresa que la variación de la respuesta obtenida (y) con respecto a la concentración conocida (x) es proporcional, la linealidad del método es aceptable para este análisis porque R^2 es cercano a 1, y al igual que el cloruro de sodio también el cloruro de potasio puede tener impurezas en su composición química, es por ello la diferencia del valor R^2 (0.994) con respecto a 1, en este caso también es importante mencionar que el valor P es menor que 0.05 lo cual nos confirma que la regresión es

significativa, por lo que la linealidad está explicada en forma estadística (2,9). El intercepto dado por “a”, tiene un valor de 3.27 punto en el que ocurre la intersección de el eje “x” y el eje “y”. (2,9).

La exactitud es uno de los parámetros de mayor importancia en la validación de cualquier método ya que indica que tan próximos están los resultados obtenidos al valor verdadero (2,9). En el caso de la presente validación se pueden observar los valores obtenidos para sodio (ver tablas 3 y 4) y para potasio (ver tablas 5 y 6) específicamente el % de recuperación se observa que están dentro del rango de 98% – 101%; debido a que la validación esta siendo dada para el análisis del componente de un formulado farmacéutico el rango teórico aceptable del % de recuperación es de 97.0 % - 103.0%, por lo que tanto en sodio como en potasio los valores obtenidos para cada estándar tanto en la media como individualmente cumplen con los criterios de aceptación para afirmar que la metodología de análisis para sodio y potasio en suero de rehidratación oral preparados en LAPROMED es exacta (9). Si observamos detalladamente los cuadros No. 4 y 6 donde se presenta el resumen de los resultados de la evaluación de la exactitud para sodio y potasio, podremos evaluar las hipótesis formuladas para evaluar $H_0 = 100$ y $H_a \neq 100$ aplicando la prueba de t de student con lo cual se espera comprobar nuevamente que el % de recuperación es el adecuado y con ello asegurar que el método de análisis es exacto. Para evaluar la t de student se tomaron en cuenta las medias de las replicas hechas para cada estándar, comparándolas con un segundo grupo de datos que fue el valor que se

esperaba obtener en teoría, siendo este el 100%. Para obtener el valor de t de student se utilizó una hoja electrónica de Excel, tomando en cuenta que es para una muestra de variables pareadas, y con dos colas debido a que los resultados pueden ser mayores como menores que 100; además de lo anterior fue necesario obtener el valor de t de student en tablas para lo cual se utilizó 4 grados de libertad, utilizando el 95% de confianza con una $p= 0.05$, siendo entonces el valor t en tablas de 2.132 (ver anexo de t student). Si se observa en el cuadro número 4 (para sodio) y 6 (para potasio) el valor t obtenido con el grupo de datos del % de recuperación de los 5 estándares utilizados es menor al valor especificado en las tablas, con lo cual podemos comprobar que la H_0 no se rechazó ya que los % de recuperación obtenidos son ideales y se puede afirmar que son igual al 100%, con lo anterior queda confirmado que el método de análisis para sodio y potasio en sales de rehidratación oral utilizado en el laboratorio de producción de medicamentos LAPROMED es exacto.

La precisión es un punto importante en la validación de métodos analíticos que expresa la variabilidad de un método de ensayo, en general la precisión engloba tres aspectos importantes y definitivos para validar un método en cuanto al grado de precisión del mismo, siendo los siguientes:

Repetitibilidad: en el caso del análisis específico para sodio (ver tabla 7) los resultados obtenidos dan a conocer que no existe variación alguna ya que las 10 repeticiones dan el mismo valor, siendo ese el resultado esperado, al observar la

desviación estándar y el coeficiente de variación puede verse que el valor es muy pequeño con respecto al valor que se exige para aceptar una metodología, en el caso del coeficiente de variación se sabe que el valor permitido es \leq al 2 % y en este caso se cumple sin ningún problema. Para los resultados obtenidos en el análisis de potasio (ver tabla 8) se puede ver que al igual que en sodio se obtuvieron los valores esperados, es importante mencionar que los valores obtenidos se encuentran dentro de los límites permitidos para la cuantificación de sodio y potasio; por lo que el método es repetitivo.

Reproducibilidad: para evaluar este aspecto se realizó un diseño factorial de acuerdo a las variables influyentes en el desarrollo del método, siendo este $3 \times 3 \times 2$, lo cual nos indica 3 estándares, 3 analistas y 2 balanzas. En los cuadros 9 y 10 se ven los resultados obtenidos para sodio; en cuanto a comparación de analistas puede verse a simple vista que hay una leve variación entre un analista y otro, sin embargo para mayor confiabilidad se plantean los resultados de una mejor forma en la tabla 11 en la cual se observan los resultados obtenidos del análisis de varianza (ANOVA) para las variables del diseño factorial, además se graficó utilizando diagramas de caja, los cuales nos dan una mejor perspectiva para las variables que se evaluaron. En la tabla 11 el valor más importante y que nos da a conocer la reproducibilidad del método de manera mas confiable es el valor “p”, que para este caso se obtuvo que no hay diferencia entre balanzas ya que el valor es de 0.5732 y esta dentro de los límites, además al observar la grafica 3 en la cual se plantean los resultados entre balanzas se observa que no hay diferencia

significativa entre medianas ni en la dispersión entre las balanzas 1 y 2. En cuanto a los analistas (tabla 11) se ve que tampoco existe alguna diferencia que nos indique que no hay reproducibilidad en el método ya que el valor “p” es de 0.8195 que también esta dentro de lo esperado, para confirmarlo podemos observar la grafica 4 en la que se ve que efectivamente no hay diferencia entre la mediana de los 3 analistas. Con respecto a los estándares utilizados en sodio si hay diferencia, ya que el valor “p” es 0.0000 sin embargo era lo esperado porque se utilizo 3 estándares a distintas concentraciones (ver tabla 11 y gráfica 5).

Para el caso de potasio se realizó el mismo procedimiento que para sodio, los resultados obtenidos se observan en la tabla 15 Y 16. El análisis de varianza (ANOVA) se plantea en la tabla 17, el valor que mas nos interesa es el de “p”, obteniendo que para el análisis entre balanzas es de 0.0005, a simple vista se observa que si hay diferencia (ver grafica 6), pero al hacer la consideración que varia únicamente por 0.1 unidades aproximadamente, se afirma que no es un valor crítico para el análisis por lo que se considera como aceptable; en cuanto a los valores de “p” para el análisis entre analistas se observa que el valor obtenido $p=0.8320$ es lo esperado (ver tabla 17) y al graficar (ver gráfica 7) se ve que no hay diferencia entre la mediana de los analistas; con respecto al los estándares el valor $p= < 0.00001$ da a conocer que hay diferencia (ver gráfica 8), pero era lo esperado por la variación de las concentraciones que es lo indicado en la metodología de análisis.

En general tanto en sodio como en potasio se obtuvieron resultados parecidos y se puede comprobar que al hacer el ANOVA las variables planteadas en el diseño factorial no representan un peligro para la reproducibilidad del método de análisis de sales de rehidratación oral realizado en LAPROMED.

Perfil de precisión: para la evaluación de estos aspectos se tomo en cuenta los valores obtenidos en la linealidad del método, además de obtener la desviación estándar y el coeficiente de variación para cada uno de los estándares. Para sodio (ver tabla 16 y 17) y potasio (ver tabla 18 y 19) se ve el detalle de los valores tanto de la desviación estándar como de los valores del coeficiente de variación, sabiendo que el valor máximo permitido para el coeficiente de variación es no mayor del 2% podemos decir que en sodio así como en potasio si se cumple; lo cual nos indica que la variabilidad entre la concentración conocida (x) y la respuesta obtenida (y) es aceptable y el perfil de precisión de este método es el adecuado y nos da a conocer que el grado de concordancia tanto en sodio como en potasio es proporcional y aceptable en cuanto al valor teórico como al valor experimental (ver grafica 5 y 6). Una vez evaluados estos tres aspectos que definen la precisión del método y ya analizados los resultados en conjunto se puede observar que el método en cuestión posee precisión.

10. CONCLUSIONES

10.1 La metodología de análisis para la cuantificación de sodio y potasio por fotometría de llama en suero de rehidratación oral producido en LAPROMED es válido.

10.2 La metodología utilizada en LAPROMED para la cuantificación de sodio y potasio en sales de rehidratación oral es específica para determinar estos dos analitos.

10.3 El método para cuantificar sodio y potasio de las sales de rehidratación oral es lineal, exacto y preciso.

10.4 La diversidad de analistas que ejecuten el método de cuantificación de sodio y potasio en sales de rehidratación oral no representa un factor de riesgo en la reproducibilidad de la metodología.

10.5 La variación de balanzas para la preparación de las muestras en el procedimiento de análisis de cuantificación de sodio y potasio en sales de rehidratación oral no representa una variable que influya en la precisión y reproducibilidad del método.

11. RECOMENDACIONES

11.1 Establecer un calendario donde como mínimo cada seis meses se verifique la selectividad, linealidad, exactitud y precisión del método, para mantener actualizada la presente investigación.

11.2 Realizar como mínimo cada seis meses el mantenimiento preventivo para los aparatos que se utilizan en la ejecución de la metodología de cuantificación de sodio y potasio en sales de rehidratación oral.

11.3 Realizar la validación de las metodologías utilizadas en la evaluación del control de calidad para los sueros de rehidratación oral, siendo estas la metodología de cuantificación de glucosa, citrato de sodio.

12. REFERENCIAS

1. ALFONSO R.G. 2003. Farmacia Remington. 2^a . Edición, Madrid, España. Editorial Panamericana. Tomo I. 98p
2. Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (A.E.F.I.). 2001. Validación de métodos analíticos. Barcelona, España.
3. Asociación Española de la Industria Farmacéutica. 1996. Validación de procesos de producción formas no estériles. Madrid, España.
4. AZZIMONTI RENZO J,C, 2001. Bioestadística aplicada a bioquímica y farmacia. Argentina. Editorial Universitaria.
5. CASTILLO B. Y GONZALES R. 2000. Protocolo de validación de métodos analíticos, para la cuantificación de fármacos. Revista cubana de farmacia. 6(5):4-4.
6. CELADA JUAREZ E. 2007. Determinación de costo de análisis de producto terminado y tiempos de llenado en Sales de rehidratación Oral producidos en LAPROMED. Guatemala. 17p.
7. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 2001. Variación de contenido. 397p .

8. Food and Drug Administration CDER.2000. Guidance for Industry: Analytical Procedure and Methods Validation. Draft Guidance.
9. FRANCO FLORES A.C.2002 Guía para validar métodos analíticos nuevos o modificados para productos farmacéuticos. 89p. Tesis Licenciada Química Farmacéutica. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Escuela de Química Farmacéutica.
10. GODINEZ G. 2007. Guatemala. ¿Porque Validar Método Analíticos? (en línea). Consultado el 15 de mayo de 2007. Disponible en <http://WWW.metodosanaliticosqfpolanco>
11. GODINEZ G. 2007. Guatemala. Método Estadístico para tamaño de muestra, Epidat 3.0, Calidad de Lotes. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Departamento de Estadística (Entrevista Personal).
12. GODINEZ G. 2007. Guatemala. Técnicas Instrumentales, Fotometría de llama (en línea). Consultado el 15 de junio de 2007. Disponible en WWW.elergonomista.com
13. GODINEZ G.2007. Guatemala. Epidat 3.1 (en línea) consultado el 29 de abril 2007. Disponible en <http://dxsp.sergas.es>.

14. GODINEZ G.2008. Guatemala. Composición química de NaCl, KCl.
consultado el 2 de febrero 2008. Disponible en WWW.quiminet.com.mx
15. GODINEZ G.2008. Guatemala. Estadística pendiente de una recta.
Consultado el 28 de enero 2008. Disponible en
es.wikipedia.org/wiki/Pendiente_de_una_recta
16. GODINEZ G.2008. Guatemala. Prueba de t de student. Consultado el 25 de
enero de 2008. Disponible en <http://tdstudent.html>
17. ICH Q2B. Guideline on the Validation of Analytical Procedures
Methodology; Availability. Noviembre 2000.
18. JURAN J.M. Y GRYNA F.M. 2000. Manual de la Calidad. Trad. Joseph
Vallhonrat. 4ª.- edición. Madrid, España. Editorial MC: Graw-Hill. 1:
19. LOPEZ PICAZOJ.J. 2001. Aceptación de Muestra por Lotes. Aten Primaria.
27(8):547-53
20. Manual de operación Fotómetro de llama Jenway. Modelo pfp7 y pfp7/c.
2001. Sección 4.
21. Manual de Procedimientos Estándares de Operación LAPROMED. 2003.
Calibración del Fotómetro de Llama Jenway. Guatemala. PEO No.Cc.61-03.

22. Manual de Procedimientos Estándares de Operación LAPROMED. 2003. Operación del Fotómetro de Llama Jenway. Guatemala. PEO No.Cc.60-03.
23. MARTINEZ ALDERETE M.M. 2004. Validación de la Metodología Analítica para la Cuantificación de Sodio y Potasio por Fotometría de Llama, en soluciones parenterales de gran volumen. Santiago de Chile. 1:76-76
24. Normas COGUANOR NTG/ISO/IEC 17025. 2005. "Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración". Guatemala.
25. PATH (Program for Appropriate Technology in Health) 2007. Quality Control Manual, Prepared By Immunization and Oral Rehydration Therapy Service for Chile Survival Project. Trad. Luisa Salazar. Guatemala. 72p.
26. Reglamento técnico centroamericano RCTA. 2006. validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Guatemala. 11.03.39: 06
27. SATURNO PJ. 2000 La distribución binomial y el muestreo para la aceptación de lotes (LQAS) como métodos de monitorización en servicios de salud. *Calidad Asistencial*. España. 5:12-12
28. The United States Pharmacopeia de National Formulary USP XXIV, NF24.1994. Convention. meeting at Washington. 2150p.

ANEXOS

ANEXO 1

GLOSARIO

- **Analito:** sustancia contenida en la muestra sometida a análisis.
- **Blanco:** muestra preparada para la lectura final pero que no contiene analitos.
- **Cantidad declarada o nominal:** es la cantidad o concentración teórica de un analito. Cuando se trabaja con concentraciones relativas se Eida el valor de 100.
- **Cantidad estimada o calculada:** es la cantidad o concentración de analito hallada tras la ejecución del método analítico, ya sea por un método directo o por comparación con uno o varios estándares.
- **Coefficiente de variación o desviación estándar relativa:** es la desviación estándar expresada como función de la media, se expresa normalmente en porcentaje.
- **Concentración conocida:** valor que se asigna a la concentración que se acepta como verdadero en dicha muestra.
- **Desviación estándar:** estadístico básico indicativo de la dispersión o variabilidad de los resultados.
- **Diseño factorial:** plan experimental cuya característica mas destacable es que los valores de todos lo factores se van moviendo simultáneamente, normalmente se utilizan los diseños de dos niveles, de modo que un diseño factorial completo de K con dos niveles por factor conduce a un número de

experimentos agua a 2^k .

- **Estándar de referencia:** es un producto homogéneo con propiedades específicas (identidad, pureza, riqueza) que ha sido analizado y certificado por un organismo cualificado y homologado.
- **Fiabilidad:** capacidad de un método analítico para mantener durante períodos de tiempo apropiados los criterios fundamentales de validación.
- **Muestra:** producto resultante de una operación de muestreo, el cual debe ser representativo y con un determinado carácter aleatorio.
- **Recta de regresión:** relación entre las respuestas instrumentales que produce un analito y las concentraciones del mismo.
- **Selectividad:** capacidad de un método analítico para medir y/o identificar simultáneamente o separadamente los analitos de interés de forma inequívoca sin interferencias de impurezas, productos de degradación, compuestos relacionados, excipientes u otras sustancias presentes en la matriz de la muestra.
- **Sesgo:** error sistemático o determinado, en general se refiere a los errores que se cometen al efectuar el análisis, principalmente este tipo de error va en una sola dirección y se deben a fallos de instrumentos, por lo que pueden y deben ser corregidos.
- **Test o prueba de hipótesis (t de student):** prueba que permite decidir con un cierto riesgo de error cual de las hipótesis es verdadera, existen dos tipos: hipótesis nula H_0 es la que se puede probar o contrastar; hipótesis alternativa H_a esta no se somete a prueba pero es la mas verosímil cundo

la prueba estadística no conduce a rechazar la hipótesis nula) es la verdadera.

- **Validación:** es el proceso mediante el cual se establece por medio de estudios de laboratorio que las características representativas del método analítico cumplen con las especificaciones para su aplicación.
- **Valor estimado en una recta de regresión:** en una recta de ecuación $y = bx + a$, son los valores estimados de la variable dependiente (y) obtenidos al aplicar dicha ecuación sobre los valores teóricos (x).
- **Valor recalculado en una curva de calibración:** en una recta de regresión de ecuación $y = bx + a$, son los valores estimados de la variable independiente (x) obtenidos al aplicar dicha ecuación sobre los puntos experimentales (y) es decir son los resultados de las concentraciones de los patrones recalculados utilizando la propia ecuación de la curva de calibración.
- **Varianza:** se define como el cuadrado de la desviación estándar.

ANEXO 2

TABLA DE LA DISTRIBUCION t -Student

La tabla da áreas $1 - \alpha$ y valores , donde, , y donde T tiene distribución t -Student con r grados de libertad..

$1 - \alpha$

R	0.75	0.80	0.85	0.90	0.95	0.975	0.99	0.995
1	1.000	1.376	1.963	3.078	6.314	12.706	31.821	63.657
2	0.816	1.061	1.386	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925
3	0.765	0.978	1.250	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841
4	0.741	0.941	1.190	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604
5	0.727	0.920	1.156	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032
6	0.718	0.906	1.134	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707
7	0.711	0.896	1.119	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499
8	0.706	0.889	1.108	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355
9	0.703	0.883	1.100	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250
10	0.700	0.879	1.093	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169
11	0.697	0.876	1.088	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106
12	0.695	0.873	1.083	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055
13	0.694	0.870	1.079	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012
14	0.692	0.868	1.076	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977
15	0.691	0.866	1.074	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947
16	0.690	0.865	1.071	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921
17	0.689	0.863	1.069	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898
18	0.688	0.862	1.067	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878
19	0.688	0.861	1.066	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861

20	0.687	0.860	1.064	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845
21	0.686	0.859	1.063	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831
22	0.686	0.858	1.061	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819
23	0.685	0.858	1.060	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807
24	0.685	0.857	1.059	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797
25	0.684	0.856	1.058	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787
26	0.684	0.856	1.058	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779
27	0.684	0.855	1.057	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771
28	0.683	0.855	1.056	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763
29	0.683	0.854	1.055	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756
30	0.683	0.854	1.055	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750
40	0.681	0.851	1.050	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704
60	0.679	0.848	1.046	1.296	1.671	2.000	2.390	2.660
120	0.677	0.845	1.041	1.289	1.658	1.980	2.358	2.617
∞	0.674	0.842	1.036	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576

ANEXO 3

Resultados en lecturas

LINEALIDAD SODIO

Lecturas		
St	c. conocida	respuesta
90%	90	92
	90	92
	90	91
	90	92
	90	91
	Media	
95%	95	96
	95	96
	95	96
	95	95
	95	96
	Media	
100%	100	100
	100	100
	100	100
	100	100
	100	100
	Media	
105%	105	105
	105	104
	105	104
	105	104
	105	105
	Media	
110%	110	108
	110	108
	110	107
	110	108
	110	108
	Media	

LINEALIDAD POTASIO

Lecturas		
St	c. conocida	respuesta
90%	90	92
	90	92
	90	91
	90	92
	90	92
	Media	91.8
95%	95	96
	95	96
	95	96
	95	95
	95	96
	Media	95.8
100%	100	100
	100	100
	100	100
	100	100
	100	100
	Media	100
105%	105	104
	105	105
	105	105
	105	105
	105	105
	Media	105
110%	110	108
	110	108
	110	109
	110	108
	110	108
	Media	108

PRECISION SODIO

- REPRODUCIBILIDAD

		Balanza 1					
st	analista/ repeticion	1	2	3	Media	sd	varianza
95	1	96	95	96	95.67	0.58	0.33
	2	96	97	96	96.33	0.82	0.33
	3	97	98	97	97.33	1.26	0.33
100	1	100	100	100	100	0.00	0.00
	2	100	100	100	100	0.00	0.00
	3	100	100	100	100	0.00	0.00
105	1	105	104	104	104.33	0.53	0.33
	2	104	103	104	103.67	0.58	0.33
	3	103	103	104	103.33	0.58	0.33

		Balanza 2					
st	analista/ repeticion	1	2	3	Media	sd	varianza
95	1	95	95	96	95.67	0.50	0.33
	2	98	97	98	97.67	1.41	0.33
	3	96	97	96	96.33	0.82	0.33
100	1	100	100	100	100	0.00	0.00
	2	101	100	100	100	0.00	0.00
	3	100	100	100	100	0.00	0.00
105	1	104	104	104	104	0.58	0.00
	2	104	104	105	104.33	0.58	0.33
	3	104	104	104	104	0.00	0.00

REPRODUCIBILIDAD POTASIO

		Balanza 1					
st	analista/ repeticion	1	2	3	Media	sd	varianza
95	1	95	96	95	95.33	0.50	0.33
	2	96	96	96	96	0.50	0.00
	3	96	96	96	96	0.50	0.00
100	1	101	100	100	100.33	0.43	0.33
	2	99	100	100	99.68	0.00	0.00
	3	100	100	100	100	0.00	0.00
105	1	105	105	104	104.67	0.25	0.33
	2	104	104	103	103.67	0.58	0.33
	3	104	105	104	104.33	0.58	0.33

		Balanza 2					
st	analista/ repeticion	1	2	3	Media	sd	varianza
95	1	96	96	97	96.33	0.82	0.33
	2	98	96	97	97	1.29	1.00
	3	96	96	96	96	0.50	0.00
100	1	100	100	100	100	0.00	0.00
	2	101	101	101	101	0.00	0.00
	3	100	100	100	100	0.00	0.00
105	1	105	105	105	105	0.54	0.00
	2	105	104	105	104.33	0.58	0.33
	3	105	105	105	105	105	0.00

ANEXO 4

FOTOMETRÍA

FOTÓMETRO DE LLAMA JENWAY MODELO PFP7

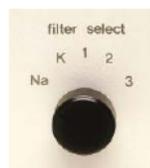
JENWAY

Este fotómetro de llama ha sido diseñado como un instrumento de bajo coste para la determinación rutinaria de sodio y potasio. Opcionalmente se pueden suministrar filtros para la determinación de bario, calcio y litio. Es un fotómetro de emisión de llama de un canal y de baja temperatura que dispone de un display digital para facilitar las lecturas con resolución de 0,1 ppm y de un dispositivo de protección en caso de fallo en la llama. Salida para registrador.
Para su funcionamiento requiere un compresor y un regulador de combustible (propano, butano, etc.)



Especificaciones técnicas

Rangos	0-199,9
Límites de detección	Na/K: $\leq 0,2$ ppm, Li: $\leq 0,25$ ppm, Ca: ≤ 15 ppm, Ba: ≤ 30 ppm
Reproducibilidad	$\leq 1\%$ / Coeficiente de variación para 20 muestras consecutivas utilizando Na 10ppm ajustado para leer a 50
Linealidad	Superior al 2% cuando la concentración de 3ppm Na/K y 5ppm Li se ajustan para leer a 100
Especificidad	La interferencia de Na, K y Li de concentración igual al elemento de ensayo será $< 0,5\%$
Registro o/p Suministros	Nominal 1,00V para una lectura de 100,0 Eléctrico 190-250V @ 50Hz Aire: Sin humedad ni aceite, 6 litros/minuto @ 1kg/cm ² (14psi) Combustible: Propano, Butano, Gas Natural o LPG
Tamaño	420x360x300mm
Peso	8Kgs



Descripción	Referencia
Fotómetro de llama modelo PFP7 para Na y K (Requiere compresor y regulador de gas)	021-500094
Compresor de aire silencioso modelo 8515	021-535001
Filtro de calcio*	021-500125
Filtro de litio*	021-500126
Filtro de bario*	021-500127
Regulador gas butano	287-0000RB
Regulador gas propano	021-500179
Regulador gas natural	021-500180
Funda protectora	021-500134
Juego de herramientas	021-500172
1 l solución de limpieza	021-025016
Tubo de entrada al nebulizador	021-500193
Capilar para limpiar (150x3mm)	021-500194
Nebulizador	021-500019

*Se recomienda que estos filtros se monten en fábrica.

OTROS • FOTOMETRÍA

ANEXO 5

FOTOGRAFÍAS

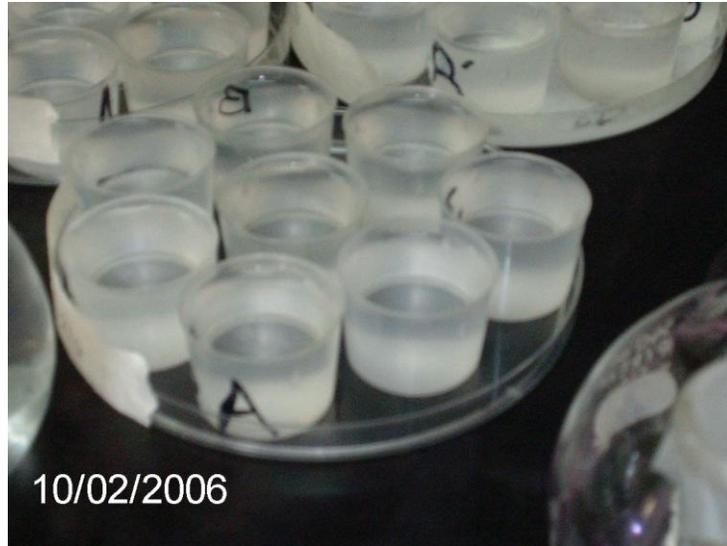
No. 1
Pesando las muestras



No. 2
Preparación de los estándares



No. 3
Estándares previos a la lectura en el fotómetro de llama



No.4
Lectura de las muestras en el fotómetro de llama

