



Universidad de San Carlos de Guatemala  
Facultad de Ingeniería  
Escuela de Ingeniería Química

**VALIDACIÓN DEL ENSAYO ÍNDICE DE REFRACCIÓN BASADO EN LA GUÍA OGA-GEC-016 v.1 POLÍTICA DE SELECCIÓN Y VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYO EN ACEITES ESENCIALES DE ORÉGANO Y LAUREL, EN EL LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES LIEXVE-CII-USAC**

**Rubén Darío Cordón Alvizures**

Asesorado por la Inga. Telma Maricela Cano Morales  
y el Ing. Mario José Mérida Meré

Guatemala, febrero de 2013

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**VALIDACIÓN DEL ENSAYO ÍNDICE DE REFRACCIÓN BASADO EN LA GUÍA OGA-GEC-016 v.1 POLÍTICA DE SELECCIÓN Y VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYO EN ACEITES ESENCIALES DE ORÉGANO Y LAUREL, EN EL LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES LIEXVE-CII-USAC**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA  
FACULTAD DE INGENIERÍA

POR

**RUBÉN DARÍO CORDÓN ALVIZURES**

ASESORADO POR LA INGA. TELMA MARICELA CANO MORALES  
Y EL ING. MARIO JOSÉ MÉRIDA MERÉ

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

**INGENIERO QUÍMICO**

GUATEMALA, FEBRERO DE 2013

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE INGENIERÍA



**NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA**

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
VOCAL I	Ing. Alfredo Enrique Beber Aceituno
VOCAL II	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
VOCAL III	Inga. Elvia Miriam Ruballos Samayoa
VOCAL IV	Br. Walter Rafael Véliz Muñoz
VOCAL V	Br. Sergio Alejandro Donis Soto
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

**TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO**

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
EXAMINADOR	Ing. Otto Raúl De León De Paz
EXAMINADOR	Ing. Erwin Manuel Ortiz Castillo
EXAMINADOR	Ing. Victor Herbert De León Morales
SECRETARIA	Inga. Marcia Ivónne Véliz Vargas

## HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

**VALIDACIÓN DEL ENSAYO ÍNDICE DE REFRACCIÓN BASADO EN LA GUÍA OGA-GEC-016 v.1 POLÍTICA DE SELECCIÓN Y VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYO EN ACEITES ESENCIALES DE ORÉGANO Y LAUREL, EN EL LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES LIEXVE-CII-USAC**

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha febrero de 2012.



**Rubén Darío Cordón Alvizures**



CENTRO DE INVESTIGACIONES DE INGENIERIA  
FACULTAD DE INGENIERIA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



Guatemala, 22 de Noviembre de 2012

Ingeniero  
Victor Manuel Monzón Valdez  
Director Escuela de Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería  
Universidad de San Carlos de Guatemala  
Presente.

Ingeniero Monzón:

Por medio de la presente HACEMOS CONSTAR que hemos revisado y dado nuestra aprobación al informe final del trabajo de graduación **VALIDACIÓN DEL ENSAYO "ÍNDICE DE REFRACCIÓN" BASADO EN LA GUÍA OGA-GEC-016 v.1 "POLÍTICA DE SELECCIÓN Y VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYO" EN ACEITES ESENCIALES DE ORÉGANO Y LAUREL, EN EL LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES LIEXVE-CII-USAC**, del estudiante de Ingeniería Rubén Darío Cordón Alvizures quien se identifica con el carné número 2003-12872.

Sin otro particular me suscribo de usted.

Atentamente

  
Ing. Mario José Mérida Mere  
Coordinador

Laboratorio de Investigación  
de Extractos Vegetales -LIEXVE-  
Sección Química Industrial CII / USAC  
Asesor

  
Inga. Telma Maricela Cano Morales  
Directora  
Centro de Investigaciones de Ingeniería  
Universidad de San Carlos de Guatemala  
Asesora





UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

Guatemala, 23 de noviembre de 2012  
Ref. EI.Q.TG-IF.059.2012

Ingeniero  
**Víctor Manuel Monzón Valdez**  
DIRECTOR  
Escuela Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Monzón:

Como consta en el Acta TG-016-2012-IF le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

**INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADUACIÓN**

Solicitado por el estudiante universitario: **Rubén Darío Cordón Alvizures**

Identificado con número de carné: **2003-12872**

Previo a optar al título de INGENIERO QUÍMICO.

Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

**VALIDACIÓN DEL ENSAYO "ÍNDICE DE REFRACCIÓN" BASADO EN LA GUÍA OGA-GEC-016 V.1 "POLÍTICA DE SELECCIÓN Y VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYO" EN ACEITES ESENCIALES DE ORÉGANO Y LAUREL, EN EL LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES LIEXVE-CII-USAC**

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por los Ingenieros Químicos: **Mario José Mérida Meré y Telma Maricela Cano Morales.**

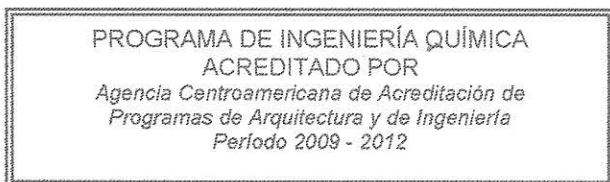
Habiendo encontrado el referido informe final del trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Ing. Estuardo Monroy  
COORDINADOR DE TERNA  
Tribunal de Revisión  
Trabajo de Graduación



C.c.: archivo



ACAAI

Agencia Centroamericana de Acreditación de Programas de Arquitectura y de Ingeniería



El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el Informe del Trabajo de Graduación del estudiante, **RUBÉN DARÍO CORDÓN ALVIZURES** titulado: **"VALIDACIÓN DEL ENSAYO ÍNDICE DE REFRACCIÓN BASADO EN LA GUÍA OGA-GEC-16 v.1 POLÍTICA DE SELECCIÓN Y VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYO EN ACEITES ESENCIALES DE ORÉGANO Y LAUREL, EN EL LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES LIEXVE-CII-USAC"**. Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.

Ing. Víctor Manuel Monzón Valdez  
DIRECTOR  
Escuela de Ingeniería Química



Guatemala, febrero 2013

Cc: Archivo  
VMMV/ale

Universidad de San Carlos  
de Guatemala



Facultad de Ingeniería  
Decanato

DTG. 143 .2013

El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al Trabajo de Graduación titulado: **VALIDACIÓN DEL ENSAYO ÍNDICE DE REFRACCIÓN BASADO EN LA GUÍA OGA-GEC-016 v. 1 POLÍTICA DE SELECCIÓN Y VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYO EN ACEITES ESENCIALES DE ORÉGANO Y LAUREL, EN EL LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES LIEXVE-CII-USAC**, presentado por el estudiante universitario: **Rubén Darío Cerdón Alvizures**, autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE:

Ing. Murphy Olimpo Paiz Recinos  
Decano



Guatemala, 27 de febrero de 2013

/gdech



## **ACTO QUE DEDICO A:**

### **Dios**

Por tener la dicha de conocerlo a Él que es fiel y verdadero a mi vida, a quien entrego toda gloria y honra por siempre y para siempre.

### **Mis padres**

Rubén Darío Cordón Aldana y Blanca Estela Alvizures, por su esfuerzo y dedicación todos estos años para que pudiera realizar este logro.

### **Mis hermanos**

Luis Eduardo Cordón y Sonia Valiente, por ser mis compañeros y mejores amigos en esta vida, siempre los aprecio y dedico éste a ustedes.

### **Mi familia**

Por ser especiales para mí y apoyarme siempre.

### **Mis amigos**

Por aconsejarme y estar conmigo en todo momento apoyándome.

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	V
LISTA DE SÍMBOLOS.....	VII
GLOSARIO.....	IX
RESUMEN.....	XV
OBJETIVOS.....	XVII
INTRODUCCIÓN.....	XIX
1. ANTECEDENTES.....	1
2. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1. Política de la OGA sobre la selección y validación de los métodos de ensayo.....	3
2.2. Concepto y alcance de la validación.....	3
2.2.1. Establecimiento de las condiciones.....	4
2.2.2. Establecimiento del alcance de la validación.....	4
2.2.3. Tipos de validación de métodos.....	5
2.2.4. Proceso de validación.....	6
2.2.5. Documentos operativos de validación.....	6
2.3. Selección de los métodos de ensayo.....	6
2.3.1. Métodos normalizados.....	7
2.3.2. Métodos no normalizados.....	7
2.3.3. Métodos desarrollados por el laboratorio.....	9
2.4. Validación de los métodos de ensayo.....	9
2.4.1. Revisión de los métodos de ensayo incluidos en el alcance.....	13

2.4.2.	Validación para los análisis químicos .....	15
2.5.	Evaluación de los parámetros de desempeño del método .....	18
2.5.1.	Exactitud .....	18
2.5.2.	Repetibilidad.....	19
2.5.3.	Precisión intermedia .....	19
2.5.4.	Especificidad .....	19
2.5.5.	Límite de detección .....	20
2.5.6.	Límite de cuantificación .....	20
2.5.7.	Linealidad .....	20
2.5.8.	Rango.....	20
2.5.9.	Robustez .....	21
2.5.10.	Reproducibilidad.....	21
3.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	23
3.1.	Variables .....	23
3.2.	Delimitación del campo de estudio .....	24
3.3.	Tipo de estudio.....	25
3.4.	Recursos humanos disponibles.....	25
3.5.	Recursos materiales disponibles.....	25
3.6.	Técnica cualitativa o cuantitativa .....	26
3.7.	Recolección y ordenamiento de la información .....	26
3.7.1.	Trabajo inicial .....	26
3.7.2.	Diagrama de flujo .....	27
3.7.3.	Trabajo de campo.....	29
3.7.4.	Desarrollo del trabajo .....	29
3.7.5.	Presentación del trabajo .....	31
3.8.	Análisis estadístico.....	31
3.9.	Validación del ensayo Índice de refracción.....	39
3.9.1.	Procedimiento del ensayo .....	39

3.9.2.	Trazabilidad de la medición.....	41
3.9.2.1.	Generalidades.....	41
3.9.2.2.	Patrones y materiales de referencia .....	42
3.9.3.	Límite de detección.....	42
3.9.4.	Selectividad .....	45
3.9.5.	Exactitud.....	45
3.9.6.	Precisión.....	46
4.	PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS .....	47
	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS .....	53
	CONCLUSIONES.....	55
	RECOMENDACIONES.....	57
	BIBLIOGRAFÍA.....	59
	APÉNDICE .....	61



## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

### FIGURAS

1. Diagrama de ordenamiento de la información .....28

### TABLAS

- I. Objetivo de la validación según el tipo de procedimiento de ensayo .....5
- II. Definición operacional de las variables.....23
- III. Análisis 1 Laurel *Litsea guatemalensis*  
10 libras Rep. 1 Rend. 0,3447 %.....31
- IV. Análisis 2 Laurel *Litsea guatemalensis*  
10 libras Rep. 1 Rend. 0,3447 %.....32
- V. Análisis 1 Laurel *Litsea glaucescens*  
7,5 libras Rep. 1 Rend. 0,5925 %.....33
- VI. Análisis 2 Laurel *Litsea glaucescens*  
7,5 libras Rep. 1 Rend. 0,5925 %.....33
- VII. Análisis 1 Orégano *Lippia graveolens*  
7,5 libras Rep. 1 Rend. 4,17 %.....34
- VIII. Análisis 2 Orégano *Lippia graveolens*  
7,5 libras Rep. 1 Rend. 4,17 %.....35
- IX. Nivel de probabilidad a 95% en base al número de observaciones .....38
- X. Índice de Refracción solución Orégano 7,5 Lb Rep. 1 Rend. 4,17 % ....43
- XI. Resultado 1 Laurel *Litsea guatemalensis*  
10 libras Rep. 1 Rend. 0,3447 %.....47

XII.	Resultado 2 Laurel <i>Litsea guatemalensis</i>	
	10 libras Rep. 1 Rend. 0,3447 % .....	48
XIII.	Resultado 1 Laurel <i>Litsea glaucescens</i>	
	7,5 libras Rep. 1 Rend. 0,5925 % .....	48
XIV.	Resultado 2 Laurel <i>Litsea glaucescens</i>	
	7,5 libras Rep. 1 Rend. 0,5925 % .....	49
XV.	Resultado 1 Orégano <i>Lippia graveolens</i>	
	7,5 libras Rep. 1 Rend. 4,17 % .....	50
XVI.	Resultado 2 Orégano <i>Lippia graveolens</i>	
	7,5 libras Rep. 1 Rend. 4,17 % .....	50

## LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
$X_o$	Dato observado
$X_t$	Dato teórico
$S$	Desviación estándar
$e$	Error absoluto
$E$	Error relativo
$\mu$	Intervalo de confianza de la media
$\bar{X}$	Media
$n$	Número de datos
$\sqrt{\quad}$	Raíz cuadrada
$\Sigma$	Sumatoria
$  $	Valor absoluto
$X_1, \dots, X_n$	Valor observado
$t$	Valor teórico de la <i>t</i> de <i>student</i>
$\sigma$	Varianza





## GLOSARIO

<b>Desviación</b>	Error sistemático de un proceso de medición.
<b>Desviación negativa</b>	Ocurre, en análisis cualitativo, cuando el método y el método de referencia da un resultado positivo. Esta desviación se convierte en un resultado negativo falso cuando puede demostrarse que el resultado verdadero es positivo.
<b>Desviación positiva</b>	Ocurre, en análisis cualitativo, cuando el método alternativo da un resultado positivo sin confirmación y el método de referencia da un resultado negativo. Esta desviación se convierte en un resultado positivo falso cuando puede demostrarse que el resultado verdadero es negativo.
<b>Ensayo/Prueba</b>	Determinación de una o más características de acuerdo con un procedimiento.
<b>Especificidad</b>	Capacidad de un método de determinar inequívocamente un analito/parámetro en presencia de los otros componentes de la muestra (matriz).
<b>Exactitud</b>	Grado de concordancia entre el valor aceptado como un valor verdadero convencional, o un valor de referencia, y el valor encontrado.

<b>Exactitud relativa</b>	Grado de concordancia entre los resultados del método evaluado y los obtenidos utilizando un método de referencia reconocido.
<b>Linealidad</b>	Capacidad de un método analítico para generar resultados directamente proporcionales a la concentración del analito o valor del parámetro de la muestra, dentro de un rango.
<b>Límite de cuantificación</b>	Concentración mínima de analito en la matriz de una muestra que puede ser cuantificada con una exactitud y precisión aceptable bajo condiciones analíticas específicas.
<b>Límite de detección</b>	Concentración mínima de analito en la matriz de una muestra que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo condiciones analíticas específicas.
<b>Método normalizado</b>	Método analítico desarrollado por un organismo de normalización u otro organismo reconocido cuyos métodos son generalmente aceptados por el sector técnico correspondiente.
<b>Método no normalizado</b>	Método analítico desarrollado por un tercero o que ha sido adaptado por el laboratorio a partir de un método normalizado.

**Muestra blanco**

Material que es similar en matriz y estado físico de preparación a las muestras que están siendo analizadas como muestras problema, pero que no contiene analito nativo, y que es usado con el propósito de monitorizar diferentes aspectos del proceso analítico. Los materiales certificados de referencia constituyen las muestras blanco ideales, pero si no se tienen se usan materiales de referencia no certificados, comerciales o preparados en el laboratorio, que estén caracterizados y sean lo más similar posible a la muestra problema en todo, menos en el analito.

**Muestra de control**

Material de composición conocida usado con el propósito de monitorizar el proceso analítico, que debe ser similar a las muestras que están siendo analizadas como muestras problema, en cuanto a la matriz, el estado físico de preparación y el rango de concentración del analito.

**Precisión**

Grado de concordancia entre los valores de una serie repetida de ensayos, utilizando una muestra homogénea, bajo condiciones establecidas. La precisión puede ser considerada a tres niveles: repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad.

<b>Precisión intermedia</b>	Medida de la precisión de los resultados de un método de ensayo en condiciones diferentes de analista/observador, día, equipo y lote de reactivos, dentro del mismo laboratorio.
<b>Rango</b>	Intervalo entre el valor máximo y mínimo de la concentración del analito / el parámetro de la muestra, para el cual ha sido demostrado que el nivel de precisión, exactitud y linealidad del método de análisis es adecuado.
<b>Repetibilidad</b>	Grado de concordancia entre los resultados de mediciones sucesivas del mismo mesurando, realizadas en las mismas condiciones de medición.
<b>Reproducibilidad</b>	Grado de concordancia entre los resultados de mediciones del mismo mesurando realizadas en diferentes condiciones de medición.
<b>Resistencia o fortaleza</b>	Estabilidad del resultado producido cuando hay variaciones en los pasos del método. Se expresa normalmente como la falta de influencia de variables operacionales y ambientales en los resultados del método analítico. Es una medición de reproducibilidad de los resultados, bajo la variación de condiciones normalmente expresadas de laboratorio a laboratorio y de analista a analista.

<b>Robustez</b>	Capacidad de un procedimiento analítico de no ser afectado por pequeñas pero deliberadas variaciones en los parámetros del método provee una indicación de su confiabilidad en condiciones de uso normales.
<b>Selectividad</b>	Capacidad de un método de detectar simultáneamente o separadamente analitos diferentes presentes en una misma muestra.
<b>Sensibilidad</b>	Cambio de la respuesta del sistema de medición dividido por el cambio correspondiente en el estímulo.
<b>Validación</b>	Confirmación mediante el suministro de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos para una utilización o aplicación específica prevista.
<b>Verificación</b>	Confirmación mediante la aportación de pruebas objetivas, de que se han cumplido los requisitos especificados.



## RESUMEN

El presente informe contiene la información necesaria para validar la exactitud y precisión del método Índice de Refracción y otros parámetros de desempeño.

Para llevar a cabo la validación, primero se realizó una inducción al laboratorio, un estudio inicial de las condiciones, recursos, materiales con los que cuenta el laboratorio LIEXVE. Se incluyó la calificación de materiales y equipos, materiales de referencia y los reactivos. Además se definieron pruebas de validación a partir del ensayo de rutina.

Luego de obtenida la información, se procedió a ordenarla y por medio de un análisis cuantitativo se efectuó la tabulación de datos donde se obtuvieron los resultados necesarios para la Validación del ensayo, en la cual se desarrolló un procedimiento estándar del ensayo índice de refracción junto a las pruebas de Validación y Resultados.

El procedimiento de validación finaliza con un análisis estadístico donde se enumeraron y detallaron las ecuaciones que fueron utilizadas para obtener los valores de los parámetros, quedando debidamente validado el Ensayo en cuanto a precisión y exactitud.

Por último se da a conocer la metodología que se utilizó en la Validación del Índice de Refracción a las personas involucradas dentro del Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIEXVE) Sección Química Industrial del CII.





## **OBJETIVOS**

### **General**

Diseñar los requerimientos técnicos, parámetros de desempeño para la Validación del Método de Índice de Refracción Basado en la Guía OGA-GEC-016 v.1 “Política y Selección y Validación de Métodos de Ensayo” en Extractos Acuosa de Vegetales de Orégano y Laurel, en el Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales, LIEXVE-CII-USAC.

### **Específicos**

1. Realizar un estudio inicial de las condiciones, recursos materiales, legales y de gestión dentro del Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIEXVE).
2. Desarrollar un protocolo de validación para el ensayo de Índice de Refracción en el cual se incluya la calificación de materiales y equipos esto incluye la cristalería, los materiales de referencia y los reactivos.
3. Definir los experimentos de validación a través de un límite de cuantificación, dejando un procedimiento para el manual de Calidad del Laboratorio.
4. Desarrollar un procedimiento estándar de operación para establecer el Método que se utilizará para el análisis del Índice de Refracción, en diversidad de extractos vegetales, dejando un patrón de rutina.



## INTRODUCCIÓN

La validación de un método de ensayo es el proceso que establece, mediante amplios estudios de laboratorio, que los parámetros de desempeño del método de ensayo cumplen las especificaciones relacionadas con el uso previsto de los resultados del ensayo.

Se puede interpretar la validación del método de ensayo como el proceso de definir un requisito y confirmar que el método de ensayo bajo consideración tiene capacidades de desempeño consistentes con lo que la aplicación requiere. Es necesario evaluar la capacidad de desempeño del método. Los parámetros de desempeño del método son llevados a cabo utilizando equipos que están trabajando correctamente dentro de su especificación y adecuadamente calibrados.

El laboratorio que utiliza un método de ensayo determinado es el responsable por asegurar que el método haya sido validado. En este caso el Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIEXVE) utilizará el diseño de la Validación para la implementación del sistema. Toda la documentación que se lleve a cabo para el proyecto servirá como prueba de los requisitos para la Validación.

El trabajo de graduación propuesto busca evaluar el ensayo de Índice de Refracción, utilizando un diseño de validación bajo la Guía OGA-GEC-016 v.1 Política y Selección y Validación de Métodos de ensayo en el cual se incluya una definición de la aplicación, propósito y alcance del ensayo, además un análisis de los parámetros de desempeño.



## 1. ANTECEDENTES

La primera versión de la Guía OGA-GEC-016 Política y Selección y Validación de Métodos de Ensayo, contiene todos los requisitos que tienen que cumplir los laboratorios de ensayo y de calibración si desean demostrar que poseen un sistema de gestión, son técnicamente competentes y son capaces de generar resultados técnicamente válidos.

La validación de ensayos bajo la Guía OGA-GEC-016 v.1 ha sido estudiada desde puntos específicos en muchos laboratorios en Guatemala, incluyendo entre ellos aquellos que se dedican a realizar análisis de tipo ambiental, comercial, clínico, calibración, etc.

Lesbia María Ávila Mendizabal, de la Escuela de Química de la Facultad de Ingeniería USAC en el 2008 realizó la tesis: Validación de la calificación de desempeño de un sistema de tratamiento de agua, para un planta elaboradora de desinfectantes y detergentes líquidos, dejando un plan de muestreo involucrando a todo el sistema de agua para plantear una validación que se llevó a cabo tomando muestras diferentes y utilizando el método estadístico.

Luis Rodolfo Castro García, de la Escuela de Química de la Facultad de Ingeniería USAC en el 2010 realizó la tesis: Diagnóstico de la aplicación de un sistema de gestión de calidad a través de la norma ISO/IEC 17025:2005, en el Laboratorio de Físicoquímica, y validación del ensayo determinación de la constante de disociación ácida del rojo de metilo, en este trabajo de investigación se desarrolló un plan de calidad para el Laboratorio de Físicoquímica además de la determinación de la constante.

Marco Vinicio Mérida Cano, de la Escuela de Mecánica Industrial de la Facultad de Ingeniería USAC en el 2011 realizó la tesis: Monitoreo de Calidad en los Resultados de los ensayos de Densidad e Índice de Refracción realizados en el LIEXVE del Centro de Investigaciones de Ingeniería USAC, en la cual se proponen mejoras en la presentación y análisis de resultados de los ensayos estudiados, se establecen procedimientos y se proponen normativos.

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Política de la OGA sobre la selección y validación de los métodos de ensayo**

Es común que para la determinación de cierto analito en un tipo específico de muestra haya varios métodos analíticos disponibles, de orígenes muy variados. Existen muchas entidades nacionales e internacionales que publican métodos para los diferentes campos analíticos (físicos, químicos y biológicos) y sus aplicaciones. El laboratorio usuario de la metodología debe evaluar los diferentes métodos disponibles y seleccionar aquel que mejor se adecue a las necesidades y los recursos del caso.

El método seleccionado debe haber sido validado como parte de su desarrollo. Además, como parte de la implementación del método, el laboratorio usuario debe verificar su desempeño contra las especificaciones de la validación. La verificación del método, unida a la cualificación del equipo involucrado, permite evaluar el desempeño del sistema completo y, por ende, su adecuación al propósito del análisis, demostrando así el laboratorio usuario que domina el método y lo usa correctamente.

### **2.2. Concepto y alcance de la validación**

ISO define de forma genérica el concepto validación, indicando algunos de los elementos básicos del mismo. El concepto de validación y su alcance se confunde con los términos verificación de métodos y calibración de métodos. El alcance del término validación se aplica a múltiples aspectos como:



- Validación de equipos
- Validación de procesos
- Validación de planes
- Validación de limpieza
- Validación de sistemas (aire, gas, agua, etc.)
- Validación de ordenadores
- Validación de formación

### **2.2.1. Establecimiento de las condiciones**

En el caso más sencillo ya fueron establecidas por el cliente del laboratorio o por alguna instancia oficial. Si éste no es el caso, el responsable del ensayo debe establecerlas lo más de acuerdo posible con el cliente del laboratorio. Cuando no es posible contactar al cliente del laboratorio, debe definir las el responsable del ensayo de manera confiable y científica.

### **2.2.2. Establecimiento del alcance de la validación**

Se diferencian tres casos, en los que la dificultad de la validación aumenta del primero al tercero:

- Se trata de un método de ensayo estandarizado y normalizado, que se aplica exactamente como está descrita en la norma.
- Se trata de una modificación a un método de ensayo normalizado, por ejemplo, se hicieron modificaciones a los métodos descritos en la norma que pueden tener una repercusión sobre la calidad de los resultados. Ejemplos: un método de extracción diferente, otra matriz.

- Se trata de un método de ensayo interno, elaborado en el laboratorio y que no se encuentra en normas u otras colecciones de métodos.

La validación en los casos descritos tiene objetivos distintos y, por lo tanto, diferentes puntos esenciales, como muestra la tabla I.

Tabla I. **Objetivos de la validación según el tipo de procedimiento de ensayo**

<b>Método de ensayo</b>	<b>Objetivos de la validación</b>
Caso 1: método normalizado	Comprobación de que el laboratorio domina el ensayo y lo utiliza correctamente.
Caso 2: modificación de un método normalizado	Comprobación de que la repetibilidad, la reproducibilidad, la precisión intermedia y la exactitud del método original no dependen de la modificación introducida y que el laboratorio domina el ensayo y lo utiliza correctamente.
Caso 3: método interno	Comprobación de que el método tiene la repetibilidad, la reproducibilidad, la precisión intermedia y la exactitud suficientes para el objetivo de aplicación y que el laboratorio domina el ensayo y lo realiza correctamente.

Fuente: elaboración propia.

El alcance de la validación determinado por el responsable del ensayo, o bien los parámetros estadísticos por determinar y, en caso necesario, los principios aplicados deben ponerse por escrito en forma de informe de validación.

### **2.2.3. Tipos de validación de métodos**

Los dos tipos de validación de métodos existentes son validación interna y validación externa además de posibles situaciones intermedias o conjuntas.

#### **2.2.4. Proceso de validación**

El proceso de validación interno de un método comienza fijando los requisitos, contrastándolos con el alcance del método y finaliza relleno el registro de validación, que incluirá con la declaración de validación del método, requisito de la Norma ISO 17025.

Los requisitos habituales sobre el método vendrán impuestos por los clientes o por la legislación.

#### **2.2.5. Documentos operativos de validación**

Son dos los documentos relativos a la validación, el primero es el PNT o procedimiento de validación que debe contener los criterios de validación. El registro de validación supone acomodar los resultados de validación, las interpretaciones y decisiones y finalmente la declaración de validación del método a un formato prefijado.

### **2.3. Selección de los métodos de ensayo**

Es importante que el laboratorio que desee validar un método de ensayo, esté seguro del tipo de método que está trabajando, es necesario tomar en cuenta lo siguiente:

- Es responsabilidad del laboratorio utilizar los métodos apropiados para el propósito, según el alcance requerido. Estos métodos pueden ser normalizados, no normalizados o desarrollados por el propio laboratorio.

- El laboratorio, de común acuerdo con el cliente, puede seleccionar los métodos utilizando su propio criterio o utilizar aquellos métodos normalizados vigentes en el país.
- Cuando el laboratorio utilice un método normalizado, debe demostrar que éste corresponde a la última edición, a menos que sea apropiado o posible el uso de una versión anterior del método.
- Cuando el laboratorio utilice un método normalizado, debe establecer un sistema para evaluar la factibilidad de implementar los posibles cambios introducidos en las nuevas versiones del método, determinando las diferencias en cuanto a equipo, formación del personal, instalaciones, y demás aspectos necesarios para la ejecución del ensayo.

### **2.3.1. Métodos normalizados**

Las normas de calidad y regulaciones frecuentemente requieren el uso de métodos normalizados. A la vez, el uso de métodos normalizados es deseable en situaciones en las que el método será ampliamente utilizado; sin embargo, algunas veces el laboratorio puede contar con un método propio más adecuado para el propósito. Los métodos normalizados deben ser utilizados por el laboratorio exactamente como están descritos.

### **2.3.2. Métodos no normalizados**

Los métodos no normalizados deben estar apropiadamente validados para poder utilizarlos, ya sean éstos desarrollados por un tercero o resultado de la modificación de un método normalizado. En el caso de modificaciones, es

necesario demostrar que éstas no tienen una repercusión sobre la calidad de los resultados.

La nota del numeral 5.4.4 de la Norma COGUANOR NTG ISO/IEC 17025NGR/ISO/IEC 17025:2005, adoptada por la OGA como un criterio de acreditación para laboratorios de ensayo y calibración, establece que el laboratorio debe desarrollar un procedimiento de ensayo que incluya al menos la siguiente información, previo a la utilización de un nuevo método:

- La identificación apropiada.
- El alcance.
- La descripción del tipo de objeto a ensayar o a calibrar.
- Los parámetros o magnitudes a ser determinados y los rangos correspondientes.
- Los aparatos y equipos, incluyendo los requisitos de desempeño técnico.
- Los patrones de referencia y materiales de referencia requeridos.
- Las condiciones ambientales requeridas y cualquier período de estabilización necesario.
- La descripción del procedimiento, incluyendo:
  - La colocación de marcas de identificación, manejo, transporte, almacenamiento y preparación de ítems
  - La verificación a realizar antes de comenzar el trabajo
  - La verificación que el equipo está trabajando apropiadamente y, cuando sea necesario, ajustar y calibrar el equipo antes de cada uso
  - El método de registro de las observaciones y los resultados
  - Las medidas de seguridad a observar
- Los criterios o requisitos para la aprobación o el rechazo.
- Los datos a ser registrados y el método de análisis y presentación.

- La incertidumbre o el procedimiento para estimarla.

Además, la documentación del método debe incluir las especificaciones principales resultantes de la validación.

### **2.3.3. Métodos desarrollados por el laboratorio**

El laboratorio que inicie el proceso de validación y quiera someter un ensayo desarrollado por el mismo ente, debe tomar en cuenta las siguientes pautas:

- Cuando sea el caso, el laboratorio debe demostrar que tiene un plan en el que se incluye la evaluación de su capacidad en cuanto a personal, equipo y demás recursos que le permitan desarrollar métodos propios.
- Los métodos desarrollados por el laboratorio deben estar adecuadamente validados, documentados y autorizados antes de su uso. Cuando sea posible, se debe emplear material de referencia con una matriz equivalente a la de la muestra, o bien debe utilizarse un método de ensayo normalizado alternativo, preferiblemente de diferente principio de medición, para comparar los resultados. Estos métodos deben cumplir al menos los mismos requisitos de documentación indicados en el numeral 1.3.2.

## **2.4. Validación de los métodos de ensayo**

En el diseño y desarrollo de métodos, la etapa de validación consiste en el proceso de examinar el método para determinar su conformidad con el uso previsto. La validación normalmente se lleva a cabo sobre la versión final del

método desarrollado, bajo condiciones de operación definidas; también puede ser necesario realizarla en etapas previas del proceso de desarrollo. Si existen diferentes usos previstos para el método, se deben llevar a cabo múltiples validaciones.

Los parámetros de desempeño que se recomienda incluir en la validación y verificación de diferentes métodos de ensayo pueden ser, según el caso: exactitud, exactitud relativa, desviación, desviación positiva, desviación negativa, efecto matricial, repetibilidad, precisión intermedia, reproducibilidad, especificidad, límite de detección, límite de cuantificación, linealidad, rango, sensibilidad, robustez y fortaleza, entre otras.

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

Cuando aplique, la validación de un método debe incluir la estimación de la incertidumbre (ver OGA-GEC-015 Política sobre Incertidumbre de Medición para Laboratorios), y además abarcar factores que determinan la desviación (error sistemático) y la recuperación imperfecta (medición de la recuperación del analito con el que se haya enriquecido la muestra, medición de blancos, estudio de interferencias y efectos de matriz). Esta estimación también debe considerar aspectos como la homogeneidad y estabilidad de la muestra.

Los laboratorios deben conservar los datos sobre la validación de los sistemas de ensayo comerciales (*kits*) que utilicen, de preferencia remitidos por los fabricantes. Al presentarse el caso de no contar con los datos del fabricante, o no disponer de datos sobre validación generados por otra fuente, o si éstos no son plenamente aplicables, el laboratorio deberá desarrollar un procedimiento para calcular y evaluar los parámetros de desempeño que considere necesarios para asegurar la confiabilidad del sistema de ensayo comercial.

Este procedimiento de validación puede incluir ejercicios de Intercomparación. El laboratorio que desarrolla o modifica un método analítico, o la entidad que lo publica, es responsable de su validación, para con ello demostrar que se adecua al propósito para el cual fue diseñado. El laboratorio que implementa un método analítico es responsable de verificar su desempeño contra las especificaciones de la validación, tanto antes de ponerlo en uso como durante su utilización rutinaria, para demostrar que lo domina y usa correctamente.

A continuación se especifica lo anterior, para el caso de los métodos normalizados, no normalizados y desarrollados por el laboratorio usuario. (Ver, adicionalmente, las recomendaciones para el procedimiento de validación presentadas en el “Anexo 2. Fundamentos y aplicaciones”).

#### Caso 1. Método Normalizado:

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



corresponde al propósito para el que fue desarrollado, con respecto a propiedad medida, matriz, rango, equipos utilizados, repetibilidad, etc.).

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

#### Caso 2. Método No Normalizado:

El laboratorio que va a modificar un método normalizado debe revalidarlo para demostrar que las especificaciones del método original no se ven afectadas por la modificación introducida. El nivel de revalidación requerido aumenta conforme la magnitud de los cambios realizados. Se consideran cambios menores, por ejemplo, la modificación del tamaño de la muestra y sustitución de reactivos.

Se considera cambio mayor, por ejemplo, el cambio de procedimiento o equipo y cambios en el alcance (aplicación a matrices que no se especifican). Para demostrar que una versión modificada de un método cumple las mismas especificaciones que el método original, se deben realizar comparaciones utilizando réplicas. El diseño experimental y el análisis de los resultados deben ser estadísticamente válidos. El laboratorio usuario de un método normalizado modificado debe verificarlo contra sus especificaciones originales, o de revalidación, y así demostrar que domina el ensayo y lo utiliza correctamente.

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

Caso 3. Método desarrollado por el laboratorio:

El laboratorio que desarrolla y utiliza sus propios métodos debe validarlos, para demostrar que cumplen con los criterios de aceptación adecuados para el propósito de aplicación. Una vez está en uso el método, el laboratorio debe verificar su desempeño contra los parámetros de validación, para demostrar que sigue dominando el ensayo y lo realiza correctamente.

#### **2.4.1. Revisión de los métodos de ensayo incluidos en el alcance**

Para cada sector técnico, la alta dirección debe nombrar a una persona experimentada como responsable de la revisión de los métodos, con el fin de incluir modificaciones, actualizaciones o desarrollar e implementar nuevos métodos. Como parte de la revisión se debe incluir, pero no circunscribirse a lo indicado a continuación.

- Para confirmar que el método se ajusta al uso previsto en el laboratorio es necesario determinar su desempeño (verificar) conforme una o una combinación de las siguientes técnicas, según lo establecido en la nota 2 del numeral 5.4.5.2 de la Norma COGUANOR NTG/ISO/IEC 17025:2005,

adoptada por la OGA como un criterio de acreditación para laboratorios de ensayo y calibración:

- La calibración utilizando patrones de referencia o materiales de referencia.
  - La comparación con resultados obtenidos por otros métodos;
  - las comparaciones interlaboratorios (ver Política Ensayos de Aptitud, OGA-GEC-015).
  - La evaluación sistemática de los factores que influyen en el resultado.
  - La evaluación de la incertidumbre de los resultados basada en el conocimiento científico de los principios teóricos del método y en la experiencia práctica.
- 
- Aún cuando se haya realizado la validación del método, el laboratorio tendrá que verificar periódicamente que se cumplen los parámetros de desempeño documentados por parte de la organización que lo desarrolló, modificó y/o publicó. Para esta verificación el laboratorio puede utilizar, por ejemplo, muestras inoculadas o materiales de referencia incorporados a las matrices más representativas. También tiene que tomar en cuenta los resultados obtenidos de las auditorías internas y externas de sus sistemas de gestión, dejando registro de las verificaciones.
  
  - La documentación de la modificación, actualización, validación y verificación del método debe incluir registros de la determinación de los parámetros de desempeño, limitaciones de su aplicabilidad, procedimientos para control de calidad, calibración y control de documentos. Estos registros deben estar disponibles a solicitud de los

miembros del equipo evaluador durante las visitas en sitio, ya sea de evaluación para la acreditación, seguimiento o reevaluación.

- Los procedimientos y responsabilidades para el desarrollo, validación, verificación e implementación de los métodos deben ser descritos en detalle dentro de la documentación del sistema de calidad del laboratorio. Los diagramas de flujo son una herramienta para describir el procedimiento; para métodos complejos también se pueden utilizar programas informáticos de gestión de procesos. El personal responsable debe dejar establecidos los requisitos mínimos de calidad antes de empezar el proceso de validación e implementación del método, o mejor aún establecerlos antes de comenzar todo el proceso de desarrollo.

Para ensayos acreditados, cuando el método es modificado, actualizado o sustituido por uno nuevo, el caso debe ser analizado por la OGA, antes de que se pueda considerar incluido dentro del alcance de la acreditación, según se indica en los documentos OGA-PGE-006, Procedimiento General de Acreditación y OGA-PEC-007, Procedimiento de Acreditación de Laboratorios de Ensayo y Calibración.

#### **2.4.2. Validación para los análisis químicos**

De acuerdo con EURACHEM/CITAC, en un caso ideal, la validación de un método para análisis químico cuantitativo debería incluir las siguientes actividades y parámetros de desempeño.

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

- La evaluación por medio de un material de referencia certificado, para demostrar que el método no da lugar a desviaciones significativas en comparación con resultados trazables obtenidos de manera independiente.
- Evaluaciones de posibles efectos particulares, adicionales a los considerados en las especificaciones del método, para justificar que no es necesario incluir otros efectos.
- Estudios de precisión dentro de un intervalo de tiempo y un set de condiciones tan amplios como sea razonablemente posible, para demostrar que no existen otros efectos significativos no sospechados. (esto también aplica al análisis químico cualitativo).
- Estudios adicionales sobre posibles fuentes específicas de desviación, incluyendo estudios de enriquecimiento y recuperación, posibles interferencias y reactividad cruzada, para demostrar que no existen efectos adicionales importantes.

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

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

- Frecuentemente se evalúan otros parámetros de desempeño, tales como los límites de detección y cuantificación, para demostrar que el método es adecuado para el propósito. (el límite de detección también aplica al análisis químico cualitativo).
- Las comparaciones entre analistas y entre laboratorios, o con otros métodos, también pueden demostrar posibles deficiencias en el método. Además, éstas pueden aportar evidencia adicional de que los efectos considerados son suficientes para establecer las especificaciones del método.

Es importante considerar que todos los materiales de referencia a utilizar durante la validación, para la calibración, el control y las pruebas, deben ser trazables. Esto asegura que los estudios de validación sean directamente relevantes para los resultados obtenidos durante el uso rutinario del método.

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

La mejor manera de hacer esta verificación es usando un material certificado de referencia. Otra evidencia del funcionamiento correcto del método es la que se puede obtener de los ensayos de aptitud y otros estudios realizados con ese objetivo.

Se debe reconocer que las evaluaciones a realizar para la validación de un método analítico no pueden ser exhaustivas y que existe la posibilidad de que las limitaciones prácticas sean considerables.

## **2.5. Evaluación de los parámetros de desempeño del método**

Las características a validar de un método han sido definidas por diferentes organizaciones nacionales e internacionales. La guía Eurachem también ha contribuido notablemente en la concreción de criterios de validación en el campo del análisis químico.

Las tablas-resumen permiten una aproximación conceptual de cada característica a validar y a los aspectos y conceptos relacionados con la misma. Los anexos asociados a las mismas, contienen algunos criterios de validación, consistentes con los métodos de ensayo químico. Por último, a través de los ejercicios resueltos, comentados, se puede ver la aplicación de los criterios de validación a distintos casos prácticos.

### **2.5.1. Exactitud**

Preparar muestras en un rango que contenga al menos cinco concentraciones diferentes del analito, las cuales aproximadamente estén espaciadas entre 50 por ciento (concentración más baja) y 150 por ciento (concentración más alta), del rango de trabajo esperado. Usar por lo menos seis réplicas por concentración. Analizar muestras de acuerdo al método en cuestión, usando la matriz del producto o la matriz de la muestra ambiental.

### **2.5.2. Repetibilidad**

Hay dos posibles procedimientos a seguir para determinar la precisión intraensayo, o repetibilidad, trabajando con submuestras de una misma muestra homogénea, bajo las mismas condiciones de operación a lo largo de un intervalo corto de tiempo:

- Hacer un mínimo de 9 determinaciones que cubran el intervalo especificado para el análisis, esto es, 3 réplicas a cada una de 3 concentraciones diferentes.
- Hacer un mínimo de 6 determinaciones a una concentración que corresponda con la de la muestra problema.

### **2.5.3. Precisión intermedia**

Se evalúa de acuerdo a un diseño experimental específico que responda a las circunstancias bajo las cuales será utilizado el método y minimice el número de experimentos que se necesite efectuar; dicho diseño puede incluir las variaciones que globalmente se dan de día a día, y las variaciones en analista y en equipo. No es necesario determinar precisión intermedia, cuando se ha determinado reproducibilidad.

### **2.5.4. Especificidad**

Es la habilidad que muestra un método para distinguir entre un analito e impurezas conocidas, precursores sintéticos, metabolitos, o productos de degradación. Esta se muestra en su resolución hacia estos componentes.



### **2.5.5. Límite de detección**

Determinar la menor concentración a la que se detecte el analito en la matriz de la muestra.

### **2.5.6. Límite de cuantificación**

Determinar la menor concentración en la que un analito en la matriz/muestra puede ser determinada con la exactitud y precisión requeridas para el método en particular. Este valor puede ser la menor concentración en la curva del patrón.

### **2.5.7. Linealidad**

Preparar soluciones patrón de por lo menos cinco diferentes concentraciones del analito, que estén distribuidas regularmente y que cubran del 50 por ciento (concentración más baja) al 150 por ciento (concentración más alta) del intervalo de trabajo esperado. Los rangos del 75 por ciento al 125 por ciento no son atípicos de la industria farmacéutica. Usar por lo menos seis réplicas por concentración. Las soluciones patrón deberían prepararse en la misma matriz utilizada con las muestras, si es posible. Analizar las soluciones patrón conforme el método en cuestión.

### **2.5.8. Rango**

Repasar los resultados de ensayo para todos los componentes requeridos de un método específico.

### **2.5.9. Robustez**

La determinación de la capacidad del método para no verse afectado por variaciones pequeñas pero deliberadas en las condiciones de trabajo, se logra al considerar aquellas condiciones que, durante el desarrollo del método, se vio pueden afectar los resultados. El procedimiento es específico para cada caso; por ejemplo, para un método de análisis por cromatografía líquida de alta resolución, se evalúa el efecto de pequeñas variaciones en el tiempo de extracción del analito, durante la preparación de las muestras, y en el pH y la composición de la fase móvil, así como la columna y las condiciones de temperatura y flujo, durante el trabajo cromatográfico; también se evalúa el centrifugar las muestras en vez de filtrarlas, el usar diferentes tipos de filtros y la estabilidad de las soluciones patrón y de muestra.

### **2.5.10. Reproducibilidad**

Se determina en los casos en que se quiere normalizar un método, para transferirlo de un laboratorio a otro o para incluirlo en una farmacopea, y por ello se necesita conocer la precisión entre laboratorios. En el caso más común, que es el de la transferencia directa del método, del laboratorio de origen al laboratorio destino, ambos laboratorios deben analizar el mismo lote de muestras homogéneas trabajando bajo el mismo diseño experimental.



### 3. DISEÑO METODOLÓGICO

El diseño metodológico, es una relación clara y concisa de cada una de las etapas de la investigación.

#### 3.1. Variables

Las variables son el evento en el que se centra la investigación, estas pueden ser definidas cualitativamente, cuantitativamente y otros parámetros como se observa en la tabla II:

Tabla II. Definición operacional de las variables

VARIABLE	PARÁMETRO	TEMÁTICA
Documentación	Diagnóstico	Recopilación de los datos para la tesis.
Parámetros de desempeño	Cualitativo	Características para la validación de un método.
Materiales y equipos	Tecnológico	Materiales y equipos utilizados para el I.R.
Protocolo de validación	Cualitativo	Guía para el inicio de la validación.
Análisis de índice de refracción	Cuantitativo	Determinaciones de Índice de refracción.

Continuación de la tabla II.

<b>VARIABLE</b>	<b>PARÁMETRO</b>	<b>TEMÁTICA</b>
Cálculo estadístico	Cuantitativo	Métodos para el análisis de los resultados
Presupuesto	Económico	Costos del proyecto.
Investigador	Humano	Persona que realizará el proyecto.
Ventajas y desventajas	Diagnóstico	Rentabilidad y eficiencia del proyecto.

Fuente: elaboración Propia. Microsoft Word 2010.

### **3.2. Delimitación del campo de estudio**

El trabajo de campo se realizó directamente en el Laboratorio y se inició con una calificación de Equipo y Materiales con los cuales se trabaja en Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIEXVE), Sección Química Industrial, del Centro de Investigaciones de Ingeniería de la USAC. Es decir se le dio una calificación en un Informe escrito a los equipos que se utilizan en este ensayo para ver si necesitan mantenimiento o mejora, de esta forma se empezará a llevar un Registro por Escrito.

### **3.3. Tipo de estudio**

Para la realización del presente trabajo, se realizó una investigación de tipo descriptiva y deductiva: tomando como base la Guía OGA-GEC-016 v.1 Política y Selección y Validación de Métodos de Ensayo.

### **3.4. Recursos humanos disponibles**

Los recursos humanos son todas las personas que estuvieron involucradas para que esta investigación pudiera realizarse. Entre las que se puede mencionar:

- Investigador: Rubén Darío Cordón Alvizures
- Asesora: Inga. Telma Maricela Cano Morales
- Asesor: Ing. Mario José Mérida Meré
- Personal del Laboratorio (técnicos y auxiliares)

### **3.5. Recursos materiales disponibles**

Se utilizaron diferentes recursos materiales que sirvieron para desarrollar la parte experimental de esta investigación, entre los que se pueden mencionar:

- Edificio: laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIEXVE), Sección Química Industrial, del Centro de Investigaciones de Ingeniería de la USAC.
- Equipo: computador fijo o portátil.

- Documentación del laboratorio (políticas, procedimientos, documentos de trabajo).
- Instrumentos de investigación (cuestionarios de entrevistas elaborados por el investigador, *checklist* para inventarios).
- Material de estudio: libro, tesis, Manuales de Calidad u otro documento que el investigador considere necesario.

### **3.6. Técnica cualitativa o cuantitativa**

Se trabajó el Ensayo de Índice de Refracción del aceite esencial de dos especies de Laurel (*Litsea guatemalensis* Mez, *Litsea glaucescens* HBK), y una especie de orégano (*Lippia graveolens* HBK), se hicieron 10 mediciones para cada especie, es decir se realizaron 30 determinaciones.

### **3.7. Recolección y ordenamiento de la información**

El orden en que se recolectó y ordenó la información obtenida a lo largo de la investigación, se explica mediante el diagrama de la figura 1 y se describe a continuación:

#### **3.7.1. Trabajo inicial**

El trabajo inicial consistió en una inducción para conocer el Laboratorio, su personal, historia, equipos, instalaciones y ensayos de forma general. Esto se hace con el objetivo de conocer las generalidades del laboratorio para iniciar el protocolo de investigación, así como para que el personal se encuentre en disposición de proporcionar la información que más adelante será necesaria.

Además se inició definiendo Parámetros de desempeño (Performance) para lograr tener un mejor análisis del Ensayo en este caso Índice de Refracción.

Para realizar el diagnóstico inicial del laboratorio LIXVE, se realizó lo siguiente:

- Se realizó una evaluación de las condiciones bajo las que se trabaja el ensayo Índice de Refracción, ubicando ventajas y oportunidades de mejora.
- Se realizaron una evaluación de los recursos materiales que rigen el ensayo Índice de Refracción, ubicando ventajas y oportunidades de mejora.
- Se realizaron una evaluación de los requisitos legales y de gestión dentro del Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales, (LIXVE), identificando ventajas y oportunidades de mejora.

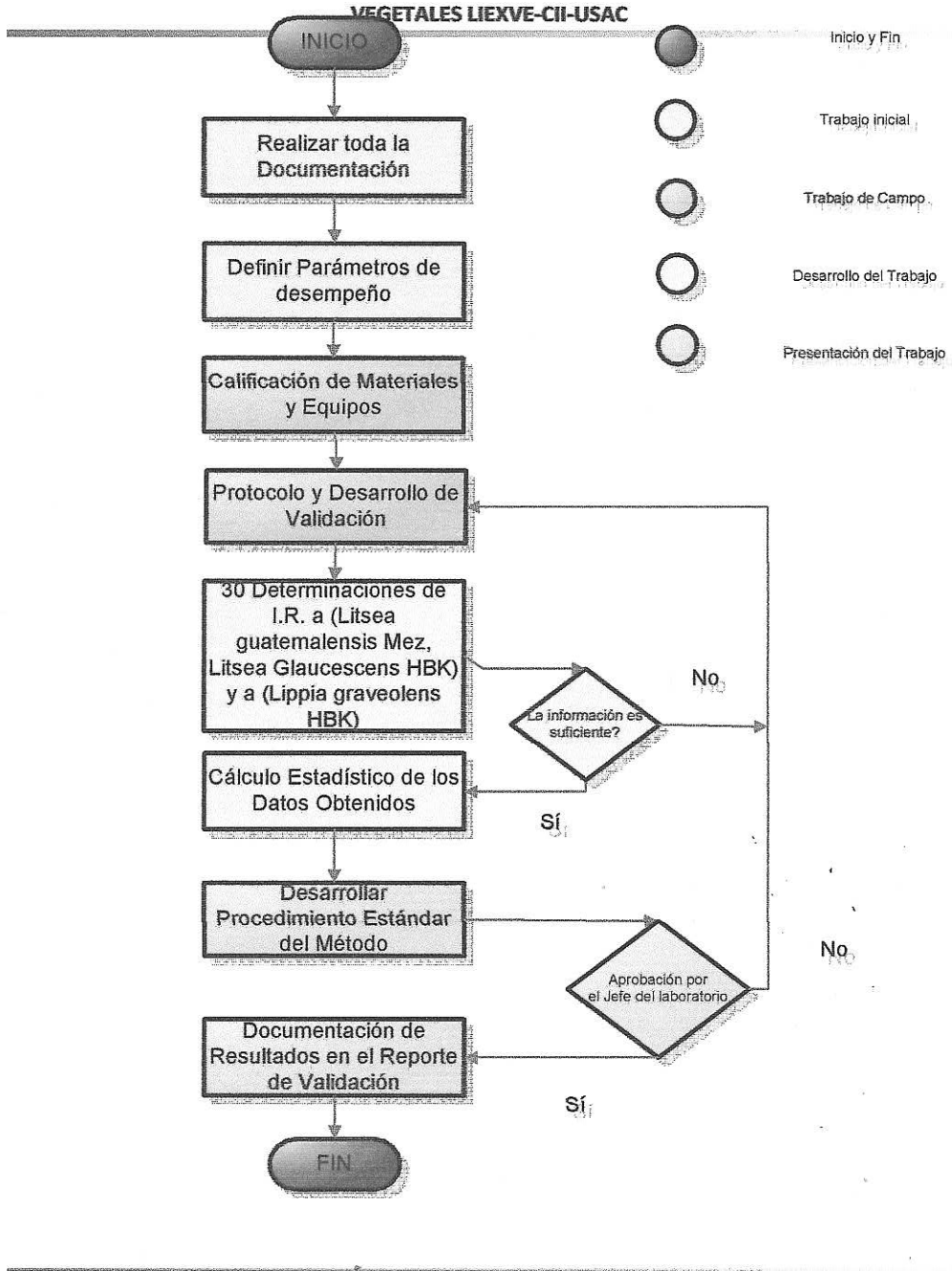
### **3.7.2. Diagrama de flujo**

El diagrama de flujo que se muestra a continuación, detalla todas las etapas que se desarrollaron a lo largo de la investigación para validar el ensayo Índice de Refracción basado en la Guía OGA-GEC-016 v.1:



Figura 1. Diagrama de ordenamiento de la información

VALIDACIÓN DEL ENSAYO "ÍNDICE DE REFRACCIÓN" BASADO EN LA GUIA OGA-GEC-016 v.1  
 "POLITICA DE SELECCIÓN Y VALIDACION DE METODOS DE ENSAYO" EN EXTRACTOS ACUOSOS DE  
 VEGETALES DE OREGANO Y LAUREL, EN EL LABORATORIO DE INVESTIGACION DE EXTRACTOS



Fuente: elaboración propia. Microsoft Visio 2010.

### **3.7.3. Trabajo de campo**

El proceso de Validación se trabajó a través de un *checklist* de inventarios donde se tomaron en cuenta documentos de trabajo como instructivos, registros, formatos, especificaciones, etc, y procedimientos del Sistema de Gestión de Calidad ya propiamente dicho.

Luego de haber realizado el inventario de documentos, se procedió a recopilar la información sobre el procedimiento del ensayo de Índice de Refracción que se trabaja en el Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIEXVE), de forma empírica, es decir, todas las actividades que no se encuentran documentadas y que cotidianamente se realizan para el buen desempeño del Laboratorio. Esta recopilación se llevó a cabo por medio de entrevistas directas dirigidas al personal del Laboratorio.

Se trabajó el Ensayo de Índice de Refracción utilizando el procedimiento normalizado ISO 280:1998 determinación del Índice de Refracción en Aceites Esenciales. Se utilizó a su vez la Norma Mexicana NMX-K-129-1976 determinación del Índice de Refracción en Aceites Esenciales y Productos Aromáticos basada en la Norma ISO 280.

### **3.7.4. Desarrollo del trabajo**

Luego de obtenida toda la información necesaria, se procedió a ordenarla según los requisitos Guía OGA-GEC-016 v.1 Política y Selección y Validación de Métodos de Ensayo. Luego de haber terminado el Protocolo de Validación se definieron los experimentos de validación que a través de un Análisis Cuantitativo del método de Índice de Refracción nos dio una idea más clara del rendimiento de este Ensayo. Si estos experimentos de validación no cumplen

con los requisitos de la Guía OGA-GEC-016 se descartaría el experimento y se regresa a la etapa de Protocolo de Validación.

Como si cumple con la norma se trabajó la siguiente etapa que es realizar las pruebas de validación a través de una serie de experimentos de laboratorio utilizando en paralelo herramientas estadísticas.

Para efectuar la validación del ensayo Índice de Refracción se realizó lo siguiente:

- Se midió la incertidumbre de cada uno de los instrumentos y equipos que se utilizan en el ensayo Índice de Refracción, realizando cierto número de corridas que serán determinadas por métodos estadísticos pertinentes.
- Se estimó la trazabilidad de cada uno de los instrumentos y equipos que se utilizan en el ensayo Índice de Refracción, comparando las mediciones realizadas con materiales de referencia certificados.
- Se calculó el intervalo de confianza y la exactitud de cada una de las variables correspondientes al ensayo Índice de Refracción, utilizando las herramientas estadísticas adecuadas.
- Se trabajó con aceite esencial de 3 especies vegetales, dos especies de laurel (*Litsea guatemalensis* Mez, *Litsea glaucescens* HBK), y una especie de orégano (*Lippia graveolens* HBK), para cada una de estas especies se realizó 10 determinaciones.

### 3.7.5. Presentación del trabajo

En la última parte del trabajo se desarrolló por escrito un procedimiento estándar de operación para realizar el Método de Índice de refracción. Por último se documentó todas las pruebas de validación y resultados en el Informe que fue aprobado por la Inga. Telma Maricela Cano Morales Directora del Centro de Investigaciones de Ingeniería USAC.

### 3.8. Análisis estadístico

Para validar la exactitud y precisión del método a evaluar se realizó el estudio de la distribución T de *Student* o la distribución-t. Dicha distribución surge, en la mayoría de los estudios estadísticos prácticos, cuando la desviación típica de una población se desconoce y debe ser estimada a partir de los datos de una muestra.

Para el Ensayo índice de refracción se obtuvieron las siguientes mediciones:

Tabla III. **Análisis 1 Laurel Litsea guatemalensis 10 libras**  
**Rep. 1 Rend. 0,3447 %**

Corrida	Índice de Refracción
1	1,4800
2	1,4790
3	1,4795
4	1,4790
5	1,4790

Continuación de la tabla III.

6	1,4795
7	1,4790
8	1,4790
9	1,4790
10	1,4790

Fuente: elaboración propia.

Tabla IV. **Análisis 2 Laurel Litsea guatemalensis 10 libras**  
**Rep. 1 Rend. 0,3447 %**

<b>Corrida</b>	<b>Índice de Refracción</b>
1	1,4790
2	1,4785
3	1,4785
4	1,4785
5	1,4785
6	1,4785
7	1,4790
8	1,4785
9	1,4785
10	1,4785

Fuente: elaboración propia.

Tabla V. **Análisis 1 Laurel Litsea glaucescens 7,5 libras**  
**Rep. 1 Rend. 0,5925 %**

Corrida	Índice de Refracción
1	1,4750
2	1,4755
3	1,4745
4	1,4750
5	1,4750
6	1,4745
7	1,4745
8	1,4740
9	1,4750
10	1,4745

Fuente: elaboración propia.

Tabla VI. **Análisis 2 Laurel Litsea glaucescens 7,5 libras**  
**Rep. 1 Rend. 0,5925 %**

Corrida	Índice de Refracción
1	1,4750
2	1,4745
3	1,4750
4	1,4745
5	1,4745
6	1,4745
7	1,4746

Continuación de la tabla VI.

8	1,4744
9	1,4745
10	1,4749

Fuente: elaboración propia.

Tabla VII. **Análisis 1 Orégano *Lippia graveolens* 7,5 libras  
Rep. 1 Rend. 4,17 %**

<b>Corrida</b>	<b>Índice de Refracción</b>
1	1,5075
2	1,5080
3	1,5075
4	1,5075
5	1,5080
6	1,5075
7	1,5075
8	1,5080
9	1,5080
10	1,5080

Fuente: elaboración propia.

Tabla VIII. **Análisis 2 Orégano Lippia graveolens 7,5 libras**  
**Rep. 1 Rend. 4,17 %**

Corrida	Índice de Refracción
1	1,5040
2	1,5090
3	1,5080
4	1,5085
5	1,5090
6	1,5080
7	1,5085
8	1,5085
9	1,5085
10	1,5080

Fuente: elaboración propia.

Para evaluar la exactitud del método se utilizó el error absoluto y el error relativo mediante las ecuaciones:

Error absoluto

$$Ea = |X_t - X_o| \quad (\text{Ecuación No. 1})$$

Donde:

e = Error absoluto

X<sub>t</sub> = Dato teórico

X<sub>o</sub> = Dato observado

$$Ea = |1,47475 - 1,475| = 0,00025$$



Error relativo

$$E = |X_t - X_o| / X_t \quad (\text{Ecuación No. 2})$$

Donde:

E = Error relativo

X<sub>t</sub> = Dato teórico

X<sub>o</sub> = Dato observado

$$Er = |1,47475 - 1,475| / (1,47475) = 0,016949153$$

Media

$$\bar{X} = (X_1 + X_2 + X_3 + X_4 + X_5 + X_6 + X_7 + X_8 + X_9 + X_{10}) / n \quad (\text{Ecuación 3})$$

Donde:

$\bar{X}$  = Valor de la media

X<sub>n</sub> = Valor observado

n = Número de datos

$$\bar{X} = (1,475 + 1,4755 + 1,4745 + 1,475 + 1,475 + 1,4745 + 1,4745 + 1,474 + 1,475 + 1,4745) / 10$$

$$\bar{X} = 1,47475$$

Para evaluar la precisión del método se utilizó desviación estándar y la varianza mediante las ecuaciones

Desviación estándar

$$S = \sqrt{\left[ \sum_{i=1}^{i=n} |X_i - \bar{X}|^2 \right] / (n-1)} \quad (\text{Ecuación No. 4})$$

Donde:

S = desviación estándar

√ = raíz cuadrada

Σ = Sumatoria

$| |$  = Valor absoluto

$X_i$  = Valor de cada observación

$\bar{X}$  = Valor de la media

N = Número de observaciones

$$S = \sqrt{(\sum (6,25E-08 + 5,625E-07 + 6,25E-08 + 6,25E-08 + 6,25E-08 + 6,25E-08 + 6,25E-08 + 5,625E-07 + 6,25E-08 + 6,25E-08))/(10-1))} = 0,000424918$$

Varianza

$$\sigma = S^2 \quad (\text{Ecuación No. 5})$$

Donde:

$\sigma$  = varianza

S = desviación estándar

$$\sigma = 0,000424918^2 = 1,80556E-07 \text{ unidades}$$

Análisis estadístico de los resultados

Para el análisis estadístico de los resultados se utiliza la distribución de la t de *student* para determinar cuál es el intervalo de confianza de los resultados, para lo que se utilizó la ecuación:

$$\mu = \bar{x} \pm t^*s/\sqrt{n} \quad (\text{Ecuación No. 6})$$

Donde:

$\mu$  = Intervalo de confianza de la media

$\bar{X}$  = Valor de la media

t = Valor de la t de *student*

s = Desviación estándar

$\sqrt{\quad}$  = Raíz cuadrada

n = Número de datos

Con un nivel de probabilidad de 95% y número de observaciones de 10, se encuentra el valor de t con la ayuda de la tabla IX.

Tabla IX. **Nivel de probabilidad a 95% en base al número de observaciones**

<b>Número de observaciones</b>	<b>Nivel de probabilidad 95 %</b>
2	12,706
3	4,303
4	3,182
5	2,776
6	2,571
7	2,447
8	2,365
9	2,306
10	2,262
11	2,228
21	2,086
∞	1,960

Fuente: MILLER, Estadística para Química Analítica. p.43.

Como ya se tienen todos valores se substituyen en la ecuación 6 dando como resultados:

$$\mu = 1,47475 \pm 2,262 * 0,000424918 / \sqrt{10} = 1,474446053, 1,475053947$$

Ya con el resultado, se concluye que el intervalo de confianza para el índice de refracción de Laurel de la especie *Litsea glaucescens* está dado por los límites 1,4744 al 1,4751, es decir, que se considera que la mayoría de las futuras medias efectuadas, caerían dentro del intervalo seleccionado.

### **3.9. Validación del ensayo Índice de refracción**

Para realizar la Validación del ensayo, se estableció un procedimiento del mismo que formará un aporte para la entidad que se desea acreditar, además de un análisis de los parámetros de desempeño más importantes.

#### **3.9.1. Procedimiento del ensayo**

A continuación se detalla el procedimiento del método de índice de refracción para aceites esenciales, todo laboratorio que se someta a una validación formal debe establecer un procedimiento.

##### Objetivos

- Determinar características de los líquidos, como la pureza, composición a través del uso del refractómetro.
- Determinar características de las reacciones en la obtención de sustancias binarias.

##### Procedimiento

- Conectar las mangueras al refractómetro en el sistema de recirculación.

- Ajustar la escala del refractómetro.
- Comprobar que el prisma este limpio. Utilizar una pipeta para aplicar su muestra líquida al prisma. Tener cuidado de no tocar el prisma con el extremo de la pipeta, esto puede dañar el cristal suave del prisma.
- Colocar de 2 a 3 gotas de solución en el centro de la superficie del prisma.
- Cerrar cuidadosamente el prisma secundario.
- Encender la lámpara usando el interruptor en el lado izquierdo. Ajustar la lámpara para asegurar el brillo adecuado en el prisma de medición.
- Observar por el ocular, girar la perilla de compensación de color hasta que aparezca una línea clara y definida en el campo de visión.
- Girar la perilla de medición alineando la línea delimitadora, con las líneas de intersección (ajuste claro y oscuro al centro).
- Mover la palanca de la parte inferior izquierda y leer en la escala superior el índice de refracción y repetir la operación en función del número de soluciones a utilizar.
- Registrar el índice de refracción. Después leer el termómetro y registrar la temperatura.
- Después de terminar, limpiar el refractómetro.

El proceso de documentación conlleva el siguiente procedimiento:

- Se realiza una orden de trabajo, emitida por la secretaria del CII, para solicitar el ensayo; seguidamente, se traslada al laboratorio esta orden, que contiene tres copias: una para el laboratorio, otra para la secretaria y la original para el solicitante.
- El siguiente documento luego de recibir la solicitud, el LIEXVE realiza el ensayo llenando a la vez una hoja de realización de ensayo.
- Los resultados del ensayo, se presentan en un formato que contiene una numeración de archivo, dejando una copia en el laboratorio, una en la secretaría del centro y la original se le entrega al cliente.

### **3.9.2. Trazabilidad de la medición**

El análisis de trazabilidad de la medición cuando un ente desea validar un método de ensayo, es de suma importancia debido a que con este paso se tiene la garantía de calidad en el método.

#### **3.9.2.1. Generalidades**

Para validar un ensayo, es necesario que todos los equipos de medición que se utilizan estén calibrados de acuerdo a un material de referencia certificado o un material de referencia. Esto asegurará la trazabilidad de la medición y el cumplimiento de los requisitos de la Guía OGA-GEC-016 v.1 Política y Selección y Validación de Métodos de Ensayo en cuanto a calibración de equipos.

### **3.9.2.2. Patrones y materiales de referencia**

Para realizar la validación del Ensayo de Índice de Refracción se utilizaron los siguientes materiales de referencia para la calibración de los equipos de medición:

Para el refractómetro:

1-bromonaftaleno I.R = 1,6585

Agua destilada I.R = 1,3330

Etanol 85% I.R = 1,3651

Para la calibración se procedió a colocar una gota de los materiales de referencia descritos anteriormente ajustando el refractómetro para la calibración de la sombra, de esta forma el aparato está listo para proceder a realizar las corridas correspondientes.

### **3.9.3. Límite de detección**

Para el cálculo del Límite de Detección se utilizó la tabulación que registró el dato más pequeño en todas las corridas que se trabajaron con el aceite de Orégano.

Tabla X. **Índice de Refracción solución Orégano**  
**7,5 Lb Rep. 1 Rend. 4,17 %**

<b>Corrida</b>	<b>Índice de Refracción</b>
1	1,5040
2	1,5090
3	1,5080
4	1,5085
5	1,5090
6	1,5080
7	1,5085
8	1,5085
9	1,5085
10	1,5080
<b>Promedio</b>	1,5080
<b>Desviación Estándar</b>	0,0015

Fuente: elaboración propia.

A partir de la tabla X, el límite de detección se calculó en base a la siguiente ecuación:

$$LD = 3 \sigma \quad (\text{Ecuación No. 7})$$

Donde:

LD = Límite de detección

$\sigma$  = Desviación estándar

Cálculo:

$$LD = 3 * 0,001452966 = 0,004358899$$



Lo que significa que el valor mínimo de Índice de Refracción que puede ser detectado con fiabilidad, pero no necesariamente cuantificado en el Refractómetro es de 0,004358899.

El Límite de cuantificación se calculó por medio de la siguiente ecuación:

$$LC = 10 \sigma \quad (\text{Ecuación No. 8})$$

Donde:

LC = Límite de cuantificación

$\sigma$  = Desviación estándar

Cálculo:

$$LC = 10 * 0,001452966 = 0,014529663$$

Lo que significa que el valor mínimo de Índice de Refracción que puede ser cuantificado con exactitud y precisión aceptable en el Refractómetro es de 0,014529663.

El límite de repetibilidad se calculó por medio de la siguiente ecuación:

$$LR = 2,8 \sigma \quad (\text{Ecuación No. 9})$$

Donde:

LR = Límite de repetibilidad

$\sigma$  = Desviación estándar

Cálculo:

$$LR = 2.8 * 0,001452966 = 0,004068306$$

Lo que significa que el valor mínimo de Índice de Refracción que puede estimarse en un límite de repetibilidad en el Refractómetro es de 0,004068306.

#### **3.9.4. Selectividad**

La selectividad, es la capacidad que tiene un método de detectar analitos diferentes en una muestra. El método de ensayo es selectivo, ya que el procedimiento indicado es selectivo únicamente para determinar el Índice de Refracción.

#### **3.9.5. Exactitud**

Es el grado de concordancia entre el valor aceptado como verdadero o un valor de referencia y el valor encontrado. Para el cálculo de la exactitud se utilizó la siguiente ecuación:

$$\%Er = [(IRt - IR)/IRt]*100 \quad (\text{Ecuación No. 10})$$

Donde:

$\%Er$  = Error por exactitud relativo porcentual

$IRt$  = Índice de Refracción teórico

$IR$  = Índice de Refracción calculada

Cálculo:

$$\%Er = [(1,47475 - 1,475)/1,47475] * 100$$

$$\%Er = 0,0169492$$

El Ensayo de Índice de Refracción para Laurel *Litsea glaucescens* es exacto si  $Er < 1,475 \%$ ; se concluye que el Método es Exacto.

### 3.9.6. Precisión

Es el grado de concordancia entre los valores de una serie repetida de ensayos utilizando una muestra homogénea. Para el cálculo de la precisión se utilizó la siguiente ecuación:

$$\sigma = S^2 \quad (\text{Ecuación No. 11})$$

Donde:

$\sigma$  = varianza

S = desviación estándar

Calculo:

$$\sigma = 0,000424918^2 = 1,80556E-07$$

El Ensayo de Índice de Refracción para Laurel *Litsea glaucescens* es preciso si  $E_r < 1,475 \%$ ; se concluye que el Método es Preciso.

#### 4. PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados para la Validación del ensayo Índice de refracción a partir de dos especies de aceite esencia de laurel y una especie de orégano se muestran en las tablas que se enumeran a continuación:

Tabla XI. **Resultado 1 Laurel Litsea guatemalensis 10 libras**  
**Rep. 1 Rend. 0,3447 %**

Corrida	Índice de Refracción	E. Absoluto	E. Relativo
1	1,4800	0,0008	0,0005
2	1,4790	0,0002	0,0001
3	1,4795	0,0003	0,0002
4	1,4790	0,0002	0,0001
5	1,4790	0,0002	0,0001
6	1,4795	0,0003	0,0002
7	1,4790	0,0002	0,0001
8	1,4790	0,0002	0,0001
9	1,4790	0,0002	0,0001
10	1,4790	0,0002	0,0001
<b>Promedio</b>	1,4792	<b>Intervalo de confianza</b>	
<b>Desviación Estándar</b>	0,0003	1,4789	
<b>Varianza</b>	0,0000	1,4795	

Fuente: elaboración propia.

Tabla XII. **Resultado 2 Laurel Litsea guatemalensis 10 libras**  
**Rep. 1 Rend. 0,3447 %**

Corrida	Índice de Refracción	E. Absoluto	E. Relativo
1	1,4790	1,4786	0,0004
2	1,4785	1,4786	0,0001
3	1,4785	1,4786	0,0001
4	1,4785	1,4786	0,0001
5	1,4785	1,4786	0,0001
6	1,4785	1,4786	0,0001
7	1,4790	1,4786	0,0004
8	1,4785	1,4786	0,0001
9	1,4785	1,4786	0,0001
10	1,4785	1,4786	0,0001
<b>Promedio</b>	1,4786	<b>Intervalo de confianza</b>	
<b>Desviación Estándar</b>	0,0002	1,4784	
<b>Varianza</b>	0,0000	1,4788	

Fuente: elaboración propia.

Tabla XIII. **Resultado 1 Laurel Litsea glaucescens 7,5 libras**  
**Rep. 1 Rend. 0,5925 %**

Corrida	Índice de Refracción	E. Absoluto	E. Relativo
1	1,4750	0,0003	0,0169
2	1,4755	0,0002	0,0002
3	1,4745	0,0012	0,0008
4	1,4750	0,0007	0,0005
5	1,4750	0,0007	0,0005
6	1,4745	0,0012	0,0008
7	1,4745	0,0012	0,0008
8	1,4740	0,0017	0,0012
9	1,4750	0,0007	0,0005

Continuación de la tabla XIII.

10	1,4745	0,0012	0,0008
<b>Promedio</b>	1,4748	<b>Intervalo de confianza</b>	
<b>Desviación Estándar</b>	0,0004	1,4744	
<b>Varianza</b>	0,0000	1,4751	

Fuente: elaboración propia.

Tabla XIV **Resultado 2 Laurel Litsea glaucescens 7,5 libras**  
**Rep. 1 Rend. 0,5925 %**

<b>Corrida</b>	<b>Índice de Refracción</b>	<b>E. Absoluto</b>	<b>E. Relativo</b>
1	1,4750	1,4746	0,0004
2	1,4745	1,4746	0,0001
3	1,4750	1,4746	0,0004
4	1,4745	1,4746	0,0001
5	1,4745	1,4746	0,0001
6	1,4745	1,4746	0,0001
7	1,4746	1,4746	0,0000
8	1,4744	1,4746	0,0002
9	1,4745	1,4746	0,0001
10	1,4749	1,4746	0,0003
<b>Promedio</b>	1,4746	<b>Intervalo de confianza</b>	
<b>Desviación Estándar</b>	0,0002	1,4748	
<b>Varianza</b>	0,0000	1,4745	

Fuente: elaboración propia.

Tabla XV. **Resultado 1 Orégano Lippia graveolens 7,5 libras**  
**Rep. 1 Rend. 4,17 %**

<b>Corrida</b>	<b>Índice de Refracción</b>	<b>E. Absoluto</b>	<b>E. Relativo</b>
1	1,5075	0,0003	0,0002
2	1,5080	0,0002	0,0001
3	1,5075	0,0003	0,0002
4	1,5080	0,0002	0,0001
5	1,5080	0,0002	0,0001
6	1,5075	0,0003	0,0002
7	1,5075	0,0003	0,0002
8	1,5080	0,0002	0,0001
9	1,5080	0,0002	0,0001
10	1,5080	0,0002	0,0001
<b>Promedio</b>	1,5078	<b>Intervalo de</b>	
<b>Desviación Estándar</b>	0,0003	<b>Confianza</b>	
<b>Varianza</b>	0,0000	1,5076	
		1,5080	

Fuente: elaboración propia.

Tabla XVI. **Resultado 2 Orégano Lippia graveolens 7,5 libras**  
**Rep. 1 Rend. 4,17 %**

<b>Corrida</b>	<b>Índice de Refracción</b>	<b>E. Absoluto</b>	<b>E. Relativo</b>
1	1,5040	0,0040	0,0027
2	1,5090	0,0010	0,0007
3	1,5080	0,0000	0,0000
4	1,5085	0,0005	0,0003
5	1,5090	0,0010	0,0007
6	1,5080	0,0000	0,0000
7	1,5085	0,0005	0,0003
8	1,5085	0,0005	0,0003
9	1,5085	0,0005	0,0003

Continuación de la tabla XVI.

10	1,5080	0,0000	0,0000
<b>Promedio</b>	1,5080	<b>Intervalo de</b>	
<b>Desviación</b>		<b>Confianza</b>	
<b>Estándar</b>	0,0015	1,5070	
<b>Varianza</b>	0,0000	1,5090	

Fuente: elaboración propia.





## INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Para determinar la precisión intraensayo o repetibilidad se trabajó con dos submuestras de una misma muestra homogénea, bajo las mismas condiciones de operación a lo largo de un intervalo corto de tiempo. En la Sección de Resultados se puede observar que es mínima la variación entre las medias del Índice de Refracción.

En todas las mediciones se observó una frecuencia de 4 a 7 repeticiones con el mismo valor en el resultado de índice de refracción, por lo que se considera al método bastante exacto y preciso, lo que se confirma con los cálculos de las medidas de exactitud y precisión, ya que los valores obtenidos se encuentran dentro del intervalo de confianza.

El ensayo Índice de Refracción dio a conocer, como resultados de exactitud (error absoluto y de error relativo) valores bastante pequeños y cercanos a cero, y para los valores de desviación estándar y varianza que miden la precisión se obtuvieron datos dentro del límite aceptado, por lo que se considera que el método es exacto y preciso.

El método de ensayo es selectivo debido a que el procedimiento seleccionado es únicamente para determinar el Índice de Refracción.

El uso de un procedimiento estándar para el ensayo Índice de Refracción ayuda al analista a cometer menos errores al momento de la operación logrando así una mejor calidad en los resultados. Esto se traslada a una Política

de Calidad, manifestada en un documento denominado Manual de Calidad, para finalmente lograr implementar un Sistema de Gestión de Calidad.

## CONCLUSIONES

1. El uso de un procedimiento estándar para el ensayo Índice de Refracción ayuda al analista a minimizar errores de operación.
2. Para el ensayo de Índice de Refracción se obtuvo error absoluto y error relativo cercano a cero, por lo que se concluye que el método es exacto.
3. Para el ensayo de Índice de Refracción se obtuvo desviación estándar y Varianza dentro del límite aceptado para la precisión, por lo que se concluye que el método es preciso.
4. El Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales no cuenta con materiales de referencia certificados que asegure la trazabilidad en sus equipos de medición.



## RECOMENDACIONES

1. Implementar el sistema de gestión de calidad al ensayo Índice de Refracción a través de la Norma ISO 280.
2. Gestionar la compra de Materiales de Referencia certificados para la calibración de los equipos de medición utilizados en el ensayo Índice de Refracción para mejorar la trazabilidad de la medición.
3. Contar con un programa de inducción para los analistas nuevos que se integren al laboratorio LIEXVE, de esta forma se garantizan menos errores al momento de realizar el ensayo de Índice de Refracción.
4. Para la determinación del Índice de Refracción es necesario contar con un manual que establezca el procedimiento como el realizado en este informe, debido a que se asegura valores exactos y precisos al momento de realizar el ensayo.



## BIBLIOGRAFÍA

1. CASTRO GARCÍA, Luis Rodolfo. *Diagnóstico de la Aplicación de un Sistema de Gestión de Calidad a través de la norma ISO/IEC 17025:2005, en el laboratorio de Fisicoquímica, y Validación del Ensayo Determinación de la Constante de Disociación Ácida del Rojo de Metilo. Guatemala.* Trabajo de graduación de Ing. Química. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de ingeniería, 2010. 125 p.
2. Guatemala. Ministerio de Economía. *Requisitos Generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración: COGUANOR NTG/ISO/IEC 17025:2005.* Guatemala: MINECO, 2005. 38 p.
3. ILAC G9: *Guidelines for the Selection and use of Certified Reference Materials* [en línea]. [ref. Junio 2005]. Disponible en Web: <[https://www.ilac.org/documents/ILAC\\_G9\\_2005\\_guidelines\\_for\\_the\\_selection\\_and\\_use\\_of\\_reference\\_material.pdf](https://www.ilac.org/documents/ILAC_G9_2005_guidelines_for_the_selection_and_use_of_reference_material.pdf)>
4. ISO 30: *Terms and definitions use in connection with reference materials* [en línea]. [ref. Mayo 1992]. Disponible en Web: <<http://www.aoac.org/accreditation/terms.htm>>
5. MÉRIDA CANO, Marco Vinicio. *Monitoreo de Calidad en los resultados de los ensayos de densidad e índice de refracción realizados en el LIEXVE del Centro de Investigaciones de Ingeniería USAC.* Trabajo



de graduación de Ing. Industrial. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, 2011. 142 p.

6. MILLER, J.C; MILLER, J.N. *Estadística para química analítica*. 2a. ed. Estados Unidos: Addison-Wesley Iberoamericana, 1993. 141 p. ISBN: 0201601400.
7. \_\_\_\_\_. *Criterios para la acreditación de laboratorios de ensayo y calibración*. [en línea]. [ref. Mayo de 2011] Revisión 2. Disponible en Web: <http://www.oga.org.gt/images/files/File/OGA-GEC-006.pdf>.
8. \_\_\_\_\_. *Política y Selección y Validación de Métodos de Ensayo*. [en línea]. [ref. de enero 2007] versión 1. Disponible en Web: <http://www.oga.org.gt/images/files/File/OGA-GEC-016.pdf>.
9. \_\_\_\_\_. *Políticas de trazabilidad de las mediciones*. [en línea]. [ref. mayo 2007]. Disponible en Web: <http://www.oga.org.gt/images/files/File/OGA-GEC-011.pdf>.

## APÉNDICE

**Presupuesto: Costo del equipo, reactivos y materiales para realizar el ensayo de índice de refracción.**

Tabla XVII. **Material y equipo**

<b>Cristalería</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Artículo</b>	<b>Descripción</b>	<b>Capacidad</b>	<b>Costo Unitario</b>	<b>Costo Total</b>
	3	Beacker	vidrio Boeco	600 ml	34,10	102,30
	3	Micropipeta	Vidrio	250 Unidades	160,00	480,00
	15	Viales	Vidrio	250 ml	2,50	37,50
	1	Parafilm	Rollo	4"x125'		
<b>Equipo</b>	<b>Nombre</b>	<b>Descripción</b>	<b>Precio</b>	<b>Depreciación Anual</b>	<b>Costo/ 1 mes</b>	
	Recirculador	VWR	10885,00	2177,00	181,42	
	Refractómetro	Abbe 32200	24683,00	4936,60	411,38	
<b>Reactivos</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Reactivo</b>	<b>Descripción</b>	<b>Costo Unitario</b>	<b>Costo Total</b>	
	1	Alcohol Etílico 95°	1 L MERCK	7,59	7,59	
	1	Agua Desmineralizada	18,9 L	12,70	12,70	

Fuente: elaboración propia. Microsoft Excel 2010.

Tabla XVIII. **Papelería y útiles**

<b>Otros</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Artículo</b>	<b>Costo Unitario</b>	<b>Costo Total</b>
	1	Papelería y Útiles	100,00	100,00
	1	Fotocopias e Impresiones	200,00	200,00
	1	Servicio de Internet/mes	250,00	250,00
	1	Servicio E. Eléctrica	150,00	150,00
	1	Servicio telefónico/mes	50,00	50,00
	5	Recipientes	20,25	101,25

Continuación de la tabla XVIII.

<b>Otros</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Artículo</b>	<b>Costo Unitario</b>	<b>Costo Total</b>
	3	Mangueras	25,00	75,00
	1	Maskintape	6,75	6,75
	1	Marcador P.	12,30	12,30
	1	Bitacora de Apuntes	10,50	10,50
	100	Etiquetas	4,75	475,00
	1	Tijera	15,70	15,70
	2	CD's	2,50	5,00
	20	Par de Guantes	1,00	20,00

Fuente: elaboración propia. Microsoft Excel 2010.

Tabla XIX. **Costo de índice de refracción**

<b>Servicio de I. R. por muestra</b>	<b>Determinaciones</b>	<b>Costo U.</b>	<b>Costo Total</b>
		30	120

Fuente: elaboración propia. Microsoft Excel 2010.

Tabla XX. **Costo total**

<b>Total de Material y Equipo</b>	Total Cristalería	619,80
	Total Equipo	592,80
	Total Reactivos	20,29
<b>Total Otros</b>		1 471,50
<b>Total 30 Determinaciones I.R.</b>		3 600
<b>COSTO TOTAL</b>		6 304,9

Fuente: elaboración propia. Microsoft Excel 2010.

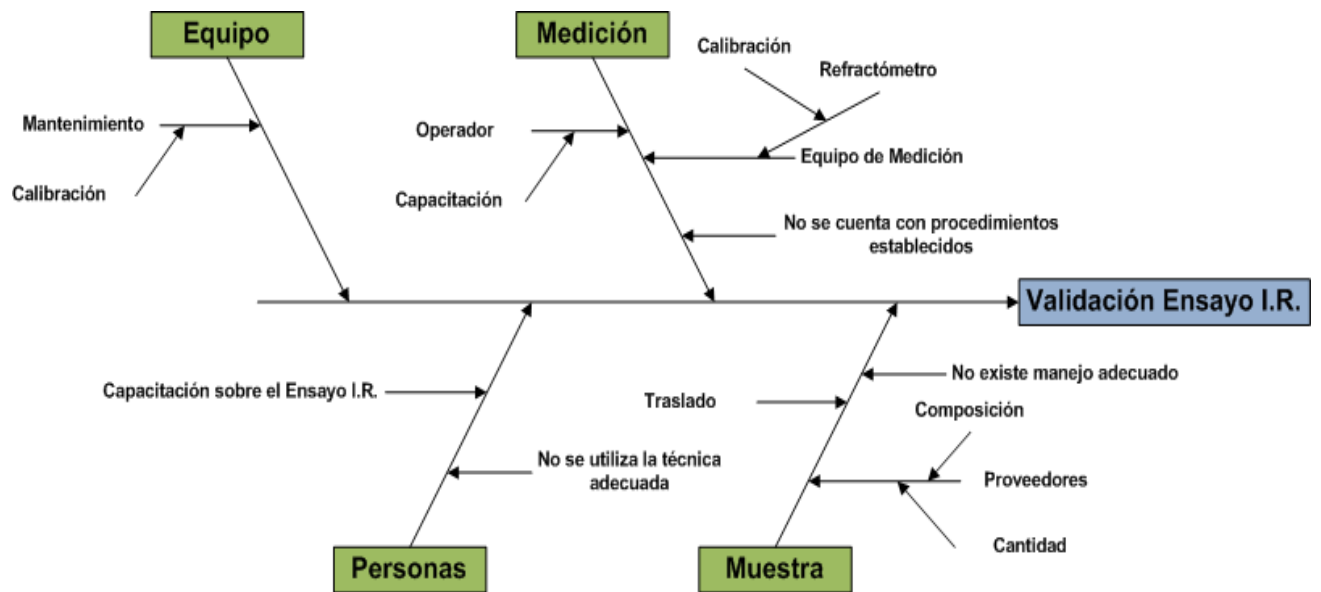
Tabla XXI.

**Requisitos académicos**

Código de materia	Nombre de materia
410	Balance de masa y energía (IQ-1)
412	Flujo de fluidos (IQ-2)
428	Laboratorio de ingeniería química 1
486	Diseño de plantas
704	Ingeniería Económica 3
436	Diseño de equipo
362	Análisis Cualitativo
364	Análisis Cuantitativo
434	Procesos Químicos Industriales

Fuente: elaboración propia. Microsoft Word 2010.

## Diagrama de Ishikawa y/o árbol de problemas



Fuente: elaboración propia. Microsoft Visio 2010.



Formulario No. \_\_\_\_\_

## CUESTIONARIO DE ENTREVISTA

### **I. Generalidades**

Ensayo: \_\_\_\_\_

Encargado/Responsable/Entrevistado: \_\_\_\_\_

### **II. Información.**

1. Cuándo se hace?

---

---

---

2. Cómo se hace?

---

---

---

3. Quién lo hace? (cargo ocupado)

---

---

---

4. Dónde lo hace?

---

---

---

### **III. Otros.**

---

---

---

