

Tutorial uso del material realizado por el proyecto PAPIME PE201324.

Introducción:

El material desarrollado para el proyecto PAPIME PE201324, titulado “Apoyo a la titulación y formación terminal desde la investigación formativa y docencia en química analítica”, fue elaborado por Angel López Ríos, estudiante de la carrera de Química Farmacéutica Biológica con número de cuenta 318187763, como parte de su servicio social en curso bajo la asesoría de la Dra. Agueda Elena Ceniceros Gómez.

El objetivo de este material es servir como apoyo didáctico y audiovisual para las asignaturas “Análisis de Medicamentos” (clave 1705) y “Aseguramiento de la Calidad” (clave 1806) de la carrera de Química Farmacéutica Biológica, así como para la asignatura “Analítica Experimental III” (clave 1802) de la carrera de Química.

Tutorial del material:

El primer componente del material es un tríptico que tiene como objetivo responder las dudas más generales sobre la validación de métodos analíticos, incluyendo qué es, por qué es importante y cuáles son los principales campos de aplicación, además de su relación con el control de calidad. Este tríptico presenta información sintetizada y concreta, diseñada para servir como una guía introductoria para los estudiantes.

[\[https://drive.google.com/file/d/13R3DrXFtTDIMKZxxbB8zMBU6pRWLZPpp/view?usp=drive_link\]](https://drive.google.com/file/d/13R3DrXFtTDIMKZxxbB8zMBU6pRWLZPpp/view?usp=drive_link)

El segundo componente es un material audiovisual que incluye un video y un ejercicio aplicado relacionado con la validación de un método analítico. El video profundiza en los temas abordados en el tríptico, proporcionando información más detallada y permitiendo a los estudiantes verlo las veces que sea necesario para comprender los conceptos. Este recurso también ayuda a diferenciar y poner en práctica conocimientos fundamentales de la química analítica, como la linealidad, precisión y exactitud.

[\[https://drive.google.com/file/d/1Qrhx4dZHbKEJwLoiJDhJBxY8QpV3tKV4/view?usp=drive_link\]](https://drive.google.com/file/d/1Qrhx4dZHbKEJwLoiJDhJBxY8QpV3tKV4/view?usp=drive_link)

Finalmente, se incluye un ejercicio práctico en Excel diseñado para consolidar el aprendizaje adquirido a través del video. Este ejercicio permite a los estudiantes utilizar herramientas de Excel, como la generación de gráficos de curvas de calibración, el análisis de regresiones lineales y la interpretación de datos mediante gráficos. Esto refuerza los temas abordados en las materias mencionadas y proporciona una experiencia práctica en la validación de métodos analíticos, incluyendo el seguimiento de normativas aplicables cuando sea necesario.

En el archivo “Ejercicio proyecto PAPIME PE201324” se presenta el ejercicio interactivo y resolución del mismo presentado en el video, a manera de que quede totalmente explicado y sea más comprensivo para el estudiante en caso de que hubiese dudas al observarlo o interpretarlo en el video.

“Hoja de calculo resuelta
[https://docs.google.com/spreadsheets/d/1xUdVUhVDs9QSKF4QrD5_Q-n5WCx_kY2r/edit?usp=drive_link&oid=102048943555827325182&rtpof=true&sd=true]

Hoja de calculo sin resolver

[https://docs.google.com/spreadsheets/d/14A7xC3cgUKTxY0g4yOJwyTnxSFEI8SpH/edit?usp=drive_link&oid=102048943555827325182&rtpof=true&sd=true]

En la primer hoja que lleva por título “Índice” se menciona que es lo que contiene el material presentado, al igual que quien lo realizó y que es lo que se espera lograr con dicho material.

En la hoja que se titula “Linealidad” se presenta la explicación al término linealidad, junto con qué valores deben respetarse para que cumpla con lo establecido en la NOM-177-SSA1-2013, ya que el ejercicio consta en la valoración de un método analítico de acuerdo lo descrito en la norma.

Para ello, se requiere primeramente construir una curva de calibración. Seleccionando **Concentración** y **Absorbancia** y dando clic en **Insertar** y **graficos de dispersión**, se adjuntará el gráfico de la curva.

Archivo Inicio Insertar Disposición de página Fórmulas Datos Revisar Vista Ayuda ¿Qué desea hacer?

Tabla dinámica Tablas dinámicas recomendadas Tablas Imágenes Formas Captura Gráficos recomendados Gráfico dinámico

Gráfico Dispersión

LINEALIDAD

La linealidad se define como la capacidad de un método analítico para asegurar que el resultado de una muestra. Este parámetro de acuerdo a la NOM-177-SSA1-2013 se evalúa mediante los siguientes criterios de aceptación de acuerdo a la guía de validación.

Recuerda que el intervalo de la curva de calibración dependen de la guía de validación. El intervalo de la curva está determinado por una concentración de Ácido Acetil Salicílico de 20 a 300 µg/mL.

Conc. (µg/mL)	CURVA Abs.(λ=265 nm)	Factor de respuesta	Sy
20	0.0490	0.002	2.0605
40	0.1145	0.003	0.4121
100	0.3045	0.003	1.4292
200	0.6335	0.003	450.4100
300	0.9590	0.003	0.0024

Ahora, teniendo el gráfico, se puede evaluar el valor de r^2 . Al dar clic en el gráfico, posteriormente a la **cruc verde** se abra un menú. Al dar clic en **línea de tendencia** y en **más opciones**, se marca **“Presentar ecuación del gráfico y presentar valor de r^2 ”**.

orma son $r \geq 0.99$ y $ERR \leq 2.0\%$

De acuerdo a la norma esta requiere por lo menos cinco puntos. Cada punto de los resultados obtenidos después de las lecturas se demuestran a continuación.

Curva de calibración

Absorbancia

Concentración (µg/mL)

$y = 0.0033x - 0.0171$
 $R^2 = 1$

Formato de línea d... x

Opciones de línea de tendencia

Exponencial

Elementos de gráfico

- Ejes
- Títulos del eje
- Título del gráfico
- Etiquetas de datos
- Barras de error
- Líneas de cuadrícula
- Leyenda
- Línea de tendencia >

Lineal

Exponencial

Extrapolar lineal

Media móvil de dos periodos

Más opciones...

Automático

Personalizado

Extrapolar

En el futuro 0.0 período

En el pasado 0.0 período

Señalar intersección 0.0

Presentar ecuación en el gráfico

Presentar el valor R cuadrado en el gráfico

concentran dentro de los parámetros establecidos por la norma,

Si lo prefieres, se puede también evaluar mediante la fórmula “**COEFICIENTE.R2**” al escribirla en la parte superior y seleccionar el **conocido y (absorbancias)** y **conocido x (concentraciones)**.

Conc. (µg/mL)	CURVA Abs.(λ=265 nm)	Fact resp
20	0.0490	0.0
40	0.1145	0.0
100	0.3045	0.0
200	0.6335	0.0
300	0.9590	0.0

b=	-0.01705
m=	0.00325
r=	0.99999
r ² =	COEFICIENTE.R2(C17:C21) > 0.99

Por último, para evaluar el EER, se requiere el uso de las formulas:

$$\text{Error relativo debido a la regresión \%} = \frac{S_{y/x}}{\bar{y}} * 100$$

En donde:

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - (\text{pendiente} * \sum yx) - (\text{ordenada} * \sum y)}{n - 2}}$$

- $S_{y/x}$ = Desviación estándar (error estandar) de la regresión
- \bar{y} = promedio de la respuesta
- x= concentración
- y = respuesta
- n - 2= grados de libertad

Para ello, se puede sacar el valor de la pendiente y de la ordenada mediante formulas como “**PENDIENTE**” e “**INTERSECCION.EJE**” colocando así como en la

formula de “**COEFICIENTE.R2**” al **conocido y (absorbancias)** y **conocido x (concentraciones)**.

Para lo demás, es requerido sacar el promedio de los valores de absorbancia (valores de y) empleando la formula “**PROMEDIO**” y seleccionando los valores.

Por último, para los valores que contiene el símbolo Σ , es requerido hacer la sumatoria de lo que se indica.

- Para Σy^2 se requiere primeramente elevar al cuadrado todos los valores de absorbancia y posteriormente sumarlos.
- Para Σyx se requiere multiplicar cada valor de “x” con su correspondiente valor de “y” y posteriormente sumarlos.
- Para Σy se requiere solamente sumar los valores de absorbancia.

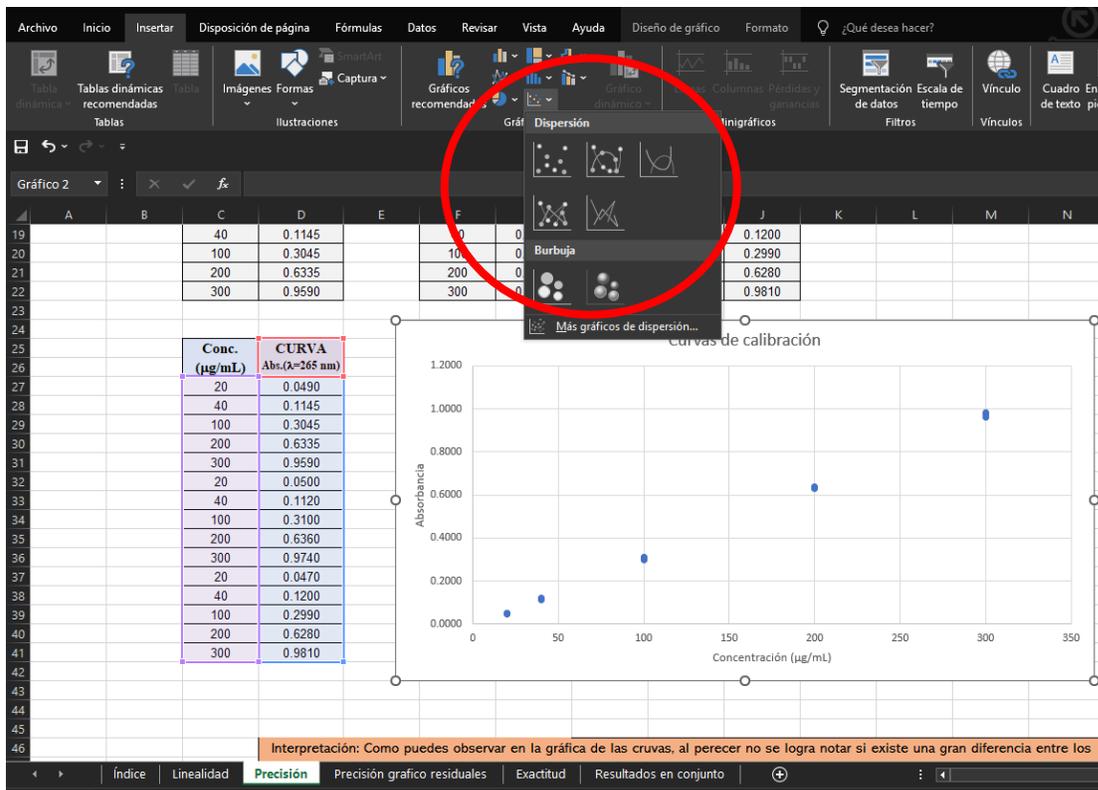
Con todo ello, solamente se sustituyen los valores correspondientes para dar con el valor de **EER en porcentaje**.

Conc. (µg/mL)	CURVA Abs.(λ=265 nm)	Factor de respuesta		
20	0.0490	0.002	S y=	2.0605
40	0.1145	0.003	ŷ	0.4121
100	0.3045	0.003	Sy2=	1.4292
200	0.6335	0.003	Sxy=	450.4100
300	0.9590	0.003	Sy/x=	0.0024
			ERR=	=G21/G18*100 <2%

Por último, debajo se encuentra una interpretación de los datos obtenidos.

En la hoja que se titula “Precisión” se aborda el término de precisión y como este se puede evaluar a partir de otros dos conceptos como lo es la repetibilidad y la reproducibilidad. A su vez, en el se explica cómo es que se realiza el análisis visual mediante el gráfico de residuales.

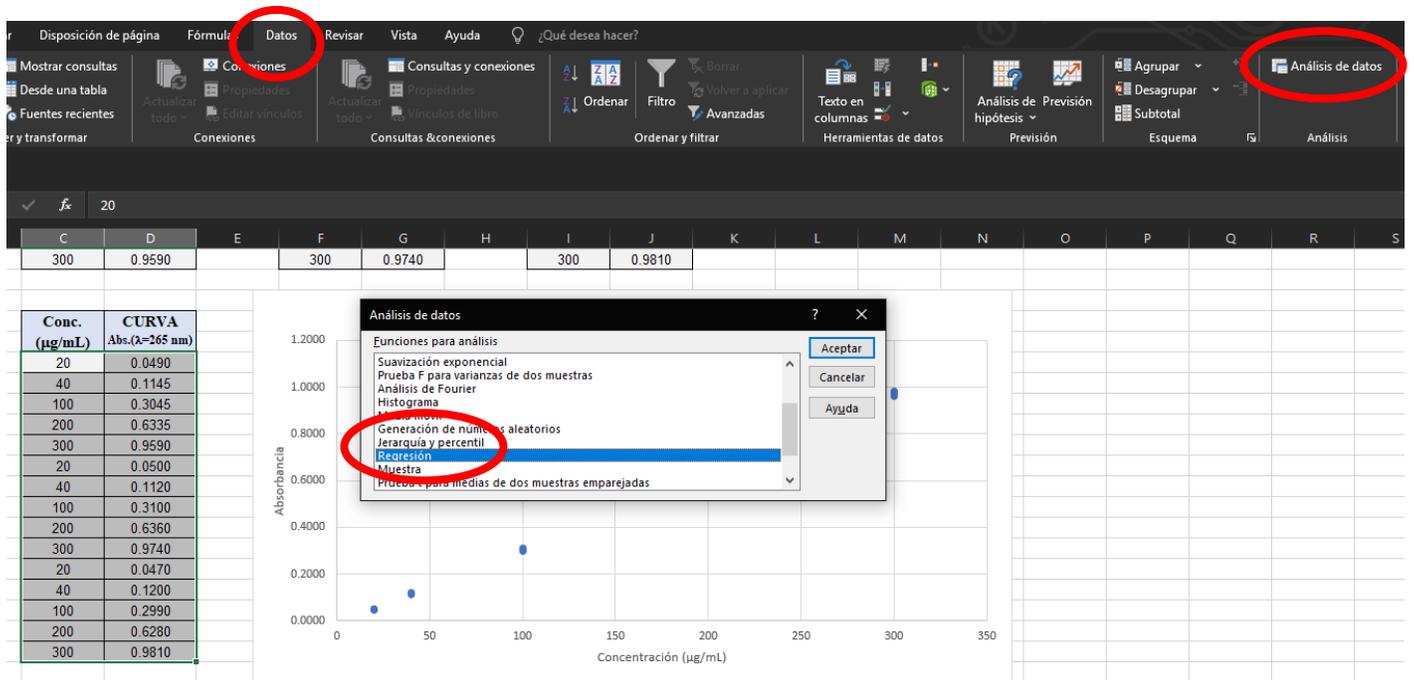
Para ello, se requiere tener al menos una serie de curvas de calibración. Posterior a ello, se colocan de manera vertical las curvas y se realiza el mismo gráfico para observar las curvas así como se describió para la hoja de “Linealidad”.



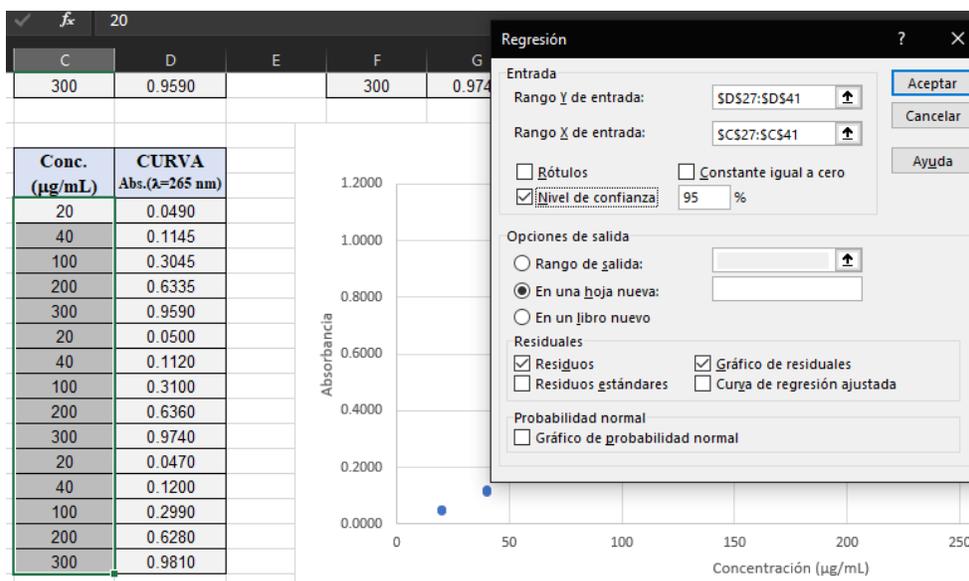
Dado que el gráfico no nos permite observar si hay valores fuera de tendencia dado la cercanía de los datos o la escala del gráfico, es necesario realizar un análisis por el **gráfico de residuales**.

Para realizar el gráfico de residuales los pasos son:

- Seleccionar los datos de **concentración y absorbancia**.
- En la parte superior, seleccionar **“datos”**.
- En la parte superior derecha seleccionar **“análisis de datos”** y en el menú que se despliega, seleccionar **“regresión”**.



Una vez en el menú, se selecciona la valores de y de entrada (valores de absorbancia), los valores de x de entrada (valores de concentración), se marcan las casillas “nivel de confianza 95%”, “Residuos” y “gráfico de residuales”. Finalmente, se da clic en aceptar.



En la hoja titulada “Precisión gráfico de residuales” se muestra la hoja generada de los anteriores pasos. En ella se puede observar el gráfico de los residuales y la distribución de los valores de la curva de calibración a su respectiva concentración.

Por último, se encuentra una interpretación del gráfico de residuales y la tendencia que siguen los datos.

En la hoja titulada “Exactitud” se define el termino exactitud y como este parámetro es evaluado de acuerdo a la NOM-177-SSA1-2013.

Para el ejercicio se tienen valores reales de concentración y valores nominales de concentración de la curva de calibración que se ha empleado a lo largo de los ejercicios. Para evaluar el porcentaje de recobro o de diferencia, se sigue la siguiente ecuación:

$$\%Dif\ absoluta = \left| \frac{Concentración\ nominal - Concentración\ experimental}{Concentración\ nominal} \right| * 100$$

Siendo la concentración nominal la concentración “ideal” y la concentración experimental la que se obtiene a partir de la fabricación de la disolución a la concentración esperada (o ideal).

itud se define como el grado de concordancia entre el valor o
 etro de acuerdo a la NOM-177-SSA1-2013 evalúa calculando
 para este parámetro es que el porcent
 ste caso, al realizar una curva de calibración la mayoría de las
 ación real de cada punto de la curva y con ello, realizar el calc
 recobro) mediante la fórmula desc

	%Dif	Conc. Recuperada	Conc. (µg/mL)
	=(F14-E14)/F14)*100	20.08	20
	1.625	40.65	40
	1.67	101.67	100
	2.62	194.76	200
	0.95	302.85	300
Promedio	1.453		
	<3%		

Una vez realizado el porcentaje de recobro o de diferencia con cada uno de los puntos de la curva, se realiza el promedio con la función “**PROMEDIO**”.

Por último, se encuentra una interpretación al resultado obtenido con respecto a la norma.

Finalmente, en la hoja titulada “Resultados en conjunto” se encuentra un resumen de todos los valores que se obtuvieron a lo largo del ejercicio, el parámetro a cumplir y si cumple o no con lo establecido por el parámetro. A su vez, en caso de no

cumplir, se describe qué es lo que se debe hacer y la importancia de corregir aquellos puntos y su relación con el control de calidad.

Agradecimiento

Agradecemos a la responsable del proyecto la Dra. María Teresa de Jesús Rodríguez Salazar.