

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
FACULTAD DE CIENCIAS



TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL

**“VALIDACIÓN E IMPLEMENTACIÓN DE UNA METODOLOGÍA
POR CROMATOGRFÍA DE GASES PARA LA DETERMINACIÓN
DE ÓXIDO DE ETILENO RESIDUAL EN SUTURAS QUIRÚRGICAS”**

PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN QUÍMICA

ELABORADO POR
JESUS ENRIQUE UTANO REYES

 0009-0000-6230-5078

ASESOR:
DR. HUGO ARTURO ALARCÓN CAVERO

 0000-0002-9533-2133

LIMA – PERÚ

2025

Citar/ How to cite	Utano Reyes [1]
Referencia/ Reference	J. Utano Reyes “ <i>Validación e implementación de una metodología por cromatografía de gases para la determinación de óxido de etileno residual en suturas quirúrgicas</i> ” [Trabajo de suficiencia profesional, Universidad Nacional de Ingeniería]. Lima, Perú: Universidad Nacional de Ingeniería, 2025.
Estilo/ Style: IEE (2020)	

Citar/ How to cite	(Utano, 2025)
Referencia/ Reference	Utano, J. (2025). <i>Validación e implementación de una metodología por cromatografía de gases para la determinación de óxido de etileno residual en suturas quirúrgicas</i> [Trabajo de suficiencia profesional, Universidad Nacional de Ingeniería]. Repositorio Institucional UNI.
Estilo/ Style: APA (7ma ed.)	

Dedicatoria

Dedico este trabajo a mi familia, mi novia Nicol y mi hijo Alejandro, los cuales me motivaron para terminar este trabajo de investigación

Agradecimientos

Quiero agradecer al Dr. Hugo Alarcón, mi asesor de trabajo de suficiencia profesional, por su invaluable guía y apoyo a lo largo de este proceso. Su experiencia, paciencia y dedicación han sido fundamentales para el desarrollo y la culminación de este trabajo. Agradezco profundamente sus consejos y su disposición para compartir su vasto conocimiento, lo cual ha enriquecido enormemente mi formación académica y profesional. Su compromiso con la excelencia y su entusiasmo por la investigación han sido una fuente constante de inspiración.

Quiero expresar mi agradecimiento a la recordada profesora Otilia Acha de la Cruz, fundadora del Laboratorio de Investigaciones y Certificaciones LABICER-FC. Su dedicación y pasión por la ciencia han sido una fuente de inspiración constante para mí. A través de su legado, he aprendido la importancia de la rigurosidad académica y el compromiso con la excelencia. Su influencia perdura en cada paso de mi formación y en cada logro alcanzado en este trabajo.

Resumen

El presente trabajo tuvo como objetivo validar e implementar un método de análisis que sirva para determinar la concentración del analito óxido de etileno en muestras de suturas quirúrgicas por el método de cromatografía de gases empleando el detector de ionización de llama y la técnica headspace.

Se fundamenta en el problema de que las suturas quirúrgicas pueden poseer residuos de óxido de etileno debido a su esterilización con este gas, ya que este gas es un carcinógeno se requiere su determinación para asegurar que se encuentre dentro de los límites máximos permisibles establecidos por la FDA (menor a 250 ppm).

Para la validación del método, se siguieron los criterios de validación de métodos de cromatografía de gases indicados en el Anexo B de la UNE EN ISO 10993-7:2008 que indican evaluar los siguientes parámetros: Selectividad, exactitud, precisión, linealidad, límite de detección y límite de cuantificación.

Palabras claves- Suturas quirúrgicas, cromatografía de gases, óxido de etileno, validación.

Abstract

The objective of this work was to validate and implement an analysis method that serves to determine the concentration of the analyte ethylene oxide in samples of surgical sutures by the gas chromatography method using the flame ionization detector and the headspace technique.

It is based on the problem that surgical sutures may have residues of ethylene oxide due to their sterilization with this gas, since this gas is a carcinogen, its determination is required to ensure that it is within the maximum permissible limits established by the FDA (less than 250 ppm).

For the validation of the method, the validation criteria for gas chromatography methods indicated in Annex B of UNE EN ISO 10993-7:2008 were followed, which indicate evaluating the following parameters: Selectivity, accuracy, precision, linearity, limit of detection and limit of quantification.

Keywords- Surgical sutures, gas chromatography, ethylene oxide, validation.

Tabla de Contenido

	Pág.
Resumen.....	v
Abstract.....	vi
Capítulo I. Parte introductoria del trabajo.....	1
1.1 Generalidades.....	1
1.2 Descripción del problema de investigación.....	4
1.3 Objetivos del estudio.....	5
1.4 Antecedentes investigativos- estudios químicos generales.....	6
Capítulo II. Marco teórico y conceptual.....	8
1.1 Marco teórico.....	8
1.2 Marco conceptual.....	46
Capítulo III. Desarrollo del trabajo de investigación.....	51
3.1 Presentación.....	51
3.2 Trabajo experimental.....	52
Capítulo IV. Análisis y Discusión de los Resultados.....	57
4.1 Precisión.....	57
4.2 Selectividad.....	59
4.3 Exactitud.....	61
4.4 Linealidad.....	63
4.5 Límite de detección y cuantificación del método.....	65
4.6 Rango de Trabajo.....	66
Conclusiones.....	70
Recomendaciones.....	71
Referencias bibliográficas.....	72
Anexos.....	76

Lista de Tabla

	Pág.
Tabla 1: Propiedades fisicoquímicas del óxido de etileno.....	8
Tabla 2: Tabla de análisis de ANOVA de 2 factores con interacción.....	41
Tabla 3: Datos del estándar de óxido de etileno.....	53
Tabla 4: Datos de la columna cromatográfica.....	55
Tabla 5: Condiciones cromatográficas del método.....	55
Tabla 6: Resultados del estudio de precisión.....	57
Tabla 7: Resultados del parámetro selectividad.....	60
Tabla 8: Datos del análisis del parámetro exactitud.....	61
Tabla 9: Resumen de los datos del análisis del parámetro exactitud.....	62
Tabla 10: Datos del análisis de la linealidad.....	63
Tabla 11: Parámetro del análisis de la linealidad.....	63
Tabla 12: Datos del análisis de límite de detección del método.....	65
Tabla 13: Resultados del estudio de precisión.....	66
Tabla 14: Resultados del estudio de precisión.....	68

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1: Organigrama de la empresa.....	3
Figura 2: Estructura del óxido de etileno.....	8
Figura 3: Etiquetado conforme a los criterios GHS de la ONU.....	9
Figura 4: Alquiler debido al óxido de etileno.....	11
Figura 5: Diagrama de bloques de un cromatógrafo de gases típico.....	14
Figura 6: Vista de la sección transversal de un inyector directo de vaporización instantánea.....	15
Figura 7: Principio de la técnica Headspace. (A)equilibrio y (B) transferencia de la muestra. Donde: CG = gas portador, SV = vial de muestra, TH = termostato, COL = columna del cromatógrafo, D = detector.....	18
Figura 8: Proceso de validación de un método.....	26
Figura 9: A) Curva de respuesta. B) Curva que representa la concentración medida en función de la concentración de la muestra de ensayo.....	36
Figura 10: Fotografía del estándar de óxido de etileno.....	53
Figura 11: Fotografía del cromatógrafo de gases.....	54
Figura 12: Fotografía de la columna cromatográfica.....	54
Figura 13: Gráfica de la prueba de normalidad.....	58
Figura 14: Gráfica de la prueba de homogeneidad.....	58
Figura 15: Valores para la prueba numérica de valores atípicos.....	59
Figura 16: Gráfica de h y k de Mandel para la evaluación de consistencia de datos.....	59
Figura 17: Comparación de cromatogramas. Cromatogramas del Estándar de 5 ppm de óxido de etileno (negro), blanco del método (verde), alcohol isopropílico (azul), sutura de seda (rojo), sutura de polietileno (celeste) y sutura de nylon (marrón).....	60
Figura 18: Curva de calibración para cuantificación del óxido de etileno.....	64
Figura 19: Gráfica de la prueba de normalidad.....	66
Figura 20: Gráfica de la prueba de homogeneidad.....	67
Figura 21: Valores para la prueba numérica de valores atípicos.....	67
Figura 22: Gráfica de h y k de Mandel para la evaluación de consistencia de datos.....	68
Figura 23: Evaluación del t de Student para evaluar la exactitud de los resultados.....	69

Lista de Abreviaturas

EtO: Óxido de Etileno

DSR: Desviación estándar relativa

DS: Desviación estándar

min: Minuto

g: Gramo

ppm: Partes por millón

F: Estadígrafo de Fisher

r: Coeficiente de correlación

t: t de Student

MR: Materiales de referencia

MRC: Materiales de referencia certificados

Introducción

En el ámbito médico, la esterilización de suturas quirúrgicas es un proceso crucial para garantizar la seguridad y prevenir infecciones en los pacientes. El óxido de etileno es un agente esterilizante ampliamente utilizado debido a su eficacia en la eliminación de microorganismos. Sin embargo, la presencia residual de óxido de etileno en las suturas puede representar un riesgo significativo para la salud, ya que es un compuesto tóxico y potencialmente carcinogénico, porque tiene la capacidad de dañar el ADN mediante reacciones, causando mutaciones que pueden llevar al desarrollo de cáncer.

Generalmente, las empresas usan técnicas colorimétricas o de titulación para cuantificar los residuos de óxido de etileno en suturas, los resultados obtenidos presentan limitaciones en términos de precisión, sensibilidad y tiempo de respuesta. Por ello, la cromatografía de gases se ha propuesto como una técnica alternativa que podría superar estas limitaciones, ofreciendo resultados más confiables y rápidos.

El objetivo de esta investigación es validar e implementar una metodología basada en la cromatografía de gases para la determinación cuantitativa de óxido de etileno residual en suturas quirúrgicas. Este trabajo corresponde a mi labor como Analista de Laboratorio de Investigación y Certificaciones LABICER-UNI. La validación de este método es esencial para asegurar que las suturas esterilizadas sean seguras para su uso en procedimientos médicos, minimizando los riesgos asociados con los residuos de óxido de etileno.

Capítulo I. Parte Introductoria del trabajo

1.1 Generalidades

1.1.1 Datos generales de la empresa

El laboratorio de investigación de certificaciones de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería (LABICER FC-UNI), fue inaugurado el día 27 de abril del 2012. Cuenta con dos ambientes, el ambiente principal ubicado en el Centro de Investigación de la Facultad de Ciencias y el otro se encuentra dentro del laboratorio N°12 de la Facultad de Ingeniería Química y Textil. Es hoy en día un modelo de colaboración científica de un proyecto de Inversión Pública y uno de los centros de investigación más importantes para propiciar la excelencia académica de nuestros egresados y el servicio al sector empresarial de nuestro país ligado a la universidad (LABICER, 2024).

Las principales actividades del laboratorio LABICER son:

❖ Servicio al sector empresarial:

- Sector minería: Análisis de minerales metálicos, que incluyen metales industriales como plomo, cobre, plata, oro y minerales de zinc y concentrados junto con muchos otros. Análisis de muestras no metálicas sulfatos, carbonatos, nitratos, fosfatos, silicatos, arcillas, etc). Análisis de aguas y efluentes de sector minero. Análisis de composición química de minerales y rocas (barrido completo).
- Sector construcción: Análisis de suelos, calicatas, agregados, cemento y mortero (químico y físico), análisis granulométrico, aguas (cloruros, sulfatos, etc.), ensayo de compresión, flexión, tracción, etc., en materiales de construcción (concreto, acero, madera, ladrillo, etc.). Resistividad y conductividad eléctrica de suelos y cemento conductivo.
- Sector Industrial: Ensayos de materiales (metales, aleaciones: aceros, latones, bronces, etc., no metales: polímeros, elastómeros, papeles, maderas, cueros, etc., pinturas, barnices, lacas, thinners, etc.), ensayo de propiedades térmicas, ensayos de inflamabilidad, análisis de composición química, análisis microestructurado, ensayos de resistencia a la exposición a la intemperie (luz ultravioleta, calor, lluvia ácida, etc.), envejecimiento, dimensionamiento, ensayos de seguridad. Verificación de características de materiales. Ensayos de materiales: tracción, elongación, flexión, compresión, impacto, dureza (Rockwell, Brinell, Vickers, Shore, Shore A, Shore D, etc.), análisis metalográfico, análisis de falla, evaluación de artículos de seguridad industrial (cascos, guantes, botas, arnés, etc.).

- Sector Ambiental: Determinación de partículas en suspensión PM10, NOx, SO2 , CO, etc. Muestreo y análisis de aguas y suelos. Medición de intensidad de ruido.
 - Sector Hidrocarburos: Análisis de hidrocarburos, diesel, biodiesel, petróleo residual, combustibles, gases, aceites y grasas.
 - Sector Alimentos y Farmaindustria: Ensayos químicos, físicos y organolépticos para analizar la composición, inocuidad y calidad de las muestras alimenticias, farmacéuticas, veterinarias. Análisis de empaques, incluyendo etiquetas y marcas. Requerimientos de empaques para exportación.
- ❖ Apoyo en cursos de pregrado, enseñando el manejo de los equipos instrumentales y realizando análisis de muestras tratadas en las prácticas de laboratorio.

El laboratorio también realiza cursos teórico-práctico de diferentes técnicas instrumentales como:

- ❖ Espectrofotometría de absorción atómica
- ❖ Cromatografía líquida de alta performance
- ❖ Cromatografía de gases
- ❖ Espectrometría de fluorescencia de rayos x de energía dispersiva
- ❖ Espectrometría infrarroja
- ❖ Espectrofotometría UV-Visible

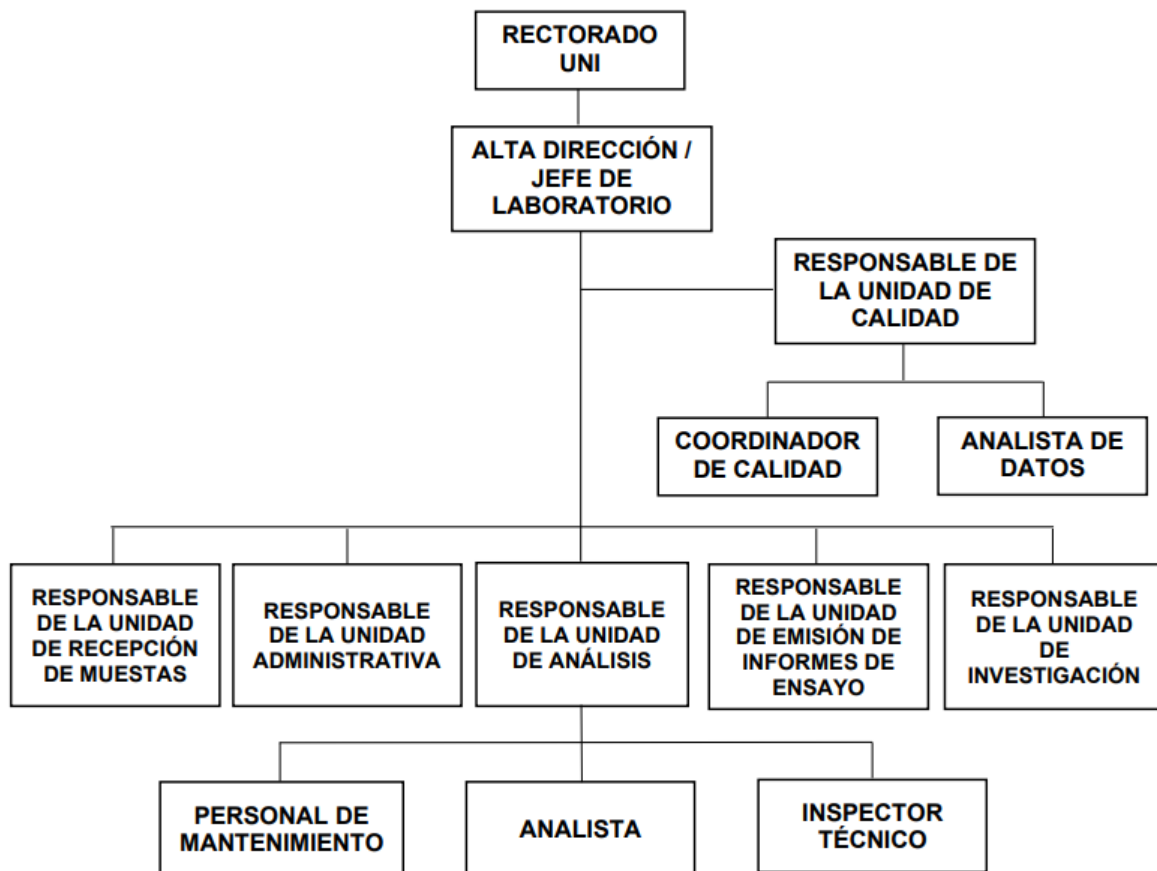
Además, el laboratorio FC- LABICER tiene los siguientes datos:

- ❖ Dirección:
Av. Tupac Amaru 210 – Rímac – Lima
- ❖ Teléfono:
(01) 382 0500
- ❖ Email:
labicer@uni.edu.pe
- ❖ Jefe del Laboratorio:
M.Sc. Ily Marilú Maza Mejía CQP N° 1149

1.1.2 Organigrama de la empresa

El organigrama de la empresa FC-LABICER está ilustrado en la Figura 1, en lo cual muestra al Rectorado UNI como el pilar de la empresa.

Figura 1
Organigrama de la empresa



1.1.3 Funciones de la empresa

Las funciones que día a día desarrolla el laboratorio de investigación y certificaciones (LABICER) son:

- ❖ Cumplimiento de las políticas y objetivos del sistema de gestión de Labicer.
- ❖ Recepción de las órdenes de trabajo, en las que se indican las muestras y los análisis que se debe realizar.
- ❖ Realizar los análisis de acuerdo con los métodos de ensayo establecidos y los plazos correspondientes.
- ❖ Registrar los datos obtenidos en la ejecución de los métodos de ensayo.
- ❖ Informar los criterios de rechazo y aceptación de los resultados para garantizar su validación.
- ❖ Realizar los informes técnicos dentro del plazo de entrega al cliente, de acuerdo a los formatos y lineamientos del laboratorio, para su posterior revisión por la jefatura de laboratorio.

- ❖ Mantener la integridad del equipamiento del laboratorio y de los ítems de ensayo según aplique.
- ❖ Verificar el estado de operatividad de los equipos de medición y/o equipos auxiliares del laboratorio.
- ❖ Ejecutar la comprobación intermedia de los equipos del laboratorio.
- ❖ Participar en la actualización del inventario de los insumos químicos, materiales y equipamiento. Esta actividad se realiza dos veces al año.
- ❖ Mantener actualizados los registros relacionados al equipamiento asignado.
- ❖ Informar al responsable de la unidad de análisis cuando detecte defectos de funcionamiento o fluctuaciones anormales del sistema analítico y/o instrumental, o un potencial trabajo de ensayo no conforme.
- ❖ Informar al responsable de su unidad con anticipación los requerimientos de insumos, materiales, equipamiento, infraestructura necesarios para el normal desenvolvimiento de las operaciones del laboratorio.
- ❖ Participar en los programas de implementación y verificación de métodos de ensayo.
- ❖ Aplicar las buenas prácticas de laboratorio.
- ❖ Cumplir los lineamientos de aseguramiento de la validez de los resultados y con lo estipulado en los documentos del sistema de gestión.
- ❖ Elaborar especificaciones técnicas o términos de referencia de los requerimientos de su unidad para la posterior revisión de la jefatura de laboratorio.
- ❖ Participar en la resolución de quejas y trabajo no conforme de responsabilidad de su unidad.
- ❖ Reportar cualquier tipo de soborno real o potencial durante el desarrollo de sus funciones.
- ❖ Asegurar y preservar la confidencialidad de la información de los servicios.
- ❖ Mantener el área de trabajo limpia y ordenada.
- ❖ Informar sobre acontecimientos que puedan afectar el desarrollo de sus actividades.
- ❖ Participar en las capacitaciones del sistema de gestión.

1.2 Descripción del problema de investigación

En el ámbito de la medicina, la esterilización de suturas es un proceso crítico para garantizar la seguridad y la prevención de infecciones en los pacientes. El óxido de etileno es un agente esterilizante ampliamente utilizado debido a su eficacia en la eliminación de microorganismos. Sin embargo, la presencia residual de óxido de etileno en las suturas puede representar un riesgo para la salud, ya que es un compuesto tóxico y potencialmente

carcinogénico, porque tiene la capacidad de dañar el ADN mediante reacciones, causando mutaciones que pueden llevar al desarrollo de cáncer.

Actualmente, los métodos de análisis para cuantificar los residuos de óxido de etileno en suturas, como la titulación y métodos colorimétricos, presentan limitaciones en términos de precisión, sensibilidad y tiempo de respuesta. La cromatografía de gases se ha propuesto como una técnica alternativa que podría superar estas limitaciones, ofreciendo resultados más confiables y rápidos, debido a su alta sensibilidad y precisión.

El problema de investigación se centra en la necesidad de validar la cromatografía de gases como método de análisis para la detección de óxido de etileno en suturas. La validación de este método es esencial para asegurar que las suturas esterilizadas sean seguras para su uso en procedimientos médicos, minimizando los riesgos asociados con los residuos de óxido de etileno.

1.3 Objetivos del estudio

1.3.1 Objetivo General

Validar el análisis de óxido de etileno en suturas quirúrgicas mediante cromatografía de gases siguiendo la norma UNE-EN ISO 10993-7.

1.3.2 Objetivos Específicos

- i. Determinar las características de desempeño del análisis de óxido de etileno en suturas quirúrgicas siguiendo el método UNE-EN ISO 10993-7: linealidad, precisión, selectividad, exactitud, linealidad, límite de detección, límite de cuantificación y rango de trabajo.
- ii. Evaluar las características de desempeño del método de validación propuesto del método UNE-EN ISO 10993-7.

1.4 Antecedentes investigativos

1.4.1 (Cañaveral, 2023)

Su trabajo titulado como, “Desarrollo y validación de un método analítico para la determinación de Óxido de Etileno (EO) residual y Etilenclorhidrina (ECH) en dispositivos médicos (Cánulas y catéteres) mediante Cromatografía de Gases HeadSpace (GC - HS)”, se centra en la validación de un método analítico para detectar residuos de óxido de etileno y etilenclorhidrina en dispositivos médicos utilizando cromatografía de gases con inyección por HeadSpace. Los resultados obtenidos luego de emplear el método ISO 10993-7:

- ❖ El método presenta un comportamiento lineal, para el EO en el rango de concentraciones entre 1,25 a 20,0 ppm y para ECH en el rango de concentraciones entre 2,50 a 40,0 ppm, dando como resultado coeficientes de correlación mayores que 0,999.
- ❖ De igual forma el método demostró ser preciso, ya que al obtener un % RSD de áreas del 4,1 % para EO y de 2,7 % para ECH, confirma que el método no presenta desviaciones ni grandes dispersiones en los resultados.
- ❖ El Límite de detección estimado para el EO y la ECH es 0,15 ppm y 0,36 ppm, respectivamente.
- ❖ Por otro lado, se obtuvieron excelentes recuperaciones para matrices de cánulas y catéteres, para EO, en cánulas de 91,1 % y en catéteres de 90,7 %; de la misma manera para ECH, en cánulas de 91,7 % y en catéteres de 92,6 %.
- ❖ Los resultados indican que el método tiene un nivel aceptable de exactitud.
- ❖ Donde se encontró que la concentración de EO y de ECH estaba por debajo de los límites permisibles de dispositivos de exposición limitada, para EO de 4 mg y para ECH de 9 mg. Por lo tanto, este trabajo demuestra la utilidad del método desarrollado para el análisis de control de calidad en la determinación del contenido a niveles de trazas residuales de EO y ECH en muestras de dispositivos médicos.

1.4.2 (Gimeno et al., 2018)

Los autores se basaron en la norma ISO 10993-7, por lo cual realizaron mediciones múltiples de GC-HS de muestras de plástico esterilizadas con EO residual presente. La cuantificación del OE se realizó, de acuerdo con la norma ISO, mediante adición de las cantidades de OE extraídas para cada extracción repetida. Los resultados obtenidos luego de realizar el método cromatográfico HS/GC-MS:

- ❖ Para cada curva de calibración, los coeficientes de determinación $R^2 > 0,995$ y el sesgo relativo medio en concordancia con las especificaciones "in house" (10%) indican una correlación lineal aceptable en el rango de calibración considerado (0,5-6,0 g por vial).

- ❖ Los resultados obtenidos durante la validación del método evidencian una sensibilidad y repetibilidad aceptables del método propuesto. LOD y LOQ se determinaron respectivamente a 0,05 ppm y 0,1 ppm con una repetibilidad dentro de la prueba y entre las pruebas satisfactoria en relación con la técnica analítica utilizada (modo de inyección en espacio de cabeza, sin patrón interno y medición múltiple GC-HS).
- ❖ Entre laboratorios reproducibilidad probada utilizando diferentes métodos destacan una buena precisión del método propuesto basado en un enfoque de validación cruzada ($7,6 \pm 0,3$ ppm vs $8,0 \pm 0,1$ ppm y $22,2 \pm 0,7$ ppm vs $24,6 \pm 0,7$ ppm).

Capítulo II. Marco teórico y conceptual

2.1 Marco teórico

2.1.1 Óxido de etileno

Es el epóxido más importante, a temperatura ambiente, es un gas incoloro, inflamable, tóxico y más denso que el aire . Gas extremadamente inflamable, tóxico cuando se inhala, posible causante de cáncer y causa irritación cutánea y ocular grave (Aragón Peña & González García, 2019).

Figura 2

Estructura del óxido de etileno

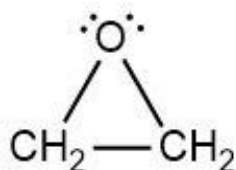


Tabla 1

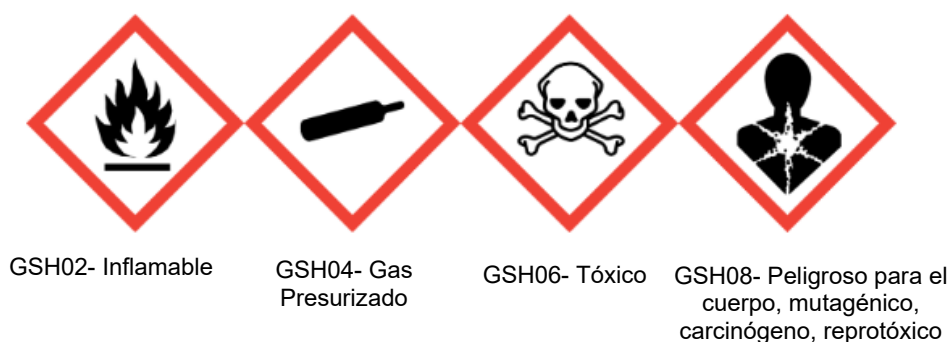
Propiedades fisicoquímicas del óxido de etileno

Propiedad Físico- Química	Valor
Fórmula	C ₂ H ₄ O
Masa molecular	44.1
Punto de ebullición	11°C
Punto de fusión	-111°C
Densidad relativa (agua = 1)	0.9
Solubilidad en agua	miscible
Presión de vapor, kPa a 20°C	146
Densidad relativa de vapor (aire = 1)	1.5
Punto de inflamación	gas inflamable
Temperatura de autoignición	429°C
Límites de explosividad, % en volumen en el aire	3-100
Coeficiente de reparto octanol/agua como Log Pow	-0.3

Nota: Adaptado de (Aragón Peña & González García, 2019)

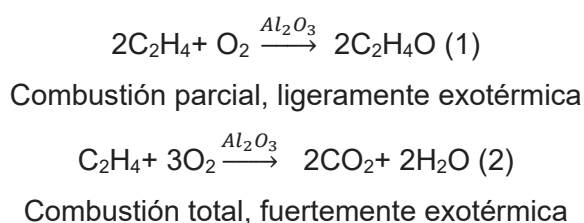
Figura 3

Etiquetado conforme a los criterios GHS de la ONU



a. Producción de óxido de etileno

La producción de EtO se basa inicialmente en la oxidación parcial del etileno al óxido de etileno en estado gaseoso. Para esta reacción se puede emplear tanto aire como oxígeno como reactivos. Al emplear oxígeno puro se obtiene un mayor rendimiento en la producción y una mayor pureza del producto. Los reactivos se introducen en la planta con ayuda de una tubería y se mezclan en la misma en estado gas mediante “baffles”. En este proceso hay 2 reacciones que compiten entre ellas: la oxidación parcial y la oxidación total del etileno. También existen otras reacciones secundarias como la re-oxidación del EtO, pero tienen una menor contribución en nuestro caso (Pérez Delfa et al., 2020). Las dos reacciones principales son:



La primera reacción es la oxidación parcial y la segunda es la oxidación total. Estas reacciones son exotérmicas (Pérez Delfa et al., 2020)

b. Exposición al óxido de etileno

De acuerdo a (Rosell Farrás & Guardino Solá, 2024) debemos tener en cuenta los siguientes efectos si en caso manipulamos el reactivo óxido de etileno:

b.1. Personal expuesto

Todo lo que es sensible al calor, como el plástico, el caucho o incluso algunos metales, se puede esterilizar con óxido de etileno. Se ha descubierto que estos materiales retienen grandes cantidades de óxido de etileno, por ejemplo, el polietileno puede retener hasta varios cientos de partes por millón (ppm) de OE, mientras que otros plásticos como el PVC

y las gomas retienen cantidades menores, lo que significa que la exposición a él puede afectar no solo al personal que trabaja en la unidad de esterilización, sino también a los propios usuarios (pacientes, personal de quirófano, etc.) si la aireación no es adecuada (Rosell Farrás & Guardino Solá, 2024).

b.2. Efecto sobre la salud

El óxido de etileno puede irritar la piel y las mucosas, y el contacto directo con esta sustancia puede provocar quemaduras químicas y reacciones alérgicas. En el entorno industrial, se reconoce al óxido de etileno por sus peligros, como el riesgo de explosiones e incendios, quemaduras en la piel y dermatitis alérgica. La exposición por inhalación es fundamental para su aplicación más reciente como esterilizador de equipos médicos (Rosell Farrás & Guardino Solá, 2024).

Dependiendo de la intensidad de la exposición, la intoxicación aguda por óxido de etileno puede provocar irritación en los ojos, nariz y garganta, así como problemas gastrointestinales como náuseas y vómitos, además de neuralgias y dolores de cabeza. Los síntomas suelen aparecer tras unas horas de latencia, sin señales de advertencia como tos o irritación de las mucosas nasales durante la exposición. Además, el umbral olfativo del óxido de etileno es bastante alto, alrededor de 700 ppm, por lo que se debe evacuar la zona al detectar su olor. Después de unos minutos de exposición a concentraciones de 500-700 ppm, pueden presentarse los síntomas más graves. Generalmente, la recuperación ocurre sin efectos secundarios tras la exposición (Rosell Farrás & Guardino Solá, 2024).

En humanos, las únicas señales de intoxicación crónica son de naturaleza neurológica. Se ha documentado un caso de encefalopatía y tres casos de polineuritis entre empleados que utilizaban un esterilizador defectuoso. Los síntomas disminuyeron gradualmente al cesar la exposición, hasta que los afectados se recuperaron por completo. La literatura rusa ha descrito manifestaciones neurovegetativas relacionadas con la exposición crónica al óxido de etileno (Gennart et al., 1983). Un estudio en ratas y ratones demostró que la inhalación de óxido de etileno (a concentraciones de 10, 33 y 100 ppm durante 6 horas al día, 5 días a la semana, durante 2 años) puede causar mesotelioma y leucemia en los machos (Jinot et al., 2018).

Dos estudios, uno realizado en una planta de producción de óxido de etileno y otro en una unidad de esterilización que utilizaba una mezcla de 50% de óxido de etileno y 50% de otros compuestos (formiato de metilo, cloruro de metilo, etileno y bisclorometiléter),

encontraron un aumento significativo en la mortalidad de los trabajadores expuestos a óxido de etileno en comparación con la media nacional (Rosell Farrás & Guardino Solá, 2024).

No obstante, se ha llegado a la conclusión de que el óxido de etileno es una sustancia que podría ser cancerígena para los humanos debido a la confrontación entre los estudios realizados con animales y los datos epidemiológicos actuales.

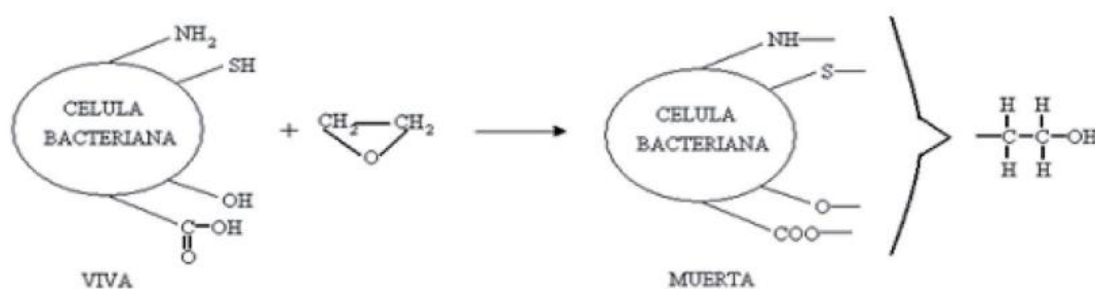
b.3. Cinética y metabolismo

El EtO es soluble en sangre. Se absorbe rápidamente por vía inhalatoria, debido a que se encuentra en estado gaseoso a temperatura ambiente, otra vía de absorción es la cutánea/mucosa cuando está en estado líquido a temperaturas menores a 10°C. Se distribuye en el organismo rápidamente, siendo su vida media de 9-10 minutos y localizándose las mayores concentraciones en hígado, riñón y pulmón. Se han identificado dos vías de metabolización, la hidrólisis a 1,2-etanodiol y la conjugación con glutatión, siendo su excreción principalmente por la orina (Aragón Peña & González García, 2019).

La acción del EtO sobre los biomateriales se debe a su alta capacidad como agente alquilante. Afecta a las moléculas susceptibles a la alquilación, que incluyen la mayoría de las moléculas orgánicas (anillos nitrogenados de purinas y pirimidinas, así como los grupos amino de aminoácidos y proteínas). La alquilación implica la sustitución de átomos de hidrógeno por un radical hidroxietileno, lo que modifica la estructura molecular de proteínas, ADN, ARN y lípidos. Al bloquear puntos moleculares críticos, estas moléculas quedan incapacitadas para participar en procesos reproductivos y metabólicos, lo que lleva a la muerte celular, de ahí su uso como esterilizante y desinfectante. (Collado Villatoro, 2012)

Figura 4

Alquilación debida al óxido de etileno



b.4. Los niveles de contaminación en las instalaciones de esterilización

Los márgenes de concentración de óxido de etileno en el aire ambiente de las unidades de esterilización se han descubierto a través de investigaciones realizadas en varios centros hospitalarios (PATTERSON et al., 1985). Las muestras ambientales tuvieron márgenes de concentración de 0,2 a 3,4 ppm, con los valores más altos en las áreas de almacén y aireación (cuando no hay aireador mecánico) y en el momento en que se abre el esterilizador para extraer el material. Los valores promedio para 8 horas en muestras personales oscilan entre 0,2 y 1 ppm, con los valores más altos en las personas que abrieron el esterilizador durante su jornada laboral para sacar el material una vez terminado el ciclo (Rosell Farrás & Guardino Solá, 1987).

Se han observado concentraciones de óxido de etileno de hasta 38 ppm en muestras tomadas durante períodos de 5 minutos, tiempo para abrir el esterilizador y sacar el material para airear. Las concentraciones ambientales promedio en centros que utilizan esterilizadores con aireación incorporada son de aproximadamente 0,5 ppm (Rosell Farrás & Guardino Solá, 2024).

2.1.2 Cromatografía de Gases

La cromatografía de gases es una técnica de separación con aplicaciones en diversas ramas de la ciencia. Fue inventada y nombrada por el botánico ruso Mikhail Tswett a principios del siglo XX. Tswett la utilizaba para separar diferentes pigmentos vegetales, como clorofilas y xantofilas, haciendo pasar soluciones de estos compuestos a través de una columna de vidrio llena de carbonato de calcio finamente dividido. Las especies separadas aparecían como bandas de colores en la columna, lo que justificaba el nombre que eligió para el método (del griego "chroma" que significa "color", y "graphein" que significa "escribir") (Skoog et al., 2008).

La cromatografía de gases es un método analítico empleado en el análisis de compuestos volátiles. Si la muestra se encuentra en estado gaseoso, se introduce una cantidad de esta en un flujo de gas inerte (por lo general Helio) en movimiento que lo lleva a una columna que contiene la fase estacionaria. Si la muestra se encuentra en estado líquido, entonces se calienta una alícuota de esta y su vapor es transferido por el gas portador en la columna. En este caso, los componentes de la muestra se separan por una interacción selectiva entre las fases estacionarias y móviles. Por lo que, salen de la columna en diferentes tiempos y son detectados por separado. El tiempo de retención que es el tiempo transcurrido entre la inyección de la muestra al equipo y la aparición de las bandas individuales de los componentes (los picos) es, en

específicas condiciones, característico de cada analito, mientras que la altura y área de los picos individuales es proporcional a su concentración (Kolb & Ettre, 2006).

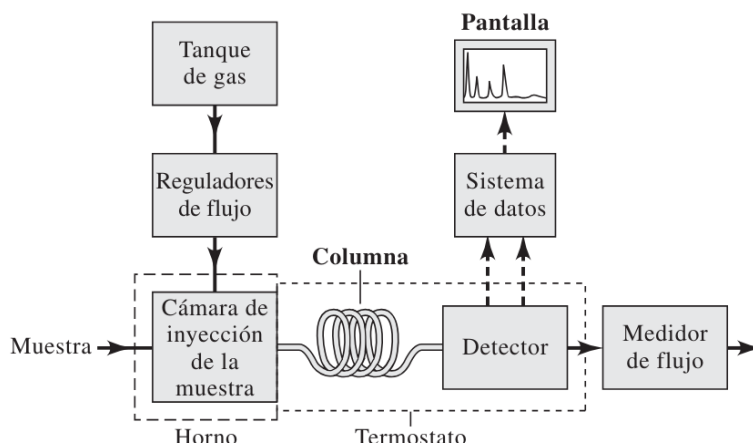
La separación, la identificación y la determinación de componentes estrechamente relacionados en mezclas complejas son realizadas por la cromatografía de gases. Muchas de estas separaciones son imposibles por otros métodos. En todas las separaciones cromatográficas, la muestra se disuelve con una fase móvil que se pasa a través de una fase estacionaria inmiscible fija en una columna o superficie sólida (Skoog et al., 2008).

Con el movimiento de la fase móvil, los componentes que están fuertemente retenidos por la fase estacionaria avanzan muy lentamente. En cambio, los componentes que tienen una conexión débil con la fase estacionaria se desplazan rápidamente. Debido a estas diferentes velocidades de migración, los elementos de la muestra se separan en bandas o zonas distintas que pueden ser analizadas cualitativa y cuantitativamente (Kolb & Ettre, 2006).

Desde su introducción en el mercado, los instrumentos de cromatografía de gases han presentado muchos cambios y mejoras. Los integradores electrónicos y los equipos para procesar datos apoyados en una computadora se volvieron comunes en los años setenta. Los años ochenta vieron cómo las computadoras se utilizaban para el control automático de la mayoría de los parámetros instrumentales, como la temperatura de la columna, las tasas de flujo y la inyección de la muestra; el desarrollo de instrumentos de alto rendimiento de bajo costo y, quizás lo más importante, de columnas abiertas capaces de separar componentes de mezclas complejas en un tiempo relativamente corto (Kolb & Ettre, 2006).

Figura 5

Diagrama de bloques de un cromatógrafo de gases típico



Nota: Tomado de (Skoog et al., 2008).

a. Sistema de gas portador

En la cromatografía de gases, la fase móvil se denomina gas portador y debe ser químicamente inerte. El helio es el gas portador más comúnmente utilizado, aunque también se emplean argón, nitrógeno e hidrógeno. Estos gases se suministran en recipientes a presión. Para controlar el flujo de gas, se utilizan reguladores de presión, manómetros y medidores de flujo. Además, el sistema de transporte de gases a menudo incluye un tamiz molecular para eliminar el agua y otras impurezas (Skoog et al., 2008).

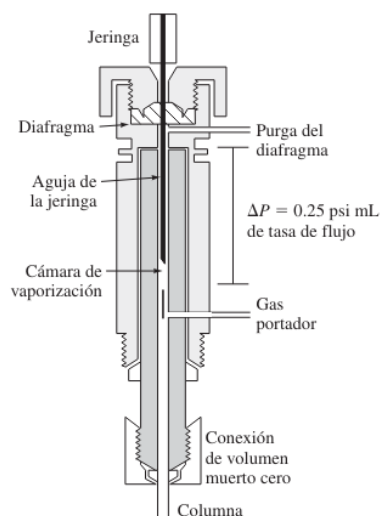
Un regulador de presión de dos etapas en el cilindro de gas y un regulador de presión o de flujo en el cromatógrafo controlan los flujos.

b. Sistema de inyección de la muestra

Para lograr una alta eficiencia en la columna, la muestra debe introducirse como un "tapón" de vapor y tener un tamaño adecuado. La inyección lenta o las muestras demasiado grandes provocan bandas dispersas y una mala resolución. Se utilizan microjeringas calibradas para inyectar muestras líquidas a través de un diafragma de goma de silicona en una cámara caliente especial situada en la parte superior de la columna. Generalmente, la cámara de la muestra se mantiene a unos 50 °C por encima del punto de ebullición del componente menos volátil. El tamaño de las muestras en las columnas analíticas rellenas ordinarias varía desde unas pocas décimas de microlitro hasta 20 µL (Skoog et al., 2008).

Figura 6

Vista de la sección transversal de un inyector directo de vaporización instantánea



Nota: Tomado de (Skoog et al., 2007).

c. Configuraciones de columna y hornos para la columna

En la cromatografía de gases, se utilizan comúnmente dos tipos de columnas: las columnas empacadas y las columnas tubulares abiertas o capilares. En el pasado, la mayoría de los estudios de cromatografía de gases se realizaban con columnas empacadas. Sin embargo, en la mayoría de las aplicaciones actuales, las columnas empacadas han sido sustituidas por columnas capilares, que son más rápidas y eficientes (Skoog et al., 2008). Esto se debe a las siguientes características:

- ❖ **Mayor eficiencia de separación:** Las columnas capilares tienen una mayor superficie interna, lo que permite una interacción más completa entre la fase estacionaria y los componentes de la muestra. Esto resulta en una mejor resolución y separación de los compuestos.
- ❖ **Velocidad de análisis:** Debido a su bajo volumen interno, las columnas capilares permiten realizar análisis más rápidos. Esto es especialmente útil cuando se necesita procesar un gran número de muestras en poco tiempo.
- ❖ **Sensibilidad mejorada:** Las columnas capilares pueden detectar cantidades más pequeñas de analitos debido a su alta eficiencia y menor dispersión de la muestra.
- ❖ **Capacidad para separar mezclas complejas:** Las columnas capilares son más adecuadas para separar mezclas con muchos componentes, ya que pueden manejar una mayor cantidad de placas teóricas por metro.

Las columnas cromatográficas empacadas tienen longitudes que varían entre 1 y 5 metros, mientras que las columnas capilares pueden medir desde unos pocos metros hasta 100 metros. Estas columnas se fabrican con sílice fundida o acero inoxidable, aunque también se pueden utilizar materiales como teflón o vidrio. Se moldean en forma de hélice con diámetros de 10 a 30 cm para que puedan ser colocadas en un horno con temperatura controlada (Skoog et al., 2008).

Para un trabajo preciso, se debe controlar la temperatura de la columna hasta unas décimas de grado. Por lo tanto, la columna generalmente se coloca dentro de un horno con temperatura controlada.

d. Detectores de ionización por llama

El detector de ionización por llama, también conocido como FID, es el más popular y generalmente el más utilizado en cromatografía de gases. El efluente de la columna en un detector, el cual se dirige a una pequeña llama de hidrógeno y aire. Cuando se someten a pirolisis a la temperatura de una llama de hidrógeno-aire, la mayoría de los compuestos orgánicos generan iones y electrones. La detección consiste en monitorear la corriente producida al recolectar estos portadores de carga. (Skoog et al., 2008).

Los iones y electrones se dirigen hacia el colector cuando se aplica una diferencia de potencial de unos cientos de voltios entre el extremo del quemador y un electrodo colector ubicado sobre la llama. Se emplea un picoamperímetro de alta impedancia para medir la corriente resultante (10 a 12 A) (Skoog et al., 2008).

Aunque se ha observado que la cantidad de iones producidos es relativamente proporcional al número de átomos de carbono que se oxidan en la llama, el proceso de ionización en la llama de compuestos que contienen carbono no está completamente comprendido. El detector de ionización por llama es más sensible a la masa que a la concentración, ya que responde a la cantidad de átomos de carbono que entran en el detector por unidad de tiempo. Como resultado, una ventaja de este detector es que los cambios en la tasa de flujo de la fase móvil tienen poco impacto en su respuesta (Skoog et al., 2008).

La llama genera pocos iones o prácticamente ninguno de los grupos funcionales como carbonilos, alcoholes, halógenos y aminas. Además, el detector no es sensible a gases no combustibles como CO₂, SO₂, CO, gases nobles y NO_x. Estas propiedades

hacen que el detector de ionización por llama sea uno de los más empleados para analizar la mayoría de los compuestos orgánicos, incluidos los óxidos de nitrógeno y azufre contaminados con agua (Skoog et al., 2008).

El detector de ionización por llama tiene una alta sensibilidad (10-13 g/s), un amplio rango de respuesta lineal y genera poco ruido. Sin embargo, sus desventajas incluyen la pérdida de muestra durante la combustión y la necesidad de gases y controladores adicionales. La temperatura óptima de la columna está determinada por el punto de ebullición de la muestra y el grado de separación necesario. En la práctica, se logra un tiempo de elución razonable con una temperatura igual o ligeramente superior al punto de ebullición promedio de la muestra. Para muestras con amplias variaciones en sus puntos de ebullición, es ideal utilizar una programación de temperatura, que incrementa la temperatura de la columna de manera continua o por etapas durante la separación (Skoog et al., 2008).

e. Detector de conductividad térmica

El detector de conductividad térmica (TCD, por sus siglas en inglés) es un tipo de detector utilizado en cromatografía de gases. También conocido como catarómetro, este detector mide los cambios en la conductividad térmica del gas que sale de la columna cromatográfica en comparación con un flujo de referencia de gas portador (Skoog et al., 2008).

e.1. Funcionamiento

El TCD consta de un filamento calentado eléctricamente en una celda controlada por temperatura. Cuando un analito eluye de la columna, la conductividad térmica del efluente disminuye, lo que provoca un aumento en la temperatura del filamento y un cambio en su resistencia. Este cambio de resistencia se detecta mediante un circuito de puente de Wheatstone, produciendo una señal medible (Skoog et al., 2008).

e.2. Ventajas

- ❖ Universalidad: Puede detectar prácticamente todos los compuestos, tanto orgánicos como inorgánicos.
- ❖ No destructivo: No destruye la muestra durante la detección.
- ❖ Simplicidad: Es fácil de usar y mantener.

e.3. Desventajas

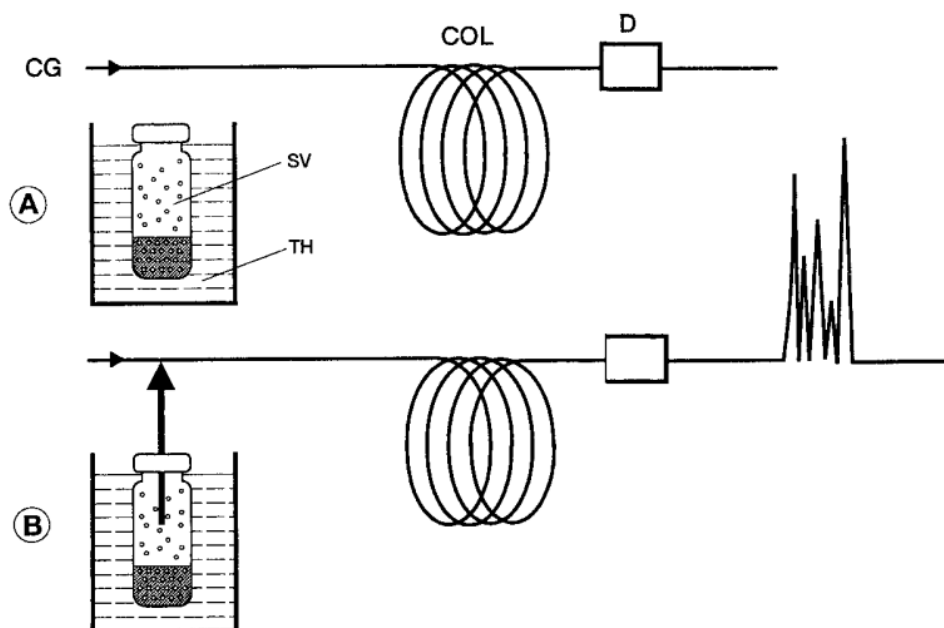
- ❖ Sensibilidad relativamente baja: No es tan sensible como otros detectores, como el detector de ionización de llama (FID).
- ❖ Limitaciones en columnas capilares: No se puede utilizar eficazmente con columnas capilares debido al pequeño caudal de salida.

f. Técnica Headspace

El análisis con esta técnica tiene de dos pasos. En primer lugar, la muestra que es un líquido o un sólido se coloca en un vial **hermético** de volumen constante. Este recipiente se calienta y agita en una incubadora hasta que se alcanza el equilibrio entre las dos fases. Luego succiona una alícuota de la fase gaseosa del vial y se inyecta en el flujo de gas portador que lo lleva a la columna, donde empieza la separación y se produce el análisis. La Figura 7 muestra los dos pasos del HS-GC (Kolb & Ettre, 2006).

Figura 7

Principio de la técnica Headspace. (A) equilibrio y (B) transferencia de la muestra. Donde: CG = gas portador, SV = vial de muestra, TH = termostato, COL = columna del cromatógrafo, D = detector.



Nota: Adaptado de (Kolb & Ettre, 2006).

La inyección de muestras al equipo puede realizarse de diferentes maneras: manualmente, mediante una jeringa que es introducida al puerto de inyección, o

automáticamente, mediante la incubación (aumento de temperatura) del vial por un tiempo adecuado y la toma de un volumen elegido de la parte gaseosa del vial.

En lugar de introducir directamente una cantidad de gas del espacio de cabeza directamente a la columna del cromatógrafo, han surgido nuevos métodos que emplean trampas de adsorción. El propósito del filtro es separar los analitos del exceso de gas. Cuando se utiliza la microextracción en fase sólida (SPME), una fina fibra de sílice fundida con la superficie exterior cubierta con una fase estacionaria inmovilizada y colocada en una jeringa para GC modificada, se inserta en un vial con la muestra. La fibra puede sumergirse en una muestra líquida o en el espacio encima de una muestra líquida o sólida. En este caso, los volátiles son absorbidos por el recubrimiento de fibra y luego la fibra cargada se desorbe en el puerto de inyección caliente del cromatógrafo de gases. Este método, utilizado para recolectar analitos volátiles del espacio de cabeza de la muestra, se llama microextracción en fase sólida en el espacio de cabeza (HS-SPME) (González Paredes, 2017).

2.1.3 Validación de métodos

a. Definición

Estas son algunas definiciones de validación de 3 documentos internacionales.

- ❖ **ISO 9000**: “confirmación, a través de la aportación de evidencia objetiva, de que se han cumplido los requisitos para un uso o aplicación específico previsto”
- ❖ **ISO/IEC 17025**: “confirmación, a través del examen y aportación de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto”
- ❖ **VIM**: “verificación, donde los requisitos especificados son adecuados para un uso previsto.”

Validar un método es el proceso de definir los requisitos analíticos y confirmar que tiene las capacidades necesarias para las aplicaciones requeridas. Se requiere validar un método cuando es necesario demostrar que sus características de desempeño son adecuadas para el uso previsto. Estas son las características de desempeño evaluadas habitualmente durante la validación del método (Magnusson & Örnemark, 2014):

- ❖ Selectividad
- ❖ Límite de detección y límite de cuantificación
- ❖ Intervalo de trabajo
- ❖ Sensibilidad analítica

- ❖ Veracidad: Sesgo, recuperación
- ❖ Precisión: repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad
- ❖ Incertidumbre de medida
- ❖ Robustez

El laboratorio debe validar los siguientes métodos de ensayo (Magnusson & Örnemark, 2014):

Los métodos no normalizados

- ❖ Los métodos diseñados por el laboratorio
- ❖ Los métodos normados utilizados fuera de su alcance previsto
- ❖ Los métodos normados modificados

La validación tenía que ser tan extensa como fuera necesaria para satisfacer las necesidades de la aplicación o del campo de aplicación dados. Cuando se realizan cambios a un método validado, se debe determinar la influencia de estos cambios, y si se encontraba que afectaban la validación inicial, se tenía que llevar a cabo una nueva validación del método (International Organization for Standardization (ISO), 2017).

Las características de desempeño de los métodos validados, tal como fueron evaluadas para su uso previsto, deben ser pertinentes para las necesidades de las partes interesadas y deben ser coherentes con los requisitos especificados (International Organization for Standardization (ISO), 2017). El laboratorio debe conservar los siguientes registros de validación:

- ❖ El procedimiento de validación utilizado.
- ❖ La especificación de los requisitos.
- ❖ La determinación de las características de desempeño del método.
- ❖ Los resultados obtenidos.

Una declaración de la validez del método, detallando su aptitud para el uso previsto.

b. Herramientas de validación

b.1. Blancos

El empleo de diferentes tipos de blancos permitió evaluar qué cantidad de la señal medida era atribuible al analito y cuál a otras causas. Diversos tipos de blancos estuvieron disponibles para el analista (Magnusson & Örnemark, 2014).

Blancos de reactivos: También llamado blanco de ensayo, son los reactivos empleados durante el proceso analítico, incluyendo los disolventes utilizados para la extracción o disolución, fueron analizados para determinar si contribuyen a la señal de la medida (Magnusson & Örnemark, 2014).

Blancos de muestra: Se trata de muestras de matriz sin la existencia del analito, como una muestra de orina humana sin un fármaco específico o una muestra de carne sin residuos de hormonas. Los blancos de muestra pueden ser difíciles de obtener, pero son necesarios para estimar de manera más precisa las interferencias que podrían surgir en un análisis rutinario de muestras (Magnusson & Örnemark, 2014).

b.2. Muestras de rutina

Las muestras de rutina resultan útiles porque proporcionaron datos sobre las interferencias, la precisión y otros factores que podrían surgir durante el trabajo diario. Si se conocía adecuadamente el analito presente en el material a analizar, se puede evaluar el sesgo de la medida. El uso de un método de referencia permitió obtener una estimación precisa del contenido del analito, aunque estos métodos no siempre estaban disponibles (Magnusson & Örnemark, 2014).

b.3. Material fortificado

Son materiales o soluciones a los que se les había añadido el analito en cantidades conocidas. Se debe tener cuidado con el analito agregado para que los valores de concentración no salgan del rango de trabajo del método. La fortificación con una cantidad conocida de analito permitía aumentar la respuesta del analito medido, calculando los valores en términos de la cantidad añadida, incluso si el valor absoluto del analito presente no se conocía antes o después de la adición. Se debía considerar que la adición de analito podría no comportarse de la misma manera en la matriz en comparación con el analito presente de forma natural. Por lo tanto, la estimación del sesgo por esta vía podría ser demasiado optimista (Magnusson & Örnemark, 2014).

Se pueden añadir otros componentes para medir el efecto de la adición. De esta manera, se podía fortificar la muestra con cantidades variables de un interferente específico para evaluar la concentración del interferente a la cual la determinación del analito se veía afectada negativamente. Es necesario identificar la naturaleza de la adición (Magnusson & Örnemark, 2014).

b.4. Materiales pres- adicionados

Estos son materiales en los que el analito de interés puede ser esencialmente extraño, pero se ha incorporado en algún momento antes del muestreo. Por lo tanto, el analito está más estrechamente unido a la matriz que en el caso de la adición (Magnusson & Örnemark, 2014).

El valor del analito dependerá de la cantidad de analito en contacto con el material, las pérdidas por absorción y matriz, y cualquier otra pérdida debida al metabolismo, descomposición espontánea u otros procesos químicos o físicos. La utilidad de la validación previa a la muestra depende de qué tan bien se caractericen los analitos. Ejemplos de materiales prealimentados (Magnusson & Örnemark, 2014):

- ❖ El ingrediente activo de una preparación farmacéutica que se agrega durante la etapa de formulación.
- ❖ Antes de hornear, se añadió clara de huevo en polvo (de contenido de proteína conocido) a la masa de la barra nutricional para detectar alérgenos.

b.5. Patrones de medida

Se trata de sustancias utilizadas para la identificación o calibración, preferiblemente patrones de medición o calibradores. Tradicionalmente, se identifican por soluciones de una sola sustancia, pero en realidad puede ser cualquier cosa caracterizada por parámetros o propiedades específicas y puede usarse como referencia metrológica. Se debe hacer una distinción entre materiales de referencia (MR) y materiales de referencia certificados (MRC), ya que se utilizan de manera diferente en el proceso de validación (Reina Velasco, 2019).

La MR puede ser cualquier material utilizado como valor de referencia, ya sea un reactivo de laboratorio de pureza conocida, un químico industrial u otro equipo. La propiedad o analito debe ser estable y homogéneo, pero no necesita tener el alto grado de caracterización, trazabilidad metrológica, incertidumbre y documentación requerida para MRC (Reina Velasco, 2019).

La caracterización de los parámetros de interés en MRC está controlada de forma más estricta que en MR, y los valores característicos se validan con documentación que prueba su trazabilidad metrológica y declara su incertidumbre. La caracterización se realiza mediante diferentes métodos o procedimientos de medición primaria, eliminando o reduciendo posibles desviaciones. Para evaluar las

desviaciones se requiere un valor de referencia confiable, preferiblemente un MRC con la misma matriz y una concentración de analito similar a la muestra real (Reina Velasco, 2019).

b.6. Estadísticas

Los métodos estadísticos son esenciales para agrupar los datos obtenidos y analizar objetivamente las diferencias entre conjuntos de datos (Magnusson & Örnemark, 2014).

Los analistas deben estar familiarizados con los conceptos básicos de la teoría estadística para ayudar a estimar la precisión, el sesgo, el rango lineal, el LOD, el LOQ y la incertidumbre de la medición, tales como:

❖ Regresión Lineal Múltiple

La regresión lineal múltiple es una extensión de la regresión lineal simple que permite modelar la relación entre una variable dependiente (Y) y dos o más variables independientes ($X_1, X_2, \dots, X_n$). Este método es útil cuando se quiere entender cómo múltiples factores influyen en una variable de interés (Magnusson & Örnemark, 2014).

Ecuación de la Regresión Múltiple

La ecuación general de la regresión múltiple es:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \dots + \beta_n X_n + \varepsilon$$

Donde:

- (Y) es la variable dependiente.
- ($X_1, X_2, \dots, X_n$) son las variables independientes.
- β_0 es la intersección (el valor de (Y) cuando todas las (X) son 0).
- $\beta_1, \beta_2, \dots, \beta_n$ son los coeficientes de regresión que representan el cambio en Y por cada unidad de cambio en ($X_1, X_2, \dots, X_n$), respectivamente.
- ε es el término de error (la diferencia entre los valores observados y los valores predichos).

Interpretación de los Coeficientes

Cada coeficiente β_i indica *el efecto de la variable independiente (X_i) sobre la variable dependiente (Y)*, manteniendo constantes las demás variables independientes. Por ejemplo, si β_1 es *positivo*, un aumento en X_1 se asocia con un aumento en Y, asumiendo que todas las demás variables permanecen constantes (Magnusson & Örnemark, 2014).

Supuestos de la Regresión Múltiple

Para que los resultados de la regresión múltiple sean válidos, se deben cumplir ciertos supuestos (Magnusson & Örnemark, 2014):

1. **Linealidad:** La relación entre las variables independientes y la variable dependiente es lineal.
2. **Independencia:** Las observaciones son independientes entre sí.
3. **Homoscedasticidad:** La varianza de los errores es constante a lo largo de todos los niveles de las variables independientes.
4. **Normalidad:** Los errores se distribuyen normalmente.

❖ **Prueba de Grubbs**

La prueba de Grubbs es una prueba estadística que se utiliza para identificar un valor atípico en una muestra de datos. Esta prueba es adecuada para muestras de tamaño moderado y se basa en la desviación del valor atípico respecto a la media de la muestra (Magnusson & Örnemark, 2014).

Hipótesis:

- Hipótesis nula (H_0): No hay valores atípicos en el conjunto de datos.
- Hipótesis alternativa (H_a): Hay exactamente un valor atípico en el conjunto de datos.

Cálculo del estadístico de prueba (G), generalmente usamos la prueba de dos colas:

$$G = \frac{\max |Y_i - \bar{Y}|}{s}$$

Donde:

$\bar{Y}$: Media de la muestra

s : desviación estándar de la muestra

Y_i : cada valor individual en el conjunto de datos

Se compara el estadístico de prueba G con un valor $G_{\text{crítico}}$ obtenido de tablas específicas para la prueba de Grubbs. Si G es mayor que $G_{\text{crítico}}$, se rechaza la hipótesis nula y se considera que hay un valor atípico (Magnusson & Örnemark, 2014).

❖ **Análisis de varianza (ANOVA)**

El Análisis de Varianza es una técnica estadística utilizada para comparar las medias de tres o más grupos y determinar si existen diferencias significativas entre ellos. Se basa en la descomposición de la variabilidad total de los datos en componentes atribuibles a diferentes fuentes de variación.

1. Hipótesis:

- Hipótesis nula (H_0): Las medias de todos los grupos son iguales.
- Hipótesis alternativa (H_a): Al menos una de las medias de los grupos es diferente.

2. Fuentes de Variación:

- Variación entre grupos: Variabilidad debida a las diferencias entre las medias de los grupos.
- Variación dentro de los grupos: Variabilidad debida a las diferencias dentro de cada grupo.

3. Estadístico F:

El estadístico F se calcula como la razón entre la variación entre grupos y la variación dentro de los grupos. Un valor alto de F indica que las diferencias entre las medias de los grupos son mayores que las diferencias dentro de los grupos, lo que sugiere que al menos una media es diferente.

4. Procedimiento de ANOVA:

- Calcular la media de cada grupo y la media global.
- Calcular la suma de cuadrados entre grupos (SSB) y la suma de cuadrados dentro de los grupos (SSW).
- Calcular los grados de libertad para entre grupos (df_{between}) y dentro de los grupos (df_{within}).
- Calcular la media de los cuadrados (MSB y MSW) dividiendo las sumas de cuadrados por sus respectivos grados de libertad.
- Calcular el estadístico F como $F = \text{MSB}/\text{MSW}$
- Comparar el valor de F con el valor crítico de F de la tabla de distribución F para determinar si se rechaza la hipótesis nula.

5. Tipos de ANOVA

- ANOVA de una vía: Compara las medias de tres o más grupos basados en una sola variable independiente.

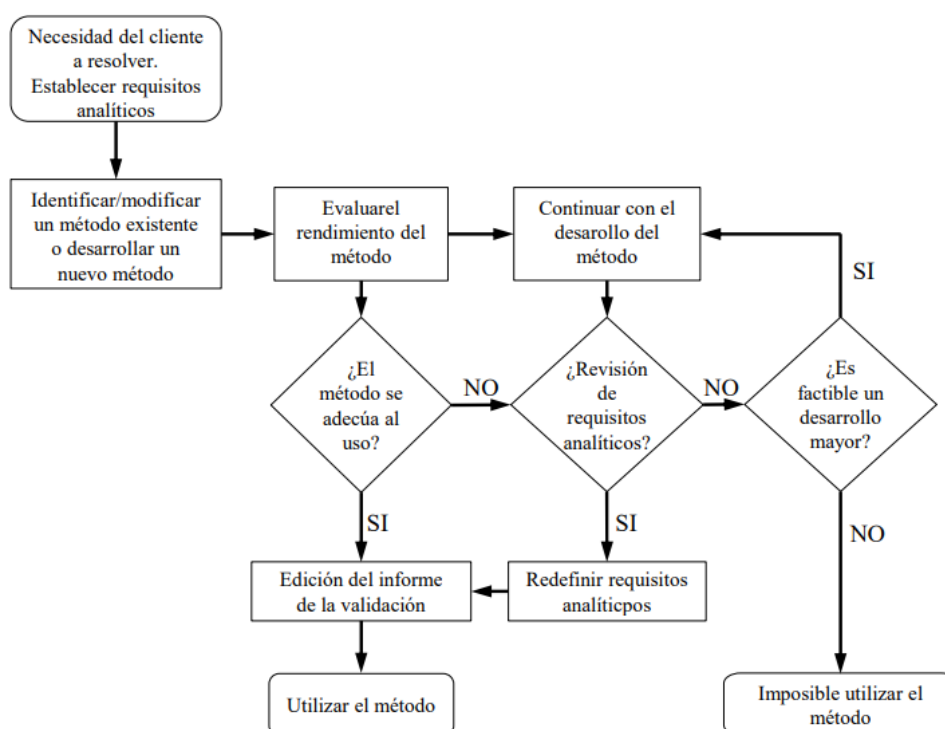
- ANOVA de dos vías: Compara las medias basadas en dos variables independientes y puede evaluar la interacción entre ellas.

c. Proceso de Validación de método

En función de los requisitos específicos de los clientes, el laboratorio debe determinar los requisitos analíticos y definir las características de rendimiento que debe cumplir el método para satisfacer las necesidades, ver Figura 8.

Figura 8

Proceso de validación de un método



Para cumplir con estos requisitos, los laboratorios deben identificar los métodos existentes apropiados o si es necesario desarrollar o modificar métodos. El proceso de validación finaliza con una conclusión y notificación del cumplimiento o incumplimiento de los requisitos establecidos. Si no se cumplen los requisitos, el método necesita un mayor desarrollo.

Este proceso de desarrollo y evaluación continuará hasta que se demuestre que el enfoque cumple con los requisitos. Es inusual que los requisitos analíticos se acuerden previamente con el cliente. A menudo los clientes definen sus requisitos en términos de tiempo y/o costo y no conocen los requisitos técnicos reales, aunque estos

deben estar completamente definidos cuando se trata de métodos para respaldar los requisitos regulatorios o cumplir con las especificaciones (Magnusson & Örnemark, 2014).

Las limitaciones económicas pueden significar que desarrollar métodos para satisfacer requisitos analíticos específicos sea económicamente inviable, en cuyo caso se debe considerar cambiar o disminuir los requisitos.

2.1.4 Características de desempeño de los métodos

a. Selectividad

a.1. Definición

Es un término propuesto en química analítica para indicar hasta qué punto un analito puede determinarse mediante un método específico en condiciones específicas en presencia de interferentes que se comportan de manera similar (Vessman et al., 2001).

Las definiciones encontradas en diversas publicaciones son relativamente consistentes con esta interpretación. Aunque la IUPAC recomienda el uso del término "selectividad", en algunos campos (como la industria farmacéutica) se utiliza "especificidad" o "especificidad analítica". Se recomienda utilizar este último término para evitar confusión con el de "especificidad diagnóstica" utilizado en medicina de laboratorio (Magnusson & Örnemark, 2014).

Los métodos que emplean procedimientos de detección muy específicos, como la cromatografía, son muy selectivos. Sin embargo, los métodos basados en colorimetría pueden verse afectados por la presencia de coextractos de muestras coloreadas o compuestos con propiedades químicas similares al analito. Aunque no es práctico considerar todos los interferentes, los analistas deben utilizar su conocimiento y experiencia para considerar los escenarios más importantes (National Association of Testing Authorities, 2012).

a.2. Efecto de las interferencias

En general, se puede decir que un método de análisis consiste en una etapa de medición, que puede estar precedida o no por una separación. En la etapa de medición, normalmente no se mide directamente la concentración del analito. En cambio, se mide una característica específica. Por lo tanto, es muy importante determinar que las propiedades a medir sólo puedan atribuirse al analito y no a

sustancias química o físicamente similares o a sustancias que aparecen por casualidad y que influyen en los resultados de la medición (Magnusson & Örnemark, 2014).

Es posible que se requiera un paso de aislamiento antes de la etapa de medición para aumentar la selectividad del sistema de medición.

Las interferencias pueden amplificar o reducir la señal medida, provocando una desviación.

Generalmente, la medida en que se produce este efecto para una matriz determinada es directamente proporcional a la señal, por lo que a veces se le denomina efecto "proporcional". Esto cambia la pendiente de la función de calibración, pero no la ordenada en el origen (Magnusson & Örnemark, 2014).

Las interferencias en la solución de prueba producen señales que producen un efecto "traslacional" o "fijo". Por tanto, no depende de la concentración del analito. A esto se le suele denominar interferencia de "fondo" o "línea de base". Esto afecta la ordenada inicial de la función de calibración, pero no su pendiente.

a.3. Evaluación de la selectividad

La selectividad de un ensayo debe estar determinada en los métodos desarrollados en el laboratorio, los métodos adaptados de la literatura científica y los métodos publicados por el organismo de normalización, que se utilizan fuera del alcance del método estándar. La selectividad a menudo se estudia como parte del proceso de normalización, cuando se aplica dentro de su alcance un método publicado por un organismo de normalización.

Normalmente, la selectividad de un método se investiga examinando su capacidad para medir el analito de interés en muestras a las que se han añadido intencionalmente interferencias específicas (sustancias perturbadoras que se espera que estén presentes en la muestra). En situaciones en las que no está claro si ya existe interferencia, se puede probar la selectividad del método examinando su capacidad para medir el analito en comparación con otros métodos independientes (Magnusson & Örnemark, 2014).

Las técnicas de verificación pueden ser un método útil de verificación de identidades. Cuanta más evidencia se pueda reunir, mejor. Inevitablemente, se debe

lograr un equilibrio entre el tiempo y el costo invertido en la identificación del analito y el nivel de confianza para determinar si la identificación se realizó correctamente.

Aunque la evaluación de la repetibilidad requiere mediciones repetidas con la misma técnica, se deben utilizar métodos múltiples (preferiblemente independientes) para confirmar la identidad del analito. La validación aumenta la confiabilidad de la técnica en estudio y es particularmente útil cuando la técnica que se valida opera con principios diferentes.

b. Límite de detección y cuantificación

El límite de detección (LOD) es la concentración más baja de un analito que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, con un nivel de confianza específico. Por otro lado, el límite de cuantificación (LOQ) es la concentración más baja de un analito que puede ser cuantificada con precisión y exactitud aceptables. Ambos límites son fundamentales en la validación de métodos analíticos, ya que aseguran que el método es sensible y fiable para detectar y medir pequeñas cantidades de sustancias en muestras complejas (Valverde Velásquez & Obando Urey, 2021).

El análisis del límite de detección (LOD) o del límite de cuantificación (LOQ) generalmente solo es requerida para los métodos destinados a medir analitos en concentraciones pequeñas cercanas a cero. No es necesario estimar el LOD o LOQ para métodos que se usarán siempre para medir concentraciones mayores al LOQ. Sin embargo, las estimaciones suelen ser de gran importancia para los métodos analíticos de trazas y ultratrazas, donde el nivel de interés suele ocurrir cerca de los valores LOD y LOQ, y los resultados se informan como "no detectados", pero pueden tener un impacto significativo en las estimaciones para regulaciones de valores máximos permisibles. En el caso de matrices diferentes, puede ser necesario determinar el límite de detección y el límite de cuantificación por separado (National Association of Testing Authorities, 2012).

b.1. Definiciones y términos

Hay tres conceptos generales a considerar al medir en concentraciones bajas: En primer lugar, puede ser necesario determinar el valor resultante para el nivel de analito que se considera significativamente diferente de cero. Este nivel suele requerir alguna acción, como declarar material contaminado. Este nivel se denomina "valor crítico" o "límite de decisión" (Magnusson & Örnemark, 2014).

En segundo lugar, es importante conocer la concentración más baja del analito que el método puede detectar con cierto nivel de confianza. Es decir, ¿a qué concentración práctica se puede superar con seguridad el "valor crítico anterior? En este concepto se utilizan términos como "límite de detección" (LOD) o "valor mínimo detectable" (Valverde Velásquez & Obando Urey, 2021).

En tercer lugar, también es importante definir el nivel mínimo aceptable de rendimiento para aplicaciones típicas. El tercer concepto suele denominarse límite de cuantificación (LOQ) (Valverde Velásquez & Obando Urey, 2021).

La terminología asociada a estos 03 conceptos es muy variada y varía de un sector a otro. El límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ) generalmente son los que se determinan durante la validación de un método. También debe hacerse una distinción entre el límite de detección del instrumento y el límite de detección del método (Magnusson & Örnemark, 2014).

El límite de detección de un instrumento puede basarse en el análisis de una muestra (normalmente un blanco de reactivo) enviada directamente al instrumento (es decir, omitiendo los pasos de preparación de la muestra) o en una relación señal-ruido. Para obtener el límite de detección del método, el LOD debe basarse en el análisis de una muestra que se ha sometido a todo el procedimiento de medición para obtener resultados calculados utilizando la misma ecuación que la muestra de prueba. El dato más útil para la validación de un método es el límite de detección del método (Magnusson & Örnemark, 2014).

b.2. Determinación de la desviación estándar a niveles bajos

Los límites de detección y cuantificación suelen calcularse multiplicando una desviación estándar (S_o) por un factor apropiado. Es importante que esta desviación estándar refleje la precisión lograda en una muestra de prueba típica y que se realicen suficientes mediciones repetidas para proporcionar una estimación confiable. En esta sección, la desviación estándar S_o es la desviación estándar s_0 basada en un único resultado cercano a cero, ajustado por cualquier promedio o corrección por blanco utilizado en la práctica (Magnusson & Örnemark, 2014).

Al determinar los límites de detección y cuantificación, se deben considerar las muestras adecuadas para la estimación del límite de detección y límite de cuantificación. El uso de diversos tipos de blancos permite evaluar cuánta señal de

medida es atribuible al analito y cuánta a otras causas. Varios tipos de blanco están disponibles para el analista:

- ❖ *Blancos de reactivos*: Los reactivos utilizados durante el proceso analítico (incluyendo disolventes utilizados para extracción o disolución) se analizan para determinar si contribuyen a la señal de la medida.
- ❖ *Blancos de muestra*: Se trata de Muestras matriz sin presencia de analito, por ejemplo, muestra de orina humana sin fármaco específico, o una muestra de carne sin residuo de hormonas. Los blancos de muestra pueden ser difíciles de obtener, pero son necesarios para tener una estimación más real de las interferencias que pueden aparecer en un análisis de muestras de rutina.

Para determinar la desviación estándar en la técnica cromatografía de gases, se requiere lo siguiente:

1. *Asegurar un replicado representativo*: La desviación estándar debe reflejar el desempeño del método utilizado por el laboratorio, es decir la desviación estándar debe calcularse a partir de los resultados obtenidos cuando todo el procedimiento de medición se haya efectuado con precisión. Los valores utilizados para calcular la desviación estándar s_0 deben especificarse en las unidades especificadas en el procedimiento.

2. *Condiciones de medición*: La desviación estándar generalmente se obtiene bajo las siguientes condiciones de repetibilidad, pero se pueden obtener estimaciones más confiables utilizando condiciones de precisión intermedia. En los protocolos se recomienda se recomienda una validación con 10 réplicas.

3. *Considerar el promedio*: En el caso de múltiples procedimientos de medición, se informa el valor medio de las réplicas durante el uso normal del método, obteniendo cada réplica después de todo el procedimiento de medición. En este caso, la desviación estándar de cada resultado único s_0 debe corregirse dividiendo por la raíz cuadrada de n , donde n es el número de repeticiones promediadas durante el uso diario.

4. *Considerar el efecto de correcciones por el blanco*: Si se especifica una corrección en blanco en el procedimiento de medición, se debe tener cuidado al determinar la desviación estándar utilizada para calcular el límite de detección o límite de cuantificación. Si todos los resultados obtenidos durante el estudio de validación se

corrigen con el mismo valor de blanco, la desviación estándar de los resultados será menor que en la práctica cuando los resultados se corrigen para diferentes valores de blanco obtenidos en diferentes ejecuciones. Para este caso, la desviación estándar debe modificarse multiplicándola por $\sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{nb}}$ donde n , es el número de réplicas de observaciones promedio donde se dan los resultados, donde cada réplica se obtiene después de todo el proceso de medición, y n_b es el número de observaciones en blanco utilizadas para calcular la corrección en blanco. Cabe señalar que, bajo condiciones de precisión intermedia, los resultados se corregirán por valores de blanco diferentes, por lo que no es necesario corregir la desviación estándar (Magnusson & Örnemark, 2014).

b.3. Estimación del límite de detección

Para fines de validación, suele ser suficiente proporcionar una aproximación del LOD, es decir, el nivel en el que se producen problemas en la detección del analito. Se podrían tener los siguientes casos (Magnusson & Örnemark, 2014):

a) Mediciones repetidas de muestras blanco, es decir, matriz sin cantidades detectables del analito o se realizan mediciones repetidas en muestras de análisis con pequeñas concentraciones de analito.

b) Mediciones replicadas de blancos de reactivo o mediciones replicadas de blancos de reactivos fortificados con una pequeña concentración del analito.

Se realizan 10 mediciones

Se calcula la desviación estándar, s_0 de los resultados

Se calcula $S'o$ a partir de s_0 .

$$S'o = \frac{s_0}{\sqrt{n}} \quad \text{ó} \quad S'o = s_0 \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{nb}}$$

s_0 es la desviación estándar estimada de m resultados individuales en o cerca de concentración cero.

$S'o$ es la desviación estándar usada para calcular LOD y LOQ.

n es el número de réplicas de observación promediadas cuando se informan resultados donde cada réplica es obtenida siguiendo enteramente el procedimiento de medición.

n_b es el número de observaciones de blanco promediadas cuando se calcula la corrección del blanco de acuerdo al procedimiento de medición.

Por último, se determina el límite de detección, como $LOD = 3 \times S'o$

b.4. Estimación del límite de cuantificación

El límite de cuantificación es el nivel más bajo de detección de un analito que se puede detectar con un desempeño aceptable. En la práctica, el LOQ se calcula según la mayoría de las convenciones como la concentración del analito correspondiente a la desviación estándar obtenida ($S'o$) a niveles bajos multiplicada por un factor, k_Q . El valor por defecto de k_Q es 10 según IUPAC y si la desviación estándar es aproximadamente constante a bajas concentraciones este multiplicador corresponde a una desviación estándar relativa (RSD) de 10 % (Magnusson & Örnemark, 2014).

a) Mediciones repetidas de muestras blanco, es decir matrices que no contengan concentraciones detectables del analito o mediciones repetidas de la muestra de ensayo con una baja concentración del analito.

b) Mediciones repetidas de blancos de reactivo o mediciones repetidas de blancos de reactivos fortificados con una baja cantidad del analito.

Se realizan 10 mediciones

Se calcula la desviación estándar, s_0 de los resultados

Se calcula $S'o$ a partir de s_0 .

$$S'o = \frac{s_0}{\sqrt{n}} \quad \text{ó} \quad S'o = s_0 \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}}$$

Donde:

- s_0 es la desviación estándar estimada de m resultados individuales en o cerca de concentración cero.
- $S'o$ es la desviación estándar usada para calcular LOD y LOQ.
- n es el número de réplicas de observación promediadas cuando se informan resultados donde cada réplica es obtenida siguiendo enteramente el procedimiento de medición.
- n_b es el número de observaciones de blanco promediadas cuando se calcula la corrección del blanco de acuerdo al procedimiento de medición.

Por último, se determina el límite de cuantificación, como $LOQ = k_Q \times S'o$

El valor del multiplicador k_Q suele ser 10, pero a menudo se utilizan otros valores como 5 o 6 (según criterios de "adecuación al uso") (Méndez, 2021).

b.5. Procedimientos alternativos

La sección anterior describió un enfoque general para estimar LOD y LOQ basado en la desviación estándar de los resultados obtenidos en condiciones de repetibilidad en concentraciones cercanas a cero. Este método se utiliza ampliamente, pero existen procedimientos alternativos en otras normas y protocolos. En la norma UNE-EN ISO 10993-7 (Asociación Española de Normalización y Certificación, 2008):

Límite de detección del método: Se prepara un patrón conocido del analito de interés cerca del MDL estimado y se determina la desviación estándar para siete inyecciones del patrón

$$\text{LOD} = s \times t$$

Donde:

- s es la desviación estándar de las inyecciones;
- t es el valor t de student con $n-1$ grados de libertad para el nivel de confianza del 99%

Límite de cuantificación según la norma UNE-EM ISO 10993-7 es:

$$\text{LOQ} = 5 \times \text{LOD}$$

c. Intervalo de trabajo

c.1. Definición

El intervalo de trabajo es el rango en el que el método da resultados con una incertidumbre aceptable. El límite inferior del intervalo de trabajo está determinado por el límite de cuantificación (LOQ). El límite superior del rango de trabajo se refiere a la concentración máxima del analito en la que el método analítico sigue siendo lineal y preciso. Este límite se determina cuando se observan desviaciones significativas en la sensibilidad analítica, es decir, cuando la respuesta del instrumento ya no es proporcional a la concentración del analito. Superar este límite puede resultar en lecturas inexactas y pérdida de linealidad, lo que afecta la confiabilidad de los resultados (Reina Velasco, 2019).

c.2. Consideraciones para el estudio de validación

El intervalo de trabajo del ensayo a validar debe indicarse en el alcance del método. En la validación de la metodología, se debe confirmar que el método puede utilizarse en este rango. Para estimar el intervalo de trabajo, el laboratorio debe considerar la linealidad del método y los procedimientos de calibración recomendados especificados en el método (Magnusson & Örnemark, 2014).

c.3. Intervalo de trabajo del método y del instrumento

La mayoría de los métodos dependen del adecuado tratamiento de la muestra recepcionada en el laboratorio antes de analizarla en los instrumentos de medición y registrar las señales. En estos casos, existen dos intervalos de trabajo (Méndez, 2021).

El rango de trabajo del método especificado en el rango del método está relacionado con la concentración de la muestra de laboratorio. El intervalo de trabajo del instrumento se determina en función de la concentración de la muestra de prueba procesada suministrada al instrumento para su medición (Méndez, 2021).

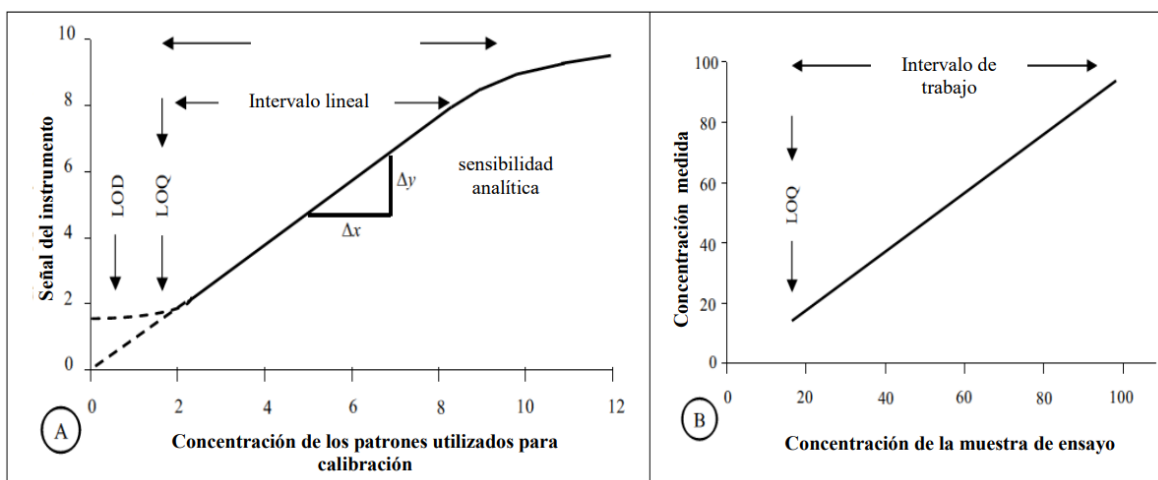
La Figura 9. (A) muestra un ejemplo del intervalo de trabajo del instrumento, donde la señal del instrumento se traza en función de la concentración del estándar de calibración.

La Figura 9. (B) muestra un ejemplo del intervalo de trabajo del método, donde la concentración medida se traza frente a la concentración conocida de la muestra de prueba. La concentración medida es el resultado obtenido al aplicar el procedimiento de medición con un instrumento calibrado según el método registrado. En este caso, el rango de trabajo está entre 20 y 100.

El proceso de validación debe evaluar el rango de desempeño del instrumento y del método. La información del intervalo de trabajo generalmente se genera durante el desarrollo del método. En este caso, basta con incluir estos datos en el informe de validación.

Figura 9

A) Curva de respuesta. B) Curva que representa la concentración medida en función de la concentración de la muestra de ensayo.



Nota: Tomado de (Magnusson & Örnemark, 2014)

c.4. Evaluación del intervalo de trabajo del instrumento

Entre el LOQ y el límite superior del intervalo de trabajo del instrumento, la respuesta del instrumento sigue una relación conocida, puede ser: lineal, curvilínea, etc. Durante el proceso de validación es necesario (Magnusson & Örnemark, 2014):

- i. Confirmar la relación
- ii. Demostrar que el intervalo de trabajo del instrumento es compatible con el rango especificado en el alcance del método.
- iii. Verificar la idoneidad de los procedimientos de calibración de instrumentos propuestos.

Para estudiar el intervalo de trabajo del instrumento y verificar su aptitud para su empleo, se debe (Magnusson & Örnemark, 2014):

1. Analizar patrones de calibración con un alcance de concentración que sobrepase el rango de concentración esperado en $\pm 10\%$ o incluso $\pm 20\%$.
2. Medir la muestra blanca junto con las soluciones estándar de calibración (6 a 10 concentraciones distribuidas uniformemente en el rango lineal) de 2 a 3 veces.
3. Graficar la respuesta (eje y) en función de la concentración (eje x). Inspeccione visualmente los valores atípicos que pueden no reflejarse en la regresión.
4. Calcular las estadísticas de regresión adecuadas. Calcular y graficar los residuales (diferencia entre el valor observado de y y el valor calculado de y estimado por la línea recta, para cada valor de x). La distribución aleatoria

de residuales en torno a cero confirma la linealidad. Las tendencias sistemáticas indican la no linealidad o un cambio de varianza con el nivel.

c.5. Evaluación del intervalo de trabajo del método

Para calcular el intervalo de trabajo del método, se sigue los siguientes pasos (Magnusson & Örnemark, 2014):

1. Se calibra el equipo instrumental según el procedimiento de calibración recomendado.
2. Medir conforme al método documentado la muestra “blanco” junto con las soluciones estándar de calibración (6 a 10 concentraciones distribuidas uniformemente en el rango de interés) de 2 a 3 veces.
3. Graficar la concentración medida (eje y) en función de la concentración de las muestras de ensayo (eje x).
4. Examinar visualmente para determinar el rango lineal aproximado y los límites superior e inferior del intervalo de trabajo.
5. Calcular las estadísticas de regresión adecuadas. Calcular y graficar los residuales (diferencia entre el valor observado de y y el valor calculado de y estimado por la línea recta, para cada valor de x). La distribución aleatoria de residuales en torno a cero confirma la linealidad. Las tendencias sistemáticas indican la no linealidad.

La evaluación del rango de trabajo se basará en datos de estudios de precisión y sesgo, siempre que estos estudios abarquen las concentraciones en todo el rango de trabajo del método. Para cada matriz dentro del alcance del método, es necesario establecer el intervalo de trabajo. Esto se debe a que las interferencias pueden producir respuestas no lineales, y la capacidad del método para extraer/recuperar el analito puede variar con la matriz de la muestra (Magnusson & Örnemark, 2014).

d. Sensibilidad Analítica

d.1. Definición

Es el cambio en la respuesta del instrumento correspondiente a un cambio en la cantidad medida, es decir, la pendiente de la curva de respuesta.

d.2. Aplicaciones

La sensibilidad analítica es una característica de desempeño no tan relevante, pero existen al menos dos usos conocidos muy útiles:

- i. Cuando se conoce la sensibilidad analítica teórica. Varios electrodos de ión selectivo tienen un comportamiento Nernstiano, por ejemplo, se espera que la

señal de un electrodo de vidrio que esté en óptimas condiciones, varíe en 59 mV/pH (Magnusson & Örnemark, 2014).

- ii. En sistemas de medición espectrofotométrica, se puede pronosticar la absorbancia a partir de la ley de Beer-Lambert. Esto puede emplearse como una verificación del desempeño del instrumento, y a veces las normas exigen realizar dichas verificaciones, por ejemplo, la verificación del espectrofotómetro de absorción atómica se realiza con un estándar de 2 ppm de cobre que debe tener una señal mínima de 0.23 Abs (Magnusson & Örnemark, 2014).

e. Veracidad

e.1. Definición

Es una expresión que indica cuan cerca está el valor promedio de un número infinito de resultados de un valor de referencia, como no es posible hacer infinitas mediciones, es imposible medir la veracidad, pero podemos hacer una evaluación realista de la veracidad. Normalmente, esta evaluación se cuantifica en términos de "sesgo" (Magnusson & Örnemark, 2014).

e.2. Determinación del sesgo

La determinación del sesgo se basa en comparar la media de los resultados ($\bar{X}$) del método evaluado con un valor de referencia adecuado (X_{ref}). El cual tiene 3 enfoques generales (Magnusson & Örnemark, 2014):

- i. Análisis de materiales de referencia.
- ii. Experimentos de recuperación utilizando muestras adicionadas.
- iii. Comparación con resultados obtenidos mediante otro método.

El análisis del sesgo debe cubrir el alcance del método, por lo que puede requerir el análisis de diferentes tipos de muestras y/o en diferentes niveles de analito, lograr este objetivo puede requerir una combinación de diferentes enfoques (Magnusson & Örnemark, 2014).

El sesgo puede expresarse en términos absolutos:

$$b = \bar{X} - X_{ref}$$

o en términos relativos en porcentaje:

$$b (\%) = \frac{\bar{X} - X_{ref}}{X_{ref}} \times 100$$

o como recuperación relativa de adiciones:

$$R' (\%) = \frac{\bar{X}' - \bar{X}}{X_{adición}} \times 100$$

Donde:

- $\bar{X}'$ es el valor medio de la muestra adicionada y $X_{adición}$ es la concentración añadida.
- X_{ref} es el valor de referencia.

No obstante, en algunos sectores de medición analítica, también se utiliza la recuperación relativa en porcentaje

$$R (\%) = \frac{\bar{X}}{X_{ref}} \times 100$$

Para calcular el sesgo empleando un MR, se obtienen la media y la desviación estándar de una serie de mediciones repetidas y los resultados se comparan con el valor asignado para la propiedad del MR. El MR ideal es un material de referencia de matriz certificado con valores de las propiedades cercanos a los de las muestras de prueba (Magnusson & Örnemark, 2014).

En ausencia de MR adecuado, se pueden utilizar estudios de recuperación para determinar el alcance del posible sesgo.

f. Precisión

f.1. Repetición

Es fundamental para obtener estimaciones confiables de características de desempeño del método, tales como el sesgo y la precisión. Los experimentos que realizan análisis repetidos tienen que ser diseñados teniendo en cuenta todas las variaciones en las condiciones operativas que se pueden prever durante el uso rutinario del método. El objetivo debería ser determinar la variabilidad típica y no la variabilidad mínima (Magnusson & Örnemark, 2014).

f.2. Condiciones de precisión

La precisión es el grado de cercanía existente al valor real entre los resultados de pruebas independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas. Casi siempre se expresa mediante parámetros estadísticos que describen la propagación de los resultados, típicamente la desviación estándar (o desviación estándar relativa), hallada a partir de los resultados obtenidos al realizar mediciones repetidas en un material adecuado en condiciones específicas. La decisión sobre las "condiciones específicas" es un aspecto importante de la evaluación de la precisión de la medida. Las condiciones determinan el tipo de estimación obtenida de la precisión (Valverde Velásquez & Obando Urey, 2021).

Repetibilidad, da la más pequeña variación en los resultados, es una medida de la variabilidad en los resultados cuando la medición se lleva a cabo por el mismo equipo y analista, mismo laboratorio, corto plazo de tiempo (Magnusson & Örnemark, 2014).

- a. Número de réplicas: 6-15 para cada material.
- b. Se calcula: La desviación estándar de repetibilidad (s_r) de los resultados para cada material.

Reproducibilidad, supone dar la mayor variación en los resultados, es una medida de la variabilidad en los resultados cuando la medición se lleva a cabo por analistas y equipos diferentes, laboratorios diferentes, plazo prolongado de tiempo (Magnusson & Örnemark, 2014).

- a. Número de replicas: 6-15 grupos de medidas duplicadas obtenidas bajo condiciones de repetibilidad en diferentes laboratorios para cada material.
- b. Se calcula:
 - i. La desviación estándar de repetibilidad (s_r) de los resultados de ANOVA para cada material.
 - ii. La desviación estándar de reproducibilidad (s_R) entre laboratorios de los resultados de ANOVA y combinarla con la desviación estándar de repetibilidad para cada material.

Precisión intermedia, da una variación en los resultados cuando las mediciones se realizan en el mismo laboratorio, pero con condiciones que varían más que las condiciones de repetibilidad. El objetivo es obtener una estimación de la precisión que refleje todas las fuentes de variación que se producirán en un solo laboratorio en condiciones de rutina analistas y equipos diferentes, mismo laboratorio, plazo prolongado de tiempo (Manterola et al., 2018).

- a. Número de réplicas: 6-15 grupos de medidas duplicadas obtenidas bajo condiciones de repetibilidad con analistas/días diferentes para cada material.
- b. Se calcula:
 - i. La desviación estándar de repetibilidad (s_r) de los resultados de ANOVA para cada material.
 - ii. Calcular la desviación estándar entre grupos de los resultados de ANOVA y combinarla con la desviación estándar de repetibilidad para cada material.

Estimar la desviación estándar de la precisión intermedia s_l para cada material.

Tabla 2

Tabla de análisis de ANOVA de 2 factores con interacción

Origen de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F _{calculado}
Factor A	$k-1$	SSA	$MSA = \frac{SSA}{k-1}$	$F_A = \frac{MSA}{MSE}$
Factor B	$l-1$	SSB	$MSB = \frac{SSB}{l-1}$	$F_B = \frac{MSB}{MSE}$
Interacción AB	$(k-1)(l-1)$	SSAB	$MSAB = \frac{SSAB}{(k-1)(l-1)}$	$F_{AB} = \frac{MSAB}{MSE}$
Error	$kl(m-1)$	SSE	$MSE = \frac{SSE}{kl(m-1)}$	
Total	$klm-1$	SSTo		

Nota: Adaptado de (Barwick et al., 2014).

g. Incertidumbre

Es el intervalo asociado con un resultado de medición que representa el rango de valores que pueden asignarse razonablemente a la cantidad medida. La evaluación de la incertidumbre debe tener en cuenta todos los efectos reconocidos sobre los resultados. La incertidumbre asociada a cada efecto se incorpora según procedimientos establecidos (Magnusson & Örnemark, 2014).

Para tener estimaciones de la incertidumbre de los resultados de las mediciones químicas, se tiene en cuenta:

- ❖ La precisión a largo plazo global del método, es decir, la precisión intermedia o la reproducibilidad.
- ❖ El sesgo y su incertidumbre, incluyendo la incertidumbre estadística que refiere a las medidas de sesgo, y la incertidumbre en el valor de referencia.

- ❖ La calibración de instrumentos. Las incertidumbres asociadas con la calibración de equipos como balanzas, estufas, fioles y frascos son a menudo insignificamente pequeña en comparación con la precisión global y la incertidumbre en el sesgo. Si esto se puede verificar entonces las incertidumbres de calibración no necesitan ser incluidas en la estimación de la incertidumbre.

Algún otro efecto significativo que funcione adicional a lo anterior. Por ejemplo, es posible que los rangos de tiempo y temperatura permitidos en este método no se tengan en cuenta en su totalidad en los estudios de validación y que sea necesario complementar sus efectos.

h. Robustez

h.1. Definición

Es una medida de su capacidad para permanecer sin ser afectado por algunas variaciones planificadas de los parámetros del método. Proporciona una indicación de la confiabilidad del método durante su uso normal (Magnusson & Örnemark, 2014).

h.2. Ensayo de robustez

Las pruebas de robustez se pueden realizar considerando cada efecto individualmente, repitiendo las mediciones después de un pequeño cambio en un parámetro determinado y controlando otras condiciones según corresponda. Sin embargo, esto puede requerir mucho trabajo ya que hay muchas implicaciones a considerar (National Association of Testing Authorities- NATA, 2012).

La robustez se debe establecer para:

- ❖ Los métodos desarrollados internamente en los laboratorios
- ❖ Los métodos adaptados de publicaciones científicas
- ❖ Los métodos normalizados utilizados fuera del alcance.

Cuando se utilizan métodos publicados por organismos de normalización dentro del alcance de aplicación del método, la robustez por lo general ha sido estudiada como parte del proceso de normalización (Magnusson & Örnemark, 2014) Para calcular la robustez, se debe:

- i. Identificar variables que puedan tener un impacto significativo en la performance del método.

- ii. Efectuar experimentos para estudiar el efecto en los resultados de la medida modificando de forma sistemática las variables.
- iii. Evaluar utilizando diseños de experimentos (Por ejemplo, utilizando un diseño de experimentos Plackett-Burman)
- iv. Determinar el efecto de cada cambio de condición en los resultados de la medida.
- v. Clasificar las variables según el mayor efecto sobre el desempeño del método. Realizar pruebas de significación para determinar si los efectos observados son estadísticamente significativos.
- vi. Desarrollar el control de calidad o cambiar el método para controlar las variables críticas, por ejemplo, especificar límites de tolerancia apropiados en los procedimientos operativos estándar.

2.1.5 Suturas Quirúrgicas

Las suturas quirúrgicas son materiales esenciales empleados en la medicina para cerrar heridas y promover la cicatrización. Estas suturas pueden ser absorbibles o no absorbibles, dependiendo de si están diseñadas para descomponerse en el cuerpo con el tiempo o si necesitan ser retiradas manualmente. Los materiales utilizados en las suturas varían, incluyendo opciones como el catgut, la seda, el nailon y el polipropileno, cada uno con sus propias ventajas y desventajas en términos de resistencia, flexibilidad y reacción del tejido. La elección del tipo de sutura depende de varios factores, como la ubicación de la herida, la tensión que soportará y la necesidad de minimizar las cicatrices. Además, las técnicas de sutura, como las suturas continuas o interrumpidas, juegan un papel crucial en la efectividad del cierre de la herida y en la reducción del riesgo de infección (MOY et al., 1992).

Las suturas quirúrgicas se clasifican en varios tipos según diferentes criterios, como su composición, duración y estructura (Revollo Patino & Tito Ramírez, 2011).

a. Según su composición

a.1. Absorbibles

Estas suturas se descomponen y son absorbidas por el cuerpo con el tiempo. Ejemplos incluyen el catgut, que se deriva de intestinos de animales, y materiales sintéticos como el poliglactín (Vicryl) y el polidioxanona (PDS).

a.2. No absorbibles

Estas suturas no se descomponen y pueden necesitar ser retiradas después de que la herida haya sanado. Ejemplos comunes son la seda, el nailon, el polipropileno (Prolene) y el acero inoxidable.

b. Según su duración

b.1. Corto plazo

Suturas absorbibles que se descomponen rápidamente, generalmente en días o semanas, como el catgut simple.

b.2. Largo plazo

Suturas absorbibles que tardan meses en descomponerse, como el polidioxanona.

c. Según su estructura

c.1. Monofilamento

Estas suturas están hechas de un solo filamento, lo que reduce el riesgo de infección pero puede ser menos flexible. Ejemplos incluyen el nailon y el polipropileno.

c.2. Multifilamento

Estas suturas están compuestas de varios filamentos trenzados o retorcidos juntos, lo que las hace más flexibles y fáciles de manejar, pero pueden tener un mayor riesgo de infección. Ejemplos incluyen la seda y el poliglactín.

d. Según su uso específico

d.1. Suturas de piel

Diseñadas para cerrar heridas superficiales en la piel.

d.2. Suturas internas

Utilizadas para cerrar tejidos internos, como músculos y órganos.

d.3. Suturas especiales

Como las suturas cardíacas, que están diseñadas para resistir las condiciones específicas del corazón y los vasos sanguíneos.

La elección del tipo de sutura depende de varios factores, incluyendo la ubicación y el tipo de herida, la tensión que soportará la sutura, y la necesidad de minimizar las

cicatrices y el riesgo de infección. Además, las técnicas de sutura, como las suturas continuas o interrumpidas, también influyen en la efectividad del cierre de la herida.

2.2 Marco conceptual

2.2.1 Conceptos claves (Fernández, 2011)

- i. **Material de referencia:** Un material de referencia es una sustancia o material con propiedades bien definidas y homogéneas, utilizado para calibrar instrumentos, evaluar métodos de medición o asignar valores a otros materiales. Estos materiales son esenciales en laboratorios para asegurar la precisión y exactitud de las mediciones. Los materiales de referencia pueden ser certificados, lo que significa que sus propiedades han sido verificadas y documentadas por una entidad autorizada, proporcionando un alto nivel de confianza en los resultados obtenidos al utilizarlos.
- ii. **F de Fisher:** La distribución F de Fisher, también conocida como distribución de Fisher-Snedecor, es una distribución de probabilidad continua que se utiliza principalmente en el análisis de varianza (ANOVA). Esta distribución permite comparar las varianzas de dos poblaciones independientes para determinar si son significativamente diferentes. La distribución F se caracteriza por tener dos conjuntos de grados de libertad: uno asociado con el numerador y otro con el denominador. Estos grados de libertad dependen del tamaño de las muestras de las poblaciones que se están comparando. La distribución F es asimétrica y siempre toma valores positivos.
- iii. **Curva de calibración:** Una curva de calibración es un gráfico que muestra la relación entre la respuesta de un instrumento de medición y la concentración de una sustancia específica en varias muestras con concentraciones conocidas dentro de un rango establecido. Este gráfico se utiliza para determinar la concentración de esa sustancia en muestras desconocidas. La curva se construye midiendo la respuesta del instrumento para cada muestra estándar y luego trazando estos puntos en un gráfico. La relación entre la concentración y la respuesta suele ser lineal, lo que permite utilizar la curva para estimar la concentración de la sustancia en nuevas muestras cuyas concentraciones están en el rango establecido.
- iv. **Nivel de confianza:** El nivel de confianza en química estadística se refiere a la probabilidad de que un intervalo de confianza contenga el valor verdadero de un parámetro poblacional. Este nivel se expresa como un porcentaje, comúnmente 90%, 95% o 99%, indicando la certeza con la que se puede afirmar que el parámetro se encuentra dentro del intervalo calculado.
- v. **Grados de libertad:** Se calculan restando el número de restricciones o parámetros estimados del tamaño total de la muestra.

2.2.2 Antecedentes de investigación sobre métodos para cuantificar óxido de etileno empleando GC

a. (Wenio et al., 2023)

El método propuesto por (Wenio et al., 2023) se basa en la derivatización del óxido de etileno a 2-cloroetanol, con un número mínimo de pasos de extracción y un volumen mínimo de disolvente de extracción. La purificación del extracto final a través de un filtro de jeringa ha demostrado reducir significativamente la cantidad de recuperación obtenida. Dado que la definición de residuo de plaguicida óxido de etileno, según la directiva 868/2015, establece que el óxido de etileno es la suma del óxido de etileno y 2-cloroetanol expresado como óxido de etileno, el método validado permite determinar esta definición.

El método planteado ha resultado ser más rápido que otros métodos y cumple con las últimas directrices europeas para el análisis de residuos de plaguicidas descritas en el documento SANTE/11312/2021. Evaluaron los parámetros: linealidad, los límites de detección y cuantificación, los efectos de la matriz, la precisión y la exactitud del método con respecto al documento mencionado anteriormente.

Resultados obtenidos: Incertidumbre expandida RSDr fue inferior o igual al 20%, mientras que la recuperación alcanzada osciló entre el 70 y el 120%. El laboratorio ha sido acreditado para utilizar el procedimiento descrito del método cromatográfico, cuya competencia ha sido confirmada por numerosas pruebas de aptitud.

b. (Rodrigues et al., 2023)

El trabajo describe el desarrollo y la validación de un método empleado para la cuantificación del óxido de etileno (ETO) en bolsas de orina. El método se desarrolló sobre la base de las directrices de ISO 10993-7, ANVISA e INMETRO. Evaluaron el rango de trabajo, la linealidad, los límites de detección y cuantificación, la repetibilidad, la precisión intermedia y la selectividad. También se utilizaron herramientas estadísticas como el test de Levene, Grubbs, análisis residual, F-test de dos varianzas, test T de muestra pareada y tabla ANOVA para evaluar el método.

Resultados obtenidos: La linealidad del rango de trabajo (10 - 400 mg.L⁻¹) mostró un coeficiente de correlación adecuado ($r > 0,9993$), con un perfil homoscedástico sin outliers mientras que el límite de detección y cuantificación fueron 1,95 y 6,5 mg.L⁻¹ respectivamente. Después de la validación, se evaluaron 45 muestras de bolsas de orina de diferentes lotes, que demostraron niveles de ETO por debajo del límite de detección (1,95 mg.L⁻¹). Los resultados destacan un método sencillo que cumple con varias

regulaciones con un amplio rango de trabajo, alta sensibilidad y capacidad para cuantificar ETO no solo en bolsas de orina sino también en otros dispositivos médicos.

c. (Chiang et al., 2024)

El estudio estableció dos métodos de extracción para el análisis de óxido de etileno (EO) y etileno clorohidrina (ECH). El primer método consiste en una extracción simulada utilizando agua como disolvente de extracción. Mientras que la segunda, exhaustiva extracción, directamente extrae muestra a través de análisis de muestreo espacio de cabeza. Se utilizó la cromatografía de gases-espectrometría de masas en tándem en modo de seguimiento de reacciones múltiples, que solo requirió 16 min. Luego, el método desarrollado se aplicó para evaluar 10 dispositivos médicos disponibles comercialmente esterilizados por EO.

En la extracción de uso simulado, se evaluaron las curvas de calibración en el rango de 1-100 y 5-500 μg para EO y ECH, respectivamente ($r > 0,999$). Las recuperaciones entre los días oscilaron entre el 85,0% y el 95,2%, y entre el 94,8% y el 102,4%. En la extracción exhaustiva, las curvas de calibración se extendieron 0,5-50 y 2-200 μg para EO y ECH, respectivamente ($r > 0,999$). Las recuperaciones entre días oscilaron entre el 101,6% y el 102,1% para la EO y entre el 98,1% y el 102,2% para la ECH. Tras el análisis de los 10 dispositivos médicos disponibles en el mercado, se halló que dos hisopos de algodón tenían un HCE de 35,1 y 28,4 μg por dispositivo, y cuatro dispositivos médicos tenían OE con una concentración inferior al límite de cuantificación. Mientras tanto, descubrimos que la norma interna de EO (óxido de propileno) recomendada por la norma ISO 10993-7 tenía problemas de interferencia con otras sustancias similares y no era adecuada como norma interna para el EO.

Este estudio ofrece un enfoque analítico sensible y directo de los residuos de EO e ECH en una variedad de dispositivos médicos. Además, los resultados muestran que el contenido de EO o ECH de estos tipos de dispositivos médicos en nuestro estudio cae por debajo de los límites reglamentarios, lo que infunde confianza entre los consumidores con respecto a su uso seguro.

d. (Nerpagar et al., 2023)

Este estudio, por primera vez, tuvo como objetivo establecer un método dinámico de GC-MS/MS para la determinación simultánea de estos dos analitos en extractos de acetonitrilo de comino, ashwagandha, chile en polvo, cúrcuma en polvo, goma guar, goma de algarroba y jengibre en polvo. Las muestras (4 g) se extrajeron con acetonitrilo (10 mL). Una etapa de limpieza de extracción en fase sólida dispersiva con sorbente primario de

amina secundaria (50 mg/mL) redujo la señal interferente del acetaldehído (derivado de matriz) en >40% en polvo de chile, jengibre, cúrcuma y goma guar. No se requería esta limpieza para las semillas de sésamo. Con una selectividad y sensibilidad elevadas, el enfoque GC-MS/MS identificó y cuantificó ambos compuestos simultáneamente. Con los niveles de concentración de 0,01, 0,02 y 0,05 mg/kg, las recuperaciones y la precisión fueron satisfactorias (70-120%, DSR, 15%). El método de espacio de cabeza-rendimiento era similar a las inyecciones líquidas. El método proporcionó resultados reproducibles cuando fue evaluado por dos laboratorios diferentes. El método proporcionó resultados de alta precisión para el análisis de residuos incurridos. Dada su eficacia, se prevé que el método validado mejorará la eficacia del seguimiento de los residuos de EtO en productos alimenticios.

e. (Bessaire et al., 2021)

Se detectaron residuos de óxido de etileno (OE), un fumigante prohibido en la Unión Europea (UE), en cantidades superiores al límite máximo de residuos (LMR) en goma de algarroba (aditivo E410). Este plaguicida ingresó a la cadena alimentaria a través de mezclas estabilizadoras utilizadas como ingredientes secundarios en la fabricación de helados. Como resultado, todos los productos que contenían el ingrediente no conforme fueron retirados del mercado en varios países de la UE, independientemente de si el residuo de plaguicida era detectable en el producto final.

Este es el primer informe de un método fiable para determinar el OE y su metabolito/compuesto marcador 2-cloroetanol (2-CE), tanto conjuntamente como por separado en helados, con un límite de cuantificación de 0,01 mg OE/kg y una recuperación del 87 al 104 % en los niveles investigados (0,01, 0,02 y 0,06 mg OE/kg). El método emplea la extracción Quechers y la cromatografía de gases de dilución isotópica, junto con la espectrometría de masas en tándem (GC-MS/ MS). La espectrometría de masas de alta resolución (HRMS) confirmó la especificidad de los iones de baja masa.

Los datos sobre la estabilidad del OE y el 2-CE en condiciones térmicas revelaron que el 2-CE es relativamente estable en una matriz de helado, con una recuperación de aproximadamente el 80 % del material enriquecido. Es importante destacar que este estudio también demuestra que el 2-CE, y no el OE, es el analito predominante detectado en las muestras contaminadas, lo cual constituye una nueva información relevante para la evaluación del riesgo del OE en los alimentos.

f. (Patil et al., 2023)

Se informa de un método selectivo y sensible para el análisis de residuos de óxido de etileno (OE) en diversas matrices, a saber, sésamo, comino, trigo, té, especias, hierbas, frutas deshidratadas, aditivos alimentarios, uvas y tomates. El estudio modificó el método de referencia de la Unión Europea (EN 15662) realizando la extracción de muestras (con acetonitrilo) a $< 10\text{ }^{\circ}\text{C}$, limpieza mediante extracción en fase sólida dispersiva con C18 y sorbentes primarios de aminas secundarias, y análisis por cromatografía de gases en tándem espectrometría de masas con control de reacciones seleccionadas. Las inyecciones se realizaron a través de un puerto de vaporizador de temperatura programable. El proceso de preparación de la muestra proporcionó un límite de cuantificación de 10 ng/g para el OE y el 2- CE y minimizó eficazmente los efectos de la matriz. Las recuperaciones de EO y 2- CE oscilaron entre el 74% y el 120% a 10, 20 y 50 ng/g con RSD de precisión $< 12\%$, cumpliendo con las directrices de validación del método analítico SANTE/11312/2021. Los valores de HorRat (relación de Horwitz) de 0,31-0,40 indicaron una alta reproducibilidad del método interlaboratorios ($n = 6$ laboratorios). Los resultados de los residuos incurridos en sésamo (0,055-0,1 mg/kg), comino (0,008-0,013 mg/kg) y cilantro (0,01-0,025 mg/kg) demostraron una eficiencia y precisión de extracción satisfactorias ($\text{RSD} < 10\%$) en los resultados de las pruebas. El método es muy adecuado para el análisis regulador del OE en diversas matrices de alimentos.

Capítulo III. Desarrollo del Trabajo de Investigación

3.1 Presentación

El óxido de etileno se produce en grandes cantidades y se emplea principalmente como intermediario de la producción de diversos productos químicos industriales, especialmente etilenglicol. También se emplea como esterilizante para instrumentos médicos (Aragón Peña & González García, 2019)

El EtO se utiliza en los centros hospitalarios para la esterilización del material médico quirúrgico que es sensible al calor. Su uso sin equipo de protección o en condiciones inadecuadas puede afectar a la salud de los trabajadores expuestos. Puede provocar algunos riesgos físicos y para la salud que requieren atención especial, la exposición aguda al gas puede causar irritación del tracto respiratorio y daño en los pulmones, dolor de cabeza, náuseas, vómitos, diarrea, disnea y cianosis (Collado Villatoro, 2012).

La exposición prolongada se asocia con el desarrollo de cáncer, cambios mutagénicos y neurotoxicidad. Los trabajadores que están expuestos brevemente a altas concentraciones de óxido de etileno en el aire pueden experimentar síntomas de irritación pulmonar. Los trabajadores expuestos a altas concentraciones de óxido etileno durante períodos cortos o largos pueden experimentar síntomas como dolores de cabeza, pérdida de memoria, cambios sensoriales, náuseas y vómitos (Rosell Farrás & Guardino Solá, 2024).

Algunos animales de laboratorio expuestos a altas concentraciones de óxido de etileno durante largos períodos de tiempo pueden experimentar irritación de la nariz, la boca y los pulmones, también se puede desarrollar insuficiencia renal y anemia, hasta el sistema nervioso y el desarrollo reproductivo masculino se ven afectados por la exposición a este gas. Algunos de estos efectos también se observan en humanos (Rosell Farrás & Guardino Solá, 2024).

En algunos estudios de trabajadores expuestos al óxido de etileno durante un promedio de diez años o más, han evidenciado que los trabajadores con la mayor exposición al óxido de etileno tienen un mayor riesgo de ciertos tipos de cánceres, como algunos cánceres de sangre y de mama (Aragón Peña & González García, 2019).

El Departamento de Salud y Servicios Humanos (HHS) de los EE. UU. ha determinado que el óxido de etileno es conocido por ser carcinógeno en seres humanos. La Agencia de Protección del Medio Ambiente de EE. UU. (EPA) ha concluido que la exposición por inhalación al óxido de etileno es carcinogénica en seres humanos (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, 2020).

Al saber que el óxido de etileno es un componente que produce cáncer, se tiene la necesidad de determinar su concentración de una manera confiable en ciertos productos que son esterilizados con este gas y que luego entran en contacto con personas, para así saber si la concentración del óxido de etileno está dentro del límite máximo permisible indicado por la FDA que menor a 250 ppm (Rutala et al., 2023).

3.2 Trabajo Experimental

3.2.1 Equipos y materiales

a. Equipos

- i. Balanza analítica marca Shimadzu AUW120 (con un error de ± 0.00005 g).
- ii. Estufa marca Memmert.
- iii. Cromatógrafo de gases Shimadzu GCMS-QP2010 SE
- iv. Micropipeta Multicanal de Volumen variable.

b. Materiales de vidrio

- i. Columna cromatográfica de diversas alturas y diámetros
- ii. Tubos de ensayo 13x100 mm.
- iii. Vasos precipitado 50 mL.
- iv. Viales de vidrio 20 mL.

c. Solvente

- i. Agua ultrapura

d. Reactivos químicos

- i. Estándar Óxido de etileno Merck

3.2.2 Procedimiento experimental

Las actividades desarrolladas durante el proceso de validación del método fueron:

- i. Preparación de las soluciones (blancos de muestra, curva de calibración, soluciones problema, etc) empleadas durante el proceso de validación.

Para preparar las soluciones, se empleó un estándar de óxido de etileno con las características indicadas en la Tabla 3.

Figura 10

Fotografía del estándar de óxido de etileno



Tabla 3

Datos del estándar de óxido de etileno

Parámetro	Valor
Proveedor	Merck
Concentración	50 mg/mL
Lote	LRAD3011
Fecha de vencimiento	31/07/25

- ii. Manejo del equipo cromatógrafo de gases durante la validación.

Figura 11

Fotografía del cromatógrafo de gases



Figura 12

Fotografía de la columna cromatográfica



Tabla 4*Datos de la columna cromatográfica*

Parámetro	Valor
Nombre de la columna	STABILWAX
Número de serie	1354049
Longitud de la columna	30 m
Diámetro interior	0,25 mm
Temperatura máxima de la columna	260 °C
Polaridad de la fase	Polar
Relleno de la columna	Crossbond acid-deactivated Carbowax polyethylene glycol—for acidic compounds

Tabla 5*Condiciones cromatográficas del método*

Parámetro	Valor
Tipo de inyección	Headspace
Volumen de inyección	250 µL
Temperatura de incubadora	37 °C
Temperatura de la jeringa	60 °C
Detector	Detector de ionización de llama
Temperatura de detector	250 °C
Makeup Gas	Nitrógeno
Flujo de nitrógeno	30,0 mL/min
Flujo de Hidrógeno	40,0 mL/min
Flujo de Aire	400,0 mL/min
Rampa de calentamiento	Temperatura inicial: 35 °C Tiempo de temp. inicial: 2 min. Temperatura final: 45 °C Rampa: 10°C/min
Tiempo total de corrida	3 minutos
Modo de inyección	Split
Split	15
Temperatura del puerto de inyección	200 °C
Gas Carrier	Helio
Modo de control de flujo	Velocidad
Presión	92,4 kPa
Flujo total	22,5 mL/min
Flujo de la columna (Flujo del He)	1,22 mL/min
Velocidad lineal	28,7 cm/sec
Flujo de purga	3 mL/min

- iii. Realización de todos los cálculos empleados en la validación.
- iv. Verificación del cumplimiento de los parámetros empleados en la validación.
- v. Se hizo el informe de ensayo referente a la validación del método.
- vi. Se desarrolló el instructivo del análisis de óxido de etileno en suturas quirúrgicas.
- vii. Se implementó el ensayo en el laboratorio capacitando al personal, enseñándole el procedimiento y manejo del equipo.

Capítulo IV. Análisis y Discusión de los Resultados

Por solicitud del cliente, se emplearon los criterios para la validación de los métodos de cromatografía de gases indicados en el Anexo B de la UNE EN ISO 10993-7:2009. Adicionalmente a lo indicado en la norma, se analizó la selectividad para confirmar que no haya picos que se superpongan con el pico del óxido de etileno.

4.1 Precisión

Para determinar este parámetro se realizó 30 corridas con tres analistas diferentes. Se evaluó la precisión en base a estimadores estadísticos como: Prueba Normalidad (Anderson Darling), Prueba de Homogeneidad (Barlett) y los atípicos gráficos h-Mandel, k-Mandel, teniendo en cuenta los criterios de aceptación del Reglamento UE 2017/664 Comisión Europea.

Tabla 6

Resultados del estudio de precisión

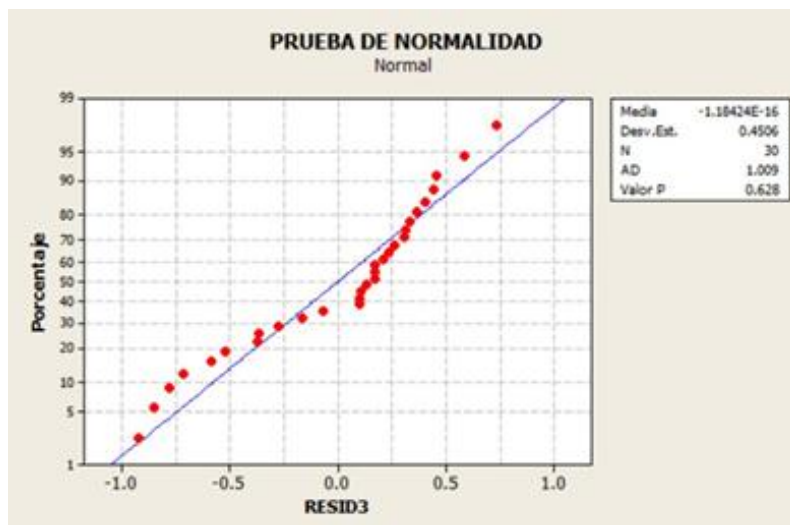
Parámetro Estadístico	Resultado
Promedio Total	9,814 ppm
S_r	0,467 ppm
S_R	0,481 ppm
RSD_r	4,758 ppm
RSD_R	4,905 ppm
r	1,308 ppm
R	1,348 ppm
LIMITE RSD_r (%)	13,323
LIMITE RSD_R (%)	13,734
% Recuperación	98,143

4.1.1 Prueba de Normalidad

Como observamos en la figura inferior, al realizar la prueba de normalidad, Anderson- Darling, el valor p es mayor a 0,05; por lo que podemos afirmar que los datos son normales.

Figura 13

Gráfica de la prueba de normalidad

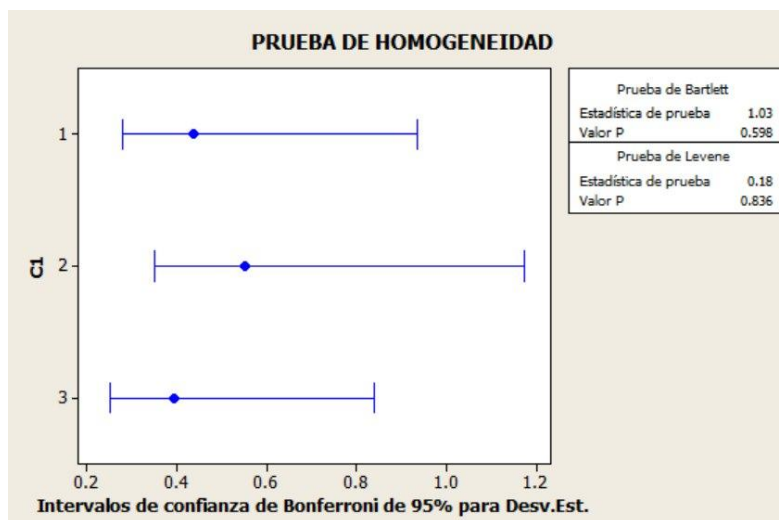


4.1.2 Prueba de Homogeneidad

Los valores p son mayor a 0,05 en la prueba de Barlett y Levene, por lo que los datos son homogéneos.

Figura 14

Gráfica de la prueba de homogeneidad



4.1.3 Prueba de valores atípicos, Cochran y Grubbs

Al realizar el análisis de Cochran y Grubbs obtenemos los siguientes valores:

Figura 15

Valores para la prueba numérica de valores atípicos

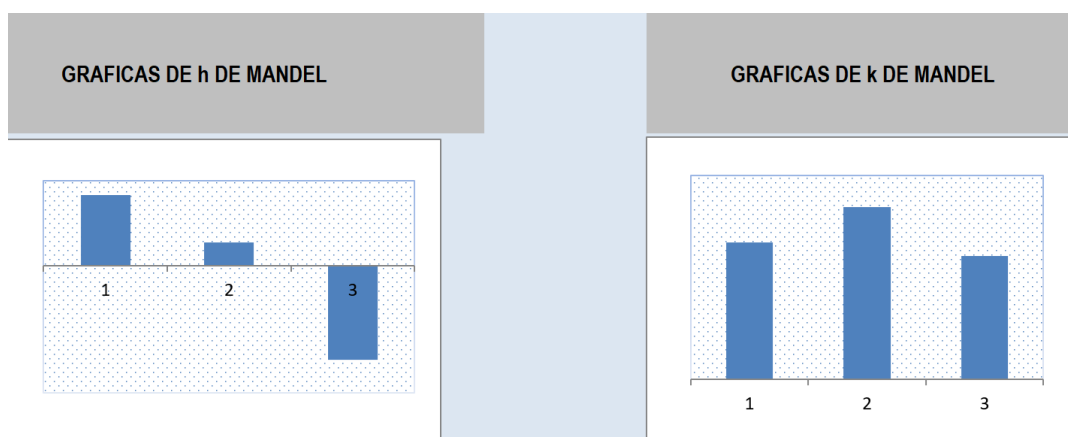
	Maximo	Minimo	
Grubbs	0.8350	1.10819	Entre laboratorios
Inconsist. Grubbs	NO	NO	
Cochran	0.4658		Dentro de los laboratorios
Inconsist. Cochran	NO		

4.1.4 Gráficas de consistencia para datos

Se realizó las siguientes gráficas de h y k de mandel para evaluar la consistencia de los datos:

Figura 16

Gráfica de h y k de Mandel para la evaluación de consistencia de datos



Podemos concluir que la matriz de suturas quirúrgicas cumple en los diferentes niveles evaluados con un criterio de aceptación para $LRS DR \leq 25\%$.

4.2 Selectividad

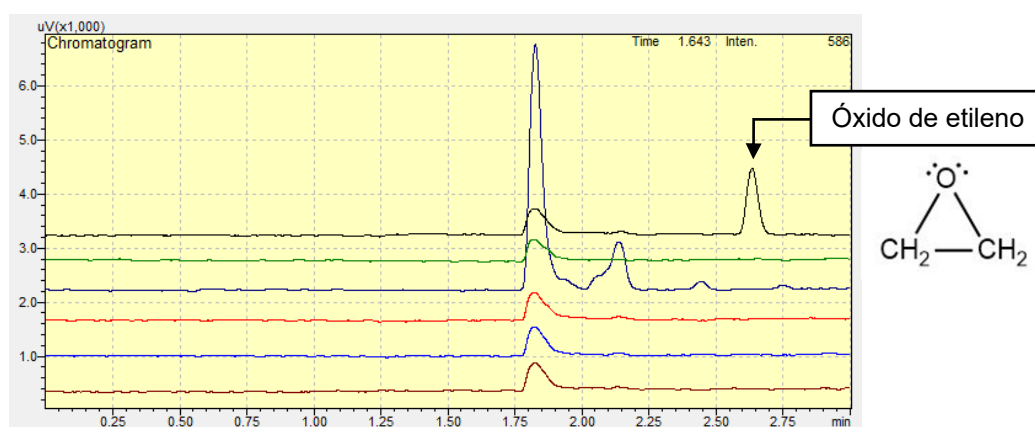
Para analizar este parámetro, se analizaron 06 muestras para verificar que el pico del óxido de etileno no contenga ningún otro pico cromatográfico, los resultados de estos análisis se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 7*Resultados del parámetro selectividad*

Muestra	# Pico	Tiempo De Retención (Min)	Nombre
Blanco de muestra	1	1,822	Pico del blanco de muestra
Seda trenzada producto terminado sin esterilizar	1	1,822	Pico del blanco de muestra
Nylon azul monofilamento producto terminado sin esterilizar	1	1,826	Pico del blanco de muestra
Polietileno de ultra alto peso molecular producto terminado sin esterilizar	1	1,822	Pico del blanco de muestra
Alcohol isopropílico Q.P. 99.9% Lote 13406043	1	1,827	Pico del blanco de muestra
	2	2,138	Pico no identificado
Solución estándar de óxido de etileno de 5 ppm	1	1,823	Pico del blanco de muestra
	2	2,635	Óxido de etileno

Figura 17

Comparación de cromatogramas. Cromatogramas del Estándar de 5 ppm de óxido de etileno (negro), blanco del método (verde), alcohol isopropílico (azul), sutura de seda (rojo), sutura de polietileno (celeste) y sutura de nylon (marrón)



Las muestras de suturas, el alcohol isopropílico y el blanco de muestra no presentan picos que interfieran con el pico del estándar de óxido de etileno que tiene un tiempo de retención de 2,635 minutos; por lo que se puede asegurar que el método es selectivo.

4.3 Exactitud

Este parámetro se evaluó utilizando nueve mediciones, tres réplicas a tres concentraciones diferentes. A continuación, se presentan los valores obtenidos al evaluar el parámetro de exactitud.

Tabla 8

Datos del análisis del parámetro exactitud

Estándar	Parámetro	Resultados			Unidades
		Repetición	Repetición	Repetición	
		1	2	3	
Óxido de etileno de 2ppm	EtO - R1	1,970	2,045	2,005	ppm
	EtO - R2	1,963	2,070	2,027	ppm
	EtO Promedio	1,966	2,057	2,016	ppm
	Recuperación - R1	98,512	102,227	100,242	%
	Recuperación - R2	98,127	103,509	101,331	%
	Recuperación Promedio	98,320	102,868	100,786	%
Óxido de etileno de 10ppm	EtO - R1	9,278	10,038	9,617	ppm
	EtO - R2	9,154	9,877	9,541	ppm
	EtO Promedio	9,216	9,958	9,579	ppm
	Recuperación - R1	92,785	100,382	96,167	%
	Recuperación - R2	91,542	98,768	95,411	%
	Recuperación Promedio	92,163	99,575	95,789	%
Óxido de etileno de 20ppm	EtO - R1	18,889	19,924	19,510	ppm
	EtO - R2	18,611	20,264	19,526	ppm
	EtO Promedio	18,750	20,094	19,518	ppm
	Recuperación - R1	94,445	99,622	97,552	%
	Recuperación - R2	93,055	101,319	97,629	%
	Recuperación Promedio	93,750	100,471	97,591	%

Tabla 9*Resumen de los datos del análisis del parámetro exactitud*

Parámetro	Estándar	Resultados			Unidades
		Repetición	Repetición	Repetición	
		1	2	3	
Recuperación	EtO / 2ppm	98,320	102,868	100,786	%
	EtO / 10ppm	92,163	99,575	95,789	
	EtO / 20ppm	93,750	100,471	97,591	
	Promedio	97,924			
	D.S. ⁽¹⁾	3,487			
	D.S.R. ⁽¹⁾	3,561			
⁽¹⁾ Observación		La recuperación porcentual promedio se encuentra en el rango de 80 a 110%.			

El porcentaje de recuperación promedio en los 3 niveles de concentraciones y haciendo un triplicado en cada nivel fue de 97,924 % y la D.S.R. fue de 3,561, este valor se encontraría dentro del rango de recuperación (80% – 110%) propuesto según (NordVal International, 2018), en los 3 niveles estudiados para concentraciones cercanas a 1 y 10 ppm.

Además, se llevó a cabo el test estadístico t de Student, comparando el valor t_{exp} con el valor t_{tabla} para (n-1) grados de libertad y un nivel de significancia $\alpha=0,05$. Si el valor t_{exp} resulta menor que el valor t_{tabla} , no se observa una diferencia significativa entre la recuperación promedio y el 100%. Esto implica que el método tiene la exactitud necesaria para un nivel de confianza del 95%.

La ecuación para calcular el valor t_{exp} es la siguiente (AEFI, 2001):

$$t_{exp} = \frac{|100-R| \cdot \sqrt{n}}{\%D.S.R.}$$

Reemplazando los valores obtenidos en la prueba de recuperación y sustituyendo en la ecuación, se obtiene:

$$t_{exp} = \frac{|100-97.924| \cdot \sqrt{9}}{3.561} = 1,75$$

De acuerdo con los resultados obtenidos, el valor t_{exp} es menor que el valor t_{tabla} ($t_{tabla} = 1,85$ para $\alpha=0,05$ y 8 grados de libertad). Por lo tanto, no existe una diferencia

significativa entre la recuperación media y el 100%. En consecuencia, podemos concluir que la metodología es exacta.

4.4 Linealidad

Este parámetro se evaluó en el rango de 1 a 30 ppm, debido al criterio del cliente. A continuación, se presentan los resultados obtenidos al construir una curva de calibración de acuerdo con la Tabla 10 y 11, se presentan los valores obtenidos al evaluar este parámetro.

Tabla 10

Datos del análisis de la linealidad

Concentración (ppm)	Área Repetición 1	Área Repetición 2	Área Repetición 3
1	663	736	638
2	1543	1481	1464
10	7443	7288	7543
20	15541	15086	15700
30	23440	22835	23183

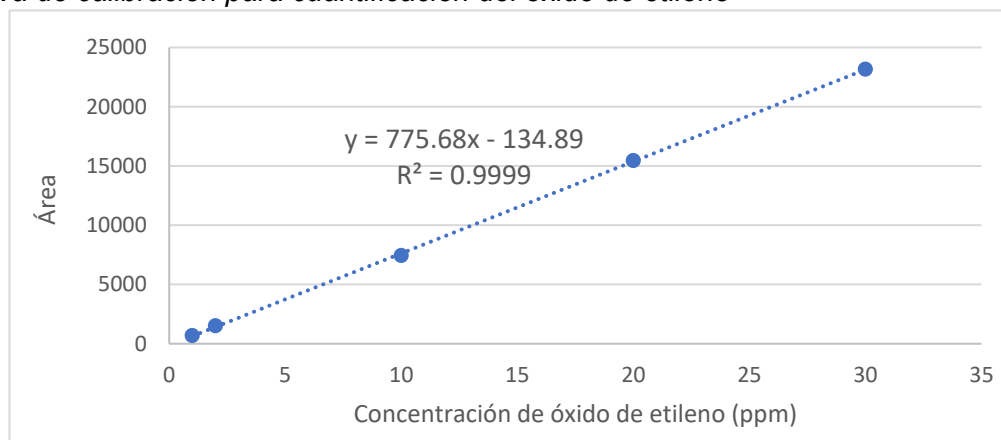
Tabla 11

Parámetros del análisis de la linealidad

Parámetro de linealidad	Área Repetición 1	Área Repetición 2	Área Repetición 3	Promedio	Desviación Estándar
Pendiente	784,47	762,08	780,49	775,68	11,946
Intercepto	-158,71	-117,19	-128,75	-134,89	21,429
R ²	0,9998	0,9998	0,9998	0,9998	1,129E-05
r	0,9999	0,9999	0,9999	0,9999	1,129E-05

Figura 18

Curva de calibración para cuantificación del óxido de etileno



Se evidenció que los valores de coeficiente de correlación para las tres curvas de calibración realizadas tienen un valor de 0,9999, este valor supera el criterio de aceptación propuesto, que establece un coeficiente de correlación mínimo de 0,95; por lo que podemos concluir que se cumple la linealidad de los datos en el rango de 1 a 30 ppm.

Este valor de coeficiente de correlación de 0,9999; también supera el valor referenciado de $r \geq 0,95$ (Asociación Española de Normalización y Certificación, 2008).

Adicionalmente, otro criterio para evaluar la linealidad mediante una prueba estadística es la prueba de Student, que calcula un valor t experimental (t_{exp}) con $n-2$ grados de libertad y lo compara con un valor t tabulado (t_{tab}), generalmente a un nivel de confianza del 95% ($\alpha = 0,05$), dos colas para este caso y un “ n ” que depende de los niveles de calibración.

Reemplazando los valores obtenidos en la ecuación:

$$t_{\text{exp}} = \frac{0.9999\sqrt{5-2}}{\sqrt{1-0.9999}} = 173.188$$

El valor determinado para t_{exp} , que determina la correlación de los datos, supera $t_{\text{tab}} = 3,182$ ($\alpha=0,05$, 3 grados de libertad, 2 colas), lo que asegura una buena correlación entre los datos.

4.5 Límite de detección y cuantificación del método

Para determinar el límite de detección del método, se preparó un estándar de 1 ppm de óxido de etileno, luego se inyectó 7 veces y se calculó la desviación estándar de las 7 mediciones.

$$MDL = s \times t$$

Donde:

- ❖ s es la desviación estándar de las 7 inyecciones.
- ❖ t es el valor t de student con n-1 grados de libertad para nivel de confianza del 99%.

Tabla 12

Datos del análisis de límite de detección del método

PARÁMETRO	RESULTADOS	UNIDADES
EtO - Repetición 1	1,038	
EtO - Repetición 2	1,047	
EtO - Repetición 3	1,002	
EtO - Repetición 4	0,992	ppm
EtO - Repetición 5	1,031	
EtO - Repetición 6	1,030	
EtO - Repetición 7	1,025	
Promedio	1,024	ppm
Desviación estándar (D.S.)	0,020	ppm
t de student al 99% de una cola	3,1427	-

Reemplazando en la ecuación:

$$MDL = s \times t$$

$$MDL = 0,02 \times 3,1427$$

$$MDL = 0,063$$

El límite de cuantificación del método se puede calcular de la siguiente manera:

$$QL = 5 \times MDL$$

$$QL = 5 \times 0,063$$

$$QL = 0,315$$

4.6 Rango de Trabajo

Se evaluó el rango de trabajo en 30 ppm en la matriz suturas quirúrgicas, esta decisión se tomó en base al punto más alto de la curva de calibración.

Tabla 13

Resultados del estudio de precisión

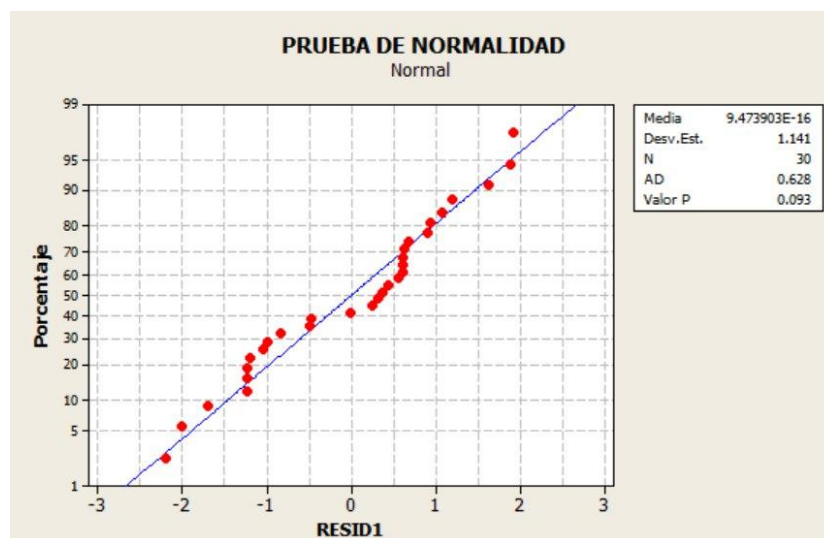
Parámetro Estadístico	Resultado
Promedio Total	29,390 ppm
S_r	1,183 ppm
S_R	1,354 ppm
RSD_r	4,025 ppm
RSD_R	4,607 ppm
r	3,312 ppm
R	3,791 ppm
LIMITE RSD_r (%)	11,271
LIMITE RSD_R (%)	12,900

4.5.1 Prueba de Normalidad

Se realizó la prueba de normalidad (Anderson- Darling) a los resultados obtenidos, el valor p es mayor a 0,05; por lo que podemos afirmar que los datos son normales.

Figura 19

Gráfica de la prueba de normalidad

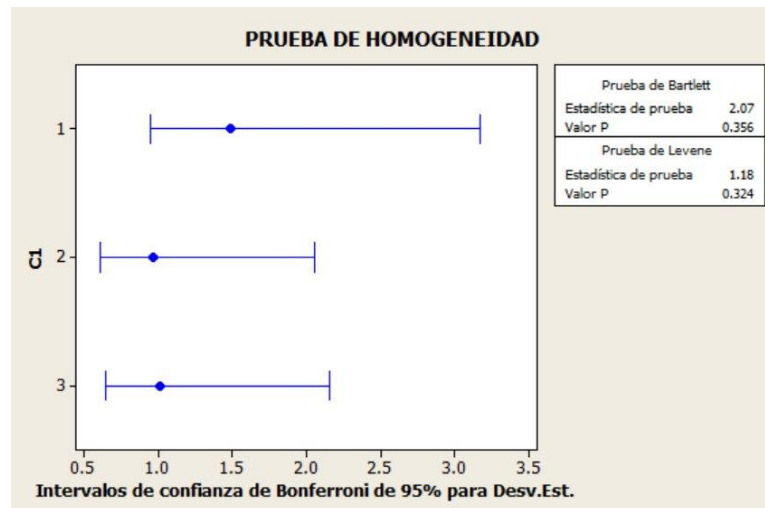


4.5.2 Prueba de Homogeneidad

Para evaluar la homogeneidad se realizó la prueba de Barlett y Levene, los cuales mostraron a los respectivos valores p mayor a 0,05, entonces afirmamos que los resultados obtenidos son homogéneos.

Figura 20

Gráfica de la prueba de homogeneidad



4.5.3 Prueba de valores atípicos, Cochran y Grubbs

Luego de realizar los análisis de Cochran y Grubbs se obtuvo los siguientes valores:

Figura 21

Valores para la prueba numérica de valores atípicos

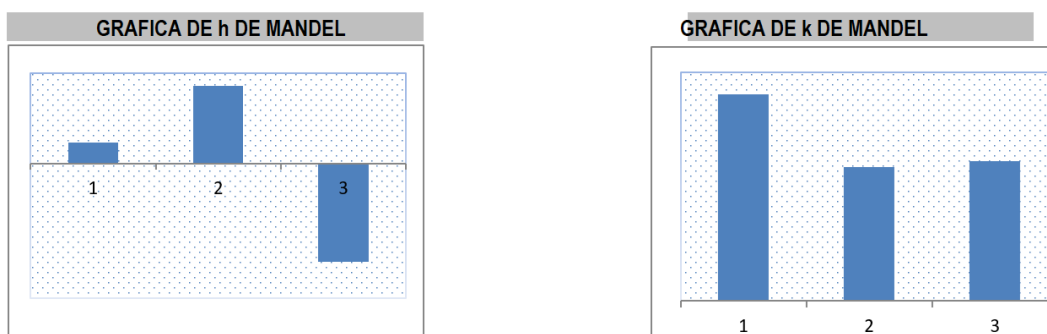
	Maximo	Minimo	
Grubbs	0.861611736	1.09655275	Entre laboratorios
Inconsist. Grubbs	NO	NO	
Cochran	0.531416476		Dentro de los laboratorios
Inconsist. Cochran	NO		

4.5.4 Gráficas de consistencia para datos

Se realizó las siguientes gráficas de h y k de mandel para evaluar la consistencia de los datos:

Figura 22

Gráfica de h y k de Mandel para la evaluación de consistencia de datos



4.5.5 Evaluación de la veracidad de la concentración más alta preparada

Al realizar la evaluación la veracidad de los resultados, se obtiene los siguientes datos, los cuales afirman la conformidad de los resultados, es decir, demuestra la veracidad de los resultados obtenidos de tres diferentes analistas.

Tabla 14

Resultados del estudio de precisión

Analistas	Datos	h	Valor absoluto de h	Evaluación
Analista 1	29,568	0,235	0,235	C
Analista 2	30,042	0,862	0,862	C
Analista 3	28,559	-1.097	1.097	C
Promedio	29,390			
Desviación estándar	0,754			

4.5.6 Evaluación del t de Student para demostrar la exactitud de los resultados

Para demostrar la exactitud de los resultados evaluaremos la t de Student, como se muestra en la siguiente figura:

Figura 23

Evaluación del t de Student para evaluar la exactitud de los resultados

y = media del MR por el método a evaluar	29.38963333
S = desviación estándar de proceso	0.757495098
n = número de analistas	3
μ_o = valor del material de referencia	30.06
t calculado	1.532827248
t tablas	4.30

HIPOTESIS

Ho: si $t_{cal} < t_{tab}$, se demuestra la exactitud de resultados por lo tanto el método es VERAZ

Ha: si $t_{cal} \geq t_{tab}$, los datos no son exactos, por lo tanto el método es no es VERAZ

CONCLUSIÓN

Se acepta Ho, se demuestra la exactitud de resultados por lo tanto el método es VERAZ

4.5.7 Conclusión de la evaluación del rango de trabajo

Como se ha demostrado Veracidad, Precisión y Linealidad (mediante la dilución realizada) para los resultados evaluados, se puede decir que el Rango de Trabajo puede llegar a este nivel. El valor obtenido del rango de trabajo es 29,390 ppm.

Conclusiones

- i. Se validó la metodología analítica empleada para la determinación de óxido de etileno en suturas quirúrgicas mediante la técnica instrumental de cromatografía de gases.
- ii. Los parámetros evaluados fueron:
 - a. Precisión : Los datos obtenidos siguen tendencia de homogeneidad y normalidad.
 - b. Selectividad, no se encontraron picos cromatográficos que interfirieran con el pico del óxido de etileno.
 - c. Exactitud , el porcentaje de recuperación determinado fue de 97,924% cuyo valor se encuentra dentro del intervalo de aceptación 80-110 %.
 - d. Linealidad, se obtuvo un coeficiente de determinación (r^2) de 0,9999.
 - e. Límite de detección, se obtuvo un valor de 0.063 ppm.
 - f. Límite de cuantificación, se obtuvo un valor de 0.315 ppm.
 - g. Rango de Trabajo: la validación es confiable desde 0,315 ppm (límite de cuantificación) hasta 29,390 ppm.
- iii. Los parámetros obtenidos cumplieron los criterios requeridos para la validación según la norma UNE-EN ISO 10993-7.

Recomendaciones

- i. Determinar parámetros indicados en otros métodos de validación, como rango de trabajo, incertidumbre, robustez, etc; con esta información adicional que la norma UNE-EN ISO 10993-7:2009 no solicita se complementaría la validación.
- ii. Si se desea determinar concentraciones más pequeñas (0,1 – 1 ppm) se podría inyectar mayor cantidad de muestra y así aumentar la sensibilidad del método.
- iii. Conseguir una columna de mayor longitud (60 m) para que haya una mayor separación entre los picos.

Referencias bibliográficas

- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (2020, October). *Óxido de etileno- ToxFAQs*. 1–8. https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts137.pdf
- Aragón Peña, A., & González García, I. (2019). *Óxido de Etileno*.
- Bessaire, T., Stroheker, T., Eriksen, B., Mujahid, C., Hammel, Y.-A., Varela, J., Delatour, T., Panchaud, A., Mottier, P., & Stadler, R. H. (2021). Analysis of ethylene oxide in ice creams manufactured with contaminated carob bean gum (E410). *Food Additives & Contaminants: Part A*, 38(12), 2116–2127.
<https://doi.org/10.1080/19440049.2021.1970242>
- Cañaveral, K. J. O. (2023). *Desarrollo y validación de un método analítico para la determinación de Óxido de Etileno (EO) residual y Etilenclorhidrina (ECH) en dispositivos médicos (Cánulas y catéteres) mediante Cromatografía de Gases – HeadSpace (GC - HS)*. Universidad El Bosque. Facultad de Ciencias.
- Chiang, Y. C., Fang, M. C., Yang, C. K., Wang, S. W., & Tseng, S. H. (2024). Development of the headspace gas chromatography–tandem mass spectrometry method for ethylene oxide and ethylene chlorohydrin residue in medical devices. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 38(19).
<https://doi.org/10.1002/rcm.9869>
- Collado Villatoro, A. L. (2012). *Uso de Óxido de Etileno en los Hospitales Nacionales de la Ciudad de Guatemala*. UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA.
- Fernández, C. M. (2011). Quimiometría. In *Journal of Chemical Information and Modeling*.
- Gennart, J. P., Dutrieux, M., & Lauwerys, R. (1983). La toxicité de l'oxyde d'éthylene. Revue de la littérature. *Archives Des Maladies Professionnelles*, 44(4), 1983.
- Gimeno, P., Auguste, M. L., Handlos, V., Nielsen, A. M., Schmidt, S., Lassu, N., Vogel, M., Fischer, A., Brenier, C., & Duperray, F. (2018). Identification and quantification of ethylene oxide in sterilized medical devices using multiple headspace GC/MS measurement. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 158, 119–127.
<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.05.035>
- González Paredes, R. M. (2017). *Desarrollo de nuevas estrategias analíticas para la determinación de compuestos de interés biológico y medio ambiental*.
<http://hdl.handle.net/10366/136883>

- International Organization for Standardization (ISO). (2017). NTP ISO/IEC-17025 Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración. *Iso, Lima* 27, 60.
https://transparencia.produce.gob.pe/images/stories/Repositorio/transparencia/proyectos-de-inversion/niveles-de-servicio/2021/ITP/NC/NTP_ISO_IEC_17025_2017.pdf
- Jinot, J., Fritz, J. M., Vulimiri, S. V., & Keshava, N. (2018). Carcinogenicity of ethylene oxide: key findings and scientific issues. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 28(5), 386–396. <https://doi.org/10.1080/15376516.2017.1414343>
- Kolb, B., & Ettre, L. S. (2006). *Static Headspace–Gas Chromatography: Theory and Practice*. John Wiley & Sons, Inc.
- LABICER. (2024). *Laboratorio de investigación y certificaciones*. <https://labicer.uni.edu.pe/>
- Magnusson, B., & Örnemark, U. (2014). *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics* (Second edi). Eurachem.
- Manterola, C., Grande, L., Otzen, T., García, N., Salazar, P., & Quiroz, G. (2018). Confiabilidad, precisión o reproducibilidad de las mediciones. Métodos de valoración, utilidad y aplicaciones en la práctica clínica. *Revista Chilena de Infectología*, 35(6), 680–688. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182018000600680>
- Méndez, F. A. (2021). *Validación del método Mehlich-3 con elementos extraíbles calcio (Ca), Magnesio (Mg), potasio (K) y fósforo (P) en suelo, determinado por ICPOES, Bajo la guía Eurachem “la adecuación al uso de los métodos analíticos” en un sistema de gestión de calidad ISO*. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- MOY, R. L., WALDMAN, B., & HEIN, D. W. (1992). A Review of Sutures and Suturing Techniques. *The Journal of Dermatologic Surgery and Oncology*, 18(9), 785–795. <https://doi.org/10.1111/j.1524-4725.1992.tb03036.x>
- National Association of Testing Authorities. (2012). Guidelines for the validation and verification of quantitative and qualitative test methods. *National Association of Testing Authorities, December 2006*, 1–32.
[http://www.demarcheiso17025.com/document/Guidelines for the validation and verification of quantitative and qualitative test methods.pdf](http://www.demarcheiso17025.com/document/Guidelines%20for%20the%20validation%20and%20verification%20of%20quantitative%20and%20qualitative%20test%20methods.pdf)
- Nerpagar, A., Langade, N., Patil, R., Chiplunkar, S., Kelkar, J., & Banerjee, K. (2023). Dynamic headspace GC-MS/MS analysis of ethylene oxide and 2-chloroethanol in dry food commodities: a novel approach. *Journal of Environmental Science and*

- Health, Part B*, 58(11), 659–670. <https://doi.org/10.1080/03601234.2023.2264740>
- Patil, R., Langade, N., Nerpagar, A., Anastassiades, M., & Banerjee, K. (2023). Development and Validation of a Residue Analysis Method for Ethylene Oxide and 2-Chloroethanol in Foods by Gas Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *ACS Agricultural Science & Technology*, 3(3), 287–295. <https://doi.org/10.1021/acsagscitech.2c00319>
- PATTERSON, W. B., CRAVEN, D. E., SCHWARTZ, D. A., NARDELL, E. A., KASMER, J., & NOBLE, J. (1985). Occupational Hazards to Hospital Personnel. *Annals of Internal Medicine*, 102(5), 658–680. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-102-5-658>
- Pérez Delfa, S., Ruiz Puig, O., González Monge, V., Blasco García, N., Fernández Olivera, X., & Candela Poch, P. (2020). *PLANTA DE PRODUCCIÓN DE ÓXIDO DE ETILENO*. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Reina Velasco, C. A. (2019). *Desarrollo e implementación de un método para la determinación de nitritos por cromatografía iónica en agua natural y potable en la EPMAPS*. UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR.
- Revollo Patino, K. M., & Tito Ramírez, E. Y. (2011). Tipos de Suturas. *Rev. Act. Clin. Med.*
- Rodrigues, J. F. B., da Silva, J. A., Medeiros, R. P., Queiroz, J. V. S. de A., Pinto, M. R. de O., Amoah, S. K. S., & Fook, M. V. L. (2023). A GC-FID validated method for detection and quantification of ethylene oxide in urine bags. *Matéria (Rio de Janeiro)*, 28(1), e13234. <https://doi.org/10.1590/S1517-707620230001.1334>
- Rosell Farrás, G., & Guardino Solá, X. (1987). *EVALUACIÓN Y CONTROL DE CONTAMINANTES QUIMICOS EN INSTALACIONES SANITARIAS*.
- Rosell Farrás, G., & Guardino Solá, X. (2024). NTP 157: Exposición laboral a óxido de etileno. *CENTRO NACIONAL DE CONDICIONES DE TRABAJO - BARCELONA. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene*.
- Rutala, W. A., Donskey, C. J., & Weber, D. J. (2023). Disinfection and sterilization: New technologies. *American Journal of Infection Control*, 51(11), A13–A21. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2023.01.004>
- Skoog, D., Holler, F., & Crouch, S. (2008). Principios de análisis fundamental. In *Principios de análisis fundamental*.
- Valverde Velásquez, A., & Obando Urey, J. P. (2021). *Desarrollo de un método analítico*

para la determinación de fósforo en medio acuoso, utilizando una aplicación móvil Android (app Photometrix). Como alternativa a métodos instrumentales de análisis convencionales. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León.

Vessman, J., Stefan, R. I., van Staden, J. F., Danzer, K., Lindner, W., Burns, D. T., Fajgelj, A., & Müller, H. (2001). Selectivity in analytical chemistry (IUPAC Recommendations 2001). *Pure and Applied Chemistry*, 73(8), 1381–1386.
<https://doi.org/10.1351/pac200173081381>

Wenio, I., Bartosiewicz, I., Derewiaka, D., Dewiszek, K., & Karniłowicz, K. (2023). A Fast Method for Determination of Ethylene Oxide Using Gas Chromatography Coupled with Mass Spectrometry GC-MS/MS. *Applied Sciences* 2023, Vol. 13, Page 7480, 13(13), 7480. <https://doi.org/10.3390/APP13137480>

Anexos

Anexo 1: % Recuperación según niveles de concentración analizados.....	1
Anexo 2: Cromatogramas para la evaluación de la Selectividad.....	2

Anexo 1

% Recuperación según niveles de concentración analizados

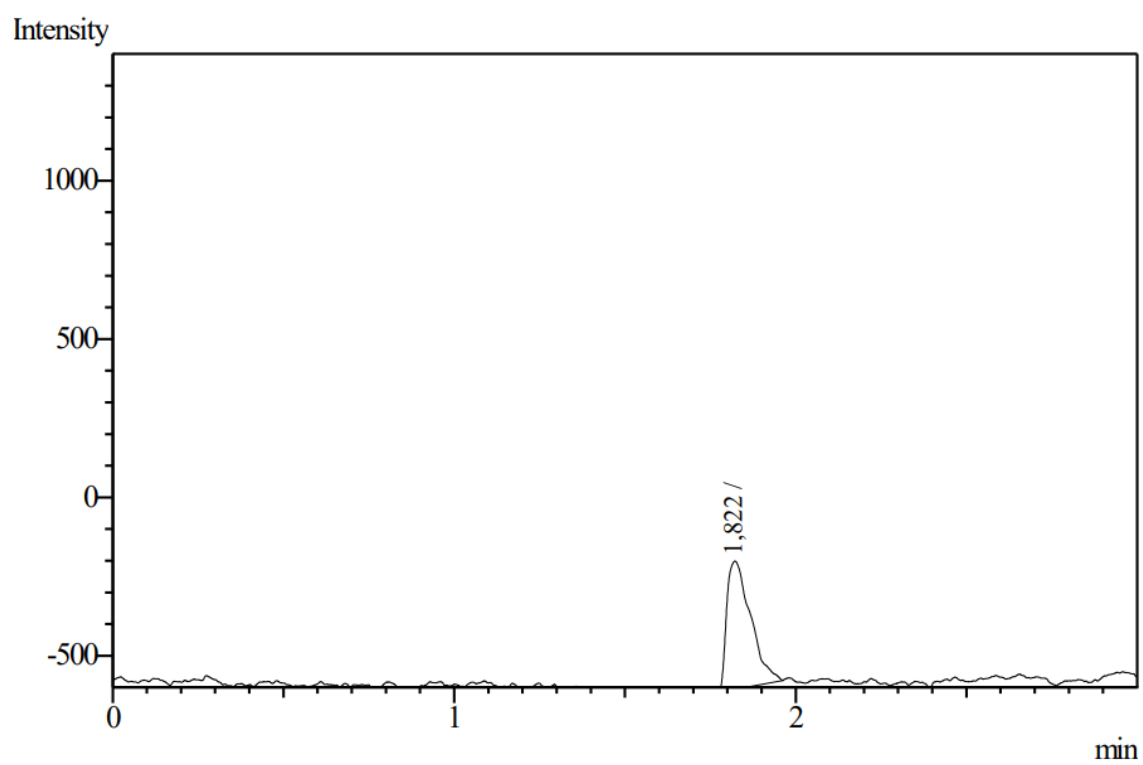
Figura 24

Criterios metodológicos para niveles de interés

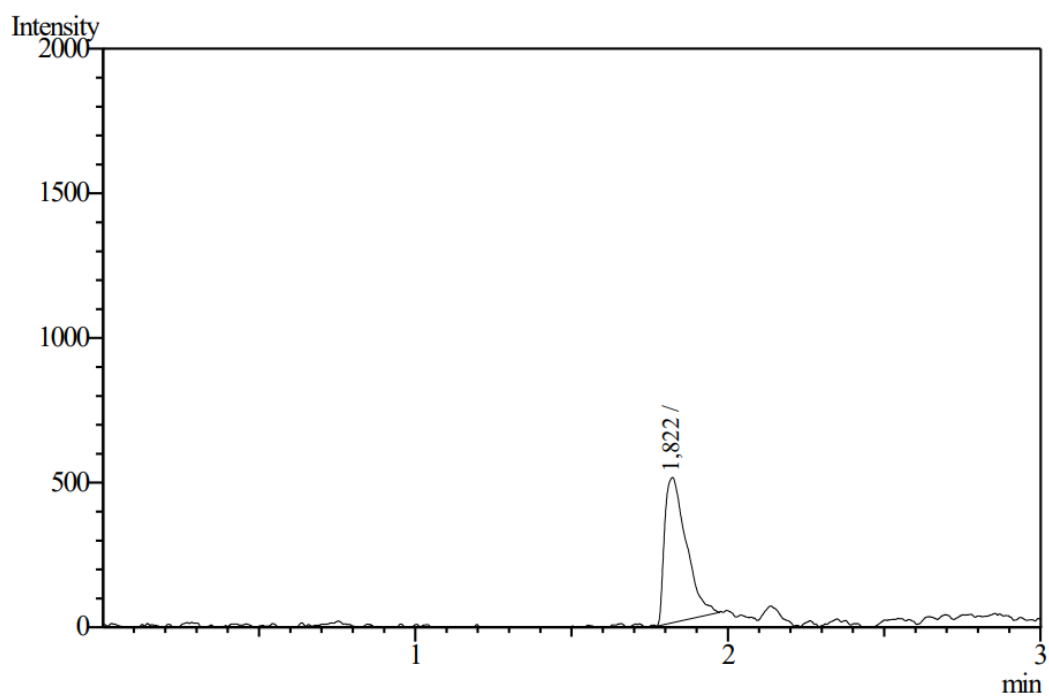
concentration unit	0.001 mg/kg	0.01 mg/kg	0.1 mg/kg	1 mg/kg	10 mg/kg	100 mg/kg	1 g/kg	10 g/kg
Concentration ratio	10^{-9}	10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}
Recovery (%) *	40 - 120	60 - 115	80 - 110	80-110	80 - 110	90 - 107	95 - 105	97 - 103

Anexo 2

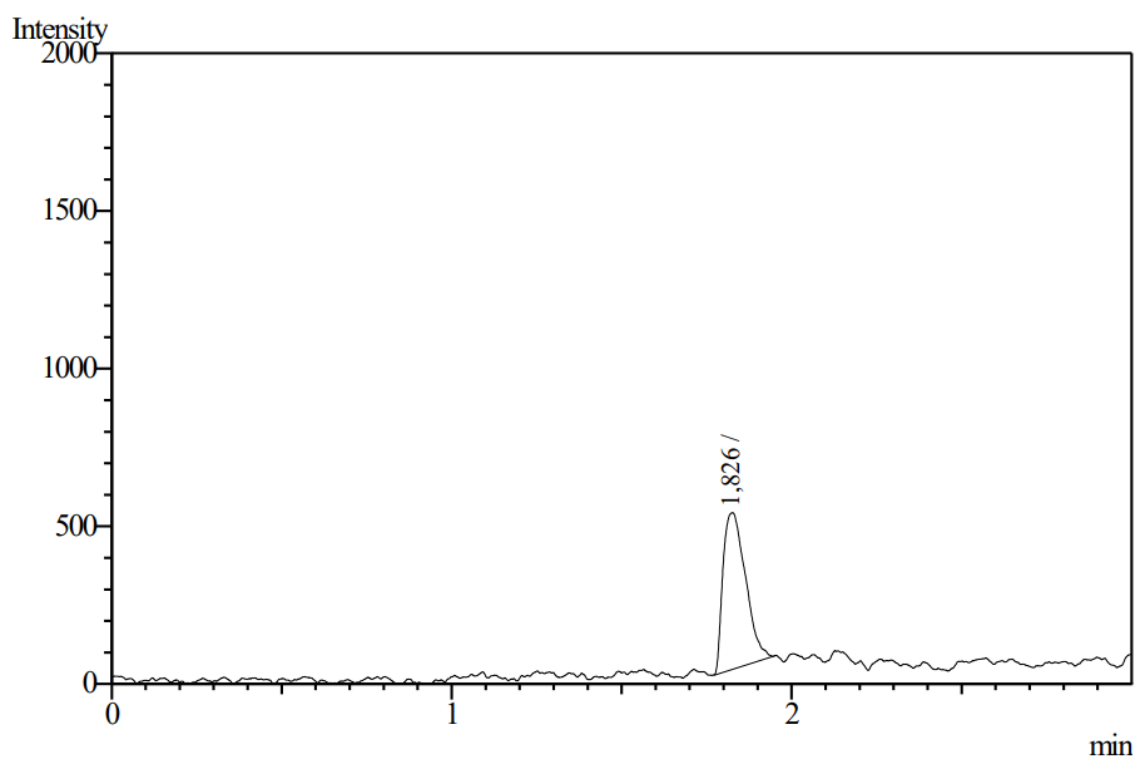
Cromatogramas para la evaluación de la Selectividad



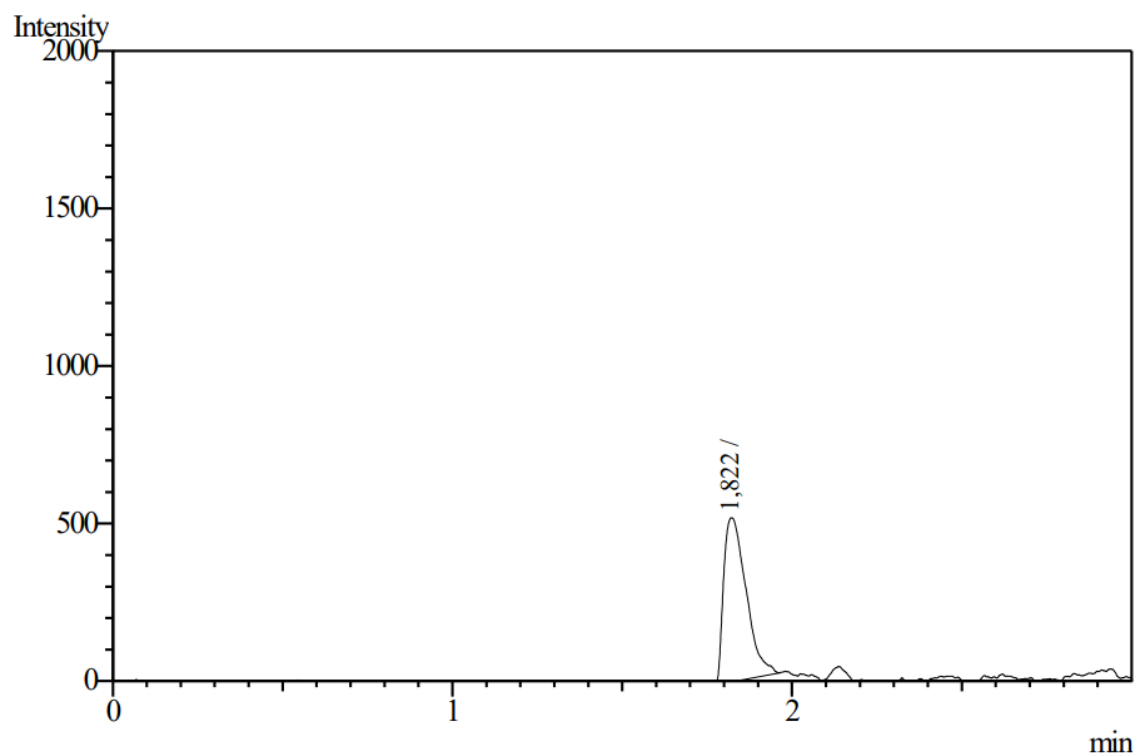
Cromatograma del blanco de muestra



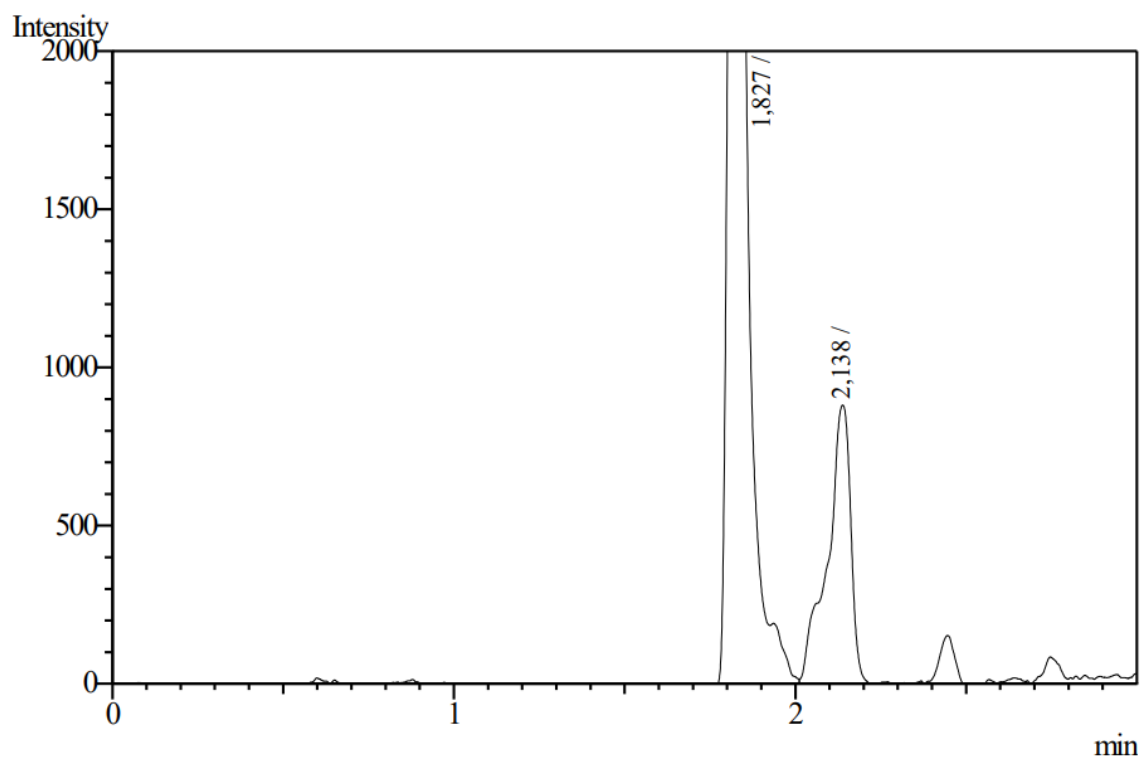
Cromatograma de seda trenzada producto terminado sin esterilizar



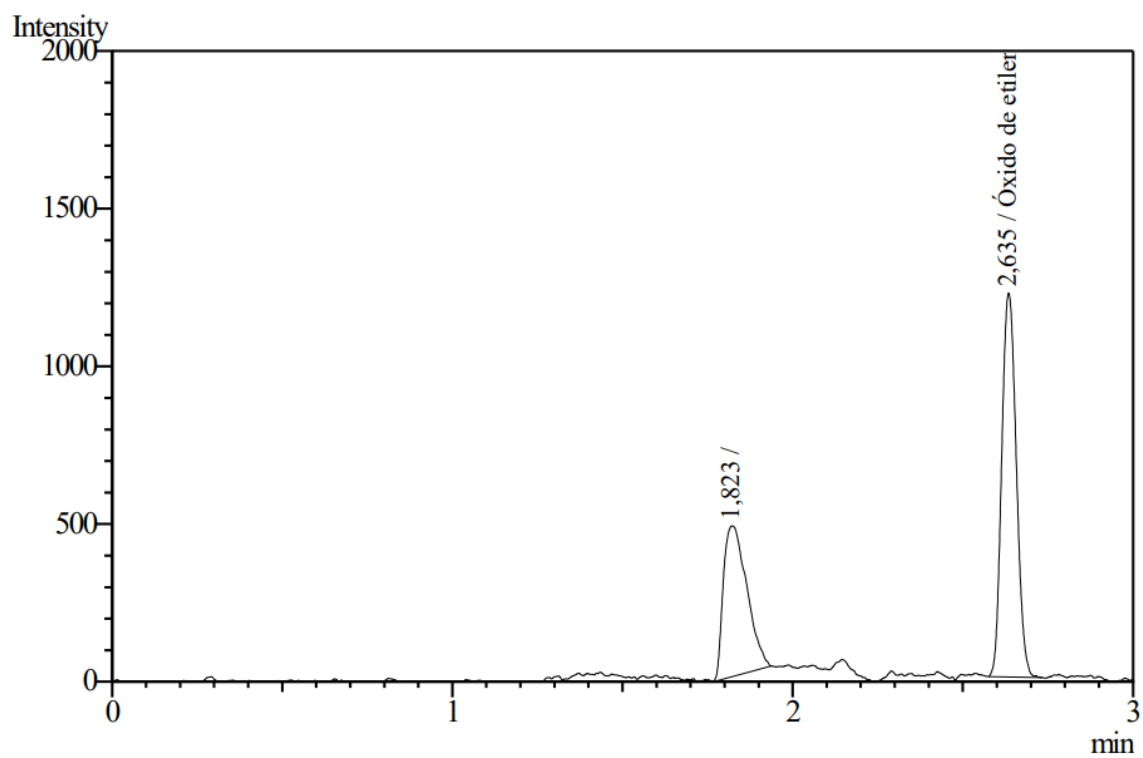
Cromatograma de nylon azul monofilamento producto terminado sin esterilizar



Cromatograma de polietileno de ultra alto peso molecular producto terminado sin esterilizar



Cromatograma del alcohol isopropílico Q.P.



Cromatograma de la solución estándar de óxido de etileno de 5 ppm