



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTILÁN

33
2ej.

“ESTABILIDAD DEL METRONIDAZOL (MATERIA PRIMA) EN SOLUCIÓN ACUOSA A DIFERENTES pH'S Y TEMPERATURAS”

T	E	S	I	S
QUE	PARA	OBTENER	EL	TÍTULO DE:
QUÍMICA		FARMACÉUTICA		BIÓLOGA
P	R	E	S	E
			N	T
				A
				N:
SARA		ISIDRO		SANTIAGO
CLAUDIA	ELENA	NIETO		MENDIETA

ASESORES DE TESIS:

M en C. EFRÉN HERNÁNDEZ BALTAZAR

D.E.S.S. RODOLFO CRUZ RODRIGUEZ

Q.F.B. JOSÉ ANTONIO GARDUÑO ROSAS

CUAUTILÁN IZCALLI, EDO. MEX.

1998

TESIS CON
FALLA LE CRICEN

265566



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA F.E.S.-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

U N A M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



AT'N: Ing. Jaime de Anda Montañez
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S.-C

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Estabilidad del Metronidazol (materia prima) en solución acuosa a diferentes pH's y temperaturas"

que presenta la pasante: Claudia Elena Nieto Mendieta,
con número de cuenta: 9256311-3 para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlan Izcalli, Edo. de México, a 23 de Marzo de 1998

PRESIDENTE M. en C. Vicente Alonso Pérez

VOCAL D.A.R. Juan José Díaz Esquivel

SECRETARIO M. en C. Efrén Hernández Baltazar

PRIMER SUPLENTE Q.F.B. Guadalupe Rebolgar Barrera

SEGUNDO SUPLENTE Dra. Adriana Ganem Rondero



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA F.E.S.-CUAUTITLAN
P R E S E N T E

19 9 8
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



Departamento de

Exámenes Profesionales
AT'N: Ing. Jaime de Anda Montañez
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S.-C

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Estabilidad del Metronidazol (materia prima) en solución acuosa a diferentes pH's y temperaturas"

que presenta la pasante: Sara Isidro Santiago
con número de cuenta: 9256292-7 para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Biológica

Considerando que dicho tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E.

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de México, a 23 de Marzo de 1998

PRESIDENTE	M. en C. Vicente Alonso Pérez	
VOCAL	D.A.R. Juan José Díaz Esquivel	
SECRETARIO	M. en C. Efrén Hernández Baltazar	
REMIPLANTE SUPLENTE	Q.F.B. Guadalupe Rebollar Barrera	
SEGUNDO SUPLENTE	Dra. Adriana Ganem Rondero	

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO "EL FARMACÉUTICO"

Farmacéutico labora
en un delicado arte,
con médicos colabora,
su noble misión comparte.

Para firme consiga
progresos la Medicina
en la obra preventiva
siempre destaca por ello,
aplicación curativa
tiene en todo su sello.

Los análisis práctica
con un método perfecto
y al médico ubica
en diagnóstico correcto.

Invaluable sus acciones
de su saber y aptitud
preparando suscripciones
dependen vida y salud.

Con esmero, con destreza,
usando de su talento
el cuida de la pureza
de nuestro medicamento.

De quien su vida entrega
a la Farmacología
sin desmayar en la brega
exaltamos su valía.

Dr. Luis Fermín Cuellar.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la máxima casa de estudios “Universidad Nacional Autónoma de México”, por permitirnos ser universitarias.

<<POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU>>.

Gracias a nuestra Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán que en un tiempo nos acogió como nuestra segunda casa y en donde dejamos todo nuestro sentir.

A la Sección de Tecnología Farmacéutica de FESC, y a quienes son parte fundamental de ella:

Dra. Raquel López Arellano

M en C. Efrén Hernández Baltazar

DAR. Juan José Díaz Esquivel

QFB. José Antonio Garduño Rosas

QFB. Guadalupe Rebollar Barrera

QBP. Martha Elena García Corrales

DESS. Rodolfo Cruz Rodríguez

Gracias por transmitirnos sus conocimientos y por albergarnos en su área de trabajo.

Gracias a los laboratoristas: Sr. Juan, Miguel, Erick y Ale. Por su apoyo y paciencia. Gracias a Tere G. por su apoyo.

A nuestros sinodales por dedicar su valioso tiempo en la revisión de esta tesis y por aportar sus oportunos consejos.

A nuestros asesores: Efrén, Rodolfo y José gracias por su tiempo, enseñanza, paciencia y esos grandes momentos que pasamos juntos, incluyendo una que otra cascarita.

De manera especial queremos agradecer a la Familia Gómez Frias, en especial a Edgar por las facilidades y apoyo aportados a la realización de este trabajo, sinceramente muchas gracias.

Mil gracias a Rogelio Montoya por su colaboración a esta tesis, tiempo y dedicación que sin tener alguna obligación, nos apoyo incondicionalmente.

Gracias a Cristina Retana, por estar siempre con nosotras, apoyarnos y soportar nuestras ocurrencias.

Mario, es grato poder agradecerte tu apoyo, compañía y consejos que siempre recibimos de tu parte, esta tesis tu la conoces y comprendes que también es en parte tuya, gracias y sigue sonriendo igual o mejor.

No crean que nos olvidamos, si a ustedes les debemos mucho de nuestra alegría en esta etapa de estudiantes a las panteras (Rubio, Magda, Lili, Lupita, Pocahontas, Yeni, Lilia, Pato, y por que no hasta Hernan) por permitirnos ser parte de un gran equipo, compartir un excelente deporte y por alegrarnos con un tochito cuando mas lo necesitábamos. y a todos los IQ 22 y 23.

Por estar en los momentos de arduo trabajo, tensión y cansancio, gracias por su apoyo, amistad y confianza a todos aquellos que junto y al igual que nosotras tenían el mismo fin; Angy, Marina, Margot, Tita, Eli Mariela y Armando.

Gracias al Ing. Draucin encargado del taller de soplado de vidrio, por su colaboración en este trabajo

DEDICATORIAS

*A Dios que me da la oportunidad de ser humana, profesionalista y su humilde servidora. **GRACIAS** señor por esa virtud que nos diste y que se llama Fe. **Te Adoro y te Amo***

*Siempre estuviste pendiente de cada peldaño y tropiezos de mi vida, yo no se de donde sacaste tantas fuerzas, pero creo que solo tú mamá lo entiendes por que tienes ese don de ser MADRE, Dios te de mas vida **"te dedico especialmente a ti Madre con todo cariño y respeto este tu fruto, tu lo sembraste y esto es algo de lo mucho que tu mereces, ETERNAMENTE agradecida tu niña que te ama"**.*

*A ti Padre que luchaste para que hoy llegue hasta este escalón **GRACIAS**, perdón por todo lo que esto provoco, **Te quiere tu hija.***

Dedico a todos mis hermanos (as) este peldaño, porque siempre e tenido su apoyo y cariño, Gracias; Mara, Lalo, Mandy, Pampis, Nene, Vero, Edgar (Q.E.P.D.) y Benja. Y también doy las gracias a mis cuñadas y cuñado, que de alguna manera contribuyeron a esto y que hoy somos una familia, a ustedes Pily, Guille, Chela, Paola y Hugo. Los quiere mucho.

A esos inocentes pero traviesos niños (as) que siempre alegraron mi vida y espero que esto los motive hoy y siempre, a mis sobrinos (as) que quiero mucho; Orbin, Karen (Q.E.P.D.) Oscar, Bruno, Monse, July, Carlitos, Omar, Osvaldo, Dani, Viry y Keny.

*Este esfuerzo no solo fue mio, dedico este trabajo a mi gran apoyo, que siempre inyecto en mi ganas, fuerza y sus sabios consejos siempre me sacaron adelante Gracias esto es tuyo
Hermano, Luis Armando.*

Edgar, te dedico este trabajo, como prueba del gran amor que siento por ti, no hay palabras para agradecerte todo lo que haz hecho por mi, pero espero que nuestro amor siga vivo como hasta el día de hoy. TNQTAI

Dedico esta tesis a mis amigos que verdaderamente confiaron en mí y que me quieren a pesar de todo, Gracias Faby, Rogelio, Cris, Fer, Puber, Lupita, Ruben, Chava, Charly, Dulce y Mauricio. .

A las Familias Nieto Mendieta, Mendieta Hernández, Nieto Reyes, Gómez Frias, Vargas Curiel, Gracias, por su apoyo y cariño.

A mi patrón que siempre me apoyo y que para mí siempre fue un estímulo a seguir, gracias Efrén

A la Generación QFB 19ª por que soy parte de ella en especial a Edgar G., Rogelio, Cris, Lupita H., Fer Z., Puber, Charly, Ruben, Chava, Carmen M., Rocío V., Sara, Margot.

DEDICATORIAS

A MIS PADRES

Gracias por todos esos momentos en los cuales he recibido su apoyo, por toda la confianza que me han dado y por el esfuerzo que realizaron en darme una educación. Los quiero mucho.

A MIS HERMANOS

José Gpe., Zola, Norberto y anexos (Angelica y Mauro), que son mis compañeros inseparables y queridos de los cuales tengo enseñanzas útiles. Gracias por su comprensión y ayuda en momentos difíciles.

A DULCE I. M.

Que siempre tienes una frase oportuna, una sonrisa de aliento y un pensamiento edificante para orientarme. Sinceramente Gracias.

A MI ABUELITA LUISA

Que ya no está presente pero de quien recibí Apoyo, Amor y Ternura, y que junto con Karenin significan gran aliciente para continuar con mis metas.
Karen: Gracias por toda esa ternura, alegría y optimismo que me transmites.

SARAI

De todo corazón Gracias
Hemos alcanzado otro peldaño.

A MIS AMIGOS

Compañeros en la vida cotidiana que supieron ofrecerme una sonrisa y una mano amiga en el momento en que lo necesite y con los cuales he disfrutado gratos momentos.

Cuates de la generación 19. (Erendira, Gaby Capilla, Claudia N., Edgar. Cris Ale Tovar, Gilberto, Jacobo, Edith, Margot, Carlos Quezada), Angelica Mendoza, Ana Ma. Ruiz, Mary Robles (RLM), Tita, Angy, Mireya, Rocio Najera, R. Morales, Edgar, Rene, AQS,

A CLAUS

Eres una excelente compañera, formamos un buen equipo de trabajo, fue muy grato trabajar contigo. Gracias por contribuir con mi formación académica y personal.

Reconocimiento

A la Familia Isidro y a la Familia Santiago con quienes siempre he contado. *GRACIAS.*

SARAI

**De todo corazón Gracias
Hemos alcanzado otro peldaño.**

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
Indice de figuras.....	I
Indice de tablas.....	III
Símbolos y abreviaturas	VI
Resumen.....	VIII
Objetivos.....	IX
Introducción.....	1
Capítulo I. Marco teórico	
1. Generalidades del metronidazol.....	3
1.1 Nombre y estructura.....	3
1.2 Propiedades fisicoquímicas.....	4
1.3 Estabilidad.....	4
1.4. Actividad farmacológica.....	5
1.5. Métodos de análisis.....	5
2. Aspectos de estabilidad	
2.1 Estabilidad.....	8
2.2 Período de expiración.....	9
2.3 Fecha de expiración.....	9
2.4 Factores que influyen en la estabilidad de un producto farmacéutico..	9
2.5 Estabilidad de las soluciones.....	10
2.6 Tipos de estabilidad.....	11
2.7 Estudios de estabilidad.....	12
2.7.1. Estudios de estabilidad acelerada.....	13
2.7.2. Los estudios de estabilidad a largo plazo.....	14
2.7.3. Estudios de estabilidad en anaquel.....	15
3. Conceptos de cinética	
3.1. Cinética.....	16

ÍNDICE DE FIGURAS

Contenido	Página
Fig. 1. Espectro de absorción del Metronidazol en Uv-Vis.....	6
Fig. 2. Perfil de pH-Velocidad para la deshidratación de estreptomina a 70°C.....	32
Fig. 3. Espectros de absorción del metronidazol en medio ácido y básico.....	58
Fig. 4. Espectros de absorción del metronidazol en pH 1 a diferentes fuerzas iónicas.....	58
Fig. 5. Espectros de absorción del metronidazol en pH 4 a diferentes fuerzas iónicas.....	59
Fig. 6. Espectros de absorción del metronidazol en pH 11 a diferentes fuerzas iónicas.....	59
Fig. 7. Espectros de absorción del metronidazol y nitrito en pH 2 (μ 0.37M) a diferentes tiempos de ebullición.....	60
Fig. 8. Espectros de absorción de metronidazol y nitrito en pH 6 (μ 0.37M) a diferentes tiempos de ebullición.....	60
Fig. 9. Espectros de absorción del metronidazol y nitrito en pH 11 (μ 0.37M) a diferentes tiempos de ebullición.....	61
Fig. 10. Selección de las 8 longitudes de onda.....	61
Fig. 11. Linealidad del sistema.....	64
Fig. 12. Gráfico de residuales.....	65
Fig. 13. Linealidad del método.....	72
Fig. 14. Residuales de la linealidad del método.....	72
Fig. 15. Perfil de ln concentración de metronidazol en función del tiempo a pH 1.....	79
Fig. 16. Perfil de ln concentración de metronidazol en función del tiempo a pH 2.....	79

Contenido	Página
Fig. 17. Perfil de ln concentración de metronidazol en función del tiempo a pH 4.....	80
Fig. 18. Perfil de ln concentración de metronidazol en función del tiempo a pH 6.....	80
Fig. 19. Perfil de ln concentración de metronidazol en función del tiempo a pH 9.....	81
Fig. 20. Perfil de ln concentración de metronidazol en función del tiempo a pH 11.....	81
Fig. 21. Perfil de ln concentración de metronidazol en función del tiempo a 25 °C.....	82
Fig. 22. Perfil de ln concentración de metronidazol en función del tiempo a 55 °C.....	82
Fig. 23. Perfil de ln concentración de metronidazol en función del tiempo a 75 °C.....	83
Fig. 24. Perfil de ln concentración de metronidazol en función del tiempo a 95 °C.....	83
Fig. 25. Gráfico de Arrhenius.....	86
Fig. 26. Perfil de velocidad en función de pH.....	87
Fig. 27. Perfil de ln concentración de metronidazol en función del tiempo a pH 11, 95 °C.....	89
Fig. 28. Perfil de velocidad en función de la fuerza iónica.....	89

ÍNDICE DE TABLAS

Contenido	Página
Tabla 1. Tipos de estabilidad.....	12
Tabla 2. A.- Medicamentos con fármacos nuevos.....	13
Tabla 3. B.- Medicamentos con fármacos conocidos.....	14
Tabla 4. Análisis de lotes.....	15
Tabla 5. Ley de velocidad.....	20
Tabla 6. Regiones del espectrofotómetro.....	36
Tabla 7. Preparación de soluciones para ensayos preliminares.....	53
Tabla 8. Preparación de soluciones para una mezcla de metronidazol-nitrito.....	54
Tabla 9. Criterios de aceptación.....	55
Tabla 10. Condiciones de estabilidad.....	57
Tabla 11. Datos de concentraciones estimadas y reales (calibración del sistema).....	62
Tabla 12. Normalización de los datos de concentración (linealidad del sistema).....	62
Tabla 13. Regresión lineal.....	63
Tabla 14. Anova.....	63
Tabla 15. Estadísticos del intercepto.....	64
Tabla 16. Precisión del sistema.....	65
Tabla 17. Exactitud del sistema.....	66
Tabla 18. Datos de concentraciones estimadas y reales para la calibración del método.....	67
Tabla 19. Normalización de los datos de concentración para la linealidad del método.....	67
Tabla 20. Regresión lineal.....	68
Tabla 21. Anova.....	68

Contenido	Página
Tabla 22. Estadísticos del intercepto y pendiente.....	69
Tabla 23. Precisión del método.....	70
Tabla 24. Exactitud del método.....	71
Tabla 25-A. Datos promedio de la cinética de metronidazol en pH 1 a diferentes temperaturas.....	73
Tabla 25-B. Datos de regresión en pH 1 a diferentes temperaturas.....	73
Tabla 26-A. Datos promedio de la cinética de metronidazol en pH 2 a diferentes temperaturas.....	74
Tabla 26-B. Datos de regresión en pH 2 a diferentes temperaturas.....	74
Tabla 27-A. Datos promedio de la cinética de metronidazol En Ph 4 a diferentes temperaturas.....	75
Tabla 27-B. Datos de regresión en Ph 4 a diferentes temperaturas.....	75
Tabla 28-A. Datos promedio de la cinética de metronidazol en pH 6 a diferentes temperaturas.....	76
Tabla 28-B. Datos de regresión en pH 6 a diferentes temperaturas.....	76
Tabla 29-A. Datos promedio de la cinética de metronidazol en pH 9 a diferentes temperaturas.....	77
Tabla 29-B. Datos de regresión en pH 9 a diferentes temperaturas.....	77
Tabla 30-A. Datos promedio de la cinética de metronidazol en pH 11 a diferentes temperaturas.....	78
Tabla 30-B. Datos de regresión en pH 11 a diferentes temperaturas.....	78
Tabla 31. Constantes de velocidad observadas " K_{OBS} " (H^{-1}).....	84
Tabla 32. Valores promedio de "pH" de las soluciones en el estudio.....	84
Tabla 33. Valores promedio de resistencia ($k\Omega$) de las soluciones.....	84
Tabla 34-A. Datos para aplicar la ecuación de Arrhenius.....	85
Tabla 34-B. Datos de regresión aplicando la ecuación de Arrhenius.....	85

Contenido	Página
Tabla 35. Valores de energía de activación a los pH's de trabajo.....	86
Tabla 36. Valores cinéticos estimados a 25 °C.....	87
Tabla 37-A. Datos promedio cinética de metronidazol en pH 11, 95 °C a diferentes fuerzas iónicas.....	88
Tabla 37-B. Datos de regresión en pH 11, 95 °C a diferentes fuerzas iónicas.....	88

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

A	Absorbancia
b	Intercepto
B, L	Espesor atravesado por la energía luminosa
BPM	Buenas prácticas de manufactura
C, CONC.	Concentración
C. EST. / C. REAL	Cociente de la concentración estimada entre la Concentración real de la sustancia.
C. V.	Coefficiente de Variación
cm	Centímetros
CM	Cuadrados medios
COEF. CORR. (r^2)	Coefficiente de correlación
COEF. DETERM. (r)	Coefficiente de determinación
E, e	Exponente
EST.	Estimado
Fig.	Figura
g/mol	Gramos por mol
GL	Grados de libertad
h	Horas
Ha.	Hipótesis alterna
Ho.	Hipótesis nula
Inf.	Inferior
k	Constante de degradación
KΩ	Kilo ohms
Lim.	Limite
ln k	Logaritmo natural de la constante de degradación
M	Molar
m	Pendiente
mcg/ml	Microgramos por mililitro

MCP	Mínimos Cuadrados Parciales
min.	Minutos
ml	Mililitros
N	Normal
nm	Nanometros
NOM	Norma Oficial Mexicana
Reg. Lin.	Regresión lineal
RV	Razón de variancia
s	Segundos
SC	Suma de cuadrados
Sig.	Significancia
Sup.	Superior
T	Transmitancia
t	Tiempo
t₅₀, t_{1/2}	Tiempo de vida media
t₉₀	Tiempo donde la concentración de fármaco alcanza el 90 % de la concentración inicial.
USP	Farmacopea de los Estados Unidos
UV-VIS	Ultravioleta - Visible
VS, vs	Contra; en función de.
%	Porcentaje
μ	Fuerza iónica
° C	Grados centígrados
1/T	Inverso de la temperatura

RESUMEN

El estudio de estabilidad es de gran importancia para asegurar la eficacia clínica de un medicamento. Es importante su evaluación ya que la cantidad de fármaco que realmente va a tener acción en el organismo se vera mermada por su degradación o por su transformación a formas menos activas.

En nuestro país el Metronidazol es un fármaco ampliamente utilizado por sus propiedades como antiparasitario y su efectividad para bacterias gram (-). En este estudio se eligió al metronidazol debido a que es un fármaco del que prácticamente no existe información de estudios de estabilidad en solución acuosa.

Se realizó un estudio de estabilidad del metronidazol como materia prima, para tal efecto se seleccionaron diferentes condiciones que favorecen la degradación de este. El método analítico utilizado fue por espectrofotometría UV-VIS, por ser un método práctico, confiable, rápido, económico y de amplia utilidad en el área farmacéutica.

El objetivo principal de este estudio fue determinar la cinética de degradación del metronidazol en solución acuosa. Para tal efecto se llevaron a cabo una serie de estudios preliminares, con la finalidad de estructurar la parte experimental del proyecto. Los sistemas utilizados comprenden soluciones de acetatos, boratos, fosfatos y ácido clorhídrico.

Previa y cuidadosamente fueron seleccionadas diferentes temperaturas, concentración de soluciones amortiguadoras y tiempos de muestreo, considerando y tomando en cuenta los trabajos efectuados anteriormente a nivel laboratorio.

El estudio consistió en degradar al metronidazol sometiéndolo a diferentes pH's y temperaturas con concentración 2M, con una fuerza iónica constante de 0.37M, de tal forma que terminando el tiempo de muestreo, se cuantificó la cantidad degradada del metronidazol, empleando la técnica de Análisis de Multicomponentes. Finalmente se obtuvieron los parámetros cinéticos de estabilidad.

Los resultados obtenidos muestran que el metronidazol sigue una cinética de *descomposición de primer orden*; asumiendo que solo un producto de degradación es identificado.

OBJETIVOS

GENERAL

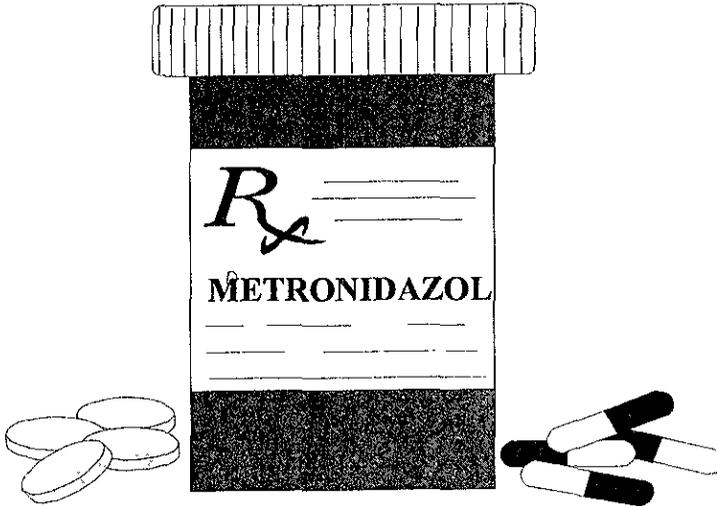
Evaluar el efecto del pH y la temperatura sobre la estabilidad del metronidazol en solución acuosa con una fuerza iónica constante de 0.37M.

PARTICULARES

- Desarrollar el método analítico para cuantificar el metronidazol (materia prima) en solución acuosa.
- Determinar los parámetros cinéticos del estudio de la estabilidad del metronidazol (orden de reacción, pH de máxima estabilidad, energía de activación y t_{90})
- Identificar cualitativamente el producto de degradación del metronidazol en solución acuosa.



INTRODUCCIÓN



INTRODUCCIÓN

En la actualidad se acepta en el mundo entero la realización de estudios cinéticos y predictivos para establecer fechas de expiración fehacientes para los productos farmacéuticos, pero antes de 1950 sólo se hacían métodos y procedimientos cualitativos o semicuantitativos en estudios farmacéuticos. Como estos métodos un tanto rudimentarios son deficientes, han sido sustituidos por estudios rigurosos, planeados científicamente, en que se usan ensayos confiables, coherentes y específicos que indican la estabilidad, conceptos estadísticos apropiados y una computadora para analizar los datos resultantes. De esta manera se obtiene la máxima cantidad de información para establecer una fecha de expiración confiable y defensible para cada fórmula

<<(1) Remington. 1987. pp

2001>>.

Los requisitos para estudios de estabilidad y fechas de expiración están normados por las "Buenas Prácticas de Manufactura (BPM)" y por la USP.

Las BPM especifican que se emprende un programa documentado de pruebas encaminadas a establecer las características de estabilidad de los productos farmacéuticos. Los resultados de tales pruebas de estabilidad se usan para determinar las condiciones apropiadas de almacenamiento y las fechas de caducidad. Esto último tiene la finalidad de asegurar que el producto farmacéutico satisfaga normas aplicables de identidad, potencia, calidad y pureza en el momento de usarlo.

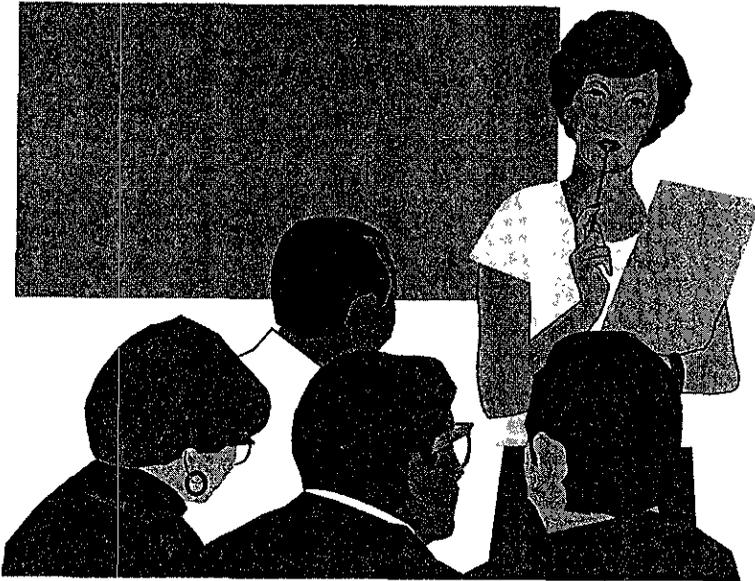
Dos tipos de acontecimientos son relacionados con el almacenamiento de las formulas. El primero se relaciona con la disminución de la actividad terapéutica especificada en el rotulo del producto, conforme transcurre el tiempo. El segundo es la aparición de una sustancia tóxica formada como producto de degradación mientras la fórmula permanece almacenada. La cantidad de casos que reflejan

este segundo tipo es muy pequeño, por fortuna, aunque existe la remota posibilidad de que ambos tipos de acontecimientos ocurran simultáneamente en un mismo producto farmacéutico.

Por lo tanto esperando que el presente estudio sirva de apoyo y estímulo para posteriores trabajos sobre estabilidad de fármacos en solución, así como en diferentes formas farmacéuticas, este trabajo no concluye aquí, porque también proponemos cuantificar al producto de degradación y no solo llevar a cabo una identificación cualitativa del mismo. Es importante mencionar que los conceptos cinéticos que contiene son de gran ayuda para la formación del Químico Farmacéutico Biólogo.



MARCO TEÓRICO



CAPITULO I. MARCO TEÓRICO

1. GENERALIDADES DEL METRONIDAZOL

1.1 NOMBRE Y ESTRUCTURA

NOMBRES QUÍMICOS Y SINÓNIMOS

2-metil-5-nitroimidazol-1-etanol <<(2) Clarke's: 1986, pp 780>>; 2-metil-5-nitro-imidazoetanol; 1-(2-hidroxietil)-2-metil-5-nitroimidazol; 1-(β-etilol)-2-metil-5-nitro-3-azopirrol <<(3) Illescas Frisbie: 1973, pp 225>>; 2-(5-nitro)-2-metilimidazol-1-il) etanol <<(4) European Pharmacopoeia. 1997, pp 1196>>.

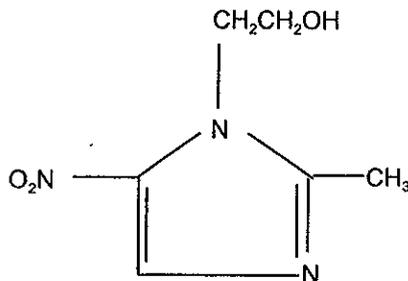
NOMBRE COMÚN

Flagyl, Metrolyl, Metryl, Neo-Tric, Vaginyl <<(2) Clarke's: 1986, pp. 780>>.

FÓRMULA CONDENSADA

$C_6H_9N_3O_3$ <<(2) Clarke's: 1986, pp 780>>.

FÓRMULA DESARROLLADA



1.2 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

DESCRIPCIÓN

Polvo cristalino o cristales de color blanco o amarillo pálido, inodoro, de sabor amargo y ligeramente salino; no es higroscópico, estable al aire, pero se oscurece al exponerlo a la luz <<(3) Illescas Frisbie: 1973, pp. 225>>.

SOLUBILIDAD

Poco soluble en agua (1 en 100 partes), 1 en 200 de etanol y 1 en 250 de cloroformo, ligeramente soluble en éter; a 20 °C soluble en ácidos diluïdos <<(3) Illescas

Frisbie: 1973, pp. 225>>

PESO MOLECULAR

171.2 g/mol <<(4) European Pharmacopoeia: 1997, pp. 1196>>.

TEMPERATURA DE FUSION

159 °C a 163 °C <<(4) European Pharmacopoeia: 1997 pp 1196>>

CONSTANTE DE DISOCIACIÓN

pKa 2.5 <<(2) Clarke's: 1986, pp. 780>>.

COEFICIENTE DE PARTICIÓN

Log P (octanol/pH 7.4), - 0.1 <<(2) Clarke's. 1986, pp. 780>>.

1.3 ESTABILIDAD

CONSERVACION

En recipientes cerrados y protegidos de la luz <<(4) European Pharmacopoeia 1997 pp 1196>>

1.4. ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA

Es un medicamento antiprotozoarios utilizado en el tratamiento de infecciones por Trichomonas, Giardia y Amibas. La dosis usual es de 250 a 500 mg tres veces al día, por vía oral durante siete a diez días. También tiene efectos sorprendentes en infecciones con bacterias anaerobias <<(5) Sir Cohn Dottery and cols 1991, M170-M176>>

1.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS

VALORACION

Disolver 100 mg de muestra en 20 ml de anhídrido acético y calentar ligeramente hasta su disolución. Enfriar, agregar una gota de solución indicadora de verde de malaquita y titular con solución 0.1 N de ácido perclórico hasta la aparición de una coloración verde amarillenta. Realizar una prueba en blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de la solución 0.1N del titulante equivale a 17.12 mg de metronidazol <<(6) FEUM 1968, pp 778>>.

ESPECTROFOTOMETRÍA EN UV.

En solución 0.1 N de HCl presenta un máximo a 277 nm. A dicho máximo la $E_{1cm}^{1\%}$ es aproximadamente 377.

En solución 0.1 N de NaOH presenta un máximo a 319 nm. A dicho máximo la $E_{1cm}^{1\%}$ es aproximadamente 520 <<(2) Clarke's 1986, pp. 780>>

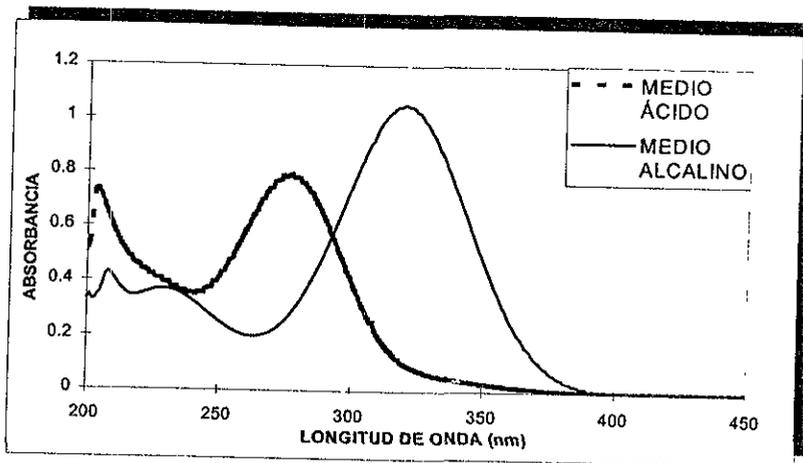


Fig. 1. ESPECTRO DE ABSORCIÓN DEL METRONIDAZOL EN UV-VIS.

ESPECTRO INFRAROJO

Principales picos a longitudes de onda de 1187, 1535, 1070, 1265, 745 y 1160 nm.

ESPECTROFOTOMETRÍA DE MASAS

Principales picos a m/z 81, 124, 54, 53, 125, 171, 45 y 42 <(2) Clarke's 1986, pp 780>>

2. ASPECTOS DE ESTABILIDAD.

ESTABILIDAD DE LOS PRODUCTOS

Muchos factores inciden sobre la estabilidad de un producto farmacéutico: la actividad del o los componentes activos, la interacción potencial entre los componentes activos e inactivos, el proceso de elaboración, la forma posológica, el sistema de contenedor, revestimiento y cierre, las condiciones ambientales

durante el transporte, almacenamiento y manipulación, y el tiempo transcurrido desde la elaboración hasta el uso del producto.

Generalmente entre los parámetros que se evalúan en estudios de estabilidad química se encuentran: la evaluación de la potencia del ingrediente activo, sus productos de degradación, compatibilidad de los excipientes y el efecto de los materiales de empaque. En una forma farmacéutica, cada ingrediente, ya sea terapéuticamente activo o inactivo puede afectar a la estabilidad; esto se debe a la actividad del o los componentes activos o a la interacción potencial entre los componentes ya sean activos o inactivos. "Los factores ambientales tales como temperatura, radiación, luz, aire (específicamente oxígeno, dióxido de carbono y agua) y humedad pueden también afectar la estabilidad <<(7) Rácz 1989, pp 31>> Similarmente, factores como el tamaño de partícula, pH, las propiedades del agua y otros solventes empleados, la naturaleza del contenedor y la presencia de otras sustancias químicas resultantes por contaminación o por mezclado intencional de diferentes productos pueden influir en la estabilidad <<(8) Valdés 1987, p p 3>>.

Otros factores a los que generalmente están sujetos los productos farmacéuticos son factores de inestabilidad producidos por el proceso de elaboración, la forma posológica, el sistema de recipiente y cierre, las condiciones ambientales durante el transporte, almacenamiento y manipulación <<(1) Remington. 1987, pp 2002>>.

En vista de que muchas reacciones hidrolíticas son catalizadas por los iones hidronio e hidroxilo, el pH es un factor importante que determina la velocidad de una reacción. El intervalo de pH de descomposición mínima (o de estabilidad máxima) depende del ion que más influye sobre la reacción. Si el mínimo ocurre a pH más o menos 7, el efecto de ambos iones es el mismo. Una desviación del mínimo hacia el lado ácido indica que el ion hidroxilo tiene un efecto catalítico más fuerte y viceversa cuando la desviación ocurre hacia el lado alcalino. En general,

los iones hidroxilo influyen más. En consecuencia, muchas veces el mínimo está entre pH 3 y 4.

A veces hay que diferenciar entre el pH óptimo para la estabilidad y el óptimo para la actividad farmacológica. Por ejemplo, varios anestésicos locales son más estables a un pH francamente ácido pero para que desplieguen su actividad máxima deben estar en solución neutra o ligeramente alcalina.

Para ajustar el pH de las fórmulas se usan pequeñas cantidades de ácidos, álcalis o soluciones amortiguadoras. Las soluciones amortiguadoras se usan cuando pequeñas modificaciones del pH pueden ocasionar una degradación importante del componente activo, también para estudios de estabilidad a largo plazo y acelerada.

2.1 ESTABILIDAD

El término estabilidad se puede definir como:

La propiedad de un medicamento contenido en su envase de determinado material para cumplir con las especificaciones preestablecidas que aseguren su identidad, pureza, calidad y potencia durante el almacenamiento y uso <<(9) Carstensen,

1990, pp 9, 454>>

La propiedad de una forma farmacéutica y/o materia prima contenida en un determinado material de empaque para mantener dentro de límites especificados y dentro del tiempo de almacenamiento y uso, las características físicas, químicas, microbiológicas y terapéuticas que tenían en el momento fabricado. <<(10) NOM-073-SSA1-

1993, 1994, pp. 63>>

2.2 PERÍODO DE EXPIRACIÓN

Es el intervalo de tiempo en que un medicamento permanece dentro de especificaciones después de su manufactura <<(9) Carstensen, 1990, pp. 8, 453>>

2.3 FECHA DE EXPIRACIÓN.

Es aquella fecha que se indica en el material, envase primario y/o secundario de un medicamento, para designar el tiempo estimado durante el cual el lote del producto permanecerá dentro de las especificaciones que conserva bajo las condiciones normales o particulares <<(10) NOM-073-SSA1-1993, 1994, pp 63>>.

2.4 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA ESTABILIDAD DE UN PRODUCTO FARMACÉUTICO.

Los factores físicos (calor, luz, humedad) pueden desencadenar reacciones químicas o acelerarlas.

El conocimiento de la estabilidad física de una fórmula es muy importante por tres razones primordiales. Primero, un producto farmacéutico tiene que tener un aspecto fresco, elegante y profesional todo el tiempo que permanezca en los estantes. Toda alteración del aspecto físico, como pérdida del color o turbiedad, puede hacer que el paciente o el consumidor pierda su confianza en el producto. Segundo, como algunos productos se expenden en recipientes de dosis múltiples,

hay que asegurar la uniformidad del contenido de componente activo en función del tiempo. La solución turbia o una emulsión cortada puede acarrear un patrón posológico disparado. Tercero, el producto farmacéutico debe de cumplir con la vida de almacenamiento para que el paciente pueda recibirlo. Toda alteración del sistema físico puede hacer que el medicamento pierda su disponibilidad para el paciente.

Las reacciones indeseables entre dos o más fármacos ocasionan incompatibilidad "física", "química" o "terapéutica", el término incompatibilidad física es un tanto incorrecto. Se le ha definido como una interacción física o química entre dos o más componentes, que origina una alteración reconocible a simple vista. Esto último puede consistir en un precipitado, turbiedad o alteración del color.

En cambio, a la incompatibilidad química se le considera una reacción en la que no se produce ningún cambio visible. Puesto que no hay evidencias visibles de deterioro, este tipo de incompatibilidad debe ser reconocida por personal experimentado, en caso de que ocurra.

A la incompatibilidad terapéutica se le ha definido como una interacción farmacológica indeseable entre dos o más componentes que conduce a: 1) la potenciación de los efectos terapéuticos de los componentes, 2) la destrucción de la eficacia de uno o más componentes, 3) la ocurrencia de una manifestación tóxica en el paciente.

2.5 ESTABILIDAD DE LAS SOLUCIONES

Las soluciones para que se consideren estables deben de conservar su claridad, color y olor original durante toda su vida de almacenamiento y durante su uso.

Las soluciones deben conservar su claridad en un intervalo de temperaturas relativamente amplio, de 4 a 47°C. En el límite inferior un componente puede precipitar por su menor solubilidad a esa temperatura y en el límite superior puede perderse la homogeneidad por floculación de partículas provenientes de los recipientes de vidrio o de los cierres de goma. En consecuencia, las soluciones deben someterse a condiciones térmicas cíclicas.

El programa de estabilidad para las soluciones también debe comprender un estudio de las modificaciones del pH, en especial cuando los componentes activos son sales solubles de ácidos o bases insolubles. Entre otras pruebas

figuran observaciones de cambios en el olor, aspecto, color, sabor, efecto de la luz, fluidez, viscosidad, isotonicidad, desprendimiento de gas, estabilidad microbiana, densidad, tensión superficial y contenido de pirógenos en el caso de productos parenterales.

Los fármacos que contienen un enlace éster o amida son propensas a la hidrólisis. Algunos ejemplos son cocaína, fisostigmina, procaína, tetracaína, tiamina y bencilpenicilina entre otros.

Cuando ocurre hidrólisis, la concentración del componente activo disminuye y la concentración de los productos de la descomposición aumenta. El efecto de este cambio sobre la velocidad de la reacción depende del orden de ésta. En las reacciones de orden cero la velocidad de descomposición no depende de la concentración del componente. Aunque las soluciones diluidas se descomponen con la misma velocidad absoluta que las más concentradas, cuanto más diluida es la solución mayor es la proporción de componente activo que se destruye en un lapso dado o sea que el porcentaje de descomposición es mayor en las soluciones diluidas.

La magnitud de la hidrólisis depende de la temperatura y pH de la solución

<<(11) Kamn E. y cols : 1991 pp 261-264>>

En las reacciones de primer orden, que ocurren a menudo en la hidrólisis de los fármacos, la velocidad del cambio es directamente proporcional a la concentración de la sustancia reactiva.

2.6 TIPOS DE ESTABILIDAD <<(12) USP, 1985, pp 1353>>.

La USP reconoce cinco tipos generales de estabilidad tal como se indica en la siguiente tabla:

TABLA 1. TIPOS DE ESTABILIDAD

Tipo de estabilidad	Condiciones mantenidas durante el período de anaquel del producto Farmacéutico
Química	Cada integrante activo retiene su integridad química y potencia etiquetada, dentro de los límites especificados.
Física	Las propiedades físicas originales incluyendo apariencia, uniformidad disolución y suspensibilidad son retenidas.
Microbiológica	La esterilidad o resistencia al crecimiento microbiano es retenida de acuerdo a los requerimientos especificados. Los agentes antimicrobianos que están presentes retienen su efectividad dentro de los límites especificados.
Terapéutica	El efecto terapéutico permanece sin cambio.
Toxicológica	No existe incremento significativo en la toxicidad.

2.7 ESTUDIOS DE ESTABILIDAD

Los estudios de estabilidad están diseñados en diversas formas, pero básicamente todos estos estudios se pueden agrupar en tres metodologías generales:

- 1) Métodos cinéticos isotérmicos; en el que se encuentran los estudios de estabilidad acelerada.
- 2) Métodos no isotérmicos; entre los cuales se encuentran los estudios de ciclado, entre otros.

3) Métodos de vida de estante; siendo aquellos estudios de estabilidad a largo plazo <<(13) López, M.: 1995, pp 2002>>, <<Rhodes, C.: 1992, pp 2101-2103>>.

2.7.1. ESTUDIOS DE ESTABILIDAD ACELERADA.

Para registro de un medicamento o modificaciones a las condiciones de registro. Se someten a condiciones de almacenamiento tres lotes piloto o de producción con la formulación y el material de envase sometido a registro, de acuerdo al siguiente cuadro:

TABLA 2. MEDICAMENTOS CON FÁRMACOS NUEVOS:

Tiempo: 180 días

Condiciones de Almacenamiento	Análisis
40°C ± 2°C con 75 por ciento de humedad relativa ± 5 por ciento para formas farmacéuticas sólidas	30,60,90 y 180 días
40°C ± 2°C a humedad ambiente para formas farmacéuticas líquidas y semisólidas	30,60,90 y 180 días
30°C ± 2°C a humedad ambiente para todas las formas farmacéuticas.	Inicial, 90 y 180 días

TABLA 3. MEDICAMENTOS CON FÁRMACOS CONOCIDOS:

Tiempo: 90 días

Condiciones de Almacenamiento:	Análisis:
40°C±2°C con 75 por ciento de humedad relativa ± 5 por ciento para formas farmacéuticas sólidas	30,60 y 90 días
40°C±2°C a humedad ambiente para formas farmacéuticas líquidas y semisólidas	30,60 y 90 días
30°C±2°C a humedad ambiente para todas las formas farmacéuticas.	Inicial y 90 días

El material del envase primario de un medicamento con un fármaco fotosensible debe proporcionar protección a la luz y para demostrar que el producto es estable se debe evaluar un lote conservado bajo condiciones de luz natural o de luz artificial que asemejen las condiciones naturales, durante un periodo de tres meses con análisis inicial y final.

Cuando un medicamento en particular no cumpla con los requisitos de tiempo, humedad o temperatura descritas en las tablas 2 y 3, se deben realizar estudios de estabilidad a largo plazo bajo las condiciones particulares y el tiempo en que se propone conservar y/o usar el producto.

2.7.2. LOS ESTUDIOS DE ESTABILIDAD A LARGO PLAZO.

Se deben llevar a cabo en tres lotes piloto o de producción a 30°C ± 2°C o a las condiciones particulares, por un periodo mínimo igual al periodo de caducidad tentativo para confirmarlo. Analizar cada tres meses durante el primer año y después anualmente.

2.7.3. ESTUDIOS DE ESTABILIDAD EN ANAQUEL.

El número de lotes que se deben analizar anualmente es el siguiente:

TABLA 4. ANÁLISIS DE LOTES.

Número de lotes fabricados por año	Número de lotes analizados por año
1 a 20	1
más de 20	2

Cuando un lote de medicamentos sea reprocesado, se debe tener toda la información del reproceso firmada por el químico responsable. Cuando el reproceso implique cambios significativos respecto al proceso original, se debe de confirmar la estabilidad del lote con un análisis adicional a un tiempo y temperatura máximos que demuestren que el reproceso no modifica las especificaciones del producto.

Cuando se cambie el método analítico durante el estudio de estabilidad, se debe demostrar que los dos métodos son equivalentes mediante el proceso de validación.

Para justificar cualquier cambio en el tipo de material de envase primario se debe llevar a cabo un estudio de estabilidad. En cualquier modificación significativa a la fórmula o al proceso de fabricación originales del medicamento registrado, el fabricante debe justificar los cambios, con un estudio de estabilidad como se indica en el tabla 2 o 3, de al menos dos lotes y con el cual se demuestre que el medicamento es tan estable como el original, asignándole la misma caducidad que el medicamento tenía antes de la modificación.

Los resultados de los estudios de estabilidad solo serán admitidos en papel membretado del fabricante reconocido por la autoridad sanitaria y firmados por el químico responsable del laboratorio. Todos los análisis que se lleven a cabo

durante el estudio de estabilidad de cualquier medicamento deben hacerse por duplicado y reportarse con métodos indicativos de estabilidad <<(10) NOM-073-SSAI-1993>>

3. CONCEPTOS DE CINÉTICA

3.1. CINÉTICA

La palabra cinética se utilizó originalmente para representar "lo relativo al movimiento". En las reacciones químicas no existe movimiento aparente, pero se producen cambios en las concentraciones. La frase "cinética química", se emplea para describir el estudio cuantitativo del cambio en la concentración, presión o de alguna propiedad que se relacione con la composición del sistema provocada por una reacción química, en función del tiempo <<(14) Latham, 1980, pp 1>> A partir de lo mencionado, se dice que existe cierta similitud entre cinética, movimiento y velocidad, esta última implícita del tiempo.

3.2. VELOCIDAD DE REACCIÓN

La termodinámica puede predecir el hecho de que una reacción pueda tener lugar o no bajo cierto conjunto de condiciones. Pero en caso de que según la termodinámica ocurra una reacción, ella no indica el tiempo que tardará en efectuarse, esto corresponde al estudio de cinética de reacción y específicamente al tema de velocidad de reacción.

Por consiguiente la velocidad de reacción se refiere a la velocidad con que un sistema reaccionante se acerca a un estado de equilibrio, en el que existe la masa de producto formado en un tiempo dado bajo condiciones establecidas. Sin embargo, lo anterior no contempla que:

a) La concentración de reactivos se modifica conforme procede la reacción, de ahí que no pueden mantenerse condiciones constantes.

b) La cantidad de producto formado depende de la cantidad inicial de reactivos, así como de sus características y reactividades químicas.

De tal manera que la velocidad de reacción se puede definir como "la disminución de la concentración de uno de los reactivos por unidad de tiempo" <<(14)>>

Latham: 1980, pp 2 >>.

Las concentraciones dentro de la cinética química se expresan comúnmente en moles por litro (moles/L) y el tiempo se expresa en segundos (s) <<(15) Guerasimov: 1977, pp 16>>

Tal definición se puede representar matemáticamente por la siguiente ecuación:

$$V = - \frac{dA}{dt} \quad (\text{Eq. 1})$$

en el que V = velocidad, dA es el cambio que ocurre en la propiedad de un componente A , en este caso la concentración del reactivo A , en un intervalo de tiempo dt , el signo negativo se refiere a que la concentración del reactivo disminuye al aumentar el tiempo <<Latham: 1980, pp 3>>

Para determinar la velocidad de una reacción química es suficiente conocer la cantidad de una de las sustancias participantes en la reacción (inicial o final) en función del tiempo <<(15) Guerasimov: 1977, pp 16>>. Existen muchos métodos para seguir una reacción con el tiempo, algunos son: cambios en la presión, cambios en el pH, cambios en el índice de refracción, cambios en la conductividad térmica, cambios en el volumen, cambios en la resistencia eléctrica <<(15) Guerasimov: 1977, pp 16>>.

Las reacciones químicas raras veces transcurren en una sola etapa tal como se suele designar. En una expresión común de una sola etapa, las reacciones químicas presentan solamente los estados inicial y final. Esta designación se puede considerar como la expresión de balance de materia (ley de conservación de la materia). En realidad la reacción se desarrolla a través de una serie de

etapas intermedias. En la mayoría de los casos no se conoce el mecanismo detallado del desarrollo de la reacción, debido a las grandes dificultades que surgen al tratar de revelar los productos intermediarios que se forman en el curso de la misma <<(14) Latham: 1980, pp 3-4>>.

3.3. CONSTANTE DE VELOCIDAD

La constante de velocidad es una medida de la velocidad de una reacción química dada en condiciones específicas. Se puede definir a la constante de velocidad como la rapidez del cambio de la concentración de reactivo a producto con el tiempo para una reacción en la cual todos los reactivos se hallan a una concentración unitaria <<(14) Latham: 1980, pp 4>>. La definición es de utilidad en cuanto a que proporciona cierto significado físico a la constante de velocidad.

La definición anterior no puede utilizarse siempre en forma cuantitativa debido a que:

a) en general, las reacciones químicas, no suelen efectuarse con todos los reactivos a una concentración de un mol por litro, de hecho muchos reactivos no alcanzan semejante solubilidad;

b) aún si el sistema estuviera inicialmente a una concentración unitaria, tan pronto se produjera la reacción, la concentración se alteraría y se modificaría la velocidad de reacción;

c) la presión, la fuerza iónica, etc., que en dicha reacción se suponen constantes afectan ligeramente a la constante de velocidad <<(14) Latham 1980, pp 4>>

Cabe mencionar que a temperatura constante, la velocidad de reacción química es directamente proporcional a las concentraciones de los reactivos, tal como lo expresa la siguiente reacción:



expresando, Velocidad de reacción: como una constante (factor de proporcionalidad), multiplicada por una función de las concentraciones de reactivos elevados a una potencia.

o bien,

$$\frac{d[A_i]}{dt} = kf \left[C_{A1}^{n1} C_{A2}^{n2} \dots C_{An}^{nn} \right] \quad (\text{Eq. 2})$$

donde:

C_{Ai} = Corresponde a las concentraciones de los reactivos.

k = Es la constante de la velocidad de la reacción.

n_i = Corresponde al orden de reacción por la sustancia dada.

Esta función solo involucra a las concentraciones de las sustancias reaccionantes, cada una elevada a una determinada potencia, que equivale a la unidad cuando todos los reactivos poseen una concentración unitaria, ya que $1^n =$

1. Por tanto, en estas condiciones, $\frac{d[A_i]}{dt} = K$; que equivale a la constante de velocidad, en concordancia con la primera definición <<(14) Latham 1980, pp 5>>.

Para cualquier reacción en particular, el valor de k es constante a una temperatura y presión dadas, y resulta una medida cuantitativa conveniente de reactividad química. Sin embargo, debe insistirse, que k aumenta rápidamente con la temperatura, y en consecuencia, las ecuaciones como la (Eq.2) solo son válidas cuando la temperatura se mantiene constante.

3.4 LEY DE VELOCIDAD

En las reacciones sencillas, la ley de velocidad adopta una de las formas que se muestran en la tabla 5. En las reacciones complejas, la ley de velocidad suele adoptar una forma mas compleja, pudiendo aparecer exponentes fraccionarios.

TABLA 5. LEY DE VELOCIDAD

LEY DE VELOCIDAD	ORDEN DE REACCIÓN
$\frac{d[A_i]}{dt} = k[A]$	1

El hecho de establecer la ley de velocidad cumple tres propósitos:

1. Permite la predicción de la velocidad dada la composición de la mezcla y el valor experimental del coeficiente de velocidad.

2. La explicación de la ley de velocidad involucra el establecer un mecanismo para la reacción, y un mecanismo aceptable debe estar de acuerdo con la ley de velocidad observada.

3. Permite clasificar las reacciones en varios "ordenes". El orden de una reacción es la potencia a la cual se eleva la concentración de un componente, en la ley de velocidad, y el orden global es la suma de las potencias de las concentraciones.

En muchos casos se observa que la ley de velocidad refleja la estequiometría de la reacción, pero es importante notar que este no es siempre el caso: la ley de velocidad es algo a lo que se llega experimentalmente, y no se puede inferir simplemente viendo la ecuación de reacción <<(14) Latham, 1980, pp 6>>

3.5. LEYES QUE RIGEN LA VELOCIDAD DE UNA REACCIÓN QUÍMICA

Como se observa en la tabla 5, la ley de velocidad para primer orden de reacción se presenta en forma de ecuación diferencial, ya que incluye el término dA/dt para representar a la velocidad de la reacción (donde A representa la concentración del reactivo A que falta por consumir) <<(14) Latham 1980, pp 10 >>

4. ORDEN DE REACCIÓN, TIEMPO DE VIDA MEDIA Y T_{90} .

4.1 REACCIONES DE 1^{er} ORDEN

Estas reacciones son muy comunes y frecuentemente se encuentra en solución donde el disolvente es uno de los reactivos. Muchas reacciones en fase gaseosa, así como procesos de descomposición radiactiva obedecen también la ley de velocidad de primer orden.

Son las reacciones en las que la velocidad depende únicamente de la primera potencia de la concentración de un solo reactivo y la ley de velocidad se expresa como:

$$V = \frac{dA}{dt} = -kA \quad (\text{Eq. 3})$$

La ecuación de primer orden es la siguiente:

$$\ln A = \ln A_0 - kt \quad (\text{Eq. 4})$$

que también puede expresarse como:

$$\ln \frac{A}{A_0} = -kt \quad (\text{Eq. 5})$$

$$C = C_0 e^{-kt} \quad (\text{Eq. 6})$$

Entonces, para una descomposición de primer orden, la concentración de A disminuye exponencialmente con el tiempo.

Las dimensiones de k son el recíproco del tiempo, es decir s^{-1} .

4.2 TIEMPO DE VIDA MEDIA <<(9) Carstensen 1990, pp 17-19>>.

El tiempo de vida media ($t_{1/2}$) se puede definir como el tiempo necesario para que una concentración dada disminuya a la mitad de su valor.

$$t_{1/2} = \frac{A_0}{2} \quad (\text{Eq. 7})$$

La expresión de tiempo de vida media en un proceso de primer orden se obtiene de la ecuación 13:

$$\ln A = \ln A_0 - kt$$

De acuerdo a la ecuación 7:

$$t_{1/2} = \frac{A_0}{2}$$

$$\ln \frac{A_0}{2} = \ln A_0 - kt_{1/2} \quad (\text{Eq. 8})$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (\text{Eq. 9})$$

$$t_{1/2} = \frac{0.6932}{k} \quad (\text{Eq. 10})$$

Como se observa, el tiempo de vida media, en el caso de las reacciones que siguen una cinética de 1^{er} orden, $t_{1/2}$, es independiente de la concentración del reactivo.

4.3 TIEMPO (t_{90}) <<(16) Connors: 1986, pp 12 >>.

La vida de anaquel t_{90} , para un fármaco es generalmente tomada para que sea el tiempo en que la concentración de fármaco alcanza 0.90 de la concentración inicial esto es, 10 % de degradación.

La ecuación para determinar t_{90} , para una reacción de primer orden es:

$$t_{90} = \frac{0.105}{K_1} \quad (\text{Eq. 11})$$

5. EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA VELOCIDAD DE REACCIÓN

Cálculo de energía de activación.

Las velocidades de reacción se espera que sean proporcionales al número de colisiones por unidad de tiempo. Aunque el número de colisiones se incrementa conforme se incrementa la temperatura. En general, al aumentar la temperatura se incrementa a su vez la constante de velocidad de la reacción, tal observación fue estudiada por Arrhenius, al postular que las moléculas químicas

normales no participan en las reacciones químicas solo lo hacen aquellas que han adquirido un valor energético superior a determinado valor crítico (energía de activación). La ecuación empírica que representa esta relación es:

$$K = A_{\text{exp}} \left(\frac{-Ea}{RT} \right) \quad (\text{Eq. 12})$$

donde:

K = Constante de velocidad de reacción de cualquier orden.

A = Constante preexponencial

T = Temperatura absoluta °K (Temperatura en °C + 273.15°C)

Ea = Energía de activación de la reacción química.

La ecuación anterior (ecuación de Arrhenius) puede ser descrita en varias formas equivalentes tales como:

$$\log K = \log A - \frac{Ea}{2.303RT} \quad (\text{Eq. 12 a})$$

$$\log \frac{K_2}{K_1} = \frac{-Ea}{2.303R} \left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1} \right) \quad (\text{Eq. 12 b})$$

$$\log \frac{K_2}{K_1} = \frac{Ea(T_2 - T_1)}{2.303RT_1T_2} \quad (\text{Eq. 12 c})$$

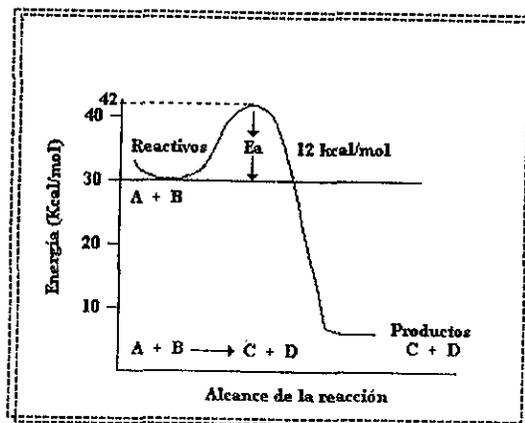
$$\ln \frac{K_2}{K_1} = \frac{-Ea}{R} \left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1} \right) \quad (\text{Eq. 12 d})$$

$$\ln K = \ln A - \frac{E_a}{R} * \frac{1}{T} \quad (\text{Eq. 12 e})$$

donde K_2 y K_1 son las constantes de velocidad de reacción a temperaturas T_2 y T_1 , respectivamente.

El factor preexponencial "A" representa la frecuencia de las colisiones entre las moléculas químicas. Entre mayor sea el número de colisiones la reacción es más espontánea, de igual manera las reacciones más rápidas son aquellas en las que E_a es menor de 10000 cal/mol.

La reacción tiene lugar únicamente cuando los reactivos poseen una cantidad adicional de energía por encima de la que poseen las moléculas promedio del reactivo en el sistema. Esta cantidad adicional de energía se conoce como energía de activación



Esta "barrera" es la que previene que los reactivos se conviertan inmediatamente en productos; la energía de activación es la medida de esta barrera.

La ecuación (12 a) se utiliza para realizar un gráfico de $\log K$ contra $1/T$ obteniéndose una línea con una pendiente de $-E_a/2.303R$. Este tipo de gráfico es llamado gráfico de Arrhenius. Desde este gráfico la energía de activación puede ser determinada.

Sabemos que el intervalo usual de las energías de activación es de 12 a 24 Kcal/mol, con valores típicos de 19 a 20 Kcal/mol.

Observe que la E_a es positiva, frecuentemente se cometen errores aritméticos por no tomar en cuenta esta observación <<(16) Connors, 1990, pp 18-22>>

6. CATÁLISIS.

La catálisis es el proceso de alteración de la velocidad de una reacción <<Crockford H D.: 1997, pp 376-377>>

Un catalizador es una sustancia que incrementa la constante de velocidad de una reacción pero no se consume durante la reacción química, se regenera continuamente y no afecta a la constante de equilibrio <<(14) Latham 1980, pp 100-101>>.

La función general de un catalizador consiste simplemente en suministrar un mecanismo adicional por medio del cual los reactivos puedan transformarse en productos. Este mecanismo alternativo tiene una energía de activación menor que la energía de activación del mecanismo en ausencia del catalizador, de manera que la reacción catalizada es más rápida <<(17) Castellán, 1990, pp 877-878>>.

Una catálisis puede ejercer una interacción covalente o no covalente, distinguiéndose varios tipos de catálisis <<(16) Connors 1978, pp 41-43>>

CATÁLISIS ÁCIDO ESPECÍFICA.

Se cataliza por el protón solvatado, esto es, por el ion hidronio en solución acuosa.

CATÁLISIS BÁSICO ESPECÍFICA.

Se cataliza por el ion hidróxido en solución acuosa.

CATÁLISIS ÁCIDO-BÁSICA GENERAL.

Se cataliza por el protón ácido, aparte de el ion lianio. La catálisis ácido general es por lo tanto un ácido Brönsted.

CATÁLISIS BÁSICO GENERAL.

Se cataliza por una base Brönsted, aparte de el liato, actuando como un protón aceptor, esto es, compartiendo un par electrón con un protón.

CATÁLISIS NUCLEOFÍLICA.

Es catálizado por una base (nucleofilo) actúa compartiendo un par electrón con un átomo (usualmente carbono) aparte del protón.

CATÁLISIS ELECTROFÍLICA.

Es catalizado por un ácido de Lewis (por ejemplo, un metal iónico) actuando como un par electrónico aceptor. <<{16} Connors 1978, pp 43>>.

7. EFECTO DEL pH

Las velocidades de reacción en solución acuosa son frecuentemente dependientes del pH, usualmente como consecuencia de un proceso catalítico.

El estudio de la dependencia de pH sobre la velocidad de reacción puede darnos idea acerca del mecanismo de la catálisis, y esto también produce información muy práctica acerca de la estabilidad del fármaco.

Los datos que se requieren para tal estudio son las constantes de velocidad en función de pH manteniendo factores constantes tales como temperatura, fuerza iónica,

Si el pH es controlado con soluciones amortiguadoras, quizá sea necesario tomar en cuenta un posible efecto catalítico por los componentes de la solución amortiguadora).

Los datos pueden ser presentados en gráficos de K vs pH o de log K vs pH; ambas formas de datos desplegados son llamados perfiles de velocidad - pH.

7.1. GRÁFICOS EN FORMA DE-V.

El gráfico en forma de V es un perfil de velocidad - pH, el procedimiento general para analizar este tipo de perfil es escribir la ecuación de velocidad experimental y una ecuación de velocidad hipotética (basado sobre la experiencia y analogía), ajustar estas ecuaciones y obtener una expresión para la constante de velocidad experimental en términos de parámetros asumidos del modelo cinético. Esta ecuación es probada con datos, de este modo las magnitudes de los parámetros son estimados.

Si K es una constante de velocidad de pseudo-primer-orden estudiada en función de pH. Para sistemas compuestos de reactivos no ionizables ("sustrato" S), que son sujetos a procesos no catalíticos, a catálisis-ácido-específica y reacciones de catálisis básico-específica, una ecuación general de velocidad hipotética es descrita, con la ecuación 37.

$$v = K_1 [S] [H^+]^n + K_2 [S] + K_3 [S] [OH^-]^m \quad (\text{Eq. 13})$$

La ecuación de velocidad experimental es:

$$v = k[S] \quad (\text{Eq. 14})$$

De este modo

$$k = k_1 [H^+]^n + k_2 + k_3 [OH^-]^m \quad (\text{Eq. 15})$$

ó

$$k = k_1 [H^+]^n + k_2 + k_3 K_w^m / [H^+]^m \quad (\text{Eq. 16})$$

Donde $K_w = [H^+][OH^-]$; K_w es el producto iónico del agua igual a 1.0×10^{-14} a 25°C . En la ecuación 16, n y m son los órdenes con respecto al ión Hidrógeno y el ion Hidroxilo respectivamente; k_1 , k_2 , y k_3 son respectivamente las constantes de velocidad para la catálisis ácido-específica, sin catálisis, y la catálisis básica-específica.

Considere una región de pH, donde la concentración de protones es grande.

La ecuación 16 puede ser escrita como:

$$k = k_1 [H^+]^n \quad (\text{Eq.17})$$

Sin embargo el término de catálisis ácida debe ser mucho más grande que el otro término a pH bajo.

Con logaritmos la ecuación 17 queda:

$$\log K = \log K_1 - n\text{pH} \quad (\text{Eq. 18})$$

A partir de la ecuación anterior, se traza un gráfico de $\log K$ vs pH (a pH's bajos), obteniéndose una función lineal con una pendiente negativa "-n" donde n determina el orden de reacción con respecto al ión hidrógeno. Trazando un gráfico similar a altos pH's, se obtiene una función lineal con una pendiente positiva "+m", donde m determina el orden con respecto a los OH⁻. Usualmente n y m tienen valor unitario

Una vez que m y n se determinan, K_1 se encuentra al aplicar la ecuación 41, similarmente K_3 es encontrado. Finalmente K_2 es encontrado desde los datos en el intervalo de pH intermedio usando la ecuación 40 y así conocer los valores de m, n, K_1 , K_2 y K_3 .

Con los parámetros estimados la ecuación 42 es usada para calcular K en función de pH. El perfil así generado es comparado con los datos experimentales. Si los perfiles calculados y experimentales están de acuerdo con el error experimental esto concluye que, la ecuación de velocidad hipotética describe este sistema.

En el gráfico 2 se muestra un ejemplo, donde se observan las pendientes de la línea segmentada a pH's -1.0 y +1.0, respectivamente, lo cual indica que la ecuación de velocidad contiene términos de primer orden con respecto a la concentración de protones y a la concentración de iones hidronio, la línea continua fue trazada con relación a la siguiente ecuación.

$$K = K_1 [H^+] + K_3 [OH^-] \quad (\text{Eq. 19})$$

(Para la evaluación de la contribución de K_2 se necesitan datos en el intervalo de pH de 3 a 5). Observe la característica forma en V en este tipo de perfil pH-velocidad. Una ventaja importante del gráfico de $\log K$ vs pH es la apariencia de las porciones de la línea recta a bajos y altos pH's cuando la reacción es catalizada ácido-básica.

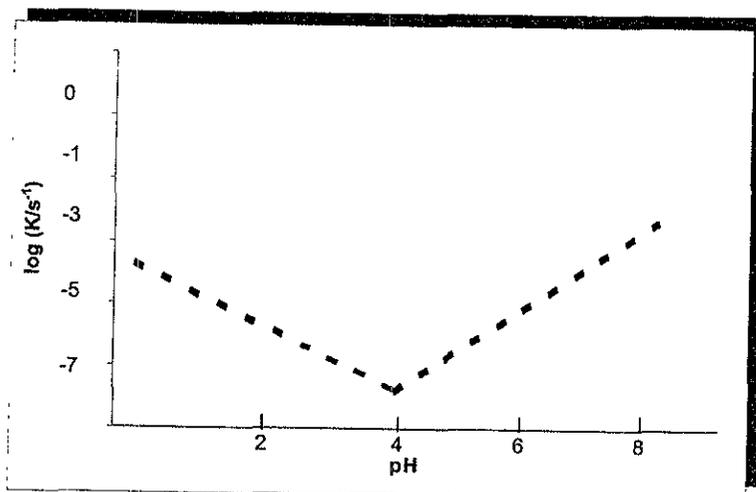


Fig. 2. PERFIL DE pH-VELOCIDAD PARA LA DEHIDRATACIÓN DE ESTREPTOMICINA A EN 70° C. <<(16) Connors, 1990, pp 43-47>>.

El pH mínimo para gráficos en forma de V se encuentra diferenciando la ecuación

$$K = K_1 [H^+] + K_2 + K_3 [OH^-] \quad (\text{Eq. 20})$$

Y ajustando la derivada igual a cero, el resultado es:

$$\text{pH}_{\min} = \frac{1}{2} \text{p}K_w - \frac{1}{2} \log \frac{K_3}{K_1} \quad (\text{Eq. 21})$$

Por lo tanto esta ecuación puede ser usada para calcular el pH de máxima estabilidad. Es necesario usar el valor de $\text{p}K_w$ apropiado de acuerdo a la temperatura de los datos cinéticos. Para muchas reacciones K_3 es mas grande que K_1 , así el mínimo en el perfil de pH-velocidad ocurre sobre el lado ácido. El segmento lineal con pendientes unitarias son vistas en la porción extrema de varios fármacos en gráficos de $\log K$ vs pH, indicando la catálisis ácido-básica a bajos y altos pH's respectivamente <<(16) Connors, 1990, pp 43-47>>.

8. EFECTO DE LA FUERZA IÓNICA <<(9) Carstensen: 1990, pp 112-116>>.

Efecto de la sal en la cinética.

Los estudios cinéticos en solución, deben ser llevados a cabo como mínimo a dos concentraciones de solución amortiguadora, de modo que el perfil de pH pueda ser construido sin confundir esto con el efecto catalítico de los componentes de la solución amortiguadora. Sin embargo, la sola presencia de la sustancia ionizada quizá afecte la cinética de descomposición. Para investigar esto, la fuerza iónica es variada llevando a cabo la descomposición de la solución en diferentes concentraciones del electrólito inerte.

La fuerza iónica es una medida del medio ambiente electrostático de un soluto; se define como la mitad de la suma de la concentración de cada uno de los iones multiplicada por el cuadrado de su carga eléctrica <<(18) Day R y cols 1989, pp 160>>

La fuerza iónica se representa por la siguiente ecuación:

$$\mu = 0.5 \left[\sum_i m_i z_i^2 \right] \quad (\text{Eq. 22})$$

donde m_i es la molalidad de esta especie y z_i es la carga.

1M de CaCl_2 puede ser 1M en ión Ca y 2M en ión Cl así que la fuerza iónica debe ser $[(1 \cdot 2^2) + (2 \cdot 1^2)]/2 = 3$. Para un electrólito 1:1 la fuerza iónica es igual a la molaridad.

9. GENERALIDADES DE LA ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS

9.1 DEFINICIÓN DE ESPECTROFOTOMETRIA

Se refiere a la definición de la intensidad de luz transmitida por una solución a diferentes longitudes de onda <<(14) Latham, 1980, pp 30>>

9.2. LEY DE LAMBERT BEER <<(19) Connors K: 1992195-205>>

El análisis espectroscópico cuantitativo se basa en la relación entre la cantidad de luz absorbida y la cantidad de luz absorbente. Dividamos un medio absorbente homogéneo, como una solución química en una serie de capas imaginarias del mismo espesor. Si dirigimos un haz de radiación monocromática, (radiación de una sola longitud de onda) a través de la solución, encontraremos que cada una de las capas absorbe una fracción igual de radiación o que cada capa disminuye el poder de radiación del haz en una fracción idéntica. Supongamos que la primera capa absorbe la mitad de la radiación que incide

sobre ella. Entonces la segunda capa absorberá la mitad de la radiación que incide sobre ella y la energía radiante que emerja de esta segunda capa será un cuarto de la energía original; de la tercera capa saldrá un octavo y así sucesivamente. Se observa que si se hace pasar luz monocromática a través de una capa de solución db el descenso en intensidad de la luz, dI , como consecuencia de su paso a través de la solución, es directamente proporcional a la intensidad I de la radiación, a la concentración C de las especies absorbentes y al espesor db de la capa de solución:

La ley de Beer establece que la absorbancia de una solución es directamente proporcional a la concentración C del soluto absorbente.

$$A = abc \quad (\text{Eq. 23})$$

La ecuación anterior es la expresión matemática de la ley de Beer. Las cantidades espectroscópicas que se miden son la transmitancia "T" ($T = I/I_0$) y la absorbancia. "A" ($A = \log 1/T$).

La absorptividad cuyo símbolo es "a", es una constante de proporcionalidad que es independiente de la concentración, paso de la luz e intensidad de la radiación incidente. La absorptividad depende de la temperatura, del disolvente, de la estructura molecular y la longitud de onda de la radiación. Las unidades de "a" se determinan a partir de las de "b y c". Cuando b esta en cm y c en gramos/litro la absorptividad se expresa en litros/gramo-cm.

Si c es una concentración molar la absorptividad recibe el nombre de absorptividad molar se representa por ϵ y sus unidades son litros/mol-cm. Cuando c se expresa en porcentaje peso/volumen (g/100ml), la absorptividad se escribe $A_{1\%}^{1\text{cm}}$.

Los intervalos que tienen interés en espectroscopia se definen de acuerdo a la siguiente tabla:

TABLA 6. REGIONES DEL ESPECTROFOTÓMETRO.

REGIONES	INTERVALOS DE LONGITUD DE ONDA
Ultravioleta lejano	100 - 200 nm
Ultravioleta	200 - 400 nm
Visible	400- 750 nm
Infrarrojo cercano	0.75 - 4 μ m
Infrarrojo	4 -25 μ m

10. ANÁLISIS CUANTITATIVO.

10.1. CUANTIFICACIÓN POR MÍNIMOS CUADRADOS PARCIALES (MCP) <<(20)>>

López y cols. 1996 pp 34-44>>.

La calibración multivariante (un método de análisis de multicomponentes) es una herramienta de reconocida selectividad y confiabilidad en el análisis cuantitativo, aplicable en la determinación de macro y microcomponentes, con diversas características y distintos métodos de análisis (Resonancia Magnética Nuclear, Espectroscopia de Masas, Espectrofotometría Acústica, Electroforesis, Cromatografía, Espectroscopia UV-Visible, etc.).

Entre las principales ventajas que ofrece esta herramienta matemática están el incremento en la capacidad analítica y confiabilidad de los instrumentos tradicionales. De hecho, la calibración multivariada implica modelos a diferentes niveles. El más importante es el modelo que explica la relación entre las numerosas variables en x y y . Por otro lado, algún modelo matemático abstracto (modelo x - y) que representa el fenómeno existente entre las variables con coeficientes desconocidos. Durante la calibración se estiman tales coeficientes a

partir de los resultados obtenidos, con el propósito de establecer el modelo de calibración que contiene la función predictiva deseada $Y = f(X)$.

Dentro del análisis cuantitativo existen ciertas variables en el manejo de las mezclas que provocan serios errores en las mediciones. Por ejemplo, variaciones en el tamaño de partícula de muestras de polvo estudiadas por reflectancia difusa; variaciones de temperatura o presión en cromatografía; variaciones de temperatura en diversos instrumentos como los espectrofotómetros;

monocromadores mal ajustados, etc. Con calibración multivariada es posible eliminar fácilmente cada uno de estos problemas. Finalmente, debe considerarse la presencia de ciertas fuentes de error que no pueden ser previstas en el momento de efectuar la calibración original, sin importar que tan cuidadoso sea el analista. Con la calibración multivariada, muchas de las anomalías en la preparación de las muestras o problemas instrumentales son identificados para poder eliminarlos posteriormente.

Para poder predecir la información Y a partir de las mediciones X , debe identificarse la forma de predicción $Y = f(X)$ a través de alguno de los distintos métodos existentes de calibración multivariada. El estudio de problemas complejos con ruido en el sistema requiere una estimación estadística de los parámetros, basándose en mediciones reales a partir de soluciones patrón representativas para la calibración, a fin de optimizar la calidad de trabajo analítico.

Como comúnmente ocurre en el análisis cuantitativo, tras establecer una serie de condiciones para el análisis se preparan disoluciones patrón cuya composición en general es similar a las muestras reales y abarcan cierto intervalo de concentraciones para la especie o especies a determinar. Las medidas de absorbancia o unidades proporcionales de concentración se realizan con los instrumentos adecuados y se obtienen los espectros correspondientes.

También debe considerarse que el modelo será afectado por varias fuentes de ruido incontrolables que siempre interfieren en las mediciones. Sin embargo si

se miden diversas variables el efecto de errores aleatorios aparentes se reducen enormemente por la modelación de estructuras sistemáticas.

Los métodos PLS (Mínimos Cuadrados Parciales, <<Partial Least Squares>>) y PCR (Regresión del componente Principal, <<Principal Component Regresión>>) son populares en el análisis cuantitativo, ya que han sido utilizados con diversos tipos de análisis como los espectroscópicos y cromatográficos.

Tales técnicas son generalmente superiores a otras de uso común e igualmente aplicables a sistemas con bandas bien definidas, o bien, con interferencias severas y bandas solapadas. Las operaciones matemáticas resultan complejas y se han discutido en numerosos artículos <<(21) D. Haaland, 1988, pp 1993-1202>>

10.2 CALIBRACIÓN

Calibrar consiste en usar datos empíricos y conocimientos previos para establecer como predecir información cuantitativa desconocida Y a partir de mediciones disponibles X , a través de alguna función matemática de transformación. La calibración multivariada significa entonces medir muchas variable $x_1, x_2, x_3, \dots, x_n$ simultáneamente para cuantificar alguna variable y . Por ejemplo, las variables x pueden ser mediciones cromatográficas o espectroscópicas y la variable objeto la concentración del analito.

Otra forma de definirla es mediante la expresión $Y = f(X)$ donde los datos de X son registrados en un instrumento y transformados en Y por un programa determinado; la función tiene una forma matemática particular basada en un modelo que establece la relación entre Y y X . Donde tenemos que "aprender como predecir Y de X " antes de poder predecir una muestra y los valores de estos parámetros deben establecerse o estimarse primero <<(20) López y cols - 1996, pp 34-44>>

10.3 PREDICCIÓN

El modelo de calibración se usa en la predicción teniendo en cuenta que los objetos a estimar obedecen a la misma estructura del modelo utilizado en la calibración. Así la predicción es un paso de prueba.

Al efectuar la calibración, el usuario especifica el número de componentes y sus respectivas concentraciones en cada uno de los espectros, selecciona la región del espectro que proporcione más datos sobre el comportamiento del sistema y a partir de esta información, plantea la matriz de calibración que servirá para "predecir" la concentración de los componentes en cada muestra real que analice bajo la misma metodología.

10.4 FUNDAMENTO DE LOS MÉTODOS DE ANÁLISIS MULTIVARIADO <<(21)>>

Haaland M.: 1988, pp 1993-1202>>.

En el análisis cuantitativo se busca alguna relación lineal entre la medición y la concentración de un componente en particular. En espectrofotometría, la ley de Beer define la relación entre la absorbancia y la concentración;

$$A_i = C_i K_i \quad (\text{Eq. 24})$$

donde A_i es la absorbancia a cierta longitud de onda; C_i y K_i la concentración y absorptividad del componente, respectivamente. Esto implica que es posible conocer la concentración de cualquier especie (si el estudio es libre de interferencias) tras medir simplemente la absorbancia en una muestra de concentración conocida y deducir la absorptividad, utilizando ésta en cualquier cálculo posterior. Como se observa, la ecuación se resuelve estudiando una sola muestra; sin embargo, ante las limitaciones por ruido, error instrumental, error en

la manipulación de las soluciones, por lo que se recomienda analizar cierto número de muestras de distinta concentración, con los resultados realizar un gráfico y localizar la línea recta que mejor comprenda los puntos mediante lo que se conoce matemáticamente como ajuste por mínimos cuadrados.

Si la mezcla contiene dos componentes, es posible establecer dos ecuaciones:

$$A_1 = C_1K_1 + E_1 \quad (\text{Eq. 25})$$

$$A_2 = C_2K_2 + E_2 \quad (\text{Eq. 26})$$

donde A_1 y A_2 son las absorbancias a dos longitudes de onda diferentes, K_1 y K_2 los coeficientes de absortividad de los dos componentes a esas longitudes de onda, E_1 y E_2 los errores residuales obtenidos a partir de la línea ajustada por mínimos cuadrados y las absorbancias reales (los errores serán siempre cero cuando se ajusten solo dos puntos). Nuevamente es factible dar solución a cada ecuación de manera independiente mientras la absorbancia de un componente no interfiera con la absorbancia del otro (bandas bien resueltas). Partiendo de que la ley de Beer es aditiva, también es permisible resolver las ecuaciones simultáneamente y así manejar el caso donde existe interferencia entre las dos absorbancias dentro de un espectro (bandas solapadas):

$$A_1 = C_1K_{11} + C_2K_{21} + E_1 \quad (\text{Eq. 27})$$

$$A_2 = C_2K_{12} + C_2K_{22} + E_2 \quad (\text{Eq. 28})$$

Un camino particularmente eficiente para resolver ecuaciones simultáneas es utilizar métodos matriciales, pues si bien implican numerosos cálculos, estos pueden efectuarse por computadora. En términos matriciales, las ecuaciones anteriores se expresan así:

$$A_{(n,p)} = C_{(n,m)} K_{(m,p)} + E_{(n,p)} \quad (\text{Eq. 29})$$

Donde n es el número de disoluciones patrón, p el número de valores de longitudes de onda y m el número de componentes, Por ejemplo para dos muestras, dos componentes y dos longitudes de onda, las ecuaciones son:

Para la muestra # 1:

$$A_{11} = C_{11}K_{11} + C_{12}K_{21} + E_{11} \quad (\text{Eq. 30})$$

$$A_{12} = C_{11}K_{12} + C_{12}K_{22} + E_{12} \quad (\text{Eq. 31})$$

Para la muestra # 2:

$$A_{21} = C_{21}K_{11} + C_{22}K_{21} + E_{21} \quad (\text{Eq. 32})$$

$$A_{22} = C_{21}K_{12} + C_{22}K_{22} + E_{22} \quad (\text{Eq. 33})$$

O en notación matricial:

$$A = CK + E \quad (\text{Eq. 34})$$

Utilizando álgebra matricial es fácil encontrar la solución de estas expresiones por computadora y plantear la matriz de calibración (o matriz de coeficientes de absortividad), que proporcionan la línea o líneas que se ajustan mejor a los datos por mínimos cuadrados. Una vez resuelta la matriz, K puede utilizarse para predecir concentraciones de muestras desconocidas.

10.5 ALGORITMO DEL MODELO DE MÍNIMOS CUADRADOS PARCIALES. <<(22)>>

Haaland M. 1988 pp 1993-1202>>

Calibración

Paso 1. Pretratamiento de los datos.

Centrar A: La media del espectro de calibración es sustraída a cada valor del espectro.

Centrar c: La media de calibración de las concentraciones es sustraída de cada concentración.

Donde:

"A" es la matriz m x n del espectro de calibración.

"c" es la matriz m x l de las absorbancias del componente.

"m" son las calibraciones estándar.

"n" son las absorbancias.

"l" los componentes químicos.

Con letras mayúsculas se designa a las matrices , con una comilla a una matriz o vector transpuesto y los vectores se representan con letras minúsculas.

Paso 2. Formación del vector peso (loading) W_h :

$$A = c W_h + E_A \quad (\text{Eq. 35})$$

$$W_h = A'c / c'c \quad (\text{Eq. 36})$$

Este paso del algoritmo de MCP es actualmente una calibración de MCC en la cual los análisis se ejecutan asumiendo que la concentración de uno de los componentes se conoce de las muestras de calibración. Una vez obtenidos los valores de W_h obtenidos entre W_1 . Este paso pertenece al modelo de PCA en donde la información de la concentración es directamente introducida en el cálculo de los vectores de carga.

Paso 3. Formación del vector marcador o variable latente (score) t_h :

$$A = t_h W_h' + E_A \quad (\text{Eq. 37})$$

$$t_h = A W_h \quad (\text{Eq. 38})$$

Este paso del algoritmo de MCP es similar al paso de predicción del modelo de MCC, en el cual se supone que sólo está presente el componente de interés en las muestras de calibración; w_1 se usa como un componente en el paso de predicción del modelo de MCC para estimar la cantidad (o concentración) del componente espectral W_h en cada espectro de la calibración.

El vector t_1 representa la intensidad o cantidad del primer vector de peso en las muestras de calibración para el sistema coordinado de MCP, con éste se puede determinar la cantidad presente del componente puro en A y c.

Paso 4. Relacionando el vector marcador t_h y las concentraciones :

$$c = v_h t_h + e_c \quad (\text{Eq. 39})$$

$$v_h = t_h c / t_h' t_h \quad (\text{Eq. 40})$$

El vector marcador t_h puede ser relacionado con las concentraciones usando una regresión de mínimos cuadrados lineal.

Paso 5. Formación de b_h vector cargador para A :

$$A = t_h b_h' + E_A \quad (\text{Eq. 41})$$

$$b_h = A' t_h / t_h' t_h \quad (\text{Eq. 42})$$

En donde b_h es el vector cargador de $n \times 1$ en el MCP. A diferencia del primer vector cargador del PCA, el primer vector cargador del MCP, b_1 , no explica la máxima variancia en el espectro de calibración.

Paso 6. Cálculo de residuales en A y c:

Espectro residuales

$$E_A = A - t_h b_h' \quad (\text{Eq. 43})$$

Concentraciones residuales

$$e_c = c - v_h t_h \quad (\text{Eq. 44})$$

El producto del vector marcador (t_h) y vector carga (b_h) es una aproximación del MCP para el espectro de calibración. El producto $v_h \times t_h$ representa la concentración estimada por el MCP basado en el espectro.

Paso 7. Incrementar h , sustituyendo E_A para A y e_c para c en el paso 2 y continuar para obtener tantos factores como sea necesario para optimizar el modelo.

Predicción:

Esta etapa se usa para encontrar la concentración de muestras desconocidas mediante el uso de los datos obtenidos durante la calibración.

Paso 1. Centrar "a" usando los datos de la calibración, es decir, sustraer la media de la calibración a cada uno de los valores espectrales.

Paso 2. Cálculo de la variable latente

$$t_h = W_h' a \quad (\text{Eq. 45})$$

Paso 3. Cálculo de la concentración

$$C_h = C_{h-1} + V_h t_h \quad (\text{Eq. 46})$$

Donde C_{h-1} : Es el promedio de las concentraciones

11. REACCIÓN DE COPULACIÓN <<(23) Morrison: 1980, pp 784-796>>

Las aminas aromáticas primarias reaccionan con el nitrito de sodio para dar sales de diazonio.

El gran número de reacciones que dan las sales de diazonio se pueden agrupar en dos clases: **reemplazo** en las que se pierde Nitrógeno en forma de N_2 , quedando en su lugar en el anillo otro átomo o grupo; y **copulación**, en las que el Nitrógeno queda retenido.

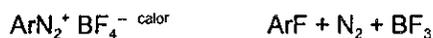
1.- Reemplazo del Nitrógeno.



Reemplazo por -Cl , -Br, -CN reacción de Sandmeyer (CuCl, CuBr, CuCN).



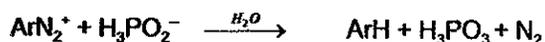
Reemplazo por -I.



Reemplazo por -F.

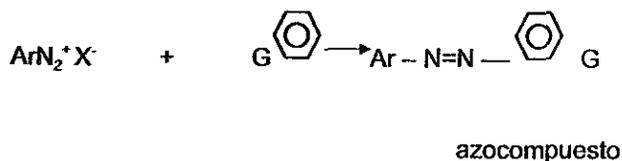


Reemplazo por -OH.



Reemplazo por -H.

2.- Copulación



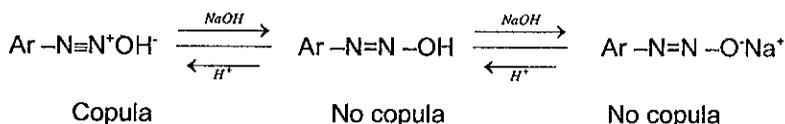
G debe ser un grupo muy liberador de electrones: OH, NR₂, NHR, NH₂

En condiciones apropiadas pueden reaccionar las sales de diazonio con ciertos compuestos aromáticos para dar productos de forma general Ar -N=N -Ar', llamado azocompuestos <<Thakur, A. 1991. pp 1156-1160>> En esta reacción, conocida como de copulación se retiene el grupo diazonio en el producto, en contraste con las reacciones de reemplazo en las que el nitrógeno se pierde.

En general el anillo aromático (Ar'H) que sufre el ataque del ion diazonio debe contener un grupo con tendencia a liberar electrones (G). Usualmente la sustitución se efectúa en posición para con respecto al grupo activante.

Tanto la activación por medio de grupos liberadores de electrones, como las pruebas aportadas por estudios cinéticos indican que la copulación es una sustitución electrofílica aromática, en la que el ion diazonio es el reactivo atacante.

Es de máxima importancia que se ajuste el medio al grado correcto de acidez o alcalinidad. El reactivo electrofílico es decir el ion diazonio (ArN_2^+) el cual en presencia de ion hidróxido, se encuentra en equilibrio con un compuesto no ionizado, Ar-N=N-OH , y con sales ($\text{Ar-N=N-O}^-\text{Na}^+$) que derivan de él:



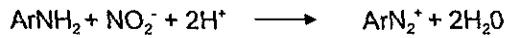
Por consiguiente, en lo que concierne al reactivo electrofílico, la copulación se favorece con una concentración baja de ion hidróxido o sea por una acidez elevada.

El ácido convierte a la amina en su ión que, debido a su carga positiva es relativamente inerte ante la sustitución electrofílica aromática: demasiado como para ser atacado por el ión diazonio débilmente electrofílico. Cuanto más alta la acidez, tanto mayor resulta la proporción de amina que existe como ión y por lo tanto la velocidad de reacción es más rápida.

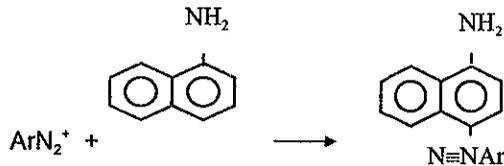
12. DETERMINACIÓN DE NITRITO EN SOLUCIÓN ACUOSA <<(18) Day R. A. y cols. 1988, pp

786-787>> <<(24) Theuer, H. 1984, pp 1254-1260>>

El ion nitrito se puede determinar en solución acuosa utilizando la reacción de este ión con las aminas aromáticas en un medio ácido como se observa en la siguiente reacción:

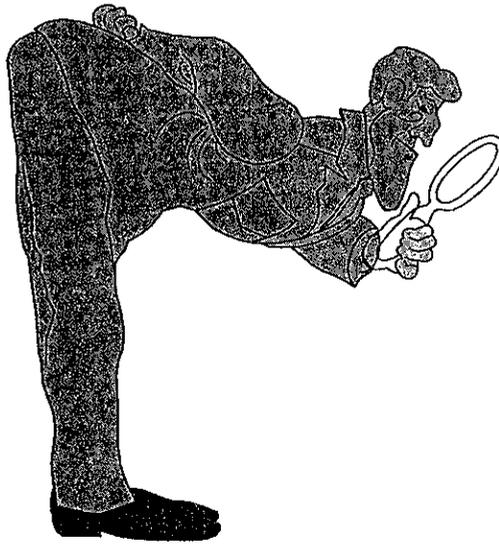


La sal de diazonio se acopla con N,N-Naftilamina





OBSERVACIONES



OBSERVACIONES

En la preparación de los sistemas, lo ideal es que todos ellos sean colocados en sus respectivos equipos al mismo tiempo, realizando un ajuste en cada estufa a la temperatura de trabajo (55 °C, 75 °C, 95 ± 2 °C), pero debido a las condiciones reales de trabajo no fue posible introducir todos los sistemas al mismo tiempo, por lo que se optó a realizar cada pH por separado, lo que provoca que todos los sistemas tengan diferentes tiempos de evaluación como lo muestran las tablas 25-A, 25-B – 30-A, 30-B.

Respecto a la temperatura de referencia 25 °C, se almacenaron en un compartimento con una temperatura ambiente de 25 ± 2 °C.

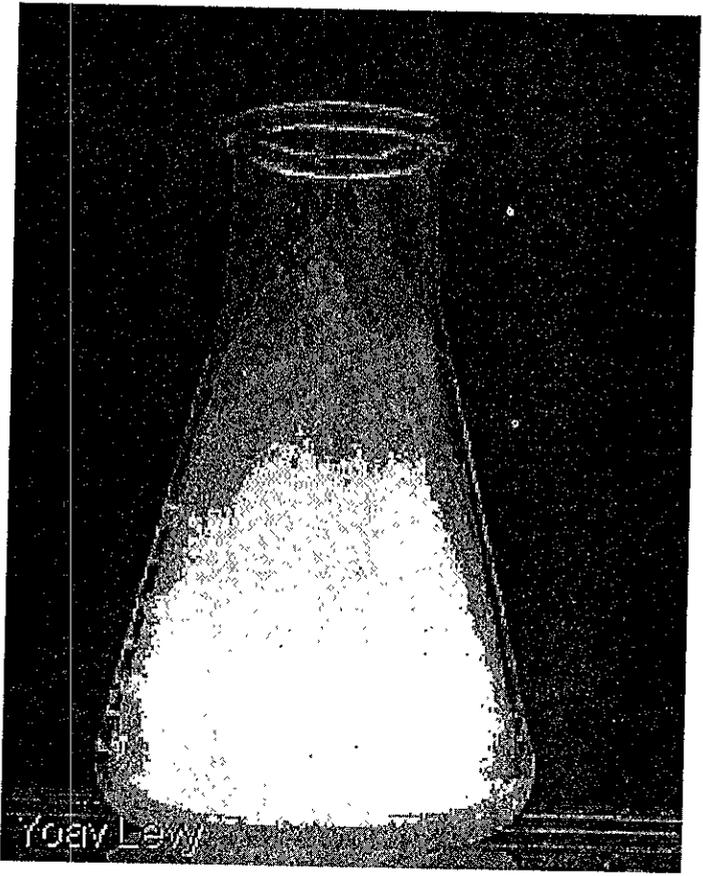
Los sistemas a 25 ± 2 °C, se muestrearon de igual forma que los sistemas de 55 ± 2 °C, debido a que se trabajaron 10 muestras por triplicado y como los sistemas a 55 °C, son los que tardaban más tiempo en degradarse, se quiso tener al menos dos temperaturas con los mismos tiempos de muestreo para observar el efecto de la temperatura.

En la literatura, se reporta que a una concentración de sales de 0.55 M, es donde hubo menor efecto de la fuerza iónica bajo sus condiciones de trabajo. A partir de ese valor fue entonces que realizamos el ensayo preliminar a un pH constante de 11, sometiéndolo a temperatura de ebullición a tres diferentes fuerzas iónicas, 0.1966 M, 0.37 M y 0.55 M; la primera concentración es la que se tiene en el sistema de boratos y la cantidad de metronidazol (20 mcg/ml), la segunda es la máxima concentración de sales de uno de los pH's de estudio, y la última es la de referencia tomada de la literatura.

La concentración empleada en el estudio de estabilidad fue de 0.37 M, debido a que hubo menor efecto de la fuerza iónica en condiciones drásticas del estudio (pH 11 y temperatura de 95 °C).



PARTE EXPERIMENTAL



CAPÍTULO II. PARTE EXPERIMENTAL

1. MATERIAL Y APARATOS

MATERIAL	REACTIVOS	APARATOS
<ul style="list-style-type: none"> • 4 Matraces volumétricos de 2000 ml • 5 Matraces volumétricos de 100 ml • 9 Matraces volumétricos de 25 ml • 6 matraces volumétricos de 50 ml • 3 Matraces volumétricos de 10 ml • 3 Vasos de precipitados de 1000 ml • 10 vaso de precipitados de 150 ml • 2 vasos de precipitado de 100 ml • 3 Vasos de precipitados de 20 ml • 2 Pipetas volumétricas de 20 ml • 3 Pipetas volumétricas de 5 ml • 3 Pipetas volumétricas de 4 ml • 1 pipeta volumétricas de 3 ml • 2 pipetas volumétricas de 2 ml • 2 pipetas volumétricas de 1 ml • 1 pipeta volumétricas de 0.5 ml • 2 Probetas graduadas de 100 ml • 1 Bureta de 50 ml • 45 Tubos de ensaye de 15 x 150 mm • 16 Tubos con tapón baquelita de 20 x 250 mm • 800 ampolletas de vidrio de 5 ml • 100 ampolletas de vidrio de 10 ml • 2 agitadores de vidrio • 6 gradillas • 14 mangueras • 7 refrigerantes • 7 matraces de bola de 50 ml • 1 cronómetro • 7 soportes universales • 14 pinzas de 3 dedos • 4 pinzas para tubo de ensaye • 14 nueces • 1 Espátula • 2 Pisetas • 1 Franela • Etiquetas • 2 celdas de cuarzo 	<ul style="list-style-type: none"> • Metronidazol (materia prima) • Sulfametazina (materia prima) • N-Naftilamina GR • Borato de sodio GR • Fosfato de sodio GR • Acetato de sodio GR • Hidróxido de sodio GR • Ácido Clorhídrico concentrado GR • Cloruro de sodio GR • Butano-Oxígeno • Solución de HCl [0.3M] pH 1 con fuerza iónica de 0.37M, 0.55M y sin fuerza iónica • Solución amortiguadora de fosfatos [0.2M] pH 2 con fuerza iónica de 0.37M • Solución amortiguadora de fosfatos [0.2M] pH 4 con fuerza iónica de 0.37M, 0.55M y sin fuerza iónica • Solución amortiguadora de fosfatos [0.2M] pH 6 con fuerza iónica de 0.37M. • Solución amortiguadora de fosfatos [0.2M] pH 8 con fuerza iónica de 0.37M. • Solución amortiguadora de boratos [0.2M] pH 9 con fuerza iónica de 0.37M. • Solución amortiguadora de boratos [0.2M] pH 11 con fuerza iónica de 0.37M, 0.55M y sin fuerza iónica • Solución de Sulfametazina (100 mcg/ml) • Solución de N-Naftilamina (1000 mcg/ml) • Agua desionizada 	<ul style="list-style-type: none"> • Balanza analítica Marca OHAUS No. de serie 1115481240 • Espectrofotómetro Varian Modelo Cary 13E • Multímetro Modelo TEKMM247 • 3 Parrillas eléctricas • 3 Estufas • Sellador de acetileno

1.1. CARACTERÍSTICAS DEL ESTÁNDAR Y MATERIA PRIMA

METRONIDAZOL (ESTÁNDAR)

Estándar Secundario

No. de Control: MP-6K1083

Pureza: 99.19 % B.H.

Clave Interna: PA-TO3

Fecha de Certificación: 14-Enero-97

Fecha de Caducidad: 14-Enero-98

Analista: QFB. R. Morales

Verificado por: QFB. A. Carpintero

Helm de México.

METRONIDAZOL (MATERIA PRIMA)

Materia Prima

Polvo Cristalino Amarillo.

Resultados del análisis del lote No. 0000960424

$C_6H_9N_3O_3$ P.M.171.2

Contenido (Metronidazol) 99.00%

Clave: 1206

Helm de México

NITRITO DE SODIO ($NaNO_2$)

Materia Prima

Granulos

Resultados del Análisis del lote No. 001359

$NaNO_2$ P.M.69.00

Contenido ($NaNO_2$) 99.90 %

Clave:RI-N14

Productos Químicos Monterrey

2.1 ENSAYOS PRELIMINARES

1. Pesar aproximadamente 100 mg de metronidazol (Materia Prima), disolver con agua deionizada.
2. Vaciar la solución anterior en un matraz volumétrico de 100 ml y llevar a la marca de aforo con agua deionizada, ésta es la solución stock de Metronidazol.
3. Pesar aproximadamente 100 mg de Nitrito de Sodio (Materia Prima), disolver con agua deionizada.
4. Vaciar la solución anterior en un matraz volumétrico de 100 ml y llevar a la marca de aforo con agua deionizada, ésta es la solución stock de Nitrito de sodio.
5. Prepare las siguientes soluciones de acuerdo a la siguiente tabla:

TABLA 7. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES PARA ENSAYOS PRELIMINARES.

Alicuota de la Solución Stock de Metronidazol (ml)	Solución Amortiguadora sin Fuerza Iónica Impuesta.	Matraz Volumétrico (ml)	Tiempo de Ebullición (Horas)
1	pH=1	50	6
1	pH=4	50	5
1	pH=11	50	3
Alicuota de la Solución Stock de Metronidazol (ml)	Solución Amortiguadora con una Fuerza Iónica de 0.37 M.	Matraz Volumétrico	Tiempo de ebullición (Horas)
1	pH=1	50	6
1	pH=2	50	6
1	pH=4	50	5
1	pH=6	50	4.5
1	pH=9	50	4.5
1	pH=11	50	3
Alicuota de la Solución Stock de Metronidazol (ml)	Solución Amortiguadora con una Fuerza Iónica de 0.55 M.	Matraz Volumétrico	Tiempo de ebullición (Horas)
1	pH=1	50	6
1	pH=4	50	5
1	pH=11	50	3
Alicuota de la Solución Stock de Nitrito de Sodio (ml)	Solución Amortiguadora con una Fuerza Iónica de 0.55 M.	Matraz Volumétrico	Tiempo de ebullición (Horas)
1	pH=1	50	1.5
1	pH=2	50	1.5
1	pH=4	50	1.5
1	pH=6	50	1.5
1	pH=9	50	1.5
1	pH=11	50	1.5

6. Montar los dispositivos de reflujo.
7. Someter a reflujo las soluciones de metronidazol a diferentes tiempos de ebullición, de acuerdo a la tabla 7
8. Realizar los espectros de las soluciones de Metronidazol y de Nitrito de Sodio a tiempo inicial y a los tiempos de ebullición mencionados en la tabla 7.
9. Realizar a todas las soluciones de la tabla 7 a tiempo inicial y tiempo final de ebullición, la reacción cualitativa de complejación de sales de diazonio para la identificación del ión nitrito.

2.2 DESARROLLO DEL MÉTODO CUANTITATIVO

2.2.1 Linealidad del sistema

Se determinó mediante la construcción de la calibración con una mezcla Metronidazol estándar-Nitrito (20-0, 20-10, 20-20; 15-0, 15-10, 15-20; 10-0, 10-10, 10-20; 5-0, 5-10, 5-20 mcg/ml) preparadas como se indica en la tabla 8, a partir de la misma solución patrón tanto de Metronidazol como de Nitrito, haciendo el análisis por triplicado para cada concentración.

Se realizó la lectura de las muestras empleando un método espectrofotométrico UV-VIS a longitudes de onda de 210, 241, 264, 277, 292.6, 305, 320 y 334 nm.

Los datos de absorbancia obtenidos se les sometió a un tratamiento de Mínimos Cuadrados Parciales.

TABLA # 8 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES PARA LA MEZCLA METRONIDAZOL-NITRITO.

Alicuota de la Sol. Stock de Metronidazol 250 mcg/ml	Alicuota de la Sol. Stock de Nitrito 250 mcg/ml	Solución Amortiguadora	Matraz Volumétrico	Concentración (mcg/ml) Metronidazol-Nitrito	
2 ml	-	pH=4	25 ml	20	-
2 ml	1 ml	pH=4	25 ml	20	10
2 ml	2 ml	pH=4	25 ml	20	20
3 ml	-	pH=4	50 ml	15	-
3 ml	2 ml	pH=4	50 ml	15	10
3 ml	4 ml	pH=4	50 ml	15	20
1 ml	-	pH=4	25 ml	10	-
1 ml	1 ml	pH=4	25 ml	10	10
1 ml	2 ml	pH=4	25 ml	10	20
0.5 ml	-	pH=4	25 ml	5	-
0.5 ml	1 ml	pH=4	25 ml	5	10
0.5 ml	2 ml	pH=4	25 ml	5	20

2.2.2 Precisión y Exactitud del sistema

Se determinó analizando seis muestras preparadas por dilución a partir de la misma solución patrón, de una concentración de 10 $\mu\text{g/ml}$ en solución de acetatos con un pH de 4.

2.2.3 Linealidad del Método

Se determinó mediante la construcción de la calibración con una mezcla Metronidazol (materia prima) - Nitrito (20-0, 20-10, 20-20; 15-0, 15-10, 15-20; 10-0, 10-10, 10-20; 5-0, 5-10, 5-20 mcg/ml) de acuerdo a la tabla 8, a partir de la misma solución patrón tanto de Metronidazol como de Nitrito, haciendo el análisis por triplicado para cada concentración.

Se realizó la lectura de las muestras empleando un método espectrofotométrico UV-VIS a longitudes de onda. de 210, 241, 264, 277, 292.6, 305, 320 y 334 nm. Los datos de absorbancia obtenidos se les sometió a un tratamiento de Mínimos Cuadrados Parciales

2.2.4 Precisión y Exactitud del Método

Se realizó con un mezcla Metronidazol (materia prima) - Nitrito a tres niveles diferentes de concentración (5, 10 y 16 $\mu\text{g/ml}$). Cada concentración fue hecha por sextuplicado, en total fueron 18 muestras. Se registró y se calculó la respuesta obtenida en por ciento de la cantidad recuperada, la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

2.2.4 Características Evaluadas a este Método Analítico.

TABLA # 9. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

Características Evaluadas al Método	Criterios De Aceptación Para este Método Analítico.
Linealidad del Sistema	Pendiente (m) = 1 Ordenada al origen (b) = 0 Coeficiente determinación (r^2) ≥ 0.98 Coeficiente correlación (r) ≥ 0.99 C.V $\leq 2\%$
Precisión del Sistema	C.V $\leq 2\%$
Exactitud del Sistema	$t_{\text{cal}} < t_{\text{crítica}} (\alpha=0.05)$
Linealidad del Método	Pendiente (m) = 1 Ordenada al origen (b) = 0 Coeficiente determinación (r^2) ≥ 0.98 Coeficiente correlación (r) ≥ 0.99 C.V $\leq 2\%$
Precisión del Método	C.V $\leq 2\%$
Exactitud del Método	$t_{\text{cal}} < t_{\text{crítica}} (\alpha=0.05)$

2.3 ESTUDIO DE ESTABILIDAD

2.3.1 Preparación de soluciones con fuerza iónica de 0.37 M.

1. Preparar solución stock de metronidazol de 500 mcg/ml.
2. Tomar una alícuota de 4 ml de la solución stock de metronidazol, transferir a un matraz volumétrico de 100 ml y llevar a la marca del aforo con ácido clorhídrico

(pH 1) con fuerza iónica de 0.37 M, para obtener una concentración de 20 mcg/ml de metronidazol.

3. Tomar una alícuota de 5 ml de la solución anterior y vaciarla a una ampollita de 5ml. Repetir este paso 10 veces.

Realizar los pasos 2,3 por triplicado

4. Tomar 10 ml de solución de ácido clorhídrico (pH 1) con fuerza iónica de 0.37 M y vaciarla a una ampollita de 10 ml. Repetir este paso 10 veces.
5. Sellar las ampollitas con gas oxígeno-butano.
6. Someter las 40 ampollitas a las condiciones de estabilidad indicadas en la tabla 10.

Repetir este procedimiento para pH 2, pH4, pH 6, pH 9 y pH11

2.3.2 Preparación de soluciones con 0.1966M, 0.37M, 0.55M a pH 11.

1. Preparar solución stock de metronidazol 500 mcg/ml.
2. Tomar una alícuota de 4 ml de la solución stock de metronidazol, transferir a un matraz volumétrico de 100 ml y llevar a la marca del aforo con solución amortiguadora de boratos (pH 11) con fuerza iónica impuesta de 0.37 M para obtener una concentración de 20 mcg/ml de metronidazol.
3. Tomar una alícuota de 5 ml de la solución anterior y vaciarla a una ampollita de 5ml. Repetir este paso 10 veces.
4. Realizar los pasos 2,3 por triplicado
5. Tomar 10 ml de solución amortiguadora de boratos (pH 11) con fuerza iónica impuesta de 0.37 M. y vaciarla a una ampollita de 10 ml. Repetir este paso 10 veces.
6. Sellar las ampollitas con gas oxígeno-butano.
7. Someter las 40 ampollitas a temperaturas de trabajo indicados en la tabla 10.
8. Leer la absorbancia, pH y la resistencia (multímetro) de las soluciones a diferentes tiempos.
9. Realizar la prueba cualitativa de las muestras.

Repetir este procedimiento para pH 11 con fuerza iónica impuesta de 0.1966 M y 0.55 M.

TABLA # 10. CONDICIONES DE ESTABILIDAD

CONDICIÓN	TEMPERATURA (°C)	pH	FUERZA IÓNICA (M)
1	25	1, 2, 4, 6, 9 11	0.37
2	55	1, 2, 4, 6, 9 11	0.37
3	75	1, 2, 4, 6, 9 11	0.37
4	95	1, 2, 4, 6, 9 11	0.37
5	95	11	0.1966, 0.37, 0.55

*Preparar cada sistema por triplicado.

3. OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES ESPECTROFOTOMÉTRICAS

3.1 SELECCIÓN DE LONGITUDES DE ONDA

El Espectrofotómetro Varian que se usó cuenta con un programa de Applications Development Language (ADL) el cual presenta las lecturas de absorbancia a las longitudes de onda dadas por el usuario. Así el usuario introduce las longitudes de onda de interés al inicio. Las lecturas de blanco son tomadas a cada longitud de onda y son restadas desde cada lectura de muestra subsecuente. El programa procesará los datos a cada longitud de onda y tomará la lectura de absorbancia neta es decir ya restada de la solución blanco

Las longitudes de onda seleccionadas fueron 210, 241, 264, 277, 292.6, 305, 320, 334 esto debido a las características de los espectros de absorción.

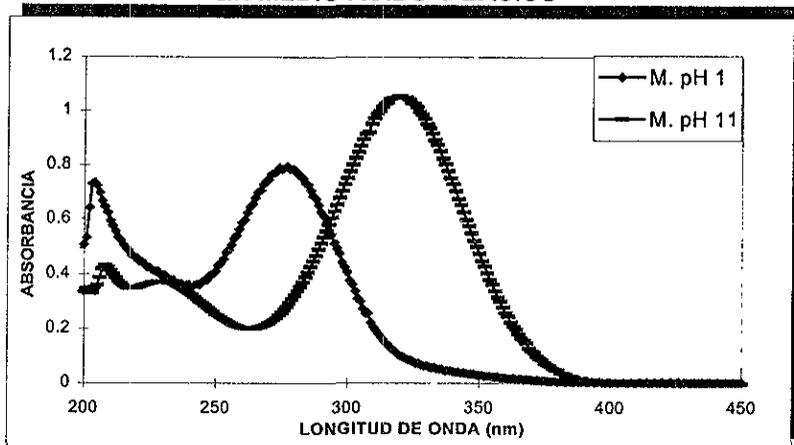


RESULTADOS



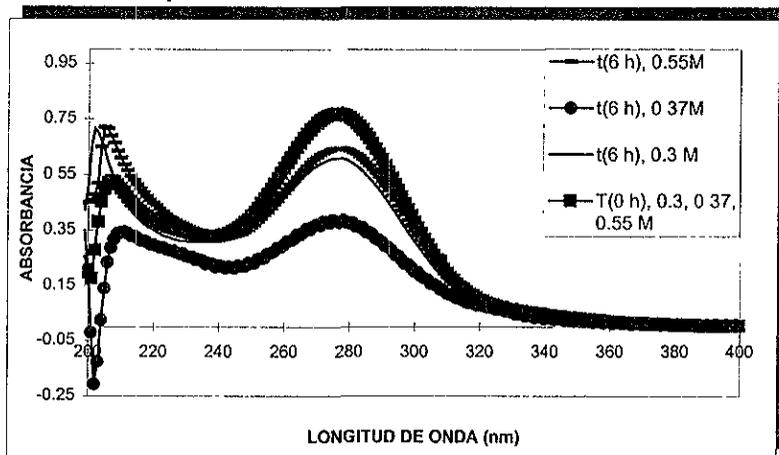
I. RESULTADOS DE LOS ENSAYOS PRELIMINARES

Fig. 3. ESPECTROS DE ABSORCIÓN DEL METRONIDAZOL EN MEDIO ÁCIDO Y BÁSICO



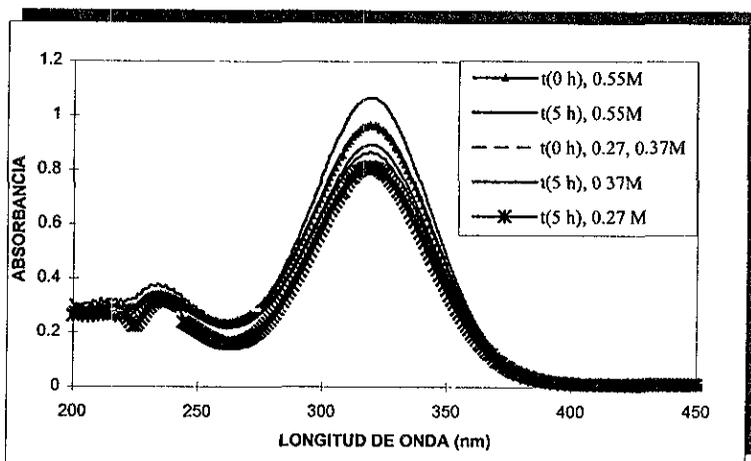
El metronidazol a pH 1, presenta un máximo de absorbanca a una longitud de onda (λ) de 277 nm, y en pH 11, un máximo a una $\lambda = 320$ nm.

Fig. 4. ESPECTROS DE ABSORCIÓN DE METRONIDAZOL EN pH 1 A DIFERENTES FUERZAS IÓNICAS



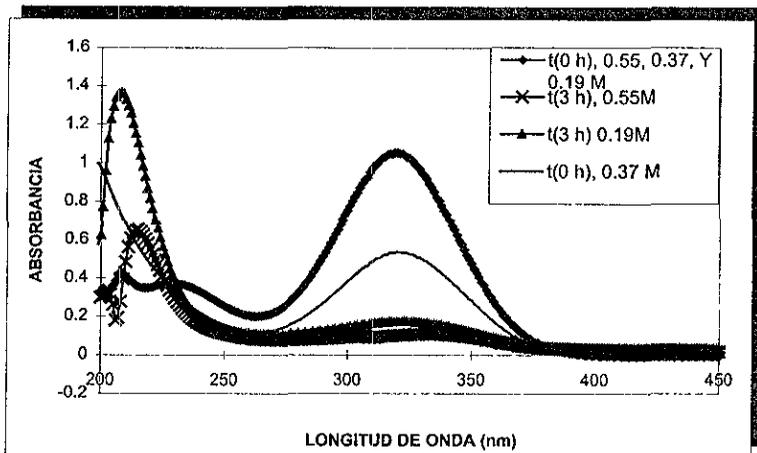
A pH 1, en $\lambda = 277$ nm. A tiempo los valores de absorbanca son 0.7921, 0.7865 y 0.79. A 6 horas de refluo son de 0.3721, 0.3752 y 0.6434, para las fuerzas iónicas (μ) de 0.3, 0.37 y 0.55 M, respectivamente.

Fig. 5. ESPECTROS DE ABSORCIÓN DE METRONIDAZOL EN pH 4 A DIFERENTES FUERZAS IÓNICAS



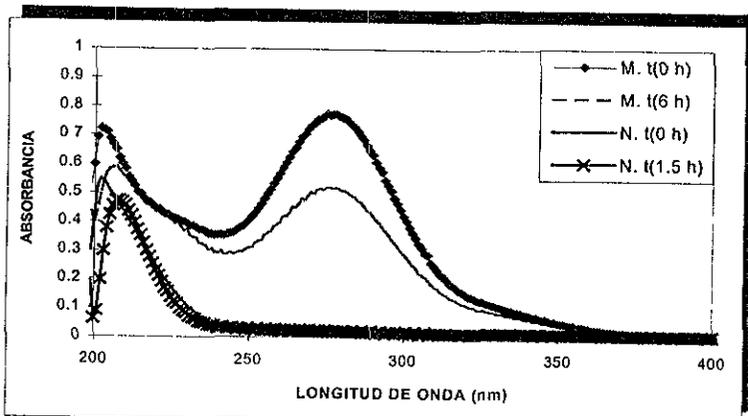
A pH 4, en $\lambda = 320$ nm. A tiempo los valores de absorbancia son 0.9731, 0.9684 y 1.066. A 6 horas después de reflujo son de 0.8924, 0.8657 y 0.9664, para las fuerzas iónicas (μ) de 0.27, 0.37 y 0.55 M, respectivamente.

Fig. 6. ESPECTROS DE ABSORCIÓN DE METRONIDAZOL EN pH 11 A DIFERENTES FUERZAS IÓNICAS



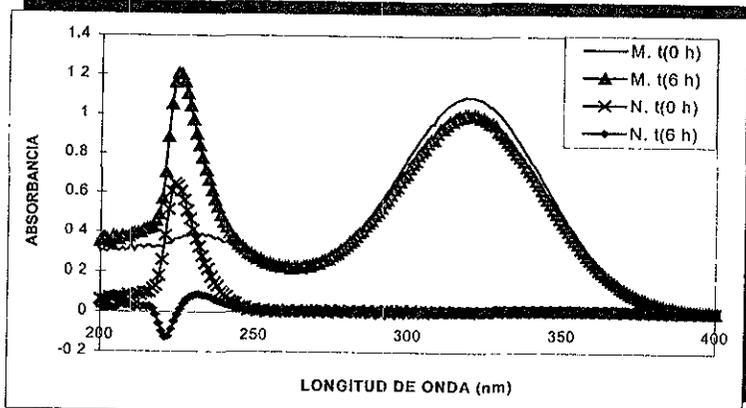
A pH 11, en $\lambda = 320$ nm. A tiempo cero los valores de absorbancia 1.0533, 1.0538 y 1.0541. A 6 horas después de reflujo son de 0.1714, 0.5324 y 0.1008, para las fuerzas iónicas (μ) de 0.19, 0.37 y 0.55 M, respectivamente.

Fig. 7. ESPECTROS DE ABSORCIÓN DE METRONIDAZOL Y NITRITO EN pH 2 (μ 0.37 M) A DIFERENTES TIEMPOS DE EBULLIÇÃO



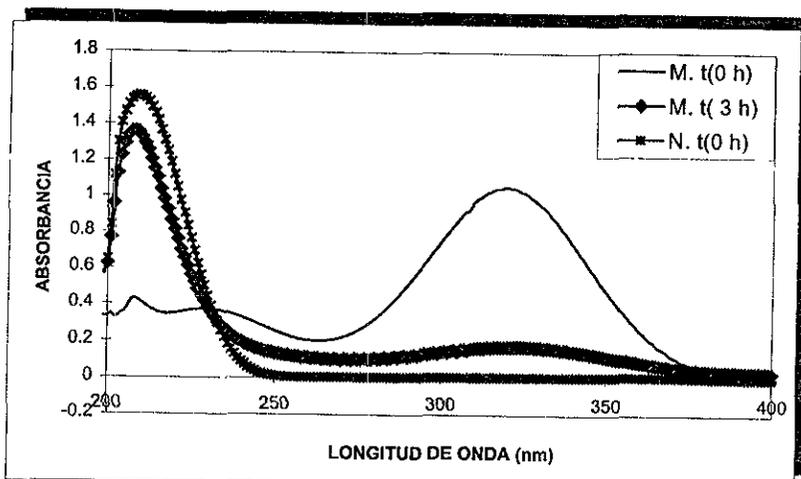
El metronidazol a tiempo cero a $\lambda = 202$ y 277 nm, presenta valores de absorbancia de 0.72 y 0.7. Y a seis horas de estar en reflujo a 207 y 277 nm absorbancias de 0.58 y 0.51, respectivamente. El nitrito presenta máximos $\lambda = 202$ y 207 nm con valores de absorbancia de 0.548 y -0.47 , para $t = 0$ y 1.5 h.

Fig. 8. ESPECTROS DE ABSORCIÓN DE METRONIDAZOL Y NITRITO EN pH 6 (μ 0.37 M) A DIFERENTES TIEMPOS DE EBULLIÇÃO



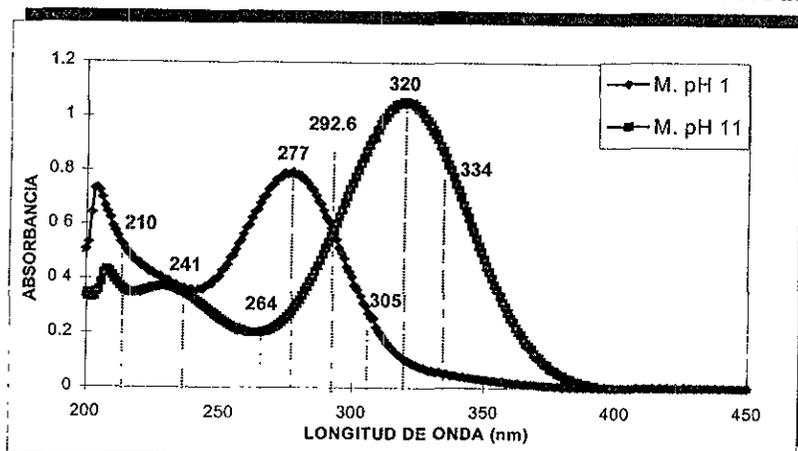
El metronidazol a tiempo cero a $\lambda = 320$ nm, presenta un valor de absorbancia de 1.089. A seis horas de estar en reflujo de 0.994, y a $\lambda = 225$ nm aparece un máximo de 1.20 de absorbancia. El nitrito presenta máximos a $\lambda = 224$ y 232 nm con un valor de absorbancia de 0.645 y 0.0854, para $t = 0$ y 1.5 h.

Fig. 9. ESPECTROS DE ABSORCIÓN DE METRONIDAZOL Y NITRITO EN pH 11 (μ 0.37 M) A DIFERENTES TIEMPOS DE EBULLICIÓN



El metronidazol a tiempo cero a $\lambda = 320$ nm, presenta un valor de absorción de 1.053. A tres horas de estar en reflujo de 0.1714, y a $\lambda = 208$ nm aparece un máximo de 1.36 de absorción. El nitrito presenta un máximo $\lambda = 209$ nm con un valor de absorción de 1.557 para $t = 0$ h.

Fig. 10. SELECCIÓN DE LAS OCHO LONGITUDES DE ONDA DE TRABAJO



Las longitudes de onda se seleccionaron a partir de ambas especies del metronidazol en solución.

II. RESULTADOS DEL MÉTODO ANALÍTICO DESARROLLADO.

♦ LINEALIDAD DEL SISTEMA.

TABLA 11. DATOS DE CONCENTRACIÓN ESTIMADA Y REAL (CALIBRACIÓN DEL SISTEMA).

C. ESTIMADA (mcg/ml)	CONCENTRACIONES REALES (mcg/ml)			
	5	10	15	20
CONC. EST. 1	4.843459	9.9896173	14.894571	19.856482
CONC. EST. 2	4.872338	10.002887	14.898894	19.921587
CONC. EST. 3	4.897354	10.045595	14.914173	19.928224
CONC. EST. 4	4.901593	10.04796	14.941656	19.964077
CONC. EST. 5	4.941932	10.054622	15.009775	19.985048
CONC. EST. 6	4.969419	10.096685	15.029638	20.019229
CONC. EST. 7	4.982828	10.206559	15.037701	20.024643
CONC. EST. 8	5.008195	10.214412	15.071037	20.033579
CONC. EST. 9	5.050737	10.23659	15.07271	20.034193

TABLA 12. NORMALIZACIÓN DE LOS DATOS (C. EST./C. REAL) (LINEALIDAD DEL SISTEMA)

5	10	15	20
0.9686917	0.9989617	0.9929714	0.9928241
0.9744676	1.0002887	0.9932596	0.9960793
0.9794708	1.0045595	0.9942782	0.9964112
0.9803186	1.004796	0.9961104	0.9982038
0.9883864	1.0054622	1.0006517	0.9992524
0.9938837	1.0096685	1.0019759	1.0009614
0.9965656	1.0206559	1.0025134	1.0012321
1.0016391	1.0214412	1.0047358	1.0016789
1.0101474	1.023659	1.0048474	1.0017097
PROMEDIO			0.9989656
DESVIACIÓN ESTÁNDAR			0.0113008
COEFICIENTE DE VARIACIÓN (%)			1.1312543

TABLA 13. REGRESIÓN LINEAL

ESTADÍSTICAS DE LA REGRESIÓN	
r	0.999862
r ²	0.999723
r ² ajustado	0.999715
Error típico	0.095662
Observaciones	36
Intercepto "b"	0.003532
Pendiente "m"	0.999717

ANÁLISIS DE VARIANCIA

Hipótesis.

Ho. La concentración real y la concentración estimada no están linealmente relacionadas.

Ha. La concentración real y la concentración estimada están linealmente relacionadas.

TABLA 14. ANOVA

Fuentes de variación	SC	GL	CM	RV	Probabilidad	Valor crítico F
REG. LIN.	1124.493	3	374.830	65589.3	1.103E-60	2.90111757
RESIDUAL	0.182874	32	0.00571			
TOTAL	1124.675	35				

Si $RV > F$ Se rechaza Ho.

Si $RV < F$ No se rechaza Ho.

$65589.323 > 2.90111757$ ∴ La concentración real y la concentración estimada están linealmente relacionadas

PRUEBA DEL INTERCEPTO

Hipótesis

Ho. $b = 0$ Ha. $b \neq 0$

TABLA 15. ESTADÍSTICOS DEL INTERCEPTO

Coeficiente	Valor	Error típico	Est. t	Nivel de Sig.	Lim. inf 95%	Lim. sup. 95%
Intercepto	0.003532	0.0390537	0.09044	0.9284671	-0.075834	0.08289872

Si el nivel de significancia $> 0.05\%$ No se rechaza Ho.

Si el nivel de significancia $\leq 0.05\%$ Se rechaza Ho.

$0.9284671 > 0.05 \therefore$ El intercepto es igual a cero

Fig. 11. LINEALIDAD DEL SISTEMA

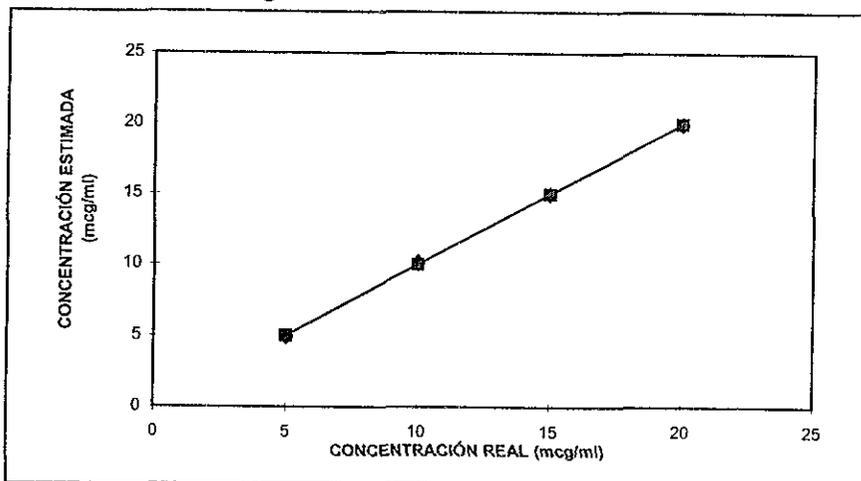
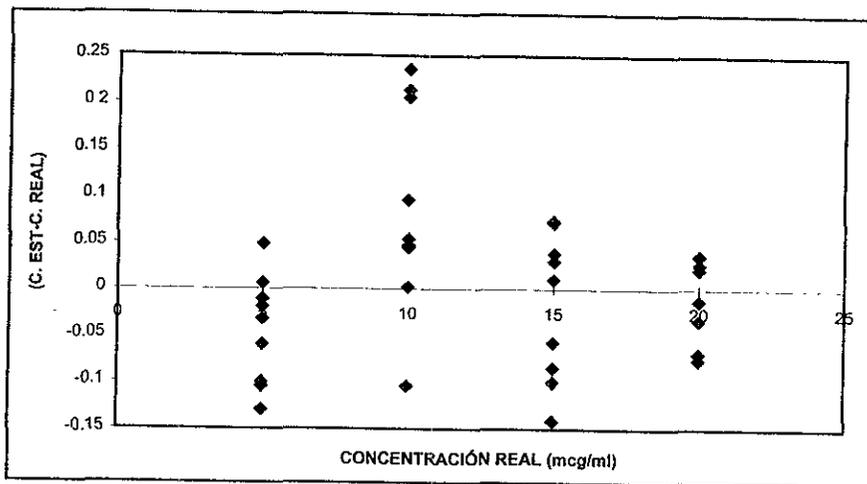


Fig. 12. GRÁFICO DE RESIDUALES



◆ PRECISIÓN DEL SISTEMA

TABLA 16. PRECISIÓN DEL SISTEMA

REAL	ESTIMADA	EST/REAL
10.07032	10.196289	1.012509
	10.082465	1.001206
	10.066652	0.999636
	10.019000	0.994904
	10.072919	1.000258
	9.953342	0.988384
COEFICIENTE DE VARIACIÓN (%)		0.727733

PRUEBA t DE STUDENT

Hipótesis.

Ho. La media muestral es igual a la media poblacional. ($\bar{x} = \mu$)

Ha. La media muestral es diferente a la media poblacional. ($\bar{x} \neq \mu$)

◆ EXACTITUD DEL SISTEMA

TABLA 17. EXACTITUD DEL SISTEMA

CONCENTRACIÓN (mcg/ml)	ESTADÍSTICO t
10.07032	-0.1590171
VALOR CRÍTICO $t_{(\alpha-1), n-1}$ 2.22813924	

Si $t_c \leq t_{(\alpha-1), n-1} \therefore$ Ho. no se rechaza

Si $t_c > t_{(\alpha-1), n-1} \therefore$ Ho. se rechaza

-0.1590171 < 2.22813924 \therefore las medias son iguales a una concentración de
10.07032 mcg/ml

◆ LINEALIDAD DEL MÉTODO

**TABLA 18. DATOS DE CONCENTRACIÓN ESTIMADA Y REAL
(CALIBRACIÓN DEL MÉTODO)**

C. ESTIMADA (mcg/ml)	CONCENTRACIONES REALES (mcg/ml)			
	5.008	10.016	15.024	20.032
CONC. EST. 1	4.7360428	10.047519	14.937257	19.700534
CONC. EST. 2	4.7956016	10.103449	15.062091	19.852172
CONC. EST. 3	4.8394992	10.132047	15.070706	19.860209
CONC. EST. 4	4.8684127	10.153361	15.07582	19.898176
CONC. EST. 5	4.8850987	10.18509	15.111145	19.929929
CONC. EST. 6	4.9010531	10.209697	15.120583	19.939239
CONC. EST. 7	4.9247979	10.211428	15.146835	19.982044
CONC. EST. 8	4.9538018	10.288115	15.156849	20.029473
CONC. EST. 9	4.9865179	10.350235	15.174875	20.100295

**TABLA 19. NORMALIZACIÓN DE LOS DATOS
(C. EST./C. REAL) (LINEALIDAD DEL MÉTODO)**

5.008	10.016	15.024	20.032
0.9456954	1.0031468	0.9942264	0.9834532
0.9575882	1.008731	1.0025354	0.991023
0.9663537	1.0115862	1.0031088	0.9914241
0.9721271	1.0137142	1.0034492	0.9933195
0.975459	1.016882	1.0058004	0.9949046
0.9786448	1.0193387	1.0064286	0.9953694
0.9833862	1.0195116	1.0081759	0.9975062
0.9891777	1.0271681	1.0088424	0.9998738
0.9957104	1.0333701	1.0100422	1.0034093
PROMEDIO			0.9975806
DESVIACIÓN ESTÁNDAR			0.0183559
COEFICIENTE DE VARIACIÓN (%)			1.8400415

TABLA 20. REGRESIÓN LINEAL

ESTADÍSTICAS DE LA REGRESIÓN	
r	0.9996733
r ²	0.9993467
r ² ajustado	0.999328
Error típico	0.1546365
Observaciones	37
Intercepto "b"	-0.000162
Pendiente "m"	1.0000133

ANÁLISIS DE VARIANCIA

Hipótesis.

Ho. La concentración adicionada y la concentración recuperada no están linealmente relacionadas.

Ha. La concentración adicionada y la concentración recuperada están linealmente relacionadas.

TABLA # 21. ANOVA

<i>Fuentes de variación</i>	<i>SC</i>	<i>GL</i>	<i>CM</i>	<i>RV</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico F</i>
REG. LIN.	1127.468	3	375.82272	45604.589	3.691E-58	2.9011176
RESIDUAL	0.263708	32	0.0082409			
TOTAL	1127.731	35				

Si $RV > F$ Se rechaza H_0 .

Si $RV < F$ No se rechaza H_0 .

$45604.589 > 2.9011176 \therefore$ La concentración adicionada y la concentración recuperada están linealmente relacionadas

PRUEBA DEL INTERCEPTO Y DE PENDIENTE

Hipótesis

Para la prueba del intercepto.

Para la prueba de la pendiente.

$H_0. b = 0$

$H_0. m \neq 1$

$H_a. b \neq 0$

$H_a. m = 1$

TABLA # 22 ESTADÍSTICOS DEL INTERCEPTO Y DE PENDIENTE

Coefficiente	Valor	Error típico	Est. t	Nivel de Sig.	Lím. inf 95%	Lím. sup. 95%
Intercepto	-0.000162	0.0584632	-0.002774	0.9978027	-0.118849	0.118524
Pendiente	1.0000133	0.0043218	231.38778	2.462E-57	0.9912396	1.0087871

Si el nivel de significancia $> 0.05 \%$ No se rechaza H_0 .

Si el nivel de significancia $\leq 0.05 \%$ Se rechaza H_0 .

$0.9978027 > 0.05 \therefore$ El intercepto es igual a cero

$2.462E-57 \leq 0.05 \therefore$ La pendiente es igual a 1

♦ PRECISIÓN DEL MÉTODO

TABLA # 23. PRECISIÓN DEL MÉTODO

REAL	ESTIMADA	EST/REAL
5.01	4.945005	0.987026946
	4.98766	0.995540918
	4.944687	0.986963473
	4.844422	0.966950499
	4.956686	0.989358483
	4.897717	0.977588224
COEFICIENTE DE VARIACIÓN (%) 0.938498233		
10.115	10.18425	1.006846268
	10.11536	1.000035591
	10.21927	1.010308453
	10.29203	1.01750173
	10.2763	1.015946614
	10.2385	1.01220959
COEFICIENTE DE VARIACIÓN (%) 0.577756072		
16.16	16.28697	1.007857054
	16.13944	0.998727723
	16.24566	1.005300743
	16.43451	1.016987005
	16.53019	1.022907797
	16.33693	1.010948639
COEFICIENTE DE VARIACIÓN (%) 0.775924033		

PRUEBA t DE STUDENT**Hipótesis.**

Ho. La media muestral es igual a la media poblacional. ($\bar{x} = \mu$)

Ha. La media muestral es diferente a la media poblacional. ($\bar{x} \neq \mu$)

♦ EXACTITUD DEL MÉTODO

TABLA 24. EXACTITUD DEL MÉTODO

CONCENTRACIÓN (mcg/ml)	ESTADÍSTICO t
5.01	5.14803738
10.115	-4.01196321
16.16	-2.98171229
VALOR CRÍTICO $t_{(\alpha-1), n-1}$ 2.22813924	

Si $t_c \leq t_{(\alpha-1), n-1} \therefore$ Ho. no se rechaza

Si $t_c > t_{(\alpha-1), n-1} \therefore$ Ho. se rechaza

5.14803738 > 2.22813924 \therefore las medias son diferentes a una concentración de 5 mcg/ml

-4.01196321 < 2.22813924 \therefore las medias son iguales a una concentración de 10 mcg/ml

-2.98171229 < 2.22813924 \therefore las medias son iguales a una concentración de 16 mcg/ml

Fig. 13. LINEALIDAD DEL MÉTODO

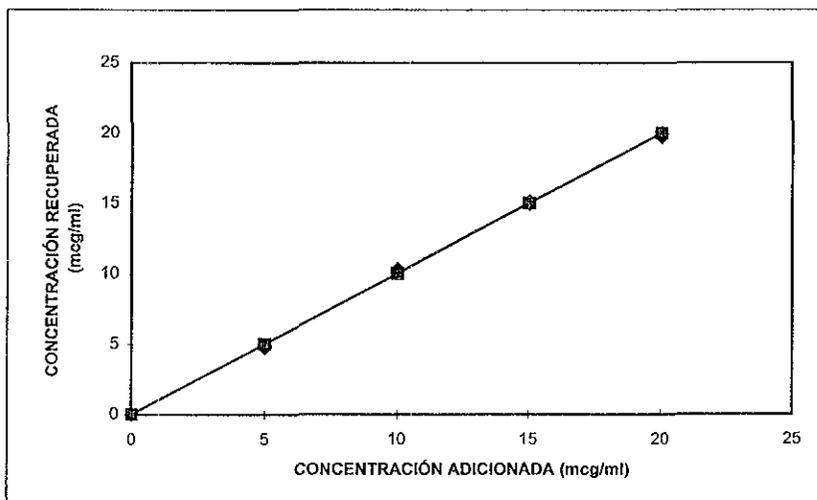
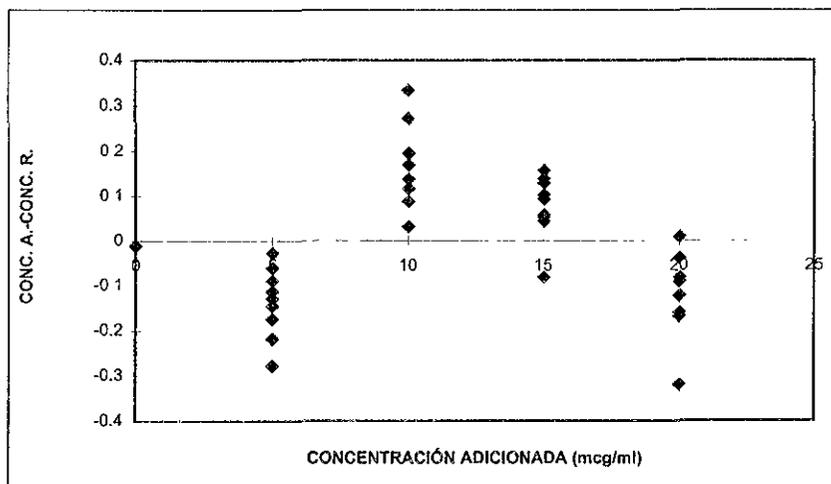


Fig.14. RESIDUALES DE LA LINEALIDAD DEL MÉTODO



III. RESULTADOS DEL ESTUDIO DE ESTABILIDAD.

TABLA 25-A. DATOS PRIMARIOS CINÉTICA DE METRONIDAZOL EN pH 1 A DIFERENTES TEMPERATURAS

TIEMPO (h)	ln CONC. T 25 °C	ln CONC. T 55 °C	ln CONC. T 75 °C	ln CONC. T 95 °C
0	3.0047	2.9889	2.9978	2.9856
2	3.0013	2.9856	-----	2.9234
2.3333	-----	-----	2.9915	-----
3.0666	-----	-----	-----	2.8571
5.0666	-----	-----	-----	2.7842
7.0666	-----	-----	-----	2.6311
7.4666	-----	-----	2.9232	-----
10.0666	-----	-----	-----	2.5283
12.2832	-----	-----	-----	2.4021
12.3439	-----	-----	2.7538	-----
15.2832	-----	-----	-----	2.3137
17	2.9954	2.9804	-----	-----
17.2832	-----	-----	-----	2.2343
17.3499	-----	-----	2.6108	-----
20.4498	-----	-----	-----	2.1667
25.8499	-----	-----	2.4770	-----
26.0999	-----	-----	2.3852	-----
26.3499	-----	-----	2.3071	-----
44.9332	-----	-----	2.2064	-----
70.5165	-----	-----	2.12401	-----
153.6666	2.9941	2.9535	-----	-----
235.4166	2.9910	2.8484	-----	-----
405.4166	2.9882	2.6784	-----	-----
596.8332	2.9840	2.5044	-----	-----
736.8332	2.9837	-----	-----	-----
859.9165	2.9755	2.2960	-----	-----
979.9165	2.9770	2.2402	-----	-----

TABLA 25-B. DATOS DE REGRESIÓN pH 1 DIFERENTES TEMPERATURAS

TEMPERATURAS (°C)	INTERCEPTO ln CONC.	PENDIENTE K (h ⁻¹)	COEF. CORR. (r)	COEF. DETERM. (r ²)
25	2.9994	-2.49E-05	0.9378	0.8795
55	3.0107	-0.00080647	0.9935	0.9670
75	2.9017383	-0.01390292	0.90550171	0.8993335
95	2.97680871	-0.04258002	0.99270991	0.98547296

**TABLA 26-A. DATOS PRIMARIOS CINÉTICA DE METRONIDAZOL
EN pH 2 A DIFERENTES TEMPERATURAS**

TIEMPO (h)	ln CONC. T 25 °C	ln CONC. T 55 °C	ln CONC. T 75 °C	ln CONC. T 95 °C
0	3.0060	2.9952	2.9894	2.9992
1.5	-----	2.9868	-----	-----
2	-----	-----	2.9799	2.9764
2.5	2.9979	-----	-----	-----
7	-----	-----	-----	2.8929
8	-----	-----	2.9733	-----
11	-----	-----	-----	2.7693
15	-----	-----	-----	2.5694
19	-----	-----	-----	2.5314
20	-----	-----	2.8208	-----
23	-----	-----	-----	2.4642
27	-----	-----	-----	2.4163
30	-----	-----	2.6371	-----
31.1666	-----	-----	-----	2.3763
42	-----	-----	2.5933	-----
44.5	-----	-----	2.4412	-----
45.9999	-----	-----	-----	2.2691
47	-----	-----	2.3524	-----
51.25	-----	2.9553	-----	-----
52	-----	-----	2.2701	-----
60	-----	-----	2.2395	-----
214.25	2.9994	2.8389	-----	-----
333.25	2.9943	2.7579	-----	-----
501.5833	2.9860	2.6304	-----	-----
546.3333	2.9851	2.5790	-----	-----
669.4166	2.9851	2.4801	-----	-----
910.0832	2.9808	2.3574	-----	-----

TABLA 26-B. DATOS DE REGRESIÓN pH 2 DIFERENTES TEMPERATURAS

TEMPERATURAS (°C)	INTERCEPTO ln CONC.	PENDIENTE K (h ⁻¹)	COEF. CORR. (r)	COEF. DETERM. (r ²)
25	3.00156862	-2.3718E-05	0.82812754	0.68579523
55	2.98190974	-0.00068227	0.98823572	0.97660984
75	3.03944203	-0.01341685	0.97937152	0.95916857
95	2.94596911	-0.0176622	0.94522236	0.89344531

**TABLA 27-A. DATOS PRIMARIOS CINÉTICA DE METRONIDAZOL
EN pH 4 A DIFERENTES TEMPERATURAS**

TIEMPO (h)	ln CONC. T 25 °C	ln CONC. T 55 °C	ln CONC. T 75 °C	ln CONC. T 95 °C
0	3.0158	2.9870	2.9800	2.9791
170	-----	-----	-----	2.7636
171	2.9900	2.9860	2.8143	-----
196.6666	-----	-----	-----	2.7070
197.6666	-----	-----	2.7558	-----
198.6666	-----	-----	-----	2.6504
199.6666	-----	-----	2.7363	-----
203.6666	-----	-----	-----	2.5852
204.6666	-----	-----	2.7227	-----
218.5833	2.9897	2.9859	2.7063	-----
229.5832	-----	-----	-----	2.5604
267.7448	-----	-----	2.6694	-----
278.7498	-----	-----	-----	2.4503
290.6664	-----	-----	-----	2.4204
291.5822	-----	-----	2.6306	-----
302.5833	-----	-----	-----	2.3613
314.4496	-----	-----	-----	2.3372
437.1998	2.9861	2.9853	-----	-----
615.1664	2.9827	2.9758	-----	-----
704.25	-----	-----	2.6206	-----
774.5	2.9669	2.9596	-----	-----
991.1666	2.9667	2.9312	-----	-----
1158.6666	2.9826	2.9247	-----	-----
1399.3332	2.9773	2.9124	-----	-----
1445.3333	-----	-----	2.4619	-----
1446.6666	2.9793	2.9228	-----	-----

TABLA 27-B. DATOS DE REGRESIÓN pH 4 DIFERENTES TEMPERATURAS

TEMPERATURAS (°C)	INTERCEPTO ln CONC.	PENDIENTE K (H ⁻¹)	COEF. CORR. (r)	COEF. DETERM. (r ²)
25	2.99425066	-1.5563E-05	0.52575598	0.27641935
55	2.999284	-0.000059	0.934182	0.872695
75	2.808937	-0.000268	0.823775	0.678605
95	3.04326782	-0.0021147	0.96169373	0.92485484

**TABLA 28-A. DATOS PRIMARIOS CINÉTICA DE METRONIDAZOL
EN pH 6 A DIFERENTES TEMPERATURAS**

TIEMPO (h)	In CONC. T 25 °C	In CONC. T 55 °C	In CONC. T 75 °C	In CONC. T 95 °C
0	3.0507	3.0009	2.9871	2.9906
170	-----	-----	-----	2.8472
171	3.0313	3.0006	2.9343	-----
196.5666	-----	-----	-----	2.8041
197.6666	-----	-----	2.8869	-----
266.7499	-----	-----	-----	2.7414
267.749	-----	-----	2.8857	-----
290.5832	-----	-----	-----	2.6936
291.5832	-----	-----	2.8681	-----
436.1665	-----	-----	-----	2.5429
533.6665	-----	-----	-----	2.5191
534.5833	-----	-----	2.8614	-----
615.1666	2.9966	2.9921	-----	-----
701.6665	-----	-----	-----	2.4103
773.4999	-----	-----	-----	1.9640
821.5	-----	-----	-----	1.8710
894.25	2.9941	2.9804	2.8159	-----
1034.25	3.0114	2.9770	-----	-----
1157.3333	3.0433	2.9826	-----	-----
1277.3333	3.0120	2.9854	2.7639	-----
1397.9999	3.0174	2.9775	-----	-----
1445.3333	2.9834	2.9824	2.7382	-----

TABLA 28-B. DATOS DE REGRESIÓN pH 6 DIFERENTES TEMPERATURAS

TEMPERATURAS (°C)	INTERCEPTO In CONC.	PENDIENTE K (H ⁻¹)	COEF. CORR. (r)	COEF. DETERM. (r ²)
25	3.0353	-2.23E-05	0.4569	0.20879
55	3.0048	-1.94E-05	0.7573	0.5735
75	2.9412	-0.00014	0.9475	0.8978
95	3.0633	-0.00125	0.9496	0.9018

**TABLA 29-A. DATOS PRIMARIOS CINÉTICA DE METRONIDAZOL
EN pH 9 A DIFERENTES TEMPERATURAS**

TIEMPO (H)	ln CONC. T 25 °C	ln CONC. T 55 °C	ln CONC. T 75 °C	ln CONC. T 95 °C
0	3.0293	3.0159	3.0202	3.0157
2	3.0016	2.9864	2.9804	2.9230
4	2.9655	2.9885	2.9703	2.6011
5	-----	-----	-----	2.5731
5.1666	-----	-----	-----	2.5553
5.3333	-----	-----	-----	2.5172
5.5	-----	-----	-----	2.4610
5.8333	-----	-----	-----	2.4135
6	-----	-----	2.9584	-----
6.1666	-----	-----	-----	2.3871
7.4166	-----	-----	-----	2.3363
18.9	-----	-----	2.8683	-----
42.0666	-----	-----	2.5796	-----
42.1333	2.9359	2.9789	-----	-----
91.2332	-----	-----	2.4010	-----
92.2332	-----	-----	2.3037	-----
93.3165	-----	-----	2.1455	-----
95.2331	-----	-----	1.9440	-----
178.4163	2.9269	2.9705	-----	-----
260.1666	2.9195	2.9394	-----	-----
715.5	2.9012	2.7410	-----	-----
760.25	-----	2.6611	-----	-----
1003.3334	2.9240	2.4620	-----	-----
1124	2.8983	2.3307	-----	-----

TABLA 29-B. DATOS DE REGRESIÓN pH 9 DIFERENTES TEMPERATURAS

TEMPERATURAS (°C)	INTERCEPTO ln CONC.	PENDIENTE K (h ⁻¹)	COEF. CORR. (r)	COEF. DETERM. (r ²)
25	2.9702	-0.000069	0.6768	0.4581
55	3.0291	-0.000542	0.9726	0.9460
75	3.0085	-0.00880	0.9583	0.9183
95	3.0504	-0.1017	0.9798	0.9599

**TABLA 30-A. DATOS PRIMARIOS CINÉTICA DE METRONIDAZOL
EN pH 11 A DIFERENTES TEMPERATURAS**

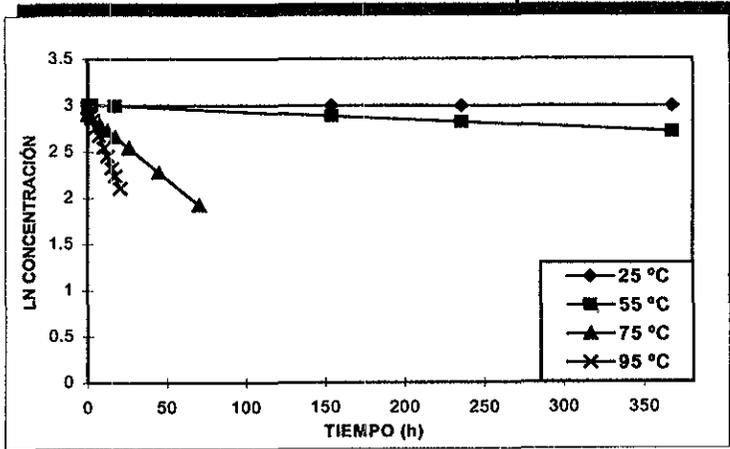
TIEMPO (h)	ln CONC. T 25 °C	ln CONC. T 55 °C	ln CONC. T 75 °C	ln CONC. T 95 °C
0	2.9233	2.8860	2.9081	2.9346
1	-----	-----	-----	2.7613
1.25	-----	-----	-----	2.6431
1.5	-----	-----	-----	2.5518
1.6666	-----	-----	-----	2.5357
1.8332	-----	-----	-----	2.4793
2	-----	-----	-----	2.4735
2.3333	-----	-----	-----	2.2755
2.5833	-----	-----	-----	2.0876
2.8333	-----	-----	-----	2.0121
3.6666	-----	-----	2.7675	-----
4.6666	-----	-----	2.6538	-----
6.0832	-----	-----	2.5003	-----
7.4998	-----	-----	2.3514	-----
7.8833	2.8904	2.8615	-----	-----
8.4998	-----	-----	2.1199	-----
8.9998	-----	-----	2.0334	-----
10.1498	-----	-----	1.9553	-----
51.0499	2.8688	2.6325	-----	-----
72.2999	2.8639	2.4653	-----	-----
89.5499	2.8571	2.2974	-----	-----
90.5499	2.8582	2.2392	-----	-----
92.7999	-----	2.2123	-----	-----
96.6332	-----	2.1835	-----	-----
97.2999	-----	2.0770	-----	-----
97.2999	2.8558	-----	-----	-----
260.7999	2.8294	-----	-----	-----
715.1333	2.7633	-----	-----	-----
835.1333	2.7436	-----	-----	-----

EST. FARM. UNIV. DE LA GUAYANA

TABLA 30-B. DATOS DE REGRESIÓN pH 11 DIFERENTES TEMPERATURAS

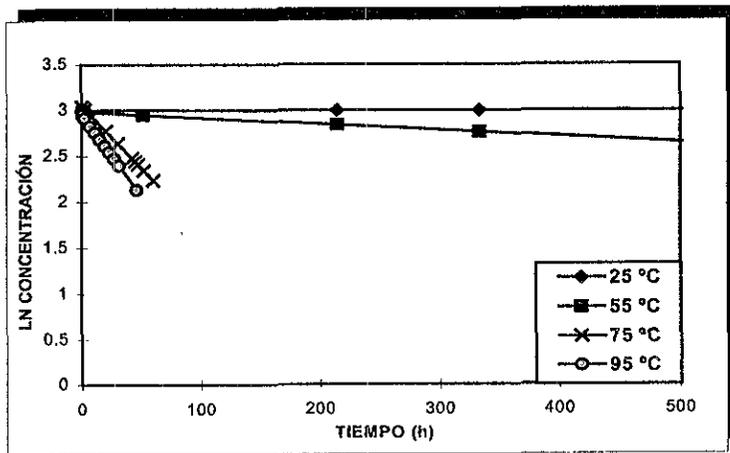
TEMPERATURAS (°C)	INTERCEPTO ln CONC.	PENDIENTE K (h ⁻¹)	COEF. CORR. (r)	COEF. DETERM. (r ²)
25	2.8838	-0.000173	0.9318	0.8683
55	2.9368	-0.007657	0.9737	0.9482
75	3.0483	-0.1031	0.9490	0.9007
95	3.0467	-0.3389	0.9468	0.8965

Fig. 15. PERFIL DE LN CONCENTRACIÓN DE METRONIDAZOL EN FUNCIÓN DEL TIEMPO A pH 1



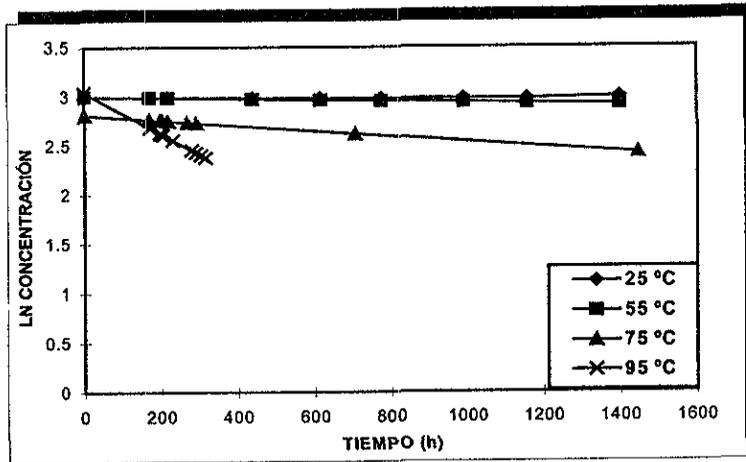
Los valores de pendiente a las temperaturas de 25, 55, 75 y 95 °C, son $-2.49 e^{-05}$, $-8.06 e^{-0.4}$, -0.1390 y -0.0425 respectivamente.

Fig. 16. PERFIL DE LN CONCENTRACIÓN DE METRONIDAZOL EN FUNCIÓN DEL TIEMPO A pH 2



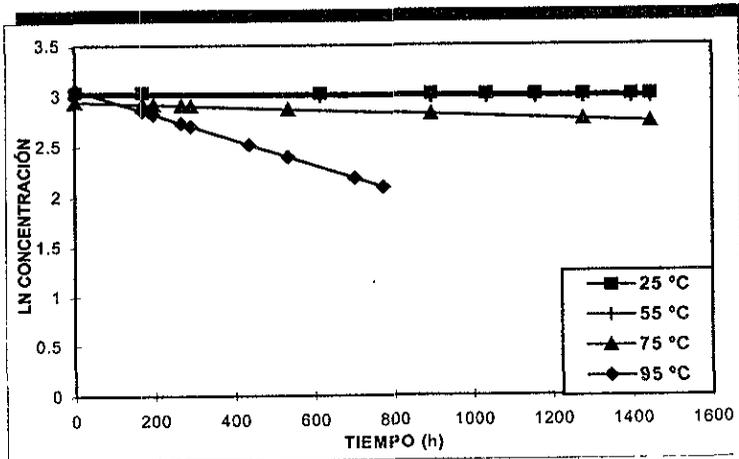
Los valores de pendiente a las temperaturas de 25, 55, 75 y 95 °C, son $-2.37 e^{-05}$, $-6.82 e^{-04}$, -0.0134 y -0.0176 respectivamente.

Fig. 17. PERFIL DE LN CONCENTRACIÓN DE METRONIDAZOL EN FUNCIÓN DEL TIEMPO A pH 4



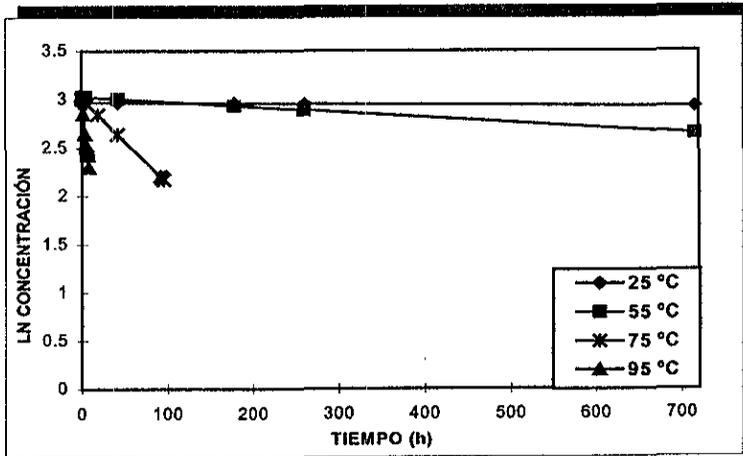
Los valores de pendiente a las temperaturas de 25, 55, 75 y 95 °C, son $-1.55 e^{-05}$, $-5.9 e^{-05}$, $-2.68 e^{-04}$ y $-2.11 e^{-03}$ respectivamente.

Fig. 18. PERFIL DE LN CONCENTRACIÓN DE METRONIDAZOL EN FUNCIÓN DEL TIEMPO A pH 6



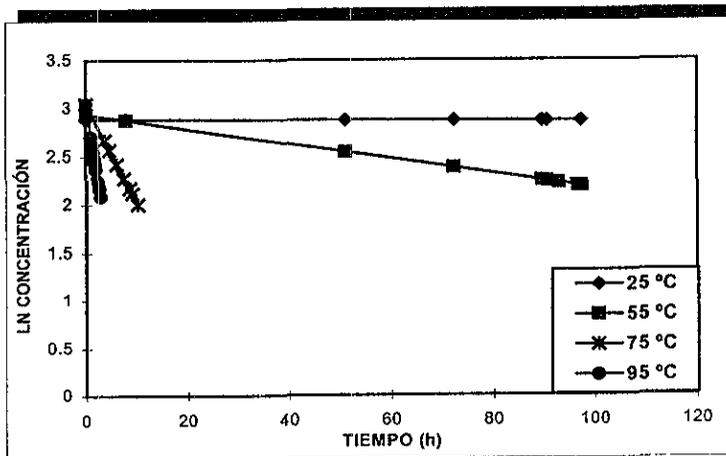
Los valores de pendiente a las temperaturas de 25, 55, 75 y 95 °C, son $-2.23 e^{-05}$, $-1.94 e^{-05}$, $-1.4 e^{-04}$ y $-1.25 e^{-03}$ respectivamente.

Fig. 19. PERFIL DE LN CONCENTRACIÓN DE METRONIDAZOL EN FUNCIÓN DEL TIEMPO A pH 9



Los valores de pendiente a las temperaturas de 25, 55, 75 y 95 °C, son -6.9×10^{-5} , -5.42×10^{-4} , -0.0008 y -0.1017 respectivamente.

Fig. 20. PERFIL DE LN CONCENTRACIÓN DE METRONIDAZOL EN FUNCIÓN DEL TIEMPO A pH 11



Los valores de pendiente a las temperaturas de 25, 55, 75 y 95 °C, son -1.73×10^{-4} , -7.65×10^{-3} , -0.1031 y -0.3389 respectivamente.

Fig. 21. PERFIL DE LN CONCENTRACIÓN DE METRONIDAZOL EN FUNCIÓN DEL TIEMPO A 25 °C

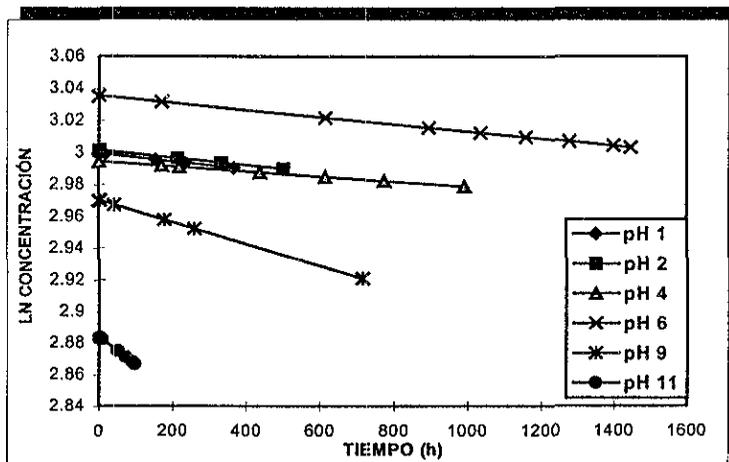
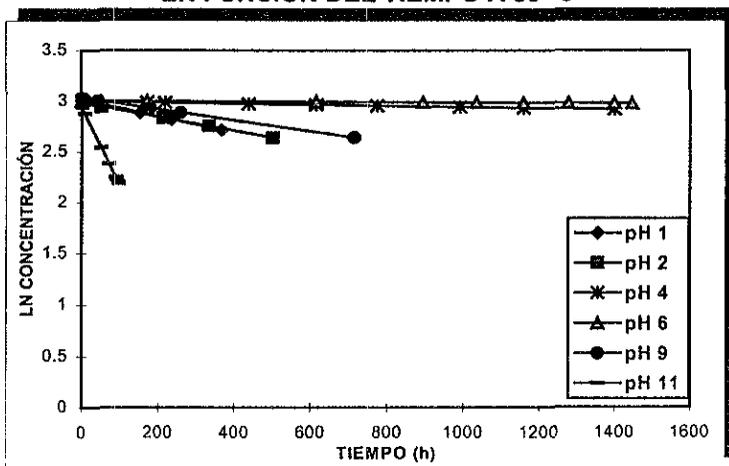


Fig. 22. PERFIL DE LN CONCENTRACIÓN DE METRONIDAZOL EN FUNCIÓN DEL TIEMPO A 55 °C



A una temperatura de 55 °C, el metronidazol presenta una velocidad de degradación menor para pH 4 y 6 (-5.9×10^{-5} y -1.94×10^{-5}), mientras que para pH 11, se requiere de menor energía de activación, puesto que su constante de velocidad de degradación (-0.007657), es mas grande aún que los otros pH's

Fig. 23. PERFIL DE LN CONCENTRACIÓN DE METRONIDAZOL EN FUNCIÓN DEL TIEMPO A 75 °C

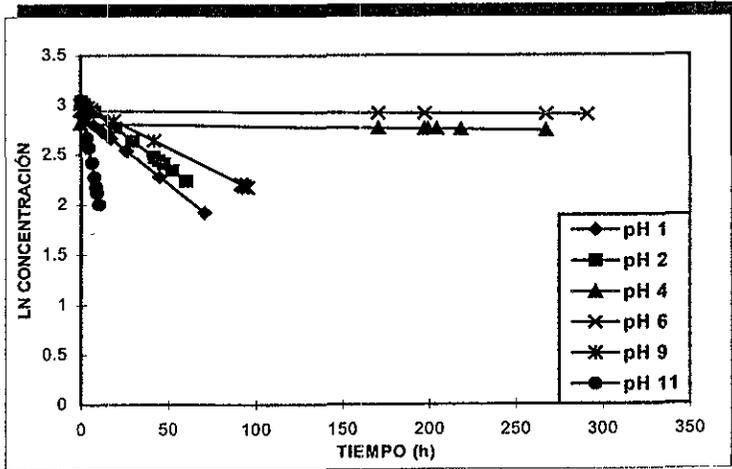
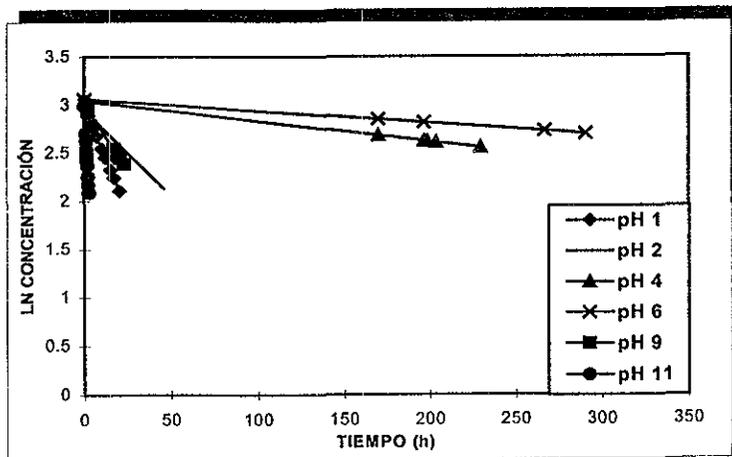


Fig.24 . PERFIL DE LN CONCENTRACIÓN DE METRONIDAZOL EN FUNCIÓN DEL TIEMPO A 95 °C



A la temperatura de 95 °C, el metronidazol presenta una velocidad de degradación mayor con respecto a las otras temperaturas de trabajo, pero el comportamiento es el mismo, es decir para pH 6 y 4, es lenta la velocidad de degradación, para pH's de 11, 1, 2 y 9 la velocidad de degradación, es mas grande respectivamente.

TABLA 31. CONSTANTES DE VELOCIDAD OBSERVADAS (h^{-1})

pH	TEMPERATURAS			
	25	55	75	95
1	2.4908E-05	8.0647E-04	1.3903E-02	4.2580E-02
2	2.3718E-05	6.8227E-04	1.3417E-02	1.7662E-02
4	1.5563E-05	5.8909E-05	2.6819E-04	2.1147E-03
6	2.2305E-05	1.9465E-05	1.4375E-04	1.2532E-03
9	6.8969E-05	5.4207E-04	8.8045E-03	1.0171E-01
11	1.7343E-04	7.6572E-03	1.0311E-01	3.3893E-01

TABLA 32. VALORES PROMEDIOS "pH" DE LAS SOLUCIONES DURANTE EL ESTUDIO

pH REFERENCIA	TEMPERATURAS			
	25	55	75	95
1	0.9999-1.201	0.9999-1.201	1.102-1.056	1.101-1.059
2	1.907-2.102	1.907-2.102	1.951-1.423	1.945-1.948
4	4.002-4.009	4.002-4.009	4-4.001	4.001
6	5.999-6.005	5.999-6.005	6-6.003	6.002
9	8.986-9.056	8.986-9.056	9.024-9.019	9.02-9.023
11	10.8-11.17	10.8-11.17	10.84-11	10.87-10.9

TABLA 33. VALORES PROMEDIOS "RESISTENCIA ($K\Omega$)" DE LAS SOLUCIONES DURANTE EL ESTUDIO

pH	TEMPERATURAS			
	25	55	75	95
1	1.159-1.958	1.121-1.582	1.029-1.236	1.043-1.257
2	1.145-1.659	1.043-1.257	1.142-1.426	1.257-1.659
4	2.156-2.984	1.989-2.346	1.729-2.006	1.786-2.165
6	2.169-2.996	1.859-2.136	1.624-1.982	1.692-2.024
9	2.245-2.979	2.368-3.057	2.469-4.520	2.649-5.389
11	3.998-4.021	3.856-4.482	3.9125-5.972	3.829-6.614

TABLA 34-A. DATOS PARA APLICAR LA ECUACIÓN DE ARRHENIUS

pH	1/T (°K ⁻¹)	ln k
1	0.00305	-7.1177
	0.00287	-4.2757
	0.00272	-3.1564
2	0.00305	-7.2120
	0.00287	-4.3112
	0.00272	-4.0363
4	0.00305	-9.8409
	0.00287	-7.7362
	0.00272	-6.1588
6	0.00305	-10.3944
	0.00287	-8.7099
	0.00272	-6.6820
9	0.00305	-7.5201
	0.00287	-4.7325
	0.00272	-3.6077
11	0.00305	-4.8721
	0.00287	-2.2720
	0.00272	-1.0820

TABLA 34-B. DATOS DE LA REGRESIÓN APLICANDO LA ECUACIÓN DE ARRHENIUS

pH	INTERCEPTO ln CONC.	PENDIENTE K (h ⁻¹)	COEF. CORR. r	COEF. DETERM. r ²
1	29.8830049	-12066.2258	0.97734964	0.95521232
2	23.4947204	-9972.42395	0.91544154	0.83803322
4	22.9647844	-10770.7952	0.99262879	0.98531192
6	27.3505124	-12555.3415	0.99842321	0.9968489
9	28.9677708	-11899.451	0.97855527	0.95757041
11	30.4085494	-11515.9455	0.98412208	0.96849627

Fig.25. GRÁFICO DE ARRHENIUS

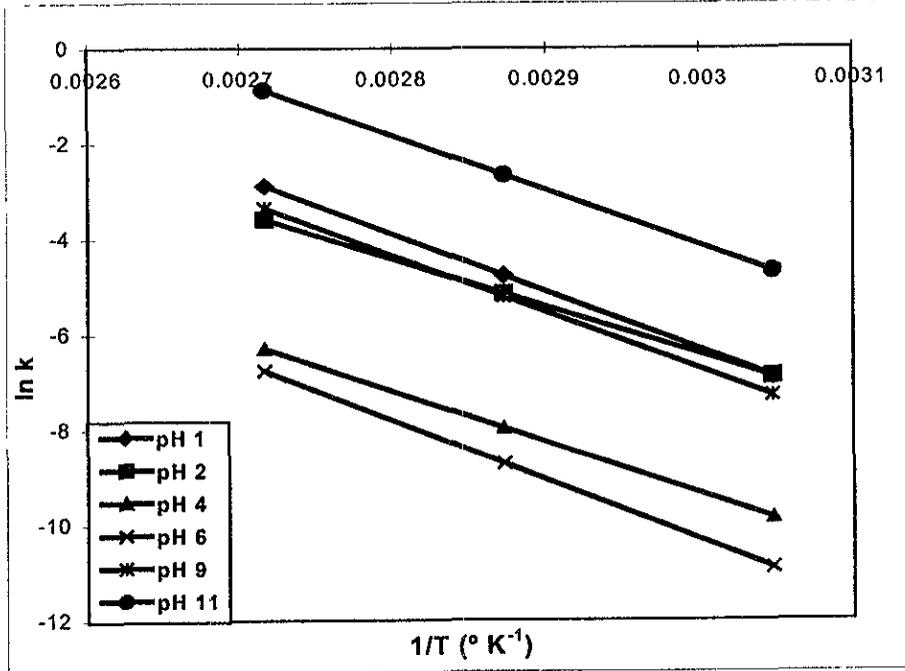


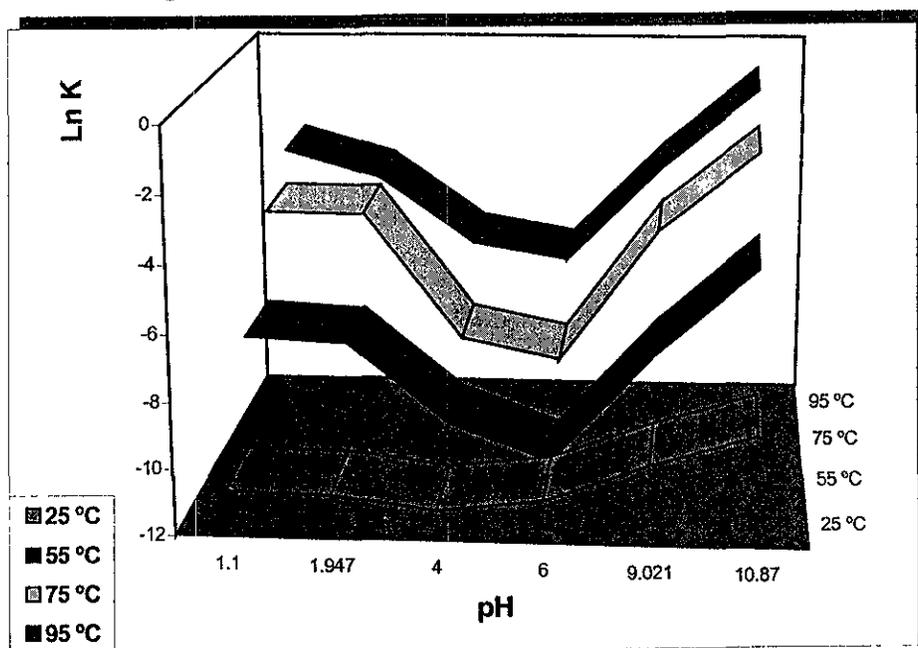
TABLA 35. VALORES DE ENERGÍA DE ACTIVACIÓN A LOS pH's DE TRABAJO

pH	Ea (Kcal/mol)
1.1	23.9755906
1.947	19.81520638
4	21.40157015
6	24.94746358
9.021	23.6442091
10.87	22.88218364

TABLA 36. VALORES CINÉTICOS ESTIMADOS A 25 °C

pH	K (h ⁻¹)	t ₉₀ (DIAS)	t ₅₀ (DIAS)
1.1	2.52341E-05	173.3765	1144.2853
1.947	4.75869E-05	91.9370	606.7848
4	1.92489E-06	2272.8528	15000.8284
6	3.88758E-07	11253.7943	74275.0427
9.021	1.76781E-05	247.4811	1633.3758
10.87	0.000270261	16.1880	106.84100

Fig. 26. PERFIL DE VELOCIDAD EN FUNCIÓN DEL pH



El punto de inflexión de este gráfico a las diferentes temperaturas, experimentalmente es de un valor de pH de 6.0, siendo este el pH de máxima estabilidad, para las soluciones de metronidazol en solución bajo estas condiciones de trabajo.

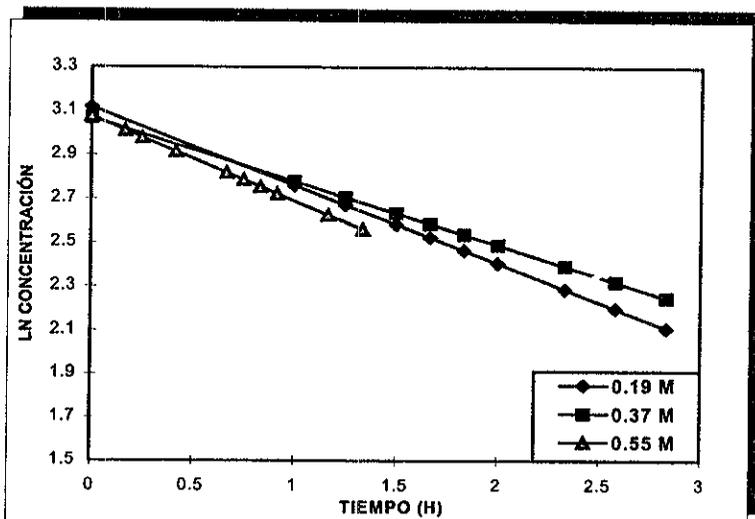
TABLA 37-A. DATOS PRIMARIOS CINÉTICA DE METRONIDAZOL EN pH 11, 95 °C A DIFERENTES FUERZAS IÓNICAS

TIEMPO (h)	ln CONC. 0.1966 M	ln CONC. 0.37 M	ln CONC. 0.55 M
0	3.0080	3.0100	3.0201
0.1666	-----	-----	3.0114
0.25	-----	-----	2.9830
0.4166	-----	-----	2.9250
0.6666	-----	-----	2.8565
0.75	-----	-----	2.8097
0.8333	-----	-----	2.7871
0.9166	-----	-----	2.7488
1	2.8702	2.8266	-----
1.1666	-----	-----	2.5904
1.25	2.7760	2.7499	-----
1.3333	-----	-----	2.5180
1.5	2.6776	2.6632	-----
1.6666	2.4581	2.5632	-----
1.8333	2.4248	2.5358	-----
2	2.4202	2.4921	-----
2.3333	2.1891	2.3785	-----
2.5833	2.1990	2.3282	-----
2.8333	2.1309	2.2143	-----

TABLA 37-B. DATOS DE REGRESIÓN pH 11, 95 °C A DIFERENTES FUERZAS IÓNICAS

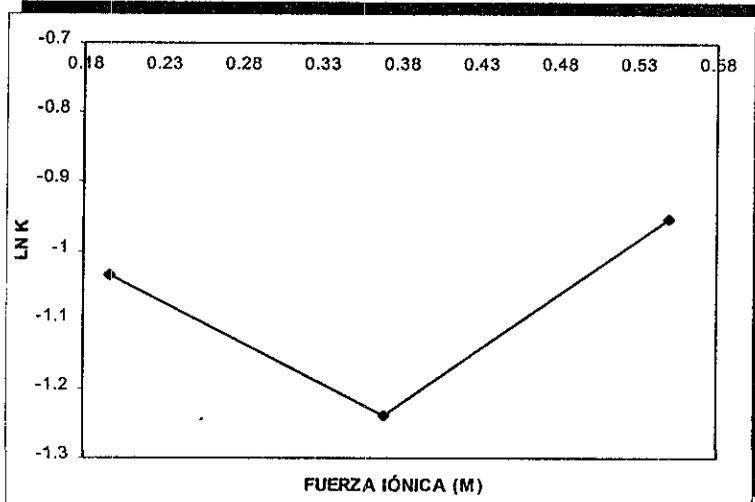
FUERZA IÓNICA (M)	INTERCEPTO ln CONC.	PENDIENTE K (h ⁻¹)	COEF. CORR. (r)	COEF. DETERM. (r ²)
0.1966	3.11560452	-0.35488554	0.92852905	0.86216621
0.37	3.06803097	-0.2895154	0.98408701	0.96842724
0.55	3.07545882	-0.38550212	0.97722735	0.95497328

Fig. 27. PERFIL DE LN CONCENTRACIÓN DE METRONIDAZOL EN FUNCIÓN DEL TIEMPO A pH 11, 95 °C



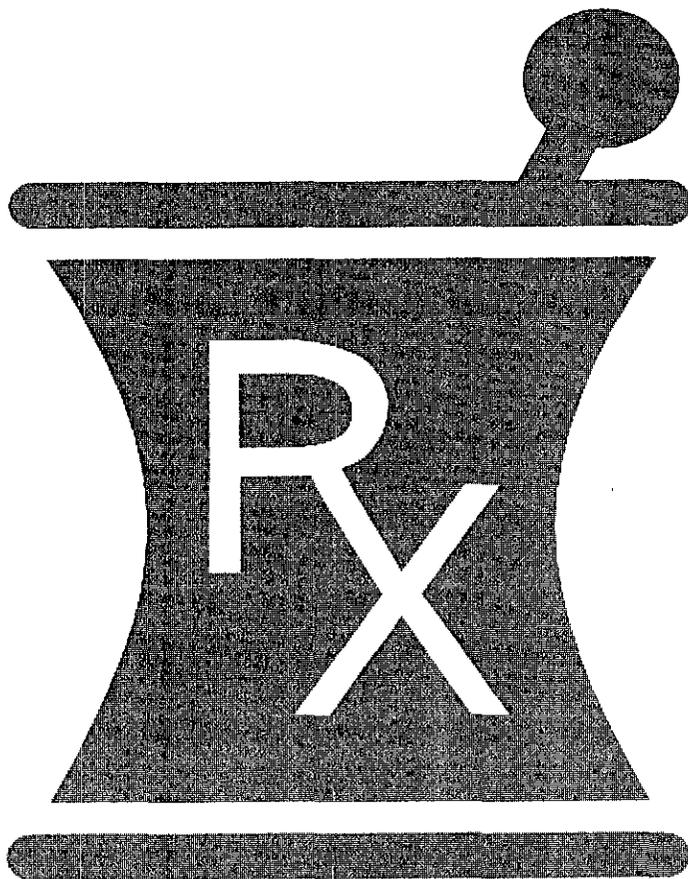
Los valores de las constantes de degradación son -0.3855 , -0.3548 , -0.2895 (h^{-1}) para las soluciones de metronidazol con fuerza iónica de 0.55, 0.1966 y 0.37 M,

Fig. 28. PERFIL DE VELOCIDAD EN FUNCIÓN DE LA FUERZA IÓNICA



El punto mínimo corresponde a la solución con fuerza iónica de 0.37M, la cual influye menos en la degradación del metronidazol, que las otras dos fuerzas iónicas.

ANÁLISIS DE RESULTADOS



ANÁLISIS DE RESULTADOS

I. ENSAYOS PRELIMINARES

Se observó que los espectros de absorción de metronidazol a los pH's 6, 9 y 11 a temperatura ambiente (tiempo "0"), son muy similares y esto se debe a que a estos pH's se tiene una sola especie química del Metronidazol (especie ionizada), sin embargo a pH's 1, 2 y 4 los máximos se recorren hacia longitudes menores, esto se debe a la presencia de ambas especies (ionizada y no ionizada)

<<Belikov U. G.: 1976>>.

En los espectros de absorción (fig. 3) realizados a pH 1 y 11 muestran dos máximos a las longitudes de onda de 277 y 320 nm respectivamente, estos espectros son característicos de las especies de metronidazol en solución,. Observando detalladamente los espectros en la figura antes mencionada, se define claramente un coeficiente de absorptividad mayor de la especie ionizada (medio alcalino), y menor el que caracteriza a la especie no ionizada (medio ácido), esto se corrobora con los datos descritos en la literatura <<(2) Clarke's, 1986 pp. 780;

Tuxide. 1986; Xu' 1994>>

Los espectros de absorción de Metronidazol a los diferentes pH's y a diferentes tiempos de ebullición presentan comportamientos similares en cuanto a la intensidad de los máximos, es decir a las longitudes de onda de 277 y 320 nm conforme pasa el tiempo los máximos de absorbancia disminuyen, mientras que a longitudes de 205-215, aumenta la absorbancia del producto de degradación.

A pH 6 se observa que la temperatura de ebullición no le afecta demasiado a la muestra, pero si se observa que aparece el producto de degradación (ver fig. 8), respecto al pH 4, es el mismo comportamiento que pH 6, solo que es más rápida su degradación. El tiempo durante el cual se somete a reflujo cada una de las soluciones de metronidazol, varia conforme al pH afectando considerablemente a pH 11 ya que a las tres horas de ebullición gran porcentaje

del metronidazol se ha transformado en el producto de degradación, mientras que para los otros pH's el tiempo de reflujo es mayor y menor su degradación.

Esto indica que la temperatura (tiempo de reflujo) a pH's extremos (1, 2, 9 y 11) afecta sensiblemente al metronidazol mientras que a pH 6 no afecta considerablemente, (ver fig. 7, 8 y 9) <<Kraus, J S. y cols. 1981>>.

Por otra parte se cuantificó a que velocidad se degrada el Metronidazol para saber si el producto de degradación del mismo absorbe a la longitud de onda donde se encuentra los máximos de absorbancia, se hizo necesaria una investigación hemerográfica para identificar a dicho producto, encontrando que se trata del "ion nitrito" <<Barnes, cols; 1992 p.233-235>>. Esto se corroboró al realizar un espectro de absorción de nitrito de sodio a una concentración de 20 mcg/ml. Al comparar dichos espectros se observa el traspaso de los mismos a los diferentes pH's ver fig. 7, 8 y 9, confirmando que los dos espectros corresponden al ion nitrito en un intervalo de longitud de onda de 205-215 nm dependiendo del pH.

En base a los resultados obtenidos en la fase de ensayos preliminares, las longitudes de onda de máxima absorción para el metronidazol son 277 y 320 nm, el máximo donde absorbe el ion nitrito (205-215 nm, respecto al pH), <<Vignoli, L. y cols.: 1964>> así como el punto de isoabsorción de ambas especies del metronidazol y los mínimos de los espectros de absorción del metronidazol ionizado y no ionizado (ver fig. 10). Las longitudes de trabajo para este método en particular son 210, 241, 264, 277, 292.6, 305, 320 y 334 nm.

Con la finalidad de identificar el producto de degradación, a parte del método de espectrofotometría UV-VIS, se realizó la reacción de copulación de sales de diazonio, se obtuvieron coloraciones de diferentes tonalidades en función del tiempo <<Morrison, Day, Thakur 1991.>>.

Con los datos obtenidos a partir de los ensayos preliminares se estructuró el proyecto.

II: DESARROLLO DEL MÉTODO.

Linealidad del sistema.

De acuerdo a los resultados en cada una de las pruebas estadísticas realizadas, se obtuvo lo siguiente:

El valor del coeficiente de variación fue de 1.1312 % el cual se reporta en la tabla 12, este dato es aceptable dentro del límite establecido para métodos espectrofotométricos ($C. V. \leq 2.0 \%$), lo cual indicó que no existe diferencia significativa entre los datos de concentración estimada por mínimos cuadrados parciales (MCP) y la concentración real de metronidazol <<Ballazar M.: 1194; Nava F.: 1994 >>.

Los datos se ajustan al modelo matemático " $y = mx + b$ ". En la tabla 13, se observa que en la calibración se obtiene un 99.9861% de correlación entre la concentración estimada y la concentración real, así como un 0.0138 % que no puede ser explicado por la regresión lineal. Para saber si este porcentaje no explicado por la regresión es significativo, se realizó el análisis de variancia el cual se muestra en la tabla 14, en dicho análisis se rechaza la hipótesis nula a un nivel de significancia de 0.05%, aunado a estas pruebas, en la figura 12 se muestra poca dispersión de los datos con respecto a la recta de regresión <<Kreysig >>.

En la tabla 15, el valor del intercepto "0.003532", se encuentra dentro del intervalo a un 95 % de confianza (columnas 6-7), en el criterio de aceptación para esta prueba el valor del nivel de significancia es mayor que 0.05% (columna 5), por lo tanto H_0 no se rechaza y se considera que la curva pasa a través del origen ($b = 0$), quedando entonces el modelo lineal " $y = mx$ " para la linealidad del sistema <<Montgomery D.>>.

Precisión del sistema

El coeficiente de variación para la precisión del sistema se realizó a una concentración de 10.07032 mcg/ml, lo cual indica que el sistema es preciso, es decir presenta menos del 2 % de desviación estándar relativa entre resultados analíticos individuales, a las condiciones trabajadas (ver tabla 16) <<Baltazar M · 1194, Nava F.: 1994 >>

Exactitud del sistema

La prueba de concordancia entre el valor medio experimental (\bar{x}) y el valor de referencia (μ) (prueba t Student) demostró que existe concordancia entre el valor experimental y el de referencia a un nivel de significancia de 0.05 %, por lo cual la hipótesis nula no se rechazó y por lo tanto el sistema es exacto, esto se observa en la tabla 17. Cabe mencionar que se trabajó con la misma concentración de metronidazol utilizada en la precisión del sistema <<Kreysig, Daniels>>.

Linealidad del método.

Para la evaluación del método se contempló lo siguiente:

El coeficiente de variación obtenido a partir de la normalización de los datos (tabla 19) fue de 1.84 %, este valor se encuentra dentro del límite establecido para métodos espectrofotométricos (C. V. \leq 2.0 %), indicando así que no existe diferencia significativa entre los datos de concentración estimada por mínimos cuadrados parciales (MCP) y la concentración real de metronidazol (materia prima) <<Baltazar M · 1194; Nava F.: 1994 >>

Para la linealidad del método la calibración tiene un 99.9673% de correlación entre la concentración adicionada y la concentración recuperada, sin embargo existe un 0.0327 % que no puede ser explicado por la regresión lineal, los resultados de la regresión lineal se reportan en la tabla 20.

En la prueba de hipótesis del análisis de variancia, para la linealidad del método (tabla 21), se rechaza la hipótesis nula a un nivel de significancia de 0.05, entonces se considera que el porcentaje 0.0327% no es significativo y que existe relación entre la respuesta (concentración recuperada de metronidazol por MCP) y la variable independiente (concentración adicionada de metronidazol). Se observa además en la figura 14 que la calibración presenta poca dispersión de los datos con respecto a la recta de regresión.

Al obtener los resultados de la prueba del intercepto (tabla 22) se considera que el valor del intercepto "-0.000162", se encuentra dentro del intervalo a un 95 % de confianza (columnas 6-7), aunado a esto el valor del nivel de significancia es mayor que 0.05 (columna 5), por lo tanto H_0 no se rechaza y se considera que el intercepto es igual a cero ($b = 0$), quedando entonces el modelo lineal " $y = mx + b$ " para la linealidad del método.

Precisión del método

Para evaluar la precisión del método se consideraron tres diferentes concentraciones, los valores de coeficientes de variación obtenidos se encuentran dentro del límite establecido para precisión de métodos analíticos por espectrofotometría en el área Farmacéutica, es decir no más del 2 % de desviación estándar relativa entre resultados analíticos individuales, a las condiciones trabajadas (ver tabla 23).

Exactitud del método

En la prueba de t Student para evaluar la exactitud también se trabajó con tres niveles de concentración de metronidazol obteniéndose que para la mínima concentración de la calibración (5mcg/ml), no existe concordancia entre el valor medio experimental y el valor medio de referencia, por lo cual las medias son diferentes, rechazándose la hipótesis nula a un nivel de significancia de 0.05 esto puede ser debido a la interferencia del ruido del instrumento con la señal analítica. Sin embargo para la concentración de 10 y 16 (mcg/ml), la hipótesis nula no se

rechazó, estadísticamente el método es exacto ($\bar{x} = \mu$) a estas concentraciones, esto se ilustra en la tabla 24.

En la tabla 22, se observa que el valor de la pendiente "1.000013", se encuentra dentro del intervalo a un 95 % de confianza (columnas 6-7), también para esta prueba se considera que el valor del nivel de significancia es mayor que 0.05 (columna 5), por lo tanto H_0 se rechaza y se considera que la pendiente es igual a uno ($m = 1$), por lo cual se corrobora que el método es relativamente exacto ya que el porcentaje de recuperación fue del 100%, aunque a una concentración mínima de 5 mcg/ml estadísticamente no es exacto, pero considerando las condiciones de esta concentración el método es confiable y exacto a concentraciones mayores de 5 mcg/ml, y relativamente exacto a esta concentración apoyándonos con el valor de pendiente ya antes mencionado, lo que indica que el método está dentro del intervalo de aceptación para exactitud de métodos analíticos ($m = 1$).

III. ESTUDIO DE ESTABILIDAD

Con los valores obtenidos a lo largo del proyecto y una vez analizados, se encontró que las regresiones realizadas entre logaritmo natural de la concentración en función del tiempo de muestreo se ajustan de manera eficiente (coeficiente de correlación (r), mayor respecto a la cinética de orden cero y segundo orden) a una cinética de degradación de primer orden, determinándose de este modo el orden de reacción que sigue el metronidazol a diferentes temperaturas y a diferentes pH's <<Da-Peng; Karim; Barnes 1990>>.

En las tablas (25-A, 26-A, 27-A, 28-A, 29-A y 30-A) los valores que se reportan son los promedios de cada sistema, cabe mencionar que el análisis de regresión se realizó con todos los datos (30 o en su defecto 27) lo anterior se resume en las tablas (25-B, 26-B, 27-B, 28-B, 29-B y 30-B), donde se muestran los

coeficientes de correlación obtenidos para una cinética de primer orden que es característica de la degradación del metronidazol.

Con los resultados se combinaron las temperaturas y los pH's de trabajo, realizándose todos las combinaciones, pero solo se muestran los gráficos más representativos.

a) DEGRADACION DE METRONIDAZOL EN pH 1 Y 2 A DIFERENTES TEMPERATURAS (fig.15), en éste gráfico se puede observar la acción de la temperatura a un pH ácido constante con un valor de 1 obteniendo diferentes velocidades de degradación, siendo mas grande el valor de la pendiente a 95 °C, seguida por un valor de pendiente un poco menor correspondiente a 75 °C, como se observa en la tabla 25-B, así como una mínima caída de la pendiente a 55 °C y donde se observo una ligera variación fue a 25 °C.

El comportamiento es similar al que presenta la cinética a pH 2, solo que es más lenta la degradación y por lo tanto los valores de pendientes (tab. 26-B) son ligeramente menores con respecto a pH 1, ver figura 16. Cabe mencionar que a pH 2 existe una mínima diferencia en la velocidad de degradación a las temperaturas de 95 y 75 °C, donde gráficamente observamos que los perfiles correspondientes a dichas temperaturas están muy cercanas al igual que se muestra en los valores de pendientes "K" tabla 26-B tercera, columna dos últimas líneas.

b) DEGRADACION DE METRONIDAZOL EN pH 6 Y 4 A DIFERENTES TEMPERATURAS (fig.18), a pH 6 gráficamente observamos un intervalo muy pequeño de logaritmos naturales (2.9-3.08) de concentración de metronidazol a temperaturas de 25, 55, 75 °C, sus valores de pendiente son pequeños, por lo que se puede establecer que requiere de mayor tiempo para que se degrade el metronidazol, sin embargo a una temperatura de 95 °C, la pendiente es ligeramente mayor respecto a las de 25, 55 y 75 °C, por lo que se requiere de menor tiempo para degradar el metronidazol.

La tendencia para pH 4 es similar, solo que a las temperaturas de 75 y 95 °C, los valores de pendientes son mayores (ver tabla 27-B) respecto a pH 6, a la temperatura de 55 °C, ligeramente hay una tendencia decreciente (ver gráfico 17).

Lo anterior refleja que la velocidad de degradación para pH 6 es mas lenta que a pH 4, a las diferentes temperaturas.

c) DEGRADACION DE METRONIDAZOL EN pH 11 Y 9 A DIFERENTES TEMPERATURAS En el gráfico (fig. 21) es donde se ve gran efecto de ambos factores (temperatura y pH), a pH 11 los valores de pendiente son mayores con respecto a los demás pH's de trabajo, a 25 °C se ve un efecto mínimo de la temperatura, y a las temperaturas de 55, 75 y 95 °C el valor de pendiente va aumentando respectivamente (ver tabla 30-B).

De igual manera sucede con el pH 9 (fig. 219) solo que se requiere de mayor tiempo para degradar hasta un 50 % de metronidazol respecto a pH 11. Ligeramente hay una caída de pendiente a 25 °C, pero los valores de pendiente van aumentando con respecto a las temperaturas, "a mayor temperatura mayor valor de pendiente (K)".

d) DEGRADACION DE METRONIDAZOL EN DIFERENTES pH's A 25 Y 55 °C. En la fig. 21 a una temperatura de 25 °C no hay grandes cambios en los valores de pendientes, ya que tan solo para todos los pH's de trabajo el cambio del logaritmo natural de la concentración es pequeño (3.03-2.92), excepto la tendencia que presenta la cinética a pH 11 a esta temperatura, existe mayor efecto esto se refleja en los valores de pendiente (constante de velocidad de degradación) que se listan en la tabla 30-B.

Respecto a 55°C. en la figura. 22 se observa que a pH's básicos, aumenta la velocidad de degradación respecto a los otros pH's, mientras que a pH de 4 y 6 es lenta su velocidad de degradación, esto se observa en la pendiente (tabla 27-B y 28-B), a pH 1 y 2, se acelera la velocidad de degradación en comparación con los pH's ácidos de trabajo de 4 y 6, pero es un poco más lenta la reacción que a pH 11.

e) DEGRADACION DE METRONIDAZOL A 75 Y 95 °C EN DIFERENTES pH's. A una temperatura de 75 °C (fig. 23), las tendencias de las pendientes son mayores con respecto a las otras dos temperaturas (25 y 55 °C), se observa que a un pH de 4 y 6 no hay tanta variación, en cambio a los otros pH's de trabajo si existe un efecto de esta temperatura y dependiendo del pH es el valor de pendiente, es decir a pH 11 el valor de pendiente es el más grande seguido por el pH 2, pH 1 y pH 9 respectivamente.

En la fig. 24 en el perfil de pH 11, la velocidad de degradación es mucho mayor, por efecto de la temperatura y del pH, aunque a pH 6, sigue siendo mas lenta la velocidad de degradación, pero todas los perfiles a esta temperatura tienen una tendencia negativa de logaritmo natural de la concentración aunque es mas marcado a pH 11.

Una vez obtenidas las constantes de degradación (K) a diferentes temperaturas (tabla 31), se aplicó la ecuación de Arrhenius para obtener las energías de activación a los pH's de trabajo. Obteniéndose para pH 1 una energía de activación de 23.97 Kcal/mol y para pH 11 una energía de activación de 22.88 Kcal/mol que significa que a pH's básicos se requiere de una menor energía para llevar a cabo la degradación y a pH de 6 se requiere de mayor energía 24.94 Kcal/mol.

A pH 2 se calculó la energía de activación, pero el valor que se reporta, no es lógico, debido a que a pH de 1 a una temperatura de 95 ± 2 °C, se requiere de un menor tiempo respecto a pH 2, en cambio a 75 ± 2 °C, la diferencia de tiempo para llegar hasta un porcentaje de 50 % de degradación es muy pequeña, esto es lo que provoca un valor de energía de activación erróneo. Experimentalmente la temperatura varió entre ± 2 °C, pero al realizar la cinética de pH 2, a 75 °C, se generaron grandes variaciones de corriente, por lo que la temperatura subió considerablemente hasta 10-15 °C aproximadamente, por falta de material (ampolletas, reactivos) la cinética no se repitió, por lo cual consideramos

importante en un futuro trabajo cuidar estas variaciones de corriente, para que no se vea afectado considerablemente el sistema.

La ecuación de Arrhenius es de gran importancia en los estudios de estabilidad, porque con ella se estiman (método exacto), las constantes de degradación (K) a cualquier temperatura. En este trabajo solo se estimaron las constantes de degradación (K) a 25 °C, y a partir de estos valores de (K), estimar los tiempos de vida media ($t_{1/2}$ ó t_{50}), así como también el t_{90} (ver tabla 36).

Los valores de las constantes de degradación a 25 ± 2 °C obtenidas experimentalmente y las estimadas a 25 °C por el método de Arrhenius, no muestran una diferencia significativa, por lo cuál, podemos asegurar que el compartimento donde se almacenaron las muestras a dicha temperatura fue adecuada, así mismo cabe mencionar que esta temperatura fue utilizada como referencia y para la evaluación del pH sin efecto de la temperatura.

Con los t_{90} calculados, se observa (tabla 36) que a mayor temperatura y a pH's (1, 2, 9 y 11), se disminuye considerablemente el tiempo en el que se encuentra el 90% de metronidazol sin degradarse, y a un pH de 6 el tiempo para su degradación es mayor seguido ligeramente por el pH 4, es importante mencionar que a una temperatura mayor el tiempo disminuye para llegar a un 10 % de degradación, así como para un 50 % de degradación ($t_{1/2}$).

En la figura 26, el efecto del pH se ve caracterizado por una catálisis ácido-base general, es decir la degradación de metronidazol en solución acuosa es acelerada o modificada ("catalizada") por los iones hidroxilo (OH^-), (H^+), y por los par ácido/base de las soluciones amortiguadoras ($\text{H}_3\text{PO}_4/\text{H}_2\text{PO}_4$, $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$, $\text{H}_3\text{BO}_3/\text{H}_2\text{BO}_3$), por lo cual presenta un perfil de "Velocidad vs pH", en forma de "V", donde el punto de inflexión es el pH (6) donde el efecto de estos iones y de los pares ácido/base, es mínimo y requiere de una mayor energía, así como de mayor tiempo para su degradación <<Cartensen, Connors>>.

Lo anterior se relaciona con la degradación de las especies de metronidazol, quedando entonces que a mayor predominio o porcentaje de especie ionizada de metronidazol, mayor coloración y mayor porcentaje de nitrito obtenido, sin embargo a mayor porcentaje o predominio de especie no ionizada, menor porcentaje de degradación de nitrito por lo cual hay una menor coloración aún a temperaturas elevadas.

Como se mencionó previamente, el parámetro constante de velocidad de la reacción (K), se ve influenciada por la temperatura, pH y la concentración de sales (fuerza iónica); <<Da- Peng, karim>> por lo tanto mediante el análisis de la misma para nuestra reacción podremos determinar las condiciones óptimas de mínima degradación del metronidazol (materia prima en solución acuosa) bajo estas condiciones.

El pH de máxima estabilidad es de 6.0. <<Krauss, 1981, Tu Y cols : 1986, Da-Peng>>.



CONCLUSIONES



CONCLUSIONES

El método analítico desarrollado es exacto, preciso y lineal bajo las condiciones de análisis establecidas en este estudio.

Uno de los productos de degradación del metronidazol en solución acuosa es el ion nitrito, el cual fue identificado por espectrofotometría y con la reacción de copulación de sales de Diazonio.

En lo que respecta a los parámetros cinéticos:

La cinética de degradación de metronidazol en solución acuosa se ajusta a un modelo de primer orden.

La cinética de degradación de metronidazol en solución acuosa, presenta una reacción catalítica ácido-base general.

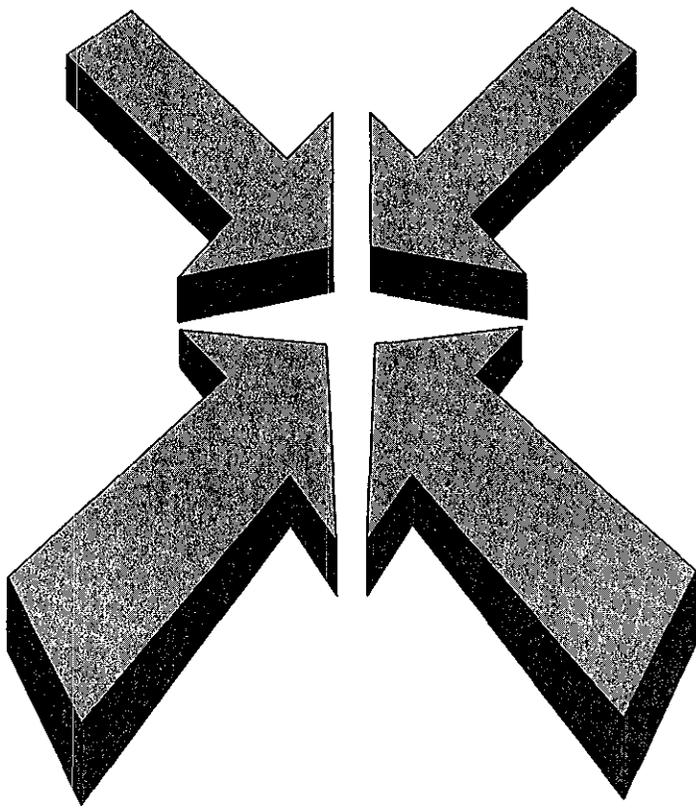
Las energías de activación a los diferentes pH's de trabajo, se encuentran dentro del intervalo de 19 - 24 Kcal/mol.

Los valores t_{90} y $t_{1/2}$ son mayores para pH 6 y 4 respectivamente y menores para pH's extremos (1,2,9 y 11).

El pH de máxima estabilidad para el metronidazol en solución acuosa es 6.



REFERENCIAS



REFERENCIAS

1. Remington. (1987). "Farmacia". Editorial Médica Panamericana. 17ava Edición. Vol. 1-2. Buenos Aires. p.p. 1340, 2001-2012.
2. Clarke's (1986). "Isolation and identification of drugs." 2da. ed. The Pharmaceutical Press, Great Britain.p.p.780,781.
3. European Pharmacopoeia. (1997).Editorial Council of Europe. Strasbourg. P.p. 1196.
4. Sir Colin Dollery. (1991). "Therapeutic Drugs". Editorial Churchill Livingstone.1a.Edición.Vol. 2 New York. p.p. M170-M176.
5. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.(1988). "Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos". p.p.777, 778.
6. Rácz, (1989). "Drug Formulation". Editorial John Wiley and Sons. Hungary. p.p.31, 416.
7. Valdés, J. (1987) "Ventajas y Limitaciones en la Cinética Química en los estudios de Estabilidad". Editorial Industria Médico Farmacéutica. Vol. 3. No. 1. p.p. 54-75.
8. Carstensen, J. (1990). "Drug Stability" Drugs and The Pharmaceutical Sciences. Editorial Marcel Dekker, INC. Vol. 43. New York, USA. p.p.520.
9. The United States Pharmacopeia USP XXI/NFXVI 16th ed. Edit. USP Convention, USA (1984) pp 1344-1353.
- 10.López, M. (1995). "Estudios sobre Armonización Industrial" UNAM. FES-Zaragoza. Especializaciones en Farmacia Industrial. p.p. 21.
- 11.Rhodes, T. (1992) "Modern Pharmaceutics" Vol.7. p.p.227-262.
- 12.NOM-073-SSA1-1993 (1994). "Estabilidad de medicamentos." Diario Oficial de la Federación. 4 nov. México D.F. pp 8.
- 13.Latham J. L. y Burgess A. E. (1980). "Cinética de Reacciones". Editorial El Manual Moderno. .México D:F. p.p. 1-10, 30-47, 48-68.

14. Connors K. A. (1978) "Chemical Stability of Pharmaceuticals" Editorial John Wiley and Sons. New York, USA. pp. 8-60, 99-114.
15. Castellan G.W. (1987). "Fisicoquímica". Editorial Addison-Wesley Iberoamericana. 2a. Edición. México D.F: pp 717-771)
16. Connors, K. A. "Curso de Análisis Farmacéutico" 2ª. ed., Edit.Reverté. Barcelona, España 1992 Cap. 8 Espectroscopia de absorción p.p. 195-205.
17. López de Alba, P.L. et. al. (1996). "Métodos de Calibración Multivariante", Sociedad Química de México. Vol. 41. No. 1. pp. 34-44.
18. Haaland, D. and Thomas, E.V. (1988). "Partial Least Squares Methods for Spectral Analyses 1". Anal. Chem. Vol. 60 p.p. 1993.
19. Haaland, D. and Thomas, E.V. (1988). "Partial Least Squares Methods for Spectral Analyses. 2". Anal. Chem. Vol. 60, p.p. 1202.
20. Morrison T. R. (1980) "Química Orgánica" Editorial Fondo Educativo Interamericano 3ra. Edición. México D.F. pp 784-796>>
21. R.A.Day, JR.,A.L. Underwood. "Química Analítica Cuantitativa". pp786-787).
22. Karim, E.; et.al.(1991). "Studies on the photochemical decomposition of metronidazole". Int. J. Pharm. Vol. 76. p.p. 261-264.
23. Theuer H. (1984). "Assay of Nitrite Content in Metronidazole Infusión solutions". Pharm. Ztg. Vol. 129. p.p. 2609-2611.
24. Thakur A. B.; et. al. (1991)." Interaction of Metronidazole with antibiotics containing the 2-aminothiazole moiety". Pharm. Res. Vol.8. p.p. 1424-1429.
25. Zwass, Vladimir. (1987). "Introducción a la ciencia de la computación". Editorial Continental. México D.F.
26. Daniels, Farrintong. (1977). "Fisicoquímica". Editorial Continental. México.p.p.340.
27. Saunders, L. (1978). "Fisicoquímica para estudiantes de Biología, Farmacia y Medicina." Editorial El Manual Moderno. México.p.p.193.
28. Brooks, G. F. (1992). "Microbiología Médica". 14ava Edición. El Manual Moderno. México D.F. p.p. 190,191.

29. Da-Peng Wang, and Ming-Kung Yeh, "Degradation Kinetics of Metronidazole in Solution"; *Journal of Pharmaceutical Sciences*. Vol. 82, N° 1 January 1993 pp. 95-98.
30. Barnes and D.J. Makohon. "Correlation of degradation in metronidazole infusion with F_0 applied during steam sterilization at 122°C"; *International Journal of Pharmaceutics*, 92 (1993), pp. 233-276.
31. Baltazar M. Beatriz; "Desarrollo y validación del método por CLAR, para determinar, albendazol en suspensión". Tesis FESC U.N.A.M. México 1994
32. Nava F. Rosalba, Lourdes; "Desarrollo y Validación de un método espectrofotométrico para la cuantificación de isoniacida en saliva. Tesis FESC U.N.A.M. México 1994.



GLOSARIO



GLOSARIO

Absorbancia (A). Logaritmo decimal del inverso de la transmitancia (T). El término "densidad de transmisión interna" puede emplearse como sinónimo de absorbancia.

Absortividad (a). Cociente de dividirse la absorbancia (A) entre el producto de la concentración de la sustancia (C), expresada en gramos por litro (g/l), y el espesor atravesado por la energía luminosa (B) expresado en centímetros (cm) $a=A/BC$.

Algoritmo. Conjunto finito de instrucciones que especifican una secuencia de operaciones a realizar en orden para resolver un problema específica. <<Zwass,

Vladimir. 1987. pp 114>>

Calibración Multivariante: Es una técnica quimométrica que requiere de una modelación matemática multivariante y los parámetros de los modelos deben estimarse estadísticamente a partir de los datos empíricos.

Coefficiente de absorción específica. Se define como el cociente de dividir la absorbancia (A) entre el producto de la concentración (C) y el espesor atravesado por la energía luminosa (L); cuando se utiliza el símbolo a_{si} para el coeficiente de absorción específica, expresada por m^2/Kg y por la fórmula $a_{si} = 100 a$.

Espectro de absorción. Relación entre la absorbancia y la longitud de onda o cualesquiera funciones de éstas, representada en forma gráfica.

Espectrofotometría (UV-VIS). Se basa en el hecho de que la absortividad de una sustancia suele ser una constante independiente de la intensidad de la radiación incidente, la longitud interior de la celda y la concentración, por la cual la

concentración se puede determinar fotométricamente. La banda espectral empleada en las mediciones (UV-VIS), se extiende desde las cortas longitudes de onda de la zona ultravioleta (190-320 nm) y la zona visible (320-780 nm).

Espectrofotometría de absorción. Medida de la absorción, por las diferentes sustancias, de una radiación electromagnética de longitudes de onda situadas en una banda definida y estrecha, esencialmente monocromática.

Espectrofotometría en la zona visible. Es la medida de la absorción de la luz visible que generalmente no es monocromática pero que se selecciona mediante el empleo de filtros pigmentados o de interferencia.

Estadística multivariada.

Es una colección de poderosas herramientas matemáticas que pueden ser aplicadas al análisis químico cuando se requieren más de una medición de la muestra.

Extinción específica (E 1% 1 cm). Cociente de dividir la absorbancia (A) entre el producto de la concentración de la sustancia (C), y el espesor atravesado (B) por la energía luminosa es decir $E\ 1\% \ 1\ \text{cm} = 10\ a$. Esta expresión esta relacionada estrechamente con la absorptividad.

Mínimos Cuadrados Parciales (MCP). Técnica de descomposición espectral, la descomposición implica ponderar las concentraciones, lo que significa que los espectros de disoluciones con altas concentraciones son considerados de mayor peso que aquéllos de bajas concentraciones. La idea del PLS es introducir tanta información sobre concentraciones como sea posible en los primeros <<loading vectors>>.

Modelo: Es una aproximación simplificada de una parte seleccionada del mundo real vista desde un punto de vista en particular.

Scores. Cantidades escalares por las que se multiplican los <<loading vectors>>.

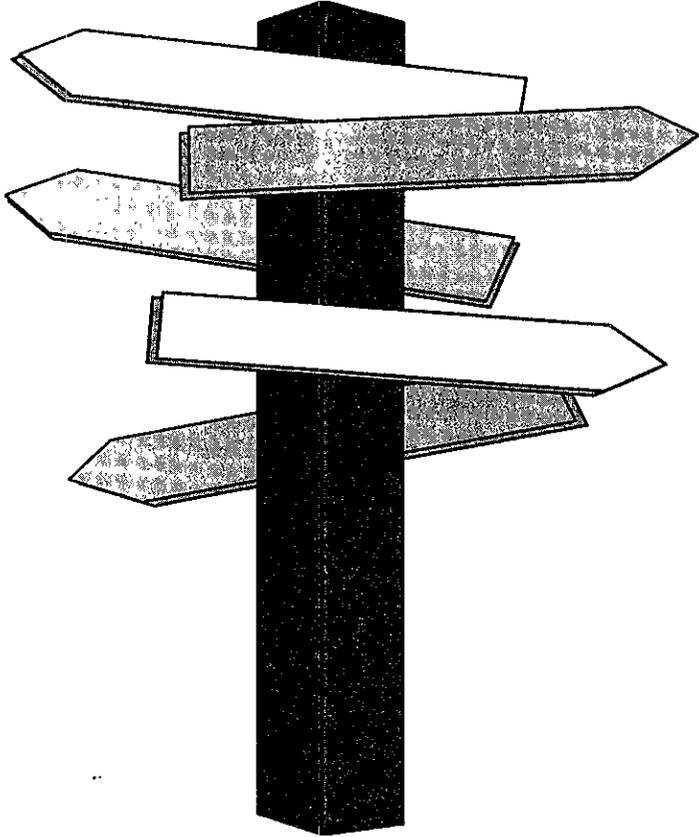
Solución amortiguadora. Se llama solución amortiguadora a un sistema de disolución formado por ácidos, bases fuertes o débiles y sus sales, y ácidos fuertes, en el cual no se produce cambio notable en la concentración de iones hidrógeno, al agregarle ácidos o bases dentro de ciertos límites.

Transmitancia (T). Relación entre el flujo de radiación transmitido por la sustancia problema y el flujo de radiación incidente.

T₉₀. Parámetro cinético que se determina a partir del 10 % de degradación. Este concepto es utilizado para establecer la fecha de expiración.



APPENDICE



ASPECTOS DEL MÉTODO ANALÍTICO

La validación de métodos analíticos es parte fundamental del desarrollo de una nueva formulación y de la técnica de análisis de control de calidad de una forma farmacéutica.

La validación de un método analítico se define como el proceso por el cual queda establecido, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas. La capacidad se expresa en términos de parámetros analíticos que proporcionan una medida del comportamiento del método y comprende una serie de pruebas sistemáticas, las cuales permiten establecer estos parámetros de manera clara y objetiva <<Baltazar M B 1994, p p 42,84-93>>.

El proceso de validación es en sí una parte integral del desarrollo de cualquier método analítico, donde se prueba la efectividad del mismo <<Nava F R. 994>>.

La validación de los métodos analíticos es también de particular importancia en la investigación de estabilidad de formas farmacéuticas y de principios activos, estos estudios son una de las principales pruebas que requieren poner en claro el monitoreo la utilidad del monitoreo de fármacos en muchos casos.

CUALIDADES DE LA VALIDACIÓN

LINEALIDAD

Es la capacidad del método para asegurar que los resultados analíticos, los cuales pueden ser obtenidos directamente o mediante la transformación matemática, son directamente proporcionales a la concentración del activo dentro de un intervalo determinado de concentraciones. Es decir, mide el grado en que la respuesta del método se aproxima a una función lineal del tipo $Y = mx + b$ al trabajar a diferentes concentraciones <<Baltazar M B · 1994, p.p.42,84-93>><<Nava F. R 994>>.

LINEALIDAD DEL SISTEMA.

La relación entre la cantidad de principio activo adicionada y la respuesta obtenida debe dar una función lineal.

Se utiliza por lo menos cinco concentraciones, cubriendo un intervalo de interés, preparadas por dilución a partir de la misma solución stock, realizando el análisis por triplicado para cada concentración. Realizar la calibración dos días diferentes <<Nava F R.,994>>.

LINEALIDAD DEL MÉTODO.

La relación entre cantidades adicionadas y cantidades recuperadas de principio activo empleando el método analítico propuesto debe ser lineal <<Nava F R 994>>.

Los porcentajes recuperados y los coeficientes de variación a cada nivel y los globales de todo el intervalo de la linealidad deben estar entre un promedio de recobro de 98-107 % con un coeficiente de variación menor o igual a 2% <<Baltazar M B 1994, p p 42,84-93>>.

PRECISIÓN

Es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento es aplicado repetidamente a múltiples muestreos de una muestra homogénea. La precisión de un método analítico es usualmente expresada como la desviación estándar o desviación estándar relativa (coeficiente de variación). La precisión es una medida del grado de reproducibilidad de un método analítico, bajo circunstancias normales de operación.

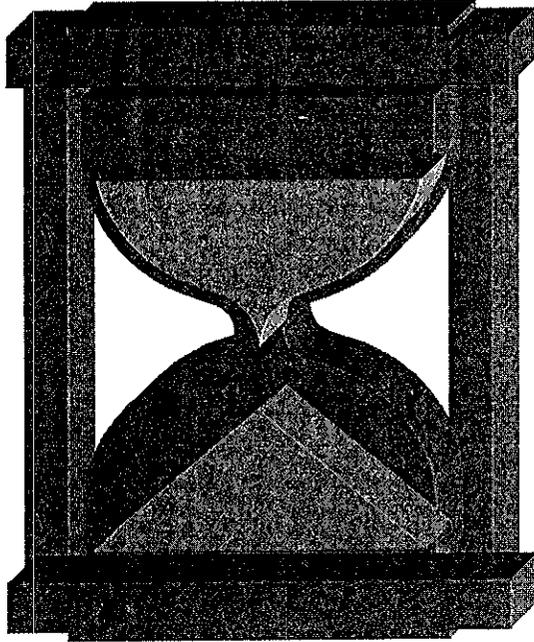
La precisión de un método analítico es determinada por el análisis de un número suficiente de alícuotas de una muestra homogénea, de manera que sea posible calcular estimados estadísticamente válidos de la desviación estándar o de la desviación estándar relativa. Los ensayos serán análisis independientes de muestras que han pasado por todo el procedimiento analítico desde la

preparación de la muestra hasta los resultados finales de la prueba <<FEUM 1988, p.p 77-778>>

EXACTITUD.

La exactitud de un método analítico es la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Se expresa como porcentaje el recobro obtenido del análisis de muestras a las que se les han adicionado cantidades conocidas de sustancia <<Ballazar M B 1994, p.p 42,84-93>>

El porcentaje recuperado debe estar entre un 98-107% con un coeficiente menor o igual a 2%.



FIN

