

24
2ej.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

DESARROLLO Y VALIDACION DE METODOS
ANALITICOS PARA DETERMINAR. SODIO,
POTASIO, CLORUROS Y CITRATOS EN POLVOS
PARA PREPARACION DE SOLUCIONES ORALES.

T E S I S

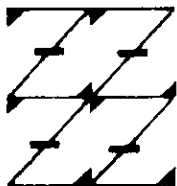
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

RICARDO GARCIA ZARAGOZA

UNAM
Y S
ZARAGOZA



LO HUMANO EN

DE NUESTRA REFLEXIÓN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.

266178

1998.



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.



MI MUNDO

MÍO YO TENGO UN MUNDO MÍO, DE GRANDES DESAFÍOS Y DE ETERNA EVOLUCIÓN

RARO INMENSAMENTE HUMANO, DE FÁCIL SOBRESALTOS, EXTRAÑO PERO MÍO

MI MUNDO ES COMPLICADO DIFÍCIL DE EXPLORARLO, DIFÍCIL DE VIVIRLO PERO MÍO ASÍ ES EL MUNDO MÍO.

FRÁGIL LLENO DE TRIUNFOS Y FRACASOS, VIRTUDES Y PECADOS PERO NUNCA TAN VACÍO.

SUEÑOS DE AMOR Y FANTASÍAS, SERÁN LAS NORMAS MIAS PARA REGIR MI VIDA.

QUÉ TRABAJO CUESTA SER ORIGINAL, HACER UNA LOCURA Y SOÑAR, EN MI MUNDO SIEMPRE EXISTE LA ESPONTANEIDAD.

ASÍ ES EL MUNDO MÍO, AL APRECIAR TODO ESTE INMENSO CALOR Y OLVIDAR EL DOLOR DE UN MUNDO FRIÓ.

Y SEGUIRÉ VIVIENDO EN EL SUS TRIUNFOS Y FRACASOS VIRTUDES Y PECADOS PERO ES INMENSAMENTE HUMANO ASÍ ES EN EL MUNDO MÍO.



A MIS PADRES

QUE ME DIERON EL DON DE LA VIDA, SU CARIÑO, PROTECCION Y SU APOYO SIN PEDIR NADA A CAMBIO SOLO UNA SONRISA MIA.

MI MAS SINCERO Y ETERNO AGRADECIMIENTO

SU HIJO RICARDO

A MIS FAMILIARES

POR SU APOYO INCONDICIONAL Y ANIMO PARA SEGUIR ADELANTE EN MIS ESTUDIOS

A MIS AMIGOS, COMPAÑEROS Y A TODAS AQUELLAS PERSONAS

QUE ME HAN INFLUIDO EN EL QUEHACER DIARIO DE MI VIDA Y QUE NO QUISIERA NOMBRARLOS NO POR EGOISTA, SI NO POR RESPETO Y ADMIRACION . YA QUE PODRIA OMITIR SU NOMBRE AL ESTAR ESCRIBIENDO ESTAS LINEAS, POR ESO MI MAS PROFUNDO AGRADECIMIENTO A TODAS ELLAS..

A DIOS

POR QUE MUCHAS VECES HE BUSCADO EL CONSUELO DE LA PAZ ESPIRITUAL QUE UNO A VECES OLVIDA Y QUE SIN EMBARGO ES PARTE DE LA VIDA DE UNO.

**INDICE**

	pag.
INTRODUCCION	1
CAPITULO 1 GENERALIDADES	2
1.1 ELECTROLITOS	2
1.2 PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DE LOS ELECTROLITOS	3
1.2.1. CITRATO DE SODIO	3
1.2.2 PROPIEDADES QUIMICAS (TITULACIONES ACIDO-BASE)	4
1.2.3. CLORURO DE POTASIO	5
1.2.4. CLORURO DE SODIO	6
1.2.5. PROPIEDADES QUIMICAS (TITULACIONES ARGENTOMETRICAS)	7
1.2.6. PROPIEDADES METALES ALCALINOS (SODIO Y POTASIO)	8
CAPITULO 2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
2.1. OBJETIVOS	11
2.2. HIPOTESIS	11
2.3. DESARROLLO DE LAS TECNICAS	14
2.3.1. CITRATOS	14



2.3.2.	DESARROLLO DEL METODO DE CLORUROS	16
2.3.3.	DESARROLLO DEL METODO PARA CUANTIFICAR SODIO Y POTASIO	17
	CAPITULO 3 VALIDACION	20
3.1.	IMPORTANCIA	20
3.2.	ETAPAS DE LA VALIDACION	20
3.3.	¿POR QUE VALIDAR?º	21
3.4.	EL PAPEL DE LA ESTADISTICA EN LOS PROCESOS DE VALIDACION	21
3.4.1.	LA EXACTITUD	22
3.4.2.	LA PRECISION	26
	CAPITULO 4 ANALISIS DE RESULTADOS	28
	CITRATOS	29
	CLORUROS	34
	SODIO	40
	POTASIO	45
	CAPITULO 5 CONCLUSIONES	51
	BIBLIOGRAFIA	52
	ANEXO	56
	PARAMETROS DE LA VALIDACION	
	FORMULARIO	



ÍNDICE DE FIGURAS

PAG.

FIGURA 1	REACCIÓN DE UN ÁCIDO CARBOXILICO CON UN ÁCIDO MINERAL FUERTE	4
FIGURA 2	EQUIVALENTES DE NEUTRALIZACIÓN DE UN ÁCIDO	4
FIGURA 3	REACCIÓN DEL CLORO CON EL NITRATO DE PLATA	7
FIGURA 4	SECUENCIA DE EVENTOS EN FLAMOMETRÍA	8
FIGURA 5	METODOLOGÍA GENERAL	12
FIGURA 6	DESARROLLO EXPERIMENTAL DE LA VALIDACIÓN	13
FIGURA 7	FACTORES QUE INFLUYEN EN UN MÉTODO ANALÍTICO	22
FIGURA 8	ERROR DE UN MÉTODO ANALÍTICO	23

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1	MATERIAL EMPLEADO EN LA VALIDACIÓN DE CITRATOS	15
TABLA 2	MATERIAL EMPLEADO EN LA VALIDACIÓN DE CLORUROS	16
TABLA 3	MATERIAL EMPLEADO EN LA VALIDACIÓN DE SODIO Y POTASIO	18
TABLA 4	CONDICIONES DE OPERACIÓN DEL EQUIPO PARA DETERMINAR SODIO Y POTASIO	19



	ÍNDICE DE GRÁFICAS	PAG
GRÁFICA 1	CUANDO EL ANALÍTO ES CONSTANTE EN UN MÉTODO ANALÍTICO $Y = K$	23
GRÁFICA 2	CUANDO EL ANALITO ES $Y = X + B$ (ERROR SISTEMÁTICO PROPORCIONAL EN EL MÉTODO)	24
GRÁFICA 3	CUANDO EL ANALITO ES $Y = MX$ (MULTIPLICADO POR UN COEFICIENTE EN EL MÉTODO)	24
GRÁFICA 4	CUANDO EL ANALITO ES Y ES DIF. DE $MX + B$ (COMPORTAMIENTO NO LINEAL EN EL MÉTODO)	25
GRÁFICA 5	LINEALIDAD DEL SISTEMA CITRATOS	33 BIS
GRÁFICA 6	LINEALIDAD DEL MÉTODO CITRATOS	33 BIS
GRÁFICA 7	LINEALIDAD DEL SISTEMA CLORUROS	39 BIS
GRÁFICA 8	LINEALIDAD DEL MÉTODO CLORUROS	39 BIS
GRÁFICA 9	LINEALIDAD DEL SISTEMA SODIO	44 BIS
GRÁFICA 10	LINEALIDAD DEL MÉTODO SODIO	44 BIS
GRÁFICA 11	LINEALIDAD DEL SISTEMA POTASIO	50 BIS
GRÁFICA 12	LINEALIDAD DEL MÉTODO POTASIO	50 BIS



INTRODUCCIÓN

Hoy en día las empresas farmacéuticas atraviesan una etapa de competitividad entre ellas, en donde la calidad y los costos juegan un papel preponderante y la validación se ha convertido en un soporte muy importante. (27,37)

Para certificar que el producto cumple con las características diseñadas es necesario validar el proceso de fabricación, los análisis de materias primas, producto terminado etc.

El presente trabajo tiene como finalidad desarrollar y validar los métodos analíticos para cuantificar el contenido de los principios activos de una mezcla de polvos para preparar soluciones orales (electrolitos) y contribuir al aseguramiento de la calidad del producto, ya que no se contaban con los métodos analíticos ni con el equipo adecuado que propone la farmacopea nacional. (13,14)

En el primer capítulo (Generalidades), hablaremos de las propiedades biológicas y fisicoquímicas de los componentes de la mezcla de polvos y los lineamientos que se emplearan para el desarrollo de los métodos analíticos.

En el segundo capítulo (Planteamiento del problema) se proponen las alternativas de los métodos analíticos en base a sus propiedades químicas que se tomaron en cuenta.

En el tercer capítulo (validación) hablaremos de los lineamientos para llevar a cabo una validación.

En el cuarto capítulo corresponde a toda la parte experimental y el análisis de los resultados de cada uno de los métodos y finalmente En el capítulo cinco las conclusiones finales del trabajo.



CAPITULO 1 GENERALIDADES

1.1 ELECTROLITOS

En los países en vías de desarrollo y principalmente aquellos de clima cálido, año con año millones de niños pierden la vida a causa de la deshidratación siendo esta la mayoría de las veces consecuencia directa de las enfermedades diarreicas.

En los últimos años se ha llegado a demostrar que las enfermedades diarreicas pueden ser combatidas, debido a que en primer término se conoce la causa de la mayoría de estas y además se dispone de una terapia simple, el tratamiento de rehidratación oral (electrolitos) basado en principios descubiertos relativos a la fisiología humana, eficaz y poco costosa contra dichas enfermedades.

Desde 1971 la OMS (Organización Mundial de la salud) y la UNICEF recomendaron la terapia de rehidratación oral, compuesta por glucosa, cloruro de potasio, cloruro de sodio y citrato de sodio. (12)

Los electrólitos es una solución rehidratante para administración oral para la prevención y corrección de la deshidratación, son iones que existen en los líquidos corporales. Los principales cationes en el líquido extracelular son Na^+ , K^+ , mientras que los aniones principales son: Cl^- y HCO_3^-

El metabolismo resulta afectado en cierto grado por las concentraciones relativas y absolutas de estos electrolitos, que constituyen importantes factores determinantes de la osmolaridad, del estado de hidratación y del pH del líquido tanto intracelular como extracelular en el organismo.

Además las diferencias de concentración existentes entre los electrólitos del líquido intracelular y los del líquido extracelular regulan los potenciales de la membrana y el funcionamiento normal del tejido nervioso y muscular. (3,4. 40)

Al mantener una osmolaridad semejante a la del plasma es esencial para favorecer la absorción intestinal de agua y solutos (nutrientes).

Esta solución debe de conservar la concentración adecuada para lograr el efecto fisiológico adecuado, por eso es necesario que los métodos analíticos sean capaces de cuantificar cada uno de ellos



1.2 PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DE LOS ELECTROLITOS

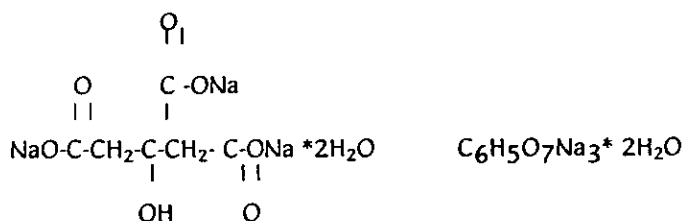
1.2.1 CITRATO DE SODIO

Nombre: (Trisodium citrato, Citrosodine, Urisal).

Nombre químico: Citrato de sodio anhidro, Citrato de sodio dihidratado

Peso molecular: como citrato de sodio dihidratado 294.10

Formula molecular:



El citrato de sodio dihidratado , son cristales blancos, inodoros o polvo granular, es estable en el aire,

Es soluble en 1.3 partes de agua, 0.6 partes agua caliente y es insoluble en alcohol. Principales usos: en fotografía, agente secuestrante para remover trazas de metales, usado *in vitro* como anticoagulante, emulsificante, acidulante y también es usado en la industria alimentaria.

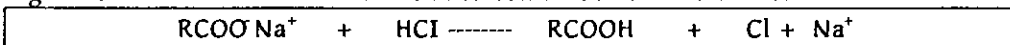
En terapéutica: es usado como alcalinizante sistémico; diurético, expectorante y sudorífico. (11,20).



1.2.2 PROPIEDADES QUÍMICAS (TITULACIONES ACIDO-BASE)

El grupo carboxilo puede encontrarse unido a un átomo de carbono saturado (alifático o cicloalifático), a un átomo de carbono no saturado a un anillo aromático y en una molécula puede haber más de un grupo carboxilo. El grupo carboxilo es ácido, es decir capaz de donar un protón a una base, los ácidos carboxílicos son generalmente, menos ácidos que los ácidos inorgánicos fuertes, pero son más ácidos que el agua. Los ácidos minerales fuertes pueden descomponer las sales de los ácidos carboxílicos más débiles (figura 1) (11,18,39,)

figura 1 reacción de un ácido carboxílico con un ácido mineral fuerte



La reacción entre un ácido y una base se puede emplear para determinar el peso equivalente del ácido. El peso equivalente o peso equivalente de neutralización de un ácido es el número de gramos de éste, que se requieren para neutralizar un equivalente gramo de la base, (figura 2)

figura 2 equivalentes de neutralización de un ácido

<u>peso molecular de</u> un ácido carboxílico	=	<u>equivalente de</u> neutralización	X	<u>Número de grupos</u> carboxilo
--	---	---	---	--------------------------------------





1.2.3 CLORURO DE POTASIO

Clasificación: Solución electrolítica, antiarrítmico

Nombre Químico: Cloruro de potasio K-Cl

P.M. 74.45

PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS:

El potasio es el catión predominante en el líquido intracelular y es esencial para mantener la isotonicidad y las características electrodinámicas de la célula. Es también esencial para un buen número de procesos fisiológicos: transmisión del impulso nervioso, contracción de los músculos cardíaco, esquelético, liso, secreción gástrica y para la función renal normal. El potasio juega también un papel importante en la génesis y en la corrección del equilibrio ácido-base. Tanto el cloruro como el potasio son constituyentes normales de los líquidos orgánicos y mientras que el cloruro predomina en el líquido extracelular (103 mEq/L vs 4 mEq/L), el potasio lo hace en el intracelular (5 mEq/L vs 145 mEq/L), estando en intercambio constante entre ellos y ambos participan en la determinación y mantenimiento del equilibrio hidroelectrolítico. La administración conjunta de potasio o cloruro se justifica porque casi siempre la pérdida de potasio se acompaña en un déficit de cloruro, con la consecuente aparición de alcalosis. Por otro lado, cabe hacer notar que el potasio y los digitálicos muestran afinidad competitiva por la ATP-asa- Na^+ , K^+ cardíaca y que las acciones de estos se acentúan por la hipokalemia. El cloruro de potasio se absorbe rápidamente del tracto gastrointestinal, los iones distribuyen uniformemente por todo el organismo y se eliminan por la orina, las heces fecales y el sudor. (3,4,20)



1.2.4. CLORURO DE SODIO

Clasificación: Solución electrolítica, sal mineral PM. 58.45
Nombre químico: Cloruro de sodio Na-Cl

Sal que en la naturaleza se encuentra en estado sólido (halita, sal de roca, sal fósil) y en solución (agua de mar, ciertos manantiales), de donde se obtiene por cristalización a partir de soluciones concentradas por evaporación. Como tal, el cloruro de sodio consiste en cristales hexahedricos incoloros o un polvo blanco y cristalino. Un gramo se disuelve en 2.8 ml. de agua a 25 grados centígrados, en 2.6 ml. de agua caliente, en 10 ml. de glicerol; Sus soluciones son neutras.

En usos industriales se emplea en la preservación de alimentos, su punto de fusión es de 804 grados centígrados.

PROPIEDADES FARMACOLOGICAS:

La solución isotónica es clara, incolora y con un ligero sabor salado y contiene 154 mEq de sodio y de cloro/ litro. Es la sal más importante para el mantenimiento del líquido extracelular y la restauración de sus desequilibrios. Normalmente se ingieren 4-10g. cada día de esta sal. Se absorbe fácilmente del intestino. El sodio mediante un proceso activo que arrastra al cloro por atracción electroquímica y al agua por atracción osmótica. El cloruro de sodio se absorbe lentamente de los depósitos subcutáneos cuando se administra en forma de soluciones isotónicas. Los iones sodio y cloro se distribuye especialmente en el líquido extracelular; el hueso constituye el principal sitio de almacenamiento para el sodio.

El ión sodio se excreta principalmente por el riñón (95%) , heces y sudor.(3,4, 20)

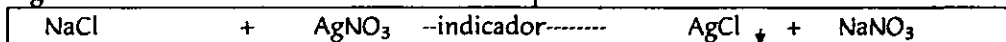


1.2.5 PROPIEDADES QUÍMICAS (TITULACIONES ARGENTOMÉTRICAS)

En una reacción de precipitación, la especie titulada forma un compuesto poco soluble con el titulante. Las titulaciones en las que participa el ión plata, es decir, las titulaciones argentométricas, sirven para la determinación de ión cloruro, de algunos otros iones que forman sales de plata poco solubles y de la propia plata. Muchas sales de plata, incluyendo cloruro, son sensibles a la luz y se descomponen en presencia de esta. Por consiguiente, en las titulaciones argentométricas se debe evitar la exposición directa a la luz, la luz diurna difusa o la iluminación artificial son satisfactorias.

Cuando a una solución de una sal diluida que contenga ión cloruro se le añade nitrato de plata se forma un precipitado de cloruro de plata, las pequeñas partículas de cloruro de plata pueden adsorber iones cloruro sobre su superficie, con lo cual adquieren una carga, las cargas del mismo signo se repelen entre si, las partículas no se unen y permanecen suspendidas, impartiendo a la mezcla una apariencia lechosa, la cantidad de ion cloruro adsorbido depende en parte de su concentración en la solución, también se pueden adsorber otros iones, incluyendo algunos colorantes orgánicos fluorescentes en forma aniónica, aunque en menor grado que el ion cloruro, por consiguiente, si esta presente una pequeña cantidad de indicador orgánico, este solamente se adsorbe en la proximidades del punto de equivalencia de la titulación, esto es, cuando la concentración de ion cloruro en la solución se ha vuelto muy baja (figura 3). (2,5,18.)

figura 3 reacción del cloro con el nitrato de plata

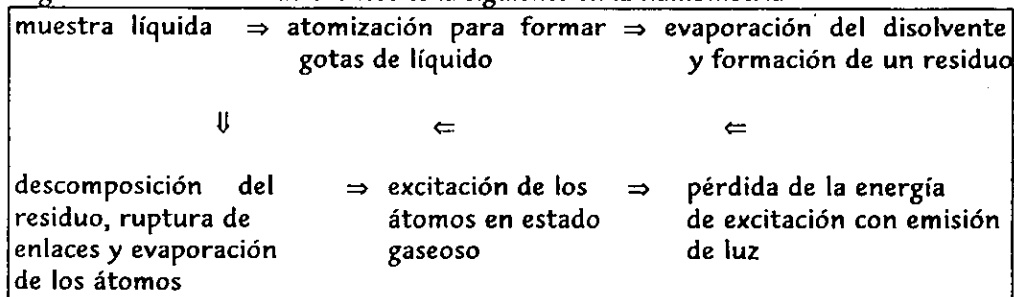




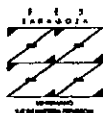
1.2.6 PROPIEDADES METALES ALCALINOS (SODIO Y POTASIO)

El principio que sirve de base a la fotometría de llama implica la excitación de los electrones de un átomo por la energía térmica de una llama. Los electrones al resultar inestables en este estado excitado ceden su energía en exceso al ambiente al pasar del estado de mayor energía excitado al de menor energía. Si la energía se disipa en forma de luz, esta puede constar de uno o más niveles de energía y por tanto poseen diferentes longitudes de onda o líneas del espectro, resultan individualmente características para cada elemento. (figura 4)

figura 4 la secuencia de eventos es la siguiente en la flamometría



La longitud de onda para la determinación de un elemento (al igual que la espectrofotometría), depende de la selección de una línea espectral de suficiente intensidad que proporcione una adecuada sensibilidad. Así mismo también depende de la inexistencia de otras líneas interferentes en la longitud de onda seleccionada o cerca de ella.





Los metales alcalinos son comparativamente fáciles de excitar en la llama de un mechero ordinario de laboratorio. En una llama el sodio exhibe un color amarillo, el potasio un color violeta. Estos colores son característicos de los átomos metálicos presentes en la solución en forma de cationes.

En condiciones constantes y controladas, la intensidad luminosa de la longitud de onda típicamente producida por cada uno de los átomos resulta directamente proporcional al número de átomos que emiten energía lo cual es directamente proporcional a la concentración de la sustancia de interés en la muestra de esta forma. La fotometría de llama resulta muy adecuada para la determinación directa de la concentración de algunos metales. (5,9,10,21,43)

Una de las principales ventajas de la fotometría de llama es que se puede operar un pequeño volumen de muestra, es por eso que la fotometría es muy usada para determinar sodio y potasio ya que su sensibilidad para estos metales es muy alta, por lo que usando otros métodos analíticos inadecuados resultan ser tediosos e inaplicables a cantidades muy pequeñas.



CAPITULO 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Al desarrollar un método analítico es necesario hacer predicciones de calidad y fiabilidad etc., en estos casos realizamos una evaluación mental al comparar el método con otros (desviación del medio) o concluir si es mejor (no muestra diferencia significativa) y todo basándose en juicios o mediciones previas para cada paso. (8,22,37).

Sin embargo los resultados obtenidos de esta manera no son algo científicos si no empíricos y por lo tanto de poco confiar, por lo que existe la necesidad de tecnificar el procedimiento, se realiza una evaluación estadística para el manejo y análisis de los datos que nos permiten conducirnos con técnica y criterio al evaluar el análisis de un medicamento.

El emplear métodos analíticos no confiables, puede llevar a liberar un medicamento que no cumpla con las especificaciones que potencialmente va a ser dosificado. Si se da lugar a una subdosificación (potencia baja), no es posible alcanzar niveles terapéuticos y por lo tanto se puede presentar una acción farmacológica deficiente; si por el contrario se sobredosifica (potencia elevada), se pueden presentar efectos farmacológicos no deseados (efectos colaterales, intoxicación entre otras). De ahí la importancia de establecer la confiabilidad de estos métodos ya que es un elemento importante para construir la calidad del medicamento; por lo que la VALIDACIÓN es la actividad que nos permite cumplir con esta finalidad.(7, 27,42)

Estos tienen que cumplir las normas específicas de la Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos, tales normas establecen las características de calidad como son: (identidad, pureza, concentración, potencia e inocuidad etc.), así como los métodos de prueba y análisis que tienen que aplicar para determinar si el medicamento cumple o no con los requisitos legales.(8,22,42)



Unos de los problemas de las técnicas de la farmacopea nacional es que no siempre se cuenta con el equipo, ni con la capacidad económica para adquirirlos, por lo que es necesario métodos analíticos opcionales, pero que aseguren así mismo la calidad del producto final con una validación del método en cuestión.

2.1 OBJETIVOS

1. Desarrollar técnicas analíticas para cuantificar los electrólitos (citratos, cloruros, sodio y potasio) en una mezcla de polvos para preparar soluciones orales de rehidratación.
2. Proponer la optimización de los métodos desarrollados en análisis-tiempo-costo.
3. Realizar la validación de los métodos analíticos de cada uno de los electrólitos
Sodio: por flamometría
Potasio: por flamometría
Citratos: titulación ácido-base
Cloruros: titulación argentométrica
4. Validar cada uno de los métodos analíticos desarrollados

2.2 HIPÓTESIS

De acuerdo con las propiedades fisicoquímicas de los electrólitos (sodio, potasio, cloruros y citratos) es posible desarrollar métodos analíticos, para cuantificar a cada uno de ellos, así como también validar cada método y contribuir a garantizar la calidad del producto terminado.(fig 5 y 6)



FIGURA 5 METODOLOGÍA GENERAL

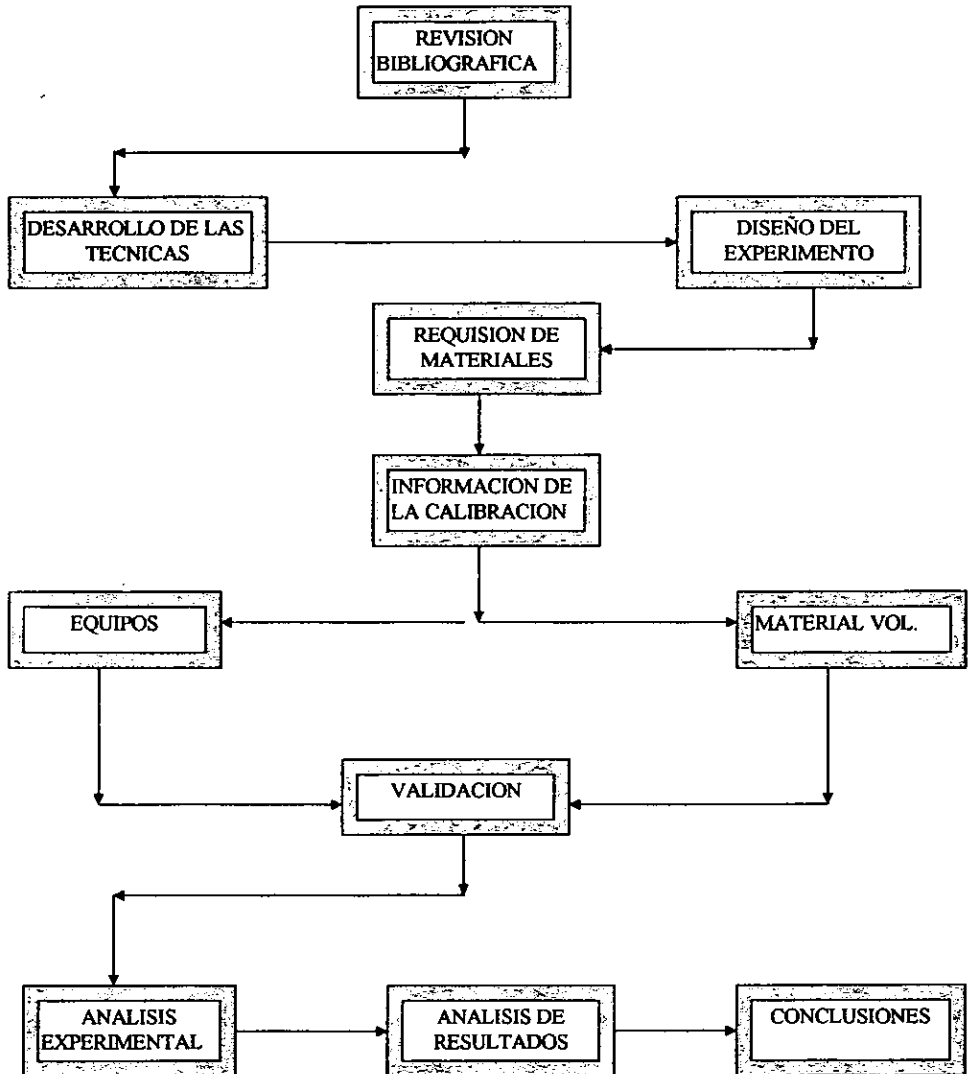
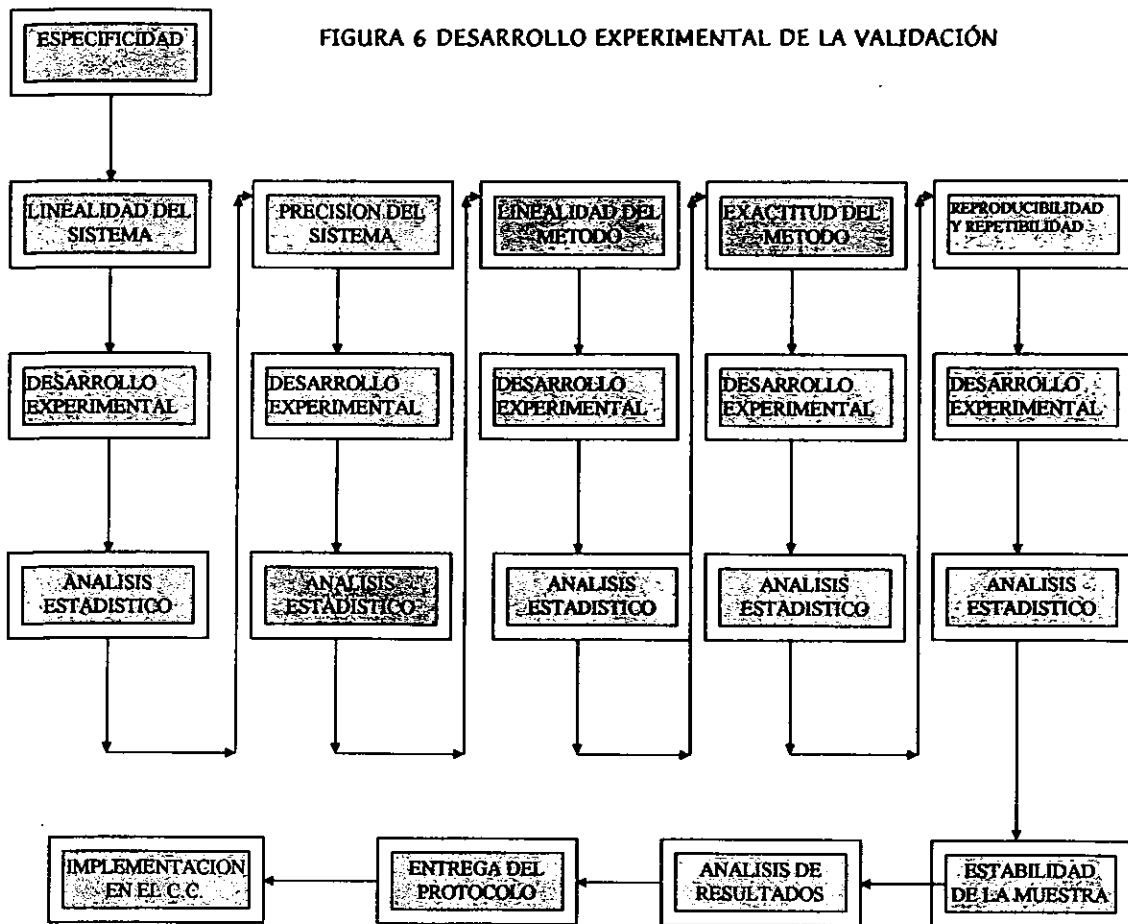




FIGURA 6 DESARROLLO EXPERIMENTAL DE LA VALIDACIÓN





2.3 DESARROLLO DE LAS TÉCNICAS

2.3.1 CITRATOS

Para llevar acabo el desarrollo de la técnica para cuantificar citratos se tomaron en cuenta los siguientes aspectos:

1. Para poder regenerar el ácido carboxílico del citrato de sodio, era necesario conocer una concentración adecuada de ácido fuerte capaz de lograr el efecto del desplazamiento y para conocer la cantidad de citratos en la muestra era necesario que tuviera un exceso de ácido y este tendría que ser neutralizado con una base y la diferencia de los volúmenes determinan la concentración de citratos en la muestra

2. Se encontró que uno de los ácidos fuertes capaz de lograr el efecto en la reacción era el ácido clorhídrico, posteriormente se probaron concentraciones de ácido clorhídrico de 0.1 N hasta 1 N, y se encontró que la mejor respuesta era la de 0.5 N,

3. Otro aspecto importante una vez seleccionado al ácido clorhídrico era la cantidad de muestra ya que los equivalentes mililitro eran de 49.015 mg, de citrato por mililitro esto influía en la construcción de la curva de concentraciones ya que el rango era muy pequeño y los volúmenes muy cercanos, por ello se tenía que ampliar la cantidad del tamaño de muestra para llegar finalmente a 3.5 gramos y el volumen de ácido fue de 10 ml para posteriormente neutralizar el exceso con NaOH y la diferencia de volúmenes correspondería a los citratos. Por ultimo se evaluó la especificidad con placebos del producto terminado y no se encontró respuesta de interferencia.



VALORACIÓN DE CITRATOS

MÉTODO EMPLEADO TITILACIÓN RESIDUAL ÁCIDO-BASE

Tabla I material empleado en la validación de citratos

REACTIVOS ANALÍTICOS	MATERIALES
CITRATO DE SODIO DIH .J.T. BAKER	SOPORTE UNIVERSAL
ÁCIDO CLORHÍDRICO 0.5N SIGMA	MATRACES ERLIENMEYER DE 250 ml PIREX
HIDRÓXIDO DE SODIO 0.5N SIGMA	MATRACES AFORADOS DE 100 ml PIREX
IND ANARANJADO DE METILO SIGMA	MATRACES AFORADOS DE 50 ml. PIREX
INSTRUMENTOS	MATRACES AFORADOS DE 250 ml . PIREX
BALANZA ANALÍTICA OHAUS AS 120	PIPETAS VOLUMÉTRICAS. DE 10 ml. PIREX
	BURETAS DE 25 ml. KIMAX

ANÁLISIS

Pesar aproximadamente 3.5 gramos de polvo de suero oral, transferirlo a un matraz Erlenmeyer de 250 ml., y diluirlo con aproximadamente 30 ml. de agua destilada. Tomar una alícuota de 10 ml. de HCl 0.5 N, y añadirla al matraz, dejando reposar 10 minutos, para posteriormente titular con NaOH 0.5 N, empleando como indicador anaranjado de metilo. Cada mililitro de HCl 0.5 N. equivale a 49.015 mg. de citrato de sodio.

FORMULA

$$\frac{(10 \text{ ml de HCl} - \text{gasto en ml de NaOH}) * \text{equivalente} * \text{masa promedio}}{\text{masa de la muestra}} = \frac{\text{gramos de citrato}}{\text{sobre}}$$



2.3.2 DESARROLLO DEL MÉTODO DE CLORUROS

Para el desarrollo del método para cuantificar cloruros se tomaron los siguientes aspectos:

1. Cambiar completamente la técnica de cuantificar cloruros ya que la técnica empleaba mucho tiempo y reactivos. Para ello se considero realizar la técnica más directa y a la vez optimizada.

Se empleo nitrato de plata como titulante y eosina como indicador en el medio se añadió ácido acético y metanol en cantidades de 20 ml. cada uno para luego iniciar el proceso de optimización al evaluar la respuesta del punto final de titulación a diferentes volúmenes de ácido acético y metanol para luego sustituir el metanol por etanol y quedar los volúmenes en 5 ml. cada uno en el medio

VALORACIÓN DE CLORUROS

MÉTODO EMPLEADO: TITILACIÓN ARGENTOMETRICA

tabla II material empleado en la validación de cloruros

REACTIVOS ANALÍTICOS	MATERIALES
CLORURO DE POTASIO. J. T. BAKER	SOPORTE UNIVERSAL
CLORURO DE SODIO. J.T. BAKER	MATRACES ERLÉNMEYER DE 250 ml PIREX
ÁCIDO ACÉTICO CONC. J.T. BAKER	MATRACES AFORADOS DE 100 ml PIREX
ALCOHOL ETILICO J,T, BAKER.	MATRACES AFORADOS DE 50 ml. PIREX
IND. EOSINA SIGMA	MATRACES AFORADOS DE 250 ml . PIREX
INSTRUMENTOS	PIPETAS VOLUMÉTRICAS. DE 5 y 10ml. PIREX
BALANZA ANALÍTICA OHAUS AS 120	BURETAS DE 25 ml. KIMAX



ANÁLISIS

Pesar aproximadamente 27.9 gramos de polvo de electrólitos y añadirlos a un matraz aforado de 1000 ml. , con suficiente agua destilada para disolver, mezclar y aforar a volumen. Posteriormente tomar una alícuota de 10 ml. y añadirla aun matraz Erlenmeyer de 250 ml., agregar 20 ml de agua destilada, 5 ml de alcohol etílico y 5 ml de ácido acético conc. y 2 gotas de solución indicadora de eosina mezclar la solución y titular con nitrato de plata 0.1 N. Cada mililitro de nitrato de plata equivale a 3.545 mg. de cloro.

FORMULA

$$\frac{\text{volumen} \times 100 \times 3.545 \times \text{masa promedio}}{\text{masa de la muestra}} = \text{gramos de cloruros /sobre}$$

2.3.2 DESARROLLO DEL MÉTODO PARA CUANTIFICAR SODIO Y POTASIO

Para el desarrollo de este método se tomo en cuenta que no existía el equipo propuesto por la farmacopea (absorción atómica) , y se contaba con un flamómetro y se consideraron los siguientes aspectos:

1. Desarrollar el método por flamometría y a la vez optimizado en tiempos cortos ya que el producto se fabrica mucho (6 lotes diarios).

Para ello tomamos en cuenta la especificidad del equipo al emplear los filtros para cuantificar sodio y luego potasio y se encontró que no existía interferencia por parte de los placebos.

El proceso de optimización fue muy laborioso ya que involucraba el ajuste ideal de los botones así como seleccionar la lectura en el display de manera que la curva de calibración fuera bastante amplia para que el equipo fuera sensible en la determinación pero además se tenía que cuidar la sensibilidad ya que se podía meter ruido al equipo provocado por la flama así de este modo se trabajaron varias lecturas desde 50, 100, 200, 300, y 500 , encontrándose que la lectura de 200 presentaba una buena respuesta tanto para cuantificar como en la amplitud de la curva.



El ajuste de la flama se consiguió al evaluar la señal a diferentes giros del botón de ajuste ya que una flama muy intensa provocaba ruido en el equipo a lecturas altas por ejemplo a la lectura de 500 por otro lado estaba el botón de la sensibilidad para la determinación y finalmente después de realizar las combinaciones de los botones de ajuste se llegó a la que mejores resultados dio para sodio y para potasio.

TITULO: VALORACIÓN DE SODIO Y POTASIO

MÉTODO EMPLEADO: ESPECTROFOTOMETRIA DE FLAMA

tabla III material empleado en la validación de sodio y potasio

REACTIVOS ANALÍTICOS	MATERIALES
CLORURO DE SODIO J.T. BAKER	SOPORTE UNIVERSAL
CLORURO DE POTASIO J.T. BAKER	MATRACES AFORADOS DE 1000ml PIREX
AGUA DESTILADA LAB. TEISSIER	MATRACES AFORADOS DE 100 ml PIREX
INSTRUMENTOS	MATRACES AFORADOS DE 50 ml. PIREX
BALANZA ANALÍTICA OHAUS AS 120	MATRACES AFORADOS DE 250 ml . PIREX
EQUIPOS	BURETAS DE 25 ml. KIMAX
FLAMOMETRO CORNING SCIENCIE 400	VASOS DE PRECIPITADOS DE 150 ml. KIMAX

PREPARACIÓN DEL ESTÁNDAR

Pesar aproximadamente 1.5 gramos de Cloruro de Potasio y 5.24 gramos de Cloruro de sodio, colocarlos en un matraz aforado de 1 litro, disolver con agua destilada y aforar.

PREPARACION DE LA CURVA ESTÁNDAR

Pesar 1.5 gramos de Cloruro de potasio y 5.24 gramos de Cloruro de sodio colocarlos en un matraz de 250 ml., disolver con agua destilada y aforar.

Preparar una serie de diluciones al 80, 90, 100, 110, y 120 por ciento de concentración respectivamente.



PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Pesar aproximadamente 27.9 gramos de polvo de electrólitos colocarlos en un matraz aforado de 1000 ml. añadir suficiente agua destilada para disolver para luego aforar. Tomar 150 ml de la solución y realizar las mediciones en el flamómetro dando las siguientes condiciones ajuste:

tabla IV condiciones de operación del equipo para determinar sodio y potasio

SODIO	POTASIO
-Filtro para sodio	-Filtro para potasio
-ajuste de sensibilidad 2	-ajuste de sensibilidad 1
-lectura del display 200 con el estándar	-lectura del display 200 con el estándar
-ajuste del blanco agua destilada a 0	-ajuste del blanco agua destilada a 0

Una vez establecidas las condiciones introducir la muestra problema y obtener el valor de la lectura en el display.

Ambos resultados se extrapolan en las curvas estándar que previamente fueron elaborada para ambos elementos (sodio y potasio), que van en concentraciones del 80 al 120 por ciento a partir de una solución patrón de cloruro de sodio y cloruro de potasio.

Los resultados se obtienen de la siguiente manera:

$$\text{valor en gramos de la curva} \times \frac{\text{masa promedio}}{\text{masa de la muestra}} = \text{gramos / sobre}$$



CAPITULO 3. VALIDACIÓN

DEFINICIÓN: Es el establecimiento de la evidencia documentada que provee un alto grado de seguridad de que un proceso específico produce un producto consistentemente con especificaciones y atributos de calidad predeterminados. (37,38, 41)

3.1 IMPORTANCIA

La validación de un método analítico es la medición del mejoramiento del sistema analítico total, en otras palabras la medición del efecto de los instrumentos, solventes, reactivos y todos los demás elementos que son utilizadas durante el ensayo.

La sección 211.165 (e) y 211.194 (a) (2) de las GMP'S (Buenas prácticas de manufactura) se menciona que para la validación específica de los métodos establecidos por organizaciones oficiales como la USP (Farmacopea de los Estados Unidos), AOAC (Agencia oficial de alimentos de Estados Unidos), BP (Farmacopea Británica) etc. pueden ser validados ya que las nuevas condiciones (de laboratorio) actuales pueden alterar las características de los métodos. Por otro lado los métodos adoptados o desarrollados puede ser evaluados bajo condiciones actuales de uso y pueden tener variaciones existentes por lo que es necesario que sean validados. (7,8, 37).

3.2 ETAPAS DE LA VALIDACION

- | | |
|------------|--|
| 1972--1978 | era satisfacer las exigencias de la FDA "1era etapa existia un rechazo inicial" |
| 1978--1983 | Basada en hacer esfuerzos por optimizar un proceso "etapa defensiva". |
| 1983--??? | Basada en un programa de optimización del proceso beneficios económicos "etapa de convencimiento" (16,17.42) |



3.3 POR QUE VALIDAR ?

Toda acción que se repite dos o más veces estará sujeta a un fenómeno conocido como variación ya que es muy difícil que un mismo resultado de la acción en cuestión se reproduzca con la misma magnitud dos veces seguidas ya que estará sujeta a un gran número de factores que provocan que no se den las mismas condiciones que la primera vez. (7, 15)

Afortunadamente existen procedimientos que nos permiten evaluar la variación de un fenómeno ya que es conocido que existe un comportamiento regular de la variación de un fenómeno cuando se reproduce en condiciones similares.

A este comportamiento se le conoce como "Regularidad Estadística" representada matemáticamente como un función de probabilidad. De tal forma que durante un proceso de validación se tratará de conocer el comportamiento de esta variación de causas asignables de aquellas causas debidas al azar. Es importante el reconocer que el primer paso en los procesos de validación es el conocimiento de la recopilación de información correcta para poder realizar el análisis técnico de los datos y poder así obtener resultados concluyentes. Las herramientas que nos permiten alcanzar tales objetivos es sin duda los procedimientos estadísticos (7,15, 38, 41).

3.4 EL PAPEL DE LA ESTADÍSTICA EN LOS PROCESOS DE VALIDACIÓN

LA VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO CONSISTE EN DETERMINAR LA EXACTITUD Y ESTABLECER LA VARIABILIDAD (PRECISIÓN) (7).



3.4.1 LA EXACTITUD

En una gran variedad de métodos analíticos, se tiene como propósito determinar cuantitativamente a un analito presente en una muestra, un atributo importante es la exactitud. La exactitud de un método analítico es un atributo, el cual mide la concordancia absoluta entre el contenido del analito obtenido al aplicar el método a la muestra (estadística), y el valor verdadero del contenido del analito en la muestra (parámetro). La exactitud es un atributo dicotómico y excluyente; es decir " un método es exacto o es inexacto; no es correcto establecer otra categoría.

Una gran cantidad de métodos analíticos emplea una respuesta analítica o variable indicadora del contenido del analito en la muestra, esta respuesta es influenciada por una serie de factores intrínsecos del método, por lo que se esperara que estos factores gobiernen su exactitud. (Figura 7) (,22,23,24,25,26,27,41)

FIGURA 7 Factores que influyen en un método analítico

FACTORES INTRÍNSECOS	FACTORES DE MÉTODO	FACTORES HUMANOS
Instrumentos mal calibrados (balanza, espectro etc.)	Diseño del método indicador temp. extracción inadecuada	Mal manejo de aparatos e instrumentos

El modelo lo podemos representar como:

$$Y = M + E + E_a$$

M= es la respuesta analítica

E= es el error sistemático, cuya magnitud depende de los factores intrínsecos del método

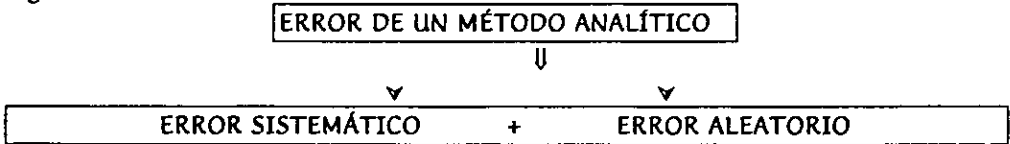
E_a= el error aleatorio, cuya magnitud depende de los factores extrínsecos del método.

Estos factores se pueden controlar de tal manera que la respuesta analítica no sea correcta, este error se conoce como error sistemático o determinado su definición es: Error que se puede identificar y eliminar del método analítico.

Un método que no presenta error sistemático, se establece como un método exacto. Por lo que desde un punto de vista técnico, se puede considerar como el estudio o ausencia o presencia de error sistemático (se clasifican en dos error sistemático constante y error sistemático proporcional (figura 8).



figura 8



Error sistemático constante: se estudia a un contenido fijo del analito en la muestra. En general cuando es conocida la constitución cualitativa y cuantitativamente de una muestra, es conveniente definir el denominado placebo analítico, el cual representa una muestra que contiene todos los componentes en cualidad y cantidad a excepción del analito. (22,23,24,25,26,27,41)

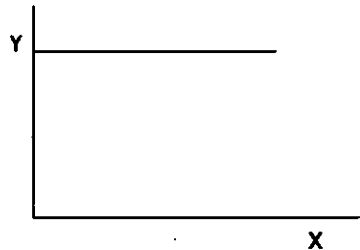
En la industria farmacéutica la mayoría de las muestras son conocidas en cualidad y cantidad.

El error sistemático proporcional: Este último error muestra la dependencia del error sistemático con la cantidad del analito presente en la muestra. No solamente el método debe medir sin error al analito a una cantidad constante, si no también a una cantidad variable; es decir, si la muestra contiene X cantidad de analito, el método debe medir Y cantidad de analito donde $Y=X$. Por ejemplo si la cantidad verdadera del analito es 80%, el método debe reportar 80% a partir de esta función $Y=X$, que representa a un método exacto, se pueden describir distintos casos, en los cuales se presenta error sistemático proporcional.

A) $Y=K$, la cantidad del analito, que es reportada por el método, es constante, lo cual es inaceptable analíticamente. En este caso la magnitud del error sistemático es dependiente del valor de X (ver gráfica 1)

Gráfica 1

X	Y
80	80
100	100
120	120



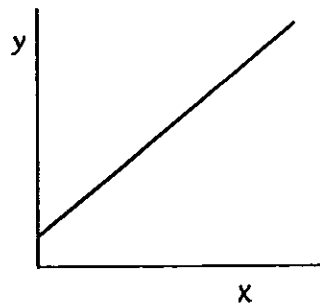


B) $Y = X + B$ (B diferente de 0) (ver gráfica 2)

En este caso, la cantidad del analito, que es reportada por el método es igual al verdadero valor más una cantidad fija. A este tipo se le denomina error sistemático proporcional constante esto puede ser explicado, entre otras causas por la presencia en la muestra, de una sustancia que responda al método y que siempre está en cantidad constante ($B > 0$) o que el analito se pierda de manera constante en alguna etapa del método ($B < 0$). Para este caso la magnitud del error es siempre fija a cada valor de X ; es independiente de Y .

gráfica 2

x	Y
80	85
100	105
120	125

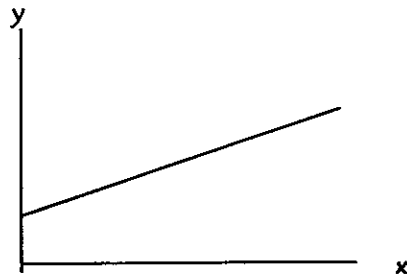


C) $Y = MX$ (M diferente de 1). (ver gráfica 3)

En este caso, la cantidad del analito, que es reportada por el método, es igual al verdadero valor multiplicado por un coeficiente (pendiente), que es distinto de 1. Un caso para explicar este tipo de error, es cuando el método tiene una extracción no cuantitativa, en alguna parte operativa del método si la eficiencia de la extracción del analito es del 50% a un verdadero valor de la cantidad de analito presente .

gráfica 3

x	y
90	72
100	80
120	96





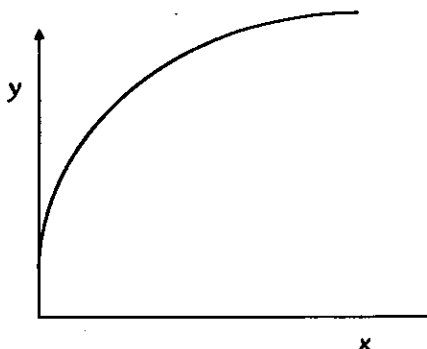
en la muestra de 90% la cantidad será del 72%, si la cantidad del analito es de 100% se espera que el método mida 90%. En este caso la magnitud del error sistemático es dependiente de la cantidad verdadera del analito presente en la muestra por lo que se le llama error sistemático proporcional consistente.

D) Y diferente $MX + B$ (ver gráfica 4)

En este caso la cantidad del analito que es reportada por el método, no se comporta de manera lineal lo que da lugar a la presencia de error sistemático. Una de las causas puede ser que el sistema de medición empleado en el método analítico presente problemas de respuesta.

gráfica 4

x	y
80	80
100	100
120	110



El modelo estadístico que permite describir la asociación entre la cantidad verdadera del analito, con la cantidad medida es:

$$Y = MX + B + E_a$$

Y= Es la cantidad de analito medida por el método presente en la muestra

X= cantidad verdadera del analito presente en la muestra

M= coeficiente que representa la magnitud de cambio de y con respecto a un cambio de X

B= respuesta de Y cuando se tiene ausencia de X

E_a= Error aleatorio al medir, empleando el método analítico al analito.

Ya que el analista conoce la cantidad que adiciona al placebo (X) y la cantidad de analito que recupera al aplicar el método (y), se procede a analizar la información.



Considerando los lineamientos anteriores, el análisis del modelo estadístico, para la linealidad del método debe sugerir que se cumplen los siguientes requisitos de preferencia en el orden indicado.

a) La variación de Y es explicada por X en el intervalo de la cantidad estudiada.

Entre las alternativas de análisis estadístico se tiene:

*El análisis de varianza

*Intervalo de confianza para el valor de M

a) por cualquiera de estas alternativas es posible tomar la decisión si al variar X varía Y

b) La relación entre x e y en el intervalo de concentración estudiado sea descrita mediante un modelo lineal.

Este requisito se denomina estadísticamente como la linealidad del método, y se tiene para el análisis estadístico.

*Estimar el coeficiente de determinación (prioritario),

*la prueba de falta de ajuste del modelo lineal. (,22,23.24,25,26,27,41)

3.4.2 LA PRECISIÓN

Un requisito esencial de un método que tenga aplicaciones cuantitativas, es su capacidad para repetir y reproducir la medición, la cual en el campo de la validación se le denomina precisión. Invariablemente este parámetro puede llegar a ser de mayor importancia que la exactitud, ya que esto depende la decisión de emplear o no el método.

La precisión se establece en términos de 2 componentes independientes; la repetibilidad (error aleatorio), error aleatorio que siempre está presente en cualquier medición analítica; y la reproducibilidad, error aleatorio que puede llegar a estar presente en cualquier medición analítica.

Un método analítico debe reunir atributos deseables tanto de repetibilidad como de reproducibilidad y al no ser adecuada una de ellas da lugar a un método con una incertidumbre no aceptable, lo que dificulta la toma de decisiones en relación al material analizado.

Dada la característica relativa de la precisión, es necesario establecer un límite, para la variación permitida ya sea como repetibilidad o reproducibilidad.



En la mayoría de los laboratorios farmacéuticos, el estudio se le denomina inter-análisis-analista, debido al interés primordial de estimar la variación asignable al método, así como su capacidad de ser reproducido en distintos análisis y por distintos analistas.

MODELO ESTADÍSTICO

Este describe la igualdad entre el resultado generado del contenido del analito en la muestra:

$$Y_{ij} = M + A_i + D_j(i) + E_k(ij).$$

Y_{ij} = contenido del analito en la K -ésima pesada o volumen del material analizado

M = valor verdadero del contenido del analito en el material

A_i = efecto del j -ésimo análisis en el contenido del analito presente en el material

$E_k(ij)$ = error en la determinación del contenido del analito en la k -ésima pesada o volumen del material, analizada en el j -ésimo análisis, por el j -ésimo analista.

El análisis estadístico de los resultados del estudio precisión permite:

a) Estimar la variación total del método. El coeficiente de variación total incluye la variación asignada a los componentes analista-análisis-método.

b) Determinar si el efecto de los analistas es estadísticamente o no, distinto de cero. Si su magnitud es cero, el análisis de la varianza sugiere que el método es reproducible entre los analistas.

c) Determinar si el efecto de los análisis es estadísticamente o no, distinto de cero. Si la magnitud del efecto es cero, el análisis sugiere que el método es reproducible en entre los análisis.

d) Si el método resulta ser no reproducible, se debe estimar la magnitud del efecto en cuestión. La información del análisis de varianza permiten obtener la magnitud en términos de coeficiente de variación ya sea de análisis o de analista.

e) Estimar la repetibilidad o error del método y nuevamente el análisis de varianza vuelve a ser de gran utilidad.

Desde el punto de vista estadístico podemos considerar la aplicación de la Estadística Descriptiva con el uso de la media aritmética, la desviación estándar relativa

(% CV); así como la estadística inferencial con el uso de los intervalos de confianza, las pruebas de hipótesis, el diseño de experimentos y la regresión lineal. (22,23,24,25,26,27,41).



ANALISIS

DE

RESULTADOS

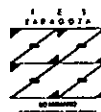
QUIERO PENSAR QUE YA ENCONTRÉ EL TERMINO MEDIO,
TODO LO QUE HAGO, LO HAGO POR QUE QUIERO,
LAS REGLAS QUE SIGO ME LAS PONGO YO MISMO,
SOY AUTÓNOMO E INDEPENDIENTE, ME GUSTA MI VIDA,
MIS ERRORES Y TODO LO QUE ELLOS REPRESENTAN

PAULINA SMITH

**LINEALIDAD DEL SISTEMA CITRATOS**CONCENTRACION (X)
en gramos de citratosPROPIEDAD MEDIDA (Y)
mililitros de HCl 0.5 N

0.29	5.9	5.85	5.9
0.3262	6.7	6.65	6.7
0.3625	7.4	7.35	7.4
0.3987	8.2	8.2	8.15
0.435	8.75	8.8	8.75

N(replicas) 3
T(niveles) 5
R 0.998478
R² 0.996959

COEFICIENTE DE VARIACION 0.768201



PRECISION DEL SISTEMA CITRATOS

Volumen de HCl 0.5 N

7.45	SY	44.60
7.4	SY ²	331.53
7.45	MEDIA Y	7.433
7.45	DSTD	0.0258
7.4	CV	0.3473
7.45		

TOTAL 6

EXACTITUD DEL METODO CITRATOS

Porcentaje recuperado de citratos

100.05	SY	600.77
100.73	SY ²	60156.44
100.05	MEDIA	100.1283
100.73	DSTD	0.685023
100.05	CV	0.684145
100.05		

TOTAL 6

INTERVALO DE CONFIANZA DE 99.908 A 100.6443

**LINEALIDAD DEL METODO CITRATOS**

cantidad de gramos adicionados de citratos vs gramos recuperados de citratos con sus respectivos porcentajes

ADICIONADA	RECUPERADA	%	RECUPERADA	%	RECUPERADA	%
0.2900	0.2916	100.5517	0.2940	101.3793	0.2891	99.68965
0.3262	0.3234	99.14163	0.3284	100.6744	0.3234	99.14163
0.3625	0.3602	99.36551	0.3602	99.36551	0.3627	100.0551
0.3987	0.3994	100.1755	0.3994	100.1755	0.4019	100.8026
0.4350	0.4313	99.14942	0.4313	99.14942	0.4313	99.14942

Pendiente	0.97829
Ordenada	0.00722
R	0.99793
R ²	0.99587
CV	0.739750

PRUEBA DE HIPOTESIS PARA LA PENDIENTE

Ho m = 1

Ha m # 1

CRITERIOS DE ACEPTACION PARA LA PENDIENTE

t de tab 2.16

t calc -5362.93

t cal, < t tab .se acepta Ho

INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA PENDIENTE DE 0.951631 A 1.004953

PRUEBA DE HIPOTESIS PARA LA ORDENADA

Ho b= 0

Ha b #0

CRITERIO DE ACEPTACION PARA LA ORDENADA

t de tab 2.16

t calc 0.007228

t cal, < t tab .se acepta Ho

INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA ORDENADA DE -0.00253 A 0.016988



**REPRODUCIBILIDAD Y REPETIBILIDAD DEL METODO
CITRATOS**

	ANALISTA 1		ANALISTA 2	
	1	100.05		100.39
DIA 1	2	100.7		100.7
	3	100.05		100.7
	4	100.7		100.7
DIA 2	5	100.05		100.7
	6	100.7		100.7

ANALISIS DE VARIANZA					
FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F cal	F Tab
ANALISTA	1	0.2241	0.2241	5.1862	38.51
DIA	2	0.0864	0.0432	0.5510	6.51
ERROR	8	0.6274	0.0784		

VARIACION INTERANALISTAS	0.1736
VARIACION INTERDIAS	0.0001
REPETIBILIDAD DEL METODO	0.2800
MEDIA ARITMETICA TOTAL	100.51
DSTD TOTAL	0.2920
COEFICIENTE VARIACION TOTAL	0.2905

CRITERIOS DE ACEPTACION	Ho	F cal < F tab	analistas	gla/gld
		F cal < F tab	días	gld/gle

EL METODO ANALITICO ES REPRODUCIBLE POR LOS ANALISTAS
EL METODO ANALITICO ES REPRODUCIBLE EN DISTINTOS DIAS POR UN MISMO ANALISTA

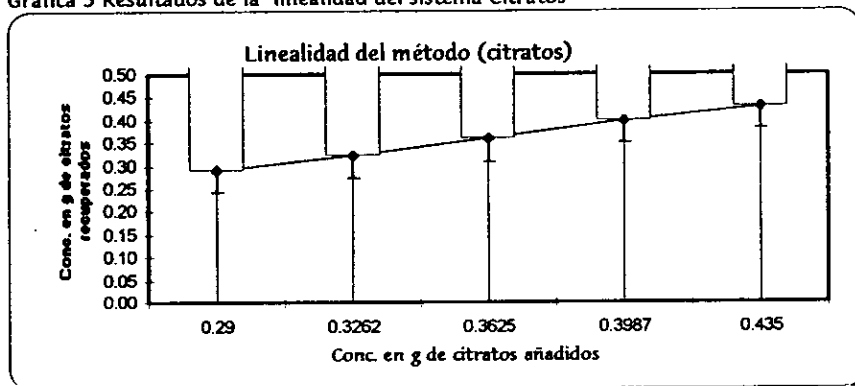
**ANALISIS DE RESULTADOS CITRATOS**

Se obtiene que el método presenta condiciones favorables para ser utilizado como método de rutina para el análisis del producto y que a diferencia del anterior se logro dejar de utilizar el ácido perclórico y el ácido acético que además de ser incómodos por su olor se tenía que evaporar la muestra que era un paso crítico para la prueba y reconstituirla posteriormente todo esto se llevaba a cabo en la campana extractora con una pérdida de tiempo considerable. Por lo que el método nuevo fue mejor ya que es más cómodo, se disminuyeron tiempos y reactivos las linealidades están dentro de los límites especificados para un método por titulación, por otro lado el método es preciso y exacto. En cuanto a su reproducibilidad este fue aceptable, ya que no presente ningún problema.

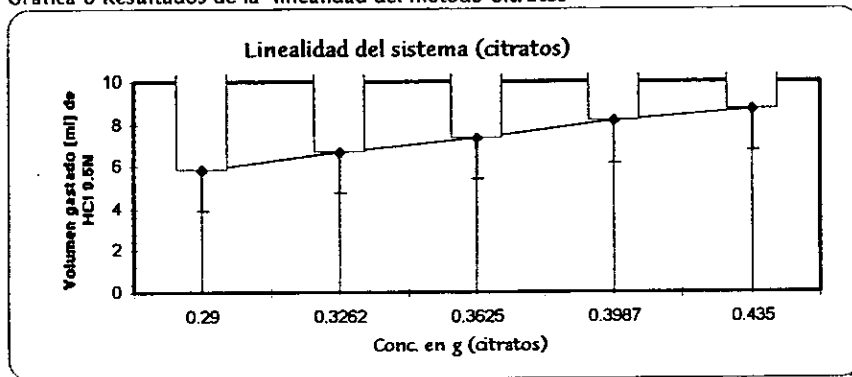
Por otro lado no se realizó estabilidad ya que la muestra se toma del polvo y no de la solución por lo que se tomo el criterio de que esta prueba no tenía mucha importancia.



Grafica 5 Resultados de la linealidad del sistema Citratos



Grafica 6 Resultados de la linealidad del método Citratos





LINEALIDAD DEL SISTEMA · CLORUROS

CONCENTRACION (X) PROPIEDAD MEDIDA (Y)
en miligramos de cloruros mililitros de AgNO_3 0.1 N

22.74	6.4	6.40	6.35
25.58	7.2	7.2	7.2
28.43	7.9	7.95	7.95
31.27	8.7	8.70	8.70
34.12	9.5	9.5	9.50

N(replicas) 3
T(niveles) 5
R 0.999697
R² 0.999395

COEFICIENTE DE VARIACION 0.520902

**PRECISION DEL SISTEMA CLORUROS**Volumen de AgNO₃ 0.1 N

8.05	SY	47.65
7.9	SY ²	378.44
7.9	MEDIA Y	9416
7.9	DSTD	0.0664
8.0	CV	0.8368
7.9		

TOTAL 6

EXACTITUD DEL METODO CLORUROS

Porcentaje recuperado de cloruros

101	SY	600.77
99.75	SY ²	60156.44
101	MEDIA Y	100.1283
99.75	DSTD	0.685023
99.75	CV	0.684145
99.75		

TOTAL 6

INTERVALO DE CONFIANZA DE 99.488 A 100.8433



LINEALIDAD DEL METODO CLORUROS

cantidad de miligramos adicionados de cloruros vs miligramos recuperados de cloruros con sus respectivos porcentajes

ADICIONADA	RECUPERADA	%	RECUPERADA	%	RECUPERADA	%
22.74	23.04	101.3192	22.68	99.73614	23.04	101.3192
25.5800	25.52	99.76544	25.87	101.1336	25.52	99.76544
28.4300	28.36	99.75378	28.81	101.3366	28.36	99.75378
31.2700	31.64	101.1832	31.19	99.74416	31.64	101.1832
34.1200	34.07	99.85345	34.07	99.85345	34.39	100.8045

M	0.99717
B	0.19930
R	0.99762
R ²	0.99525
CV	0.733024

PRUEBA DE HIPOTESIS PARA LA PENDIENTE

Ho m = 1

Ha m ≠ 1

CRITERIOS DE ACEPTACION PARA LA PENDIENTE

T de tab 2.16

T calc -67.2815

t cal, < t tab .se acepta Ho

INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA PENDIENTE DE 0.968011 A 1.026336

PRUEBA DE HIPOTESIS PARA LA ORDENADA

Ho b = 0

Ha b ≠ 0

CRITERIO DE ACEPTACION PARA LA ORDENADA

T DE TABLAS 2.16

T calc 0.199305

t cal, < t tab .se acepta Ho

INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA ORDENADA DE -0.63799 A 1.036608



REPRODUCIBILIDAD Y REPETIBILIDAD DEL METODO CLORUROS

	ANALISTA 1	ANALISTA 2
DIA 1	1 99.75	99.75
	2 99.75	99.75
	3 99.12	99.12
DIA 2	4 99.12	99.75
	5 99.75	99.75
	6 99.12	99.12

ANALISIS DE VARIANZA					
FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F cal	F Tab
ANALISTA	1	0.0330	0.0330	0.9999	38.51
DIA	2	0.0661	0.0330	0.2500	6.51
ERROR	8	1.0584	0.1323		

VARIACION INTERANALISTAS	0.0000
VARIACION INTERDIAS	0.0010
REPETIBILIDAD DEL METODO	0.3637
MEDIA ARITMETICA TOTAL	99.487
DSTD TOTAL	0.3244
COEFICIENTE VARIACION TOTAL	0.3260

CRITERIOS DE ACEPTACION	Ho	F cal < F tab	analistas	gla/gld
		F cal < F tab	dias	gld/gle

EL METODO ANALITICO ES REPRODUCIBLE POR LOS ANALISTAS
 EL METODO ANALITICO ES REPRODUCIBLE EN DISTINTOS DIAS POR UN MISMO ANALISTA

**ESTABILIDAD DE LA MUESTRA TEMPERATURA AMBIENTE
VALORACION DE CLORUROS**

LECTURAS	S1	S2	S3
INICIAL	12 Hrs	24 Hrs	48 Hrs
8.0	8.1	8.0	8.1
7.9	7.9	8.0	8.0
8.0	8.0	8.1	8.1

INTERVALO DE CONFIANZA S1
DE -0.45050 A 0.517172

INTERVALO DE CONFIANZA S2
DE -0.34730 A 0.480639

INTERVALO DE CONFIANZA PARA S3
DE -0.31397 A 0.513972

CALCULO DEL FACTOR I PROMEDIO %

I1	101.25		
I2	100		
I3	100	100.41%	LA MUESTRA ES ESTABLE
I4	100		
I5	101.2		
I6	101.2	100.83%	LA MUESTRA ES ESTABLE
I7	101.2		
I8	101.2		
I9	101.2	101.25%	LA MUESTRA ES ESTABLE

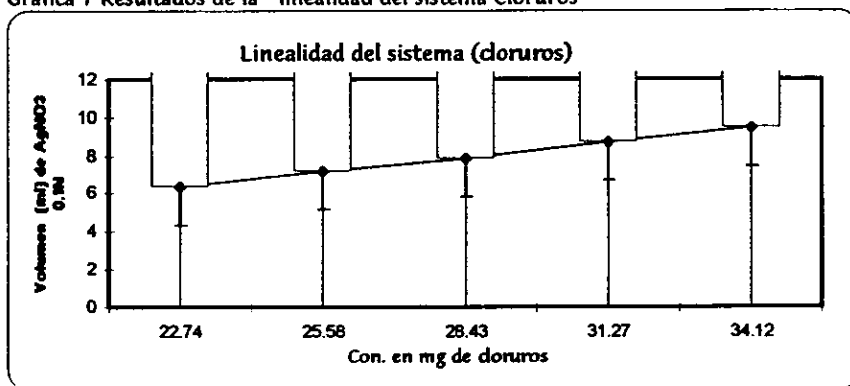
Los valores deben comprender entre 98 Y 102% para considerar que la muestra es estable a un determinado intervalo de tiempo.

**ANÁLISIS DE RESULTADOS CLORUROS**

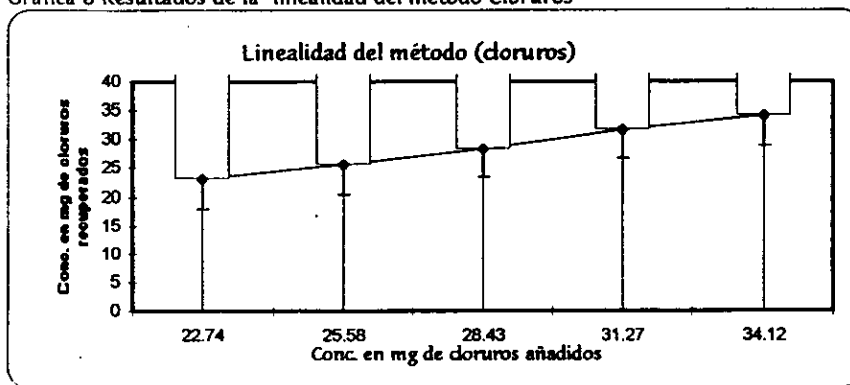
Aquí el método fue modificado, pero sobre la misma base del análisis de los cloruros, el método logro disminuir tiempos en la preparación de la muestra, se cambiaron algunos reactivos y durante la validación el método es lineal tanto en el sistema como en el método, es preciso y exacto además es reproducible ya que esta dentro de los límites especificados para un método analítico por titulación, y por último su estabilidad es muy buena ya que la muestra se puede analizar aún después de 48 horas por lo que no presenta dificultad alguna.



Grafica 7 Resultados de la linealidad del sistema Cloruros



Grafica 8 Resultados de la linealidad del método Cloruros



**LINEALIDAD DEL SISTEMA SODIO**CONCENTRACION (X)
en miligramos de sodioPROPIEDAD MEDIDA (Y)
lectura del flamometro

1.644	180	181	180
1.85	191	190	190
2.0556	201	201	200
2.2628	211	210	209
2.4672	220	220	221

N(replicas) 3
T(niveles) 5
R 0.999089
R² 0.998179

COEFICIENTE DE VARIACION 7.618350

**PRECISION DEL SISTEMA SODIO****Lectura del flamómetro**

199.5	SY	1199.5
199	SY ²	239802.2
200	MEDIA Y	199.9166
200	DSTD	0.664580
200	CV	0.332428
201		

TOTAL 6

EXACTITUD DEL METODO SODIO**Porcentaje recuperado de sodio**

100	SY	600.77
100.63	SY ²	60156.44
100	MEDIA	100.1283
100.63	DSTD	0.685023
98.88	CV	0.684145
100.63		

TOTAL 6

INTERVALO DE CONFIANZA DE 99.007 A 100.6662

**LINEARIDAD DEL METODO SODIO**

cantidad de gramos adicionados de sodio vs gramos recuperados de sodio con sus respectivos porcentajes

ADICIONADA	RECUPERADA	%	RECUPERADA	%	RECUPERADA	%
1.6440	1.6555	100.6995	1.6400	99.75669	1.6555	100.6990
1.8500	1.8450	99.72972	1.8650	100.8108	1.8650	100.8108
2.0556	2.0450	99.48433	2.0650	100.4572	2.0650	100.4572
2.2628	2.2650	100.0972	2.2450	99.21366	2.2650	100.0972
2.4672	2.4630	99.82976	2.4850	100.7214	2.4630	99.82976

M	0.99082
B	0.02205
R	0.99883
R ²	0.99767
CV	0.520825

PRUEBA DE HIPOTESIS PARA LA PENDIENTE

$H_0 m = 1$

$H_a m \neq 1$

CRITERIOS DE ACEPTACION PARA LA PENDIENTE

T DE TABLAS 2.16

T calc -1257.68

t cal, < t tab .se acepta H_0

INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA PENDIENTE DE 0.970573 A 1.011067

PRUEBA DE HIPOTESIS PARA LA ORDENADA

$H_0 b = 0$

$H_a b \neq 0$

CRITERIO DE ACEPTACION PARA LA ORDENADA

T de tab 2.16

T calc 0.022052

t cal, < t tab .se acepta H_0

INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA ORDENADA DE -0.01999 A 0.064094



REPRODUCIBILIDAD Y REPETIBILIDAD DEL METODO DE SODIO

	ANALISTA 1	ANALISTA 2
	1 101.29	100.02
DIA 1	2 100.02	100.02
	3 100.02	100.02
	4 100.02	100.02
DIA 2	5 99.540	100.02
	6 100.02	99.540

ANALISIS DE VARIANZA					
FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F cal	F Tab
ANALISTA	1	0.1344	0.1344	0.4898	38.51
DIA	2	0.5488	0.2744	1.5879	6.51
ERROR	8	1.3824	0.1728		

VARIACION INTERANALISTAS	0.0000
VARIACION INTERDIAS	0.0011
REPETIBILIDAD DEL METODO	0.4157
MEDIA ARITMETICA TOTAL	100.04
DSTD TOTAL	0.4334
COEFICIENTE VARIACION TOTAL	0.4331

CRITERIOS DE ACEPTACION	Ho	F cal < F tab	analistas	gla/gld
		F cal < F tab	días	gld/gle

EL METODO ANALITICO ES REPRODUCIBLE POR LOS ANALISTAS
 EL METODO ANALITICO ES REPRODUCIBLE EN DISTINTOS DIAS POR UN MISMO ANALISTA

**ESTABILIDAD DE LA MUESTRA TEMPERATURA AMBIENTE
VALORACION DE SODIO**

LECTURAS	S1	S2	S3
INICIAL	12 Hrs	24 Hrs	48 Hrs
200	198	201	204
200	201	202	206
200	200	199	203

INTERVALO DE CONFIANZA S1
DE -1.8390 A 1.172341

INTERVALO DE CONFIANZA S2
DE -0.8390 A 2.172341

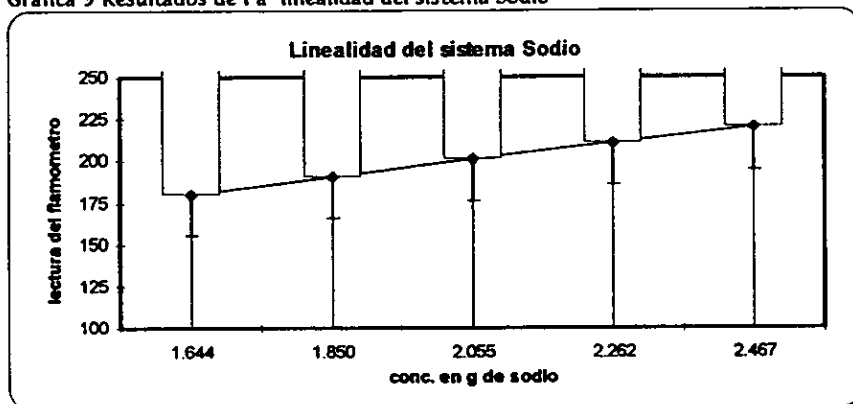
INTERVALO DE CONFIANZA PARA S3
DE 2.827658 A 5.839008

CALCULO DEL FACTOR I	PROMEDIO %		
I1	99.0		
I2	100.5		
I3	100	99.83%	LA MUESTRA ES ESTABLE
I4	100.5		
I5	101		
I6	99.5	100.33%	LA MUESTRA ES ESTABLE
I7	102		
I8	103		
I9	101.5	102.16%	LA MUESTRA NO ES ESTABLE

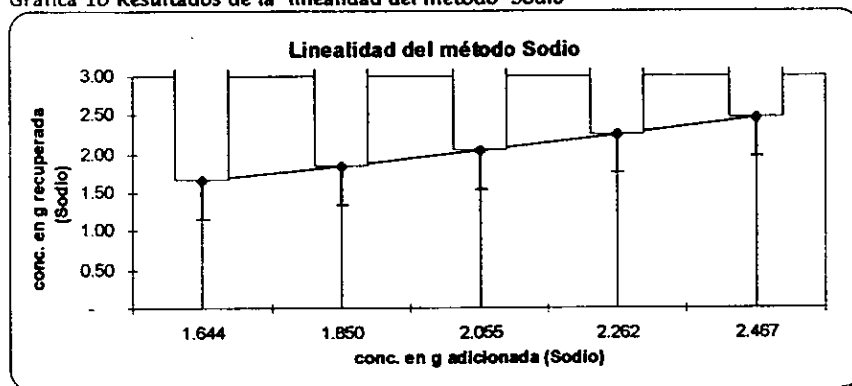
Los valores deben comprender entre 98 Y 102% para considerar que la muestra es estable a un determinado intervalo de tiempo.



Grafica 9 Resultados de la linealidad del sistema Sodio



Grafica 10 Resultados de la linealidad del método Sodio



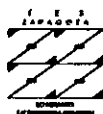


LINEALIDAD DEL SISTEMA POTASIO

CONCENTRACION (X) en miligramos de potasio	PROPIEDAD MEDIDA (Y) lectura del flamometro
0.628	181
0.7064	190
0.7848	200
0.8036	210
0.942	219

N(replicas) 3
T(niveles) 5
R 0.999100
R² 0.998201

COEFICIENTE DE VARIACION 7.774602



**PRECISION DEL SISTEMA POTASIO****Lectura del flamometro**

199	SY	1198
200	SY ²	239204
199	MEDIA Y	199.666
200	DSTD	0.81649
201	CV	0.40892
199		

TOTAL 6

EXACTITUD DEL METODO POTASIO**Porcentaje recuperado de potasio**

99.74	SY	599.54
100.02	SY ²	59908.13
100	MEDIA	99.92333
100.02	DSTD	0.142220
99.74	CV	0.142329
100.02		

TOTAL 6

INTERVALO DE CONFIANZA DE 99.297 A 100.0224



LINEALIDAD DEL METODO POTASIO

cantidad de gramos adicionados de potasio vs gramos recuperados de potasio con sus respectivos porcentajes

ADICIONADA	RECUPERADA	%	RECUPERADA	%	RECUPERADA	%
0.628 0	0.6275	99.92038	0.6350	101.1146	0.6275	99.92038
0.7064	0.7025	99.44790	0.7150	101.2174	0.7150	101.2174
0.7848	0.7850	100.0254	0.7950	101.2996	0.7850	100.0254
0.8636	0.8650	100.1621	0.8650	100.1621	0.8650	100.1621
0.9420	0.9400	99.78768	0.9475	100.5838	0.9475	100.5838

M	0.99867
B	0.00391
R	0.99857
R ²	0.99715
CV	0.589809

PRUEBA DE HIPOTESIS PARA LA PENDIENTE

Ho m = 1

Ha m # 1

CRITERIOS DE ACEPTACION PARA LA PENDIENTE

T de tab 2.16

T calc -2901.07

t cal, < t tab .se acepta Ho

INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA PENDIENTE DE 0.976088 A 1.021265

PRUEBA DE HIPOTESIS PARA LA ORDENADA

Ho b = 0 se acepta Ho

Ha b # 0

CRITERIO DE ACEPTACION PARA LA ORDENADA

T de tab 2.16

T calc 0.003911

t cal, < t tab .se acepta Ho

INTERVALO DE CONFIANZA ORDENADA PARA LA DE -0.01399 A 0.021819





**REPRODUCIBILIDAD Y REPETIBILIDAD DEL METODO
DE POTASIO**

		ANALISTA 1	ANALISTA 2
	1	100.05	100.39
DIA 1	2	100.7	100.7
	3	100.05	100.7
	4	100.7	100.7
DIA 2	5	100.05	100.7
	6	100.7	100.7

ANALISIS DE VARIANZA					
FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F cal	F Tab
ANALISTA	1	0.2241	0.2241	5.1862	38.51
DIA	2	0.0864	0.0432	0.5510	6.51
ERROR	8	0.6274	0.0784		

VARIACION INTERANALISTAS	0.1736
VARIACION INTERDIAS	0.0001
REPETIBILIDAD DEL METODO	0.2800
MEDIA ARITMETICA TOTAL	100.51
DSTD TOTAL	0.2920
COEFICIENTE VARIACION TOTAL	0.2905

CRITERIOS DE ACEPTACION	Ho	F cal < F tab	analistas	gla/gld
		F cal < F tab	dias	gld/gle

EL METODO ANALITICO ES REPRODUCIBLE POR LOS ANALISTAS
EL METODO ANALITICO ES REPRODUCIBLE EN DISTINTOS DIAS POR UN MISMO ANALISTA



**ESTABILIDAD DE LA MUESTRA: TEMPERATURA AMBIENTE
VALORACION DE POTASIO**

LECTURAS	S1	S2	S3
INICIAL	12 Hrs	24 Hrs	48 Hrs
200	202	202	206
200	201	203	205
200	199	199	207

INTERVALO DE CONFIANZA S1
DE 0.83900 A 2.172341

INTERVALO DE CONFIANZA S2
DE 0.42435 A 3.091024

INTERVALO DE CONFIANZA PARA S3
DE 4.781748 A 7.218251

CALCULO DEL FACTOR I	PROMEDIO %		
I1	101		
I2	100.5		
I3	99.5	100.33%	LA MUESTRA ES ESTABLE
I4	101		
I5	101.5		
I6	99.5	100.66%	LA MUESTRA ES ESTABLE
I7	103		
I8	102.5		
I9	103.5	103%	LA MUESTRA NO ES ESTABLE

Los valores deben comprender entre 98 Y 102% para considerar que la muestra es estable a un determinado intervalo de tiempo.

**ANALISIS DE RESULTADOS SODIO Y POTASIO**

Aquí analizamos los dos métodos ya que el equipo utilizado es el mismo, claro con sus diferencias en condiciones de operación para cada elemento.

Para iniciar estos métodos se evaluaron condiciones de operación del equipo primero fue fijar una escala en la que se pudieran observar bien los puntos de una curva estándar, así como los ajustes de sensibilidad tanto para sodio como para potasio, una vez obtenidos estos datos se evaluaron sus respectivas curvas de calibración y reproducibilidad para posteriormente realizar la validación.

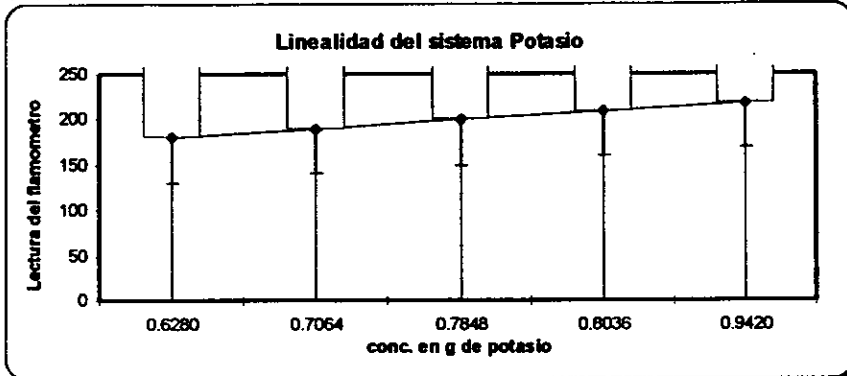
Las linealidades del sistema para sodio y potasio su coeficiente de variación es muy alto pero es debido a la escala fijada ya que esta no es exactamente una propiedad medida pero que si observamos su análisis de correlación que existe entre la escala y la concentración es muy buena aunque el c.v. no lo demuestre.

Para la linealidad del método esta a diferencia del anterior cumple con los parámetros para llevar a cabo la prueba y aceptarla. El método además es preciso, exacto y en cuanto a su reproducibilidad estos son reproducibles.

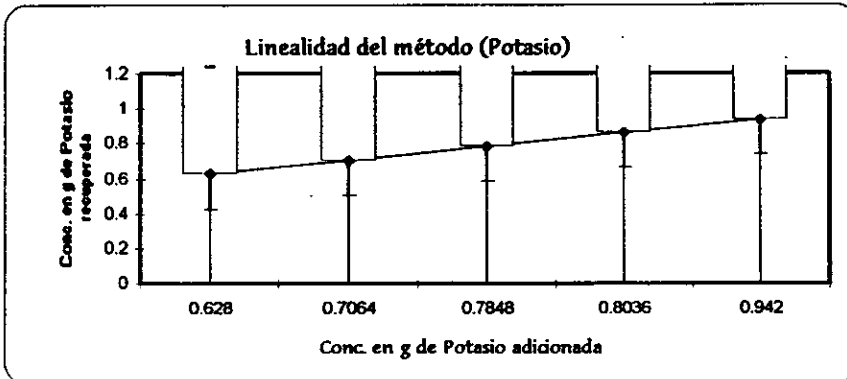
Por último el tiempo de análisis fue disminuido ya que la lectura es directa y no hay que hacer diluciones y el riesgo de trabajar concentraciones altas fue olvidado



Grafica 11 Resultados de la linealidad del sistema Potasio



Grafica 12 Resultados de la linealidad del método Potasio





CONCLUSIONES

Finalmente podemos concluir que los objetivos planteados al inicio del proyecto fueron cumplidos ya que los métodos desarrollados cumplieron la evaluación de la validación.

Además se buscaron las condiciones óptimas de cada uno de los métodos tomando en cuenta tiempo-coste para que finalmente estos fueran implementados en el aseguramiento de la calidad del producto.

Por último señalaremos que es importante tener métodos analíticos validados para el control de calidad de los productos farmacéuticos, pero la tarea no termina ahí si no hay que tener la visión de proponer alternativas nuevas de técnicas analíticas para poder cuantificar principios activos en donde estas sean muy laboriosas (por ejemplo extracciones o que no se cuente con el equipo adecuado para su prueba), así como también poder evaluar el óptimo de una técnica y poder reducir tiempo, coste y que estos sean precisos y exactos de una técnica desarrollada nueva (por ejemplo HPLC).

**BIBLIOGRAFIA**

01. A.F.M. Manual de validación México D.F. 1988.
02. Ayres Análisis cuantitativo, Edit Harla México D.F. 1990
03. Bevan J. et. al. Fundamentos de farmacología, Edit. Harla, 2a Ed. México. D.F. 1982. pp 400-406.
04. Bowman N.C. Farmacología Edit. Interamericana. 2a Ed. México D.F. , 1985. pp 520-538.
05. British Pharmacopeia Edit. of H.M.S.O. , United Kingdom. 1993.
06. Brumblay Ray. Química analítica cuantitativa, Edit. C.E.C.S.A., 5a Ed. México 1985. pp 214-220.
07. C.A.F.E.T. S.A. Curso de validación impartido en 1991.
08. Code Federal Regulations Subpart1 Laboratory Controls, V21, Part 200 of- 299. revisada el 1 de Abril de 1989. U.S.A., pp 90-96.
09. Corning. Manual de uso del flamómetro corning science 410
10. Corning. Manual de partes de cambio del flamómetro corning science 410
11. Devorè G. Química Orgánica, Edit. Publicaciones Cultural. México D.F. , 1982 pp 121-140.
12. Diario de México Reporte de la Organización Mundial de la Salud
13. F.N.E.U.M. Editada por la S.S.A. 5a Ed., México D.F. 1988.
14. F.N.E.U.M. Editada por la S.S.A., 6a Ed., México D.F. 1994.
15. González Héctor Curso de validación de métodos analíticos en Abril de 1993.



16. Hokanson Gerard Alife cycle approach to the validation of analytical methods during , part I , Pharmaceutical Technology, October 1994.,pp 92-100.
17. Hokanson Gerard Alife cycle approach to the validation of analytical methods during , part II , Pharmaceutical Technology, October 1994., pp 92-100.
18. Holum J. Principiosde Fisicoquímica, Bioquímica y Química orgánica Edit. Limusa., 6a reimpresión México D.F. 1985
19. I. A. I. Tòpicos en instrumentación (calibración y funcionamiento de equipos de laboratorio) 1993.
20. Index Merck. 11a. Ed. Merck and Co. Rahway NJ. U.S.A. 1989.
21. Kaplan L. Química clinica métodos., Edit. Panamericana , Buenos Aires, Argentina., 1990 pp 103-110.
22. Lual. Componetes para un programa de validación de métodos analíticos, Pharma News Vol. 5 No. 4, Mayo 1993, pp 39-40.
23. Lual Modelos estadísticos y validación de métodos analíticos. Pharma News., vol. 8, año 4., Agosto 1993. pp 24-26
24. Lual Modelos estadísticos y validación de métodos analíticos. Pharma News., vol. 9, año 4., Septiembre 1993. pp 28-30
25. Lual Modelos estadísticos y validación de métodos analíticos. Pharma News., vol. 10, año 4., Octubre 1993. pp 16-19
26. Lual Modelos estadísticos y validación de métodos analíticos. Pharma News., vol. 11, año 4., Noviembre 1993. pp 26-28



27. Lual Parámetros estadísticos y procedimientos de validación, Pharma News, vol. 4, año 1, Abril 1991. pp 28-34
28. Martínez C. Auditoría de productividad y calidad. Pharma News, vol. 6, año 4, Junio 1993. pp 25-26
29. Márquez Ma. J. Probabilidad y Estadística, ed. U.N.A.M. 1988.
30. Oestle B. Estadística aplicada ed. Limusa, México D.F., 1983.
31. Pardavè M. Cómo implantar el control total de la calidad en la Industria QuímicoFarmacéutica Pharma News, vol. 7, año 4, Julio 1992, pp 24-27.
32. Pardavè M. Uso y abuso de la estadística en las plantas farmacéuticas. Pharma News, vol. 7, año 4, Julio 1993., pp 56-57.
33. Pardavè M. Uso y abuso de la estadística en las plantas farmacéuticas. Pharma News, vol. 8, año 4, Agosto 1993., pp 19-20.
34. Pardavè M. Uso y abuso de la estadística en las plantas farmacéuticas. Pharma News, vol. 9, año 4, Septiembre 1993., pp 29-27.
35. Pardavè M. Uso y abuso de la estadística en las plantas farmacéuticas. Pharma News, vol. 10, año 4, Octubre 1993., pp 33-34.
36. Pardavè M. Uso y abuso de la estadística en las plantas farmacéuticas. Pharma News, vol. 11, año 4, Noviembre 1993., pp 33-34.
37. Pastelnik L. Pharmaceutical process of validation., capítulo 9 (analytical methods validation) ed. Marcel Dekker, New Jersey U.S.A., 1986. pp 251-266.



38. Protein-Apotex Manual de validación de métodos analíticos
39. Rakoff, Rose Química orgánica fundamental,
Ed. Limusa., 8a ed., México D.F., 1982
40. Rodriguez R. Vademecum de medicamentos., Tomo I y II,
Ed. U.N.A.M. México D.F. 1984.
41. Sánchez J.F. Curso de validación impartido en Cesbofiar 1990.
42. Taylor Jhon. Validation of analytical methods.,
Analytical Chemistry, vol. 55, No 6, May 1983.
43. Tood, Sanford Diagnóstico clínico por el laboratorio
Ed. Salvat, Barcelona España
44. U.S.P. XXII comite farmacopeico de E. U.. 1988
45. U.S.P. XXIII comite farmacopeico de E. U. 1995
46. Wayne Daniel Bioestadística base para el análisis de las ciencias de la
salud. Ed. Limusa, México D.F. 1978.
47. Ya-Lun-Chou Análisis Estadístico. Ed. Interamericana, 2a ed.,
México D.F., 1983.



A
N
E
X
O

SI LO VEO, TAL VEZ PUEDO RECORDARLO.
SI LO VEO Y LO ESCUCHO,
SEGURAMENTE PODRÁ SERME DE ALGUNA UTILIDAD;
PERO SI LO VEO, LO ESCUCHO Y LO HAGO,
JAMÁS PODRÉ OLVIDARLO
POR QUE FORMA PARTE DE MI MISMO.

PROVERBIO CHINO



PARÁMETROS DE LA VALIDACIÓN

ESPECIFICIDAD

Es la medida del grado de interferencia (o ausencia-de), en el análisis de mezclas complejas. Es la habilidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia de interés y no a los componentes de la muestra.

LINEALIDAD

La linealidad de un sistema o un método analítico es su habilidad para asegurar que los resultados analíticos, los cuales pueden ser obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática bien definida, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un rango determinado.

Se determina construyendo una curva de calibración de una misma solución patrón utilizando cuando menos cinco diluciones y haciendo el análisis por duplicado para cada dilución. El intervalo entre las concentraciones a analizar dependerá del propósito del método; para propósito de control de calidad y estabilidad de un fármaco en una forma farmacéutica, deberá estar incluido el 100% de la dosis.

LINEALIDAD DEL MÉTODO

Se determina con placebos adicionados del principio activo, (placebos cargados), cada uno de manera independiente, cuando menos a 3 diferentes concentraciones incluyendo el 100% haciendo el análisis por triplicado de cada concentración. La amplitud del estudio dependerá del uso y aplicaciones del método, (control de calidad y estabilidad), preferentemente deberá llevarse a cabo por un mismo analista en las mismas condiciones de operación. donde se establece cantidad adicionada VS cantidad recuperada.

El por ciento recuperado; en el intervalo de confianza, para la medición debe localizarse el 100%. El coeficiente de variación dependerá del tipo de método y la muestra, hay que tomar en cuenta la forma farmacéutica y la concentración.



PRECISIÓN DEL SISTEMA

La precisión es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestreos de una muestra homogénea, bajo las mismas condiciones (repetibilidad) y / o bajo diferentes condiciones (reproducibilidad).

Usualmente se expresa en términos de desviación estándar o de coeficiente de variación.

Se determina por el análisis por sextuplicado de una misma solución estándar correspondiente al 100% , establecido en la linealidad del sistema.

EXACTITUD

Se define como la concordancia absoluta entre el valor de una propiedad medida experimentalmente (estimador) y su valor real de referencia (parámetro).

La exactitud de un método analítico es la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Se expresa como el porciento de recobro obtenido del análisis de muestras a las que se les ha adicionado cantidades conocidas de la sustancia.

Se debe cuando menos analizar 6 placebos cargados con el 100% del principio activo, de manera independiente, por el mismo analista y en las mismas condiciones de operación.

Nota; Si en el momento de hacer la linealidad del método se trabajan diferentes concentraciones cuando menos por quintuplicado, la exactitud del método se puede determinar con los valores de la linealidad.



PRECISIÓN DEL MÉTODO (REPETIBILIDAD)

Es la medida de la concordancia relativa entre determinaciones independientes del analito, bajo, las mismas condiciones de análisis, realizadas por un sólo analista, los mismos aparatos y técnicas.

REPRODUCIBILIDAD

Es la precisión de un método analítico expresado como la concordancia entre determinaciones realizadas por diferentes analistas, en diferentes días, en el mismo y/o en diferentes laboratorios utilizando el mismo y/o diferentes equipos.

CARACTERÍSTICAS

- a) Los placebos deben tener la cantidad adecuada de analito, en el cual se tenga interés evaluar la precisión y debe ser desconocida por el analista.
- b) Se debe asegurar que el analito este distribuido de manera homogénea en el material durante el periodo de estudio
- c) Deben participar como mínimo dos analistas
- d) los análisis deben llevarse de manera independiente y por triplicado (diferentes días u horarios,) todo el material debe ser el mismo.

TOLERANCIA O ROBUSTEZ

La tolerancia de un método analítico es el grado de reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos por el análisis de la misma muestra bajo modificaciones normales de operación, tales como diferentes temperaturas, lotes de reactivos, columnas, sistemas de elución, tipos de empaque, condiciones ambientales etc.

**FORMULARIO****1.-Cálculos para la linealidad**

$$\Sigma X, \Sigma Y, \Sigma X^2, \Sigma Y^2, \Sigma XY$$

Cálculos para la pendiente

$$m = \frac{n \Sigma XY - \Sigma X \Sigma Y}{n \Sigma X^2 - (\Sigma X)^2}$$

n = número de muestras

Calcular la ordenada al origen

$$b = \frac{\Sigma Y - m \Sigma X}{n}$$

Calcular el error estándar de la regresión

$$S_{y/x} = \frac{\Sigma X^2 - m \Sigma X Y - b \Sigma Y}{n}$$

Calcular el coeficiente de determinación

$$R^2 = \frac{(n \Sigma XY - \Sigma X \Sigma Y)^2}{(n \Sigma X^2 - (\Sigma X)^2)(n \Sigma Y^2 - (\Sigma Y)^2)}$$

Calcular el coeficiente de regresión

$$R = \sqrt{R^2}$$



calcular los límites de confianza (95%) para la pendiente.
error estándar de la pendiente (sm)

$$sm = (Sy/x) \frac{1}{\sqrt{\frac{\sum x^2 - (\sum x)^2}{n}}}$$

determinar en la tabla de distribución de "t" de STUDENT el valor para t(n-2, 0.975)

Calcular el intervalo de confianza para la pendiente (m) con la ecuación

$$icm = m \pm t_n^*(sm)$$

Calcular los límites de confianza (95%) para la ordenada al origen

error estándar para la ordenada al origen SB

$$SB = (Sy/x) \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^2}{\sum x^2 - (\sum x)^2}}$$

Determinar en la tabla de distribución de "t" de STUDENT el valor para "t" (n-2, 0.975) Calcular el intervalo de confianza para la ordenada al origen ICB

$$ICB = B \pm t_n^2(SB)$$

calcular el intercepto relativo

$$I.R. = \frac{B}{Y}$$

error estándar relativo $\frac{sy/x}{y}$

Coefficiente de variación por nivel de concentración

$$Pendiente\ relativa \quad PR = \frac{m^o x}{y}$$

**Criterios de aceptación, prueba de hipótesis para la pendiente**H₀ m = γH_a m ≠ γ

Calcular la "t" experimental

$$t = \frac{(m - \gamma)(SX)}{SY/X} \sqrt{n-1}$$

Relación crítica con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$ para la pendiente

Hacer la prueba de hipótesis para la ordenada al origen

H₀ b = β donde β=0H_a b ≠ β

Calcular la t experimental

$$t = \frac{b - \beta}{\frac{SY/X \sum X^2}{n \sum (\sum xi - \bar{x})^2}}$$

Región crítica bilateral con un nivel de significancia de $\alpha = 0.005$ para la ordenada al origen $t_{\alpha/2} < t_{cal} < t_{0.975}$ Comparar el valor de t calculada con el de t de tablas. Si $t_{calc} < t_{tablas}$ la hipótesis de nulidad no se rechaza

Parámetros	Nombre
R ² > 0.98,	Coef. de determinación
R > 0.99,	Coef. de regresion
I.R. < 10.2 ,	inteceptorelativo
E.S.R. < -0.30-	error estándar de la relativo
C.V. r/c <	coef. de variación regresion
PR = 0.98-1.02	pendiente relativa

**CONSTRUIR LA TABLA DE ANÁLISIS DE VARIANZA**

a) Calcular la suma de cuadrados de la regresión (Scr) y la suma de cuadrados del error de la regresión (Scer)

$$SCR = m \frac{\sum XY + b \sum Y}{r.c.} - \frac{\sum Y^2}{r.c.}$$

Tabla de analisis de varianza

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Fde Fisher
Regresión	1	SCr	SCr	SCr/MCcr
Error de regresión	(glcr) n-2	SCer	SCer/glcr	
Falta de ajuste	(glfa) (n-2) - t* / r-1	SCfa	SCfa/glfa	Mcf/MCcr
Error puro	(glep) t* (r-1)	SCep	SCep/glep	

Determinar en la tabla de la distribución de "F" los valores para F (glr, glcr, 0.95) y "F" (glfa, glep, 0.95), F (glr, glcr; 0.99) y F (glfa, glep; 0.95)

Donde

r= replicas por concentración

c= número de concentraciones

$$Scer = \sum Y^2 - m \sum xy - b \sum y$$

Calcular la suma de cuadrados del error puro (Scep) y la suma de cuadrados de la falta de ajuste (Scfa).

$$Scep = \sum Y^2 - \frac{(\sum Y)^2}{r}$$

$$Scfa = Scer - Scep$$

Regla de desición

Si $F_r > 0 = F(\text{glr}, \text{gler}; 0.99)$ y $F_{fa} < F(\text{glfa}, \text{glep}; 0.99)$. El modelo es correcto para describir la relación entre la cantidad adicionada (x) y la cantidad recuperada (y).

Si $F_r > 0 = F(\text{glr}, \text{gler}; 0.99)$ y $F_{fa} > 0 = F(\text{glfa}, \text{glep}; 0.95)$. Al modelo se le debe de adicionar un componente no lineal para describir la relación de la cantidad adicionada (x) y la cantidad recuperada (y).

Si $F_r < 0 = F(\text{glr}, \text{gler}; 0.99)$ y $F_{fa} > 0 = F(\text{glfa}, \text{glep}; 0.95)$. Un modelo no lineal es correcto para describir la relación de la cantidad adicionada (x) y la recuperada (y).

Exactitud (cálculos)

Calcular la media

$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$ Donde x_i = es cada una de las respuestas obtenidas y n es el número de muestras analizadas.

Calcular la desviación estándar DE $= \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$

Calcular el coeficiente de variación C.V. $= \left[\frac{DE}{\bar{x}} \right] \cdot 100$



Calcular el intervalo de confianza al 95 % para la media $IC = \bar{X} \pm t_{0.95} DE / \sqrt{n}$
Donde $t_{0.95}$ es el valor que se busca en tablas de "T" student para $n - 1$ grados de libertad y $\alpha = 0.050$

Criterios

Hacer la prueba de hipótesis para la media.

$H_0: X = m$ donde $m = 100\%$ de la concentración adicionada

$H_a: x \neq m$

Nivel de significancia $(\alpha) = 0.050$

Calcular la "T" experimental

$$t_{exp} = \frac{\bar{X} - \mu}{DE / \sqrt{n}}$$

Buscar el valor de T teórica en las tablas para $n-1$ grado de libertad y $\alpha = 0.050$ (mismo valor que el IC).

Comparar el valor de T experimental con el de T de tablas.

Si $T_{0.025} < t_{cal} < t_{0.975}$ no se rechaza H_0 y el método se puede considerar exacto con un $\alpha = 0.050$.

PRECISION

Calcular la media

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n}$$

Donde X_i = es cada una de las respuestas obtenidas y n es el número de muestras analizadas.

Calcular la desviación estándar

$$DE = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$$





Calcular el coeficiente de variación C.V. = $\frac{DE}{\bar{x}}$: 100

Criterios

Proceder de acuerdo al punto de la exactitud

REPRODUCIBILIDAD

1er método 2 analistas en 2 días diferentes

Matriz de tratamiento

		Analista	Analista
		1	2
Día (B _{ji})	1	Y111	Y211
		Y112	Y212
		Y113	Y213
Día	2	Y121	Y221
		Y122	Y222
		Y123	Y223

Donde "Y" es el resultado de cada analista (primer subíndice) en cada día (segundo subíndice) por cada repetición (tercer subíndice)

Calcular las siguientes sumatorias

$$Y_{...} = (Y_{111} + Y_{112} + Y_{113} + Y_{121} + Y_{122} + Y_{123} + Y_{211} + Y_{212} + Y_{213} + Y_{221} + Y_{222} + Y_{223})$$

$$Y_{r...} = (Y_{111} + Y_{112} + Y_{113} + Y_{121} + Y_{122} + Y_{123})$$

$$Y_{2...} = (Y_{211} + Y_{212} + Y_{213} + Y_{221} + Y_{222} + Y_{223})$$

$$a = 2$$

$$b = 2$$

$$r = 3$$



$$SC \text{ analista} = \left[\frac{(Y_{11..})^2 + (Y_{2..})^2}{6} \right] - \left[\frac{(Y_{...})^2}{12} \right]$$

$$SC \text{ día} = \left[\frac{(Y_{11.} + Y_{12.} + Y_{22.})^2}{3} \right] - \left[\frac{(Y_{1..})^2 + (Y_{2..})^2}{6} \right]$$

$$sc \text{ error} = \left[5(Y_{1jk})^2 \right] - \left[\frac{(Y_{11.})^2 + (Y_{12.})^2 + (Y_{21.})^2 + (Y_{22.})^2}{3} \right]$$

SC analista = mc día
gla

SC día = mc día
gld

SC error = mc error
gle

Tabla de análisis de varianza

ente de riación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Fcal	F tab a(0.05)
	1 gla	SC analista	<u>SC analista</u> gla	<u>mc analista</u> mc día	
	2 gld	SC día	<u>Sc día</u> gld	<u>mc analista</u> mc error	
	8 gle	SC error	<u>SC error</u> gle		

Crterios

Regla de decisión $F_{cal} > 0 = F_{tab}$, H_0 se rechaza

A_i ; H_0 = No debe modificarse el por ciento de recuperación cuando el método analítico lo realizan el analista uno y dos

H_a = el por ciento de recobro se debe modificar cuando el método analítico lo realiza el analista uno y dos

$B_j(i)$; H_0 = No dede moificarse el por ciento cuando el método analítico es realizado por los analistas en diferentes días





CALCULOS DE LA ESTABILIDAD DE LA MUESTRA ANALITICA

Evaluación de las condiciones experimentales (condición / tiempo / condición (obscuridad, a la luz etc.) / tiempo (horas o días))

inicial	t1	t2	t3
y1	Y4	Y7	Yn-2
Y2	Y5	Y8	Yn-1
Y3	Y6	Y9	Yn

Cálculos preliminares para el intervalo de confianza

media de cada columna	\bar{y}_0	\bar{y}_i	\bar{y}_2	\bar{y}_m
Varianza de cada columna	S_0^2	S_1^2	S_2^2	S_m^2

Calcular las varianzas ponderadas de cada columna

$$Sp1^2 = \frac{2S_0^2 + 2S_1^2}{2(c+1)}$$

$$Sp2^2 = \frac{2S_0^2 + 2S_2^2}{2(c+1)}$$

$$Spm^2 = \frac{2S_0^2 + 2S_m^2}{2(c+1)}$$

Cálculos finales para el intervalo de confianza para la condición por tiempo:

$$I.C. = (\bar{Y}_1 - \bar{Y}_0) \pm t^* \sqrt{(Sp1^2 [2/3])}$$

Donde t* = valor de la t de Dunnett con C comparaciones y 2(c+1) grados de libertad y una probabilidad acumulada de 0.975

Cálculos preliminares para el coeficiente de variación, para cada condición / tiempo / muestra /.





ESTA TESIS NO BEBE CALOR DE LA BIBLIOTECA

DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE...

Calcular el factor con la siguiente formula:

$$I = \frac{(\text{análisis / condición / tiempo})_i (100)}{(\text{análisis inicial } i)}$$

$$I1 = \frac{Y4}{Y1} (100)$$

$$I6 = \frac{Y9}{Y2} (100)$$

$$I5 = \frac{Y8}{Y2} (100)$$

$$I2 = \frac{Y5}{Y2} (100)$$

$$I7 = \frac{Y9}{Y3} (100)$$

$$I4 = \frac{Y7}{Y1} (100)$$

$$I3 = \frac{Y6}{Y3} (100)$$

$$I8 = \frac{Y_{n-2}}{Y1} (100)$$

$$I9 = \frac{Y_n}{Y3} (100)$$

Para cada condición / tiempo calcular al media del factor (I) con la siguiente formula.

$$I = \frac{\sum I_i(\text{condición / tiempo})}{N}$$

Donde: N = número de muestras por cada condición / tiempo

$$I^*1 = \frac{I1 + I2 + I3}{3}$$

Los valores comprenden entre 98 - 102 %
si no la prueba es rechazada

$$I^*2 = \frac{I4 + I5 + I6}{3}$$

$$I^*3 = \frac{I7 + I8 + I9}{3}$$