

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
ZARAGOZA

34.
20j



IMPLEMENTACION Y VALIDACION DE UN METODO ANALITICO VOLUMETRICO PARA LA DETERMINACION DE FOSFATO DE ALUMINIO, MATERIA PRIMA Y PRODUCTO TERMINADO (FOSFAGEL)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A

Ma. de Jesús Medina Equihua

MEXICO, D. F.

1990

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 está 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.

INDICE

	Página
1. Introducción.....	1
2. Fundamentación del tema.....	3
2.1 Validación.....	4
2.1.1 Definición.....	4
2.1.2 Linealidad del sistema.....	5
2.1.3 Precisión del sistema.....	6
2.1.4 Especificidad frente a excipientes.....	6
2.1.5 Linealidad del método.....	6
2.1.6 Exactitud del método.....	7
2.1.7 Precisión del método.....	7
2.1.8 Estabilidad de la muestra.....	8
2.2 Técnicas de cuantificación por volumetría.....	8
2.2.1 Definición de volumetría.....	8
2.2.2 Condiciones que deben prevalecer en los diferentes tipos de reacciones para que sea susceptible de ser aplicado un método volumétrico.....	8
2.2.3 Valoración por retroceso.....	9
2.2.3.1 Definición.....	9
2.2.3.2 Valoración complejométrica por retroceso	9
2.3 Complejometría.....	10
2.3.1 Introducción.....	10
2.3.2 Agente acomplejante.....	11
2.3.2.1 Definición.....	11
2.3.2.2 Acido Etilendiaminotetracético.....	11
2.4 Electrodo	12
2.5 Electrodo de amalgama.....	12
2.6 Antiácidos.....	14

2.7 Fosfato de Aluminio.....	15
2.7.1 Nombre químico.....	15
2.7.2 Fórmula.....	15
2.7.3 Propiedades físicas y químicas.....	15
2.7.4 Farmacología de Fosfato de Aluminio.....	15
2.7.4.1 Acción protectora del Gel Fosfato de Aluminio.....	15
2.7.4.2 Acción adsorbente del Gel de Fosfato de Aluminio.....	16
2.7.4.3 Interacción medicamentosa del Gel de Fosfato de Aluminio.....	16
3. Planteamiento del problema.....	17
4. Objetivos.....	19
5. Hipótesis.....	20
6. Material y método.....	21
6.1 Materiales.....	21
6.2 Reactivos.....	21
6.3 Equipo.....	21
6.4 Metodología general.....	22
6.4.1 Método de análisis No.1.....	22
6.4.1.1 Linealidad del sistema.....	23
6.4.1.2 Precisión del sistema.....	24
6.4.1.3 Linealidad del método (materia prima)	25
6.4.1.4 Exactitud del método (materia prima).	25
6.4.1.5 Precisión del método (materia prima).	25
6.4.1.6 Reproducibilidad del Método (materia prima).....	26
6.4.1.7 Estabilidad de la muestra (materia prima).....	26
6.4.2 Método de análisis No.2.....	27
6.4.2.1 Especificidad frente a excipientes...	28

6.4.2.2	Linealidad del método producto terminado (FOSFAGEL).....	28
6.4.2.3	Exactitud del método producto terminado (FOSFAGEL).....	29
6.4.2.4	Precisión del método producto terminado (FOSFAGEL).....	29
6.4.2.5	Reproducibilidad del método producto terminado (FOSFAGEL).....	29
6.4.2.6	Estabilidad de la muestra producto terminado (FOSFAGEL).....	29
7.	Resultados.....	31
7.1	Linealidad del sistema.....	31
7.2	Precisión del sistema.....	37
7.3	Linealidad del método (materia prima).....	39
7.4	Exactitud del método (materia prima).....	44
7.5	Precisión del método (materia prima).....	46
7.6	Reducibilidad del método (materia prima).....	46
7.7	Estabilidad de la muestra (materia prima).....	50
7.8	Especificidad frente a excipientes.....	52
7.9	Linealidad del método producto terminado (FOSFAGEL)..	53
7.10	Exactitud del método producto terminado (FOSFAGEL)..	59
7.11	Precisión del método producto terminado (FOSFAGEL)..	61
7.12	Reproducibilidad del método producto terminado (FOSFAGEL).....	61
7.13	Estabilidad de la muestra producto terminado (FOSFAGEL).....	65
8.	Análisis de Resultados.....	67
9.	Conclusiones.....	70
10.	Recomendaciones.....	72
11.	Apéndice.....	73
12.	Preparación de soluciones.....	78
13.	Bibliografía.....	80

1. INTRODUCCION

Al fabricar un medicamento es necesario verificar que los componentes que va a contener la formulación (excipientes y principio activo) reúnan ciertas características de identidad y potencia, la determinación es realizada por la aplicación de métodos analíticos. Dependiendo de las moléculas y de los grupos funcionales que presentan los componentes de la formulación; son los que van a determinar que método es aplicable para identificar y cuantificar la identidad de los componentes de la formulación.

Pero no solamente antes de fabricar un medicamento debe evaluarse la identidad y potencia de cada uno de los componentes; sino que una vez que ha terminado el proceso de fabricación debe verificarse ahora la potencia del producto terminado y evaluar la identidad del principio activo.

Los métodos de análisis para determinar fosfato de aluminio que se encuentran en la literatura no son muy sofisticados; el material y el equipo que usan para la determinación es el que como mínimo debe poseer un Laboratorio. Hoy en día debido al gran avance tecnológico y a la gran demanda, por parte de la población, de medicamentos, es necesario automatizar y agilizar el proceso de análisis (identidad de los componentes), materia prima y producto terminado.

Existen dos métodos de análisis para cuantificar fosfato de aluminio, por formación de un compuesto de aluminio que precipita y por formación de complejos.

El método de análisis de fosfato de aluminio por formación de complejos consiste en que dadas las características del aluminio que al reaccionar con el agente acomplejante ácido etilendiaminotetracético (EDTA) genera complejos muy estables con estequiometría 1:1; por lo que cuando se agrega en exceso EDTA en la muestra, la cantidad de fosfato de aluminio presente en ésta puede obtenerse indirectamente valorandola con solución de sulfato de zinc.

Este método es utilizado en los análisis rutinarios de control de calidad que debe aplicar el laboratorio donde se desarrolló el trabajo experimental, para cumplir con los estatutos que la Secretaría de Salud fija en la aplicación del mismo. El método se aplicaba de manera manual. Sin embargo surge la necesidad de implementarlo con equipo que agiliza el análisis e incrementa la precisión de los resultados.

2. FUNDAMENTACION DEL TEMA.

La salud es para los seres humanos uno de los tesoros más valiosos. Desde épocas inmemorables, la humanidad en el afán de librarse de las enfermedades ha utilizado diferentes sustancias medicinales que controlan las enfermedades porque restauran la normalidad funcional y bioquímica del organismo enfermo; desafortunadamente en la actualidad, el menor porcentaje de los medicamentos disponibles son curativos y la mayor parte sólo tienen carácter paliativo.(7)

En otro orden de ideas, es claro que con la administración de un medicamento se pueden presentar dos tipos de efectos: a) La acción buscada por el médico y que da lugar a un efecto preventivo, diagnóstico o curativo; y b) Reacciones al producto, que se manifiestan por efectos adicionales, no buscadas por el médico, que se clasifican de adversas, colaterales o tóxicas; ningún medicamento está exento de producir estas reacciones. Muchas son triviales y no invalidan el tratamiento, otras en cambio, son severas y aún mortales.(7) Por eso, los medicamentos útiles para el tratamiento de las enfermedades humanas deben fabricarse con un alto grado de precisión y calidad, de tal forma, que se asegure la correcta combinación de los componentes, acordes con la fórmula original.

Sin embargo, en nuestra era industrial contemporánea, los procesos de fabricación de los medicamentos son cada vez más sofisticados y complejos. Ante la gran demanda de medicamentos que existe por parte de la población, se hace necesario una producción a gran escala. En consecuencia, las empresas fabricantes de medicamentos emplean nuevas tecnologías -automatización de las cadenas de producción-, que permiten elevar la magnitud de la producción. Y de aquí se deriva la necesidad de implementar severas normas de calidad, que implican métodos de cuantificación adecuados.

A partir de la segunda mitad de la década de los setenta hace su aparición el concepto de validación -mediante el cual se asegura que un método o proceso proporciona de forma reproducible un producto-, en las Buenas prácticas de manufacturas establecidas por la Food and Drug Administration (FDA)(4), y en México por la Guía de Procedimientos adecuados de manufactura Farmacéutica (CIPA'M).(22)

Así, se tiene la certeza de que el producto final es concordante con el diseño, y que la población consuma medicamentos efectivos de alta calidad.

En México, el artículo 4o. de la Constitución Política consagra el derecho a la protección de la salud, por ello se dota a la Secretaría de Salud de una herramienta básica: La Ley General de Salud, que le permite el control, fomento y regulación sanitaria sobre actividades, establecimientos, productos y servicios. La citada ley exige, entre otras cosas, que la Industria Química Farmacéutica valide los métodos, las técnicas y los procesos que se emplean cotidianamente en la producción de medicamentos(8), en México esta ley es legislada por (CIPA'M).(22)

2.1 VALIDACION.

Permite formular un juicio valorativo que proporciona el fundamento para decidir si un método reúne las condiciones necesarias para su aplicación en el análisis químico.(1,2,3)

2.1.1 DEFINICION.

La validación de un método analítico es "el proceso mediante el cual queda establecido, por estudios experimentales, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada".(1,2,3)

Un método analítico se valida mediante el uso de muestras de referencia y la mezcla de excipientes placebo.(5,6)

Siendo diversas las sustancias químicas existentes, no hay unificación de criterios en lo relativo a los sistemas de validación. Para efectos del presente trabajo se ha recurrido a la utilización de un sistema o proceso que permite la validación del método analítico volumétrico para la cuantificación de fosfato de aluminio como materia prima y producto terminado fosfagel; y consta de las siguientes fases o pasos a saber:(5,6)

La guía de validación propuesta es:

1. Linealidad del sistema.
2. Precisión del sistema.
3. Especificidad frente a excipientes.
4. Linealidad del método.
5. Exactitud del método.
6. Precisión del método.
7. Estabilidad de la muestra.

2.1.2 LINEALIDAD DEL SISTEMA.

Es la función lineal existente entre una propiedad física, química o biológica, y una determinada cantidad de medicamentos o fármacos.

Al realizar una validación de un método analítico es preciso verificar que los resultados se relacionen linealmente, según las diferentes concentraciones. Los criterios para determinar la linealidad son:(5,6)

DER	≤	0.7
r	≥	0.99
m	=	1.0
b	=	0.0

2.1.3 PRECISION DEL SISTEMA.

De acuerdo a datos obtenidos de la literatura el coeficiente de variación se fijará dependiendo de la Forma Farmacéutica y del método analítico usado.

Para efectos de determinar la precisión del sistema se tomará como indicador el coeficiente de variación cuyo valor debe ser igual o menor a 2%.(5,6)

2.1.4 ESPECIFICIDAD FRENTE A EXCIPIENTES.

Consiste en la revisión o verificación de la capacidad que tiene el método analítico, en lo concerniente a la cuantificación del principio activo(s); sin que por supuesto, interfieran los demás componentes. Así, para tal efecto, es requerimiento indispensable analizar placebos del producto con el método propuesto; paralelamente, identificar las respuestas del activo (o de los activos en su caso), excipientes y otras sustancias presentes en la forma farmacéutica. De tal manera, que se pueda comprobar que el método analítico usado es suficiente en términos de separar la sustancia de interés, de los efectos de cualquier interferencia. En caso de no lograr este objetivo, es necesario hacer las correcciones necesarias, llegando al extremo de implementar otro, si una vez realizadas las modificaciones no se da el resultado deseado.(5,6)

2.1.5 LINEALIDAD DEL METODO.

Es la relación o función lineal existente entre la cantidad de medicamento o fármaco recuperado, y el valor real de la cantidad de esas mismas sustancias químicas adicionadas.(5,6)

2.1.6 EXACTITUD DEL METODO.

Medida de la semejanza o concordancia existente entre un valor medido experimentalmente y un valor de referencia.

A fin de medir la exactitud, se utilizan porcentos de recobro que previamente se han fijado tomando en cuenta el estado que guarda el producto terminado (5,6), es decir la Forma Farmacéutica; como puede observarse en el siguiente cuadro:

Forma Farmacéutica	% de Recobro
Suspensiones	97 - 103
Tabletas	98 - 102
Soluciones	98 - 102
Semisólidos	97 - 103

Cuadro No.1. Porcientos de recobro de diferentes Formas Farmacéuticas.

Así pues, una técnica análitica es más exacta cuando existe mayor concordancia entre un valor determinado experimentalmente y un valor de referencia.

2.1.7 PRECISION DEL METODO.

Medida del grado de concordancia entre mediciones repetidas de una misma propiedad. Esto es, debe existir homogeneidad o uniformidad en el resultado para todas las ocasiones en que se realice la determinación de una magnitud constante. Esto es, para efectos de evaluar este parámetro, pueden conservarse las mismas condiciones (repetibilidad) o en diferentes condiciones (reproducibilidad).(5,6)

2.1.8 ESTABILIDAD DE LA MUESTRA.

Son los requerimientos o condiciones a determinar a fin de que la muestra preparada mantenga constante su propiedad medible, dentro de un cierto intervalo de tiempo.

Se toman muestras de los diferentes lotes fabricados en fechas distintas y almacenados en condiciones diferentes procediéndose a dictaminar su estabilidad.

2.2 TECNICAS DE CUANTIFICACION POR VOLUMETRIA.

2.2.1 DEFINICION DE VOLUMETRIA.

Es una operación experimental mediante la cual la cantidad de sustancia que se busca se determina de forma indirecta midiendo el volumen de una disolución de concentración conocida, que se necesita que reaccione con el constituyente que se analiza o con otra sustancia químicamente equivalente. La disolución de concentración conocida es una disolución patrón, que puede prepararse en forma directa o por normalización mediante reacción con un patrón primario. El punto final de la reacción se aprecia por un cambio brusco de alguna propiedad del sistema reaccionante, estimado mediante un indicador, este cambio debe presentarse idealmente en el momento que se añade una cantidad de reactivo equivalente. (8,11,17)

2.2.2 CONDICIONES QUE DEBEN PREVALECER EN LOS DIFERENTES TIPOS DE REACCIONES PARA QUE SEA SUSCEPTIBLE DE SER APLICADO UN METODO VOLUMETRICO.

- La reacción entre el constituyente buscado y el reactivo debe de ser sencilla.

- La reacción que se lleve a cabo debe ser completa, para poder aplicar la relación estequiométrica.

- La reacción debe ser rápida, con objeto de que la valoración pueda realizarse en poco tiempo.

- Debe disponerse de una disolución patrón como reactivo valorante.

- Debe existir indicador que señale el punto final de la valoración.

- Deben utilizarse equipo y material de medida exacta (buretas, pipetas, balanzas etc.).(8,9,17)

2.2.3 VALORACION POR RETROCESO.

2.2.3.1 DEFINICION.

Ocasionalmente es necesario llevar a cabo un análisis volumétrico por adición de un exceso del reactivo y determinado después el exceso por valoración por un segundo reactivo de concentración conocida.(12)

2.2.3.2 VALORACION COMPLEJOMETRICA POR RETROCESO.

Los metales que forman complejos con lentitud o que precipitan al pH que exige la valoración o que no reaccionan con los indicadores se determinan por la adición de una cantidad medida de exceso de EDTA patrón valorado, luego por retroceso el exceso de éste es valorado con disolución patrón de Zn^{++} o Mg^{++} , hasta la aparición del compuesto coloreado metal-indicador.(17)

2.3 COMPLEJOMETRIA.

2.3.1 INTRODUCCION.

Las reacciones características de un ion se producen, cuando al mismo tiempo se hallan presentes ciertos iones o moléculas que forman un complejo con el ion. Los compuestos complejométricos se forman con un ion o catión de ahí que se conozcan como complejos catiónicos y complejos aniónicos.(11)

En el grupo de reacciones de formación de complejos, se consideran las reacciones características de algunos iones metálicos con ciertas sustancias orgánicas con las cuales forman complejos. Por medio de un indicador conveniente se manifiesta la presencia del metal que se considera, el cual va desapareciendo a medida que se agrega la solución valorada de la sustancia complejante, hasta que el metal se ha transformado en el correspondiente complejo.(11)

Los iones metálicos principalmente polivalentes por el hecho de estar en solución forman ya un complejo, al atraer a las moléculas de agua adyacentes, las que se orientan alrededor del ion metálico a causa de la carga iónica. En cada átomo metálico, además de las esferas electrónicas normales existe otra directamente relacionada con la formación de compuestos complejométricos a los que se les llama esfera de coordinación que admite determinado número de electrones cedidos por los radicales o moléculas, que forman el complejo con el metal.(11)

Las fuerzas mediante las cuales se unen los iones metálicos, con los radicales o moléculas no corresponden a las valencias coordinadas las cuales pueden ser dos cuatro o seis llamándose número de coordinación. Los radicales o moléculas que se coordinan con el ion metálico se les da el nombre de ligandos, y cuando éstos tienen por lo menos dos electrones que pueden ceder al ion metálico los compuestos complejos formados de esta manera reciben el nombre de quelatos. Los ligandos pueden tener dos,

tres, cuatro, cinco o seis grupos coordinables con el ion metálico, designándoseles como agentes quelat6genos polidentados; mono, bi, tetra, penta, hexádentados. Los compuestos coordinados o complejos constituidos por ligandos polidentados provocan al ion metálico -por así decirlo- que manifieste sus propiedades, ese ion se encuentra oculto por los ligandos, por lo cual a ciertos compuestos quelat6genos se les llama secuestrantes. Los cationes que originan complejos poco estables con el EDTA son Mg^{+2} , Ca^{+2} , Si^{+2} , Ba^{+2} , deben ser valorados en medio alcalino, sin embargo cuando los complejos son más estables la valoración debe hacerse en medio ácido.(11)

2.3.2 AGENTE ACOMPLEJANTE.

2.3.2.1 DEFINICION.

Generalmente son sustancias que presentan la habilidad de formar complejos muy estables con la mayoría de los cationes.(18)

2.3.2.2 ACIDO ETILENDIAMINOTETRAACETICO (EDTA).

La fórmula estructural del ácido etilendiaminotetracético indica que a los cuatro electrones, correspondientes de los hidrógenos de los grupos carboxílicos se pueden sumar dos electrones de cada nitr6geno por lo cual la molécula posee 6 posibles ligandos covalentes para unirse al ion metálico (agente quelat6nico hexádentado).(11)

En la práctica analítica no se emplea directamente debido a su baja solubilidad, la sal tetrasódica tampoco es adecuada debido a su gran tendencia a ionizarse, lo cual resulta soluciones de alcalinidad alta. Comúnmente se utiliza la sal disódica, con dos moléculas de agua de cristalización, la cual produce numerosos cationes quelatos que dan importantes métodos complejométricos.(11)

El EDTA forma complejos de estequiometría 1:1 solubles y estables con los iones metálicos. Las valoraciones con EDTA son muy sensibles al pH por lo cual debe elegirse el valor más adecuado. Durante la valoración puede producirse iones hidrógeno H^+ por lo que debe añadirse una solución reguladora. (11)

En algunos casos la velocidad de reacción entre el ion metálico y el agente acomplejante es demasiado lenta, para evitar el problema puede aumentarse la temperatura o una valoración por retroceso. (11)

2.4 ELECTRODO.

Toda reacción química que produce corriente eléctrica da lugar a un desprendimiento o transferencia continua de electrones. Para medir este flujo de electrones se recurre a reacciones entre metales y soluciones iónicas llamadas electrodos. (23)

2.5 ELECTRODO DE AMALGAMA.

El electrodo de amalgama es un electrodo metálico que actúa como electrodo de segundo orden, midiendo la concentración del ion que no participa directamente en el proceso de transferencia de electrones. Es utilizado para iones Y^{4-} que forman compuestos estables con el catión del metal. (25)

Este electrodo permite medir la concentración de cationes que forman complejos menos estables con el ácido etilendiaminotetracético EDTA, que con mercurio II. Durante la determinación se lleva a cabo dos reacciones que son:

- La primera reacción que ocurre es entre el anión (Y^{4-}) y el mercurio es:



sin embargo, como la concentración del mercurio es muy pequeña en comparación con el anión Y^{4-} entonces la concentración del complejo HgY^{2-} es constante por lo que el potencial de la semireacción esta dado por la siguiente ecuación de Nerst:

$$E = E^0_{HgY^{2-} \rightarrow Hg^0} \frac{-0.059}{2} \log |Y^{4-}| \quad (1)$$

- La segunda reacción que ocurre al introducir el ion Zn^{++} a la solución esta dado por la formación del complejo ZnY^{2-} de acuerdo a la siguiente ecuación:



la constante de equilibrio es:

$$K_{ZnY^{2-}} = \frac{|ZnY^{2-}|}{|Zn^{2+}||Y^{4-}|} \quad (2)$$

despejando Y^{4-} de (2) e introduciendo dicho valor en la ecuación de Nerst (1).

$$E = E^0_{HgY^{2-} \rightarrow Hg^0} \frac{-0.059}{2} \log \frac{|ZnY^{2-}|}{|K_{ZnY^{2-}}||Zn^{++}|}$$

Siempre que el ion Zn^{++} se encuentre en exceso en la solución y la constante de formación del complejo metal EDTA sea razonablemente favorable. La concentración de $|ZnY^{2-}|$ y $|HgY^{2-}|$, permanecerá constante, por lo que la ecuación se reduce a:

$$E = E^0_{HgY^{2-} \rightarrow Hg^0} \frac{-0.059}{2} \log \frac{1}{|Zn^{++}|}$$

Por lo que la concentración del ion metálico esta dada por el valor del potencial del electrodo. (25)

2.6 ANTIACIDOS.

Los antiácidos han sido medicamentos de elección para las enfermedades ácido-péptidicas desde tiempos que no existían medios para el estudio adecuado de las mismas.

La acción principal de los antiácidos es reducir la acidez del jugo gástrico neutralizándolo y llevando el pH (grado de acidez) a un intervalo de 3.5 a 4, con lo cual se evita que la pepsina actúe. (14,15,16)

Prácticamente no tienen efectos colaterales sistémicos, y no interaccionan con otros fármacos y cuando se selecciona la sustancia antiácida adecuada y se administra en la dosis correcta no produce aumento secundario de la acidez gástrica. (14,15,16)

La acción de los antiácidos se basa principalmente en sus efectos benéficos sobre el dolor, la cicatrización de las úlceras, las gastritis y en la prevención de recaídas de este padecimiento. (14,15,16)

La acción de los antiácidos depende tanto de su estructura química como de sus propiedades físicas. Los antiácidos se dividen en antiácidos sistémicos y no sistémicos, por sus efectos sobre el organismo y estos efectos dependen en mucho de sus sales que forman. (14,15,16)

Por otra parte, se sabe que los compuestos formados en el intestino a partir de hidróxido de aluminio forman fosfatos de aluminio que pasan al intestino sin absorberse, por ello cuando se usan a dosis altas o por tiempo prolongado, evitan la absorción natural de los fosfatos de la dieta y pueden producir pérdida de los mismos. Esto ocurre comunmente para casi todos los compuestos

de aluminio y no sucede con el fosfato de aluminio. (14,15,16)

2.7 FOSFATO DE ALUMINIO.

2.7.1 NOMBRE QUIMICO.

Fosfato de aluminio gel. (20)

2.7.2 FORMULA.

$AlPO_4$

2.7.3 PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS.

El fosfato de aluminio tiene un peso molecular de 121.95, un contenido de Aluminio = 22.12%, Oxígeno = 52.48%, Fósforo = 25.40%. Es prácticamente insoluble en agua y ácido acético; pero es muy soluble en ácido nítrico y ácido clorhídrico. (20)

2.7.4 FARMACOLOGIA FOSFATO DE ALUMINIO.

Antiácido no sistémico, es un coloide micelar hidrófilo, insoluble y neutro; que reacciona químicamente con el jugo gástrico, estabilizando gradualmente el pH del estómago alrededor de 3.5. (20)

2.7.4.1 ACCION PROTECTORA DEL GEL DE FOSFATO DE ALUMINIO.

El gel de fosfato de aluminio reacciona en el jugo gástrico con el ácido clorhídrico, produciendo cloruro de aluminio y ácido fosfórico. La micronización del coloide permite la formación de partículas micelares, cuyas propiedades de microdispersión y

microadherencia favorecen la formación de una película protectora coloidal, que actúa como el moco gástrico fisiológico, preservando a la mucosa de la agresión y de la hiperacidez. (14,15,16)

Esto se debe a que la fracción aluminica del gel, es insensible a los ácidos, constituyendo, por lo tanto, una barrera aislante contra la acción del ácido clorhídrico. (14,15,16)

2.7.4.2 ACCION ADSORBENTE DEL GEL DE FOSFATO DE ALUMINIO.

El gel de fosfato de aluminio, por su dispersión coloidal, su gran superficie de contacto de las partículas micelares, tiene eficaz acción adsorbente que le permite adherirse a tóxicas, microorganismos y gases de fermentación, eliminando sus efectos indeseables. (14,15,16)

2.7.4.3 INTERACCION MEDICAMENTOSA DEL GEL DE FOSFATO DE ALUMINIO.

El tratamiento de las enfermedades ácido-péptidicas, frecuentemente requiere de la administración simultanea de dos o más fármacos. De ahí que es importante señalar que el gel de fosfato de aluminio, parece no alterar la absorción de los bloqueadores H_2 (cimetidina); por lo que no modifica su biodisponibilidad cuando se administran concomitantemente. Asimismo el fosfato de aluminio puede administrarse simultáneamente con otros medicamentos de uso común como: Prednisolona, Ketoprofen, Disopiramida y Procainamida. (21)

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La cuantificación de fosfato de aluminio puede realizarse de acuerdo al método de Farmacopea (19,22) y al protocolo de análisis que proporciona el proveedor de la materia prima (FOSFATO DE ALUMINIO), ambos ensayos son titrimétricos.

Los métodos reportados para cuantificar dicho principio activo en forma farmacéutica gel se basa en técnicas muy sencillas y versátiles que permiten obtener rápidamente los resultados de las determinaciones. El método que utiliza el Laboratorio donde se desarrollo el trabajo experimental es el volumétrico-complejométrico, el cual permite aprovechar las propiedades del ácido etilendiaminotetracético (EDTA) y de los iones metálicos aluminio, zinc; los cuales forman compuestos complejométricos muy estables, al aplicar el método antes mencionado se forman dos complejos EDTA-ALUMINIO y EDTA-ZINC; la formación de este segundo compuesto es el que permite cuantificar indirectamente la cantidad de fosfato de aluminio presente en la muestra.

Pero debido al gran avance tecnológico y a la automatización de las cadenas de producción, se hace necesario implementar el método volumétrico-complejométrico para cuantificar FOSFATO DE ALUMINIO materia prima y producto terminado, que permita realizar las determinaciones con mayor rapidez y precisión obteniendo con ello una disminución en el tiempo y costo del análisis.

Así mismo para la Industria Farmacéutica es importante validar los métodos analíticos que utiliza permanentemente para cuantificar (materias primas y productos terminados), de tal manera que se asegure que los medicamentos sean confiables y eficaces, además siendo un requisito sanitario por parte de la Secretaria de Salud que estipula que todos los Laboratorios fabricantes de medicamentos validen todos los métodos de fabricación y control.

Por lo anteriormente expuesto se implementará el método usando un equipo automático y posteriormente se validará el método implementado para cuantificar FOSFATO DE ALUMINIO (materia prima y producto terminado).

4. OBJETIVOS.

Implementar el método volumétrico automatizado para Fosfato de Aluminio como materia prima y producto terminado.

Validar el método analítico para la determinación de fosfato de Aluminio en materia prima y producto terminado.

5. HIPOTESIS.

El ácido etilendiaminotetracético es un compuesto que forma complejos específicos con aluminio, en base a esto es posible caracterizar y cuantificar el fosfato de aluminio por un método volumétrico complejométrico.

El método analítico es específico, exacto, preciso, lineal, reproducible por lo que se podrá utilizar con mayor confiabilidad y efectividad en los análisis rutinarios de control de calidad.

6. MATERIAL Y METODO.

6.1 MATERIALES.

Material	Descripción
Vaso de precipitados	50 ml, 100 ml y 250 ml.
Probeta graduada	25 ml, 50 ml y 100 ml.
Pipetas volumétricas	3 ml, 5 ml, 10 ml, y 15 ml.
Matraz aforado	200 ml.
Termómetro	-10 a 100°C.

6.2 REACTIVOS.

Solución	Concentración	
Sulfato de Zinc	0.1 M	MERCK R.
EDTA	0.1 M	MERCK R.
Carbonato de Calcio		MERCK R.
Acido Clorhídrico	10 %	JT. BAKER.
Acido Clorhídrico	concentrado	JT. BAKER.
Buffer ácido acético-acetato de amonio SR.		MERCK R.
Hidróxido de sodio.		JT. BAKER.

6.3 EQUIPO.

Parrilla de calentamiento y agitación	CORNING.
Titulador automático	METTLER DL25.
Electrodo de plata amalgamado	DM141.
Impresora	EPSON, LX800.

6.4 METODOLOGIA GENERAL.

6.4.1 METODO DE ANALISIS NO.1.

Para implementar y validar el método analítico que permita cuantificar fosfato de aluminio materia prima se procede de la siguiente manera.

Preparación de la muestra.

En un vaso de precipitados de 250 ml disolver con 5 ml de ácido clorhídrico 300 mg de fosfato de aluminio, agregar 45 ml de agua, 10 ml de EDTA y 30 ml de solución buffer de acetato de amonio-ácido acético.

Preparación del blanco de reactivos.

En un vaso de precipitados de 250 ml agregar 5 ml de ácido clorhídrico diluido, 10 ml de EDTA y 30 ml de solución buffer de acetato de amonio-ácido acético.

Procedimiento.

Hervir la muestra y el blanco de reactivos durante 5 minutos, enfriarlos y conjuntamente titular la muestra y el blanco de reactivos.

Calcular el % de fosfato de aluminio presente en la muestra mediante la siguiente fórmula $(B - V) \cdot (M) \cdot (Eq) / m \cdot (100)$ donde B y V

es el volumen de sulfato de zinc consumido por la muestra y el blanco respectivamente, M es la molaridad del sulfato de zinc, E_q es el equivalente de fosfato de aluminio 122.0090888 y m es el peso de la muestra.

Los parámetros definidos en la fundamentación del tema (página 3) fueron evaluados al realizar la validación.

6.4.1.1 LINEALIDAD DEL SISTEMA.

La linealidad del sistema, se realiza con el principio activo solo. Se preparó una solución patrón como a continuación se indica:

24 g de fosfato de aluminio se disuelven con ácido clorhídrico diluido y llevándolo a un volumen final de 200 ml con agua destilada (solución patrón), obteniéndose una concentración final de 120 mg/ml.

El procedimiento fue :

En muestras al 80%: De la solución patrón tomar cuantitativamente una alícuota de 2 ml para obtener muestras con un peso de 240 mg.

Para muestras al 90%: De la solución patrón tomar cuantitativamente con bureta 37.5 ml, transferir a un matraz volumétrico de 50 ml, aforar con agua destilada. De la solución anterior tomar cuantitativamente una alícuota de 3 ml para obtener muestras con un peso de 270 mg.

Las muestras al 100%: De la solución patrón tomar cuantitativamente 50 ml, transferir a un matraz volumétrico de 100 ml y se afora con agua destilada. De la solución anterior tomar una alícuota de 5 ml para obtener muestras con un peso de 300 mg.

En muestras al 110%: De la solución patrón transferir cuantitativamente con bureta 27.5 ml a un matraz volumétrico de 50 ml y aforar con agua destilada. De la solución anterior se tomó una alícuota de 5 ml para obtener muestras con un peso de 330 mg.

Para muestras al 120%: De la solución patrón se tomó una alícuota de 3 ml para obtener muestras con un peso de 360 mg.

Una vez preparadas las muestras se procedió a detectar el punto de equivalencia de manera automática de la siguiente forma:

Se utilizó un programa específico para el tipo de reacciones complejométricas. Al programa se le introduce el valor teórico (volumen en ml de reactivo titulante $ZnSO_4$), necesarios para que reaccione con el ácido etilendiaminotetracético (EDTA) que se encuentra en exceso. Dicho valor se obtiene al realizar el análisis de la estequiometría de la reacción que se efectúa. Cuando se activa el programa para el proceso de análisis, se registra el valor del potencial de la celda a tiempo cero; conforme se agrega reactivo titulante se detectan cambios en el potencial de la celda. Cuando existe un cambio muy marcado en el potencial de la celda, es indicio de que se ha llegado al punto de equivalencia.

6.4.1.2 PRECISION DEL SISTEMA.

Para determinar la precisión del sistema se procede de la siguiente manera:

Se preparan 10 muestras individuales al 100% con respecto a lo especificado en el marbete, que corresponde a muestras con un peso de 300 mg. Finalmente se procede a valorarlas.

6.4.1.3 LINEALIDAD DEL METODO (MATERIA PRIMA).

Para determinar la linealidad del método (materia prima) se preparan tres muestras por nivel, pesando las cantidades de acuerdo a la tabla No.2.

Nivel	% Adicionado	(mg) Fosfato de aluminio
1	120	360
2	110	330
3	100	300
4	90	270
5	80	240

Tabla No. 2. Cantidad de fosfato de aluminio en 5 diferentes niveles para determinar la linealidad del método (materia prima).

En las tres replicaciones de las cinco muestras se aplica el método de análisis No.1; considerandose los resultados de la valoración (materia prima) como un valor estándar.

6.4.1.4 EXACTITUD DEL METODO (MATERIA PRIMA).

Para determinar la exactitud del método de medición (materia prima) se prepararon 10 muestras y un blanco de reactivos de acuerdo al método de análisis No.1 y se valoraron las muestras.

6.4.1.5 PRECISION DEL METODO (MATERIA PRIMA).

En la evaluación de este método se utilizan los datos obtenidos en la exactitud del método (materia prima).

6.4.1.6 REPRODUCIBILIDAD DEL METODO (MATERIA PRIMA).

Para realizar la determinación se prepararon 12 muestras divididas en cuatro series de tres, siendo necesario que el análisis fuera realizado por dos analistas y en dos días diferentes y con 3 replicaciones por día, con el propósito de obtener un diseño estadístico con dos criterios de clasificación.

Para determinar si el método es reproducible, debe evaluarse si existe efecto por parte de los analistas y los días en que se realizó el experimento.

Las muestras fueron preparadas por los analistas de acuerdo al método de análisis No.1.

6.4.1.7 ESTABILIDAD DE LA MUESTRA (MATERIA PRIMA).

En la evaluación de la estabilidad de la muestra, se preparan 3 muestras, como indica el método de análisis No.1, almacenandolas de acuerdo al protocolo especificado en la tabla No.3.

TIEMPO	CONDICION		
	LUZ	OBSCURIDAD	REFRIGERACION
12 HORAS	muestra 1	muestra 1	muestra 1
	muestra 2	muestra 2	muestra 2
	muestra 3	muestra 3	muestra 3
24 HORAS	muestra 1	muestra 1	muestra 1
	muestra 2	muestra 2	muestra 2
	muestra 3	muestra 3	muestra 3
72 HORAS	muestra 1	muestra 1	muestra 1
	muestra 2	muestra 2	muestra 2
	muestra 3	muestra 3	muestra 3

Tabla No. 3. Condición y tiempo a la que fue sometida la muestra para evaluar su estabilidad.

Se evalúa la estabilidad a tiempo cero, para obtener un parámetro de control el cual es usado en el análisis estadístico.

6.4.2 METODO DE ANALISIS NO.2.

Al implementar y validar el método analítico para cuantificar fosfato de aluminio producto terminado fosfagel, se procede de la siguiente manera:

Preparación de la muestra.

Pesar en un vaso de precipitados de 250 ml 11.4750 g de fosfato de aluminio y adicionar la cantidad correspondiente de placebo, agregar 100 ml de agua destilada y 20 ml de ácido clorhídrico concentrado hasta que se disuelva completamente la suspensión, posteriormente calentar entre 30° y 40° aproximadamente; enfriar rápidamente, transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 200 ml, completar el volumen con agua destilada y homogeneizar.

Transferir cuantitativamente 5 ml de la solución anterior a un vaso de precipitados de 50 ml, agregar 10 ml de EDTA (diisódico) 0.1 M y 15 ml de solución buffer ácido acético-acétato de sodio.

Preparación del blanco de reactivos.

En un vaso de precipitados de 50 ml, transferir 10 ml de EDTA (diisódico) y agregar 15 ml de solución buffer de ácido acético-acétato de sodio.

Procedimiento.

Hervir la muestra y el blanco de reactivos durante 3 minutos, enfriar y valorar el exceso de EDTA (diisódico) con solución de sulfato de zinc 0.1 M.

Calcular el % de fosfato de aluminio presente en la muestra mediante la siguiente fórmula: $(V_b - V_m) * F * (0.0122) * (100) / (200) / 5m$ donde V_b y V_m es el volumen de sulfato de zinc consumido por el blanco y la muestra respectivamente, F es el factor de molaridad

de la solución de sulfato de zinc y m es el peso de la muestra.

Los parámetros que se evalúan en la validación del método como producto terminado fosfagel son los definidos en la fundamentación del tema (página 3), no evaluando la linealidad y precisión del sistema por ser repetitivo.

6.4.2.1 ESPECIFICIDAD FRENTE A EXCIPIENTES.

Para determinar la especificidad del método se preparan 6 muestras que contengan los siguientes componentes: dos muestras con 3.5250g de excipientes, dos muestras con 3.5250g de excipientes más 11.4750g de fosfato de aluminio y dos muestras que únicamente contienen los reactivos. Posteriormente se evalúan las seis muestras de acuerdo al método de análisis No.2.

6.4.2.2 LINEALIDAD DEL METODO PRODUCTO TERMINADO (FOSFAGEL).

La determinación se realiza preparando 15 muestras divididas en 5 niveles y en cada uno de éstos se aplican 3 replicaciones.

Las muestras se preparan con las cantidades que se muestran en la tabla No.4.

Nivel	Fosfato de aluminio (g)	Excipientes (g)
1	13.7700	4.2300
2	12.6225	3.7775
3	11.4750	3.5250
4	10.3275	3.1725
5	9.1800	2.8200

Tabla No. 4. Cantidad de fosfato de aluminio y excipientes en los 5 diferentes niveles en la determinación de la linealidad del método producto terminado FOSFAGEL.

En las tres replicaciones de los cinco niveles se aplica el método de análisis No.2; usando como parámetro de comparación, el valor obtenido al cuantificar la materia prima.

6.4.2.3 EXACTITUD DEL METODO PARA PRODUCTO TERMINADO (FOSFAGEL).

En la exactitud del método se preparan 10 muestras y un blanco de reactivos de acuerdo al método de análisis No.2, valorándose posteriormente.

6.4.2.4 PRECISION DEL METODO PRODUCTO TERMINADO (FOSFAGEL).

La determinación se realiza con los datos obtenidos al evaluar la exactitud del método (producto terminado).

6.4.2.5 REPRODUCIBILIDAD DEL METODO PRODUCTO TERMINADO (FOSFAGEL).

Para esta determinación se preparan 12 muestras según el método de análisis No. 2, divididas en cuatro series de tres. El análisis debe ser realizado por dos analistas en dos días diferentes y con 3 replicaciones por día con el propósito de obtener un diseño estadístico con dos criterios de clasificación.

Para determinar si el método es reproducible, debe evaluarse si existe efecto por parte de los analistas y los días en que se realiza el experimento.

6.4.2.6 ESTABILIDAD DE LA MUESTRA PRODUCTO TERMINADO (FOSFAGEL).

En la determinación de la estabilidad de la muestra, se preparan tres muestras como se indica en el método de análisis No.2. De

cada muestra se toman nueve alícuotas de 25 ml y se someten a las tres diferentes condiciones determinadas a los tres diferentes tiempos. El protocolo que se sigue es el que se indica en la tabla No.5.

TIEMPO	CONDICION		
	LUZ	OBSCURIDAD	REFRIGERACION
12 HORAS	muestra 1 muestra 2 muestra 3	muestra 1 muestra 2 muestra 3	muestra 1 muestra 2 muestra 3
24 HORAS	muestra 1 muestra 2 muestra 3	muestra 1 muestra 2 muestra 3	muestra 1 muestra 2 muestra 3
72 HORAS	muestra 1 muestra 2 muestra 3	muestra 1 muestra 2 muestra 3	muestra 1 muestra 2 muestra 3

Tabla No. 5. Condición y tiempo a la que fue sometida la muestra para evaluar su estabilidad.

Antes de ser almacenadas las 3 muestras en las diferentes condiciones, se valoran a tiempo cero, ya que esta determinación inicial permite hacer la corrección por control que será usada en el análisis estadístico.

7. RESULTADOS.

7.1 LINEALIDAD DEL SISTEMA.

A continuación se presentan los resultados en mg recuperados (cuadro No.1) en las muestras preparadas para determinar la linealidad del sistema.

mg (adicionados)	mg (recuperados)
361.4	361.4
361.4	366.6
361.4	366.3
	Σ 1094.3
331.3	329.9
331.3	327.2
331.3	326.1
	Σ 983.2
301.2	301.2
301.2	300.0
301.2	302.5
	Σ 903.7
271.0	274.9
271.0	272.3
271.0	272.0
	Σ 819.2
240.9	251.2
240.9	246.2
240.9	246.7
	Σ 744.1

Cuadro No.1. Resultados en mg adicionados y mg recuperados para determinar la linealidad del sistema.

De acuerdo a los resultados de la tabla anterior, se calcularon los siguientes datos:

ΣX^2	1387694.70	ΣY^2	1401922.00
ΣX	4517.40	ΣY	4544.50
\bar{X}	301.16	\bar{Y}	302.96
S_x	44.11	S_y	42.33
ΣXY	1394665.50	ΣY^2	4545.08

Conforme a las fórmulas 1, 2 y 3 del anexo, se calculó la pendiente (m), la ordenada al origen (b) y el coeficiente de regresión (r).

$$\begin{aligned}
 m &= 0.9562 \\
 b &= 14.972 \\
 r &= 0.9963
 \end{aligned}$$

Evaluación de la linealidad del sistema:

H_0 = No existe dependencia de la cantidad recuperada con respecto a la cantidad agregada.

H_a = Existe dependencia de la cantidad recuperada con respecto a la cantidad agregada.

La siguiente tabla de ANDEVA muestra los valores obtenidos a partir de la tabla I del anexo.

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	"F" DE CALCULO	"F" DE TABLAS
REGRESION	1	24778.36	24778.36	1033.68	F ₁ 9.07
ERROR DE REGRESION	13	311.63	23.97		
FALTA DE AJUSTE	3	263.60	87.86	18.30	F ₂ 3.71
ERROR PURO	10	48.03	4.80		
TCM	14	25090.			

Tabla de ANDEVA para evaluar la linealidad del sistema

Con los datos anteriores calculamos r^2 conforme a la fórmula 4 del anexo.

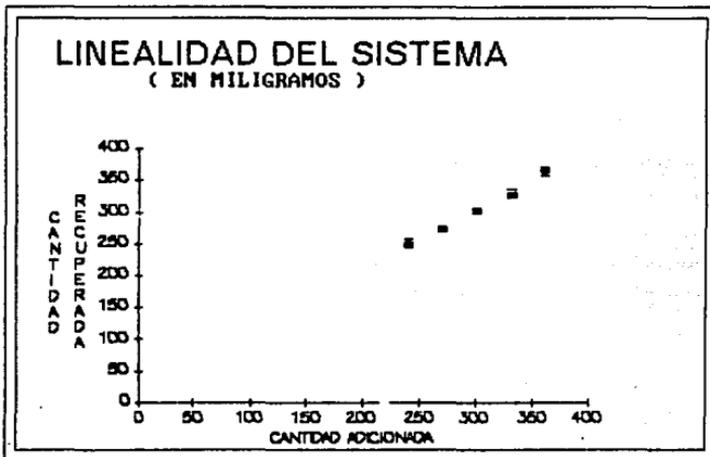
$$r^2 = 0.9875$$

Regla de decisión.

Si $F_1(\text{calc}) \geq F_1(\text{tab})$ se rechaza H_0 y \therefore existe una dependencia entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada. Sin embargo si $F_1(\text{calc}) < F_1(\text{tab})$, no se rechaza H_0 y \therefore no existe dependencia entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada.

$$F \left(0.01, \frac{\text{gl. numerador}}{\text{gl. denominador}} \right) = 9.07$$

Debido a que $1033.68 > 9.07$, se rechaza H_0 y se considera que existe una relación entre la variable cantidad adicionada y la variable cantidad recuperada como puede observarse en la gráfica I.



Gráfica No. I. Grado de relación del sistema en un rango de 360 a 240mg. como cantidad final.

Evaluación del Comportamiento del Modelo

- H_0 = El modelo de regresión lineal simple describe adecuadamente la relación entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada.
- H_a = El modelo de regresión lineal simple no describe adecuadamente la relación entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada.

Regla de decisión.

Si $F_2(\text{calc}) < F_2(\text{tab})$ no se rechaza H_0 y \therefore El modelo describe adecuadamente la relación entre la cantidad adicionada y la recuperada. Sin embargo, si $F_2(\text{calc}) \geq F_2(\text{tab})$, se rechaza H_0 y \therefore El modelo no describe adecuadamente la relación entre la cantidad adicionada y recuperada, es decir existe una falta de ajuste del modelo para explicar la variabilidad de los datos.

$$F \left(0.01, \frac{\text{gl. numerador}}{\text{gl. denominador}} \right) = 3.71$$

$18.30 > 3.71$ se rechaza H_0 y se considera que el modelo no describe la relación entre la cantidad adicionada y la recuperada. Sin embargo, con base en el criterio establecido por la Secretaría de Salud, que indica que el resultado obtenido de la prueba del coeficiente de determinación (r^2) debe ser mayor o igual a 0.98, y dado que el valor obtenido de $r^2 = 0.987$ para este caso en particular, se considera que no hay falta de ajuste con base en dicho criterio.

Para determinar si la ordenada al origen es cero:

$$H_0 : B = 0$$

$$H_a : b \neq 0$$

El modelo probabilístico empleado es la "t" de Student y de acuerdo a la fórmula 5, 6 y 7 del anexo se obtiene :

$$t_{(\text{calc})} = 1.659, \quad t_{(\text{tab})} = t_{(n-2, 0.975)} = 2.1604$$

Regla de decisión :

Si $t_{(calc)} < t_{(tab)}$ no se rechaza H_0 .

Si $t_{(calc)} \geq t_{(tab)}$ se rechaza H_0 .

Debido a que $1.659 < 2.1604$, no se rechaza H_0 , se considera que el sistema de medición tiene una ordenado al origen que tiende a cero.

Para determinar si la pendiente es uno:

$$H_0 : m = 1$$

$$H_0 : m \neq 1$$

El modelo probabilístico empleado, es la "t" de Student y de acuerdo a la fórmula 5, 6 y 9 del anexo se obtiene :

$$t_{(calc)} = | -1.64448 | \quad t_{(tab)} = t_{(n-2, 0.975)} = 2.1604$$

Regla de decisión :

Si $t_{(calc)} < t_{(tab)}$ no se rechaza H_0 .

Si $t_{(calc)} \geq t_{(tab)}$ se rechaza H_0 .

Debido a que $| -1.6448 | < 2.1604$, no se rechaza H_0 , se considera que el sistema de medición tiene una pendiente que tiende a uno.

7.2 PRECISION DEL SISTEMA.

En el cuadro No.2 se presentan los resultados en mg recuperados obtenidos en las diez muestras preparadas para la evaluación de la precisión del sistema.

mg (adicionados)	mg (recuperados)
301.2	301.2
301.2	300.0
301.2	302.5
301.2	299.4
301.2	298.7
301.2	301.3
301.2	300.6
301.2	299.5
301.2	303.0
301.2	299.6

Cuadro No.2. Resultados en mg recuperados para la evaluación de la precisión del sistema.

De acuerdo a los resultados de la tabla anterior, se calcularon los datos que a continuación se indican.

$\sum x^2$	99571.32
$\sum x$	305.08
\bar{x}	300.58
S_x	0.017
DER	0.468

Evaluación de la precisión del sistema:

H_0 = El sistema es preciso.

H_a = El sistema no es preciso.

Se calculó el coeficiente de variación(DER) usando la fórmula No.8 del anexo.

$$DER = 0.4683 \%$$

Regla de decisión.

Si $DER < 1.5 \%$, no se rechaza H_0 y \therefore hay precisión en el sistema de medición. Si $DER \geq 1.5 \%$, se rechaza H_0 y no existe precisión en el sistema.

Como 0.4683% $<$ 1.5% no se rechaza H_0 por lo que se considera que el método es preciso, ya que cumple con los lineamientos establecidos por la Ley de salud.

7.3 LINEALIDAD DEL METODO "MATERIA PRIMA".

En el cuadro No.3 se muestran los resultados de las cantidades recuperadas en función de las cantidades adicionadas de las 15 muestras preparadas para la evaluación de la linealidad del método (materia prima).

mg (adicionados)	mg (recuperados)
449.4	449.4
440.9	441.1
408.3	407.3
	Σ 1297.8
403.2	402.2
399.0	395.5
367.7	366.6
	Σ 1164.3
362.3	365.6
355.1	359.7
344.1	348.4
	Σ 1073.7
341.3	344.7
339.0	339.5
330.0	331.3
	Σ 1015.5
313.3	314.3
287.2	285.5
283.9	284.3
	Σ 884.1

Cuadro No.3. Relación de los miligramos adicionados y recuperados para la evaluación de la linealidad del método (materia prima).

Con los resultados del cuadro No. 3, se calcularon los siguientes datos.

ΣX^2	1997220.05	ΣY	2004392.78
ΣX	5424.50	ΣY	5435.40
\bar{X}	361.63	\bar{Y}	362.36
S_x	50.38	S_y	49.87
ΣXY	152681.23	ΣY^2	6005584.08

Conforme a las fórmulas 1, 2 y 3 del anexo, se calculó la pendiente (m), la ordenada al origen (b) y el coeficiente de regresión (r).

$$m = 0.9888$$

$$b = 4.7709$$

$$r = 0.9989$$

Evaluación de la linealidad del sistema:

H_0 = No existe dependencia de la cantidad recuperada con respecto a la cantidad agregada.

H_a = Existe dependencia de la cantidad recuperada con respecto a la cantidad agregada.

La siguiente tabla de anadeva muestra los valores obtenidos a partir de la tabla I del anexo.

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	"F" DE CALCULO	"F" DE TABLAS
REGRESION	1	34716.045	34716.045	327.78	9.07
ERROR DE REGRESION	13	105.91	8.091		
TMC	14	34821.23			

Tabla de ANADEVa para evaluar la linealidad del método (materia prima).

Con los datos anteriores calculamos r^2 conforme a la fórmula 4 del anexo.

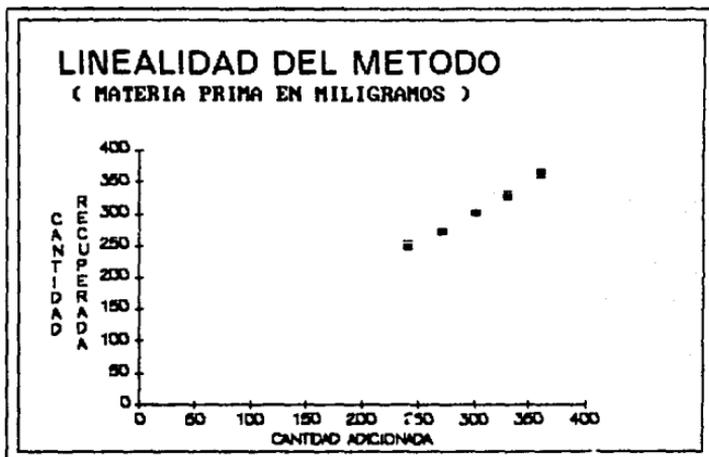
$$r^2 = 0.9969$$

Regla de decisión.

Si $F_1(\text{calc}) \geq F_1(\text{tab})$ se rechaza H_0 y \therefore existe una dependencia entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada. Sin embargo si $F_1(\text{calc}) < F_1(\text{tab})$, no se rechaza H_0 y \therefore no existe dependencia entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada.

$$F \left(0.01, \frac{\text{gl. numerador}}{\text{gl. denominador}} \right) = 9.07$$

Debido a que $327.78 > 9.07$, se rechaza H_0 y se considera que existe una relación lineal entre la variable cantidad adicionada y la variable cantidad recuperada, como puede observarse en la gráfica II.



Gráfica No.II. Grado de relación del Método (Materia Prima) en un rango en peso que va del 80% al 120% de la cantidad normal a cuantificar.

Para determinar si la ordenada al origen es cero:

$$H_0 : B = 0$$

$$H_a : b \neq 0$$

El modelo probabilístico empleado es la "t" de Student y de acuerdo a la fórmula 5, 6 y 7 del anexo se obtiene :

$$t_{(calc)} = 0.7963,$$

$$t_{(tab)} = t_{(n-2, 0.975)} = 2.1604$$

Regla de decisión :

Si $t_{(calc)} < t_{(tab)}$ no se rechaza H_0 .

Si $t_{(calc)} \geq t_{(tab)}$ se rechaza H_0 .

Debido a que $0.7963 < 2.1604$, no se rechaza H_0 , se considera que el sistema de medición tiene una ordenado al origen que tiende a cero.

Para determinar si la pendiente es uno:

$$H_0 : m = 1$$

$$H_a : m \neq 1$$

El modelo probabilístico empleado, es la "t" de Student y de acuerdo a la fórmula 5, 6 y 9 del anexo se obtiene :

$$t_{(calc)} = 0.2179, \quad t_{(tab)} = t_{(n-2, 0.975)} = 2.1604$$

Regla de decisión :

Si $t_{(calc)} < t_{(tab)}$ no se rechaza H_0 .

Si $t_{(calc)} \geq t_{(tab)}$ se rechaza H_0 .

Debido a que $0.2179 < 2.1604$, no se rechaza H_0 , se considera que el sistema de medición tiene una pendiente que tiende a uno.

7.4 EXACTITUD DEL METODO "MATERIA PRIMA".

En el cuadro No. 4 se muestran los porcentos de recobro de las 10 muestras evaluadas:

muestra	m i l i g r a m o s		porcientos de recobro
	adicionados	recuperados	
1	288.4	287.5	99.71
2	303.7	303.0	99.77
3	299.1	296.5	99.14
4	302.9	302.0	99.71
5	299.8	302.5	100.91
6	301.2	301.7	100.17
7	299.6	300.7	100.39
8	300.3	298.5	99.43
9	287.5	284.9	99.13
10	301.1	299.5	99.48

Cuadro No.4. Resultados en mg de cantidad adicionada, recuperada y porcentaje de recobro para la evaluación de la exactitud del método (materia prima).

Con los resultados del cuadro No. 4 se calcularon los siguientes datos:

Σx^2	99571.32
Σx	997.84
\bar{x}	99.78
Sx	0.563

Evaluación de la exactitud del método:

$$H_0 : \mu = 100 \%$$

$$H_a : \mu \neq 100 \%$$

El modelo probabilístico empleado, para evaluar la exactitud del método es la "t" de Student y se calculó usando la fórmula 10 del anexo:

$$t_{(calc)} = | -1.485 |, \quad t_{(tab)} = t_{(n-1, 0.975)} = 2.26$$

Regla de decisión :

$$\text{Si } t_{(calc)} < t_{(tab)} \quad \text{no se rechaza } H_0.$$

$$\text{Si } t_{(calc)} \geq t_{(tab)} \quad \text{se rechaza } H_0.$$

Debido a que $| -1.4853 | < 2.26$, no se rechaza H_0 , se considera que el método es exacto.

El intervalo de confianza del porcentaje recuperado se calculó mediante la fórmula 11 del anexo y su resultado es:

$$\text{Límite Inferior} = 98.89\%$$

$$\text{Límite Superior} = 100.99\%$$

7.5 PRECISION DEL METODO "MATERIA PRIMA".

Con los resultados del cuadro No. 4, se procedió a evaluar la precisión del método.

Evaluación de la precisión del método:

$$H_0 : \sigma \leq 2 \%$$

$$H_a : \sigma > 2 \%$$

El modelo probabilístico empleado, para evaluar la precisión del método es la " λ^2 " o chi-cuadrada y se calculó usando la fórmula 14 del anexo:

$$\lambda^2_{(calc)} = 0.7136, \quad \lambda^2_{(tab)} = \lambda^2_{((n-1), 0.975)} = 19.0$$

Regla de decisión :

Si $\lambda^2_{(calc)} < \lambda^2_{(tab)}$ no se rechaza H_0 y se considera que el método es preciso con un coeficiente de variación menor o igual al que se fija. Sin embargo si $\lambda^2_{(calc)} \geq \lambda^2_{(tab)}$ se rechaza H_0 y el método no es preciso.

Debido a que $0.7136 \leq 19.0$, no se rechaza H_0 , se considera que el método es preciso.

El intervalo de confianza ($I\sigma$) del porcentaje recuperado se calculó mediante la fórmula 15 del anexo y su resultado es:

$$\text{Límite Inferior} = 0.2667\%$$

$$\text{Límite Superior} = 0.1521\%$$

7.6 REPRODUCIBILIDAD DEL METODO "MATERIA PRIMA".

El determinar si existe efecto por parte de los analistas y los días en que se realizó el experimento, da los lineamientos para

deducir si el método es reproducible. La evaluación se realizó con los datos del cuadro No.5.

	ANALISTA 1	ANALISTA 2	
DIA 1	100.56	99.48	
	100.66	100.21	
	100.82	102.12	
	302.04	299.81	601.85
DIA 2	100.84	98.80	
	100.50	100.74	
	99.71	99.99	
	301.05	299.53	600.58
	603.09	599.34	1202.43

Cuadro No.5. Resultados en % de recobro realizado por dos analistas en dos días diferentes.

La siguiente tabla de ANADEV A presenta los valores para la evaluación de la reproducibilidad del método, obtenidos a partir de la tabla II del anexo.

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	"F" DE CALCULO	"F" DE TABLAS
ANALISTA	1	1.17	1.17	0.0229	F ₁ 5.32
DIA	1	0.14	0.14	0.0027	F ₂ 5.32
ANALISTA DIA	1	1.21	1.21	0.0237	F ₃ 5.32
ERROR	8	407.16	50.895		

Tabla de ANADEV A se presentan los valores de las F para evaluar la precisión del método (materia prima).

Evaluación del efecto entre analistas

H_0 = No hay diferencia en el porcentaje de recobro obtenido entre los analistas.

H_a = Existe diferencia en el porcentaje de recobro obtenido entre los analistas.

Regla de decisión:

Si $F_1(\text{calc}) < F_1(\text{tab})$ no se rechaza H_0 y no existe diferencia en los porcentajes de recobro obtenido por cada analista. Sin embargo si $F_1(\text{calc}) \geq F_1(\text{tab})$ se rechaza H_0 y existe diferencia en los porcentajes de recobro obtenidos por cada analista.

$$F \left(0.05, \frac{\text{gl. numerador}}{\text{gl. denominador}} \right) = 5.32$$

Debido a que $0.0229 < 5.32$, no se rechaza H_0 y se considera que no existe diferencia en los porcentajes de recobro obtenidos por los analistas.

Evaluación del efecto entre los Días en que se realizó la determinación.

H_0 = No hay diferencia en el porcentaje de recobro obtenido en los diferentes días.

H_a = Si hay diferencia en el porcentaje de recobro obtenido en los diferentes días.

Regla de decisión:

Si $F_2(\text{calc}) < F_2(\text{tab})$ no se rechaza H_0 y \therefore no existe diferencia en los porcentos de recobro obtenidos entre el primero y segundo día en que se realizó la determinación, sin embargo si $F_2(\text{calc}) \geq F_2(\text{tab})$ se rechaza H_0 y \therefore existe efecto en los porcentos de recobro obtenidos entre el primero y segundo día que se realizó la determinación.

$$F \left(0.05, \frac{\text{gl. numerador}}{\text{gl. denominador}} \right) = 5.32$$

Debido a que $0.0027 < 5.32$, no se rechaza H_0 , por lo que se considera que no existe efecto por parte del día en que fue realizado el análisis.

Evaluación del Efecto entre los Analistas y el Día en que fue realizado el análisis.

H_0 = No hay efecto entre los porcentos de recobro obtenido por los analistas en días diferentes.

H_A = Existe efecto entre los porcentos de recobro obtenido por los analistas en días diferentes.

Regla de decisión:

Si $F_3(\text{calc}) < F_3(\text{tab})$ no se rechaza H_0 y \therefore no existe diferencia entre los analistas y el día que fue realizada la determinación, sin embargo si $F_3(\text{calc}) \geq F_3(\text{tab})$ se rechaza H_0 y \therefore existe diferencia entre los analistas y el día que fue realizada la determinación.

$$F \left(0.05, \frac{\text{gl. numerador}}{\text{gl. denominador}} \right) = 5.32$$

Debido a que $0.0237 < 5.32$, no se rechaza H_0 , por lo que se considera que no existe efecto entre el analista y el día en que se realizó el experimento.

7.7 ESTABILIDAD DE LA MUESTRA "MATERIA PRIMA".

El cuadro No. 6 muestra los resultados de las tres muestras sometidas a tres diferentes condiciones y determinadas a tres tiempos diferentes.

TIEMPO	CONDICION		
	LUZ	OBSCURIDAD	REFRIGERACION
12 HORAS	99.22	99.90	98.31
	98.56	100.58	99.45
	100.08	99.60	100.54
	Σ 297.86	Σ 300.08	Σ 298.3
	\bar{X} 99.28	\bar{X} 100.02	\bar{X} 99.43
24 HORAS	93.33	99.62	100.58
	99.80	98.07	99.67
	98.15	99.63	97.37
	Σ 291.28	Σ 297.32	Σ 297.62
	\bar{X} 97.09	\bar{X} 99.10	\bar{X} 99.20
72 HORAS	96.46	99.80	99.35
	100.40	100.00	99.53
	99.28	99.70	99.96
	Σ 296.14	Σ 299.50	Σ 298.84
	\bar{X} 98.71	\bar{X} 99.83	\bar{X} 99.61

Cuadro No.6. Porcientos de recobro de las muestras a diferentes tiempos de la determinación.

Utilizando la fórmula 12 y 13 del anexo, se calculó los diferentes valores de t_0 (t de Dunnett) para las diferentes condiciones y diferentes tiempos observar cuadro No. 7.

TIEMPO	CONDICION		
	LUZ	OBSCURIDAD	REFRIGERACION
12 HORAS	-0.2489	0.0922	-0.1798
24 HORAS	-1.2588	-0.3319	-0.2858
72 HORAS	-0.5118	0.0046	-0.0968

Cuadro No.7. Resultados de t_D para los diferentes tiempos en la determinación de estabilidad de la muestra.

Evaluación de la estabilidad de la muestra:

H_0 : Hay estabilidad

H_a : No hay estabilidad

Regla de decisión:

Si $|t_D(\text{calc})| < t_D(\text{tab})$, la muestra es estable.

Si $|t_D(\text{calc})| \geq t_D(\text{tab})$, la muestra no es estable.

$$t_D(\text{tablas}) = 2.54$$

Como los valores obtenidos en el cuadro No. 7 son menores a 2.54, se considera que la muestra es estable a las condiciones sometidas hasta antes de 72 horas de haber sido preparada.

7.8 ESPECIFICIDAD FRENTE A EXCIPIENTES.

El cuadro No. 8 muestra la interpretación a las respuestas del activo, activo + excipientes y excipientes, después de realizadas las determinaciones para 6 muestras que fueron preparadas con base en lo descrito en la especificidad frente a excipientes (página 6).

MUESTRA	VOLUMEN CONSUMIDO $ZnSO_4$	COMPLEJO EDTA-ALUMINIO AlY^-	COMPLEJO EDTA-ZINC ZnY^{2-}
EXCIPIENTES	9.93	NO SE FORMO	SI SE FORMO
EXCIPIENTES	9.90	NO SE FORMO	SI SE FORMO
ACTIVO ($AlPO_4$)	5.23	SI SE FORMO	SI SE FORMO
ACTIVO ($AlPO_4$)	5.26	SI SE FORMO	SI SE FORMO
EXCIPIENTES+ $AlPO_4$	5.27	SI SE FORMO	SI SE FORMO
EXCIPIENTES+ $AlPO_4$	5.25	SI SE FORMO	SI SE FORMO

Cuadro No.8. Especificidad frente a excipientes, peso de fosfato de aluminio 352.5 mg.

Debido a que la reacción que se lleva a cabo entre el EDTA y el fosfato de aluminio es cuantitativa, al agregar un exceso de EDTA cierta cantidad de fosfato de aluminio reacciona con el EDTA formandose el complejo EDTA-ALUMINIO y el que se encuentra en exceso es valorado con solución de sulfato de zinc lo que trae consigo la formación del complejo EDTA-ZINC. Al no contener fosfato de aluminio la muestra, la cantidad en ml de sulfato de zinc sera igual a la cantidad en ml de EDTA agregados, en este caso solamente se forma el complejo EDTA-ZINC. Además se observa que la cantidad de $ZnSO_4$ consumido por el principio activo solo y el que contiene principio activo + excipiente es semejante, el cual indica que en ambos casos se formaron los dos compuestos complejométricos. Por lo que se considera que el método desarrollado es capaz de detectar la sustancia de interés (fosfato de aluminio) de las demás sustancias presentes.

7.9 LINEALIDAD DEL METODO PRODUCTO TERMINADO "FOSFAGEL".

A continuación se presentan los resultados en mg de las cantidades recuperadas en función de las cantidades adicionadas (cuadro No.9) en las muestras preparadas para determinar la linealidad del método producto terminado fosfagel.

mg (adicionados)	mg (recuperados)
345.6	344.1
344.2	342.9
344.5	343.6
	Σ 1030.6
323.0	320.4
317.4	319.7
317.9	329.0
	Σ 969.1
291.6	291.7
289.8	289.9
292.7	292.7
	Σ 874.3
260.2	258.9
265.8	264.3
258.8	256.6
	Σ 779.8
232.5	228.1
229.1	223.5
230.3	226.1
	Σ 677.7

Cuadro No.9. Resultados en mg recuperados para diferentes cantidades adicionadas en la linealidad del método producto terminado fosfagel.

Con los resultados del cuadro No. 9, se calcularon los siguientes datos.

Σx^2	1282383.9	Σy^2	1277415.2
Σx	4343.5	Σy	4330.9
\bar{x}	289.5	\bar{y}	288.7
Sx	41.9	Sy	43.8
Σxy	1279790.3	$\Sigma y.$	3831944.2

Conforme a las fórmulas 1, 2, y 3 del anexo, se calculó la pendiente (m), la ordenada al origen (b) y el coeficiente de regresión (r).

$$m = 1.0427$$

$$b = -13.232$$

$$r = 0.9997$$

Evaluación de la linealidad del sistema :

H_0 = No existe dependencia de la cantidad recuperada con respecto a la cantidad agregada.

H_a = Existe dependencia de la cantidad recuperada con respecto a la cantidad agregada.

La siguiente tabla de ANDEVA muestra los valores obtenidos a partir de la tabla I del anexo

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	"F" DE CALCULO	"F" DE TABLAS
REGRESION	1	26467.986	26467.986	686.927	F_1 9.07
ERROR DE REGRESION	13	500.913	38.531		
FALTA DE AJUSTE	3	400.458	133.486	13.288	F_2 3.71
ERROR PURO	10	100.454	10.045		
TCM	14	26968.9			

Tabla de ANDEVA para evaluar la linealidad del método producto terminado fosfagel.

Con los datos anteriores calculamos r^2 conforme a la fórmula 4 del anexo.

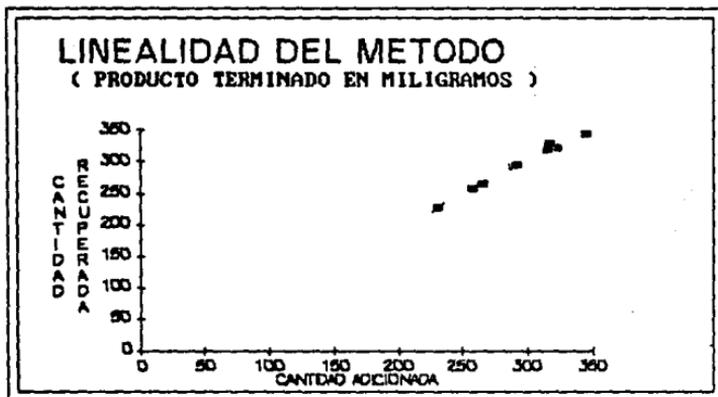
$$r^2 = 0.9814$$

Regla de decisión.

Si $F_1(\text{calc}) \geq F_1(\text{tab})$ se rechaza H_0 y \therefore existe una dependencia entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada. Sin embargo si $F_1(\text{calc}) < F_1(\text{tab})$, no se rechaza H_0 y \therefore no existe dependencia entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada.

$$F \left(0.01, \frac{\text{gl. numerador}}{\text{gl. denominador}} \right) = 9.07$$

Debido a que $686.9270 > 9.07$, se rechaza H_0 y se considera que existe una relación entre la variable cantidad adicionada y la variable cantidad recuperada como puede observarse en la gráfica III.



Gráfica No. III. Grado de relación del Método producto Terminado "FOSFAGEL" en un rango en peso que va del 80% al 120% de la cantidad que normalmente cuantifica el Método General II.

Evaluación del Comportamiento del Modelo

- H_0 = El modelo de regresión lineal simple describe adecuadamente la relación entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada.
- H_a = El modelo de regresión lineal simple no describe adecuadamente la relación entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada.

Regla de decisión.

Si $F_{2(\text{calc})} < F_{2(\text{tab})}$ no se rechaza H_0 y \therefore El modelo describe adecuadamente la relación entre la cantidad adicionada y la recuperada. Sin embargo, si $F_{2(\text{calc})} \geq F_{2(\text{tab})}$, se rechaza H_0 y \therefore El modelo no describe adecuadamente la relación entre la cantidad adicionada y recuperada, es decir existe una falta de ajuste del modelo para explicar la variabilidad de los datos.

$$F \left(0.01, \frac{\text{gl. numerador}}{\text{gl. denominador}} \right) = 3.71$$

$12.28 > 3.71$ se rechaza H_0 y se considera que el modelo no describe la relación entre la cantidad adicionada y la recuperada. Sin embargo, con base en el criterio establecido por la Secretaría de Salud, que indica que el resultado obtenido de la prueba del coeficiente de determinación (r^2) debe ser mayor o igual a 0.98, y dado que el valor obtenido de $r^2 = 0.9814$ para este caso en particular, se considera que no hay falta de ajuste con base en dicho criterio.

Para determinar si la ordenada al origen es cero:

$$H_0 : B = 0$$

$$H_a : b \neq 0$$

El modelo probabilístico empleado es la "t" de Student y de acuerdo a la fórmula 5 y 6 del anexo se obtiene :

$$t_{(\text{calc})} = | -1.5185 | , \quad t_{(\text{tab})} = t_{(n-2, 0.975)} = 2.1604$$

Regla de decisión :

Si $t_{(calc)} < t_{(tab)}$ no se rechaza H_0 .

Si $t_{(calc)} > t_{(tab)}$ se rechaza H_0 .

Debido a que $|1.5185| < 2.1604$, no se rechaza H_0 , se considera que el sistema de medición tiene una ordenado al origen que tiende a cero.

Para determinar si la pendiente es uno:

$$H_0 : m = 1$$

$$H_a : m \neq 1$$

El modelo probabilístico empleado, es la "t" de Student y de acuerdo a la fórmula 5, 6 y 9 del anexo se obtiene:

$$t_{(calc)} = 1.4313, \quad t_{(tab)} = t_{(n-2, 0.975)} = 2.1604$$

Regla de decisión :

Si $t_{(calc)} < t_{(tab)}$ no se rechaza H_0 .

Si $t_{(calc)} > t_{(tab)}$ se rechaza H_0 .

Debido a que $1.4313 < 2.1604$, no se rechaza H_0 , se considera que el sistema de medición tiene una pendiente que tiende a uno.

7.10 EXACTITUD DEL METODO PRODUCTO TERMINADO "FOSFAGEL".

En el cuadro No. 10 se muestran los porcentos de recobro de las 10 muestras evaluadas.

muestra	m i l i g r a m o s		porcentaje de recobro
	adicionados	recuperados	
1	299.6	299.9	100.08
2	301.1	299.5	99.46
3	290.1	289.7	99.86
4	296.6	297.8	100.40
5	294.9	292.8	99.28
6	288.5	288.1	99.86
7	302.7	315.4	104.20
8	301.9	303.6	100.58
9	288.6	288.3	99.91
10	287.4	287.2	99.91

Cuadro No.10. Resultados en porcentaje de recobro para la evaluación de la exactitud del método producto terminado fosfagel.

Con los resultados del cuadro No. 10 se calcularon los siguientes datos:

Σx^2	100727.000
Σx	1003.540
\bar{x}	100.354
S_x	1.404

Evaluación de la exactitud del método:

$$H_0 : \mu = 100 \%$$

$$H_a : \mu \neq 100 \%$$

El modelo probabilístico empleado, para evaluar la exactitud del método es la "t" de Student y se calculó usando la fórmula 10 del anexo:

$$t_{(calc)} = 0.7970, \quad t_{(tab)} = t_{(n-1, 0.975)} = 2.26$$

Regla de decisión :

$$\text{Si } t_{(calc)} < t_{(tab)} \quad \text{no se rechaza } H_0.$$

$$\text{Si } t_{(calc)} > t_{(tab)} \quad \text{se rechaza } H_0.$$

Debido a que $0.7970 < 2.26$, no se rechaza H_0 , se considera que el método es exacto.

El intervalo de confianza del porcentaje recuperado se calculó mediante la fórmula 11 del anexo y su resultado es:

$$\text{Límite Inferior} = 99.35\%$$

$$\text{Límite Superior} = 101.36\%$$

7.11 PRECISION DEL METODO PRODUCTO TERMINADO "FOSFAGEL".

Con los resultados del cuadro No.10, se procedió a evaluar la precisión del método.

Evaluación de la precisión del método:

$$H_0 : \sigma \leq 2 \%$$

$$H_a : \sigma > 2 \%$$

El modelo probabilístico empleado, para evaluar la precisión del método es la " λ^2 " o chi-cuadrada y se calculó usando la fórmula 14 del anexo:

$$\lambda^2_{(calc)} = 3.1601, \quad \lambda^2_{(tab)} = \lambda^2_{((n-1), 0.975)} = 19.0$$

Regla de decisión :

Si $\lambda^2_{(calc)} < \lambda^2_{(tab)}$ no se rechaza H_0 y \therefore se considera que el método es preciso con un coeficiente de variación menor o igual al que se fija. Sin embargo si $\lambda^2_{(calc)} \geq \lambda^2_{(tab)}$ se rechaza H_0 y \therefore el método no es preciso.

Debido a que $3.1601 < 19.0$, no se rechaza H_0 , se considera que el método es preciso.

El intervalo de confianza ($I\sigma$) del porciento recuperado se calculó mediante la fórmula 15 del anexo y su resultado es:

$$\text{Límite Inferior} = 0.8516\%$$

$$\text{Límite Superior} = 0.9483\%$$

7.12 REPRODUCIBILIDAD DEL METODO PRODUCTO TERMINADO "FOSFAGEL".

El determinar si existe efecto por parte de los analistas y los días en que se realizó el experimento, da los lineamientos para deducir si el método es reproducible. La evaluación se realizó con los datos del cuadro No.11.

	ANALISTA 1	ANALISTA 2	
DIA 1	98.86	98.42	
	100.93	98.17	
	102.16	100.04	
	301.95	296.63	598.58
DIA 2	98.73	100.15	
	100.49	103.18	
	100.60	99.62	
	299.82	302.95	602.77
	601.77	599.58	1201.35

Cuadro No.11. Resultados del % de recobro realizado por dos analistas en dos días diferentes.

La siguiente tabla de ANADEV A presenta los valores para la evaluación de la reproducibilidad del método, obtenidos a partir de la tabla II del anexo.

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	"F" DE CALCULO	"F" DE TABLAS
ANALISTA	1	0.40	0.40	0.1860	F ₁ 5.32
DIA	1	1.46	1.46	0.6790	F ₂ 5.32
ANALISTA DIA	1	6.35	6.35	2.9530	F ₃ 5.32
ERROR	8	17.20	2.15		

Tabla de ANADEV A se presentan los valores de las F para evaluar la precisión del método producto terminado "fosfagel".

Evaluación del efecto entre analistas

H_0 = No hay diferencia en el porcentaje de recobro obtenido entre los analistas.

H_a = Existe diferencia en el porcentaje de recobro obtenido entre los analistas.

Regla de decisión:

Si $F_1(\text{calc}) < F_1(\text{tab})$ no se rechaza H_0 y \therefore no existe diferencia en los porcentajes de recobro obtenido por cada analista. Sin embargo si $F_1(\text{calc}) \geq F_1(\text{tab})$ se rechaza H_0 y \therefore existe diferencia en los porcentajes de recobro obtenidos por cada analista.

$$F \left(0.05, \frac{\text{gl. numerador}}{\text{gl. denominador}} \right) = 5.32$$

Debido a que $0.1860 < 5.32$, no se rechaza H_0 y se considera que no existe diferencia en los porcentajes de recobro obtenidos por los analistas.

Evaluación del efecto entre los Días en que se realizó la determinación.

H_0 = No hay diferencia en el porcentaje de recobro obtenido en los diferentes días.

H_a = Si hay diferencia en el porcentaje de recobro obtenido en los diferentes días.

Regla de decisión:

Si $F_2(\text{calc}) < F_2(\text{tab})$, no existe diferencia en los porcentos de recobro obtenidos entre el primero y segundo día en que se realizó la determinación, sin embargo si $F_2(\text{calc}) > F_2(\text{tab})$, existe efecto en los porcentos de recobro obtenidos entre el primero y segundo día que se realizó la determinación.

$$F \left(0.05, \frac{\text{gl. numerador}}{\text{gl. denominador}} \right) = 5.32$$

$0.6790 < 5.32$, no se rechaza H_0 , por lo que se considera que no existe efecto por parte del día en que fue realizado el análisis.

Evaluación del Efecto entre los Analistas y el Día en que fue realizado el análisis.

H_0 = No hay efecto entre los porcentos de recobro obtenido por los analistas en días diferentes.

H_a = Existe efecto entre los porcentos de recobro obtenido por los analistas en días diferentes.

Regla de decisión:

Si $F_2(\text{calc}) < F_2(\text{tab})$ no se rechaza H_0 y \therefore no existe diferencia en los porcentos de recobro obtenidos entre el primero y segundo día en que se realizó la determinación, sin embargo si $F_2(\text{calc}) \geq F_2(\text{tab})$ se rechaza H_0 y \therefore existe efecto en los porcentos de recobro obtenidos entre el primero y segundo día que se realizó la determinación.

$$F \left(0.05, \frac{\text{gl. numerador}}{\text{gl. denominador}} \right) = 5.32$$

2.9530 < 5.32, no se rechaza H_0 , por lo que se considera que no existe efecto por parte del día en que fue realizado el análisis.

7.13 ESTABILIDAD DE LA MUESTRA PRODUCTO TERMINADO "FOSFAGEL".

El cuadro No.12 muestra los resultados de tres muestras sometidas a tres diferentes condiciones y determinadas a tres tiempos diferentes.

TIEMPO	CONDICION		
	LUZ	OSCURIDAD	REFRIGERACION
12 HORAS	100.43	100.24	99.71
	99.84	99.51	99.66
	99.97	97.11	99.18
	Σ 300.24	Σ 296.86	Σ 298.55
	\bar{X} 100.08	\bar{X} 98.95	\bar{X} 99.51
24 HORAS	99.74	99.86	99.85
	99.95	100.40	99.42
	99.42	99.28	98.98
	Σ 299.11	Σ 299.54	Σ 298.25
	\bar{X} 99.70	\bar{X} 99.86	\bar{X} 99.41
72 HORAS	99.37	99.86	99.61
	99.75	99.46	99.75
	99.90	100.08	99.85
	Σ 299.02	Σ 299.40	Σ 299.21
	\bar{X} 99.67	\bar{X} 99.80	\bar{X} 99.73

Cuadro No.12. Porcientos de recobro de las muestras a diferentes tiempos de la determinación.

Utilizando la fórmula 12 y 13 del anexo, se calculó los diferentes valores de t_0 (t de Dunnett) para las diferentes condiciones y diferentes tiempos observar cuadro No. 13.

TIEMPO	CONDICION		
	LUZ	OBSCURIDAD	REFRIGERACION
12 HORAS	0.2896	-0.9693	-0.3454
24 HORAS	-0.1337	0.0222	-0.4568
72 HORAS	-0.1671	-0.0222	-0.1002

Cuadro No.13. Resultados de t_0 para los diferentes tiempos de determinación de la muestra.

Evaluación de la estabilidad de la muestra:

H_0 : Hay estabilidad

H_a : No hay estabilidad

Regla de decisión:

Si $|t_0(\text{calc})| < t_0(\text{tablas})$, la muestra es estable

Si $|t_0(\text{calc})| > t_0(\text{tablas})$, la muestra no es estable

$$t_0(\text{tablas}) = 2.54$$

Como los valores obtenidos en el cuadro No.14 son menores a 2.54, se considera que la muestra es estable a las condiciones sometidashasta antes de 72 horas de haber sido preparadas

8. ANALISIS DE RESULTADOS.

Linealidad del sistema. Un sistema de medición es lineal si su representación gráfica se aproxima a una línea recta, su coeficiente de correlación tiende a uno, y si su ordenada al origen es igual a cero. Al observar la gráfica No. I y al efectuar el análisis estadístico se observa que el sistema de medición tiene un coeficiente de correlación (r) de 0.9963 y una ordenada al origen (b) que se considera cero. Por lo que el sistema de medición es lineal según los criterios establecidos por la Ley de Salud (8).

Precisión del sistema. Se considera que el método de medición es preciso si el coeficiente de variación es menor a 1.5%. Al realizar el análisis estadístico, el valor de éste es igual a 0.5642; por lo que se considera preciso.

Linealidad del método (materia prima). La gráfica No. II muestra el trazo de la línea recta obtenida para la evaluación de linealidad del método (materia prima), al realizar el análisis estadístico se obtiene que el método de medición tiene una $r = 0.9989$, una $b = 4.7709$ y una $m = 0.9880$, bajo los criterios anteriormente descritos al evaluar la linealidad del sistema, se considera que el método de medición para cuantificar materia prima es lineal.

Exactitud del método (materia prima). En el cuadro No.4 se muestran los porcentos de recobro obtenidos para las 10 muestras evaluadas, con base en éstos se considera que el método de medición es exacto, debido a que se obtuvo porcentos de recobro en un intervalo menor al permitido para materia prima.

Precisión del método (materia prima). Los estatutos de la Ley de Salud indican que cuando la variabilidad entre varias determinaciones es menor al 2%, el método debe considerarse como preciso, por lo que al realizar el análisis estadístico se observa que la muestra cumple con esa condición.

Reproducibilidad del método (materia prima). La determinación fue realizada por dos analistas en dos días diferentes; los resultados obtenidos se presentan en el cuadro No. 5, el cual permite afirmar que el método para cuantificar fosfato de aluminio (materia prima) es reproducible.

Estabilidad de la muestra (materia prima). El cuadro No.7 presenta los % de recobro en los diferentes tiempos y condiciones de almacenaje a las que fue sometida la muestra. Se observa que los porcentajes recuperados son homogéneos, al evaluar las desviaciones estándar, se denota que son muy pequeñas por lo que se considera que método de medición para cuantificar materia prima es estable hasta antes de 72 horas de haber sido preparada.

Especificidad frente a excipientes. El método es específico si es capaz de detectar únicamente el principio activo más no los excipientes. En el cuadro No.8 se presentan los resultados obtenidos al evaluar dos muestras que contenían sólo los excipientes, dos que contenían sólo el principio activo y dos que contenían el principio activo más los excipientes; de lo cual se considera que no existe interferencia entre el principio activo y los excipientes; por lo que el método es específico para determinar la cantidad de fosfato de aluminio presente en la muestra farmacéutica.

Linealidad del método (producto terminado). La gráfica No.III describe el comportamiento de las muestras y el sistema de medición, el cual es de una línea recta. Al realizar el análisis estadístico se obtuvo una $r = 0.9997$ una $b = -13.232$ y una $m = 1.0427$. Bajo los criterios de aceptación establecidos por la ley de Salud para su evaluación, el método se considera lineal.

Exactitud del método (producto terminado). De acuerdo a los porcentos de recobro obtenidos y al realizar el análisis estadístico, se determinó que los porcentos de recobro son menores a los establecidos para esta forma farmacéutica. Por lo que el método se considera exacto.

Precisión del método (producto terminado). Al realizar el análisis estadístico se observa que la variabilidad es menor al 2%, por lo que el método se considera preciso según lo especificado en la Ley de Salud.

Reproducibilidad del método (producto terminado). La determinación fue semejante a la realizada cuando se determinó la precisión del método materia prima. En el cuadro No.11 se presentan los porcentos de recobro obtenido por los dos analistas en dos días diferentes, se observa que los porcentos de recobro obtenidos por ambos analistas son semejantes, por lo que no existe efecto en que uno u otro analista realice el análisis en dos días diferentes.

Estabilidad de la muestra (producto terminado). El cuadro No.13 muestra los porcentos de recobro obtenidos para cada muestra sometida a diferentes condiciones tiempo-temperatura. Al analizar los resultados se establece que después de 72 horas de haber sido preparada la muestra sigue siendo estable, debido a que la t de Dunnett calculada para cada tiempo y condición es menor a la t de Dunnett de tablas.

Asimismo no fue necesario usar un estándar ya que la reacción que se lleva a cabo es cuantitativa, al valorar la materia prima se tiene un dato de referencia para realizar los cálculos respectivos. No se requiere evaluar la exactitud del método materia prima debido a que ésta se obtiene automáticamente al evaluar la exactitud del sistema.

9. CONCLUSIONES.

En base a la investigación realizada y a las modificaciones que se le hicieron al método analítico original se concluye lo siguiente:

El ácido etilendiaminotetracético forma complejos con estequiometría 1:1 con varios metales de esta manera se cuantificó la cantidad de fosfato de aluminio presente en la muestra farmacéutica.

El método analítico volumétrico que determina fosfato de aluminio (materia prima), es válido bajo las condiciones que se determinaron en esta investigación.

El método analítico volumétrico que determina fosfato de aluminio (producto terminado) es válido bajo las condiciones que se determinaron en la investigación.

La valoración de las soluciones de EDTA 0.1M y $ZnSO_4$ 0.1M que se utilizaron para la determinación de fosfato de aluminio (reacción por retroceso), no se valoraron en el titulador automático sino manualmente (VALORACION SEGUN LA USP XXI), debido a que se desconocen las características que deben definirse en la configuración del titulador.

Al no adicionar indicador y alcohol a la muestra se obtiene una importante disminución en el costo del proceso de análisis.

El utilizar el titulador automático, permite realizar el proceso de análisis con mayor rapidez que en forma manual, obteniendo con ello un alto índice de eficiencia en el manejo de recursos durante el proceso de análisis.

La muestra es estable y que puede valorarse hasta antes de 72 horas de haber sido preparada, almacenándola a temperatura ambiente.

Dentro de esta investigación se obtuvo como resultado en cuanto a la titulación de la primera muestra, una valoración muy baja por lo que se recomienda preparar al menos tres muestras para una lectura más real de la valoración.

El electrodo amalgamado sufre desgaste del recubrimiento de mercurio que posee, ya que el mercurio de la amalgama forma el complejo Mercurio-EDTA, la concentración de dicho complejo es despreciable con respecto a la concentración del complejo Zn^{++} -EDTA.

Cabe señalar que este método puede ser desarrollado aún más en la medida en que aparezca nueva tecnología, así como nuevos métodos analíticos, lo cual coadyuvará en la optimización del uso de los recursos y procedimientos para la Industria Farmacéutica, así como para que el egresado de esta carrera tenga conocimiento de lo que sucede en la práctica y le sirva de actualización.

10. RECOMENDACIONES

Debe tenerse cuidado con el electrodo (amalgamado), debido a que éste se deteriora por la presencia de bases fuertes y peróxidos. Se consideró que el electrodo debe amalgamarse cada 20 determinaciones en promedio.

Siempre que se titula la primera muestra la valoración es muy baja, por lo cual debe tenerse cuidado y preparar tres muestras, para desechar la lectura de la primera muestra.

11. APENDICE.

$$m = \frac{(n \sum x_i y_i) - (\sum x_i)(\sum y_i)}{n (\sum x_i^2) - (\sum x_i)^2} \quad (1)$$

$$b = \frac{(\sum y_i + \sum x_i^2) - (\sum x_i + \sum x_i y_i)}{(n + \sum x_i^2) - (\sum x_i)^2} \quad (2)$$

$$r = \frac{(n \sum x_i y_i) - (\sum x_i + \sum x_i y_i)}{[(n \sum x_i^2) - (\sum x_i)^2] [(n \sum y_i^2) - (\sum y_i)^2]} \quad (3)$$

$$r^2 = \frac{SC_r}{SC_{TMC}} \quad (4)$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum Y^2 - A (\sum Y^2) - B (\sum XY)}{n}} \quad (5)$$

$$\hat{S}_{y/x} = \sqrt{\frac{n}{n-1}} S_{y/x} \quad (6)$$

$$t_{cal} = \frac{a - A_0}{\hat{S}_{y/x} \sqrt{\frac{\sum X_i^2}{n \sum (X_i - \bar{X})^2}}} \quad (7)$$

$$DER = \frac{S}{\bar{x}} \cdot 100 \quad (8)$$

$$t_{cal} = \frac{b - B_0 S_x + \sqrt{n-1}}{\hat{S}_{y/x}} \quad (9)$$

$$t_{cal} = \frac{\mu - \mu_0}{S/\sqrt{n}} \quad (10)$$

$$IC = \bar{Y} \pm t(n-1, 0.975) S/\sqrt{10} \quad (11)$$

$$t_D = \frac{\bar{Y}_c - Y_t}{[MCE(2/r)]^2} \quad (12)$$

$$MCE = \frac{SCe}{t(r-1)} \quad (13)$$

$$\lambda_{(cal)}^2 = \frac{(n-1)(S^2)}{\sigma^2} \quad (14)$$

$$I\sigma = \sqrt{\frac{(n-1)(S^2)}{\lambda_{(1-\alpha/2)}^2}} < \sigma < \sqrt{\frac{(n-1)(S^2)}{\lambda_{(1-\alpha/2)}^2}} \quad (15)$$

TABLA I DE ANADEVA.

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	"F" DE CALCULO	"F" DE TABLAS
REGRESION	-9-	-1-	-5-	-13-	-15-
ERROR DE REGRESION	-10-	-2-	-6-		
FALTA DE AJUSTE	-11-	-4-	-7-	-14-	-16-
ERROR PURO	-12-	-3-	-8-		
TMC	-17-	-18-			

$$1. SC_{(REGRESION)} = m (\sum XY) + b (\sum Y) - ((\sum Y)^2/n)$$

$$2. SC_{(ERROR DE REGRESION)} = \sum Y^2 - m (\sum XY) - b (\sum Y)$$

$$3. SC_{(ERROR PURO)} = \sum Y^2 - ((\sum Y_{i+})^2/r)$$

$$4. SC_{(FALTA DE AJUSTE)} = SC_{(ERROR DE REGRESION)} - CS_{(ERROR PURO)}$$

$$5. MC_{(REGRESION)} = \frac{SC_{(REGRESION)}}{gl_{(REGRESION)}}$$

$$6. MC_{(ERROR DE REGRESION)} = \frac{SC_{(ERROR DE REGRESION)}}{gl_{(ERROR DE REGRESION)}}$$

7. $MC_{(FALTA DE AJUSTE)} = \frac{SC_{(FALTA DE AJUSTE)}}{gl_{(FALTA DE AJUSTE)}}$
8. $MC_{(ERROR PURO)} = \frac{SC_{(ERROR PURO)}}{gl_{(ERROR PURO)}}$
9. $gl_{(REGRESION)} = (P - 1)$
 DONDE "P" ES EL NUMERO DE PARAMETROS A EVALUAR.
10. $gl_{(ERROR DE REGRESION)} = (n - 2)$
 DONDE "n" ES EL NUMERO TOTAL DE OBSERVACIONES O DATOS.
11. $gl_{(FALTA DE AJUSTE)} = (n - 2) - t(r - 1)$
 DONDE "t" ES EL NUMERO DE TRATAMIENTOS Y "r" EL NUMERO DE REPLICACIONES.
12. $gl_{(ERROR PURO)} = t(r - 1)$
13. F DE CALCULO PARA LA REGRESIÓN.
 $F_{(calculo)} = \frac{MC_{(REGRESION)}}{MC_{(ERROR DE REGRESION)}}$
14. F DE CALCULO PARA LA FALTA DE AJUSTE.
 $F_{(calculo)} = \frac{MC_{(REGRESION)}}{MC_{(ERROR DE REGRESION)}}$
15. F DE TABLAS PARA LA REGRESION.
 $F(gl_{(REGRESION)}, gl_{(ERROR DE REGRESION)}, 0.99)$
16. F DE TABLAS PARA EL ERROR DE REGRESION.
 $F(gl_{(FALTA AJUSTE)}, gl_{(ERROR PURO)}, 0.95)$
17. $gl_{(TCM)} = (n - 1)$
 Donde "n" es el número total de observaciones o Datos.
18. $SC_{(TCM)} = \sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n}$
 Donde TCM = Total corregido por la media.

TABLA II DE ANADEVIA.

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	"F" DE CALCULO	"F" DE TABLAS
ANALISTA	a - 1	FORMULA 1	$SC_{(A)}/g \cdot 1_A$	MC_A / MC_D	$1 - \alpha/2$ 0.95
DIA	d - 1	FORMULA 2	$SC_{(D)}/g \cdot 1_D$	MC_D / MC_E	$1 - \alpha/2$ 0.95
ANALISTA DIA	(a-1)(d-1)	FORMULA 3	$SC_{(AD)}/g \cdot 1_{AD}$	MC_{AD} / MC_E	
ERROR	(r-1)(ad)	FORMULA 4	$SC_{(E)}/g \cdot 1_E$		

$$1. \frac{\sum Y_i^2}{br} - \frac{\sum Y^2 \dots}{bra}$$

$$2. \frac{\sum Y_{.j.}}{ar} - \frac{\sum Y^2 \dots}{bra}$$

$$3. \frac{\sum \sum Y_{ij.}^2}{r} - \frac{\sum Y_{.j.}}{ar}$$

$$4. \sum \sum \sum Y_{ijk}^2 - \frac{\sum \sum Y_{ij.}^2}{r}$$

d = No. total de días de análisis

a = No. de analistas.

r = No. de replicaciones

12. PREPARACION DE SOLUCIONES.

Acido clorhídrico diluido 10%

Transferir 500 ml de agua fría en un matraz volumétrico de 1000 ml y agregar lentamente 226 ml de ácido clorhídrico concentrado, enfriar y aforar con agua destilada. (19)

Solución amortiguadora o buffer pH 4.5

Pesar 6.8 g de fosfato monobásico de potasio, disolverlos en 700 ml de agua ajustar el pH a 4.5 con solución de hidróxido de sodio 0.2 N y aforar a 1000 ml con agua destilada. (19)

Solución valorada de EDTA 0.1 M

Disolver 37.224 g de EDTA en agua y llevar a un volumen de 1000 ml con agua destilada.

Valoración. Pesar exactamente 200 mg de estandar de referencia de carbonato de calcio (CaCO_3) y transferirlos a un matraz erlenmeyer de 400 ml, agregar 10 ml de agua destilada y agitar, cubrir el matraz con un vidrio de reloj, agregar 2 ml de ácido clorhídrico diluido de tal forma que resbalen por las paredes, agitar para disolver el carbonato de calcio, lavar las paredes del matraz con agua destilada y también el vidrio de reloj, agregar 100 ml de agua, mientras la solución se agita agregue 30 ml de la solución de EDTA con una bureta. Agregue 15 ml de hidróxido de sodio y con la punta de una espátula agregue el indicador azul de hidroxinaftol y continúe con la titulación de la solución hasta el vire de color del indicador a azul. (19)

$$M = \frac{m}{100.09 \cdot V}$$

Donde m = Peso de CaCO_3 en mg

V = Volumen de EDTA consumido.

Hidróxido de sodio 40%

Disolver 4.0 g de hidróxido de sodio en agua, y aforar a 100 ml con agua destilada.(19)

Sulfato de zinc 0.1 M

Disolver 28.744 g de sulfato de zinc y llevar a un volumen de 100 ml con agua destilada.

Valoración. Medir exactamente 10 ml EDTA en un matraz de 125 ml, adicionar 10 ml de buffer de acetato de amonio-ácido acético TS, 50 ml de alcohol y 2 ml de ditizona TS en ese orden. Titular la solución clara de sulfato de zinc hasta el vire de color del indicador a color rosa.(19)

Buffer ácido acético-acétato de amonio

Disolver 77.1 g de acétato de amonio en agua, adicionar 57 ml de ácido acético glacial y diluir con agua destilada a 100 ml.(19)

Ditizona SR

Disolver 25.6 mg de ditizona en 100 ml de alcohol; guardar en un lugar frío. Se descompone después de 3 meses.(19)

13. BIBLIOGRAFIA

1. GUERRA, J. "Validation of Analytical Methods by FDA Laboratories". Pharm. Tech. 10 (3) 1986.
2. TAYLOR, J. "Validation of Analytical Methods". Anal. Chem. 55. (6). 1981. Página. 600A.
3. TAYLOR, J. "Quality Assurance". Anal. Chem. 53. (14). 1981. Página. 1588A.
4. PHARMACEUTICAL MANUFACTURERS ASSOCIATION. "Current Concepts For Ther Validation Of Compedal Assays". Pharmaceutical Forum. 1986. Página. 1241-1245.
5. A F M "Taller de Validación" A F M 1987.
6. PUVE UNIVERSITY. "Validation Concepts Proceedings Of Management Conference For Pharmaceutical Industry". West Lafye Indiana, USA. 1987.
7. RODRIGUEZ, R. "Vanadécum Académico de Medicamentos". Tomo I, UNAM México 1984. Página XIII, 9.
8. "Diario Oficial de la Federación". Tomo CDXII, No. 11. México D.F., Lunes 18 de Enero de 1988.
9. KEKKETH A. CONNORS, "Curso de análisis Farmacéutico", Barcelona 1981, Páginas 1-103.
10. FERNANDO OROZCO D., "Análisis Químico Cuantitativo", México 1979, Páginas 283-198.
11. DONALD J. PIETRZYK, CLYDE W. FRANK, "Química Análitica, México 1983, Páginas 327-356.
12. GILBERT H. AYRES, "Análisis Químico Cuantitativo", México 1983, Páginas 365-367.

13. ESTUDEMULTICENTRIQUE "Etude de la Protection par le Phosphate D'aluminium, de la Symptomatology Digestive Fonctionnelle Secondaire a la Prise des Anti-Inflammatoires non Steroidiens." Gazette Medicale de France Tome 89 No. 35 1982.
14. AIBIN, H., G VICONET CULS. "Influence D'un antialide sur la Biodisponibilidad de Cimetidine". Titerapic 37, Páginas.563-566 1982.
15. STEINBERG W. M.G Y ET AL "Antiacids Inhibit Absorption of Cimetidine". The New Englano Journal of Medicine, Aug 12, Vol. No.7, Páginas. 400-404, 1982.
16. J. GUERRE, F. PERGOLA."Ende Histo-Enzymatique de L'effet su Pitosfata D'aluminium sur la Muqueuse gastrique.La nouvelle press medicale, 6 December 1980, 9. No. 46. Páginas 3525.
17. FLASCHKA H.A. "Química analítica cuantitativa volumen II", México 1973, Páginas. 119-121 y 158-160.
18. MARIO GUTIERREZ CONTRERAS "Manual de análisis Cuantitativo", Escuela Superior de Ingenieria Química e Industrias Extractivas, (IPN), México. Páginas 335-364.
19. FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS "The United Pharmacopeia. 21th. ed USA 1985.
20. RDHWAY, N. J. "The Merck Index an Encyclopedia of Chemicals An Drugs". Chemical Dictionary Hackh's, Mcgraw-Hill. USA 1976.
21. LOUIS S. GOODMAN, AFRED GILMAN "Bases Farmacológicas de la Terapéutica. México. D. F. Páginas 803-815.
22. COMISION INTERINSTITUCIONAL DE PRACTICAS ADECUADAS DE MANUFACTURA, "Guía de Procedimientos Adecuados de Manufactura Farmacéutica. México D. F. 1986.

23. BARGALLO, MODESTO "Tratado de Química Inorgánica Fundamental y Sistemática". México D. F. Páginas 241-250.

24. KENNETH A. CONNORS "A Textbook of Pharmaceutical Analysis". New York 1975. Página 143,144.

25. DOUGLAS A. SKOOG, DONALD M. WEST "Análisis Instrumental". México 1975, página 452-454.