



121
201.
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

DESARROLLO Y VALIDACION DE UN METODO
ANALITICO POR COMPLEJOMETRIA, PARA LA
CUANTIFICACION DE ALUMINIO, MAGNESIO Y
CALCIO EN UN MEDICAMENTO ANTIACIDO
(SUSPENSION Y TABLETAS)

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A
SIMON JULIAN RODRIGUEZ CRUZ



MEXICO, D. F.

1993

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.

CONTENIDO.

Capítulo:	página
1. INTRODUCCION	1
2. GENERALIDADES	
2.1. Monografías:	
2.1.1. Hidróxido de aluminio	5
2.1.2. Gel seco de hidróxido de aluminio	6
2.1.3. Gel de hidróxido de aluminio	6
2.1.4. Hidróxido de magnesio	7
2.1.5. Carbonato de calcio	8
2.2. Medicamentos antiácidos	9
2.3. Suspensiones orales	12
2.4. Tabletas	13
2.5. Métodos volumétricos de análisis	16
2.6. Valoraciones complejométricas	21
2.7. Métodos alternativos de cuantificación	32
2.8. Desarrollo y validación de métodos analíticos	33

3. PARTE EXPERIMENTAL Y RESULTADOS

3.1. Desarrollo y optimización del método	44
3.2. Método propuesto.	
3.2.1. Determinación de aluminio	55
3.2.2. Determinación de magnesio	56
3.2.3. Determinación de calcio	57
3.3. Validación del método para la suspensión.	
3.3.1. Especificidad del método	59
3.3.2. Linealidad del sistema	60
3.3.3. Precisión del sistema	67
3.3.4. Linealidad y exactitud del método	69
3.3.5. Precisión del método	76
3.3.6. Estabilidad de la muestra	77
3.3.7. Análisis de resultados	79
3.4. Validación del método para las tabletas.	
3.4.1. Método propuesto	82
3.4.2. Especificidad del método	85
3.4.3. Linealidad y exactitud del método	86
3.4.4. Precisión del método	94
3.4.5. Estabilidad de la muestra	95
3.4.6. Análisis de resultados	97

Capítulo:

página

4. CONCLUSIONES

100

5. BIBLIOGRAFIA

101

CAPITULO UNO

INTRODUCCION

1. INTRODUCCION

La validación de métodos analíticos es de vital importancia durante las diferentes etapas en la vida de un medicamento, iniciándose en el desarrollo del producto, continuando en producción y posteriormente en la validación del proceso.

Durante el desarrollo de un producto nuevo, una de las fases importantes es sin duda alguna el desarrollo y validación del método analítico, que se utilizará para cuantificar al principio activo o alguna otra sustancia de interés.

El método desarrollado debe ser confiable para monitorear la estabilidad del producto y para evaluarlo en los graneles y en el producto terminado cuando se lleve a la etapa de fabricación a niveles de producción.

En el presente trabajo se muestra el desarrollo y la validación de un método analítico para cuantificar aluminio, magnesio y calcio en un producto antiácido nuevo (suspensión y tabletas masticables).

El método está basado en el reportado en la USP XXII en lo que respecta a la preparación de la muestra y la determinación de aluminio. Para la determinación de magnesio y calcio fue necesario proponer un método diferente al que aparece en la USP XXII, porque se presentaron problemas para la cuantificación de estos.

La confiabilidad se determinó mediante la validación, en la cual se efectuaron las siguientes pruebas y experimentos:

Especificidad del método.

Linealidad del sistema

Precisión del sistema
Linealidad del método
Exactitud del método
Precisión del método
Estabilidad de la muestra

El método modificado y optimizado es aplicable tanto en los estudios de estabilidad, como para los análisis de control de calidad en el producto intermedio y final.

CAPITULO DOS

GENERALIDADES

2. GENERALIDADES

2.1 MONOGRAFÍAS

2.1.1. HIDROXIDO DE ALUMINIO (II)

- Nombre químico y sinónimos.

Aluminio hidratado; aluminio trihidratado; alumina hidratada.

- Fórmula desarrollada y condensada.

$Al(OH)_3$

- Peso molecular.

78.00

- Descripción.

Polvo blanco amorfo y voluminoso, que forma geles en contacto prolongado con el agua.

- Solubilidad

Prácticamente insoluble en agua, pero soluble en soluciones acuosas alcalinas o de ácidos fuertes como ácido clorhídrico y sulfúrico.

2.1.2. GEL SECO DE HIDROXIDO DE ALUMINIO

(2,3)

- Descripción.

Polvo amorfo, blanco, inodoro e insípido. Contiene no menos de 50% y no más de 57.5% de óxido de aluminio en la forma de óxido hidratado o el equivalente de no menos de 76.5% de hidróxido de aluminio, y puede contener cantidades variables de carbonato básico y bicarbonato de aluminio.

- Empaque y almacenaje.

Consérvese en recipientes herméticamente cerrados, a temperatura que no exceda de 25 °C.

- Solubilidad.

Soluble en ácidos minerales diluidos y en soluciones de hidróxidos alcalinos fijos. Casi insoluble en agua y alcohol.

2.1.3. GEL DE HIDROXIDO DE ALUMINIO

(2,3)

- Descripción.

Suspensión blanca viscosa, que dejándola reposar se separa. Contiene en cada 100 g, el equivalente de no menos de 3.6 y no más de 4.4 g de Al_2O_3 en forma de hidróxido de aluminio y de óxido de hidrato o no menos de 5.5% y no más de 6.7%, de hidróxido de aluminio. Puede contener algún saborizante como el aceite de menta, o edulcorantes como glicerol, sorbitol, azúcar, sacarina etc. También puede contener algún conservador adecuado, en cantidad no mayor del 0.5%.

- Empaque y almacenaje.

Conservese en recipientes herméticamente cerrados, evitando temperaturas de congelación.

2.1.4. HIDROXIDO DE MAGNESIO (1,2,3)

- Nombre químico y sinónimos.

Magnesio hidratado; Marínco H.

- Fórmula desarrollada y condensada.

$Mg(OH)_2$

- Peso molecular.

58.32

- Descripción.

Polvo fino, blanco, amorfo e inodoro.

- Solubilidad.

Soluble en ácidos diluidos; casi insoluble en agua (1:80,000) con la que produce una solución alcalina a la fenofaleína.

2.1.5. CARBONATO DE CALCIO

(1,2,3)

- Nombre químico y sinónimos.

Sal de calcio del ácido carbónico (1:1), calcidia, Citricol.

- Formula desarrollada y condensada.

CaCO_3 .

- Peso molecular.

100.09

- Descripción.

Folvo blanco, inodoro.

- Solubilidad.

Casi insoluble en agua, soluble en ácidos diluidos.

2.2. MEDICAMENTOS ANTIACIDOS (4,5)

Los antiácidos se utilizan desde hace más de 2 000 años en el tratamiento de malestares gastrointestinales, pero solo hasta la era moderna se establecieron como una terapia. Su uso fue principalmente empírico, solo recientemente se han evaluado objetivamente sus acciones antiácidas. Los médicos los emplean principalmente en el tratamiento de la esofagitis por reflujo y la úlcera péptica.

Los antiácidos son compuestos que aumentan el pH del contenido gástrico. La principal acción es neutralizar el ácido gástrico dando como resultado un aumento del pH en el estómago y bulbo duodenal, ellos no neutralizan todo el ácido gástrico a pH de 7.0, cuando se neutraliza el 90% del ácido da un pH gástrico de 2.3 y cuando se neutraliza el 99% da un pH gástrico de 3.3 .

El rango óptimo de pH para la acción proteolítica de la pepsina es de 1.5 a 2.5, esta acción es totalmente inhibida alrededor de un pH de 4.0, a esto se debe su principal acción antipéptica.

Características del antiácido ideal.

Eficiente. Cantidades pequeñas del medicamento deben controlar cantidades grandes de ácido gástrico.

Efectivo. Ejercer un efecto prolongado sin un incremento secundario en la secreción gástrica y neutralizar el dióxido de carbono liberado al reaccionar con el ácido clorhídrico.

Seguro. No debe interferir con el balance de electrolitos o de glucosa sanguínea, ni causar diarrea o constipación cuando es administrado en cantidades terapéuticas y además no alterar la

absorción o excreción de otros fármacos que el paciente se este administrando.

Económico. Ya que el tratamiento puede ser prolongado.

Comestible. Todos los productos antiácidos contienen al menos uno de los cuatro principales ingredientes neutralizantes: bicarbonato de sodio, carbonato de calcio, sales de aluminio y sales de magnesio.

Principales compuestos antiácidos.

Compuestos de aluminio.- Gel de hidróxido de aluminio, gel de carbonato de aluminio básico, aminoacetato de dihidroxialuminio, gel de fosfato de aluminio.

Compuestos de magnesio.- Hidróxido de magnesio.

Compuestos de sodio.- Bicarbonato de sodio, citrato de sodio.

Compuestos de calcio.- Carbonato de calcio.

Combinaciones antiácidas.

Los antiácidos son utilizados en combinación por tres objetivos principales; combinar los compuestos de reacción rápida y de reacción lenta con el fin de que la preparación ejerza una reacción regular y sostenida; disminuir la dosis de cada uno de los componentes y por último utilizar uno de los componentes para contrarrestar uno o más efectos secundarios del otro elemento (ejemplo: laxantes vs constipantes).

La combinación más común es la de hidróxido de aluminio e hidróxido de magnesio. La mayoría de estas se encuentran como productos líquidos (suspensiones) y sólidos (tabletas). En las diversas combinaciones, la proporción hidróxido de aluminio / hidróxido de

magnesio varia entre aproximadamente 1:1 y 3:1, otras incluyen carbonato de calcio y trisilicato de magnesio.

Usos terapéuticos.

La situación clínica de los antiácidos sufre una evolución continua. Se había predicho que el advenimiento de la cimetidina conduciría a la eliminación de estos del arsenal de medicamentos antiulcerosos; sin embargo, esto no ha sucedido aún. Los agentes bloqueadores H_2 no son universalmente eficaces, y existen casos, como el síndrome de Zollinger-Ellison, las úlceras duodenales gigantes y otros, en los que la administración de un bloqueador H_2 únicamente, no se acompaña de una eficacia óptima haciendo que los antiácidos indudablemente continúen siendo utilizados.

2.3 SUSPENSIONES ORALES

(6)

Una suspensión se puede definir como una forma farmacéutica que contiene partículas del principio activo finamente divididas y distribuidas uniformemente a través de un vehículo (generalmente un líquido o semisólido) en el cual son insolubles o ligeramente solubles. La materia insoluble puede ser fisiológicamente absorbida o funcionar externamente como un recubriente.

Existen dos tipos principales de suspensiones dependiendo de su presentación al usuario: suspensiones listas para usarse, esto es el activo distribuido en un vehículo líquido con o sin estabilizadores y otros excipientes; y polvos secos para suspenderse en un vehículo líquido en el momento de utilizarse, estos productos generalmente contienen una mezcla de polvos del activo, agentes dispersantes y suspensores, los cuales se diluyen y agitan con una cantidad específica de vehículo (generalmente agua) y como resultado se obtiene una suspensión lista para administrarse.

En el caso de los medicamentos antiácidos las formas farmacéuticas disponibles son suspensión y tabletas. Las suspensiones son del tipo listas para usarse y los consumidores las prefieren con respecto a las tabletas, por su efectividad.

2.4 TABLETAS

(6,7)

La ruta de administración oral es el método más importante de administración de medicamentos, para efectos sistémicos. Aproximadamente el 90 % de los medicamentos usados para efectos sistémicos, son administrados por vía oral.

Los productos orales sólidos, son los preferidos para esta ruta de administración, una de las razones de esta preferencia es porque representan dosis unitarias de dosificación, a diferencia de las formas orales líquidas, las cuales generalmente están diseñadas para contener una dosis en 5 ml y hasta 30 ml, en donde el paciente debe medir esta cantidad con ayuda de una cuchara u otro aditamento, existiendo un error del 20 al 50 % en la medición.

Tabletas masticables.

Este tipo de tabletas tienen dos principales ventajas con respecto a otras, la aceptación del paciente (niños y adultos que tienen problemas para tragarla) y rápido inicio de la bioactividad.

Las tabletas masticables de antiácidos son muy utilizadas en las terapias antiácidas, si las comparamos con las del tipo para "tragar", las primeras presentan la ventaja de romperse en gránulos en el momento de masticarlas y estos se mezclan con la saliva, formando una suspensión antes de tragarla por lo que la neutralización del ácido en el estómago es más rápida.

La siguiente lista contiene principios activos y excipientes que comúnmente se utilizan en productos antiácidos.

- Hidróxido de aluminio, gel coprecipitado de hidróxido de aluminio-carbonato de magnesio, gel coprecipitado de hidróxido de aluminio-trisilicato de magnesio, aminoacetato de dihidroxialuminio, fosfato de aluminio, carbonato sódico de dihidroxialuminio.
- Bicarbonato de sodio.
- Aluminato de bismuto, carbonato de bismuto, subcarbonato de bismuto, subgalato de bismuto, subnitrate de bismuto.
- Carbonato de calcio, fosfato de calcio.
- Acido cítrico, citrato de sodio.
- Glicina (ácido aminoacético).
- Sulfato aluminato de magnesio, magaldrato, aluminosilicato de magnesio, carbonato de magnesio, glicinato de magnesio, hidróxido de magnesio, óxido de magnesio, trisilicato de magnesio.
- Fosfato di y monobásico de calcio, fosfato tricálcico de aluminio.
- Bicarbonato de potasio, tartrato de potasio
- Aluminosilicatos de magnesio.
- Acido tartárico y sus sales.

Otros aditivos comúnmente usados son los de propiedades antifatulentos como el simeticón, también conocido como dimeticón o dimetil polisiloxano.

2.5 METODOS VOLUMETRICOS DE ANALISIS

(8)

En el análisis volumétrico, la concentración del activo se determina midiendo su capacidad de reacción con un reactivo patrón. El reactivo patrón es una solución de concentración conocida capaz de reaccionar, más o menos completamente, con la sustancia que se analiza.

El volumen de la solución patrón requerido para completar la reacción con el activo se considera como parámetro analítico. Este procedimiento se denomina análisis volumétrico.

En un método volumétrico se utilizan una o varias soluciones patrón cuyas concentraciones son exactamente conocidas. La valoración implica conocer el volumen de la solución patrón necesario para llevar a cabo la reacción completa con el activo, contenido en un peso o volumen conocido de la muestra. En algunos casos, es conveniente o necesario añadir un exceso de la solución patrón y después valorar dicho exceso, por retroceso, con un segundo reactivo patrón.

Hay que tener mucho cuidado para establecer exactamente la concentración de la solución patrón porque la exactitud del análisis volumétrico está directamente relacionado con la calidad de dicho parámetro. La concentración de la solución patrón puede establecerse de dos formas distintas:

1. Directamente: se disuelve cuidadosamente una cantidad exactamente pesada, de una sustancia de elevada pureza, y se diluye hasta un volumen conocido.

2. Indirectamente: se valora la solución que contiene una cantidad pesada de sustancia pura con una solución patrón.

El compuesto químico, de elevada pureza, que se requiere en estos ensayos, se denomina patrón primario. El proceso a través del cual se determina, por valoración, la concentración de la solución patrón, como en el inciso 2, se llama normalización.

El objetivo de toda valoración es la adición de la solución patrón en una cantidad que es químicamente equivalente a la sustancia con la que reacciona. Esta condición se consigue en el punto de equivalencia.

El punto de equivalencia de la valoración es un concepto teórico; de hecho sólo se puede apreciar este punto observando algún cambio físico asociado con esta condición de equivalencia. Tales cambios ocurren en el punto final de la valoración. Es de esperar que las diferencias de volumen entre el punto de equivalencia y el punto final de la valoración sean pequeñas. Estas diferencias pueden deberse a cambios físicos inadecuados y a una falta de habilidad para su observación; el resultado es un error en la valoración.

El método habitual para detectar el punto final en el análisis volumétrico supone el uso de una sustancia complementaria que se añade al sistema, y que experimenta un cambio de color como

resultado de las variaciones de concentración que se producen en la proximidad del punto de equivalencia; estas sustancias se denominan indicadores.

Patrones primarios

La exactitud del análisis volumétrico depende, de una forma decisiva del patrón primario utilizado, directa o indirectamente, para establecer la concentración de la solución patrón. Los patrones primarios presentan los siguientes requisitos:

1. Elevada pureza; existen métodos para confirmar su pureza.
2. Estabilidad; deberá ser estable ante los agentes atmosféricos.
3. Ausencia de agua de hidratación.
4. Fácil adquisición y módico precio.
5. Un peso equivalente suficientemente elevado para disminuir los errores asociados a la operación de pesada.

Pocas sustancias cumplen o reúnen estos requisitos; por lo tanto, el número de patrones primarios es limitado para el químico.

Puede ser necesario, ocasionalmente, basar un análisis en una sustancia que no cumple todos los requisitos de un patrón primario. La pureza de este patrón secundario, debe establecerse por medio de un análisis minucioso.

Soluciones patrones

La solución patrón ideal para el análisis volumétrico debe cumplir los siguientes requisitos:

1. Su concentración deberá mantenerse indefinidamente invariable, para evitar la necesidad de su normalización periódica.

2. Su reacción deberá ser suficientemente rápida para que no haya necesidad de esperar un tiempo cada vez que se haga la adición del reactivo.

3. La reacción con el activo deberá ser completa, porque sólo así se alcanzará satisfactoriamente el punto final.

4. Deberá reaccionar sólo con el activo, y esta reacción deberá ser descrita por una ecuación química definida.

Pocos reactivos volumétricos cumplen todos estos requisitos.

El punto final en el análisis volumétrico

La detección del punto final se basa en los cambios físicos observables que ocurren en la solución en el transcurso de la valoración. Los métodos para la detección visual implican cambios de color, de turbidez y de dispersión de la luz. Los métodos eléctricos comprenden cambios en el potencial, la corriente eléctrica y la conductividad. También es posible detectar los puntos finales midiendo la variación de una propiedad térmica. Los dos métodos más utilizados, para conocer el punto final de una valoración, consisten bien en un cambio de color debido al reactivo, a la sustancia que se analiza o al indicador, o bien en un cambio de potencial de un

electrodo sensible a la concentración de la sustancia o del reactivo (o quizás ambos).

Puntos finales visuales

La detección del punto final de una valoración, basada en observaciones visuales de cambios de color o la turbidez, ofrece considerables ventajas de rapidez y simplicidad del equipo.

De cualquier modo la posibilidad de detectar visualmente el punto final, depende, en gran manera, de la magnitud de los cambios de concentración relativos que tienen lugar en la zona que rodea el punto de equivalencia. La sensibilidad del ojo humano es tal que se necesita una variación de diez o cien veces en la concentración de las sustancias que reaccionan, para obtener un cambio detectable en el indicador.

Para que un punto final sea adecuado debe producirse un cambio de esta magnitud dentro de un intervalo de volúmenes que corresponda a un error de valoración admisible. Lo ideal sería, que este cambio ocurriera simétricamente alrededor del verdadero punto de equivalencia.

Punto final potenciométrico

A lo largo de una valoración en la cual el cambio en la concentración es demasiado pequeño para poder detectar el punto final visualmente, a menudo, puede seguirse midiendo el potencial que se desarrolla entre un par de electrodos, uno de los cuales es sensible a los cambios y el otro no.

Muchos iones metálicos reaccionan con sustancias donadoras de pares de electrones para formar compuestos de coordinación o iones complejos. La especie donadora, o ligando debe tener por lo menos un par de electrones no compartidos; la molécula de agua, el amoníaco y los iones haluro son ligandos típicos.

La formación de complejos ha sido utilizada para el análisis desde hace por lo menos un siglo. Su verdadero crecimiento en las aplicaciones analíticas es de origen relativamente reciente y se basa en una clase especial de compuestos de coordinación llamados quelatos. Un quelato se produce por la combinación de un catión y un ligando que posee más de un par de electrones no compartidos. El complejo de cobre con glicocola, es un ejemplo. El cobre está enlazado con el oxígeno de los grupos carboxílicos, así como con el nitrógeno de los grupos aminos. Un agente quelante, con dos grupos donadores disponibles, se llama bidentado; uno con tres grupos se llama tridentado. También existen ligandos tetra, penta y hexadentados.

La mayoría de las valoraciones complejométricas o de formación de complejos están basadas en los reactivos quelantes, dado que las reacciones de estas especies con cationes, son normalmente procesos de una sola etapa. En cambio, los agentes complejantes más sencillos, como el amoníaco o el ion cianuro, tienden a reaccionar con los cationes de una forma gradual, originando una serie de complejos. La ventaja de la formación de un complejo único puede

verse considerando la reacción de un ion metálico tetracoordinado (M) con un ligando tetradentado y un bidentado.

El equilibrio con el ligando tetradentado (D) se muestra en la ecuación

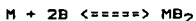


La constante de equilibrio para este proceso es

$$K_f = \frac{(M D)}{(M) (D)}$$

donde K_f es la constante de formación para MD

El equilibrio entre M y el ligando bidentado B puede expresarse por:



Esta ecuación sin embargo, es la suma de un proceso de dos etapas que implica la formación del MB intermedio



El producto de K_1 y K_2 es la constante de equilibrio, para el proceso global.

Valoraciones con ácidos poliaminocarboxílicos

Se conocen muchos ligandos que poseen más de un grupo capaz de unirse al ion metálico. Un complejo formado entre un ion metálico y

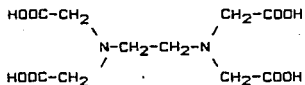
dos o más grupos de un ligando polidentado es, evidentemente, un compuesto en forma de anillo.

Varias aminas terciarias, que también contienen grupos ácidos carboxílicos, forman quelatos muy estables con numerosos iones metálicos. Su capacidad como reactivos analíticos fue descrita primeramente por Schawarzenbach en 1945 ; desde entonces han sido exhaustivamente investigados. El resurgimiento del interés por las valoraciones complejométricas es atribuible a estos reactivos.

La discusión que sigue está basada en el ácido etilendiaminotetracético, que es sin duda, el reactivo quelante más ampliamente utilizado y el más versátil.

Acido etilendiaminotetracético

También llamado ácido (etilenodinitrilo) tetracético y frecuentemente abreviado EDTA, posee seis grupos, dos amino y cuatro carboxilatos capaces de formar complejos con los iones metálicos y tiene la estructura:



Las sucesivas constantes de equilibrio para la disociación de los cuatro hidrógenos ácidos del EDTA son:

$$K_1 = 1.02 \cdot 10^{-2}$$

$$K_2 = 2.14 \cdot 10^{-3}$$

$$K_3 = 6.92 \cdot 10^{-7}$$

$$K_4 = 5.50 \cdot 10^{-11}$$

Estos valores indican que los dos primeros protones se pierden mucho más rápidamente que los dos restantes. Además de estos cuatro hidrógenos ácidos, cada nitrógeno tiene un par de electrones no compartidos; la molécula tiene así seis puntos posibles para unirse con un metal y, por lo tanto, está clasificado como un ligando hexadentado. Las abreviaturas H_4Y , H_3Y^- , H_2Y^{2-} , HY^{3-} e Y^{4-} son las que se encuentran en los estudios de los equilibrios del EDTA y sus compuestos de coordinación.

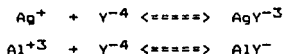
Tanto el ácido libre H_4Y como la sal disódica Na_2H_2Y se pueden adquirir como reactivos de elevada pureza. El primero puede servir como patrón primario después de secarlo a $105^\circ C$; se disuelve luego en la cantidad mínima de base necesaria para su completa disolución. La sal disódica $Na_2H_2Y \cdot 2H_2O$ contiene un exceso del 0.3% de humedad con respecto a la cantidad estequiométrica en condiciones atmosféricas normales; para la mayoría de los trabajos rigurosos la corrección en el peso de este exceso de humedad es suficiente para la preparación de las soluciones patrón. Si es necesario, el dihidrato puro se puede obtener calentando el sólido a $80^\circ C$ durante varios días en una atmósfera con humedad relativa del 50%.

Complejos de EDTA con iones metálicos

La diferencia importante entre los ligandos monodentados y polidentados no reside en la magnitud de las constantes de estabilidad global para determinado catión (éstas a menudo son muy similares) sino de la naturaleza de la etapa sencilla de formación

del complejo multidentado en comparación con la naturaleza de las diferentes etapas de reacción del unidentado. Puesto que una molécula del ligando multidentado satisface todas las afinidades enlazantes del ion metálico, en una etapa sencilla se forma necesariamente un complejo 1:1

El EDTA se combina con iones metálicos en una relación 1:1 sin tener en cuenta la carga del catión. Así, la formación de complejos de plata (I) y aluminio (III) se puede describir por las ecuaciones



El EDTA forma complejos prácticamente con todos los cationes, la mayoría de los cuales son suficientemente estables para constituir la base de un análisis volumétrico.

La estabilidad de estos complejos se debe a las seis posiciones de la molécula de EDTA que están disponibles para los enlaces de coordinación. En la estructura de un complejo EDTA con un catión divalente, se observa que los seis grupos ligandos de la molécula de origen están implicados en la unión con el catión, formando varios anillos de cinco miembros, cada uno de los cuales contienen al ion metálico en el centro.

La tabla 1 contiene valores numéricos para las constantes de formación K_{MY} de varios complejos importantes EDTA-catión. Obsérvese

que estas constantes se refieren a los equilibrios entre el γ^{-4} totalmente desprotonado y el catión; es decir:



por lo cual

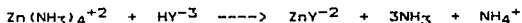
$$K_{MY} = \frac{[MY^{+(n-4)}]}{[M^{+n}][\gamma^{-4}]}$$

TABLA 1. CONSTANTES DE FORMACION DE COMPLEJOS CON EDTA

Catión	K MY	log K MY	Catión	K MY	log K MY
Ag ⁺	2.1 x 10 ⁷	7.32	Cu ²⁺	6.3 x 10 ¹⁸	18.80
Mg ²⁺	4.9 x 10 ⁸	8.69	Zn ²⁺	3.2 x 10 ¹	16.50
Ca ⁺²	5.0 x 10 ¹⁰	10.70	Cd ²⁺	2.9 x 10 ¹⁶	16.46
Sr ⁺²	4.3 x 10 ⁸	8.63	Hg ²⁺	6.3 x 10 ²¹	21.80
Ba ⁺²	5.8 x 10 ⁷	7.76	Pb ²⁺	1.1 x 10 ¹⁸	18.04
Mn ⁺²	6.2 x 10 ¹³	13.79	Al ³⁺	1.3 x 10 ¹⁶	16.13
Fe ⁺²	2.1 x 10 ¹⁴	14.33	Fe ³⁺	1.0 x 10 ²⁵	25.10
Co ⁺²	2.0 x 10 ¹⁶	16.31	V ³⁺	8.0 x 10 ²⁵	25.90
Ni ⁺²	4.2 x 10 ¹⁸	18.62	Th ⁴⁺	2.0 x 10 ²³	23.20

Efecto de otros agentes complejantes en las valoraciones con EDTA

Muchas de las valoraciones con EDTA se complican por la tendencia del catión que se está valorando a formar óxidos hidratados o hidróxidos al pH necesario, para un buen punto final. En este caso se requiere un agente acomplejante auxiliar para mantener al catión en solución, particularmente en las primeras etapas de la valoración. Así, por ejemplo, el zinc(II), se valora normalmente en un medio que contiene concentraciones bastante altas de amoníaco y cloruro de amonio. Estas especies regulan la solución a un pH que asegurará una reacción completa entre el catión y el valorante; además el amoníaco forma aminocomplejos con zinc(II) y evita la formación del hidróxido de zinc poco soluble. Una ecuación algo más realista para la valoración, sería:



Indicadores para las valoraciones con EDTA

Se han catalogado cerca de 200 compuestos orgánicos que se han sugerido como indicadores para valoraciones de iones metálicos con EDTA. En general, estos indicadores son colorantes orgánicos que forman quelatos con iones metálicos, que son tan intensamente coloreados que permiten la detección visual en el intervalo 10^{-6} a 10^{-7} M.

apropiadas para la detección del punto final. Para ser aplicable la constante condicional del complejo catión - indicador debería de ser inferior a la décima parte de la del complejo catión - EDTA; de no ser así se observaría un punto final prematuro. Por otra parte, si esta relación es demasiado pequeña, como sucede con el complejo calcio - negro de eriocromo T, se observarían puntos finales tardíos. La conveniencia de aplicar un determinado indicador a una valoración con EDTA puede deducirse a partir de la variación del pM ($-\log M$) en la región del punto de equivalencia, siempre que se conozca la constante de formación del complejo catión-indicador.

Una limitación al negro de eriocromo T es que sus soluciones se descomponen lentamente con el transcurso del tiempo. La refrigeración retrasa el proceso.

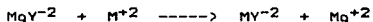
Tipos de valoraciones con EDTA

Las soluciones de EDTA se pueden emplear para valorar iones metálicos por diferentes procedimientos. A continuación se consideran los más comunes.

Valoración directa. Aproximadamente 40 elementos pueden ser determinados por valoración directa con EDTA usando indicadores metalocrómicos para la detección del punto final. Las valoraciones directas se limitan a aquellas reacciones para las que existe un método de detección del punto final y para aquellos iones metálicos que reaccionan rápidamente con EDTA. Cuando los métodos directos fallan, el análisis se puede realizar mediante valoración por retroceso, o una valoración por desplazamiento.

Valoraciones por retroceso. Son útiles para el análisis de cationes que forman complejos muy estables con el EDTA y para los cuales no se dispone de un indicador adecuado. En tales análisis, el exceso de EDTA se determina por retroceso con una solución patrón de un metal como por ejemplo de magnesio y se usa como indicador el negro de eriocromo T. El quelato catión-EDTA debe ser más estable que el complejo magnesio-EDTA para evitar el desplazamiento del catión que se analiza por el magnesio. Las valoraciones por retroceso también son útiles cuando las muestras contienen aniones que pueden formar precipitados poco solubles con el activo en las condiciones del análisis; el exceso de EDTA mantiene el catión en solución.

Valoraciones por desplazamiento. La muestra se trata primero con un exceso no medido de una solución Mg-EDTA o Zn-EDTA. Si el catión que se analiza forma un complejo más estable que el de magnesio o zinc, tiene lugar la siguiente reacción:



Entonces se valora el magnesio o zinc liberado con una solución patrón de EDTA. Las valoraciones por desplazamiento son muy útiles si no se dispone de un indicador adecuado para el catión problema.

Aplicaciones de las valoraciones con EDTA

El EDTA forma quelatos, prácticamente, con todos los cationes y se han desarrollado métodos basados en esta propiedad para el análisis de la mayoría de los cationes. A primera vista podría

parecer que el reactivo carece totalmente de especificidad; no obstante, se puede conseguir una notable selectividad regulando el pH del medio así como usando reactivos complejantes auxiliares. Por ejemplo, generalmente es posible valorar cationes trivalentes sin interferencia de las especies divalentes manteniendo el pH del medio máximo a uno; bajo estas condiciones, los quelatos divalentes menos estables no se forman de manera significativa; mientras que los iones trivalentes se complejan cuantitativamente. De una manera análoga, los quelatos de iones tales como cadmio y zinc son suficientemente estables para permitir la valoración de una solución a pH 7, con negro de eriocromo T como indicador. El ion magnesio, si está presente no interfiere porque la formación del quelato Mg-EDTA es despreciable a este pH. Finalmente, la interferencia de un determinado catión se puede, con frecuencia eliminar usando un agente enmascarante, un ligando auxiliar que forma preferentemente complejos muy estables con la posible interferencia. Por ejemplo, el ion cianuro es un agente enmascarante útil que permite la valoración de iones magnesio y calcio en presencia de iones tales como cadmio, cobalto, cobre, níquel, cinc y paladio. Estos iones forman cianuros lo suficientemente estables para impedir su reacción con el EDTA.

2.7. METODOS ALTERNATIVOS DE CUANTIFICACION.

(8)

La espectrofotometría atómica es uno de los métodos más utilizados para la cuantificación de metales en medicamentos.

Esta basada en la medida de la absorción, emisión o fluorescencia de la radiación electromagnética por parte de átomos o iones elementales (como K^+ , Mg^+ , Al^+) en un medio gaseoso. Los métodos atómicos se clasifican según el método de atomización proceso por el cual, los constituyentes de una solución se convierten en átomos o en iones elementales al estado gaseoso.

- atomización en la llama.
- atomización electrotérmica.
- fuente de plasma de argón acoplado por inducción.
- fuente de plasma de argón de corriente continua.

Se les considera entre los métodos analíticos más selectivos y permiten determinar unos 70 elementos de la tabla periódica. Los métodos atómicos son generalmente muy sensibles y pueden utilizarse para determinar concentraciones de principio activo en el intervalo de partes por millón a partes por billón.

La eficacia y reproducibilidad de la fase de atomización, determina en gran medida la sensibilidad, precisión y exactitud del método; es decir la atomización es el paso más crítico de la espectroscopia atómica.

2.8. DESARROLLO Y VALIDACION DE METODOS ANALITICOS.

(10)

Antes de iniciar el desarrollo de un método analítico se debe definir el alcance que tendrá, esto es, si se utilizará para analizar un principio activo u otra sustancia de interés en una materia prima, en un producto terminado, para monitorear la estabilidad de un producto o bien para realizar estudios de biodisponibilidad.

Se puede iniciar con la revisión bibliográfica, la cual tiene por objetivo encontrar la mayor cantidad posible de información física, química y microbiológica de la sustancia o compuesto de interés, además se deben revisar métodos de análisis oficiales y no oficiales ya existentes.

Otro aspecto a considerar antes de iniciar el trabajo experimental es evaluar cuales son los recursos que se tienen en el lugar donde se trabajará, esto incluye el equipo, las instalaciones, el material de laboratorio, el personal, la disponibilidad de los reactivos, etc.

El trabajo de experimentación no se debe enfocar únicamente hacia técnicas o metodologías totalmente nuevas sino también en retomar antecedentes de métodos existentes con el fin de optimizarlos y adecuarlos a nuestras necesidades.

Después de definir el método y como parte integral del desarrollo debe probarse su efectividad a través de la validación,

en ésta generalmente se incluye una evaluación de la precisión, linealidad, exactitud y especificidad.

La validación del método puede definirse como el proceso por el cual queda establecido, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas. La capacidad se expresa, en este caso, en términos de parámetros analíticos.

Definiciones y abreviaciones.

Linealidad. La linealidad de un sistema o 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 intervalo determinado.

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

Precisión. La precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestreos de una muestra homogénea del producto. Usualmente se expresa en términos de Desviación Estándar o del Coeficiente de Variación.

La precisión es una medida del grado de reproducibilidad y/o repetibilidad del método analítico bajo las condiciones normales de operación.

Especificidad. Es la habilidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia de interés y no a otros componentes de la muestra.

Estabilidad de la muestra. Es la propiedad de una muestra preparada para su cuantificación, de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración de la sustancia de interés, después de almacenarse durante un tiempo determinado bajo condiciones específicas.

b = Ordenada al origen o intercepto.

r = Coeficiente de correlación.

r² = Coeficiente de determinación

CV = Coeficiente de variación

IC = Intervalo de confianza al 95 %

m = Pendiente

Las determinaciones que se realizan como mínimo son las siguientes:

Nota: En la aplicación de los criterios de evaluación de un método analítico prevalecerá ante todo la experiencia y el criterio de la persona que lleve a cabo la validación, los criterios que aparecen a continuación deben tomarse como sugerencias.

Linealidad del sistema

Se determina, construyendo una curva de calibración (concentración vs respuesta medida) utilizando cuando menos 5 diluciones preparadas a partir de una misma solución patrón y haciendo análisis cuando menos por duplicado para cada dilución.

El intervalo entre las concentraciones a analizar dependerá del propósito del método; para control de calidad y de seguimiento de la estabilidad de un fármaco en una forma farmacéutica, deberá estar incluida la concentración seleccionada como 100%.

Se considera el 100% a la concentración de la muestra en la solución final a analizar, que proporciona una respuesta adecuada dependiendo del método de cuantificación.

Criterio: $CV \leq 2.0\%$, $r \geq 0.99$, $r^2 \geq 0.98$

Para métodos microbiológicos $r \geq 0.98$

Precisión del sistema

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

Criterio: $CV \leq 2.0\%$, para métodos microbiológicos $CV \leq 3\%$

Linealidad del método.

Se determina a partir de placebos adicionados de 3 a 5 diferentes cantidades de la sustancia de interés, (placebos cargados), cada uno de manera independiente, haciendo los análisis por duplicado o triplicado.

Las concentraciones de los placebos cargados deben ser las adecuadas para que utilizando el método propuesto, las concentraciones de las soluciones finales a analizar estén dentro del intervalo de la linealidad del sistema incluyendo siempre la correspondiente al 100%.

La amplitud del estudio dependerá del uso y aplicaciones del método. (Control de calidad, Estudios de estabilidad, etc.) y deberá llevarse a cabo por un mismo analista en las mismas condiciones de operación.

Criterio: Cantidad adicionada vs cantidad recuperada:

$$m \approx 1, \quad b \approx 0, \quad r^2 \geq 0.98$$

Los por cientos recuperados y los CV a cada nivel y los globales de todo el intervalo de la linealidad deben estar de acuerdo a tabla 2.

Exactitud al 100 %.

Se determina de, cuando menos, 6 placebos cargados de manera independiente con la cantidad necesaria de la sustancia de interés para obtener la concentración del 100 %, utilizando el método propuesto. Haciendo el análisis en las mismas condiciones de operación y por el mismo analista.

Criterio: El porcentaje recuperado y el CV deberán de estar de acuerdo con la tabla 2.

TABLA 2.

METODO	PROMEDIO DE RECOBRO	CV
Cromatográficos	98 - 102 %	≤ 2 %
Titrimétricos	98 - 102 %	≤ 2 %
Químicos y espectrofotométricos	97 - 103 %	≤ 3 %
Microbiológicos	95 - 105 %	≤ 5 %

Para suspensiones y semisólidos se acepta una ampliación del 1 % en el intervalo expresado en el promedio de recobro y el CV ≤ 3 %.

Precisión (Reproducibilidad)

Se determina de una muestra homogénea del producto cercana al 100% de la concentración teórica, analizada cuando menos por dos analistas, en dos días diferentes y por triplicado.

Criterio:

El CV total debe cumplir con los siguientes criterios.

METODO	CV
Cromatográficos	≤ 2 %
Químicos y Espectrofotométricos	≤ 3 %
Microbiológicos	≤ 5 %

Dependiendo de la naturaleza de la muestra, el CV puede incrementarse.

Especificidad para métodos de control de calidad

Con el método propuesto:

1. Analizar placebos del producto.
2. Identificar la(s) respuesta(s) del(los) activo(s), y si procede, de los excipientes y/o de otras sustancias presentes.

Criterios:

Confirmar que el método desarrollado es capaz de cuantificar la sustancia de interés sin que exista interferencia de otras sustancias presentes.

Especificidad para métodos indicadores de estabilidad

En caso de contar con los posibles productos de degradación, preparar muestras con placebo "añadido" de éstos y la sustancia de interés y analizar con el método propuesto.

Si no se cuenta con los productos de degradación, es necesario degradar la muestra bajo diferentes condiciones. La degradación debe ser tal que la concentración de la sustancia en estudio esté disminuida por lo menos en un 25% con respecto a la original.

Se sugieren los siguientes métodos para degradar la sustancia; la persona que realice el estudio deberá escoger aquel que, de acuerdo a las propiedades fisicoquímicas del compuesto, sea el más adecuado:

1. Colocar la sustancia de interés, el placebo y muestras del lote del producto en un horno a 70°C - 120°C o a 20°C por debajo del punto de fusión de la sustancia de interés durante un número de días apropiado (2 a 4 semanas).

2. Exponer la sustancia de interés, el placebo y muestras del lote del producto a la luz ultravioleta (UV) o a la luz fluorescente y/o a humedad alta.

3. Si es necesario, hacer soluciones de la sustancia de interés ajustando el pH a 1-2 y/o 10-12 y colocarlas a 60°C - 80°C durante 2-4 semanas.

4. Si se trata de formas farmacéuticas líquidas o semisólidas pueden degradarse por oxidación (con peróxido de hidrógeno) y permanecer 2-4 semanas a temperatura ambiente; y/o por hidrólisis (pH 1-2 y 10-12) colocando las muestras a 60°C - 80°C durante 2-4 semanas.

Criterio:

Verificar que los productos de degradación y/o sustancias relacionadas no interfieran con la cuantificación de la sustancia de interés utilizando el método desarrollado.

Ajustar las condiciones de operación para obtener la máxima resolución.

Estabilidad de la muestra analítica

Se determina mediante la comparación de los resultados de los análisis iniciales de cuando menos 3 muestras con los obtenidos de las mismas muestras después de permanecer por un tiempo determinado en diferentes condiciones.

Almacenar las muestras analizadas bajo distintas condiciones (por ejemplo: temperatura ambiente, refrigeración, protegidas de la luz, etc.), durante un tiempo preestablecido por el analista dependiendo de las propiedades fisicoquímicas de la sustancia. Reanalizarlas bajo las mismas condiciones de operación, utilizando una solución de referencia recientemente preparada, para cada tiempo, de acuerdo a lo establecido en el método analítico. La determinación debe ser efectuada por un mismo analista.

Criterio:

La muestra es estable si el IC para la diferencia de la media de la muestra con respecto a la media del análisis inicial incluye el valor de cero y/o la magnitud del efecto no exceda los siguientes porcentajes:

Cromatográficos	$\pm 2\%$
Titrimétricos	$\pm 2\%$
Químicos y espectrofotométricos	$\pm 3\%$
Microbiológicos	$\pm 5\%$

CAPITULO TRES

PARTE EXPERIMENTAL Y RESULTADOS

3. PARTE EXPERIMENTAL Y RESULTADOS

Se desarrolló el método analítico para valorar hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio y carbonato de calcio en un producto antiácido nuevo, del cual se desarrollaron dos formas farmacéuticas: suspensión y tabletas masticables. Posteriormente se validó el método para la suspensión y las tabletas.

3.1. DESARROLLO Y OPTIMIZACION DEL METODO

El presente trabajo se inició con la revisión bibliográfica de los métodos existentes en la fuentes oficiales como la Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos 5ª edición, encontrándose que no existe un producto conteniendo juntos aluminio, magnesio y calcio.

Como segunda opción se consultó la USP XXII, encontrándose la siguiente metodología para la valoración de los tres activos en una suspensión oral.

Valoración de Hidróxido de aluminio.

Titulante.- Etilendiaminotetracetato de sodio (EDTA), estandarizar como se indica en la valoración de aluminio (materia prima).

Solución de la muestra.- Transferir a un matraz erlenmeyer tarado una cantidad de la suspensión, previamente agitada en el envase original, equivalente a 600 mg de hidróxido de aluminio y pesar con exactitud.

Adicionar 20 ml de agua, agitar y adicionar lentamente 40 ml de ácido clorhídrico 3N. Si es necesario calentar suavemente hasta

disolución, enfriar y transferir a un matraz volumétrico de 200 ml. Lavar el matraz erlenmeyer con agua y adicionar los lavados al matraz volumétrico, llevar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento.- Transferir una alícuota de 10.0 ml de la solución de la muestra a un matraz erlenmeyer de 250 ml y adicionar en el siguiente orden con agitación continua, 25.0 ml de solución titulante 0.05M de EDTA y 20 ml de solución reguladora de acetato de amonio - ácido acético y calentar casi a punto de ebullición durante 5 min. Enfriar, adicionar 50 ml de alcohol y 2 ml de solución reactivo de ditizona y mezclar.

Titular con solución valorada 0.05M de sulfato de zinc hasta cambio de color verde violeta a rosa. Correr un blanco de reactivos substituyendo la muestra por 10 ml de agua y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de solución 0,05M de EDTA consumido es equivalente a 3.9 mg de $Al(OH)_3$.

Valoración de hidróxido de magnesio.

Solución de la muestra.- Prepararla como se indica en la valoración de hidróxido de aluminio.

Procedimiento.- Transferir una alícuota de la solución de la muestra, equivalente a 40 mg de hidróxido de magnesio, a un matraz erlenmeyer de 400 ml, adicionar 200 ml de agua, 20 ml de trietanolamina y mezclar. Adicionar 50 ml de solución reguladora de cloruro de amonio - amoniaco y 2 gotas de solución indicadora de negro de eriocromo T en un mezcla de 15 ml de trietanolamina y 5 ml de etanol absoluto, mezclar. Enfriar la solución entre 3 y 4°C por inmersión del matraz en un baño de hielo y titular con solución

valorada 0.05M de EDTA hasta punto final azul. Correr un blanco de reactivos sustituyendo la solución de la muestra por 10 ml de agua y hacer las correcciones necesarias.

Restar el volumen de solución 0.05M de EDTA consumido en la valoración de carbonato de calcio al volumen de solución 0.05M de EDTA consumido en esta valoración. Cada ml de solución 0.05M de EDTA es equivalente a 2.916 mg de $Mg(OH)_2$.

Valoración de carbonato de calcio.

Solución de la muestra.- Prepararla como se indica en la valoración de hidróxido de aluminio.

Procedimiento.- Transferir una alícuota de la solución de la muestra, equivalente a 50 mg de carbonato de calcio, a un matraz erlenmeyer de 400 ml, adicionar 20 ml de agua, 5 ml de solución (1 en 2) de hidróxido de sodio y 250 mg de indicador azul de hidroxinaftol. Agitar con un agitador magnético e inmediatamente titular con solución valorada 0.05M de EDTA, hasta que la solución cambie a color azul. Cada ml de solución 0.05M de EDTA es equivalente a 5.004 mg de $CaCO_3$.

Resultados.

Se analizó una muestra de la suspensión siguiendo la metodología antes descrita. Durante el análisis del aluminio no se presentaron problemas para la cuantificación, pero sí para las valoraciones de magnesio y calcio.

Durante la valoración de calcio se presenta un problema de precipitación de la solución en el momento en el que se está

adicionando el titulante, lo que impide observar el vire correcto del indicador y como consecuencia se obtienen resultados muy variados en las cuantificaciones de calcio y magnesio.

2a Revisión bibliográfica (III)

Se realizó una segunda investigación bibliográfica para encontrar algún método para cuantificar magnesio y calcio.

Se encontró una técnica para determinar magnesio y calcio en la misma muestra, basada en la separación del calcio por medio de su precipitación con el ion oxalato para formar el oxalato de calcio. El oxalato de magnesio da lugar a disoluciones sobresaturadas, de las cuales se separa con mucha lentitud; su solubilidad aumenta por adición de exceso de ion oxalato, a causa de la formación de un complejo $Mg(C_2O_4)_2$. La segunda ionización del ácido oxálico es más bien débil por lo que el oxalato de calcio es soluble en los ácidos fuertes; pero la solubilidad del oxalato de calcio en una solución de pH 5 o incluso 4 es solo un poco más alta que en solución neutra; además, esta solubilidad está disminuida por el efecto del ion común debido al exceso de oxalato. Por tanto, las condiciones de precipitación del calcio serán: exceso de oxalato para complejar el magnesio y hacer disminuir la solubilidad del oxalato de calcio; acidez menor de la que corresponde a un pH 4, y un periodo corto de digestión.

Esta determinación, que tiene muchas aplicaciones, constituye un procedimiento normalizado para la determinación de la dureza del agua. La valoración con EDTA a pH 10 con indicador negro de

eriocromo T da la suma de calcio y magnesio (dureza total). Una segunda muestra, acidulada con ácido clorhídrico, se trata con un exceso de oxalato de amonio y después se neutraliza poco a poco con amoníaco hasta el viraje del rojo de metilo. Después de media hora se separa por filtración y se lava el oxalato de calcio precipitado; se amortiguan el filtrado y aguas de lavado a pH 10 y se valora la solución con EDTA y negro de eriocromo T como indicador, (si se realiza con rapidez la valoración del magnesio, no es preciso filtrar el oxalato de calcio).

La dureza correspondiente al magnesio se resta de la dureza total obteniéndose la dureza que corresponde al calcio.

12 Propuesta del método analítico.

Solución de la muestra.- Pesar con precisión en un matraz erlenmeyer una cantidad de la suspensión, previamente agitada en el envase original, equivalente a 350 mg de hidróxido de aluminio (aproximadamente 6 g).

Adicionar 10 ml de agua, agitar y adicionar lentamente 20 ml de ácido clorhídrico 3N. Si es necesario calentar suavemente hasta ebullición, enfriar y transferir a un matraz volumétrico de 100 ml. Lavar el matraz erlenmeyer con agua y adicionar los lavados al matraz volumétrico, llevar a volumen con agua y mezclar.

Valoración de hidróxido de aluminio.

Se realizará como indica la USP XXII.

Valoración de hidróxido de magnesio.

Transferir una alícuota de la solución de la muestra, equivalente a 80 mg de hidróxido de magnesio, a un matraz volumétrico de 50 ml, adicionar 10 ml de una solución al 3% de oxalato de amonio, adicionar 2 gotas de solución indicadora de rojo de metilo y agitar. Adicionar lentamente una solución al 10% de hidróxido de amonio hasta el viraje del indicador de color rojo a amarillo y adicionar agua hasta aproximadamente 3 ml antes de la marca de aforo. Ajustar el pH entre 7 y 7.5 (medir con papel indicador de pH 5 - 10) adicionando unas gotas de solución al 10% de hidróxido de amonio, llevar a volumen con agua destilada y mezclar, dejar precipitando en reposo durante 30 min.

Transferir aproximadamente 35 ml del sobrenadante a un tubo de centrifuga de 50 ml, centrifugar durante 7 min a 3000 rpm. Transferir una alícuota de 25 ml del sobrenadante a un matraz erlenmeyer de 250 ml, adicionar 50 ml de agua, 20 ml de trietanolamina y mezclar. Adicionar 50 ml de solución reguladora de cloruro de amonio - amoniaco y 2 gotas de solución indicadora de negro de eriocromo T en un mezcla de 15 ml de trietanolamina y 5 ml de etanol absoluto, mezclar. Enfriar la solución entre 3 y 4°C por inmersión del matraz en un baño de hielo, titular con solución valorada 0.05M de EDTA hasta punto final azul. Correr un blanco de reactivos sustituyendo la solución de la muestra por 20 ml de agua y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de solución 0.05M de EDTA es equivalente a 2.916 mg de $Mg(OH)_2$.

Valoración de Carbonato de calcio.

Transferir una alícuota de la solución de la muestra, equivalente a 40 mg de hidróxido de magnesio, a un matraz erlenmeyer de 250 ml, adicionar 50 ml de agua, 20 ml de trietanolamina y mezclar. Adicionar 50 ml de solución reguladora de cloruro de amonio - amoniaco y 2 gotas de solución indicadora de negro de eriocromo T en un mezcla de 15 ml de trietanolamina y 5 ml de etanol absoluto, mezclar. Enfriar la solución entre 3 y 4°C por inmersión del matraz en un baño de hielo. titular con solución valorada 0.05M de EDTA hasta punto final azul. Correr un blanco de reactivos sustituyendo la solución de la muestra por 10 ml de agua y hacer las correcciones necesarias.

Restar el volumen de solución 0.05M de EDTA consumido en la valoración de hidróxido de magnesio al volumen de solución 0.05M de EDTA consumido en esta valoración. Cada ml de solución 0.05M de EDTA es equivalente a 5.04 mg de CaCO_3 .

Optimización del método.

No se tuvieron problemas en la cuantificación de los tres activos siguiendo el método propuesto. Pensando en reducir el tiempo de análisis y de cantidad de reactivos se realizaron las siguientes pruebas, utilizando muestras de la suspensión y una mezcla de estándares de los tres activos.

1. Condiciones para disolver la muestra.
2. Condiciones para formar el complejo EDTA - Aluminio.

3. Cantidad óptima de trietanolamina para enmascarar el aluminio en las valoraciones de magnesio y calcio.

4. Tiempo de reposo para la precipitación del calcio en la valoración de magnesio.

Las concentraciones de los activos en la suspensión son:

Hidróxido de aluminio	65.4 mg/ml
Hidróxido de magnesio	68.3 mg/ml
Carbonato de calcio	82.0 mg/ml

Resultados.

1. Condiciones para disolver la muestra

Se quiere saber cuanto tiempo se debe calentar la muestra después de adicionarle el ácido clorhídrico para tener solución completa de los activos; se valoran los tres activos.

ESTANDARES

CONDICIONES	% Al(OH)	% Mg(OH)	% CaCO
	3	2	3
Sin calentamiento	101.65	101.82	99.66
Calentando hasta ebullición	100.45	99.72	100.07
Calentando 5 min en ebullición	100.20	100.92	100.05

SUSPENSION

CONDICIONES	% Al(OH) 3	% Mg(OH) 2	% CaCO 3
Sin calentamiento	97.27	98.90	102.38
Calentando hasta ebullición	97.45	97.68	103.81
Calentando 5 min en ebullición	96.52	98.94	100.05

Se observa que no hay diferencia significativa entre las condiciones probadas, los activos se encuentran completamente disueltos, pero el tiempo de análisis se prolonga cuando se calienta durante 5 minutos en ebullición, porque la muestra tarda más tiempo en enfriarse hasta temperatura ambiente. Se establece como condición óptima el calentar la muestra hasta ebullición en vía de prevenir algún posible problema de solubilidad cuando no se calentará.

2. Condiciones para formar el complejo EDTA - Aluminio.

Se quiere saber si es necesario el calentamiento para formar este complejo, se valora únicamente aluminio.

ESTANDARES

CONDICIONES	% Al(OH) 3
Sin calentamiento	100.29
Calentando 5 min cerca de ebullición	100.29

SUSPENSION

CONDICIONES	% Al(OH) 3
Sin calentamiento	97.45
Calentando 5 min cerca de ebullición	97.17

No se observa una diferencia significativa en las dos condiciones probadas, se considera que no es necesario el calentamiento para la formación del complejo EDTA - aluminio y si se disminuye el tiempo de análisis.

3. Cantidad de trietanolamina para enmascara al aluminio en las valoraciones de magnesio.

Durante la valoración de magnesio y calcio se utiliza trietanolamina como agente enmascarante del aluminio, normalmente se utilizan 20 ml. Se quiere probar si con menor cantidad de este reactivo se sigue enmascarando al aluminio, se valoran magnesio y calcio.

ESTANDARES

TRIEANOLAMINA (ml)	% Mg(OH) 2	% CaCO 3
5	100.24	101.69
10	99.37	101.69
20	98.51	103.11

SUSPENSION

TRITANOLAMINA (ml)	% Mg(OH) 2	% CaCO 3
5	98.15	103.81
10	97.22	100.94
20	96.28	100.66

En los estándares se observa que los valores más cercanos al 100% se obtienen con 5 ml de trietanolamina y en la suspensión los resultados no son significativamente diferentes con las cantidades probadas además que los resultados obtenidos con los 5 ml de trietanolamina son muy parecidos a los obtenidos en la prueba No. 1. Se determina que es suficiente con adicionar 5 ml de trietanolamina a las muestras en las valoraciones de magnesio y calcio.

4. Tiempo de reposo para la precipitación del calcio en la valoración de magnesio.

Se quiere establecer cual es el tiempo necesario para precipitar cuantitativamente al calcio, se dejan las muestras en reposo durante diferentes tiempos y se valora magnesio.

ESTANDARES

TIEMPO DE REPOSO (min)	% Mg(OH) 2
10	98.78
20	99.83
30	100.06
40	99.86

SUSPENSION

TIEMPO DE REPOSO (min)	% Mg(OH) ₂
10	98.68
20	97.68
30	98.28
40	98.08

En los estándares los resultados más cercanos al 100% se obtienen entre los 20 y 40 min de reposo, en la suspensión no se observa diferencia significativa entre los diferentes tiempos de reposo, determinandose como 20 min el tiempo adecuado para la completa precipitación del calcio.

3.2. METODO PROPUESTO

Considerando los resultados de la optimización se propone el siguiente método para ser validado.

Solución de la muestra.- Pesar con precisión en un matraz erlenmeyer una cantidad de la suspensión, previamente agitada en el envase original, equivalente a 350 mg de hidróxido de aluminio (aproximadamente 6 g).

Adicionar 10 ml de agua. agitar y adicionar lentamente 20 ml de ácido clorhídrico 3N. Calentar suavemente hasta ebullición. enfriar y transferir a un matraz volumétrico de 100 ml. Lavar el matraz

erlenmeyer con agua y adicionar los lavados al matraz volumétrico, llevar a volumen con agua y mezclar.

Valoración de hidróxido de aluminio.

Titulante.- Etilendiaminotetracetato de sodio (EDTA), estandarizar como se indica en la valoración de aluminio (materia prima, USP XXII p.41).

Transferir una alícuota de 10.0 ml de la solución de la muestra a un matraz erlenmeyer de 250 ml y adicionar en el siguiente orden con agitación continua, 25.0 ml de solución titulante 0.05M de EDTA y 20 ml de solución reguladora de acetato de amonio - ácido acético, adicionar 50 ml de alcohol y 2 ml de solución reactivo de ditizona y mezclar.

Titular con solución valorada 0.05M de sulfato de zinc hasta cambio de color verde violeta a rosa. Correr un blanco de reactivos sustituyendo la muestra por 10 ml de agua y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de solución 0.05M de EDTA consumido es equivalente a 3.9 mg de $Al(OH)_3$.

Valoración de hidróxido de magnesio.

Transferir una alícuota de 20 ml de la solución de la muestra (equivalente a 72.5 mg de hidróxido de magnesio), a un matraz volumétrico de 50 ml, adicionar 10 ml de una solución al 3% de oxalato de amonio, adicionar 2 gotas de solución indicadora de rojo de metilo y agitar, adicionar lentamente una solución al 10% de hidróxido de amonio (aproximadamente 5 ml) hasta el viraje del indicador de color rojo a amarillo y adicionar agua hasta

aproximadamente 2 ml antes de la marca de aforo. Ajustar el pH entre 7 y 7.5 (medir con papel indicador de pH 5 - 10) adicionando unas gotas de solución al 10% de hidróxido de amonio, llevar a volumen con agua destilada y mezclar, dejar precipitando en reposo durante 20 min.

Transferir aproximadamente 35 ml del sobrenadante a un tubo de centrifuga de 50 ml, centrifugar durante 7 min a 3000 rpm. Transferir una alícuota de 25 ml del sobrenadante a un matraz erlenmeyer de 250 ml, adicionar 55 ml de una solución 1:10 de trietanolamina-agua y mezclar. Adicionar 50 ml de solución reguladora de cloruro de amonio - amoniaco y de 4 a 5 gotas de solución indicadora de negro de eriocromo T en un mezcla de 15 ml de trietanolamina y 5 ml de etanol absoluto, mezclar. Enfriar la solución entre 3 y 4°C por inmersión del matraz en un baño de hielo, titular con solución valorada 0.05M de EDTA hasta punto final azul fuerte. Correr un blanco de reactivos sustituyendo la solución de la muestra por 20 ml de agua y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de solución 0.05M de EDTA es equivalente a 2.916 mg de $Mg(OH)_2$.

Valoración de carbonato de calcio.

Transferir una alícuota de 10 ml de la solución de la muestra (equivalente a 36.3 mg de hidróxido de magnesio), a un matraz erlenmeyer de 250 ml, adicionar 55 ml de una solución 1:10 de trietanolamina-agua y mezclar. Adicionar 50 ml de solución reguladora de cloruro de amonio - amoniaco y 2 gotas de solución indicadora de negro de eriocromo T en un mezcla de 15 ml de trietanolamina y 5 ml de etanol absoluto, mezclar. Enfriar la

solución entre 3 y 4°C por inmersión del matraz en un baño de hielo, titular con solución valorada 0.05M de EDTA hasta punto final azul fuerte. Correr un blanco de reactivos sustituyendo la solución de la muestra por 10 ml de agua y hacer las correcciones necesarias.

Restar el volumen de solución 0.05M de EDTA consumido en la valoración de hidróxido de magnesio al volumen de solución 0.05M de EDTA consumido en esta valoración. Cada ml de solución 0.05M de EDTA es equivalente a 5.04 mg de CaCO_3 .

3.3. VALIDACION DEL METODO PARA LA SUSPENSION.

Para determinar la confiabilidad del método propuesto se realizan pruebas para demostrar su especificidad, probar la linealidad, determinar la exactitud, establecer la precisión y la estabilidad de la muestra.

3.3.1. ESPECIFICIDAD DEL METODO.

Se mantienen muestras de producto terminado, placebo total, placebo de aluminio, placebo de magnesio y placebo de calcio en frasco de vidrio ámbar, durante 14 días a temperatura ambiente (T.A.) y a 70 °C . Se valoraron los tres activos.

ALUMINIO % $Al(OH)_3$.

	T.A.	14 DIAS, 70 °C
Placebo de hidróxido de aluminio	0.00	0.00
Placebo total	0.00	0.00
Producto terminado	96.93	97.37

MAGNESIO % $Mg(OH)_2$.

	T.A.	14 DIAS, 70 °C
Placebo de hidróxido de magnesio	0.14	0.16
Placebo total	0.10	0.10
Producto terminado	98.65	98.36

CALCIO % CaCO₃.

	T.A.	14 DIAS, 70 °C
Placebo de carbonato de calcio	0.00	0.00
Placebo total	0.00	0.00
Producto terminado	102.58	102.28

Se observa que para aluminio y calcio no existe interferencia en la cuantificación por parte de los activos y excipientes de la formulación tanto en las muestras mantenidas a temperatura ambiente como en las muestras sometidas a 70 °C durante 14 días.

En la cuantificación de magnesio se encontró una pequeña cantidad de magnesio aportada por uno de los excipientes de la formulación, se trata del silicato de aluminio - magnesio (Veegum) que se utiliza como agente suspensor, se considera que esta cantidad no es significativa para interferir en la cuantificación de este activo.

3.3.2. LINEALIDAD DEL SISTEMA

Se prepara una solución concentrada de estándares conteniendo a los tres activos, se toman alícuotas que contengan cantidades que abarcan del 60% al 140% respecto a la cantidad normalmente utilizada en la valoración de cada uno de los activos y se gráfica la cantidad adicionada vs la respuesta del sistema de detección; en este caso son milimoles (mmol) de titulante consumido y se calcula la linealidad.

ALUMINIO $\text{Al}(\text{OH})_3$

La cantidad que normalmente se titula es de 35 mg.

Nota: Se prepararon dos soluciones concentradas de estándares.

%	Cantidad adicionada (mg)	mmol EDTA	Factor (F)
60	20.217	0.2707	74.68
	21.012	0.2844	73.88
80	26.952	0.3733	72.20
	28.016	0.3733	75.05
100	33.696	0.4434	75.99
	35.020	0.4570	76.63
120	40.435	0.5443	74.29
	42.024	0.5511	76.25
140	47.174	0.6195	76.15
	49.028	0.6400	76.61

Donde: Factor (F) = Cantidad adicionada / mmol EDTA

Resultados

$$b = 0.0171$$

$$\bar{F} = 75.15$$

$$m = 0.0128$$

$$DE = 1.43$$

$$r = 0.9988$$

$$CV = 1.91\%$$

$$r^2 = 0.9976$$

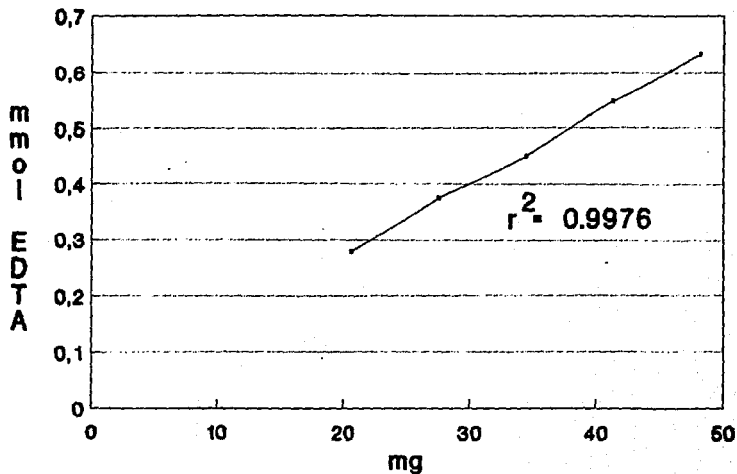
Criterio

$$CV \leq 2.0\%$$

$$r \geq 0.99$$

$$r^2 \geq 0.98$$

LINEALIDAD DEL SISTEMA HIDROXIDO DE ALUMINIO



MAGNESIO $Mg(OH)_2$

La cantidad que normalmente se titula es de 72.5 mg.

%	Cantidad adicionada (mg)	mmol EDTA	Factor (F)
60	42.75	0.73	58.56
	42.75	0.73	58.56
80	56.99	0.98	58.15
	56.99	0.98	58.15
100	71.24	1.22	58.39
	71.24	1.23	57.92
120	85.49	1.47	58.16
	85.49	1.46	58.55
140	99.74	1.71	58.33
	99.74	1.71	58.33

Resultados

$b = - 0.0005$	$\bar{F} = 58.31$
$m = 0.0172$	DE = 0.21
$r = 0.9999$	CV = 0.37%
$r^2 = 0.9999$	

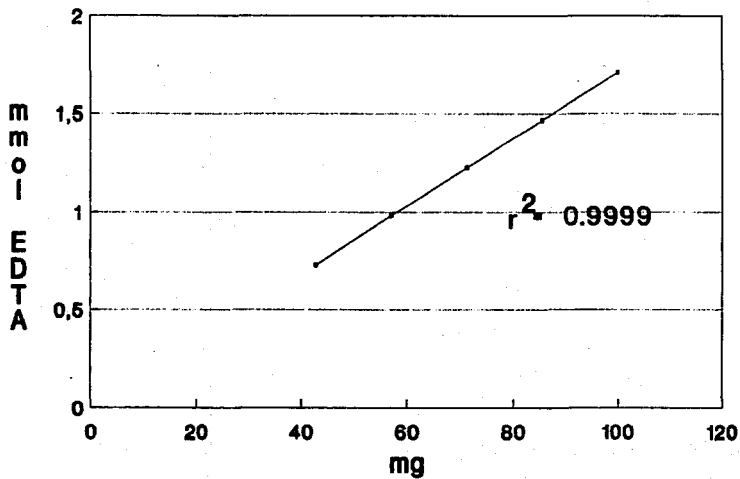
Criterio

$$CV \leq 2.0\%$$

$$r \geq 0.99$$

$$r^2 \geq 0.98$$

LINEALIDAD DEL SISTEMA HIDROXIDO DE MAGNESIO



CALCIO CaCO_3

La cantidad que normalmente se titula es de 43.8 mg.

%	Cantidad adicionada (mg)	mmol EDTA	Factor (F)
60	25.52	0.26	98.15
	25.52	0.26	98.15
80	34.03	0.34	100.09
	34.03	0.34	100.09
100	42.54	0.42	101.29
	42.54	0.43	98.93
120	51.04	0.51	100.08
	51.04	0.51	100.08
140	59.55	0.60	99.25
	59.55	0.60	99.25

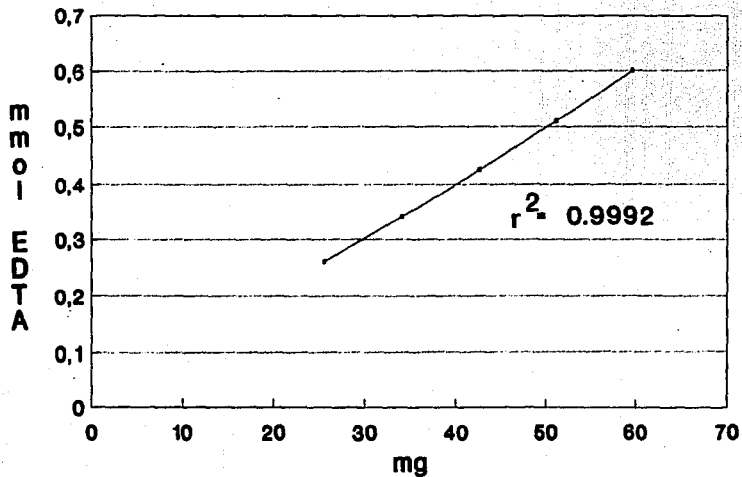
Resultados

$b = 0.0020$ $\bar{F} = 99.54$
 $m = 0.0100$ $DE = 0.98$
 $r = 0.9996$ $CV = 0.99\%$
 $r^2 = 0.9992$

Criterio

$CV \leq 2.0\%$
 $r \geq 0.99$
 $r^2 \geq 0.98$

LINEALIDAD DEL SISTEMA CARBONATO DE CALCIO



3.3.3. PRECISION DEL SISTEMA

De la solución concentrada de estándares utilizada para la linealidad del sistema se toman 6 alícuotas que contengan el 100 % de la cantidad normalmente valorada en el análisis de cada uno de los activos y se calcula la variación que existe entre los resultados obtenidos.

ALUMINIO $Al(OH)_3$

Cantidad adicionada (mg)	mmol EDTA
35.020	0.4571
35.020	0.4571
35.020	0.4571
33.696	0.4469
33.696	0.4469
33.696	0.4469

Resultados

$$\bar{x} = 0.4520$$

$$DE = 1.2305$$

$$CV = 1.66 \%$$

Criterio

$$CV \leq 2.0\%$$

MAGNESIO $Mg(OH)_2$

Cantidad adicionada (mg)	mmol EDTA
71.24	1.2152
71.24	1.2252
71.24	1.2152
71.24	1.2202
71.24	1.2152
71.24	1.2202

Resultados

$$\bar{x} = 1.2185$$

$$DE = 0.0041$$

$$CV = 0.3350 \%$$

Criterio

$$CV \leq 2.0\%$$

CALCIO $CaCO_3$

Cantidad adicionada (mg)	mmol EDTA
42.69	0.4230
42.69	0.4232
42.69	0.4330
42.96	0.4428
42.96	0.4330
42.96	0.4330

Resultados

$$\bar{x} = 0.4313$$

$$DE = 0.0074$$

$$CV = 1.7161 \%$$

Criterio

$$CV \leq 2.0\%$$

3.3.4. LINEALIDAD Y EXACTITUD DEL METODO

Se prepara una solución concentrada de estándares conteniendo a los tres activos, se toman alícuotas que contengan cantidades que abarcan del 60% al 140% respecto a la cantidad normalmente utilizada en la valoración de cada uno de los activos y se adicionan a una cantidad constante de placebo, se gráfica la cantidad adicionada vs la cantidad recuperada, se calcula la linealidad y la exactitud.

ALUMINIO $Al(OH)_3$

La cantidad que normalmente se titula es de 35 mg.

%	Cantidad adicionada (mg)	Cantidad recuperada (mg)	% Recuperado
60	20.83	20.84	100.05
	20.83	20.84	100.05
80	27.78	27.91	100.48
	27.78	27.91	100.48
100	34.72	34.79	100.21
	34.72	34.79	100.21
120	41.67	41.67	100.00
	41.67	41.67	100.00
140	48.61	48.55	99.88
	48.61	48.75	100.29

Resultados

Linealidad
 $b = 0.0850$

Exactitud
 $\bar{x} = 100.17 \%$

$m = 0.9990$

DE = 0.21

$r = 0.9999$

CV = 0.21 %

$r^2 = 0.9998$

Criterio

$b \approx 0$

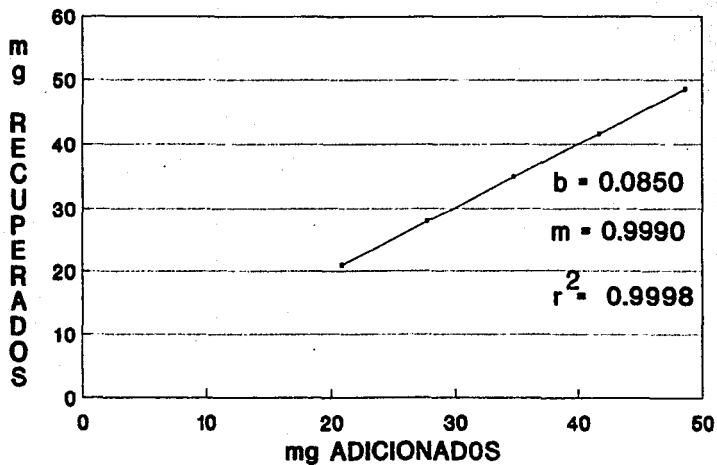
$\bar{x} = 97 - 103 \%$

$m \approx 1$

CV $\leq 3 \%$

$r^2 \geq 0.98$

LINEALIDAD DEL METODO HIDROXIDO DE ALUMINIO



SUSPENSION

MAGNESIO $Mg(OH)_2$

La cantidad que normalmente se titula es de 72.5 mg.

%	Cantidad adicionada (mg)	Cantidad recuperada (mg)	% Recuperado
60	42.75	42.80	100.11
	42.75	42.80	100.11
80	56.99	56.97	99.96
	56.99	56.97	99.96
100	71.24	71.14	99.86
	71.24	71.14	99.86
120	85.49	85.31	99.79
	85.49	85.60	100.13
140	99.74	99.77	100.03
	99.74	100.06	100.32

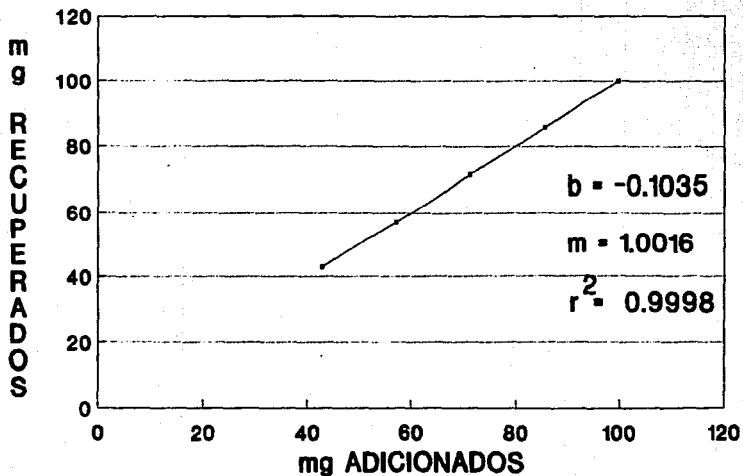
Resultados

$$\begin{aligned}
 b &= -0.1035 & \bar{X} &= 100.01 \% \\
 m &= 1.0016 & DE &= 0.16 \\
 r &= 0.9999 & CV &= 0.16 \% \\
 r^2 &= 0.9998
 \end{aligned}$$

Criterio

$$\begin{aligned}
 b &\approx 0 & \bar{X} &= 97 - 103 \% \\
 m &\approx 1 & CV &\leq 3 \% \\
 r^2 &\geq 0.98
 \end{aligned}$$

LINEALIDAD DEL METODO HIDROXIDO DE MAGNESIO



SUSPENSION

CALCIO CaCO_3

La cantidad que normalmente se titula es de 43.8 mg.

%	Cantidad adicionada (mg)	Cantidad recuperada (mg)	% Recuperado
60	25.52	25.56	100.16
	25.52	25.56	100.16
80	34.03	34.25	100.65
	34.03	34.25	100.65
100	42.54	42.69	99.77
	42.54	42.44	100.35
120	51.04	51.13	100.18
	51.04	51.13	100.18
140	59.55	59.57	100.03
	59.55	59.57	100.03

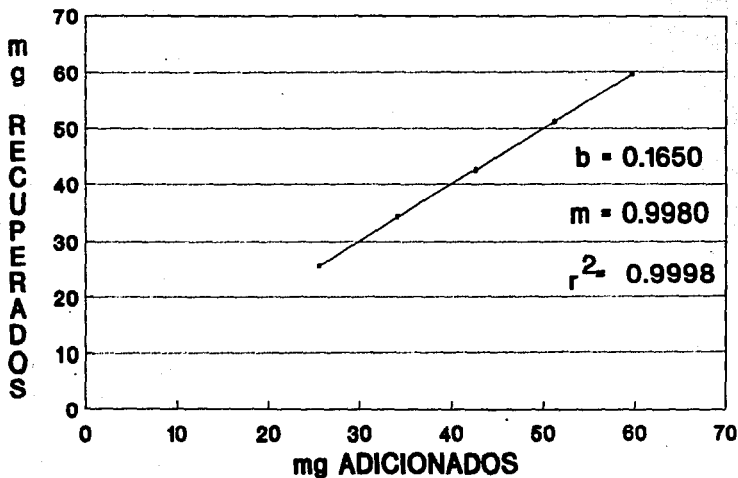
Resultados

$b = 0.1650$	$\bar{X} = 100.22 \%$
$m = 0.9980$	$DE = 0.27$
$r = 0.9999$	$CV = 0.27 \%$
$r^2 = 0.9998$	

Criterio

$b \approx 0$	$\bar{X} = 97 - 103 \%$
$m \approx 1$	$CV \leq 3 \%$
$r^2 \geq 0.98$	

LINEALIDAD DEL METODO CARBONATO DE CALCIO



SUSPENSION

EXACTITUD AL 100 %.

Se toman 6 alícuotas de la solución concentrada de estándares (ver linealidad) que contengan la cantidad equivalente al 100 % respecto a la cantidad normalmente utilizada en la valoración de cada uno de los activos y se adicionan a una cantidad constante de placebo, se calcula el por ciento recuperado.

	Cantidad adicionada (mg)	Cantidad recuperada (mg)	% Recuperado
	34.72	34.79	100.21
	34.72	34.79	100.21
ALUMINIO	35.12	34.94	99.50
	35.12	34.88	99.32
Al(OH) ₃	34.93	35.10	100.50
	34.93	35.03	100.00
			$\bar{X} = 100.00$
			CV = 0.48 %
	71.24	71.14	99.86
	71.24	71.14	99.86
MAGNESIO	72.53	72.75	100.30
	72.53	72.76	100.32
Mg(OH) ₂	71.46	71.57	100.16
	71.46	71.42	99.95
			$\bar{X} = 100.08$
			CV = 0.21 %
	42.54	42.69	99.77
	42.54	42.44	100.35
CALCIO	43.18	43.12	100.15
	43.18	43.27	100.20
CaCO ₃	43.97	43.98	100.03
	43.97	43.96	99.98
			$\bar{X} = 100.08$
			CV = 0.20 %

Criterio :

$$\bar{X} = 97 - 103 \% , \quad CV \leq 3 \%$$

3.3.5. PRECISION DEL METODO (REPRODUCIBILIDAD)

Se trabaja una muestra homogénea de la suspensión como producto terminado, la analizan dos analistas, en dos días diferentes y por triplicado.

	% Al(OH) ₃		% Mg(OH) ₂		% CaCO ₃	
	ANALISTA		ANALISTA		ANALISTA	
	1	2	1	2	1	2
DIA 1	100.02	98.77	99.54	99.38	102.52	102.31
	100.19	97.82	99.23	99.97	102.42	100.64
	101.05	98.29	98.94	99.67	102.81	100.32
DIA 2	98.50	98.48	100.21	100.21	99.49	99.27
	97.86	99.13	100.91	100.91	100.37	101.55
	98.58	97.56	99.29	99.29	97.53	100.20
\bar{x}	98.85		100.17		100.79	
DE	1.06		1.24		1.59	
CV	1.08 %		1.24 %		1.58 %	

Criterio : CV \leq 3 %

3.3.6. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

Se toma una muestra de la suspensión y se prepara como se indica en el método analítico, se toman alícuotas para valorar a los tres activos y se deja la preparación de la muestra a temperatura ambiente durante 7 días, al término de este periodo se toman alícuotas para volver a valorar a los tres activos.

ALUMINIO % Al(OH)₃

Muestra	Inicial	7 Días a T.A.	I
1	97.27	97.21	99.94
2	97.27	97.21	99.94
3	97.45	97.57	100.12
4	97.45	97.57	100.12
5	96.52	97.39	100.90
6	96.52	96.82	100.31
\bar{X}	97.08	97.30	100.22 %
DE	0.44	0.28	0.36
S ²	0.19	0.08	-----
CV	0.45 %	0.29 %	0.36 %
IC	= - 0.4918 a 0.9218		

Donde:

$$\bar{I} = (\text{análisis 7 días TA} / \text{análisis inicial}) * 100$$

$$IC = (\bar{X} \text{ 7 días TA} - \bar{X} \text{ inicial}) \pm 2.86 \sqrt{Sp^2(2/3)}$$

$$Sp^2 = \frac{(2 * S^2_{inicial}) + (2 * S^2_{7 \text{ días TA}})}{2(2 + 1)}$$

Criterios

- 1) $\bar{I} = 98 - 102 \%$
- 2) El intervalo de confianza (IC) debe incluir al valor de cero.

MAGNESIO % Mg(OH)₂

Muestra	Inicial	7 Días a T.A.	I
1	98.46	98.46	100.00
2	100.60	99.54	98.93
3	98.69	98.69	100.00
4	99.76	98.69	98.93
5	98.39	98.39	100.00
6	99.48	98.39	98.90
\bar{X}	99.23	98.69	99.46
DE	0.87	0.44	0.59
S ²	0.76	0.19	-----
CV	0.88 %	0.44 %	0.59 %
IC = - 1.85 a 0.77			

CALCIO % CaCO₃

Muestra	Inicial	7 Días a T.A.	I
1	104.05	102.53	98.54
2	100.99	99.47	98.49
3	103.17	103.17	100.00
4	101.16	104.70	103.50
5	103.58	102.04	98.51
6	102.04	103.58	101.51
\bar{X}	102.50	102.58	100.09
DE	1.29	1.78	2.05
S ²	1.66	3.17	-----
CV	1.26 %	1.73 %	2.05 %
IC = - 2.88 a 3.67			

Criterios

- 1) $\bar{I} = 98 - 102 \%$
- 2) El intervalo de confianza (IC) debe incluir al valor de cero.

3.3.7. ANALISIS DE RESULTADOS

1. Especificidad.

El método propuesto se considera específico para cuantificar aluminio, magnesio y calcio, porque no existen interferencias entre los principios activos ni por parte de los excipientes y tampoco de los posibles productos de degradación de la formulación.

2. Linealidad del sistema.

En el rango de concentraciones del 60 % al 140 % respecto a la concentración normalmente utilizada en la valoración de cada uno de los tres activos, se encontró:

- Que el valor del coeficiente de correlación (r) obtenido del cálculo de la regresión lineal, es mayor a 0.99 lo cual indica que existe alta relación lineal entre las variables cantidad adicionada y mmol de titulante.
- Que el valor del coeficiente de determinación (r^2) es mayor a 0.98, lo cual indica que más del 98 % de las observaciones son explicadas por la recta de regresión.
- Que los valores obtenidos para la relación cantidad adicionada / mmol de EDTA en todos niveles del intervalo es constante ya que su coeficiente de variación (CV) es menor a 2 %.

3. Precisión del sistema.

En la precisión del sistema los valores del coeficiente de variación (CV) para aluminio, magnesio y calcio son menores a 2 %, comprobándose que el sistema es preciso para los tres activos.

4. Linealidad y exactitud del método.

Los valores del coeficiente de determinación (r^2), pendiente (m) y ordenada al origen (b) obtenidos del cálculo de la regresión lineal para cada uno de los tres activos, son mayores a 0.98, aproximadamente a uno y aproximadamente a cero respectivamente, lo cual indica que la relación entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada, utilizando el método de cuantificación propuesto, presenta un comportamiento lineal en el rango de concentraciones del 60 % al 140 % respecto a la concentración normalmente utilizada.

Por otra parte, para el 100 % respecto al nivel normal ensayado se encontró que el promedio del porcentaje recuperado es significativamente igual a 100 %, ya que se encuentra dentro del intervalo del 97 % al 103 % y el coeficiente de variación (CV) de los datos con los que se obtuvo es menor al 3 %.

5. Precisión del método (reproducibilidad).

La variación (CV) encontrada entre los resultados obtenidos por los dos químicos en dos días diferentes en un total de 12 datos es menor al 3 % para cada uno de los tres activos, lo cual indica que el método es reproducible.

6. Estabilidad de la muestra.

El promedio de los valores obtenidos para el factor I indica que la muestra preparada es estable durante 7 días a temperatura ambiente, ya que se encuentra dentro del intervalo del 98 % al 102 %.

El intervalo de confianza para la diferencia de los promedios en los resultados iniciales y después de 7 días a T.A. incluye el valor de cero, con lo que también se demuestra que la muestra preparada es estable al menos 7 días a temperatura ambiente.

3.4. VALIDACION DEL METODO PARA LAS TABLETAS

3.4.1. METODO PROPUESTO

El método propuesto esta basado en el desarrollado para la suspensión, el único cambio es en la preparación de la solución de la muestra la cual se adecuó para las tabletas.

Solución de la muestra.- Pesar y pulverizar finamente no menos de 20 tabletas, depositar una porción del polvo pesada con precisión equivalente a 298.3 mg de hidróxido de aluminio (aproximadamente 1.6 g) a un matraz erlenmeyer.

Adicionar 10 ml de agua, agitar y adicionar lentamente 20 ml de ácido clorhídrico 3N. Calentar suavemente hasta ebullición, enfriar y transferir a un matraz volumétrico de 100 ml. Lavar el matraz erlenmeyer con agua y adicionar los lavados al matraz volumétrico, llevar a volumen con agua y mezclar.

Valoración de hidróxido de aluminio.

Titulante.- Etilendiaminotetracetato de sodio (EDTA), estandarizar como se indica en la valoración de aluminio (materia prima USP XXII p. 41).

Transferir una alícuota de 10.0 ml de la solución de la muestra a un matraz erlenmeyer de 250 ml y adicionar en el siguiente orden con agitación continua, 25.0 ml de solución titulante 0.05M de EDTA y 20 ml de solución reguladora de acetato de amonio - ácido acético, adicionar 50 ml de alcohol y 2 ml de solución reactivo de ditizona y mezclar.

Titular con solución valorada 0.05M de sulfato de zinc hasta cambio de color verde violeta a rosa. Correr un blanco de reactivos substituyendo la muestra por 10 ml de agua y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de solución 0.05M de EDTA consumido es equivalente a 3.9 mg de $Al(OH)_3$.

Valoración de hidróxido de magnesio.

Transferir una alícuota de 20 ml de la solución de la muestra (equivalente a 76.48 mg de hidróxido de magnesio), a un matraz volumétrico de 50 ml, adicionar 10 ml de una solución al 3% de oxalato de amonio, adicionar 2 gotas de solución indicadora de rojo de metilo y agitar, adicionar lentamente una solución al 10% de hidróxido de amonio (aproximadamente 5 ml) hasta el viraje del indicador de color rojo a amarillo y adicionar agua hasta aproximadamente 2 ml antes de la marca de aforo. Ajustar el pH entre 7 y 7.5 (medir con papel indicador de pH 5 - 10) adicionando unas gotas de solución al 10% de hidróxido de amonio, llevar a volumen con agua destilada y mezclar, dejar precipitando en reposo durante 20 min.

Transferir aproximadamente 35 ml del sobrenadante a un tubo de centrifuga de 50 ml, centrifugar durante 7 min a 3000 rpm. Transferir una alícuota de 25 ml del sobrenadante a un matraz erlenmeyer de 250 ml, adicionar 55 ml de una solución 1:10 de trietanolamina-agua y mezclar. Adicionar 50 ml de solución reguladora de cloruro de amonio - amoniaco y de 4 a 5 gotas de solución indicadora de negro de eriocromo T en un mezcla de 15 ml de trietanolamina y 5 ml de etanol absoluto, mezclar. Enfriar la

solución entre 3 y 4°C por inmersión del matraz en un baño de hielo, titular con solución valorada 0.05M de EDTA hasta punto final azul fuerte. Correr un blanco de reactivos sustituyendo la solución de la muestra por 20 ml de agua y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de solución 0.05M de EDTA es equivalente a 2.916 mg de $Mg(OH)_2$.

Valoración de carbonato de calcio.

Transferir una alícuota de 10 ml de la solución de la muestra (equivalente a 38.24 mg de hidróxido de magnesio), a un matraz erlenmeyer de 250 ml, adicionar 95 ml de una solución 1:10 de trietanolamina-agua y mezclar. Adicionar 50 ml de solución reguladora de cloruro de amonio - amoniaco y 2 gotas de solución indicadora de negro de eriocromo T en un mezcla de 15 ml de trietanolamina y 5 ml de etanol absoluto, mezclar. Enfriar la solución entre 3 y 4°C por inmersión del matraz en un baño de hielo, titular con solución valorada 0.05M de EDTA hasta punto final azul fuerte. Correr un blanco de reactivos sustituyendo la solución de la muestra por 10 ml de agua y hacer las correcciones necesarias.

Restar el volumen de solución 0.05M de EDTA consumido en la valoración de hidróxido de magnesio al volumen de solución 0.05M de EDTA consumido en esta valoración. Cada ml de solución 0.05M de EDTA es equivalente a 5.04 mg de $CaCO_3$.

3.4.2. ESPECIFICIDAD DEL METODO.

Se mantienen muestras de producto terminado, placebo total, placebo de aluminio, placebo de magnesio y placebo de calcio en frasco de vidrio ámbar, durante 14 días a temperatura ambiente (T.A.) y a 70 °C . Se valoraron los tres activos.

Los principios activos se encuentran contenidos en las siguientes materias primas:

Hidróxido de aluminio - carbonato de magnesio gel seco, hidróxido de magnesio gel seco y carbonato de calcio precipitado. Debido a que se utilizan estas materias primas se espera detectar magnesio en el placebo de magnesio, aportado por el hidróxido de aluminio - carbonato de magnesio gel seco.

ALUMINIO % $Al(OH)_3$.

	T.A.	14 DIAS, 70 °C
Placebo de hidróxido de aluminio	0.00	0.00
Placebo total	0.00	0.00
Producto terminado	105.20	105.68

MAGNESIO % $Mg(OH)_2$.

	T.A.	14 DIAS, 70 °C
Hidróxido de aluminio - carbonato de magnesio gel seco	15.54	----
Placebo de hidróxido de magnesio	15.17	15.19
Placebo total	0.00	0.00
Producto terminado	97.45	97.59

CALCIO % CaCO₃.

	T.A.	14 DIAS, 70 °C
Placebo de carbonato de calcio	0.00	0.00
Placebo total	0.00	0.00
Producto terminado	99.95	100.10

Se observa que para aluminio y calcio no existe interferencia en su cuantificación por parte de los activos y excipientes de la formulación tanto en las muestras mantenidas a temperatura ambiente como en las muestras sometidas a 70 °C durante 14 días.

Se comprobó que el porcentaje de magnesio encontrado en el placebo del mismo, es aportado únicamente por la materia prima hidróxido de aluminio - carbonato de magnesio gel seco ya que la cantidad de magnesio presente en esta es igual a la encontrada en el placebo. En base a lo anterior vemos que no hay interferencia por alguna de las otras materias primas o excipientes de la formulación.

3.4.3. LINEALIDAD Y EXACTITUD DEL METODO

Se prepararon dos soluciones concentradas de estándares conteniendo a los tres activos, se toman alícuotas que contengan cantidades que abarcan del 60% al 140% respecto a la cantidad normalmente utilizada en la valoración de cada uno de los activos y se adicionan a una cantidad constante de placebo. se gráfica la cantidad adicionada vs. la cantidad recuperada, se calcula la linealidad y la exactitud.

ALUMINIO $Al(OH)_3$

La cantidad que normalmente se titula es de 29.83 mg.

%	Cantidad adicionada (mg)	Cantidad recuperada (mg)	% Recuperado
60	18.97	19.03	100.31
	18.99	19.03	100.17
80	25.29	25.37	100.30
	25.33	25.37	100.17
100	31.62	31.71	100.30
	31.66	31.71	100.17
120	37.94	38.05	100.30
	37.99	38.05	100.17
140	44.26	43.99	99.41
	44.32	43.99	99.28

Resultados

Linealidad

Exactitud

$$b = 0.3306$$

$$\bar{X} = 100.06$$

$$m = 0.9893$$

$$DE = 0.38$$

$$r = 0.9999$$

$$CV = 0.38 \%$$

$$r^2 = 0.9998$$

Criterio

$$b \approx 0$$

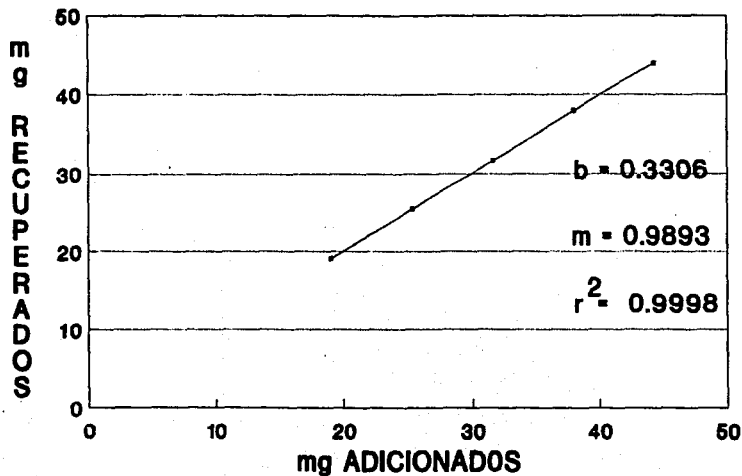
$$\bar{X} = 97 - 103 \%$$

$$m \approx 1$$

$$CV \leq 3 \%$$

$$r^2 \geq 0.98$$

LINEALIDAD DEL METODO HIDROXIDO DE ALUMINIO



TABLETAS

MAGNESIO $Mg(OH)_2$

La cantidad que normalmente se titula es de 76.48 mg.

%	Cantidad adicionada (mg)	Cantidad recuperada (mg)	% Recuperado
60	44.55	44.84	100.65
	44.57	44.84	100.61
80	59.40	59.79	100.65
	59.42	59.79	100.61
100	74.25	74.73	100.65
	74.28	74.73	100.61
120	89.10	89.10	100.00
	89.14	89.10	99.96
140	103.95	104.05	100.10
	103.99	104.05	100.06

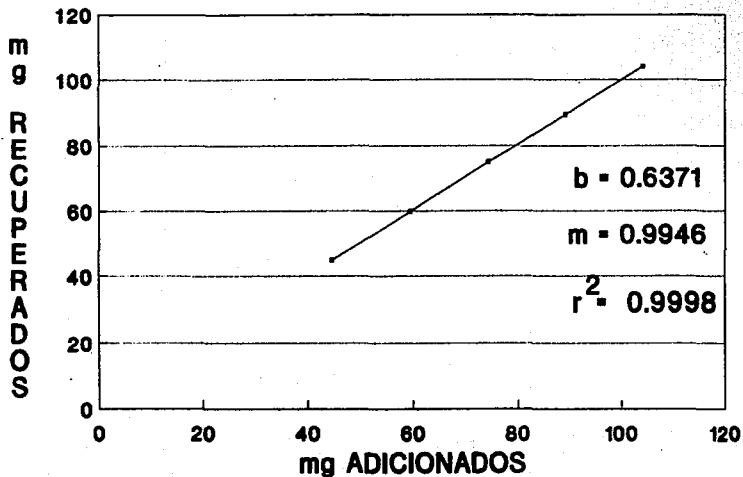
Resultados

$$\begin{aligned}
 b &= 0.6371 & \bar{x} &= 100.39 \\
 m &= 0.9946 & DE &= 0.31 \\
 r &= 0.9999 & CV &= 0.31 \% \\
 r^2 &= 0.9998
 \end{aligned}$$

Criterio

$$\begin{aligned}
 b &\approx 0 & \bar{x} &= 97 - 103 \% \\
 m &\approx 1 & CV &\leq 3 \% \\
 r^2 &\geq 0.98
 \end{aligned}$$

LINEALIDAD DEL METODO HIDROXIDO DE MAGNESIO



TABLETAS

CALCIO CaCO_3

La cantidad que normalmente se titula es de 41.0 mg.

%	Cantidad adicionada (mg)	Cantidad recuperada (mg)	% Recuperado
60	24.38	24.18	99.18
	24.38	24.18	99.18
80	32.51	32.56	100.15
	32.51	32.56	100.15
100	40.63	40.46	100.79
	40.64	40.95	99.56
120	48.76	48.85	100.18
	48.77	48.85	100.16
140	56.88	56.74	99.75
	56.90	56.74	99.72

Resultados

$$b = 0.0964$$

$$\bar{X} = 99.88$$

$$m = 1.0017$$

$$DE = 0.50$$

$$r = 0.9999$$

$$CV = 0.50 \%$$

$$r^2 = 0.9998$$

Criterio

$$b \approx 0$$

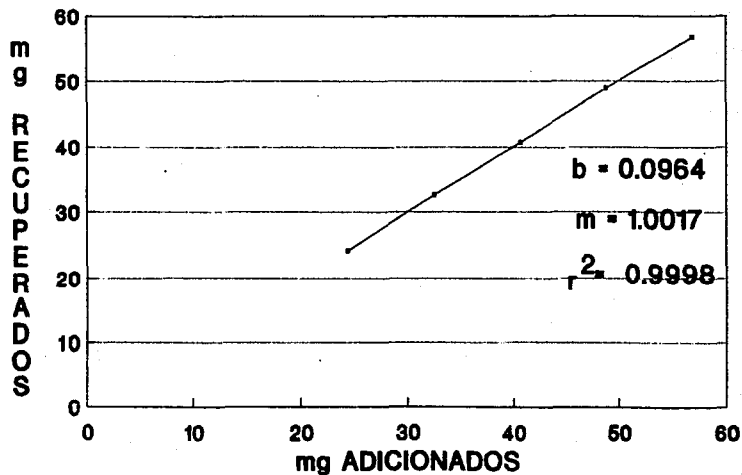
$$\bar{X} = 97 - 103 \%$$

$$m \approx 1$$

$$CV \leq 3 \%$$

$$r^2 \geq 0.98$$

LINEALIDAD DEL METODO CARBONATO DE CALCIO



TABLETAS

EXACTITUD AL 100 %.

Se toman 6 alícuotas de la solución concentrada de estándares (ver linealidad) que contengan la cantidad equivalente al 100 % respecto a la cantidad normalmente utilizada en la valoración de cada uno de los activos y se adicionan a una cantidad constante de placebo, se calcula el por ciento recuperado.

	Cantidad adicionada (mg)	Cantidad recuperada (mg)	% Recuperado
ALUMINIO	31.62	31.71	100.30
	31.66	31.71	100.17
	30.16	30.21	100.18
	30.88	30.96	100.26
	Al(OH) ₃	29.78	29.87
	29.81	29.63	99.41
			$\bar{x} = 100.11$
			CV = 0.35 %
MAGNESIO	74.25	74.73	100.65
	74.28	74.73	100.61
	75.07	75.05	99.98
	75.13	75.24	100.15
	Mg(OH) ₂	76.10	75.88
	76.95	77.24	100.38
			$\bar{x} = 100.25$
			CV = 0.37 %
CALCIO	40.63	40.46	100.79
	40.64	40.95	99.56
	40.39	40.50	99.72
	40.85	40.95	99.75
	CaCO ₃	41.01	41.08
	41.36	42.03	100.16
			$\bar{x} = 100.03$
			CV = 0.45 %

Criterio :

$$\bar{x} = 97 - 103 \% , \quad CV \leq 3 \%$$

3.4.4. PRECISION DEL METODO (REPRODUCIBILIDAD).

Se trabaja una muestra homogénea de las tabletas como producto terminado, la analizan dos analistas, en dos días diferentes y por triplicado.

	% Al(OH) ₃		% Mg(OH) ₂		% CaCO ₃	
	ANALISTA		ANALISTA		ANALISTA	
	1	2	1	2	1	2
DIA 1	105.70	106.03	97.50	98.17	100.00	99.66
	104.95	106.09	97.80	97.69	99.31	99.59
	104.96	106.55	97.05	97.84	100.54	100.03
DIA 2	105.35	106.56	96.97	97.66	100.05	100.04
	105.31	105.66	97.51	98.14	100.02	100.44
	105.40	105.80	96.83	98.14	100.10	99.95
\bar{X}	105.70		97.61		99.99	
DE	0.54		0.46		0.33	
CV	0.51 %		0.47 %		0.33 %	

Criterio

$$CV \leq 3 \%$$

3.4.5. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

Se toman muestras de las tabletas y se prepara como se indica en el método analítico, se toman alicuotas para valorar a los tres activos y se deja la preparación de la muestra a temperatura ambiente durante 7 días, al término de este periodo se toman alicuotas para valorar a los tres activos.

ALUMINIO % Al(OH)₃

Muestra	Inicial	7 Días a T.A.	I
1	106.37	106.83	100.43
2	105.03	105.50	100.45
3	104.95	105.42	100.45
4	104.95	106.75	101.72
5	104.95	105.43	100.46
6	104.96	105.43	100.45
\bar{X}	105.20	105.89	100.66
DE	0.57	0.70	0.52
S ²	0.33	0.49	-----
CV	0.54 %	0.66 %	0.52 %
IC =	- 0.52 a 1.90		

Donde:

$$\bar{I} = (\text{análisis 7 días TA} / \text{análisis inicial}) * 100$$

$$IC = (\bar{X}_{7 \text{ días TA}} - \bar{X}_{\text{inicial}}) \pm 2.86 \sqrt{Sp^2(2/3)}$$

$$Sp^2 = \frac{(2 * S^2_{\text{inicial}}) + (2 * S^2_{7 \text{ días TA}})}{2(2 + 1)}$$

Criterios

- 1) $\bar{I} = 98 - 102 \%$
- 2) El intervalo de confianza (IC) debe incluir al valor de cero.

MAGNESIO % Mg(OH)₂

Muestra	Inicial	7 Días a T.A.	I
1	97.50	96.92	99.41
2	97.50	97.69	100.19
3	97.42	96.86	99.43
4	98.18	97.61	99.42
5	96.66	96.86	100.21
6	97.43	96.86	99.41
\bar{X}	97.45	97.13	99.68
DE	0.48	0.40	0.40
S ²	0.23	0.16	-----
CV	0.49 %	0.41 %	0.41 %
IC =	- 1.16 a 0.52		

CALCIO % CaCO₃

Muestra	Inicial	7 Días a T.A.	I
1	100.00	100.19	99.81
2	100.00	100.19	99.81
3	99.92	100.13	99.79
4	98.69	100.13	98.56
5	101.15	100.13	101.02
6	99.93	100.13	99.80
\bar{X}	99.95	98.69	99.80
DE	0.78	0.44	0.78
S ²	0.61	0.001	-----
CV	0.78 %	0.44 %	0.78 %
IC =	- 0.854 a 1.254		

Criterios

- 1) $\bar{I} = 98 - 102 \%$
- 2) El intervalo de confianza (IC) debe incluir al valor de cero.

3.4.6. ANALISIS DE RESULTADOS

1. Especificidad.

El método propuesto se considera específico para cuantificar aluminio, magnesio y calcio, porque no existen interferencias entre los principios activos ni por parte de los excipientes y tampoco de los posibles productos de degradación de la formulación.

2. Linealidad y exactitud del método.

Los valores del coeficiente de determinación (r^2), pendiente (m) y ordenada al origen (b) obtenidos del cálculo de la regresión lineal para cada uno de los tres activos, son mayores a 0.98, aproximadamente a uno y aproximadamente a cero respectivamente, lo cual indica que la relación entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada, utilizando el método de cuantificación propuesto, presenta un comportamiento lineal en el rango de concentraciones del 60 % al 140 % respecto a la concentración normalmente utilizada.

Por otra parte, para el 100 % respecto al nivel normal ensayado se encontró que el promedio del porcentaje recuperado es significativamente igual a 100 %, ya que se encuentra dentro del intervalo del 97 % al 103 % y el coeficiente de variación (CV) de los datos con los que se obtuvo es menor al 3 %.

3. Precisión del método (reproducibilidad).

La variación (CV) encontrada entre los resultados obtenidos por los dos químicos en dos días diferentes en un total de 12 datos es menor

al 3 % para cada uno de los tres activos, lo cual indica que el método es reproducible.

4. Estabilidad de la muestra.

El promedio de los valores obtenidos para el factor I indica que la muestra preparada es estable durante 7 días a temperatura ambiente, ya que se encuentra dentro del intervalo del 98 % al 102 %.

El intervalo de confianza para la diferencia de los promedios en los resultados iniciales y después de 7 días a T.A. incluye el valor de cero, con lo que se comprueba que la muestra preparada es estable al menos durante 7 días a temperatura ambiente.

CAPITULO CUATRO

CONCLUSIONES

4. CONCLUSIONES

Los métodos validados para suspensión y tabletas son específicos para los tres principios activos, en ninguno de ellos se detectaron interferencias para su cuantificación.

Además son precisos, exactos y reproducibles como se demostró en los resultados de cada uno de ellos.

En base a los resultados obtenidos decimos que se cumplió con el objetivo planteado al inicio de este trabajo, ya que se desarrolló y validó un método analítico confiable que se puede aplicar para cuantificar la concentración de aluminio, magnesio y calcio en el producto, desde su etapa de desarrollo y durante los estudios de estabilidad.

Así mismo por ser un método sencillo y rápido puede utilizarse para evaluar la calidad de la suspensión y de las tabletas durante el proceso de fabricación y también para evaluar al producto terminado.

5. BIBLIOGRAFIA.

1. The Merck Index, Eleventh Edition, 1989 Merck & Co., Inc. Rahway,
2. USP XXII, National Formulary XVII, 1989, pp 52 a 53.
3. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 5a Edición 1989, pp 508 a 510.
4. Goodman y Gilman, Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 7a Edición, Editorial Medica Panamericana S.A., Argentina 1989, pp 934, 935, 940, 941.
5. Handbook of Nonprescription Drugs, Eight edition, American Pharmaceutical Association, The National Professional Society of Pharmacists, pp 27, 28.
6. Lachman L., et al., The theory and Practice of Industrial Pharmacy, Third Edition, Lea & Febiger, Philadelphia 1986, pp 293, 479, 497.
7. Lachman L., Lieberman H., Pharmaceutical Dosage Forms Tablets, Volume 1, Marcel Dekker, Inc., New York 1980, pp 289, 321.
8. Skoog Douglas., West Donald., Química Analítica, cuarta edición, Mc Graw - Hill, Madrid 1989, pp 135 a 151, 247 a 264, 489 a 500.
9. Connors Kenneth, Analisis farmacéutico (Ensayo del medicamento), segunda edición, Editorial Reverté S.A., España 1981, pp 87 a 101.

10. Guía para la Validación de Métodos Analíticos, Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A.C. 1992.

11. Gilbert H Ayres, Harper and Row Publishers Inc, New York 1968, pp 251, 252, 369, 370, 618, 619.