



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO

RECIBIDA EN  
BIBLIOTECA

57  
24



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

"APLICACION DEL METODO DE RAZONES DE  
ABSORBANCIA EN LA DETERMINACION DE LOS  
COMPONENTES DE MEZCLAS BINARIAS:  
ASPIRINA/SALICILATO Y  
SULFAMETOXAZOL/TRIMETOPRIM

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A :  
JOSE JUAN ROMERO CASTRO

ASESOR: O.F.B. JOSE ANTONIO GARDUÑO ROSAS

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO

1995

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.

# FALLA DE ORIGEN



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS U. N. A. M.

FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN



DR. JAVIER KELLER TORRES  
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLÁN  
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Gallardo  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES-C.

Con base en el art. 23 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

Aplicación del método de Razones de Absorbancia

en la determinación de los componentes de mezclas

binarias: Aspirina/Salicilato y Sulfametoxazol/Trimetoprim

que presenta el pasante José Juan Romero Castro

con número de cuenta: 8223135-6 para obtener el TÍTULO de:  
Químico Farmacéutico Biólogo

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

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

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 24 de enero de 1995

PRESIDENTE Q.F.B. Elizabeth Tortiz García

VOCAL Dra. Raquel López Arellano

SECRETARIO Q.F.B. José Antonio Garduño Rosas

PRIMER SUPLENTE Q.F.B. Ella Granados Enriquez

SEGUNDO SUPLENTE Q.F.B. Guadalupe Rebollar Barrera

**GRACIAS A DIOS  
POR AYUDARME A ALCANZAR  
OTRA META BAJO SU VOLUNTAD**

**A MIS PADRES  
PORQUE SIEMPRE SON CAPACES DE DAR  
UN POCO DE SU EXISTENCIA EN FAVOR DE LA MIA**

**A MIS HERMANOS  
POR QUE MUCHAS VECES HAN SIDO  
LA RAZON DE MIS ESFUERZOS**

## INDICE

OBJETIVOS.....	( 1 )
INTRODUCCION.....	( 2 )
GENERALIDADES.....	( 3 )
CARACTERISTICAS GENERALES DE CADA UNO DE LOS FARMACOS EN ESTUDIO.....	( 4 )
ESPECTROSCOPIA UV-VIS.....	( 15 )
FUNDAMENTOS.....	( 23 )
PARTE EXPERIMENTAL.....	( 31 )
ANALISIS DE LA MEZCLA ASPIRINA/SALICILATO.....	( 32 )
ANALISIS DE LA MEZCLA SULFAMETOXAZOL/TRIMETOPRIM.....	( 34 )
RESULTADOS.....	( 38 )
MEZCLA ASPIRINA/SALICILATO.....	( 39 )
MEZCLA SULFAMETOXAZOL/TRIMETOPRIM.....	( 52 )
ANALISIS DE RESULTADOS.....	( 76 )
MEZCLA ASPIRINA/SALICILATO.....	( 76 )
MEZCLA SULFAMETOXAZOL/TRIMETOPRIM.....	( 79 )
CONCLUSIONES.....	( 81 )
APENDICE I.....	( 82 )
APENDICE II.....	( 95 )
APENDICE III.....	(106)
BIBLIOGRAFIA.....	(126)

## OBJETIVOS

- DETERMINAR LAS CONDICIONES NECESARIAS PARA APLICAR EL METODO DE RAZONES DE ABSORBANCIAS EN LA CUANTIFICACION DE LOS COMPONENTES DE LAS MEZCLAS BINARIAS DE ASPIRINA-SALICILATO Y SULFAMETOKAZOL-TRIMETOPRIM.
- ESTABLECER LA TECNICA PARA LA CUANTIFICACION DE CADA MEZCLA BINARIA UTILIZANDO MEZCLAS CON DIFERENTES PROPORCIONES Y CONCENTRACIONES.
- ANALIZAR ESTADISTICAMENTE LOS RESULTADOS DE LAS DETERMINACIONES DE LAS MEZCLAS
- EVALUAR EL PROCEDIMIENTO CON EL QUE SE OBTENGAN LOS RESULTADOS MAS CONSISTENTES.

## INTRODUCCION

En el análisis de medicamentos, lo ideal es utilizar técnicas analíticas que sean rápidas, sencillas, económicas y que además cumplan con criterios de precisión, exactitud, especificidad y reproducibilidad, principalmente. Sin embargo por la complejidad de algunos medicamentos y/o sus principios activos, durante el desarrollo de técnicas de análisis precisas, exactas y reproducibles, estas no siempre resultan rápidas, sencillas y económicas como se quisiera.

Dentro de las causas que complican el análisis de medicamentos, esta la presencia de formas farmacéuticas con más de un principio activo. Esto obliga por lo general, a buscar primeramente un método de separación para poder realizar una determinación cuantitativa individual de los activos presentes.

Una alternativa para simplificar las técnicas de análisis de productos con más de un principio activo, es el análisis de multicomponentes por espectroscopía<sup>(7)</sup>. Por este método, se han reportado análisis de mezclas de dos a tres componentes sin necesidad de una separación previa. El análisis comúnmente se realiza utilizando dos o más longitudes de onda de lectura de las muestras y por otro lado ofrece múltiples variantes para el manejo de los datos en la determinación cuantitativa.

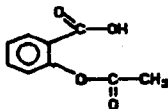
El análisis de multicomponentes por espectroscopía, ofrece otro campo de investigación en busca de la posibilidad de utilizar métodos accesibles, sencillos y de bajo costo, para análisis de rutina, que pueden sustituir técnicas complejas y que involucran un mayor costo cuando se analizan mezclas de principios activos.

# ***GENERALIDADES***



## CARACTERISTICAS GENERALES DE CADA UNO DE LOS FARMACOS EN ESTUDIO

### ACIDO ACETIL SALICILICO



$C_9H_8O_4$  (180.16)

#### SINONIMOS

Acido o-acetoxibenzoico, ácido o-acetilsalicílico, acetato del ácido salicílico, aspirina.

#### PREPARACION<sup>(10)</sup>

El ácido salicílico se acetila directamente con anhídrido acético y el material crudo se purifica por recristalización a partir del benceno u otros disolventes.

#### DESCRIPCION<sup>(10)</sup>

Cristales transparentes o blancos, por lo común aciculares o tabulares, también se encuentra como polvo blanco cristalino o granulos; es inodoro o de olor ligero y de sabor ligeramente amargo;<sup>(4)</sup> en aire húmedo se hidroliza a ácidos salicílico y acético; funde de 132 a 136°C,<sup>(4)</sup> la temperatura exacta varía según las condiciones de la prueba.<sup>(10)</sup> pKa=3.5 (25°C).<sup>(7)</sup>

#### SOLUBILIDAD

Un gramo se disuelve en 300ml de agua, 5ml de alcohol, 17ml de cloroformo y de 10 a 15ml de éter, es menos soluble en éter absoluto, se disuelve también en citratos, acetatos y con descomposición en soluciones acuosas de hidróxidos y carbonatos.

ESPECTRO UV<sup>(7)</sup>

MEDIO DE DISOLUCION	LONGITUD DE ONDA DE MAXIMA ABSORCION ( $\lambda_{max}$ )nm	ABSORTIVIDAD DE UNA SOLUCION AL 1% EN UNA CELDA DE 1cm ( $A_1^1$ )
Acido acuoso	230	468
	278	68
Alcalino acuoso	231	406
	298	190

FARMACOLOGIA<sup>(8)</sup>

La aspirina es un fármaco mundialmente conocido por sus acciones, analgésica, antipirética y antiinflamatoria.

La analgesia se produce por acción a nivel central y periférico; en el hipotálamo se provoca una elevación de la resistencia frente al dolor, mientras que en tejidos inflamados inhibe la síntesis de prostaglandinas, evitando así la sensibilización de los receptores del dolor frente a estímulos mecánicos o químicos. En general la aspirina alivia el dolor de intensidad leve o moderada, sea local o difuso.

La antipíresis es por acción sobre el sistema nervioso central, que supone reprogramación del centro hipotalámico del control de temperatura, provocando la dilatación de los vasos sanguíneos periféricos, con la consiguiente disipación del calor.

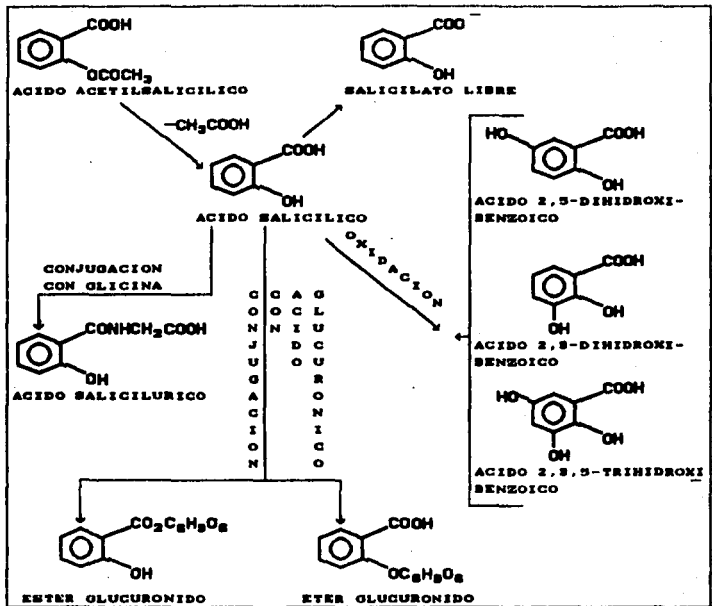
Para la acción antiinflamatoria se proponen varias teorías de los mecanismos posibles, entre éstas, se menciona inhibición de la síntesis de las prostaglandinas que se producen en tejidos inflamados, además de la inhibición de otros mediadores de la inflamación.

Otra acción importante de la aspirina, es que inhibe la coagulación al bloquear la acción de la prostaglandina sintetasa, que previene la acción de tromboxane  $A_2$ , sustancia encargada de la agregación plaquetaria.

## FARMACOCINETICA<sup>(2)</sup>

La aspirina empieza su absorción durante la primer hora después de su ingestión, y se completa en las siguientes 2 a 4 horas. Se absorbe principalmente en forma molecular no ionizada ni alterada, por difusión pasiva de las moléculas a través de la membrana gastrointestinal. El factor limitante en la absorción es la disolución, que puede acelerarse utilizando amortiguadores que eleven el pH de la capa de disolución inmediata, adyacente a la partícula del fármaco que se está disolviendo, con lo que se aumenta la velocidad del proceso sin afectar en forma notable el pH gástrico total.

Una vez en el torrente sanguíneo empieza su hidrólisis por las esterasas de los eritrocitos plasmáticos, pero su biotransformación es llevada a cabo principalmente en el sistema microsómico hepático. Las reacciones que sufre se presentan en el siguiente esquema.<sup>(3)</sup>

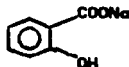


Los salicilatos se excretan principalmente por vía renal; el salicilato libre representa un 10% de la dosis (el porcentaje se incrementa en orina alcalina), el resto lo conforman los otros metabolitos.

#### DOSIS<sup>17)</sup>

Usualmente 1.2 a 4g diarios.

## SALICILATO SODICO



$C_7H_5O_2Na$  (160.11)

### PREPARACION<sup>(1)</sup>

Se prepara a partir de fenato sódico, el cual se calienta en un autoclave con anhídrido carbónico, posteriormente se purifica por recristalización.

### DESCRIPCION<sup>(2)</sup>

Escamas cristalinas<sup>(3)</sup>, brillantes y blancas, también como polvo amorfo o microcristalino; incoloro o con débil tinte rosado; inodoro o con un ligero olor característico; sabor salino; es sensible a la luz. Su solución acuosa es ligeramente ácida. pH = 5 - 6.

### SOLUBILIDAD

Un gramo se disuelve en 0.9ml de agua, 9.2ml de etanol,<sup>(4)</sup> y 4ml de glicerina.<sup>(2)</sup>

### ESPECTRO UV

En Buffer de acetatos pH 5, su longitud de onda máxima es 296nm.

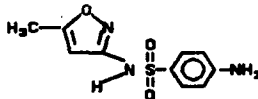
### FARMACOLOGIA

Tiene acciones y efectos idénticos a los de la aspirina.

### FARMACOCINETICA

Se absorbe más rápidamente que la aspirina, y en general su comportamiento después de la absorción es similar al de la misma.

SULFAMETOXAZOL<sup>(5)</sup>

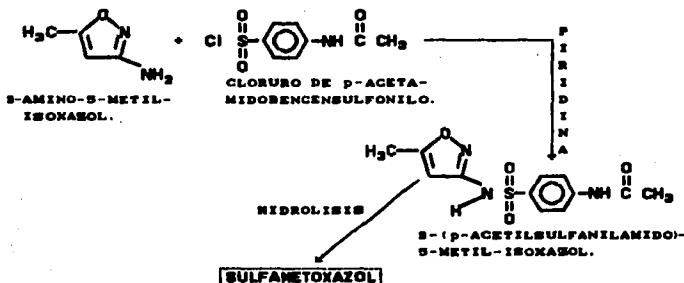


C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S (253.28)

SINONIMOS

4-amino-N-(5-metil-3-isoxazolil)Bencensulfonamida; (Chem. Abs.)  
 Sulfisomezol sulfametil isoxazol; 3-sulfanilamido-5-metilisoxazol; (4)  
 N-(5-metil-3-isoxazolil) sulfanilamida.

PREPARACION<sup>(5),(10)</sup>



DESCRIPCION

Polvo cristalino blanco, ligeramente opaco o amarillento; prácticamente inodoro; estable al aire; punto de fusión 168-172<sup>o</sup>C<sup>(17),(10)</sup> pka=1.69 ± 0.07 y 5.81 ± 0.05<sup>(6)</sup>

SOLUBILIDAD

	Cmg/ml) 25°C
Etanol 95%	37.8
Metanol	90.3
NaOH 0.1N	18.0
Isopropanol	8.8
Eter etílico	2.7
Cloroformo	2.3
Agua	0.5

ESPECTRO UV

MEDIO DE DISOLUCION	LONGITUD DE ONDA DE MAXIMA ABSORCION (λ <sub>máx</sub> )nm	ABSORTIVIDAD DE UNA SOLUCION AL 1% EN UNA CELDA DE 1cm (A <sub>1</sub> <sup>1</sup> )
Acido acuoso	266	175 <sup>(7)</sup>
Buffer de Fosfatos pH=7.5 o NaOH 0.1N	266-267	673 <sup>(7)</sup>

FARMACOLOGIA

El Sulfametoxazol es una sulfonamida de amplio espectro antibacteriano, su acción es bacteriostática. Tiene similitud química con el ácido p-aminobenzoico (PABA) por lo que inhibe competitivamente a la dihidropteroato sintetasa, enzima bacteriana responsable de la incorporación del PABA en ácido fólico para formar ácido dihidrofólico, evitando así la síntesis de los ácidos nucleicos, que son la base fundamental de las células bacterianas.

#### FARMACOCINETICA

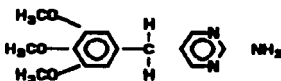
Se absorbe rápida y adecuadamente en el aparato digestivo; se distribuye fácilmente en el organismo<sup>(10)</sup>. Se metaboliza rápidamente por acetilación, cerca del 15% en la sangre está presente como metabolitos acetilados. Su excreción es por la orina; arriba del 25% de la dosis se excreta sin modificación en orina ácida y este porcentaje se eleva hasta 40% o más en orina alcalina. Cuando se administra con trimetoprim, su metabolismo no sufre alteración.

#### DOSIS

2g iniciales, seguidos por 1g dos o tres veces al día.



# TRIMETOPRIM<sup>(9)</sup>

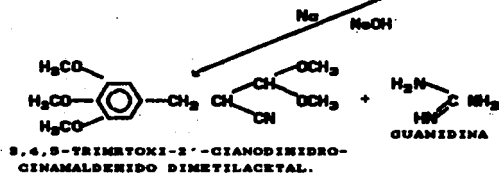
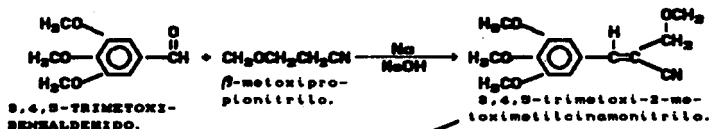


$C_{15}H_{18}N_4O_3$  (290.32)

## SINONIMOS

2,4-diamino-5-(3,4,5-trimetoxibencil)-pirimidina;<sup>(9)</sup>  
 5-[(3,4,5-trimetoxifenil)metil]2,4-pirimidinadiamina. (Chem. Abs.)

## PREPARACION<sup>(9)</sup>



## DESCRIPCION

Cristales o polvo cristalino blanco a color crema; inoloros; de sabor amargo, punto de fusión 198-203°C<sup>(7)</sup> pka = 7.02 ± 0.05<sup>(8)</sup>

## SOLUBILIDAD

	(mg/ml)25°
Dimetilacetamida	138.6
Alcohol bencilico	72.0
Propilenglicol	25.7
Cloroformo	18.5
Metanol	12.1
Etanol 95%	8.1
Acetona	3.5
Isopropanol	1.2
Agua	0.4
Benceno	0.02
Dimetilacetamida	138.6
Alcohol bencilico	72.
Propilenglicol	25.7

## ESPECTRO UV<sup>(7)</sup>

MEDIO DE DISOLUCION	LONGITUD DE ONDA DE MAXIMA ABSORCION ( $\lambda_{max}$ )nm	ABSORTIVIDAD DE UNA SOLUCION AL 1% EN UNA CELDA DE 1cm ( $A_{1\%}^{1cm}$ )
Acido acuoso	271	218
Buffer de Fosfatos	287	250

## FARMACOLOGIA

El trimetoprim es un derivado sintético de la diaminopiridina que interfiere en el metabolismo de los folatos, con lo que evita la síntesis de los ácidos nucleicos. Se utiliza generalmente combinado con sulfonamidas, particularmente con sulfametoxazol.<sup>(8)</sup>

A la combinación de trimetoprim con sulfametoxazol se le conoce como Co-trimoxazol, que se usa como profiláctico primario y medicamento terapéutico para infecciones agudas y crónicas de vías urinarias, prostatitis bacteriana, shigelosis, otitis, media y neumonía por Pneumocystis carinii.<sup>(8)</sup>

El Co-trimoxazol presenta un sinergismo de potenciación al inhibir pasos secuenciales en la formación de ácido tetrahidrofólico, dicha inhibición se caracteriza por la acción independiente en dos pasos consecutivos. El sulfametoxazol inhibe a la enzima dihidropteroato sintetasa, entonces, disminuye la cantidad de sustrato de que dispone la dihidrofolato reductasa, cuya actividad se reduce aún más por la acción del trimetoprim. Por lo anterior, la acción bacteriostática puede volverse bactericida.<sup>(8)</sup> La concentración inhibitoria mínima del sulfametoxazol disminuye cuando se utiliza junto con trimetoprim, que por ser el que posee mayor potencia,<sup>(11)</sup> se utiliza en menor proporción con una relación 1:5 (trimetoprim:sulfametoxazol) en preparados comerciales.

#### FARMACOCINETICA<sup>(7)</sup>

El Trimetoprim se absorbe rápidamente después de administración oral (aproximadamente en dos horas).<sup>(10)</sup> Se distribuye ampliamente en la mayor parte de los tejidos corporales, excepto sistema nervioso central. Las reacciones de biotransformación incluyen: oxidación del grupo metileno a un grupo hidroximetilo, N-oxidación, o-desmetilación, hidroxilación y conjugación con ácido glucurónico o sulfato. Los metabolitos son excretados en la orina, aproximadamente el 50% se excreta sin alteración.<sup>(8)</sup> Menos del 4% se elimina en las heces.

#### DOSIS

400mg diarios en promedio (varia de acuerdo al tratamiento).

## ESPECTROSCOPIA UV-VIS<sup>(12),(14)</sup>

Todos los átomos y moléculas son capaces de absorber energía, de acuerdo a ciertas limitaciones relacionadas con su estructura. La espectroscopía de absorción se encarga del estudio de las dependencias que existen entre el tipo y cantidad de radiación absorbida por una molécula, con su estructura; así como la relación que guarda la cantidad de radiación absorbida con el número de moléculas que interaccionan con la radiación. Entonces, la espectrometría de absorción se referirá a la medida de absorción de radiación electromagnética por átomos, moléculas o iones; si la medición se realiza utilizando celdas fotoeléctricas el término adecuado será espectrofotometría.

Una onda de luz puede ser considerada como un disturbio electromagnético que viaja en línea recta; en ángulo recto a la dirección de viaje hay un campo eléctrico alterno y en ángulo recto a la dirección de viaje de la onda y del plano de oscilación del vector del campo eléctrico, hay un campo magnético alterno.

Unos términos útiles para describir una onda de luz, son: Longitud de onda: que es la distancia lineal desde cualquier punto de la onda hasta el punto correspondiente de la onda adyacente. (sus unidades son los nanómetros,  $1\text{nm}=10^{-9}\text{m}=10\text{\AA}=1\mu\mu$ ); y Frecuencia que es el número de ondas que pasan por un punto dado por unidad de tiempo (sus unidades son  $\text{seg}^{-1}$ ).

Debido al campo eléctrico asociado con la luz una partícula cargada, como un electrón, colocada en la ruta de una onda de luz, experimentará una fuerza y será capaz de absorber energía del campo eléctrico de la onda de luz. Si el electrón de una molécula absorbe energía del campo eléctrico de una onda de luz, pasará de un nivel energético menor (estado basal o fundamental) a otro mayor (estado excitado) en la molécula. Sin embargo, no todas las frecuencias de luz pueden ser absorbidas por electrones moleculares. Al considerar a la luz como un flujo de partículas, cada partícula (fotón) tendrá asociada una cantidad definida de energía, la cual sólo depende de su frecuencia, entonces:

$$E = h \nu = h \frac{c}{\lambda}$$

$h$  : Constante de Planck

$\nu$  : Frecuencia

$\lambda$  : Longitud de onda

$c$  : Velocidad de la luz

Una condición necesaria para que la luz de una  $\nu$  dada sea absorbida por una molécula en su estado basal es que se cumpla la relación:

$$E_e - E_b = h\nu$$

$E_e$  : Energía del estado excitado

$E_b$  : Energía del estado basal

Es decir, la diferencia de energía entre los dos niveles energéticos debe ser igual a la energía del fotón absorbida, si esta condición no se cumple, se dice entonces que la molécula es transparente a la luz de esa frecuencia.

#### TRANSICIONES ELECTRONICAS

La energía electrónica más baja posible que una molécula puede tener es referida como su estado electrónico basal y corresponde al estado en el cual todos los electrones están en los orbitales de menor energía disponibles. La promoción de un electrón desde un orbital que está ocupado en el estado basal a uno que normalmente está desocupado en el mismo estado, resulta en la formación de un estado electrónicamente excitado de la molécula. Al salto de energía de un nivel de estado basal a otro estado excitado, se le conoce como transición.

Las transiciones electrónicas de moléculas, que involucran absorción de luz en las regiones visible y de ultravioleta cercano (750-400 y 400-200nm respectivamente) son llamadas en su mayoría transiciones de singuleto.

Las moléculas absorberán luz de una longitud de onda particular, de acuerdo al tipo de transición electrónica asociada con la absorción,<sup>(18)</sup> y la transición electrónica dependerá del tipo de orbitales presentes en la molécula, siendo de mayor importancia para la región UV-VIS, los electrones de los orbitales externos.

En las moléculas que absorben en la región UV-VIS son importantes los siguientes tipos de electrones:

1) Electrones en enlaces sencillos  $\sigma$ , cada átomo participante en el enlace contribuye con un orbital atómico para formar el nuevo orbital  $\sigma$ , los dos electrones que lo ocupan pueden venir, uno de cada átomo (enlace covalente), o ambos del mismo átomo (enlace covalente coordinado). Estos electrones, están enlazados fuertemente, por lo que se requiere de gran energía para promoverlos a orbitales desocupados, por consiguiente su absorción se observará en el UV lejano.

2) Electrones en orbitales  $\pi$ , presentes en los dobles y triples enlaces, estos enlaces son más débiles que los  $\sigma$ , por lo que se requiere de menos energía para la excitación de sus electrones, por lo tanto son los principales responsables de la absorción de las moléculas en la región UV-VIS.

3) Electrones de no enlace conocidos como electrones  $n$ , como los del oxígeno, azufre, nitrógeno y halógenos. Debido a que estos electrones están en un nivel energético mayor que los  $\pi$  o  $\sigma$ , deben considerarse contribuyentes potenciales de rasgos espectrales distintivos de las moléculas que los poseen.

Cada molécula tiene asociados a los orbitales moleculares de baja energía varios orbitales de alta energía, los cuales están normalmente desocupados en ausencia de fuertes perturbaciones y son llamados orbitales moleculares de antienlace. Entonces, una transición electrónica consistirá en la transferencia de un electrón desde un orbital ocupado ( $n, \sigma, \pi$ ) hasta otro de antienlace desocupado ( $\sigma^*$  o  $\pi^*$ ).

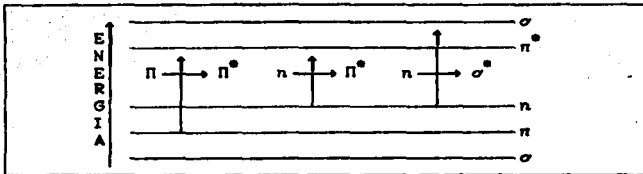


Fig 1. Esquema que muestra la relación de energías de transición en una molécula hipotética insaturada con un par de electrones no enlazados. Sólo se presentan las transiciones que generalmente son responsables de la absorción en las regiones del visible y UV cercano(12).

### APLICACIONES CUANTITATIVAS

El espectro de absorción de una molécula es una representación gráfica de la extensión de la absorción de luz en función de la frecuencia o longitud de onda. La extensión de la absorción de luz, será una representación de las transiciones moleculares en el espectro y se observarán como bandas más que como líneas, esto debido a que en las moléculas cada estado electrónico consiste en varios subestados vibracionales que difieren ligeramente en energía, por lo que la absorción ocurrirá sobre una extensa región de longitudes de onda en el espectro, dando lugar a una banda, que dependiendo de la molécula puede tener un ancho de 50 a 100nm.

La espectrometría UV-VIS encuentra su principal aplicación en el análisis cuantitativo, cuando se encuentran bandas con picos definidos dentro de un margen estrecho de longitudes de onda en el espectro, efecto relacionado con el solvente y pH<sup>(7)</sup>

La base fundamental del análisis espectroscópico cuantitativo recae en dos leyes principalmente:

1) Ley de Lambert<sup>(7)</sup> -Establece que para una concentración dada de un sistema absorbente, la intensidad transmitida disminuye exponencialmente con incremento de la longitud de la ruta.

2) Ley de Beer.<sup>(7)</sup> -Establece que para un longitud de ruta definida, la intensidad transmitida disminuye exponencialmente con incrementos en la concentración del sistema absorbente homogéneo.

Combinando las dos leyes se tiene la ecuación:

$$-dI = k I C d b \quad (1)$$

La cual indica que si se hace pasar luz de una sola longitud de onda (luz monocromática) a través de una capa de solución de espesor  $db$ , el descenso en la intensidad de luz  $dI$  como consecuencia de su paso a través de la solución, es directamente proporcional a la intensidad  $I$  de la radiación, a la concentración  $C$  de las especies absorbentes y al espesor  $db$  de la capa de solución.

Al reordenar e integrar la ecuación (1) entre los límites  $I_0$  (intensidad de luz incidente) e  $I$  (intensidad de luz después de pasar a través del espesor  $b$  de la solución).

$$-\int_{I_0}^I \frac{dI}{I} = k \int_0^b C d b \quad (2)$$

$$-\ln \frac{I}{I_0} = k b C \quad (3)$$

Si se sustituye  $a = \frac{k}{2.303}$  para convertir a logaritmo base diez, se tiene:

$$\log \frac{I_0}{I} = a b C$$

Ahora por último, se sustituye el término logarítmico por la letra  $A$  que indica absorbancia, entonces:

$$A = a b C$$



Esta última ecuación, establece que la absorbancia de una solución, es directamente proporcional a la concentración C del soluto absorbente, y es conocida como ecuación de Beer-Lambert (aunque comúnmente se maneja, sólo, como ecuación de Beer).

El término  $a$  en la ecuación de Beer es una constante de proporcionalidad que es independiente del paso de la luz e intensidad de la radiación incidente. Se conoce como absorptividad; y depende de la temperatura, disolvente, estructura molecular del soluto absorbente y de la longitud de onda. Las unidades de  $a$  se determinan a partir de las de  $h$  y C. Cuando  $h$  está en cm y C en g/L, se expresa en L/g-cm, (conotación reconocida por convención Americana<sup>(7)</sup> y definida como la absorbancia de una solución de 1g/L en una celda de 1cm).

Si C es una concentración molar,  $a$  se cambia por el símbolo  $a$  y se denomina absorptividad molar, sus unidades son L/mol-cm (conotación en uso Europeo)<sup>(7)</sup>.

Cuando C se expresa en porcentaje peso volumen,  $a$  se escribe  $A_{1\text{cm}}^{1\%}$  o  $A_{1\% \cdot 1\text{cm}}^1$ , se abrevia  $A_1^1$ , y puede denominarse absorbancia específica (un término antiguo es el que la defino como coeficiente específico de extinción, con el símbolo  $E_1^1$ )<sup>(7)</sup>.

La absorptividad también puede interpretarse, como la absorbancia de una sustancia dada en solución de concentración unidad, a una longitud de onda determinada.

La ecuación de la ley de Beer representa una línea recta que puede construirse experimentalmente determinando las absorbancias de varias soluciones con diferentes concentraciones sucesivas de una especie absorbente; las lecturas deben hacerse bajo las mismas condiciones de disolución, temperatura y longitud de onda (la cual debe corresponder al punto de máxima absorción en el espectro). Cuando se representa la absorbancia en función de la concentración, se obtiene lo que se denomina curva de calibración, de esta curva se obtiene el intervalo que se ajusta a la ecuación de la ley de Beer (que representa una línea recta). La pendiente de la recta representa la absorptividad.

La aplicación cuantitativa de la ecuación de la ley de Beer se obtiene al determinar la absorbancia de una solución de concentración desconocida e interpolando en la curva de calibración de la sustancia correspondiente, o despejando  $C$  en la ecuación de la ley de Beer y sustituyendo los valores de  $A$ ,  $a$  y  $b$ .

Otras aplicaciones de la ley de Beer, de interés farmacéutico son:

- Determinación de constantes de equilibrio.
- Monitoreo de la cinética de degradación de un fármaco.
- Determinación de estequiometrías complejas.
- Detección en cromatografía.

Errores en espectrometría de absorción.

La ley de Beer presenta limitaciones por el hecho de no tomar en consideración los efectos del pH, temperatura, longitud de onda o interacciones soluto-solvente y soluto-soluto; por lo anterior la ley de Beer se aplica generalmente a soluciones diluidas en que estas interacciones son insignificantes.<sup>(10)</sup>

En realidad algunas de las desviaciones de la ley de Beer son aparentes pues son debidas a algún proceso o procesos secundarios. Estos procesos pueden dividirse en errores instrumentales y en errores debidos a factores químicos.

Dentro de los errores instrumentales están los relativos a la concentración, los cuales son función del ruido e incertidumbre en la calibración. El intervalo óptimo de concentraciones medibles es aquel en el que las absorbancias caen entre 0.2 y 0.8 .

Otro factor instrumental es la capacidad del aparato para proporcionar luz monocromática. Además, para evitar errores por luz desviada, deben evitarse las longitudes de onda de los extremos del intervalo de UV-VIS.

En relación a los errores por factores químicos, estos surgen de varias fuentes, una de ellas es el control de pH que afecta la ionización de una molécula, lo que afecta en gran medida su espectro, un cambio en el estado de protonación puede producir una variación en la longitud de onda máxima de hasta 40nm.<sup>(10)</sup>

Un solvente presenta diferentes interacciones con un soluto absorbente, éstas dependerán de la polaridad del soluto y el solvente. Las interacciones pueden conducir a un cambio en la longitud de onda máxima de un soluto absorbente cuando se utilicen dos solventes diferentes. Por ejemplo, consideremos una molécula polar que tiene un momento dipolo mayor en el estado excitado que en el basal, entonces, el estado excitado será más estable por interacción con un solvente polar, por consiguiente si se cambia de un solvente poco polar a uno de mayor polaridad la longitud de onda máxima se incrementa.

En general los solventes no polares como los hidrocarburos proporcionan mayor detalle espectral que los disolventes polares.

Por último otro efecto que hay que considerar para evitar los errores por factores químicos, son las interacciones soluto-soluto en que hay que tomar en cuenta la agregación molecular y los equilibrios de asociación-disociación influidos también por el pH, además de reacciones ácido-base y de formación de complejos.

## FUNDAMENTOS

En espectrometría, cuando están presentes dos especies absorbentes, con espectros que se superponen sin llegar a ser muy similares y que además cumplen con la ley de Beer, se pueden establecer dos ecuaciones simultáneas que tengan como incógnitas las concentraciones de cada uno de los componentes. Estas ecuaciones se pueden resolver algebraicamente.

En general, las propiedades de absorbancia que presentan los compuestos en mezclas, se han aprovechado para desarrollar lo que se conoce como análisis de multicomponentes.<sup>(12,64,67)</sup>

Los espectros de absorción de la aspirina y ácido salicílico,<sup>(12)</sup> reúnen las características necesarias para aplicar un método de análisis de multicomponentes y determinarlos simultáneamente por espectroscopía, en una mezcla. La aspirina es un analgésico muy conocido y utilizado en preparaciones farmacéuticas y su producto de degradación es el ácido salicílico, cuya determinación es utilizada como indicativa de estabilidad en las preparaciones farmacéuticas de la aspirina. El método utilizado actualmente para la cuantificación de aspirina y ácido salicílico es por HPLC. El desarrollo de un método espectrométrico, para la determinación simultánea de aspirina y ácido salicílico; podría sustituir el actual, con las ventajas de un método de menor costo y más accesible.

Otra mezcla factible de ser utilizada para aplicar un método de análisis de multicomponentes, es la formada por sulfametoxazol y trimetoprim. Esta mezcla ha sido objeto de diversos estudios de determinaciones simultáneas por espectroscopía. En esos estudios se han utilizado diferentes longitudes de onda de lectura y fundamentando las determinaciones en diversos métodos matemáticos.

Sin embargo, en las Farmacopeas, Norteamericana, Mexicana y Británica, se carece aún de un método sencillo, rápido y accesible para la determinación de estos activos en tabletas y suspensiones.

En la Farmacopea Británica 1990 se menciona un ejemplo del uso del análisis de multicomponentes.<sup>(7)</sup> El método se puede hacer extensivo a la determinación de más de dos componentes;<sup>(10)</sup> sin embargo, el cálculo de la concentración de n especies con n ecuaciones análogas tiene errores significativos,<sup>(14)</sup> además de la dificultad de seleccionar las longitudes de onda que cumplan con las condiciones requeridas. Algunos espectrofotómetros modernos incorporan microprocesadores programados para resolver ecuaciones simultáneas para análisis de multicomponentes.<sup>(14)</sup>

Hüfner fué el primer investigador en demostrar que la razón de dos valores de absorbancia determinados de una solución a dos longitudes de onda diferentes, es una constante. Posteriormente varios investigadores publicaron los valores de razón de absorbancia para un gran número de sustancias de interés químico con fines cualitativos y otros han utilizado este método para la determinación de dos componentes en una mezcla.<sup>(15)</sup>

A continuación se muestra el fundamento matemático de uno de los diversos métodos para determinar simultáneamente la concentración de los componentes en una mezcla binaria.<sup>(16)</sup>

Consideramos un compuesto x cuya absorbancia a una longitud de onda  $\lambda_1$  está dada por su expresión de la ley de Beer,

$$A^1 = \alpha x_1 b C_x \quad (1)$$

de la misma forma su absorbancia a una longitud de onda  $\lambda_2$  será:

$$A^2 = \alpha x_2 b C_x \quad (2)$$

Dividiendo la ecuación 1 entre la ecuación 2 se tiene:

$$\frac{A^1}{A^2} = \frac{\text{cm} \cdot b \cdot C_x}{\text{cm} \cdot b \cdot C_x} = \frac{\text{cm}}{\text{cm}} = Q : \lambda_1 : \lambda_2 \quad (3)$$

En la ecuación 3 se observa que la razón de dos valores de absorbancia es igual a la razón de sus absorptividades correspondientes, tal razón es una constante designada como Q (por el término en inglés "Quotient = cociente"), término por el cual este método también se conoce como: "Método de Análisis Q".

Ahora imaginemos una mezcla de dos compuestos hipotéticos x y y con sus características espectrales representadas en la siguiente figura:

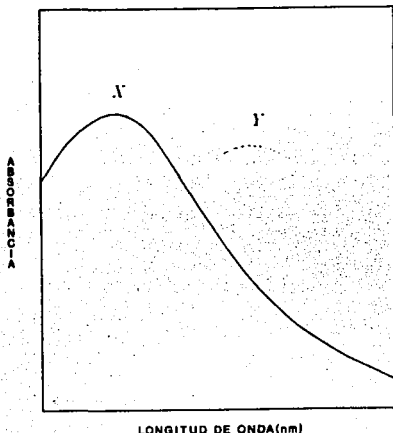


FIG. 2 Espectros de absorción de dos compuestos hipotéticos "x" y "y"

Para esta mezcla la absorbancia total  $A_T$  a la longitud de onda  $\lambda_1$  es igual a la suma de las absorbancias debidas a x y y, expresando esto con cada una de las expresiones de la ley de Beer para los compuestos x y y,

$$A_T^1 = a_{x1} b C_x + a_{y1} b C_y \quad (4)$$

de igual modo la absorbancia total a la longitud de onda  $\lambda_2$  será:

$$A_T^2 = a_{x2} b C_x + a_{y2} b C_y \quad (5)$$

Al dividir 4 entre 5 y considerar la longitud de la celda como  $b = 1$ ,

$$\frac{A_T^1}{A_T^2} = \frac{a_{x1} C_x + a_{y1} C_y}{a_{x2} C_x + a_{y2} C_y} \quad (6)$$

el término  $\frac{A_T^1}{A_T^2}$  se puede sustituir por  $Q_0$  que es la razón de absorbancias para la mezcla binaria.

$$Q_0 = \frac{a_{x1} C_x + a_{y1} C_y}{a_{x2} C_x + a_{y2} C_y} \quad (7)$$

dividiendo cada término de la derecha entre  $(C_x + C_y)$  y sustituyendo  $F_x$  por  $\frac{C_x}{C_x + C_y}$  o  $F_y$  por  $\frac{C_y}{C_x + C_y}$

$$Q_0 = \frac{a_{x1} F_x + a_{y1} F_y}{a_{x2} F_x + a_{y2} F_y} \quad (8)$$

Esta ecuación puede simplificarse si en vez de la longitud de onda  $\lambda_2$  se utiliza la longitud de onda de isoabsorción  $\lambda_i$ , en la cual los dos compuestos tienen la misma absorptividad  $a_i$ , entonces:

$$Q_o = \frac{a_{21} F_x + a_{12} F_y}{a_1 F_x + a_1 F_y} \quad (9)$$

La suma de  $F_x + F_y$  es igual a uno, por lo tanto  $F_y = 1 - F_x$ ,  
sustituyendo en la ecuación 9,

$$Q_o = \frac{a_{21} F_x + a_{12}(1 - F_x)}{a_1 F_x + a_1(1 - F_x)} \quad (10)$$

al reorganizar 10,

$$Q_o = \frac{F_x(a_{21} + a_{12}) + a_{12}}{a_1} \quad (11)$$

$$Q_o = F_x \left[ \frac{a_{21}}{a_1} - \frac{a_{12}}{a_1} \right] + \frac{a_{12}}{a_1} \quad (12)$$

$\frac{a_{21}}{a_1}$  corresponde a la razón de absorbancias para el compuesto x  
por lo que se puede sustituir por un símbolo  $Q_x$ , mientras  
que  $\frac{a_{12}}{a_1}$  se puede sustituir por otro  $Q_y$  que correspon-  
derá a la razón de absorbancias para el compuesto y puro  
por consiguiente:

$$Q_o = F_x(Q_x - Q_y) + Q_y \quad (13)$$

La ecuación anterior representa una línea recta con pendiente  
igual a  $(Q_x - Q_y)$  e intercepto  $Q_y$ .



Para obtener una ecuación en función de concentraciones absolutas, despejamos  $F_x$  de la ecuación (3) y sustituimos por, entonces,

$$\frac{C_x}{C_x + C_y}$$

$$F_x = \frac{Q_o - Q_y}{Q_x - Q_y}$$

$$\frac{C_x}{C_x + C_y} = \frac{Q_o - Q_y}{Q_x - Q_y} \quad (3')$$

despejando  $C_x$ , se tiene:

$$C_x = \frac{Q_o - Q_y}{Q_x - Q_y} (C_x + C_y) \quad (4)$$

Al revisar la ecuación de la absorbancia de la mezcla en el punto de isobSORCIÓN, obtenemos:

$$A^i = a_i(C_x + C_y) \quad (5)$$

De donde:

$$(C_x + C_y) = \frac{A^i}{a_i} \quad (6)$$

Sustituyendo (6) en (3'),

$$C_x = \left( \frac{Q_o - Q_y}{Q_x - Q_y} \right) \frac{A^i}{a_i} \quad (7)$$

De la ecuación (7) se puede determinar la concentración del compuesto x pero no la del compuesto y para lo cual se requiere establecer una ecuación similar, que sería:

$$C_y = \left( \frac{Q_o - Q_x}{Q_y - Q_x} \right) \frac{A^i}{a_i} \quad (8)$$

Aunque, un modo más fácil para determinar  $C_y$ , es utilizar una ecuación derivada de la ecuación 16 una vez que se ha determinado  $C_x$  por la ecuación 17.

$$C_y = \frac{A^i}{a_i} - C_x \quad (18)$$

Hasta aquí, se tienen las ecuaciones para aplicar el método de análisis Q bajo consideraciones teóricas. En la práctica, es difícil reunir las condiciones óptimas para aplicarlo. Por consiguiente, en la práctica el método tiene varias limitaciones.

En los trabajos en que se reporta la aplicación del Método de Análisis Q, también se habla de las limitaciones del mismo, las cuales recaen principalmente, en las limitaciones propias de la espectrometría, cuya exactitud recae, a su vez, en la validez de la ley de Beer.

Una de las desviaciones encontradas se observa en la curva que se representa por la ecuación 13 que debe ser una línea recta con pendiente igual a  $(Q_x - Q_y)$  e intercepto igual a  $Q_y$ , lo que en la práctica no siempre se cumple, aunque esto no afecta necesariamente la efectividad del análisis.<sup>(16)</sup>

Otro factor que afecta la exactitud del análisis es la proporción de las especies absorbentes, así, una mezcla 50-50 proporcionará resultados más exactos que una mezcla 90-10, en la que pequeñas variaciones relativas del componente minoritario resultan en grandes diferencias.<sup>(17)</sup>

Las características espectrales juegan un papel importante en la exactitud del método, principalmente la intensidad de absorción a las dos longitudes de onda utilizadas, ya que afecta la pendiente de la curva Q vs Fx. Cuanto menor sea ésta, el análisis es menos exacto, el valor más bajo reportado es de 0.882.<sup>(18)</sup>

Como última consideración, la curva compuesta de las dos sustancias influye también en la exactitud, un sistema binario ideal será aquel en que las lecturas de absorbancia a los lados de una longitud de onda particular difieran ligeramente.

No obstante las limitaciones que presenta el método, para algunas mezclas se han reportado buenos resultados:

- Clorhidrato de Procaína-Clorhidrato de Tetracaína.<sup>(46)</sup>
- Benzocaina-Clorhidrato de Procaína.<sup>(46)</sup>
- Brucina-Estricnina.<sup>(46)</sup>
- Fenobarbital-Tecofilina (o Aminofilina), en preparados comerciales.<sup>(47)</sup>
- Sulfametoxazol-Trimetoprim, en tabletas.<sup>(48)</sup>

Para la última mezcla mencionada se reportan datos de  $Q_{max}$  y  $Q_{min}$  de  $0.212 \pm 0.001$  y  $1.37 \pm 0.004$  respectivamente, mientras que la absorptividad en el punto de isoabsorción (el cual fue de  $240.5 \text{ nm}$ ) es de  $47.0 \pm 0.5$ , la otra longitud de onda elegida fue  $235 \text{ nm}$ ; además se compara este método con el de la Farmacopea Británica 1973 que implica un proceso de extracciones para separar los fármacos, encontrándose una recuperación similar con mayores ventajas en cuanto a velocidad y simplicidad del método.<sup>(47)</sup>

# ***METODOLOGIA EXPERIMENTAL***

Este estudio se dividió en dos partes, que corresponden al análisis de cada mezcla:

#### **ASPIRINA/SALICILATO y SULFAMETOXAZOL/TRIMETOPRIM.**

En cada caso se consideraron las características propias de cada mezcla por lo que el planteamiento experimental fue diferente.

Asimismo, aunque el análisis de datos fue parecido difiere en algunos puntos.

Enseguida se indica el planteamiento experimental para cada fase y después el análisis numérico que se efectuó para el análisis de los resultados.

### **ANÁLISIS DE LA MEZCLA DE ASPIRINA/SALICILATO**

#### **1. Establecimiento de las longitudes de onda para el análisis de las mezclas.**

Se obtuvieron los espectros de absorción de la aspirina y salicilato de sodio en medio alcalino (NaOH 0.1 N) con soluciones de 10 mcg/ml y en medio ácido (HCl 0.1N) con soluciones de 15 mcg/ml. Los barridos se efectuaron desde 220 hasta 310 nm.

#### **2. Preparación y análisis de mezclas.**

Se prepararon mezclas de aspirina/salicilato con las siguientes características:

a) Mantener fija la concentración de una de las sustancias y variar la concentración de la otra.

b) Mantener las absorbancias a ambas longitudes de onda dentro de la ley de Beer.

c) Mantener las proporciones entre 1:9 y 9:1 de una concentración respecto a la otra.

Las concentraciones fijas de aspirina fueron de 40, 80, y 100 mcg/ml con concentraciones de salicilato de 10, 15, 20, 25, 30 y 35 mcg/ml.

Las concentraciones fijas de salicilato fueron de 20, 27.5 y 35 mcg/ml con concentraciones de 30, 50, 60, 80, 100 y 110 mcg/ml de aspirina.

Cada mezcla se preparó por triplicado y se determinaron sus absorbancias a 298 y 272 nm. Este proceso se efectuó en dos días diferentes.

### 3. Análisis de reproducibilidad.

Se prepararon por decuplicado tres mezclas de aspirina-salicilato. Sus concentraciones fueron 20-35, 35-35 y 100-35 mcg/ml respectivamente y se determinaron sus absorbancias a 298 y 272 nm.

Esto fue realizado por dos analistas en dos días diferentes cada uno.

### 4. Análisis Estadístico.

#### Análisis de pendientes.

El efecto de la concentración de una de las especies sobre la absorptividad del otro componente de la mezcla se determinó por análisis de las pendientes de las curvas a concentración constante.

#### Estimación de concentraciones.

El análisis numérico de los resultados se efectuó mediante regresión lineal múltiple. Los modelos algebraicos utilizados para estimar las concentraciones de Aspirina y Salicilato con los parámetros de regresión lineal múltiple obtenidos, fueron los siguientes:

- a) Ecuaciones 17 y 18 para el método de Razones de Absorbancia (Método Q).

b) La ecuación (4) para Regresión Lineal Múltiple y  
c) De la ecuación (4),  
considerando que  $C_x + C_y = C_t$   
y que  $F_x = C_x/C_t$  y  $F_y = C_y/C_t$ ,  
sustituyendo tenemos:

$$A_t/C_t = a_x \cdot b_x \cdot F_x + a_y \cdot b_y \cdot F_y$$

para aplicar Regresión Lineal Múltiple a las fracciones de las mezclas.

Con las estimaciones se realizó el análisis de precisión y exactitud.

Comparación de métodos.

Para evaluar la eficacia de los métodos y elegir el que proporciona menor variabilidad, se elaboraron gráficos de cada uno de los métodos, representando el porcentaje recuperado de cada una de las sustancias por cada uno de los métodos empleados.

Análisis de variancia.

Este análisis se efectuó con un modelo factorial de  $3 \times 2 \times 2$  totalmente al azar, para el análisis de reproducibilidad.

#### ANÁLISIS DE LAS MEZCLAS DE SULFAMETOXAZOL/TRIMETOPRIM

##### 1. Establecimiento de las longitudes de onda para el análisis de las mezclas.

Se encontraron los espectros de absorción del sulfametoxazol y trimetoprim en medio de buffer de acetatos de pH=3.5 con soluciones de 10 y de 20 mcg/ml. Los barridos se efectuaron desde 220 hasta 310 nm.

## 2. Preparación y análisis de mezclas.

Se prepararon mezclas de sulfametoxazol/trimetoprim con las siguientes características:

- a) Mantener fija la concentración de una de las sustancias y variar la concentración de la otra.
- b) Mantener las absorbancias a ambas longitudes de onda dentro de la ley de Beer.
- c) Mantener las proporciones entre 1:9 y 9:1 de una concentración respecto a la otra.

Las concentraciones fijas de sulfametoxazol fueron de 5, 7.5 y 10 mcg/ml con concentraciones de trimetoprim de 0, 4, 8, 12, 16 y 20 mcg/ml.

Las concentraciones fijas de trimetoprim fueron de 5, 10 y 15 mcg/ml con concentraciones de sulfametoxazol de 0, 2, 4, 6, 8 y 10 mcg/ml.

Cada mezcla se preparó por triplicado para obtener sus absorbancias a 264 y 242 nm. El proceso se efectuó en dos días diferentes.

Además, para determinar la influencia no sólo de la proporción sino también de la concentración en la que se tienen tales proporciones, se efectuó lo siguiente:

a) Se prepararon mezclas por triplicado con proporciones de  $1/4$ ,  $2/3$ ,  $3/2$  y  $4/1$  de sulfametoxazol/trimetoprim pero considerando tres concentraciones totales 10, 15 y 20 mcg/ml.

b) Se determinaron las absorbancias a 264 y 242 nm.



### 3. Análisis Estadístico.

#### Análisis de pendientes.

El efecto de la concentración de una especie sobre la absorbividad del otro componente se determinó comparando las pendientes de las curvas a niveles constantes.

#### Estimación de concentraciones.

El análisis numérico de los resultados se efectuó mediante regresión lineal múltiple. Los modelos algebraicos utilizados para estimar las concentraciones de Sulfametoxazol y Trimetoprim con los parámetros de regresión lineal múltiple obtenidos, fueron los siguientes:

a) Ecuaciones 17 y 18 para el Método de Razones de Absorbancia (Método Q).

b) La ecuación (4) para Regresión Lineal Múltiple y

c) De la ecuación (4),

considerando que  $C_x + C_y = C_t$

y que  $F_x = C_x/C_t$  y  $F_y = C_y/C_t$ ,

sustituyendo tenemos:

$$A_t/C_t = a_x m_b F_x + a_y m_b F_y$$

para aplicar Regresión Lineal Múltiple a las fracciones de las mezclas.

Con las estimaciones se realizó el análisis de precisión y exactitud.

#### Comparación de métodos.

Para evaluar la eficacia de los métodos y elegir el que proporciona menor variabilidad, se elaboraron gráficos de cada uno de los métodos, representando el porcentaje recuperado de cada una de las sustancias por cada uno de los métodos empleados.

**Análisis de variancia.**

Este análisis se efectuó con un modelo factorial de  $5 \times 2$  y  $6 \times 2$  totalmente al azar.

El análisis del efecto de la proporción a diferentes niveles de concentración total se efectuó mediante un análisis de variancia con un modelo factorial  $4 \times 3$ . La variable de respuesta fue la absorptividad a la longitud de onda de isoabsorción.

## ***RESULTADOS***

### **MEZCLA ASPIRINA/SALICILATO**

- 1) **ESPECTROS DE ABSORCION**
- 2) **CURVAS CON CONCENTRACION CONSTANTE DE:**
  - ASPIRINA
  - SALICILATO
- 3) **TABLAS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANADEVA) PARA:**
  - METODO "Q"
  - REGRESION LINEAL MULTIPLE
  - REGRESION LINEAL MULTIPLE DE LAS FRACCIONES
- 4) **COMPARACION GRAFICA DE METODOS**

# ESPECTROS DE ABSORCION

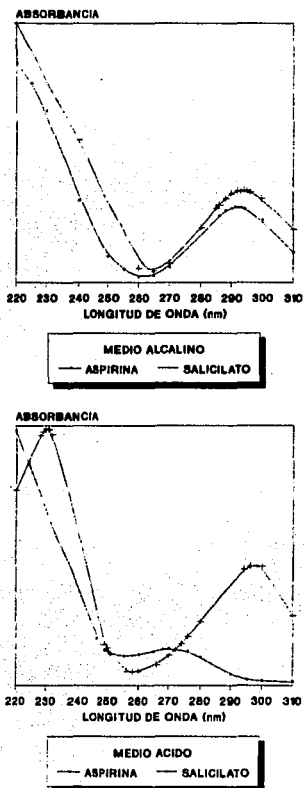


FIG. 3

# CURVAS ASPIRINA CONSTANTE

CONCENTRACION ASPIRINA DIA 1

CONCENTRACION ASPIRINA DIA 2

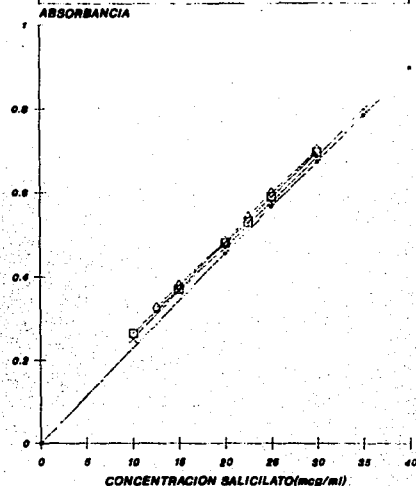
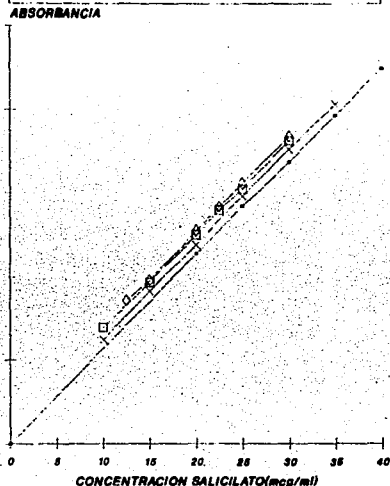
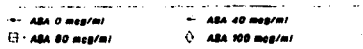
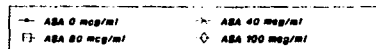
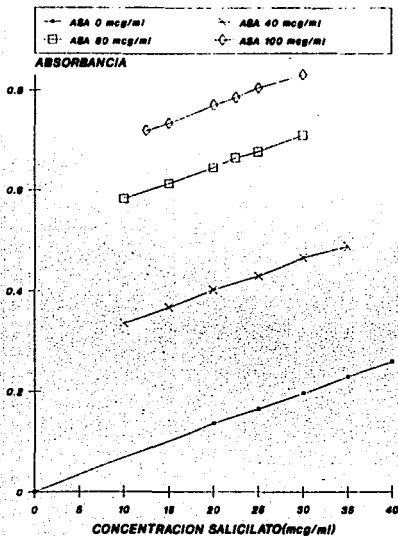


FIG. 4

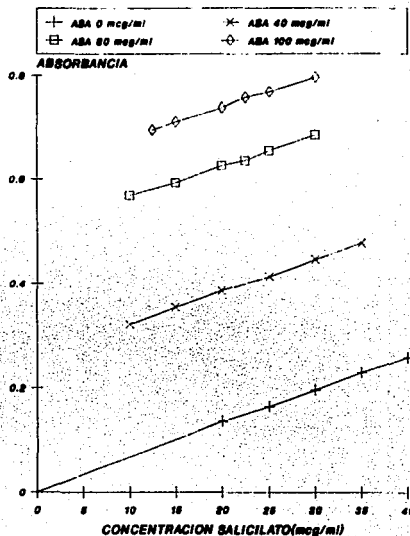
LECTURAS A 298nm

# CURVAS ASPIRINA CONSTANTE

CONCENTRACION ASPIRINA DIA 1



CONCENTRACION ASPIRINA DIA 2

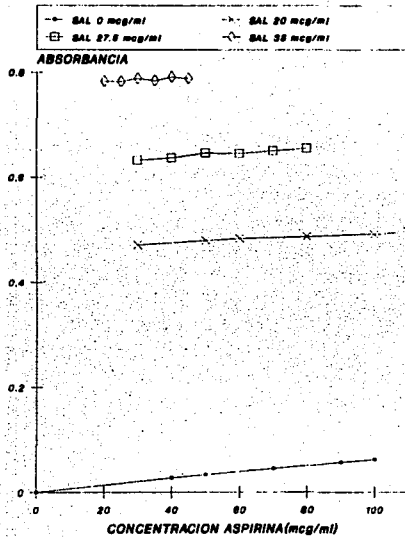


LECTURAS A 272nm

FIG. 5

# CURVAS SALICILATO CONSTANTE

CONCENTRACION SALICILATO DIA 1



CONCENTRACION SALICILATO DIA 2

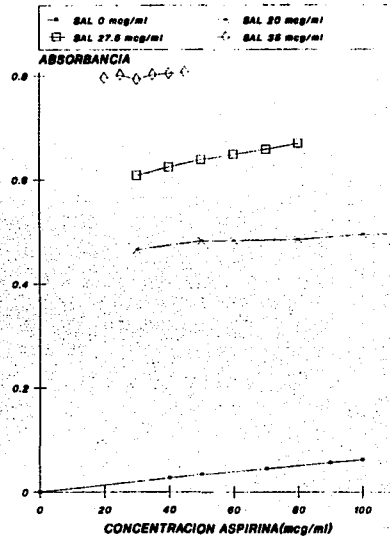


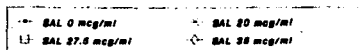
FIG. 6

LECTURAS A 298nm

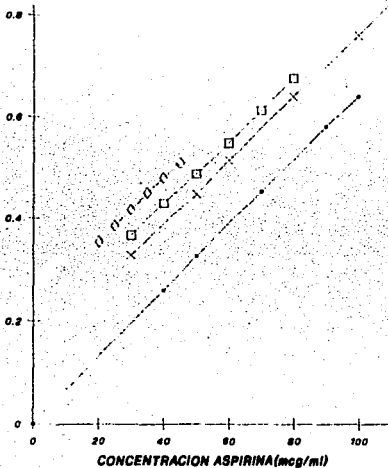


# CURVAS SALICILATO CONSTANTE

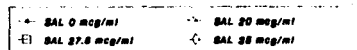
CONCENTRACION SALICILATO DIA 1



ABSORBANCIA



CONCENTRACION SALICILATO DIA 2



ABSORBANCIA

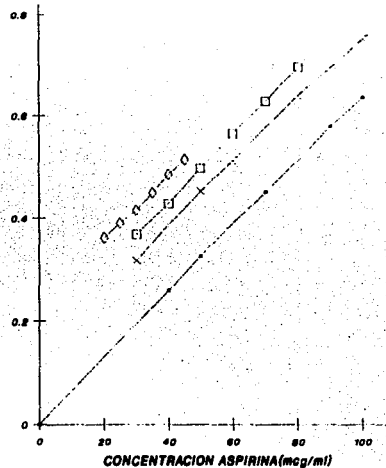


FIG. 7

LECTURAS A 272nm

DETERMINACION DE ASPIRINA EN LAS MEZCLAS POR EL METODO Q (RAZONES DE ABSORBANCIA)

TABLA DE TOTALES

TABLA 1		CONCENTRACIONES			SUMATORIAS	TOTALES
		1	2	3		
DIA 1	ANALISTA 1	1029.94	1015.32	994.79	3040.05	
	ANALISTA 2	1033.40	1020.85	1003.74	3057.98	
SUMATORIAS		2063.34	2036.18	1998.52	6098.03	6098.03
DIA 2	ANALISTA 1	1194.95	1120.7124	1033.17	3348.84	
	ANALISTA 2	1197.58	1112.80	1038.27	3348.65	
SUMATORIAS		2392.53	2233.51	2071.44	6697.48	6697.48
TOTALES		4455.87	4269.69	4069.96		12795.52

TABLA DE ANADEVIA

TABLA 2

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMATORIA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACIONES	2	1862.27	931.14	468.41	199.50
ANALISTA	1	2.62	2.62	1.32	181.40
DIAS	1	2994.49	2994.49	1506.38	18.51
CONCENTRACIONES ANALISTA	2	3.38	1.69	0.85	19.00
CONCENTRACIONES DIAS	2	821.18	410.59	206.55	199.50
ANALISTAS DIAS	1	2.74	2.74	1.38	18.51
CONCENTRACIONES ANALISTAS DIAS	2	2.17	1.09	0.55	3.07
ERROR	108	214.89	1.99		

DETERMINACION DE SALICILATO EN LAS MEZCLAS POR EL METODO Q (RAZONES DE ABSORBANCIA)

TABLA DE TOTALES

TABLA 3		C ONCENTRACIONES			SUMATORIAS	TOTALES
		1	2	3		
DIA 1	A N A L I S T A S	1	1012.44	1015.94	1027.99	3056.38
		2	985.79	991.31	945.69	2922.79
SUMATORIAS		1998.23	2007.25	1973.68	5979.17	5979.17
DIA 2	A N A L I S T A S	1	991.26	982.2822	978.36	
		2	971.60	986.92	1004.53	2963.04
SUMATORIAS		1962.86	1969.18	1982.89	5914.93	5914.93
TOTALES		3961.09	3976.43	3956.57		

TABLA DE ANADEVIA

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	TABLA DE ANADEVIA		TABLA 4	
		SUMATORIA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACIONES	2	5.42	2.71	0.92	199.50
ANALISTA	1	124.91	124.91	42.46	161.40
DIAS	1	34.39	34.39	11.69	18.51
CONCENTRACIONES ANALISTA	2	17.49	8.75	2.97	19.00
CONCENTRACIONES DIAS	2	35.25	17.63	5.99	199.50
ANALISTAS DIAS	1	174.57	174.57	59.34	18.51
CONCENTRACIONES ANALISTAS DIAS	2	142.20	71.10	24.17	3.07
ERROR	108	317.70	2.94		

**DETERMINACION DE ASPIRINA EN LAS MEZCLAS POR EL METODO DE REGRESION LINEAL MULTIPLE  
RESULTADOS PARA ASPIRINA**

TABLA 5		CONCENTRACIONES			SUMATORIAS	TOTALES
		1	2	3		
DIA 1	ANALISTA 1	890.42	940.67	978.13	2809.23	5637.58
	ANALISTA 2	894.48	946.57	967.31	2828.35	
SUMATORIAS		1784.90	1887.24	1965.44	5637.58	
DIA 2	ANALISTA 1	1057.86	1047.73	1017.04	3122.63	
	ANALISTA 2	1080.93	1039.67	1022.20	3122.79	
SUMATORIAS		2118.78	2087.40	2039.23	6245.42	
TOTALES		3603.68	3674.65	4004.67	11883.00	

TABLA DE ANADEVIA

TABLA 6

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMATORIA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACIONES	2	134.49	67.24	33.04	199.50
ANALISTA	1	3.10	3.10	1.52	161.40
DIAS	1	3078.91	3078.91	1512.68	18.51
CONCENTRACIONES ANALISTA	2	3.42	1.71	0.84	19.00
CONCENTRACIONES DIAS	2	845.82	422.91	207.78	199.50
ANALISTAS DIAS	1	3.00	3.00	1.47	18.51
CONCENTRACIONES ANALISTAS DIAS	2	2.30	1.15	0.57	3.07
ERROR	108	219.82	2.04		

DETERMINACION DE SALICILATO EN LAS MEZCLAS POR EL METODO DE REGRESION LINEAL MULTIPLE  
 TABLA DE TOTALES

TABLA 7

		CONCENTRACIONES			SUMATORIAS	TOTALES
		1	2	3		
DIA 1	ANALISTAS 1	994.49	997.88	995.34	2987.72	5874.48
	ANALISTAS 2	967.83	973.25	945.69	2896.77	
SUMATORIAS		1862.33	1971.13	1941.03	5874.48	
DIA 2	ANALISTAS 1	973.28	964.16	969.61	2907.06	
	ANALISTAS 2	953.61	968.82	971.81	2894.25	
SUMATORIAS		1926.90	1932.99	1941.42	5801.31	
TOTALES		3889.22	3904.11	3882.46		11675.79

TABLA DE ANADEVIA

TABLA 8

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMATORIA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACIONES	2	6.14	3.07	1.21	199.50
ANALISTA	1	107.85	107.85	42.58	161.40
DIAS	1	44.62	44.62	17.62	18.51
CONCENTRACIONES ANALISTA	2	12.09	6.05	2.39	19.00
CONCENTRACIONES DIAS	2	23.13	11.56	4.57	199.50
ANALISTAS DIAS	1	64.73	64.73	25.56	18.51
CONCENTRACIONES ANALISTAS DIAS	2	25.15	12.58	4.97	3.07
ERROR	108	273.54	2.53		

DETERMINACION DE ASPIRINA APLICANDO REGRESION LINEAL MULTIPLE A LAS FRACCIONES  
 TABLA DE TOTALES

TABLA 9		CONCENTRACIONES			SUMATORIAS	TOTALES
		1	2	3		
DIA 1	ANALISTAS	1	1322.58	1039.43	1014.62	3376.63
		2	1327.20	1045.12	1042.07	3414.39
SUMATORIAS		2649.77	2084.55	2056.69	6791.02	6791.02
DIA 2	ANALISTAS	1	1350.22	1065.41	1044.13	
		2	1351.42	1062.92	1045.43	3459.77
SUMATORIAS		2701.64	2128.33	2089.56	6919.53	6919.53
TOTALES		5351.41	4212.89	4146.25		

TABLA DE ANADEVA

TABLA 10

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMATORIA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACIONES	2	22942.54	11471.27	32880.11	199.50
ANALISTA	1	11.88	11.88	34.06	161.40
DIAS	1	137.64	137.64	394.51	18.51
CONCENTRACIONES ANALISTA	2	9.87	4.93	14.14	19.00
CONCENTRACIONES DIAS	2	4.54	2.27	6.51	199.50
ANALISTAS DIAS	1	11.88	11.88	34.06	18.51
CONCENTRACIONES ANALISTAS DIAS	2	7.18	3.59	10.29	3.07
ERROR	108	37.68	0.35		

DETERMINACION DE SALICILATO APLICANDO REGRESION LINEAL MULTIPLE A LAS FRACCIONES

TABLA DE TOTALES

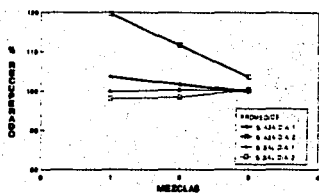
TABLA 11		CONCENTRACIONES			SUMATORIAS	TOTALES
		1	2	3		
DIA 1	ANALISTAS	1	815.67	960.57	926.89	2703.13
		2	813.03	954.88	789.67	2557.57
SUMATORIAS			1628.70	1915.45	1716.55	5260.70
DIA 2	ANALISTAS	1	799.67	934.59	779.34	2513.80
		2	797.62	937.08	772.87	2507.57
SUMATORIAS			1597.49	1871.67	1552.21	5021.37
TOTALES			3226.19	3787.11	3268.76	10282.07

TABLA DE ANADEVA

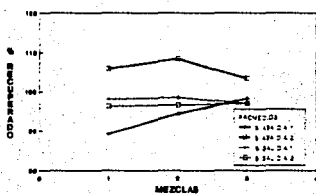
TABLA 12

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMATORIA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACIONES	2	4876.13	2436.06	603.00	199.50
ANALISTA	1	192.00	192.00	47.49	161.40
DIAS	1	477.34	477.34	116.06	18.51
CONCENTRACIONES ANALISTA	2	324.99	162.50	40.19	19.00
CONCENTRACIONES DIAS	2	270.15	135.08	33.41	199.50
ANALISTAS DIAS	1	161.76	161.76	40.01	18.51
CONCENTRACIONES ANALISTAS DIAS	2	267.36	133.67	33.06	3.07
ERROR	108	436.67	4.04		

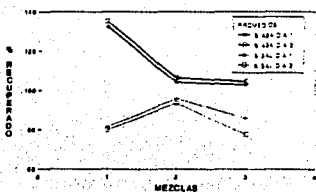
**METODO DE RAZONES DE ABSORBANCIAS "METODO Q"**



**METODO DE REGRESION LINEAL MULTIPLE**



**METODO DE REGRESION LINEAL MULTIPLE DE LAS FRACCIONES**



	ASA	SAL
1	20	35
2	35	35
3	100	35

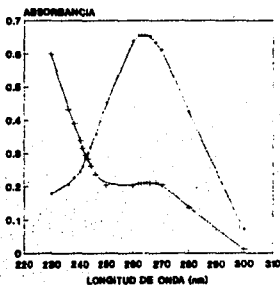
FIG. 8



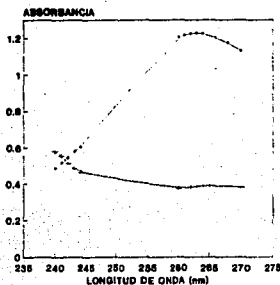
**MEZCLA SULFAMETOXAZOL/TRIMETOPRIM**

- 1) **ESPECTROS DE ABSORCION**
- 2) **CURVAS CON CONCENTRACION CONSTANTE DE:**
  - SULFAMETOKAZOL
  - TRIMETOPRIM
- 3) **TABLAS DE ANALISIS DE VARIANZA (ANAEVA) PARA:**
  - METODO "Q"
  - REGRESION LINEAL MULTIPLE
  - REGRESION LINEAL MULTIPLE DE LAS FRACCIONES
  - EFECTO DE LA PROPORCION Y CONCENTRACION SOBRE LA ABSORTIVIDAD A LA LONGITUD DE ONDA DE ISOBORCION
- 4) **COMPARACION GRAFICA DE METODOS**

# ESPECTROS DE ABSORCION



10 mcg/ml  
— SULFAMETOKAZOL — TRIMETOPRIM



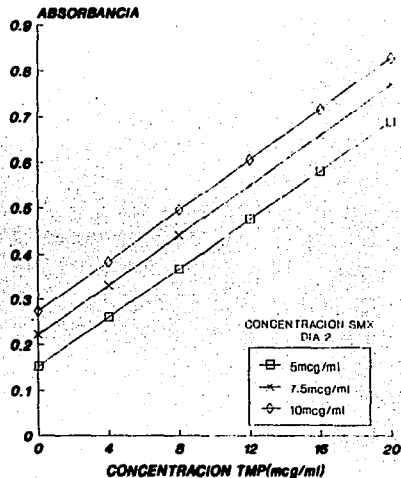
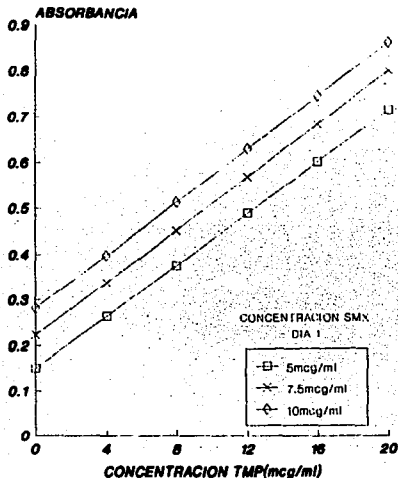
20 mcg/ml  
— SULFAMETOKAZOL — TRIMETOPRIM

MEDIO  
BUFFER PH=3.5

FIG. 9

# CURVAS DE SMX CONSTANTE

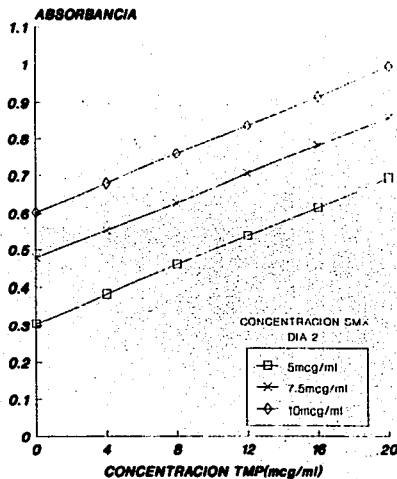
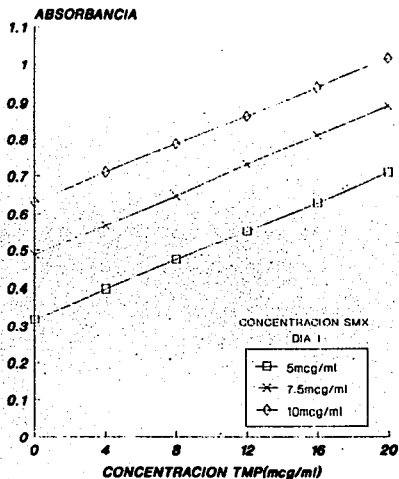
54



LECTURAS A 242nm

FIG. 10

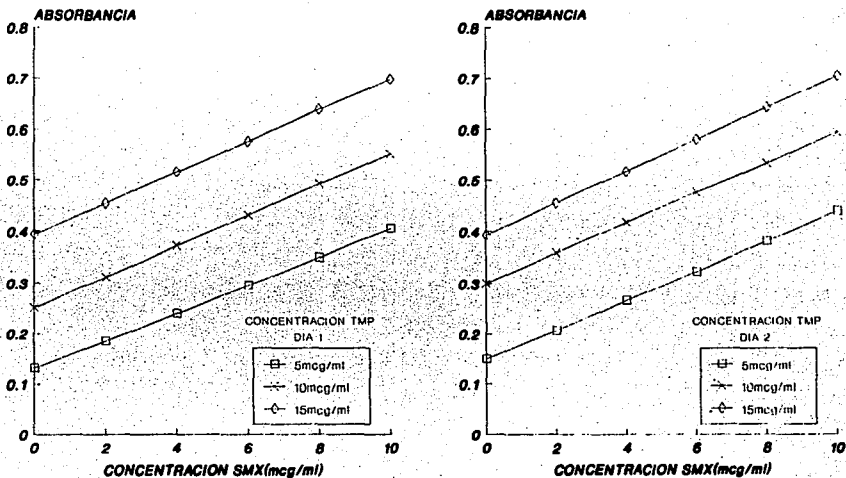
# CURVAS DE SMX CONSTANTE



**LECTURAS A 264nm**

FIG. 11

# CURVAS DE TMP CONSTANTE

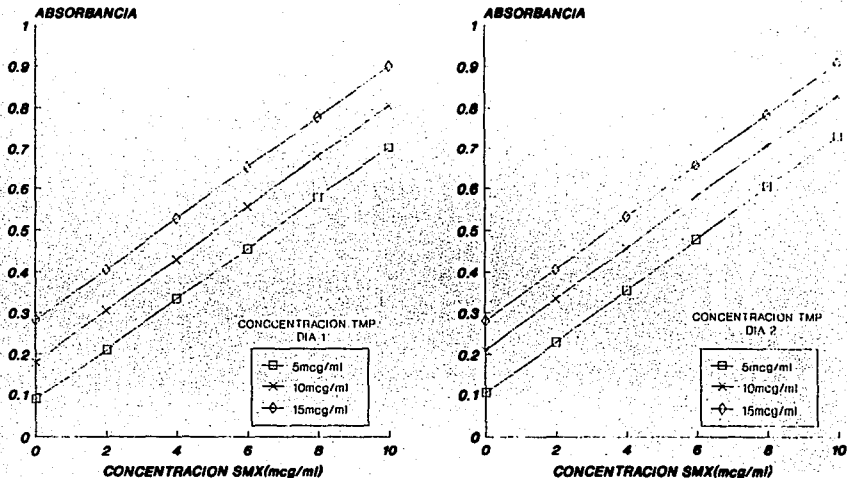


LECTURAS A 242nm

FIG. 12

# CURVAS DE TMP CONSTANTE

57



LECTURAS A 264nm

FIG. 13

**TABLAS DE ANAEVA PARA LOS RESULTADOS DE ESTIMAR LAS CONCENTRACIONES POR RAZONES DE ABSORBANCIAS (METODO Q)**

**SIGNIFICANCIA 0.05**

**SULFAMETOXAZOL 5 mcg/ml**

**% DE SULFAMETOXAZOL**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	5	88609.21	17721.84	3222.15	230.20
DIA	1	63.18	63.18	11.48	6.61
INTERACCION	5	184892.90	36978.58	6723.38	2.62
ERROR	24	132.00	5.50		

TABLA 13

**SULFAMETOXAZOL 7.5 mcg/ml**

**% DE SULFAMETOXAZOL**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	5	98164.12	19632.82	9655.14	230.20
DIA	1	27.89	27.89	13.57	6.61
INTERACCION	5	198495.70	39699.14	19126.58	2.62
ERROR	24	49.31	2.05		

TABLA 14

**SULFAMETOXAZOL 10 mcg/ml**

**% DE SULFAMETOXAZOL**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	5	91470.07	18294.01	11896.53	230.20
DIA	1	45.77	45.77	29.76	6.61
INTERACCION	5	179761.70	35952.34	23379.68	2.62
ERROR	24	36.91	1.54		

TABLA 15

**TABLAS DE ANADEVIA PARA LOS RESULTADOS DE ESTIMAR LAS CONCENTRACIONES POR RAZONES DE ABSORBANCIAS (METODO Q)**

**SIGNIFICANCIA 0.05**

**SULFAMETOXAZOL 5 mcg/ml**

**% DE TRIMETOPRIM**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	4	96024.99	24006.25	3504.56	224.60
DIA	1	4.61	4.61	0.67	7.71
INTERACCION	4	133915.50	33478.88	4667.43	2.87
ERROR	20	137	6.85		

TABLA 16

**SULFAMETOXAZOL 7.5 mcg/ml**

**% DE TRIMETOPRIM**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	4	92457.34	23114.34	1736.08	224.60
DIA	1	38.75	38.75	2.91	7.71
INTERACCION	4	138394.90	34598.73	2598.66	2.87
ERROR	20	266.28	13.31		

TABLA 17

**SULFAMETOXAZOL 10 mcg/ml**

**% DE TRIMETOPRIM**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	4	92212.58	23053.15	2560.24	224.60
DIA	1	62.09	62.09	6.98	7.71
INTERACCION	4	140198.70	35049.68	3938.17	2.87
ERROR	20	178.00	8.90		

TABLA 18



**TABLAS DE ANADEVIA PARA LOS RESULTADOS DE ESTIMAR LAS CONCENTRACIONES POR RAZONES DE ABSORBANCIAS (METODO Q)**

**SIGNIFICANCIA 0.05**

**TRIMETOPRIM 5 mcg/ml**

**% DE SULFAMETOXAZOL**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	4	73470.34	18367.59	3388.70	224.80
DIA	1	0.62	0.62	0.11	7.71
INTERACCION	4	120537.70	30134.43	5568.33	2.87
ERROR	20	108.4688	5.42		

TABLA 19

**TRIMETOPRIM 10 mcg/ml**

**% DE SULFAMETOXAZOL**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	4	71685.02	17921.26	1787.66	224.80
DIA	1	7.06	7.06	0.70	7.71
INTERACCION	4	116042.70	29010.68	2883.83	2.87
ERROR	20	200.50	10.03		

TABLA 20

**TRIMETOPRIM 15 mcg/ml**

**% DE SULFAMETOXAZOL**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	4	79084.58	19771.14	3545.40	224.80
DIA	1	6.68	6.68	1.20	7.71
INTERACCION	4	119758.80	29939.70	5368.84	2.87
ERROR	20	111.53	5.58		

TABLA 21

**TABLAS DE ANADEVA PARA LOS RESULTADOS DE ESTIMAR LAS CONCENTRACIONES POR RAZONES DE ABSORBANCIAS (METODO Q)**

**SIGNIFICANCIA 0,05**

**TRIMETOPRIM 5 mcg/ml**

**% DE TRIMETOPRIM**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	5	103269.80	20653.96	1700.68	230.20
DIA	1	725.93	725.93	59.77	6.61
INTERACCION	5	234782.40	46956.48	3866.47	2.62
ERROR	24	291.47	12.14		

TABLA 22

**TRIMETOPRIM 10 mcg/ml**

**% DE TRIMETOPRIM**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	5	100380.20	20076.04	17763.13	230.20
DIA	1	617.20	617.20	546.09	6.61
INTERACCION	5	233178.50	46635.70	41262.92	2.62
ERROR	24	27.13	1.13		

TABLA 23

**TRIMETOPRIM 15 mcg/ml**

**% DE TRIMETOPRIM**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	5	88609.87	17721.97	5065.90	230.20
DIA	1	0.05	0.05	0.01	6.61
INTERACCION	5	203874.80	40774.96	11632.68	2.62
ERROR	24	64.13	3.51		

TABLA 24

**TABLAS DE ANADEVA PARA LOS RESULTADOS DE ESTIMAR LAS CONCENTRACIONES POR REGRESION LINEAL MULTIPLE**

**SIGNIFICANCIA 0.05**

**SULFAMETOXAZOL 5 mcg/ml** **% DE SULFAMETOXAZOL**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	5	92672.74	18534.55	3330.49	230.20
DIA	1	64.48	64.48	11.59	6.61
INTERACCION	5	187960.80	37592.16	6754.96	2.62
ERROR	24	133.56	5.57		

TABLA 25

**SULFAMETOXAZOL 7.5 mcg/ml** **% DE SULFAMETOXAZOL**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	5	101455.40	20291.08	9703.33	230.20
DIA	1	26.16	26.16	13.47	6.61
INTERACCION	5	198352.30	39670.46	19066.32	2.62
ERROR	24	50.19	2.09		

TABLA 26

**SULFAMETOXAZOL 10 mcg/ml** **% DE SULFAMETOXAZOL**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	5	94110.66	18822.13	12046.16	230.20
DIA	1	46.31	46.31	29.64	6.61
INTERACCION	5	182261.20	36452.24	23329.43	2.62
ERROR	24	37.50	1.56		

TABLA 27

**TABLAS DE ANADEVA PARA LOS RESULTADOS DE ESTIMAR LAS CONCENTRACIONES POR REGRESION LINEAL MULTIPLE**

**SIGNIFICANCIA 0.05**

**SULFAMETOXAZOL 5 mcg/ml**

**% DE TRIMETOPRIM**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	4	80074.99	21518.75	2946.51	224.80
DIA	1	4.52	4.52	0.62	7.71
INTERACCION	4	131817.50	32979.38	4502.10	2.87
ERROR	20	146.0625	7.30		

TABLA 28

**SULFAMETOXAZOL 7.5 mcg/ml**

**% DE TRIMETOPRIM**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	4	81749.84	20437.46	1478.97	224.80
DIA	1	36.73	36.73	2.80	7.71
INTERACCION	4	135155.70	33788.93	2445.15	2.87
ERROR	20	276.38	13.82		

TABLA 29

**SULFAMETOXAZOL 10 mcg/ml**

**% DE TRIMETOPRIM**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	4	80490.51	20122.63	2179.84	224.80
DIA	1	62.39	62.39	6.76	7.71
INTERACCION	4	138396.70	34099.68	3693.94	2.87
ERROR	20	184.63	9.23		

TABLA 30

**TABLAS DE ANADEVIA PARA LOS RESULTADOS DE ESTIMAR LAS CONCENTRACIONES POR REGRESION LINEAL MULTIPLE**

**SIGNIFICANCIA 0.05**

**TRIMETOPRIM 5 mcg/ml**

**% DE SULFAMETOXAZOL**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	4	78056.72	19514.18	3509.15	224.80
DIA	1	0.23	0.23	0.04	7.71
INTERACCION	4	124098.50	31024.63	5578.03	2.87
ERROR	20	111.2188	5.56		

TABLA 31

**TRIMETOPRIM 10 mcg/ml**

**% DE SULFAMETOXAZOL**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	4	74752.78	18688.20	1848.60	224.80
DIA	1	4.69	4.69	0.48	7.71
INTERACCION	4	118818.00	29654.00	2930.15	2.87
ERROR	20	202.41	10.12		

TABLA 32

**TRIMETOPRIM 15 mcg/ml**

**% DE SULFAMETOXAZOL**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	4	81161.97	20290.49	3533.58	224.80
DIA	1	6.66	6.66	1.16	7.71
INTERACCION	4	121665.20	30416.30	5296.99	2.87
ERROR	20	114.84	5.74		

TABLA 33

**TABLAS DE ANADEVA PARA LOS RESULTADOS DE ESTIMAR LAS CONCENTRACIONES  
POR REGRESION LINEAL MULTIPLE**

**SIGNIFICANCIA 0.05**

**TRIMETOPRIM 5 mcg/ml**

**% DE TRIMETOPRIM**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	5	90565.35	18113.07	2667.57	230.20
DIA	1	628.16	628.16	93.21	6.61
INTERACCION	5	198961.90	39792.38	5844.93	2.62
ERROR	24	161.75	6.74		

TABLA 34

**TRIMETOPRIM 10 mcg/ml**

**% DE TRIMETOPRIM**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	5	96185.78	19037.16	16101.91	230.20
DIA	1	640.27	640.27	541.55	6.61
INTERACCION	5	218246.40	43649.28	36919.21	2.62
ERROR	24	28.36	1.18		

TABLA 35

**TRIMETOPRIM 15 mcg/ml**

**% DE TRIMETOPRIM**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	5	86278.35	17255.67	4892.76	230.20
DIA	1	0.06	0.06	0.02	6.61
INTERACCION	5	196603.80	39320.72	10693.45	2.62
ERROR	24	88.25	3.68		

TABLA 36

**TABLAS DE ANADEVIA PARA LCS RESULTADOS DE ESTIMAR LAS CONCENTRACIONES  
POR REGRESION LINEAL MULTIPLE DE LAS FRACCIONES**

**SIGNIFICANCIA 0.05**

**SULFAMETOXAZOL 5 mcg/ml** **% DE SULFAMETOXAZOL**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	5	8886.43	17677.29	1632.14	230.20
DIA	1	15.83	15.83	1.48	6.61
INTERACCION	5	154532.00	30906.39	2653.58	2.62
ERROR	24	229.94	10.83		

TABLA 37

**SULFAMETOXAZOL 7.5 mcg/ml** **% DE SULFAMETOXAZOL**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	5	91757.36	18351.48	4886.32	230.20
DIA	1	0.40	0.40	0.10	6.61
INTERACCION	5	217677.90	43535.57	11067.63	2.62
ERROR	24	94.41	3.93		

TABLA 38

**SULFAMETOXAZOL 10 mcg/ml** **% DE SULFAMETOXAZOL**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	5	87321.04	17464.21	7011.25	230.20
DIA	1	1.31	1.31	0.53	6.61
INTERACCION	5	218720.90	43744.17	17561.69	2.62
ERROR	24	59.78	2.49		

TABLA 39

**TABLAS DE ANADEVA PARA LOS RESULTADOS DE ESTIMAR LAS CONCENTRACIONES  
POR REGRESION LINEAL MULTIPLE DE LAS FRACCIONES**

**SIGNIFICANCIA 0.05**

**SULFAMETOXAZOL 5 mcg/ml** **% DE TRIMETOPRIM**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	4	67620.12	1695.03	6501.63	224.60
DIA	1	0.59	0.59	0.22	7.71
INTERACCION	4	127124.30	31781.07	12186.87	2.87
ERROR	20	52.15625	2.61		

TABLA 40

**SULFAMETOXAZOL 7.5 mcg/ml** **% DE TRIMETOPRIM**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	4	60896.13	15223.78	5378.54	224.60
DIA	1	0.24	0.24	0.06	7.71
INTERACCION	4	108719.40	27429.84	9680.92	2.87
ERROR	20	56.61	2.83		

TABLA 41

**SULFAMETOXAZOL 10 mcg/ml** **% DE TRIMETOPRIM**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	4	64797.34	16199.33	7880.09	224.60
DIA	1	1.05	1.05	0.51	7.71
INTERACCION	4	106457.60	26614.39	12962.87	2.87
ERROR	20	41.06	2.05		

TABLA 42



**TABLAS DE ANADEVIA PARA LOS RESULTADOS DE ESTIMAR LAS CONCENTRACIONES  
POR REGRESION LINEAL MULTIPLE DE LAS FRACCIONES**

**SIGNIFICANCIA 0.05**

**TRIMETOPRIM 5 mcg/ml**

**% DE SULFAMETOXAZOL**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	4	84448.60	21112.15	1766.48	224.80
DIA	1	454.74	454.74	38.05	7.71
INTERACCION	4	127706.20	31926.55	2671.33	2.87
ERROR	20	238.0313	11.95		

TABLA 43

**TRIMETOPRIM 10 mcg/ml**

**% DE SULFAMETOXAZOL**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	4	66223.93	16555.98	529.29	224.80
DIA	1	941.91	941.91	30.11	7.71
INTERACCION	4	138547.90	34886.98	1115.32	2.87
ERROR	20	625.59	31.28		

TABLA 44

**TRIMETOPRIM 15 mcg/ml**

**% DE SULFAMETOXAZOL**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	4	66797.22	16699.31	1337.62	224.80
DIA	1	38.91	38.91	3.12	7.71
INTERACCION	4	149463.50	37365.88	2983.01	2.87
ERROR	20	249.69	12.48		

TABLA 45

**TABLAS DE ANADEVIA PARA LOS RESULTADOS DE ESTIMAR LAS CONCENTRACIONES POR REGRESION LINEAL MULTIPLE DE LAS FRACCIONES**

**SIGNIFICANCIA 0.05**

**TRIMETOPRIM 5 mcg/ml**

**% DE TRIMETOPRIM**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	5	124319.60	24863.92	2218.08	230.20
DIA	1	10.16	10.16	0.91	6.61
INTERACCION	5	158207.10	31641.42	2822.70	2.82
ERROR	24	289.03	11.21		

TABLA 46

**TRIMETOPRIM 10 mcg/ml**

**% DE TRIMETOPRIM**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	5	104147.60	20829.52	128.99	230.20
DIA	1	897.20	897.20	5.56	6.61
INTERACCION	5	161785.90	32357.18	200.38	2.62
ERROR	24	3875.47	161.48		

TABLA 47

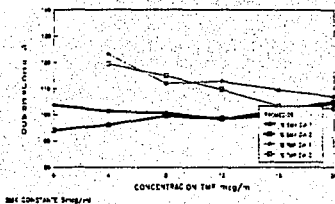
**TRIMETOPRIM 15 mcg/ml**

**% DE TRIMETOPRIM**

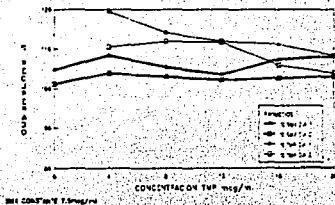
FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F DE TABLAS
CONCENTRACION	5	125188.60	25037.72	10479.00	230.20
DIA	1	0.34	0.34	0.14	6.61
INTERACCION	5	160375.90	32075.18	13424.38	2.62
ERROR	24	57.34	2.39		

TABLA 48

METODO DE RAZONES DE  
ABSORBANCIA (METODO Q)



METODO DE RAZONES DE  
ABSORBANCIA (METODO Q)



METODO DE RAZONES DE  
ABSORBANCIA (METODO Q)

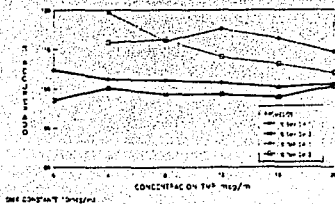
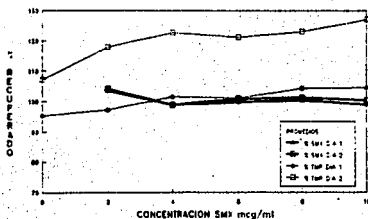


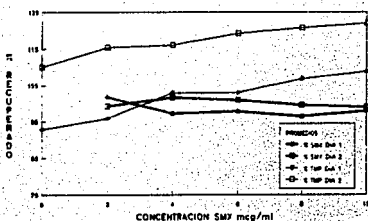
FIG. 14

METODO DE RAZONES DE ABSORBANCIA (METODO Q)



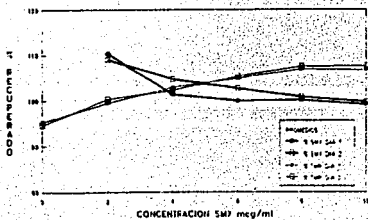
$T_{1/2}$  CONSTANTE 3 mg/h

METODO DE RAZONES DE ABSORBANCIA (METODO Q)



$T_{1/2}$  CONSTANTE 10 mg/h

METODO DE RAZONES DE ABSORBANCIA (METODO Q)

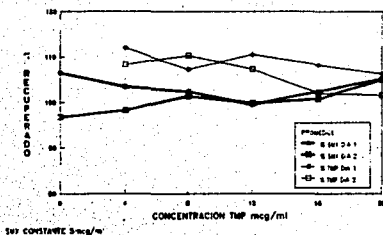


$T_{1/2}$  CONSTANTE 3 mg/h

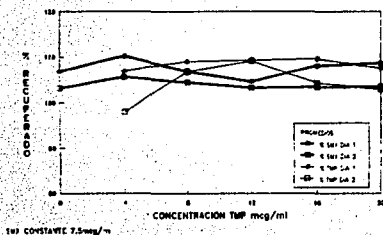
FIG. 15

FALLA DE ODICEN

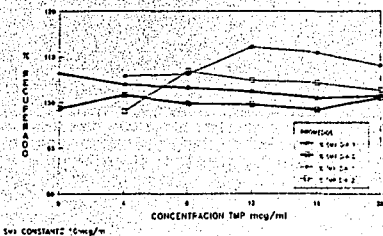
### METODO DE REGRESION LINEAL MULTIPLE



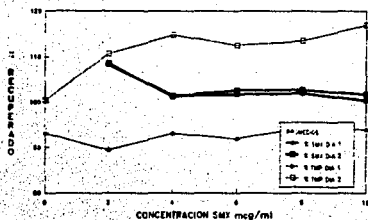
### METODO DE REGRESION LINEAL MULTIPLE



### METODO DE REGRESION LINEAL MULTIPLE

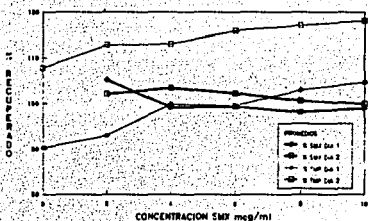


### METODO DE REGRESION LINEAL MULTIPLE



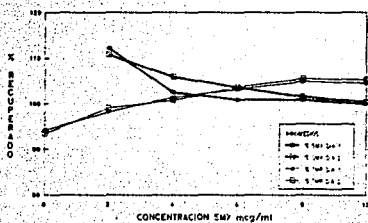
1<sup>er</sup> CONSTANTE 5 mcg/ml

### METODO DE REGRESION LINEAL MULTIPLE



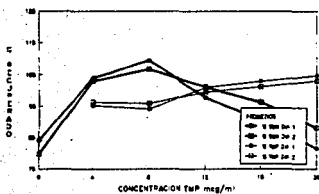
1<sup>er</sup> CONSTANTE 6 mcg/ml

### METODO DE REGRESION LINEAL MULTIPLE



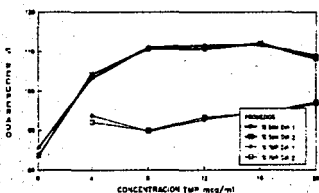
1<sup>er</sup> CONSTANTE 15 mcg/ml

METODO DE REGRESION LINEAL  
MÚLTIPLE DE LAS FRACCIONES



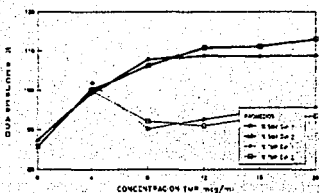
VALOR CONSTANTE 3mg/ml

METODO DE REGRESION LINEAL  
MÚLTIPLE DE LAS FRACCIONES



VALOR CONSTANTE 7.5mg/ml

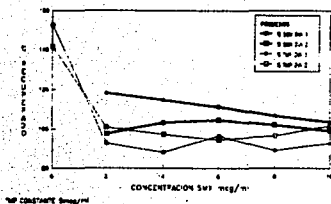
METODO DE REGRESION LINEAL  
MÚLTIPLE DE LAS FRACCIONES



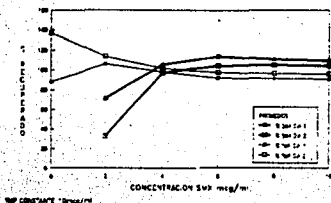
VALOR CONSTANTE 15mg/ml

FIG. 18

METODO DE REGRESION LINEAL  
MÚLTIPLE DE LAS FRACCIONES



METODO DE REGRESION LINEAL  
MÚLTIPLE DE LAS FRACCIONES



METODO DE REGRESION LINEAL  
MÚLTIPLE DE LAS FRACCIONES

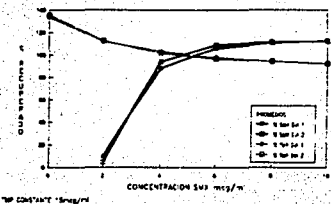


FIG. 19



## ANALISIS DE RESULTADOS MEZCLA ASPIRINA-SALICILATO

### ESPECTROS DE ABSORCION

Como se observa en los espectros de la figura 3, las mejores condiciones para aplicar el Método Q es el medio ácido, leer a 272nm (longitud de onda de isoabsorción) y a 298nm (longitud de onda máxima del salicilato). Sin embargo, en los espectros se observa lo siguiente:

- En la longitud de onda de isoabsorción (272nm) la aspirina presenta su punto de máxima absorción, mientras que el espectro del salicilato tiene una pendiente pronunciada. Por lo tanto, la aspirina tendrá poca variación en la absorbancia en intervalos de longitud de onda en que el coeficiente de absorptividad del salicilato cambia notablemente.
- En la longitud de onda de 298nm la respuesta de la Aspirina en absorbancia es aproximadamente 20 veces menor que la del Salicilato.

### CURVAS CON UN COMPONENTE DE LA MEZCLA, CON CONCENTRACION CONSTANTE.

Al realizar una comparación de pendientes de las rectas con la concentración de Aspirina constante, no se encontró efecto de la Aspirina sobre la respuesta del Salicilato en ninguna de las dos longitudes de onda (figuras 4 y 5).

Por otro lado tampoco se encontró efecto significativo del salicilato en la respuesta de la Aspirina en ninguna de las dos longitudes de onda (figuras 6 y 7); sin embargo, a 298nm se observa notablemente una absorptividad baja de la Aspirina por lo que las curvas con salicilato constante tienen un coeficiente de correlación menor a 0.99. (Ver tabla 54 del Apéndice II).

#### ESTIMACION DE CONCENTRACIONES EN MEZCLAS

En las tablas 50-61 del Apéndice II se muestran los resultados de la estimación de concentraciones por tres métodos diferentes. En estas tablas se observan diferencias en cuanto a la estimación de los componentes de las mezclas, por lo que se compararon los coeficientes de variación del porcentaje de recuperación de cada componente, además de comparaciones gráficas.

#### COEFICIENTES DE VARIACION

Con los resultados de coeficiente de variación, se tiene un parámetro de comparación de la precisión entre los métodos. Se encontró que el Método Q y el de Regresión Lineal Múltiple coinciden con coeficientes de variación similares y en general menores a 1%. En la estimación del Salicilato en mezclas analizadas el día 2, se encontraron coeficientes de variación mayores a 1% como se muestra en la tabla 57. Por estos métodos, las mezclas que tienen coeficientes de variación menores a 1% son 100 mcg/ml de Aspirina con 20 mcg/ml de Salicilato analizadas por dos analistas en el día 1.

Con el Método de Regresión Lineal Múltiple de las Fracciones de los componentes, se obtienen valores de coeficientes de variación menores a 1 como se muestra en las tablas 60 y 61, independientemente del analista y del día, encontrando valores mayores a 1 únicamente en la determinación de componentes de las mezclas de 100-20 mcg/ml de Aspirina-Salicilato.

#### COMPARACION GRAFICA DE METODOS

En el Método Q es en el que se observa menor variación como se muestra en la figura 8, aunque para la aspirina se observa una sobreestimación (recuperación arriba del 100%, atribuible al día.

Para las estimaciones por Regresión Lineal Múltiple los valores están entre 90 y 110% (figura 8).

El método de Regresión Lineal Múltiple de las Fracciones es el que presenta mayor variación y sólo parece adecuado para la mezcla Aspirina-Salicilato de 35-35 mcg/ml (figura 8). Aun cuando este método resultó tener coeficientes de variación menores al 1%, es el que presenta menor exactitud.

#### REPRODUCIBILIDAD

En los resultados del análisis de varianza para las determinaciones por el Método de Razones de Absorbancia se observa:

- 1) Para la cuantificación de Aspirina existe efecto atribuible a la concentración, día e interacción concentración-día. (Tabla 2).
- 2) Para la determinación de Salicilato sólo se encontró efecto atribuible a la interacción analista-día y la interacción concentración-analista-día. (Tabla 4).

Con respecto al método de Regresión Lineal Múltiple se tiene:

- 1) Efecto atribuible al día y a la interacción concentración-día cuando se determina Aspirina. (Tabla 6).
- 2) Para la determinación del Salicilato se encontró efecto en la interacción "analista-día" y la interacción "concentración-analista-día". (Tabla 8).

En el método de Regresión Lineal Múltiple de la Fracciones, es donde se encontró mayor efecto de los factores, concentración, analista, día y sus interacciones. Esto se observó en las determinaciones de Aspirina y Salicilato.

En resumen, en los tres métodos, se encuentra efecto atribuible a la concentración, al día y a sus interacciones. El efecto varía dependiendo de la sustancia determinada. Sin embargo, los tres métodos coinciden en que no existe efecto atribuible al analista.

## MEZCLA SULFAMETOXAZOL-TRIMETOPRIM

### ESPECTROS DE ABSORCIÓN

En los espectros de absorción de las dos sustancias (ver figura 9) se observa:

- En la longitud de onda de isoabsorción (242 nm) las dos sustancias presentan una pendiente pronunciada, que implica grandes variaciones de absorbancia en intervalos pequeños de longitud de onda.
- A 284 nm que es la longitud de onda de máxima absorción del Sulfametoxazol, su respuesta en absorbancia es tres veces mayor que la del trimetoprim.

### CURVAS CON UN COMPONENTE DE LA MEZCLA, CON CONCENTRACION CONSTANTE.

Al realizar una comparación de pendientes entre las curvas de cada componente con una concentración constante del otro, para detectar el efecto en la absorbancia, no se encontró influencia de ninguna de las dos sustancias sobre la respuesta de la otra, lo cual se muestra en los resultados de las Tablas 65 y 66. Además, los coeficientes de correlación para todas es mayor de 0.99 .

### ESTIMACION DE CONCENTRACIONES EN MEZCLAS

En los resultados de la determinación de concentraciones de los componentes de la mezcla, se encontró:

- 1) Para el Método Q, efecto de la concentración, día e interacción concentración-día, sobre la determinación de cada uno de los componentes de las mezclas. Sin embargo, no hay efecto del día en la determinación de Trimetoprim en mezclas con Sulfametoxazol constante a 5, 7.5 y 10mcg/ml (tablas 16, 17 y 18). Tampoco se encontró efecto del día para determinar Sulfametoxazol en mezclas con concentración de Trimetoprim constante (tablas 19, 20 y 21).
- 2) En el Método de Regresión Lineal Múltiple, también se encontró el efecto de la concentración, el día y la interacción concentración-día, que se observó con el Método Q (tablas 25 a 30).

3) Con el Método de Regresión Lineal Múltiple de las Fracciones, se encontró efecto de la concentración y la interacción concentración-día, para todas las mezclas. En las mezclas, no se encontró efecto atribuible al día con excepción de la determinación de Sulfametoxazol en mezclas con Trimetoprim constante a 5 y 10 mcg/ml (tablas 43 y 44).

#### COMPARACION GRAFICA DE METODOS

De los gráficos elaborados para representar la efectividad de cada método se puede destacar lo siguiente:

-El método de Regresión Lineal Múltiple de las Fracciones es el que presenta mayor variación y sólo disminuye esta un poco con mezclas de baja concentración de Sulfametoxazol y altas de Trimetoprim.

En los otros dos métodos la variación en general es menor con respecto a éste.

El método de Regresión Lineal Múltiple tiene una tendencia general a la estimación de las concentraciones de las dos sustancias por encima del 100%.

En las estimaciones por el Método Q, las determinaciones del Sulfametoxazol se encuentran más en el rango del 100% de recuperación y las del Trimetoprim tienen menor variación cuando su proporción con respecto al Sulfametoxazol es de 2:1 .

Gráficamente, se observa el efecto atribuible al día (figuras 15 y 17) en el porcentaje de Trimetoprim recuperado día 2.

#### ANALISIS DE MEZCLAS A CONCENTRACIONES TOTALES FIJAS

En los análisis de varianza realizados con las absorptividades a la longitud de onda de isoabsorción, se encontró que existe efecto atribuible a la concentración total y a las proporciones sobre el coeficiente de absorptividad a la longitud de onda de isoabsorción. Esto origina, que exista error en las determinaciones debido a la proporción de los componentes en las mezclas.

## CONCLUSIONES

En General para las dos mezclas se encontró:

- 1) Que el punto de isoabsorción corresponde a una longitud de onda que con pequeñas variaciones en su ajuste, ocasionará diferencias considerables en la absorbancia lo cual coincide con lo expuesto por Pernarowski y colaboradores, en su artículo APPLICATION OF ABSORBANCY RATIO TO THE ANALYSIS OF PHARMACEUTICALS (1961). Por lo tanto el ajuste influye también en el día.
- 2) Que si la longitud de máxima absorción para una de las sustancias de la mezcla, corresponde a una respuesta pobre para la otra, existe limitación en cuanto al rango de concentraciones y proporciones que permitirán cuantificaciones confiables.
- 3) No hay interacción entre las sustancias de cada mezcla, que influya en su respuesta.
- 4) La concentración y el día son factores que influyen en las determinaciones por cualquiera de los tres métodos aplicados.
- 5) La proporción de componentes en las mezclas influye en la absorptividad a la longitud de onda de isoabsorción.

De los resultados anteriores, se derivan las siguientes recomendaciones, que podrían tomarse en cuenta para la continuación de este estudio.

Para eliminar los inconvenientes del ajuste de la longitud de onda y controlar las variaciones atribuibles al día de análisis, se debe utilizar un espectrofotómetro con ajuste de longitud de onda automático, para que este sea un factor constante.

Una vez controlados los factores anteriores, sólo queda determinar el intervalo de concentraciones y por consiguiente de proporciones de cada mezcla, que pueden ser cuantificados con mayor precisión y exactitud.

# ***APENDICE I***

## VALIDACION <sup>(30, 22, 23)</sup>

La validación de un método analítico consiste en determinar la exactitud y establecer su variabilidad.

Los resultados que se obtienen al utilizar una técnica analítica cuantitativa son producto de una medición y por lo tanto están sujetos al error de la misma.

El error total de una medición es el resultado de la suma del error sistemático o determinado (que da lugar a medidas incorrectas) y del error aleatorio o indeterminado (que da lugar a medidas imprecisas). El error sistemático o desviación (bias) de un método indica su tendencia a medir algo que no es lo que se busca y puede dividirse en constante o absoluto y proporcional o relativo.

A continuación se ilustra la desviación junto con otros conceptos relacionados como la exactitud y precisión.

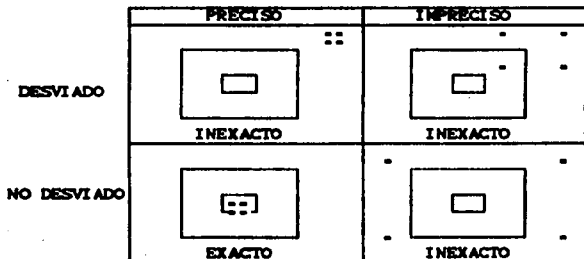


FIG. 30 EN LA FIGURA SE ESQUEMATIZAN LOS CONCEPTOS CON UNA ANALOGIA DE TIROS AL BLANCO(10).

Con la validación de una técnica analítica se busca evaluar estadísticamente los errores de ésta, utilizando para ello métodos estadísticos con los que se conoce y asegura la confiabilidad de los resultados que se obtengan al aplicar la técnica.



El primer paso en el procedimiento de desarrollo de métodos analíticos es establecer: "¿qué se va a medir? y ¿cómo debe ser medido?"; después, elegir de los métodos disponibles, o decidir si se requiere de un nuevo método. Si se requiere de otro método proceder a desarrollar el método básico. A continuación, se requieren de ensayos preliminares a groso modo para tantear la repetibilidad. Una vez definido el procedimiento analítico, es apropiado hacer la validación, para lo cual se requieren evaluar factores tales como exactitud, precisión (en términos de repetibilidad y reproducibilidad), y linealidad; estos son los factores mínimos indispensables para llevar a cabo la validación de una técnica analítica, pero de acuerdo al uso y aplicaciones que se pretendan de la misma, es que se requiere determinar también especificidad, límite de detección, estabilidad y tolerancia.

En seguida se definen los conceptos anteriores y los parámetros estadísticos que los describen.

#### EXACTITUD

Concordancia absoluta entre el valor de una propiedad medida experimentalmente y su valor real de referencia (el valor real o verdadero es aquel que se vería en ausencia de error), en otras palabras, la exactitud muestra con que grado de fidelidad mide un método aquello que se supone que debe medir<sup>(40)</sup>. Implica que no existe error sistemático inherente al procedimiento.

Es uno de los atributos más importantes de validar o verificar en un método analítico.

Parámetros estadísticos:

-Prueba t-student

Consiste en comparar la media muestral ( $\bar{x}$ ) con la poblacional ( $\mu$ ) que representa el valor real.

Ho:  $\bar{x} = \mu$  hipótesis nula

Ha:  $\bar{x} \neq \mu$  hipótesis alterna

$$t_{\text{cal}} = \frac{\bar{x} - \mu}{S_{\bar{x}}}$$

t<sub>cal</sub>: Valor de t calculado

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{N}$$

$\bar{x}$ : Media muestral => suma de todas las observaciones entre el número total de observaciones.

$$S_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{N}}$$

$S_{\bar{x}}$ : Error estándar de la media muestral.

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{N - 1}}$$

S: Desviación estándar muestral (es una medida de la dispersión de un grupo de datos).

$t(\alpha, g.l.)$

t: Obtenida de tablas.

$\alpha$ : Significancia estadística.

g.l.: Grados de libertad => N-1.

Criterio de la prueba de hipótesis.

Si  $t_{\text{cal}} > t(\alpha, g.l.)$  se rechaza  $H_0$  (por lo tanto, la media muestral es estadísticamente diferente de la media poblacional).

-Intervalo de confianza al 95% (I.C. 95%).

$$I.C. 95\% = \bar{x} \pm S_{\bar{x}} t(\alpha, g.l.)$$

#### PRECISION

Concordancia relativa entre mediciones repetidas independientes, de una misma propiedad bajo las mismas condiciones (repetibilidad) y/o bajo diferentes condiciones (reproducibilidad); en general se refiere a la extensión de la variabilidad de un grupo de mediciones. Es decir, es el patrón de variación de ensayos simples sobre una muestra uniforme, que se ve influido por el error al azar.

Parámetro estadístico:

-Coeficiente de variación (C.V.).

$$\%C.V. = \frac{S}{\bar{x}} (100)$$

Criterio

Debido a que la precisión como repetibilidad es requerida en la linealidad del sistema y del método, sus valores críticos varían y van de 1.5-5% dependiendo también del tipo de método y muestra (para determinaciones en fluidos biológicos se puede ampliar hasta 10%).

La precisión como reproducibilidad se ve más adelante.

#### LINEALIDAD

Medición del grado en que una curva se aproxima a una línea recta. En validación se requiere determinar la linealidad del sistema y del método de medición.

#### LINEALIDAD DEL SISTEMA DE MEDICIÓN

Es la relación que se establece mediante una recta, entre la propiedad, física, química o biológica que se utiliza, con la cantidad de fármaco determinada por medio de esa propiedad; el objetivo es demostrar que se tiene una respuesta proporcional a la cantidad o concentración. La línea se construye con una curva de calibración que se analiza aplicando regresión lineal por el método de mínimos cuadrados.

Parámetros estadísticos

-Regresión Lineal

$$r = \frac{\sum (x-\bar{x})(y-\bar{y})}{\sqrt{\sum (x-\bar{x})^2 \sum (y-\bar{y})^2}}$$
$$m = \frac{\sum (x-\bar{x})(y-\bar{y})}{\sum (x-\bar{x})^2}$$

r = Coeficiente de correlación.

r<sup>2</sup> = Coeficiente de determinación.

m = Pendiente de la recta o coeficiente de regresión.

$$b = \bar{y} - m \bar{x}$$

b = Intercepto.

Ecuación de la recta:  $Y = B + Mx$

Criterios

$$r \geq 0.99, \quad r^2 \geq 0.98 \quad \text{y} \quad b \geq 0$$

$$\text{C.V.} \leq 1.5$$

Si  $r$  o  $r^2$  son menores que los valores anteriores, los puntos no siguen la tendencia de una línea recta y si ésta no tiene un intercepto igual a cero, implica que el método tiene un error en la estimación, por consiguiente es necesario comprobar estadísticamente que el intercepto es cero.

-Prueba de hipótesis para el intercepto (B) <sup>(22,25,26)</sup>

Para determinar si el valor estimado del intercepto es estadísticamente igual a cero se realiza una prueba de hipótesis.

$$H_0: B = 0$$

$$H_a: B \neq 0$$

$$t_{\text{cal}} = \frac{b}{S_b}$$

$S_b$ : Error estándar del estimado b.

$$S_b = S_{y,x} \left[ \frac{1}{N} + \frac{\bar{x}^2}{\sum (x - \bar{x})^2} \right]^{1/2}$$

$S_{y,x}$ : Error estándar de la regresión.

$$S_{y,x} = \sqrt{\frac{\sum (y - \hat{y})^2}{N-2}}$$

y: Valor observado de la propiedad.

$\hat{y}$ : Valor estimado por la ecuación de la línea de regresión.

$$t(\alpha, p.f.) = t(\alpha, \text{D.F.}, N-2)$$

Criterio de la prueba de hipótesis.

$$\text{Si } t_{\text{cal}} \geq t(\alpha, \text{D.F.}, N-2).$$

Se rechaza  $H_0$ .

-Intervalo de Confianza Para b.

$$\text{I.C.}_b = b \pm S_b \cdot t(\alpha, \text{D.F.}, N-2)$$

-Análisis de varianza (ANADEVA) para linealidad.

$$SCR = n(\sum y_i)^2 - b(\sum y_i) - [( \sum y_i )^2 / N] \Rightarrow \text{Sumatoria de cuadrados de regresión.}$$

$$SCer = \sum y_i^2 - n(\sum y_i) - b(\sum y_i) \Rightarrow \text{SC del error de regresión.}$$

$$SCep = \sum y_i^2 - [(\sum y_i)^2 / r] \Rightarrow \text{SC del error puro.}$$

$(\sum y_i)^2$  : SC de los totales.

r = Número de replicaciones.

$$SCfa = SCer - SCep$$

$\Rightarrow$  SC de la falta de ajuste.

T A B L A D E A N A D E V A

Fuente de variación	g. l.	SC	MC	Fcal	Fcrit
Regresión	1	SCR	SCR	$Fr = \frac{SCR}{MCer}$	(g. l. r; g. l. er; $\alpha$ )
Error de Regresión	N-2	SCer	$\frac{SCer}{g. l. er}$		
Falta de Ajuste	(N-2)-t(r-1)	SCfa	$\frac{SCfa}{g. l. fa}$	$Ffa = \frac{MCfa}{MCep}$	(g. l. fa; g. l. ep; $\alpha$ )
Error puro	t(r-1)	SCep	$\frac{SCep}{g. l. ep}$		

Criterios

Si  $Fr \geq Fcrit(K1, N-2, \alpha)$   $\Rightarrow$  Existe una relación altamente significativa entre x y y .

Si  $Ffa \geq F(N-2)-t(r-1), t(r-1), \alpha$   $\Rightarrow$  Existe falta de ajuste de la relación lineal simple x-y .

#### LINEALIDAD DEL METODO DE MEDICION

Determinación de la linealidad de la relación entre la concentración de fármaco recuperado ( $C^R$ ) y la concentración de fármaco adicionado ( $C^A$ ).

### Parámetros estadísticos

-Recobro experimental =  $\frac{C^B}{C^A} \times 100$  Util para evaluar el error constante.

-De una gráfica de  $C^A$  vs.  $C^B$  se puede detectar el error proporcional si es que está presente en el método.

### -Regresión Lineal

Determinación de los valores de  $r$ ,  $r^2$ ,  $b$ , y  $m$ .

### Criterios

$$r \geq 0.99, r^2 \geq 0.98, b \geq 0, m \geq 1$$

Para determinar si el intercepto es estadísticamente igual a cero se aplica prueba de hipótesis, también se aplica prueba de hipótesis para evaluar si la pendiente estimada ( $m$ ) es estadísticamente igual a uno.

-Prueba de hipótesis para la pendiente (ND) (22,22,22)

$H_0: m = 1$

$H_a: m \neq 1$

$$t_{cal} = \frac{m-1}{S_m} \quad S_m: \text{Error estándar del estimado } m.$$

$$S_m = \frac{S_{y,x}}{\left[ \sum (x - \bar{x})^2 \right]^{1/2}}$$

$$t(\alpha, g. l.) = t(\alpha, 0.975, N-2)$$

Criterio de la prueba de hipótesis.

Si  $t_{cal} \geq t(\alpha, 0.975, N-2)$ .

Se rechaza  $H_0$ .

-Intervalo de confianza para  $m$ .

$$I.C.m = m \pm S_m t(\alpha, 0.975, N-2)$$

-Coeficiente de variación.

2% (para un método cromatográfico).

3% (método químico o espectrofotométrico), y

5% (método biológico).

-ANAEVA para linealidad.

Criterios. Los vistos anteriormente.

**REPRODUCIBILIDAD (precisión).**

Implica determinar la concordancia de resultados bajo diferentes condiciones de días y analistas (mínimo 2 niveles de cada condición), partiendo de una muestra uniforme y trabajando de manera independiente. En este parámetro influyen los errores sistemáticos, por consiguiente el ambiente particular entre laboratorios equipo y analistas modifica los resultados.<sup>(20)</sup>

Parámetros estadísticos.

-ANAEVA

Modelo estadístico lineal.

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + D_{j(i)} + E_{k(ij)}$$

$Y_{ijk}$  : Recobro experimental asociado a la késima observación del jésimo día para el iésimo analista.

$A_i$  : Efecto del iésimo analista sobre el recobro.

$D_{j(i)}$  : Efecto del jésimo día en el iésimo analista sobre el recobro experimental

$E_{k(ij)}$  : Error experimental.

**TABLA DE DATOS PARA ANAEVA**

		ANALISTAS (i)		
		1	2	
DIAS (j)	1	$\begin{matrix} a \\ \vdots \\ k \\ \hline Y_{1j-} \end{matrix}$	$\begin{matrix} a \\ \vdots \\ k \\ \hline Y_{2j-} \end{matrix}$	$Y_{-j-}$
	2	$\begin{matrix} a \\ \vdots \\ k \\ \hline Y_{1j-} \end{matrix}$	$\begin{matrix} a \\ \vdots \\ k \\ \hline Y_{2j-} \end{matrix}$	$Y_{-j-}$
		$Y_{i..}$	$Y_{i..}$	$Y_{...}$

$$SCa = \frac{\sum Y_{i..}^2}{dr} - \frac{Y_{...}^2}{adr}$$

$\sum Ca$  : Sumatoria de cuadrados del analista.

$Y_{i..}$  : Suma para cada analista

$Y_{...}$  : Suma total de los datos

a : Número de analistas.

d : Número de días.

r : Número de replicaciones.

$$SCd = \frac{[\sum \sum Y_{ij.}^2]}{r} - \frac{\sum Y_{i..}^2}{dr}$$

$\sum Cd$  : Sumatoria de cuadrados del día anidado en el analista.

$Y_{ij.}$  : Combinaciones analista-día.

$$SCe = \sum \sum \sum Y_{ijk}^2 - \frac{[\sum \sum Y_{ij.}^2]}{r}$$

$\sum Ce$  : Sumatoria de cuadrados del error.

$\sum \sum \sum Y_{ijk}^2$  : Sumatoria de cada dato elevado al cuadrado.

TABLA DE ANADVA

Fuente de variación	g. l.	SC	MC	Fcal	Fert
Analista	a-1	SCa	$\frac{SCa}{g. l. a}$	$\frac{MCa}{MCd}$	FC(g. l. a, g. l. d, o. os)
Día	(d-1)a	SCd	$\frac{SCd}{g. l. d}$	$\frac{MCd}{MCE}$	FC(g. l. d, g. l. e, o. os)
Error	(r-1)ad	SCe	$\frac{SCe}{g. l. e}$		

**Criterios**

Si  $Fa \geq Fert$  . La técnica no es reproducible por analista.

Si  $Fd \geq Fert$  . La técnica no es reproducible en distintos días por analista.



$$\text{Variación interanalistas} = \pm \left[ \frac{(MCA-MCa)}{dr} \right]^{1/2}$$

$$\text{Variación interdías para analista} = \pm \left[ \frac{(MCA-MCa)}{r} \right]^{1/2}$$

$$\text{Repetibilidad} = \pm (MCA)^{1/2}$$

-Coeficiente de variación total.

$$\%C.V. = \frac{S}{\bar{Y}} \times 100$$

$$S = \left[ \frac{n \sum \sum Y_{ijk}^2 - C Y_{...}^2}{n(n-1)} \right]$$

$$n = adr$$

$$\bar{Y} = \frac{Y_{...}}{n}$$

#### ESPECIFICIDAD

Consiste en evaluar la susceptibilidad de la técnica analítica, para medir sustancias interferentes como excipientes y/o productos de degradación. Este parámetro es de especial importancia en técnicas para control de calidad e indicadores de estabilidad. Un método específico discrimina precursores de síntesis, contaminantes de proceso y productos de degradación, de la sustancia de interés; el método que cumple con estas características es útil como indicativo de estabilidad.

#### LIMITE DE DETECCION Y DE CUANTIFICACION

El primero es la cantidad mínima detectable (no importa la exactitud) y el segundo se refiere a la cantidad mínima cuantificable bajo las condiciones establecidas en el método, el primero es útil para determinación de trazas y el segundo resulta un parámetro muy importante en técnicas de determinación en fluidos biológicos. En general los dos son importantes para la determinación de impurezas que están presentes en baja concentración.

Estos parámetros se relacionan con el ruido de fondo del método y en cromatografía, se calcula por estimación del valor absoluto de la fluctuación de ruido mayor en un cromatograma obtenido después de la inyección de una solución blanco observada en una distancia igual a 20 veces el ancho de la altura media de el pico de la sustancia de interés. <sup>300</sup>

Parámetros estadísticos.

$$L. D. = 3 \times H/hn$$

L. D.: Límite de Detección.

H: Altura del pico de la sustancia de interés.

hn: Valor absoluto de la fluctuación de ruido mayor de una solución de blanco bajo las condiciones arriba mencionadas.

$$L. Q. = 10 \times H/hn$$

L. Q.: Límite de Cuantificación

H: Altura del pico de la sustancia de interés.

hn: Valor absoluto de la fluctuación de ruido mayor de una solución de blanco bajo las condiciones arriba mencionadas.

Para métodos volumétricos o espectrofotométricos la determinación de los parámetros puede ser como sigue:

$$L. D. = t \times SD$$

L. D.: Límite de Detección.

SD : Desviación Estándar de n replicaciones de un blanco.

t : Valor de tablas para n-1 grados de libertad a una probabilidad de 0.99

$$L. Q. = t' \times SD$$

L. Q.: Límite de Cuantificación

SD : Desviación Estándar de n replicaciones de un blanco.

t : Valor de tablas para n-1 grados de libertad a una probabilidad de 0.99

#### ESTABILIDAD

Se refiere a las condiciones en las cuales la muestra mantiene su propiedad medible durante un lapso de tiempo determinado. Una muestra se somete a la técnica analítica y posteriormente se reanaliza después de haber sido almacenada bajo condiciones diferentes, la valoración de las muestras almacenadas debe ser estadísticamente equivalentes a la valoración inicial.

#### TOLERANCIA

Capacidad de la técnica analítica para aceptar variaciones, en las condiciones establecidas para el análisis, sin que los resultados pierdan exactitud y confiabilidad. Ejemplo, si una técnica requiere de utilizar un amortiguador a un pH determinado, su tolerancia será el rango de pH que pueda ser utilizado sin que se afecten las determinaciones por la técnica analítica. Este parámetro puede resultar útil con fines de optimización de una técnica.

## ***APENDICE II***

ABSORBIENCIAS ESPECTROS DE ABSORCION DE ASPIRINA Y SALICILATO  
A) MEDIO ALCALINO, CONCENTRACION 10mcg/ml

ASPIRINA		SALICILATO	
LONGITUD DE ONDA (nm)	ABSORBIENCIA	LONGITUD DE ONDA (nm)	ABSORBIENCIA
220	0.466	220	0.578
225	0.468	240	0.346
230	0.403	260	0.089
240	0.223	265	0.083
250	0.112	270	0.086
255	0.086	280	0.169
260	0.071	285	0.208
265	0.074	286	0.214
270	0.080	288	0.227
286	0.192	290	0.235
288	0.202	292	0.241
290	0.207	293	0.242
291	0.210	294	0.243
292	0.210	295	0.242
293	0.210	296	0.240
294	0.208	300	0.227
300	0.184	310	0.166
310	0.120		

B) MEDIO ACIDO, CONCENTRACION 15mcg/ml

ASPIRINA		SALICILATO	
LONGITUD DE ONDA (nm)	ABSORBIENCIA	LONGITUD DE ONDA (nm)	ABSORBIENCIA
220	0.696	220	0.533
246	0.129	228	0.682
249	0.086	229	0.683
250	0.086	230	0.701
251	0.087	231	0.699
255	0.080	232	0.685
260	0.084	249	0.112
265	0.083	250	0.103
268	0.088	251	0.087
270	0.100	256	0.039
272	0.089	258	0.038
276	0.084	260	0.039
280	0.077	266	0.058
290	0.030	270	0.084
295	0.015	272	0.097
		274	0.114
		276	0.134
		280	0.174
		294	0.316
		296	0.324
		298	0.325
		300	0.324
		310	0.190

CURVAS ESTANDAR

CONCENTRACION (mcg/ml)	ABSORBIENCIA	
	272nm	298nm
ASPIRINA		
40	0.261	0.027
50	0.328	0.033
70	0.453	0.045
90	0.579	0.057
100	0.636	0.063
SALICILATO		
20	0.136	0.457
25	0.165	0.566
30	0.196	0.673
35	0.229	0.784
40	0.258	0.895

TABLA 49

TABLA 50

ABSORBANCIAS DE MEZCLAS DE ASPIRINA/SALICILATO CON CONCENTRACION DE ASPIRINA CONSTANTE

CONCENTRACIONES ASPIRINA mcg/ml		SALICILATO mcg/ml		ABSORBANCIAS						PROMEDIOS ABSORBANCIAS							
		A 272nm						A 298nm				A 272nm		A 298nm			
		DIA 1			DIA 2			DIA 1		DIA 2		DIA 1	DIA 2	DIA 1	DIA 2		
40	10	0.335	0.337	0.334	0.320	0.318	0.323	0.250	0.250	0.248	0.249	0.251	0.252	0.335	0.321	0.249	0.251
40	15	0.370	0.367	0.366	0.354	0.380	0.352	0.367	0.367	0.367	0.371	0.362	0.388	0.368	0.355	0.367	0.367
40	20	0.403	0.404	0.399	0.387	0.384	0.388	0.481	0.477	0.475	0.469	0.472	0.473	0.402	0.388	0.478	0.471
40	25	0.430	0.429	0.433	0.412	0.413	0.417	0.597	0.598	0.590	0.588	0.578	0.579	0.431	0.414	0.582	0.575
40	30	0.467	0.470	0.464	0.445	0.450	0.447	0.706	0.702	0.705	0.680	0.688	0.683	0.467	0.444	0.704	0.684
40	35	0.488	0.490	0.488	0.477	0.477	0.477	0.810	0.813	0.810	0.800	0.799	0.799	0.488	0.477	0.811	0.799
80	10	0.588	0.581	0.581	0.564	0.572	0.569	0.279	0.279	0.280	0.263	0.266	0.264	0.583	0.568	0.279	0.264
80	15	0.615	0.616	0.611	0.589	0.595	0.583	0.389	0.387	0.388	0.389	0.372	0.371	0.614	0.582	0.388	0.371
80	20	0.647	0.645	0.649	0.627	0.641	0.635	0.501	0.501	0.503	0.477	0.487	0.484	0.647	0.634	0.502	0.483
80	22.5	0.662	0.671	0.666	0.634	0.637	0.636	0.558	0.558	0.558	0.531	0.532	0.529	0.666	0.636	0.558	0.531
80	25	0.679	0.674	0.679	0.652	0.657	0.658	0.608	0.611	0.610	0.586	0.580	0.582	0.677	0.656	0.608	0.589
80	30	0.711	0.707	0.713	0.687	0.685	0.687	0.722	0.721	0.720	0.697	0.690	0.698	0.710	0.686	0.724	0.695
100	12.5	0.717	0.719	0.725	0.699	0.694	0.692	0.348	0.345	0.342	0.328	0.325	0.324	0.720	0.695	0.345	0.325
100	15	0.736	0.732	0.737	0.709	0.708	0.718	0.386	0.391	0.391	0.379	0.378	0.383	0.735	0.711	0.383	0.379
100	20	0.770	0.772	0.772	0.730	0.737	0.746	0.508	0.510	0.511	0.481	0.486	0.491	0.771	0.738	0.510	0.486
100	22.5	0.787	0.785	0.784	0.752	0.781	0.758	0.567	0.582	0.583	0.539	0.546	0.537	0.785	0.757	0.584	0.541
100	25	0.804	0.806	0.803	0.786	0.783	0.772	0.625	0.622	0.623	0.587	0.585	0.603	0.804	0.787	0.623	0.586
100	30	0.831	0.831	0.830	0.799	0.797	0.790	0.734	0.734	0.734	0.698	0.698	0.708	0.831	0.796	0.734	0.700

TABLA 51

97

ABSORBANCIAS DE MEZCLAS DE ASPIRINA/SALICILATO CON CONCENTRACION DE SALICILATO CONSTANTE

CONCENTRACIONES ASPIRINA mcg/ml		SALICILATO mcg/ml		ABSORBANCIAS						PROMEDIOS ABSORBANCIAS							
		A 272nm						A 298nm				A 272nm		A 298nm			
		DIA 1			DIA 2			DIA 1		DIA 2		DIA 1	DIA 2	DIA 1	DIA 2		
30	20	0.327	0.331	0.328	0.322	0.317	0.320	0.469	0.472	0.472	0.476	0.456	0.468	0.328	0.320	0.471	0.466
50	20	0.446	0.451	0.450	0.454	0.458	0.451	0.478	0.482	0.479	0.486	0.488	0.474	0.448	0.454	0.480	0.483
60	20	0.522	0.524	0.518	0.533	0.523	0.520	0.483	0.484	0.484	0.480	0.495	0.477	0.521	0.525	0.484	0.484
80	20	0.636	0.637	0.638	0.631	0.640	0.645	0.488	0.486	0.488	0.482	0.475	0.493	0.637	0.639	0.487	0.483
100	20	0.754	0.760	0.753	0.751	0.751	0.747	0.492	0.494	0.491	0.497	0.504	0.490	0.756	0.750	0.492	0.497
110	20	0.820	0.821	0.821	0.816	0.810	0.811	0.480	0.496	0.496	0.496	0.504	0.495	0.821	0.812	0.498	0.498
30	27.5	0.369	0.363	0.370	0.369	0.364	0.373	0.633	0.631	0.632	0.578	0.578	0.578	0.367	0.389	0.632	0.578
40	27.5	0.431	0.426	0.430	0.426	0.436	0.425	0.637	0.638	0.637	0.598	0.607	0.608	0.430	0.429	0.637	0.604
50	27.5	0.489	0.489	0.489	0.498	0.499	0.503	0.649	0.648	0.642	0.633	0.638	0.642	0.489	0.500	0.646	0.638
60	27.5	0.550	0.544	0.549	0.564	0.565	0.565	0.646	0.640	0.650	0.650	0.644	0.654	0.548	0.585	0.645	0.649
70	27.5	0.609	0.611	0.611	0.629	0.626	0.630	0.650	0.649	0.651	0.658	0.658	0.664	0.610	0.628	0.650	0.659
80	27.5	0.669	0.675	0.672	0.695	0.695	0.695	0.632	0.603	0.660	0.674	0.687	0.688	0.672	0.695	0.665	0.670
20	35	0.351	0.355	0.358	0.360	0.363	0.364	0.782	0.786	0.780	0.804	0.798	0.798	0.365	0.362	0.783	0.786
25	35	0.383	0.383	0.389	0.390	0.385	0.394	0.780	0.777	0.780	0.796	0.798	0.809	0.385	0.380	0.782	0.801
30	35	0.416	0.418	0.417	0.417	0.417	0.417	0.787	0.792	0.786	0.795	0.795	0.790	0.417	0.417	0.798	0.793
35	35	0.448	0.454	0.449	0.448	0.453	0.453	0.783	0.787	0.783	0.801	0.801	0.804	0.450	0.451	0.784	0.802
40	35	0.479	0.480	0.483	0.486	0.487	0.488	0.791	0.790	0.793	0.804	0.804	0.805	0.481	0.487	0.791	0.804
45	35	0.514	0.507	0.509	0.514	0.522	0.515	0.792	0.798	0.786	0.808	0.808	0.808	0.510	0.517	0.798	0.807

TABLA 52

RESULTADOS DE REGRESION LINEAL Y COMPARACION ENTRE RECTAS CON CONCENTRACION DE ASPIRINA CONSTANTE

PARAMETROS ESTADISTICOS	CONCENTRACION CONSTANTE DE ASPIRINA A 272ms						CONCENTRACION CONSTANTE DE ASPIRINA A 298ms					
	DIA 1			DIA 2			DIA 1			DIA 2		
	40	80	100	40	80	100	40	80	100	40	80	100
	(mcg/ml)			(mcg/ml)			(mcg/ml)			(mcg/ml)		
COEFICIENTE DE REGRESION	0.00626	0.00638	0.00644	0.00620	0.00592	0.00571	0.02248	0.02222	0.02264	0.02169	0.02148	0.02144
COEFICIENTE DE CORRELACION	0.99848	0.99927	0.99852	0.99961	0.99373	0.99866	0.99992	0.99994	0.99980	0.99981	0.99991	0.99990
INTERCEPTO	0.27449	0.51947	0.64033	0.26057	0.50733	0.62442	0.02767	21.02532	0.06058	0.03651	0.00840	0.05642
VALOR DE T EN LA COMPARACION ENTRE RECTAS												
ENTRE 1 Y 2	-0.05456			0.16979			0.08999			0.04888		
ENTRE 1 Y 3	-0.05191			0.28340			0.01454			0.05890		
ENTRE 2 Y 3	-0.03280			0.04051			-0.11922			0.01878		

TABLA 53

RESULTADOS DE REGRESION LINEAL Y COMPARACION ENTRE RECTAS CON CONCENTRACION DE SALICILATO CONSTANTE

PARAMETROS ESTADISTICOS	CONCENTRACION CONSTANTE DE SALICILATO A 272ms						CONCENTRACION CONSTANTE DE SALICILATO A 298ms					
	DIA 1			DIA 2			DIA 1			DIA 2		
	20	27.5	35	20	27.5	35	20	27.5	35	20	27.5	35
	(mcg/ml)			(mcg/ml)			(mcg/ml)			(mcg/ml)		
COEFICIENTE DE REGRESION	0.00612	0.00607	0.00627	0.00595	0.00634	0.00623	0.00030	0.00043	0.00028	0.00035	0.00190	0.00043
COEFICIENTE DE CORRELACION	0.99977	0.99995	0.99982	0.99897	0.99980	0.99870	0.98823	0.96782	0.73577	0.93409	0.95420	0.77440
INTERCEPTO	0.99977	0.18556	0.22922	0.14859	0.17261	0.23316	0.46344	0.62045	0.77694	0.45936	0.52263	0.78668
VALOR DE T EN LA COMPARACION ENTRE RECTAS												
ENTRE 1 Y 2	0.01193			-0.04227			-0.08072			-0.33087		
ENTRE 1 Y 3	-0.03255			-0.03065			0.01326			-0.01547		
ENTRE 2 Y 3	-0.15270			0.04062			0.06478			0.11553		

TABLA 54

ABSORBANCIAS A 272nm Y 298nm MEZCLAS ASPIRINA/SALICILATO

CONCENTRACION:		ANALISTA 1				ANALISTA 2			
		ABSORBANCIAS				ABSORBANCIAS			
DE ASA/DE SAL		A 272nm		A 298nm		A 272nm		A 298nm	
mg/ml	mg/ml	DIA 1	DIA 2	DIA 1	DIA 2	DIA 1	DIA 2	DIA 1	DIA 2
20	35	0.343	0.354	0.777	0.744	0.347	0.358	0.782	0.755
20	35	0.343	0.360	0.779	0.767	0.339	0.353	0.752	0.747
20	35	0.343	0.364	0.781	0.773	0.325	0.351	0.749	0.736
20	35	0.342	0.359	0.776	0.765	0.337	0.352	0.744	0.739
20	35	0.345	0.358	0.778	0.760	0.338	0.352	0.757	0.749
20	35	0.348	0.355	0.784	0.754	0.342	0.365	0.768	0.749
20	35	0.343	0.356	0.781	0.761	0.337	0.362	0.748	0.769
20	35	0.346	0.367	0.780	0.790	0.330	0.349	0.737	0.742
20	35	0.344	0.360	0.776	0.764	0.339	0.359	0.766	0.759
20	35	0.340	0.362	0.772	0.761	0.341	0.354	0.779	0.745
35	35	0.429	0.446	0.802	0.748	0.434	0.453	0.771	0.768
35	35	0.430	0.449	0.797	0.752	0.434	0.451	0.771	0.771
35	35	0.441	0.453	0.788	0.770	0.429	0.452	0.759	0.772
35	35	0.425	0.450	0.782	0.760	0.432	0.455	0.776	0.781
35	35	0.438	0.451	0.785	0.760	0.428	0.450	0.748	0.770
35	35	0.436	0.459	0.782	0.782	0.431	0.448	0.772	0.753
35	35	0.439	0.451	0.788	0.775	0.430	0.449	0.763	0.767
35	35	0.434	0.454	0.785	0.772	0.427	0.448	0.753	0.760
35	35	0.431	0.433	0.787	0.779	0.444	0.454	0.819	0.775
35	35	0.431	0.448	0.785	0.746	0.432	0.449	0.763	0.761
100	20	0.732	0.735	0.498	0.477	0.720	0.757	0.458	0.481
100	20	0.739	0.760	0.496	0.487	0.788	0.760	0.473	0.485
100	20	0.736	0.734	0.490	0.480	0.730	0.760	0.465	0.487
100	20	0.737	0.760	0.496	0.488	0.738	0.762	0.476	0.494
100	20	0.736	0.766	0.494	0.497	0.745	0.762	0.481	0.488
100	20	0.741	0.745	0.497	0.481	0.733	0.755	0.462	0.480
100	20	0.741	0.757	0.492	0.480	0.731	0.760	0.472	0.485
100	20	0.737	0.762	0.492	0.490	0.735	0.765	0.463	0.490
100	20	0.734	0.750	0.491	0.477	0.736	0.759	0.476	0.479
100	20	0.732	0.760	0.489	0.485	0.748	0.763	0.498	0.485

TABLA 55



RESULTADOS ESTIMANDO CONCENTRACIONES POR RAZONES DE ABSORBANCIA (METODO B)  
 REICLA ASPIRINA-SALICILATO

ANEXISTA 1

	CONCENTRACION ADICIONADA DE ASPIRINA mcg/ml		CONCENTRACION RECUPERADA DE ASPIRINA mcg/ml		PORCENTAJE RECUPERADO DE ASPIRINA (%)		CONCENTRACION ADICIONADA DE SALICILATO mcg/ml		CONCENTRACION RECUPERADA DE SALICILATO mcg/ml		PORCENTAJE RECUPERADO DE SALICILATO (%)	
	BIA 1	BIA 2	BIA 1	BIA 2	BIA 1	BIA 2	BIA 1	BIA 2	BIA 1	BIA 2	BIA 1	BIA 2
20	20.5815	23.9296	102.66	119.60	35	35.3724	33.7761	101.06	96.50			
20	20.4372	23.8362	102.19	119.10	35	35.4667	34.8305	101.33	99.94			
20	20.3425	24.2200	101.71	121.10	35	35.5610	35.1066	101.60	100.30			
20	20.4120	23.7639	102.06	118.82	35	35.3289	34.7470	100.94	99.28			
20	20.9044	23.8329	104.92	119.16	35	35.4003	34.5198	101.17	98.62			
20	21.0300	23.6150	105.17	118.00	35	35.6041	34.2429	101.35	97.84			
20	20.3425	23.4525	101.71	117.26	35	35.5610	34.5703	101.60	98.77			
20	20.0901	23.9105	104.45	119.59	35	35.3020	35.0971	101.44	102.36			
20	20.7453	23.9777	103.73	119.89	35	35.3216	34.6599	100.92	99.13			
20	20.2673	24.4524	101.34	122.26	35	35.1477	34.9402	100.42	98.71			
MEDIA			102.99	119.50				101.24	99.13			
D. S.			1.37	1.34				0.41	1.30			
C.V.(%)			1.33	1.12				0.41	1.51			
35	35.3523	39.0640	101.01	111.61	35	36.1902	33.6266	103.42	96.00			
35	35.4214	39.3762	101.20	112.50	35	35.9662	33.8041	102.76	96.50			
35	36.3457	39.1942	103.84	111.90	35	35.5300	34.6301	101.52	98.97			
35	35.6206	39.1657	101.80	111.90	35	35.2700	34.1776	100.77	97.65			
35	35.9071	39.3324	102.82	112.30	35	35.4004	34.1739	101.14	97.64			
35	35.7992	39.6204	102.27	113.22	35	35.2663	35.1918	100.76	100.32			
35	36.0124	30.6292	102.81	110.26	35	35.5302	34.8811	101.54	99.66			
35	35.3205	39.2666	100.92	112.19	35	35.4151	34.7207	101.19	99.22			
35	34.7262	39.1022	99.22	111.72	35	35.5204	35.0550	101.49	100.16			
35	34.7724	39.4925	99.35	112.84	35	35.4783	33.5249	101.35	98.79			
MEDIA			101.53	112.07				101.59	98.23			
D. S.			1.43	0.74				0.81	1.63			
C.V.(%)			1.40	0.66				0.80	1.66			
100	90.5166	103.2399	90.32	103.34	20	20.7006	19.7140	103.94	98.57			
100	99.7775	103.7017	99.78	103.70	20	20.6606	20.1670	103.34	100.84			
100	99.5604	103.0318	99.56	103.03	20	20.2967	19.8591	101.90	99.30			
100	99.4442	103.6545	99.44	103.65	20	20.6739	20.2142	103.30	101.07			
100	99.3718	104.2302	99.37	104.23	20	20.5053	20.6165	102.93	103.08			
100	100.0627	101.4047	100.06	101.40	20	20.7004	19.9292	103.54	99.70			
100	100.2294	103.5317	100.30	103.53	20	20.4726	19.8400	102.36	93.24			
100	99.6328	103.0936	99.63	103.09	20	20.4073	20.3011	102.44	101.51			
100	99.1799	102.5066	99.18	102.51	20	20.4512	19.7323	102.26	98.66			
100	90.9409	103.7960	90.94	103.80	20	20.3643	20.0728	101.62	100.36			
MEDIA			99.48	103.22				102.80	100.23			
D. S.			0.50	0.76				0.69	1.25			
C.V.(%)			0.50	0.74				0.67	1.25			

TABLA 56

RESULTADOS ESTIMANDO CONCENTRACIONES POR RAZONES DE ABSORCIÓN (MÉTODO B)  
MEZCLA ASPIRINA-SALICILATO

ANALISTA 2												
	CONCENTRACION ADICIONADA DE ASPIRINA		CONCENTRACION RECUPERADA DE ASPIRINA		PORCENTAJE RECUPERADO DE ASPIRINA (%)		CONCENTRACION ADICIONADA DE SALICILATO		CONCENTRACION RECUPERADA DE SALICILATO		PORCENTAJE RECUPERADO DE SALICILATO (%)	
	mcg/ml		DIA 1	DIA 2	DIA 1	DIA 2		DIA 1	DIA 2	DIA 1	DIA 2	
20	20.9824	24.0687	104.51	120.34	35	25.9304	34.2000	101.70	97.94			
20	21.0425	23.6125	105.22	110.06	35	24.2004	33.9212	97.74	96.92			
20	20.5103	23.7970	102.39	110.99	35	24.0017	33.4100	97.30	95.46			
20	21.0074	23.0220	105.44	110.12	35	23.0306	33.5470	96.60	95.05			
20	20.6412	23.2516	103.21	116.76	35	24.4479	34.0192	90.42	97.20			
20	20.7892	25.6040	103.95	120.42	35	24.9510	33.9670	99.06	97.05			
20	20.0900	24.0752	104.49	120.30	35	24.0272	34.9254	97.22	99.79			
20	20.2500	23.1016	101.25	115.91	35	23.5343	33.7002	95.01	96.29			
20	20.3035	24.0467	101.92	120.23	35	24.0605	34.4650	95.62	90.47			
20	20.1039	23.0725	100.52	110.37	35	25.4741	33.0223	101.25	96.64			
MEDIA				103.34					90.50			
D. S.				1.63					1.00			1.22
C.V. (%)				1.50					1.91			1.26
35	35.9005	39.2005	102.00	112.25	35	34.7550	34.5430	99.30	90.70			
35	35.9000	30.0130	102.00	110.90	35	34.7550	34.6926	99.30	99.12			
35	35.7120	30.9323	102.04	111.24	35	34.2077	34.7366	97.74	99.25			
35	35.4115	39.0030	101.18	111.45	35	34.9901	35.1493	99.99	100.43			
35	36.0650	30.6543	103.04	110.36	35	33.9327	34.6491	96.26	99.00			
35	35.2063	35.1624	101.10	111.09	35	34.0604	33.0549	99.60	96.73			
35	35.6911	30.6650	101.97	110.40	35	34.2926	34.5113	90.26	90.60			
35	35.6626	30.0324	101.09	110.95	35	33.9321	34.1050	95.95	97.67			
35	35.2041	35.1252	101.10	111.79	35	36.9012	34.0701	105.66	99.63			
35	35.0244	30.9519	102.93	111.29	35	34.2052	34.2204	90.24	97.00			
MEDIA				102.09					99.13			90.69
D. S.				0.74					2.45			1.01
C.V. (%)				0.72					2.47			1.02
100	99.7350	103.4046	99.74	103.40	20	10.9174	19.0952	94.59	99.40			
100	100.1952	102.7960	100.20	102.00	20	19.5909	20.0720	97.99	100.36			
100	99.7391	103.7017	99.74	103.70	20	19.2401	20.1670	96.20	100.04			
100	100.5530	103.7050	100.55	103.71	20	19.7293	20.4097	98.65	102.45			
100	101.4047	103.9073	101.40	103.99	20	19.9393	20.2068	99.70	101.03			
100	100.2005	103.1984	100.30	103.20	20	19.0876	19.0554	95.44	99.28			
100	99.3757	103.7960	99.50	103.00	20	19.5664	20.0720	97.03	100.36			
100	100.6667	104.3926	100.67	104.39	20	19.1274	20.2901	95.64	101.45			
100	100.2203	103.9122	100.22	103.91	20	19.7366	19.7936	90.00	90.97			
100	101.1822	104.2960	101.18	104.30	20	20.7298	20.0617	103.65	100.31			
MEDIA				100.37					97.04			100.45
D. S.				0.53					2.50			1.00
C.V. (%)				0.59					2.55			1.00

TABLA 57

RESULTADOS ESTIMANDO CONCENTRACIONES POR REGRESION LINEAL MULTIPLE  
 NICLA ASPIRINA-SALICILATO

ANALISTA 1												
	CONCENTRACION ADICIONADA DE ASPIRINA (mcg/ml)		CONCENTRACION RECUPERADA DE ASPIRINA (mcg/ml)		PORCENTAJE RECUPERADO DE ASPIRINA (%)		CONCENTRACION ADICIONADA DE SALICILATO (mcg/ml)		CONCENTRACION RECUPERADA DE SALICILATO (mcg/ml)		PORCENTAJE RECUPERADO DE SALICILATO (%)	
	DIA 1	DIA 2	DIA 1	DIA 2	DIA 1	DIA 2	DIA 1	DIA 2	DIA 1	DIA 2	DIA 1	DIA 2
20	17.7410	21.1900	88.71	105.35	35	34.7442	33.1466	93.27	94.70			
20	17.6445	21.0910	88.22	105.46	35	34.8286	34.2092	93.54	97.74			
20	17.5479	21.4720	87.74	107.30	35	34.9229	34.4774	93.81	98.31			
20	17.6296	21.0197	88.10	105.10	35	34.7095	34.1186	93.15	97.48			
20	16.1589	21.0523	90.99	105.46	35	34.7802	33.8863	93.37	96.82			
20	18.2466	20.8759	91.23	104.28	35	35.0538	33.6146	100.16	96.04			
20	17.5479	20.7667	87.74	103.53	35	34.9329	33.9411	93.81	96.97			
20	18.1023	21.1623	90.51	105.81	35	34.8746	33.2681	93.64	100.77			
20	17.5980	21.2366	89.79	106.18	35	34.6933	34.0677	93.12	97.34			
20	17.4763	21.7189	87.38	106.59	35	34.5195	33.9188	96.63	96.91			
MEDIA			89.04	105.79				93.45	97.33			
D. S.			1.38	1.26				0.41	1.50			
C.V. (%)			1.55	1.28				0.42	1.54			
35	32.7297	36.5177	90.51	104.34	35	35.3663	32.9938	101.62	94.27			
35	32.0624	36.8207	93.72	105.23	35	35.3242	33.1705	100.95	94.77			
35	33.7130	36.6363	96.41	104.68	35	34.8985	34.0047	93.71	97.16			
35	33.8295	36.6132	94.24	104.61	35	34.6378	33.5442	96.97	95.84			
35	33.3818	36.7819	95.38	105.09	35	34.7481	33.5494	93.34	95.83			
35	33.1892	37.0694	94.63	105.91	35	34.6340	34.5485	96.95	98.71			
35	33.4256	36.0577	93.44	103.02	35	34.9859	34.2480	93.73	97.85			
35	32.7069	36.7087	93.45	104.88	35	34.7830	34.0254	93.38	97.42			
35	32.1043	36.5334	91.73	104.40	35	34.8885	34.4218	93.68	98.35			
35	32.1525	36.9517	91.86	105.38	35	34.8412	32.8912	93.55	93.97			
MEDIA			94.07	104.77				93.79	96.42			
D. S.			1.45	0.75				0.81	1.63			
C.V. (%)			1.54	0.72				0.81	1.69			
100	96.8368	101.7309	96.84	101.73	20	20.1259	19.0597	100.68	95.30			
100	98.1143	102.0916	98.11	102.09	20	20.0155	19.3128	100.08	97.56			
100	97.8979	101.4174	97.90	101.42	20	19.7436	19.2049	98.72	96.02			
100	97.7763	102.0433	97.78	102.04	20	20.0229	19.5600	100.11	97.80			
100	97.7948	102.6211	97.70	102.62	20	19.9323	19.9622	93.66	93.81			
100	98.4035	99.8507	98.40	99.85	20	20.0532	19.2856	100.28	96.43			
100	98.6443	101.9235	98.64	101.92	20	19.8194	19.1938	93.10	95.97			
100	97.8700	102.2842	97.87	102.28	20	19.8343	19.6469	93.17	98.23			
100	97.5122	100.8874	97.51	100.89	20	19.7982	19.0783	98.39	95.39			
100	97.2713	102.1882	97.27	102.19	20	19.7113	19.4185	98.56	97.09			
MEDIA			97.81	101.70				93.53	96.96			
D. S.			0.50	0.77				0.69	1.25			
C.V. (%)			0.51	0.76				0.69	1.39			

TABLA 58

RESULTADOS ESTIMANDO CONCENTRACIONES POR REGRESION LINEAL MULTIPLE  
MEZCLA ASPIRINA-SALICILATO

ANALISTA 2									
CONCENTRACION ADICIONADA DE ASPIRINA mcg/ml	CONCENTRACION RECUPERADA DE ASPIRINA mcg/ml		PORCENTAJE RECUPERADO DE ASPIRINA (%)		CONCENTRACION ADICIONADA DE SALICILATO mcg/ml	CONCENTRACION RECUPERADA DE SALICILATO mcg/ml		PORCENTAJE RECUPERADO DE SALICILATO (%)	
	BIA 1	BIA 2	BIA 1	BIA 2		BIA 1	BIA 2	BIA 1	BIA 2
20	18.1745	21.3337	90.87	106.47	35	34.9832	33.6506	99.98	96.14
20	18.2732	20.8789	91.37	104.38	35	33.5798	33.2818	98.94	95.12
20	17.7432	21.0701	88.72	105.28	35	33.4532	32.7804	98.58	93.66
20	18.3328	21.8940	91.61	105.47	35	33.2899	32.9182	94.89	94.07
20	17.8651	20.8112	89.32	103.06	35	32.8194	33.3899	96.63	95.40
20	18.0068	22.9730	90.03	114.87	35	34.2224	33.5378	98.07	95.25
20	18.1289	21.3327	96.84	106.66	35	33.3986	34.2961	95.42	97.99
20	17.4790	20.4430	87.40	103.22	35	32.9657	33.0789	91.62	94.49
20	17.9973	21.3899	87.99	106.33	35	34.2462	33.8286	97.83	96.67
20	17.9871	21.1417	86.54	103.71	35	34.8460	33.1928	99.56	94.84
MEDIA :			89.43	105.09				96.78	95.36
D. S. :			1.66	3.26				1.88	1.22
C.V. (%) :			1.86	3.07				1.95	1.28
35	33.3828	36.7231	95.28	104.95	35	34.1226	33.9184	97.49	96.89
35	33.3928	36.2588	95.38	103.37	35	34.1226	34.8093	97.49	97.31
35	33.1187	36.3712	94.82	103.92	35	33.3731	34.1828	95.93	97.44
35	32.8049	36.4429	93.73	104.12	35	34.3639	34.5162	98.19	98.62
35	33.4810	36.1384	95.66	103.23	35	33.0660	34.0159	94.46	97.19
35	32.7882	36.6137	93.66	104.61	35	34.2281	33.2214	97.79	94.92
35	33.0543	36.1083	94.36	103.16	35	33.7801	32.8781	96.46	96.79
35	33.0789	36.2758	94.49	103.55	35	33.2995	33.5516	95.14	95.86
35	32.7525	36.5638	93.38	104.47	35	36.3496	34.2369	103.86	97.82
35	33.4317	36.3952	93.52	103.99	35	33.7527	33.5951	96.44	95.99
MEDIA :			94.66	103.97				97.32	96.88
D. S. :			0.77	0.56				2.45	1.01
C.V. (%) :			0.81	0.54				2.52	1.04
100	98.0322	101.8752	98.09	101.88	20	18.2839	19.2409	91.22	96.20
100	98.5499	102.1882	98.55	102.19	20	18.9454	19.4185	94.73	97.09
100	98.0526	102.0516	98.09	102.05	20	18.5867	19.5128	92.53	97.56
100	96.9112	102.0911	98.91	102.09	20	19.0758	19.8356	95.28	99.18
100	99.8507	102.3808	99.85	102.38	20	19.2856	19.3325	96.43	97.76
100	98.7436	101.5861	98.74	101.59	20	18.4340	19.2012	92.17	96.01
100	97.9234	102.1682	97.92	102.19	20	18.9131	19.4185	94.57	97.09
100	99.0327	102.7903	99.03	102.79	20	18.4737	19.5257	92.37	98.18
100	96.3738	102.3092	98.37	102.31	20	19.0822	19.1392	95.42	95.70
100	99.5361	102.6943	99.54	102.69	20	20.0764	19.4673	100.28	97.04
MEDIA :			98.73	102.22				94.57	97.18
D. S. :			0.60	0.34				2.50	1.00
C.V. (%) :			0.60	0.33				2.64	1.03

TABLA 59

RESULTADOS APLICANDO REGRESION LINEAL MULTIPLE A LAS FRACCIONES DE LOS COMPONENTES EN LA MEZCLA  
MEZCLAS ASPIRINA-SALICILATO

ANALISTA 1											
	CONCENTRACION DE ASPIRINA		PORCENTAJE RECUPERADO DE ASPIRINA			CONCENTRACION DE SALICILATO		PORCENTAJE RECUPERADO DE SALICILATO			
	ADICIONADA (mcg/ml)	RECUPERADA (mcg/ml)	DE DIA 1	DE DIA 2		(%)	ADICIONADA (mcg/ml)	RECUPERADA (mcg/ml)	DE DIA 1		DE DIA 2
	20	26.4471	27.1029	132.24	135.51	35	28.5229	27.8971	81.58	79.71	
	20	26.4253	26.9799	132.13	134.90	35	28.5745	28.0281	81.64	80.06	
	20	26.4040	27.0091	132.02	135.05	35	28.5960	27.9909	81.70	79.97	
	20	26.4334	26.9784	132.17	134.89	35	28.5666	28.0216	81.62	80.06	
	20	26.5098	27.0122	132.35	135.06	35	28.4902	27.9879	81.40	79.97	
	20	26.4936	27.0078	132.47	135.04	35	28.5064	27.9922	81.45	79.98	
	20	26.4040	26.9502	132.02	134.75	35	28.5960	28.0490	81.70	80.14	
	20	26.4881	26.8882	132.44	134.44	35	28.5119	28.1118	81.45	80.32	
	20	26.4826	27.0151	132.41	135.00	35	28.5174	27.9849	81.48	79.96	
	20	26.4275	27.1006	132.14	135.50	35	28.5723	27.8994	81.64	79.71	
MEDIA				132.26	135.02				81.57	79.99	
D. S.				0.18	0.30				0.11	0.17	
C.V. (%)				0.14	0.22				0.13	0.22	
	35	36.2280	37.4290	103.52	106.91	35	33.7670	32.5800	96.48	93.09	
	35	36.2859	37.4399	103.67	106.97	35	33.7141	32.5601	96.33	93.03	
	35	36.5360	37.2271	104.37	106.26	35	33.4692	32.7730	98.63	93.64	
	35	36.4480	37.3192	104.14	106.63	35	33.5312	32.6808	98.86	93.37	
	35	36.4900	37.3812	104.26	106.72	35	33.5161	32.6488	98.74	93.28	
	35	36.4790	37.1942	104.22	106.27	35	33.5202	32.8059	98.77	93.73	
	35	36.4692	37.0722	104.20	105.92	35	33.5308	32.9278	98.80	94.06	
	35	36.3662	37.2215	103.90	106.25	35	33.6328	32.7785	98.10	93.65	
	35	36.2395	37.1244	103.54	106.07	35	33.7608	32.8756	98.46	93.83	
	35	36.2564	37.5240	103.59	107.21	35	33.7436	32.4760	96.41	92.79	
MEDIA				103.94	106.54				95.06	93.40	
D. S.				0.22	0.40				0.32	0.40	
C.V. (%)				0.31	0.37				0.33	0.42	
	100	100.5227	105.2246	100.52	105.22	20	19.4773	14.7354	97.39	73.80	
	100	101.2570	104.2990	101.26	104.20	20	18.6420	15.7012	93.21	78.51	
	100	101.8618	104.7260	101.86	104.73	20	18.1382	15.2740	90.69	76.37	
	100	101.1892	104.1658	101.19	104.17	20	18.8108	15.8342	94.05	79.17	
	100	101.2554	103.4941	101.26	103.49	20	18.6446	16.5059	93.22	82.53	
	100	101.3999	103.8110	101.40	103.81	20	18.5001	16.1890	93.00	80.94	
	100	102.0337	104.9862	102.03	104.99	20	17.9693	15.0126	89.05	75.07	
	100	101.6922	104.0711	101.69	104.07	20	18.3078	15.9299	91.54	79.64	
	100	101.5648	104.7882	101.56	104.79	20	18.4352	15.2118	92.18	76.06	
	100	101.6491	104.5668	101.55	104.57	20	18.3509	15.4322	91.75	77.17	
MEDIA				101.46	104.41				92.69	77.33	
D. S.				0.40	0.51				1.18	2.37	
C.V. (%)				0.39	0.49				2.13	3.30	

TABLA 60

RESULTADOS APLICANDO REGRESION LINEAL MULTIPLE A LAS FRACCIONES DE LOS COMPONENTES EN LA MEZCLA  
MEZCLAS ASPIRINA-SALICILATO

ANALISTA 2											
	CONCENTRACION ADICIONADA DE ASPIRINA mcg/ml	CONCENTRACION RECUPERADA DE ASPIRINA mcg/ml		PORCENTAJE RECUPERADO DE ASPIRINA (%)			CONCENTRACION ADICIONADA DE SALICILATO mcg/ml	CONCENTRACION RECUPERADA DE SALICILATO mcg/ml		PORCENTAJE RECUPERADO DE SALICILATO (%)	
		DIA 1	DIA 2	DIA 1	DIA 2			DIA 1	DIA 2	DIA 1	DIA 2
	20	26.4989	27.0717	122.45	129.36	25	26.9091	27.9283	81.45	79.00	
	20	26.6257	27.0499	123.13	125.20	25	26.3743	27.9291	81.07	79.00	
	20	26.3382	27.1230	122.79	129.62	25	26.4418	27.8762	81.26	79.65	
	20	26.6669	27.1127	123.28	129.36	25	26.2321	27.8973	80.95	79.60	
	20	26.9426	26.9913	122.72	124.96	25	26.4564	26.8087	81.30	80.62	
	20	26.3210	27.3400	122.61	126.74	25	26.4790	27.6329	81.37	79.01	
	20	26.6297	27.0662	123.10	129.60	25	26.3793	27.9920	81.00	79.90	
	20	26.5677	26.4480	122.84	122.24	25	26.4323	26.8012	81.24	80.09	
	20	26.4684	27.0492	122.34	129.25	25	26.3316	27.9360	81.52	79.86	
	20	26.3765	27.0907	121.80	129.45	25	26.6225	27.9093	81.70	79.74	
MEDIA				122.72	129.14				81.30	79.76	
D. S.				0.40	1.00				0.23	0.20	
C.V. (%)				0.20	0.80				0.28	0.25	
	25	36.6100	37.2642	104.60	106.47	25	33.2900	32.7357	95.40	92.53	
	25	36.6100	37.1436	104.60	106.13	25	33.2900	32.8544	95.40	92.67	
	25	36.6661	37.1986	104.76	106.17	25	33.3329	32.8414	95.24	92.89	
	25	36.4594	37.0680	104.17	105.97	25	33.5407	32.9120	95.62	94.63	
	25	36.8236	37.1320	105.24	106.09	25	33.1644	32.8076	94.76	92.91	
	25	36.4004	37.3004	104.23	106.82	25	33.3196	32.6116	95.77	92.10	
	25	36.6260	37.1543	104.65	106.16	25	33.3740	32.8437	95.35	92.84	
	25	36.7110	37.2553	104.89	106.44	25	33.2099	32.7447	95.11	92.56	
	25	36.1093	37.1662	102.16	106.19	25	33.8947	32.8330	96.04	92.81	
	25	36.6097	37.2604	104.83	106.40	25	33.3103	32.7316	95.17	92.52	
MEDIA				104.51	106.29				95.49	92.71	
D. S.				0.54	0.24				0.54	0.24	
C.V. (%)				0.52	0.23				0.56	0.25	
	100	105.5040	104.8490	105.50	104.85	20	14.4360	15.1502	72.48	75.75	
	100	104.0214	104.5668	104.02	104.57	20	15.8786	15.4332	79.89	77.17	
	100	104.6860	104.2990	104.69	104.30	20	15.2122	15.7812	76.57	78.51	
	100	102.8761	102.5468	103.80	103.53	20	16.1229	16.4332	80.62	82.27	
	100	102.8110	104.3264	102.81	104.34	20	16.1890	15.6636	80.94	78.32	
	100	105.2016	104.8120	105.20	104.81	20	14.6104	15.1872	72.60	75.94	
	100	102.8956	104.5668	102.81	104.57	20	16.1944	15.4332	80.94	78.32	
	100	105.4100	104.3260	105.42	104.33	20	14.5812	15.6740	72.91	78.37	
	100	102.7011	102.2971	102.70	102.30	20	16.2989	14.7029	81.49	73.51	
	100	101.0604	104.8243	101.06	104.82	20	15.1596	15.1575	90.70	75.80	
MEDIA				104.21	104.54				78.37	77.29	
D. S.				1.05	0.44				5.24	2.21	
C.V. (%)				1.01	0.42				6.64	2.86	

TABLA 61

## ***APENDICE III***

RESULTADOS DE ABSORBANCIAS PARA LOS ESPECTROS DE ABSORCION  
DE SULFAMETOXAZOL(SMX) Y TRIMETOPRIM(TMP) EN BUFFER  
DE ACETATOS A FH DE 3.5

LONGITUD DE ONDA (nm)	ABSORBANCIA SMX 10mcg/ml	ABSORBANCIA TMP 10mcg/ml	ABSORBANCIA SMX 20mcg/ml	ABSORBANCIA TMP 20mcg/ml
230	0.179	0.599		
236	0.206	0.432		
238	0.226	0.390		
240	0.247	0.339	0.487	0.581
241	0.261	0.317	0.517	0.556
242	0.286	0.296	0.545	0.515
243	0.301	0.284	0.581	0.488
244	0.319	0.263	0.604	0.464
246	0.359	0.237		
250	0.451	0.205		
260	0.638	0.204	1.207	0.373
261			1.219	
262	0.654	0.208	1.226	0.383
263	0.654	0.210	1.227	0.385
264	0.654	0.210	1.226	0.389
265	0.653	0.211		0.39
266	0.649	0.211	1.203	0.388
268	0.633	0.211	1.174	0.387
270	0.611	0.206	1.131	0.381
280	0.425	0.137		
300	0.071	0.011		

TABLA 62



ABSORNCIAS DE CURVAS CON CONCENTRACION DE SULFAMETOXAZOL CONSTANTE

CONCENTRACION DE SMX mcg/ml	DE TMP mcg/ml	ABSORNCIAS A 242nm				ABSORNCIAS A 284nm				PROMEDIOS DE ABSORNCIA							
		DIA 1		DIA 2		DIA 1		DIA 2		A 242nm		A 284nm					
5	0	0.146	0.146	0.151	0.146	0.146	0.156	0.320	0.325	0.319	0.301	0.295	0.310	0.148	0.149	0.321	0.302
5	4	0.269	0.267	0.264	0.251	0.260	0.256	0.406	0.391	0.397	0.373	0.365	0.380	0.267	0.266	0.398	0.379
5	8	0.364	0.379	0.377	0.375	0.377	0.363	0.463	0.462	0.465	0.462	0.473	0.479	0.373	0.378	0.470	0.471
5	12	0.498	0.491	0.496	0.486	0.483	0.480	0.543	0.547	0.551	0.544	0.540	0.539	0.482	0.483	0.547	0.541
5	16	0.589	0.609	0.613	0.587	0.568	0.590	0.619	0.636	0.636	0.609	0.606	0.620	0.604	0.600	0.630	0.615
5	20	0.708	0.729	0.699	0.680	0.688	0.681	0.712	0.723	0.699	0.684	0.711	0.699	0.711	0.698	0.711	0.694
7.5	0	0.216	0.214	0.216	0.216	0.217	0.222	0.483	0.475	0.485	0.474	0.470	0.471	0.215	0.218	0.481	0.472
7.5	4	0.337	0.349	0.348	0.328	0.324	0.326	0.589	0.581	0.585	0.554	0.552	0.557	0.345	0.326	0.582	0.554
7.5	8	0.435	0.455	0.475	0.444	0.444	0.448	0.632	0.652	0.660	0.634	0.631	0.636	0.455	0.445	0.648	0.634
7.5	12	0.571	0.570	0.557	0.550	0.571	0.567	0.713	0.731	0.711	0.702	0.718	0.715	0.566	0.563	0.718	0.712
7.5	16	0.704	0.690	0.685	0.680	0.654	0.658	0.826	0.814	0.808	0.781	0.772	0.782	0.680	0.686	0.815	0.778
7.5	20	0.791	0.799	0.798	0.785	0.761	0.757	0.880	0.886	0.887	0.854	0.851	0.847	0.785	0.781	0.881	0.851
10	0	0.277	0.275	0.270	0.267	0.260	0.267	0.635	0.631	0.631	0.595	0.590	0.585	0.274	0.265	0.632	0.593
10	4	0.410	0.395	0.396	0.360	0.390	0.360	0.719	0.705	0.706	0.662	0.664	0.665	0.401	0.387	0.710	0.690
10	8	0.513	0.510	0.512	0.500	0.506	0.504	0.779	0.782	0.782	0.759	0.765	0.767	0.512	0.503	0.784	0.764
10	12	0.635	0.655	0.630	0.610	0.605	0.612	0.860	0.862	0.858	0.832	0.832	0.845	0.640	0.609	0.870	0.838
10	16	0.757	0.747	0.744	0.714	0.713	0.717	0.942	0.946	0.933	0.906	0.904	0.907	0.749	0.715	0.940	0.906
10	20	0.858	0.846	0.854	0.826	0.829	0.812	1.022	1.007	1.014	0.983	0.989	0.984	0.853	0.823	1.014	0.982

TABLA 63

ABSORNCIAS DE CURVAS CON CONCENTRACION DE TRIMETOPRIM CONSTANTE

CONCENTRACION DE SMX mcg/ml	DE TMP mcg/ml	ABSORNCIAS A 242nm				ABSORNCIAS A 284nm				PROMEDIOS DE ABSORNCIA							
		DIA 1		DIA 2		DIA 1		DIA 2		A 242nm		A 284nm					
0	5	0.127	0.135	0.128	0.141	0.142	0.145	0.087	0.085	0.080	0.086	0.086	0.101	0.130	0.143	0.084	0.088
2	5	0.186	0.186	0.183	0.213	0.215	0.211	0.210	0.220	0.215	0.237	0.236	0.231	0.186	0.213	0.215	0.235
4	5	0.243	0.242	0.238	0.274	0.266	0.266	0.334	0.338	0.329	0.353	0.351	0.364	0.241	0.269	0.333	0.353
6	5	0.298	0.290	0.296	0.324	0.324	0.322	0.461	0.454	0.454	0.479	0.479	0.478	0.295	0.323	0.456	0.479
8	5	0.355	0.354	0.352	0.379	0.382	0.380	0.587	0.583	0.581	0.608	0.603	0.603	0.354	0.380	0.584	0.605
10	5	0.403	0.403	0.405	0.438	0.437	0.438	0.697	0.696	0.699	0.727	0.725	0.727	0.404	0.438	0.697	0.726
0	10	0.250	0.249	0.251	0.285	0.285	0.289	0.174	0.177	0.174	0.209	0.211	0.204	0.250	0.286	0.175	0.206
2	10	0.306	0.311	0.314	0.354	0.356	0.363	0.298	0.301	0.302	0.318	0.341	0.338	0.310	0.361	0.300	0.332
4	10	0.379	0.379	0.378	0.418	0.419	0.418	0.424	0.428	0.424	0.462	0.459	0.459	0.379	0.418	0.425	0.460
6	10	0.432	0.429	0.434	0.480	0.480	0.480	0.545	0.545	0.547	0.585	0.587	0.588	0.432	0.480	0.546	0.587
8	10	0.496	0.488	0.492	0.532	0.535	0.537	0.670	0.683	0.688	0.700	0.706	0.709	0.492	0.535	0.687	0.705
10	10	0.553	0.554	0.549	0.590	0.587	0.593	0.795	0.786	0.793	0.823	0.823	0.829	0.552	0.590	0.795	0.825
0	15	0.391	0.395	0.380	0.387	0.387	0.377	0.280	0.280	0.275	0.275	0.270	0.270	0.389	0.384	0.278	0.272
2	15	0.455	0.463	0.454	0.454	0.466	0.460	0.408	0.412	0.406	0.408	0.415	0.403	0.457	0.408	0.408	0.400
4	15	0.514	0.524	0.522	0.519	0.522	0.523	0.525	0.532	0.531	0.533	0.538	0.537	0.520	0.521	0.528	0.536
6	15	0.588	0.580	0.572	0.589	0.587	0.582	0.652	0.647	0.660	0.664	0.665	0.663	0.580	0.586	0.653	0.664
8	15	0.653	0.642	0.630	0.646	0.644	0.646	0.792	0.778	0.772	0.785	0.786	0.785	0.642	0.645	0.781	0.785
10	15	0.685	0.699	0.692	0.697	0.696	0.696	0.896	0.899	0.893	0.901	0.901	0.902	0.692	0.696	0.896	0.901

TABLA 64

RESULTADOS DE REGRESION LINEAL Y COMPARACION ENTRE RECTAS CON CONCENTRACION DE TRIMETOPRIM CONSTANTE

PARAMETROS ESTADISTICOS	CONCENTRACION CONSTANTE DE TRIMETOPRIM A 242nm						CONCENTRACION CONSTANTE DE TRIMETOPRIM A 266nm					
	DIA 1			DIA 2			DIA 1			DIA 2		
	5	10	15	5	10	15	5	10	15	5	10	15
COEFICIENTE DE REGRESION	0.02754	0.03011	0.03042	0.02906	0.02930	0.03120	0.06134	0.06172	0.06186	0.06256	0.06185	0.62948
COEFICIENTE DE CORRELACION	0.99986	0.99961	0.99907	0.99911	0.99961	0.99827	0.99985	0.99997	0.99990	0.99986	0.99990	0.99963
INTERCEPTO	0.13029	0.25187	0.39449	0.14897	0.30022	0.39278	0.08817	0.17594	0.28160	0.10297	0.21024	0.27976
VALOR DE Y EN LA COMPARACION ENTRE RECTAS												
ENTRE 1 Y 2	-1.81500			-0.05129			-0.09213			0.18229		
ENTRE 1 Y 3	-2.54367			-0.53018			-0.13156			-0.11327		
ENTRE 2 Y 3	-0.11366			-0.81674			-0.08548			-0.40412		

TABLA 65

RESULTADOS DE REGRESION LINEAL Y COMPARACION ENTRE RECTAS CON CONCENTRACION DE SULFAMETOXAZOL CONSTANTE

PARAMETROS ESTADISTICOS	CONCENTRACION CONSTANTE DE SULFAMETOXAZOL A 242nm						CONCENTRACION CONSTANTE DE SULFAMETOXAZOL A 266nm					
	DIA 1			DIA 2			DIA 1			DIA 2		
	5	7.5	10	5	7.5	10	5	7.5	10	5	7.5	10
COEFICIENTE DE REGRESION	0.02820	0.02905	0.02890	0.02877	0.02733	0.02772	0.01946	0.02014	0.01919	0.01936	0.01889	0.01937
COEFICIENTE DE CORRELACION	0.99988	0.99942	0.99967	0.99931	0.99932	0.99957	0.99969	0.99835	0.99973	0.99893	0.99930	0.99867
INTERCEPTO	0.15048	0.28097	0.22200	0.15359	0.22190	0.27298	0.31843	0.48776	0.43332	0.30541	0.47779	0.60317
VALOR DE Y EN LA COMPARACION ENTRE RECTAS												
ENTRE 1 Y 2	-0.25350			-0.06955			-0.18304			0.06478		
ENTRE 1 Y 3	-0.20470			-0.11831			0.06759			-0.00100		
ENTRE 2 Y 3	0.01831			-0.04846			0.09923			-0.08523		

TABLA 66

ABSORBANCIAS DE MEZCLAS DE SMX-TMP EN CUATRO PROPORCIONES: 1:4 ; 2:3 ; 3:2 y 4:1

ANALISIS DIA 1

CONCENTRACION			ABSORBANCIA A 242nm			PROMEDIO A 242nm	ABSORBANCIA A 254nm			PROMEDIO A 254nm	ABSORTIVIDAD A 242nm		
SMX mcg/ml	TMP mcg/ml	TOTAL mcg/ml											
2	8	10	0.279	0.274	0.276	0.276	0.274	0.264	0.269	0.269	0.028	0.027	0.028
4	6	10	0.266	0.266	0.271	0.268	0.341	0.337	0.342	0.340	0.027	0.027	0.027
6	4	10	0.262	0.263	0.260	0.262	0.411	0.418	0.410	0.413	0.026	0.026	0.026
8	2	10	0.252	0.244	0.254	0.250	0.495	0.477	0.490	0.487	0.025	0.024	0.025
3	12	15	0.412	0.395	0.413	0.407	0.412	0.399	0.413	0.408	0.027	0.026	0.028
6	9	15	0.428	0.417	0.420	0.422	0.546	0.538	0.543	0.542	0.029	0.028	0.028
9	6	15	0.421	0.440	0.419	0.427	0.669	0.685	0.669	0.674	0.028	0.029	0.028
12	3	15	0.420	0.427	0.407	0.418	0.805	0.806	0.793	0.801	0.028	0.028	0.027
4	16	20	0.530	0.514	0.499	0.514	0.538	0.527	0.517	0.527	0.027	0.026	0.025
8	12	20	0.552	0.543	0.541	0.545	0.718	0.705	0.705	0.709	0.028	0.027	0.027
12	8	20	0.541	0.550	0.535	0.542	0.866	0.888	0.853	0.869	0.027	0.028	0.027
16	4	20	0.550	0.541	0.544	0.545	1.054	1.032	1.047	1.044	0.028	0.027	0.027

TABLA 67

ANALISIS DIA 2

CONCENTRACION			ABSORBANCIA A 242nm			PROMEDIO A 242nm	ABSORBANCIA A 254nm			PROMEDIO A 254nm	ABSORTIVIDAD A 242nm		
SMX mcg/ml	TMP mcg/ml	TOTAL mcg/ml											
2	8	10	0.277	0.281	0.286	0.281	0.271	0.275	0.285	0.277	0.028	0.028	0.029
4	6	10	0.282	0.287	0.293	0.284	0.362	0.369	0.366	0.362	0.028	0.029	0.028
6	4	10	0.286	0.287	0.288	0.287	0.454	0.452	0.452	0.453	0.029	0.029	0.029
8	2	10	0.277	0.275	0.281	0.278	0.534	0.527	0.539	0.533	0.028	0.028	0.028
3	12	15	0.404	0.401	0.414	0.406	0.403	0.396	0.422	0.407	0.027	0.027	0.028
6	9	15	0.414	0.413	0.415	0.414	0.546	0.540	0.540	0.542	0.028	0.028	0.028
9	6	15	0.409	0.413	0.414	0.412	0.669	0.669	0.669	0.669	0.027	0.028	0.028
12	3	15	0.396	0.411	0.406	0.404	0.780	0.799	0.797	0.792	0.026	0.027	0.027
4	16	20	0.539	0.543	0.540	0.541	0.546	0.553	0.553	0.551	0.027	0.027	0.027
8	12	20	0.524	0.534	0.536	0.531	0.647	0.675	0.679	0.667	0.026	0.027	0.027
12	8	20	0.568	0.551	0.561	0.560	0.896	0.874	0.897	0.889	0.028	0.028	0.028
16	4	20	0.540	0.544	0.545	0.543	1.042	1.042	1.043	1.042	0.027	0.027	0.027

TABLA 68







**TABLAS DE ANADAVA PARA LOS RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE CONCENTRACIONES POR RAZONES DE ABSORBIENCIAS (METODO Q). RESULTADOS EN (%) RECUPERADO DE SMX**

**SULFAMETOXAZOL CONSTANTE A 5 mcg/ml TABLA 75**

		C O N C E N T R A C I O N E S						
		1	2	3	4	5	6	
DIA	1	103.61	104.29	100.36	97.55	100.97	106.89	1830.78
		106.97	97.86	104.46	98.79	102.90	104.62	
		101.52	101.65	97.09	99.41	101.21	103.03	
		311.10	303.60	301.90	294.75	304.66	314.55	
DIA	2	94.85	94.56	96.32	99.00	100.55	102.12	1775.46
		91.82	94.96	100.85	98.08	97.86	108.02	
		95.95	96.24	101.74	99.99	101.12	102.74	
		292.11	295.35	296.92	295.97	299.55	313.87	
		589.21	589.15	600.83	590.42	604.23	628.42	3906.26

**SULFAMETOXAZOL CONSTANTE A 7.5 mcg/ml TABLA 76**

		C O N C E N T R A C I O N E S						
		1	2	3	4	5	6	
DIA	1	105.20	108.09	104.71	100.77	107.55	108.87	1912.53
		103.12	110.41	109.87	105.85	108.97	108.71	
		105.83	108.74	104.88	103.17	105.37	106.84	
		314.16	325.23	318.24	310.59	321.89	324.41	
DIA	2	102.37	103.31	103.39	101.85	102.91	103.17	1847.09
		100.90	103.55	102.45	102.34	101.35	103.09	
		100.13	104.69	103.15	102.27	103.44	102.69	
		303.40	311.55	308.99	305.46	307.73	308.95	
		617.56	636.79	625.23	617.06	629.62	633.36	3759.62

**SULFAMETOXAZOL CONSTANTE A 10 mcg/ml TABLA 77**

		C O N C E N T R A C I O N E S						
		1	2	3	4	5	6	
DIA	1	104.86	103.11	100.55	99.87	99.43	101.92	1835.63
		104.25	102.24	101.75	104.18	102.00	100.33	
		105.06	101.99	103.78	100.21	99.42	100.66	
		314.17	307.33	306.09	304.27	300.84	302.93	
DIA	2	97.05	99.98	97.95	97.32	97.91	99.94	1777.28
		97.01	100.45	96.39	98.14	97.60	96.84	
		97.05	99.95	99.18	100.07	97.56	102.78	
		291.11	300.39	295.52	295.53	293.18	301.56	
		605.28	607.72	601.61	599.80	594.02	604.49	3612.91

TABLAS DE ANAVEVA PARA LOS RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE CONCENTRACIONES POR RAZONES DE ABSORBANCIAS (METODO Q). RESULTADOS EN (%) RECUPERADO DE 5Mx

SULFAMETOXAZOL CONSTANTE A 5 mcg/ml							TABLA 75
C O N C E N T R A C I O N E S							
	1	2	3	4	5	6	
DIA 1	103.61	104.29	100.38	97.55	100.97	106.89	1830.78
	105.97	97.88	104.48	98.79	102.80	104.62	
	101.52	101.66	97.09	98.41	101.21	103.03	
	311.10	303.60	301.90	294.75	304.68	314.55	
DIA 2	94.66	94.56	98.32	99.00	100.56	102.12	1775.48
	91.82	94.58	100.88	98.08	97.88	109.02	
	95.55	98.24	101.74	98.59	101.12	102.74	
	282.11	286.35	298.92	296.67	299.55	313.87	
583.21	589.15	600.83	590.42	604.23	626.42	3806.28	

SULFAMETOXAZOL CONSTANTE A 7.5 mcg/ml							TABLA 76
C O N C E N T R A C I O N E S							
	1	2	3	4	5	6	
DIA 1	106.20	108.09	104.71	100.77	107.55	108.87	1912.53
	103.12	110.41	108.67	108.85	108.97	108.71	
	105.83	108.74	104.88	103.17	105.37	106.84	
	314.18	325.29	318.24	310.99	321.89	324.41	
DIA 2	102.37	103.31	103.39	101.85	102.91	103.17	1847.09
	100.90	103.65	102.45	102.34	101.38	103.09	
	100.13	104.89	103.15	102.27	103.44	102.89	
	303.40	311.55	308.99	306.45	307.73	308.95	
617.56	636.79	625.23	617.06	629.62	633.36	3759.62	

SULFAMETOXAZOL CONSTANTE A 10 mcg/ml							TABLA 77
C O N C E N T R A C I O N E S							
	1	2	3	4	5	6	
DIA 1	104.86	103.11	100.56	99.87	99.43	101.92	1835.63
	104.25	102.24	101.75	104.18	102.00	100.33	
	105.06	101.89	103.78	100.21	99.42	100.66	
	314.17	307.33	306.09	304.27	300.84	302.83	
DIA 2	97.05	99.98	97.96	97.32	97.81	99.94	1777.28
	97.01	100.45	98.39	98.14	97.60	98.84	
	97.05	99.95	99.18	100.07	97.66	102.78	
	291.11	300.39	295.52	295.53	293.18	301.56	
605.28	607.72	601.61	599.80	594.02	604.49	3612.91	



**TABLAS DE ANADEVIA PARA LOS RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE CONCENTRACIONES POR RAZONES DE ABSORBANCIAS (METODO Q) RESULTADOS EN (%) RECUPERADO DE TMP**

**SULFAMETOXAZOL CONSTANTE A 5 mcg/ml**

**TABLA 78**

	C O N C E N T R A C I O N E S					
	1	2	3	4	5	
DIA 1	121.52	107.69	111.98	106.32	105.49	1693.16
	127.68	112.15	112.08	110.52	110.36	
	120.12	115.82	114.43	111.87	105.14	
	390.31	336.66	338.49	328.71	320.99	
DIA 2	116.83	115.36	110.44	101.30	101.81	1648.96
	121.83	113.48	109.88	102.37	103.46	
	119.41	115.72	108.74	106.51	101.84	
	358.06	344.54	329.05	310.18	307.12	
	727.37	680.20	667.54	638.90	628.11	3342.12

**SULFAMETOXAZOL CONSTANTE A 7.5 mcg/ml**

**TABLA 79**

	C O N C E N T R A C I O N E S					
	1	2	3	4	5	
DIA 1	116.63	105.49	115.23	114.38	107.30	1695.37
	119.78	113.01	111.25	108.10	108.86	
	121.96	124.07	109.36	110.96	109.00	
	358.36	342.57	335.85	333.44	325.16	
DIA 2	113.40	110.94	108.00	106.28	104.57	1631.94
	109.22	111.82	114.25	105.57	103.85	
	108.95	113.03	113.05	105.77	103.25	
	331.57	335.79	335.30	317.60	311.68	
	689.93	678.37	671.15	651.03	636.84	3327.32

**SULFAMETOXAZOL CONSTANTE A 10 mcg/ml**

**TABLA 80**

	C O N C E N T R A C I O N E S					
	1	2	3	4	5	
DIA 1	126.13	114.48	114.96	115.06	109.72	1705.56
	114.26	111.58	117.62	111.11	108.28	
	117.69	109.97	113.12	112.02	109.59	
	358.08	336.03	345.70	338.19	327.58	
DIA 2	115.21	111.65	109.28	105.94	105.08	1626.88
	114.03	113.91	107.05	105.90	105.82	
	105.92	111.98	107.62	106.80	100.67	
	335.17	337.53	323.96	318.64	311.58	
	693.25	673.56	669.65	656.83	638.15	3332.44

**TABLAS DE ANADAVA PARA LOS RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE CONCENTRACIONES POR RAZONES DE ABSORBANCIAS (METODO Q) RESULTADOS EN (%) RECUPERADO DE SMX**

TRIMETOPRIM CONSTANTE A 5 mcg/ml						TABLA 81
C O N C E N T R A C I O N E S						
	1	2	3	4	5	
DIA 1	96.85	96.44	100.69	101.11	99.05	1504.54
	106.64	101.20	100.10	100.14	98.82	
	105.18	96.93	98.48	99.95	96.97	
	310.67	296.57	290.26	301.20	296.84	
DIA 2	106.80	97.07	100.74	102.44	100.45	1515.41
	103.99	99.14	100.74	100.36	100.14	
	101.34	100.10	100.88	100.76	100.45	
	312.13	296.31	302.36	303.56	301.05	
	622.80	592.67	601.62	604.76	597.89	3019.94

TRIMETOPRIM CONSTANTE A 10 mcg/ml						TABLA 82
C O N C E N T R A C I O N E S						
	1	2	3	4	5	
DIA 1	100.96	96.37	97.49	97.00	97.84	1475.27
	102.81	98.73	98.30	96.56	97.92	
	101.55	96.77	97.74	97.22	96.02	
	306.32	291.67	293.53	290.78	293.78	
DIA 2	87.99	102.96	100.24	96.55	96.45	1500.47
	105.36	100.79	101.03	99.71	96.93	
	104.26	101.19	101.42	100.19	99.37	
	287.64	304.95	302.69	298.44	296.75	
	602.97	596.81	596.21	586.22	590.53	2975.74

TRIMETOPRIM CONSTANTE A 15 mcg/ml						TABLA 83
C O N C E N T R A C I O N E S						
	1	2	3	4	5	
DIA 1	109.87	101.19	97.39	101.14	100.26	1532.44
	110.46	101.26	97.58	99.25	98.69	
	110.68	101.48	104.86	99.91	96.41	
	331.01	303.94	296.83	300.30	297.37	
DIA 2	113.04	103.88	101.83	100.50	99.49	1549.92
	111.56	105.61	102.77	101.20	99.65	
	102.26	104.62	103.33	100.50	99.65	
	326.68	314.11	307.94	302.20	296.80	
	657.89	618.05	607.76	602.49	596.16	3062.35

**TABLAS DE ANAVEVA PARA LOS RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE CONCENTRACIONES POR RAZONES DE ABSORBANCIA (METODO Q) RESULTADOS EN (%) RECUPERADO DE TMP**

TRIMETOPRIM CONSTANTE A 5 mcg/ml							TABLA 84
C O N C E N T R A C I O N E S							
	1	2	3	4	5	6	
DIA 1	95.28	100.59	103.27	102.40	104.14	103.77	1810.89
	104.82	95.87	100.31	97.11	104.95	104.24	
	85.66	95.01	100.74	103.55	103.75	105.44	
	285.78	291.47	304.32	303.06	312.84	313.45	
DIA 2	106.07	116.83	127.59	121.81	119.99	127.18	2154.78
	107.14	116.83	119.94	121.81	125.57	127.05	
	106.00	117.52	120.67	120.14	123.43	127.18	
	321.21	351.18	368.20	363.77	368.99	381.42	
	606.97	642.65	672.53	666.83	681.83	694.87	3965.67

TRIMETOPRIM CONSTANTE A 10 mcg/ml							TABLA 85
C O N C E N T R A C I O N E S							
	1	2	3	4	5	6	
DIA 1	93.14	94.41	103.40	103.30	106.17	109.28	1830.60
	91.89	95.92	102.46	101.69	105.53	109.58	
	93.67	97.29	102.86	103.91	106.49	107.60	
	278.70	287.63	308.72	308.91	320.19	326.45	
DIA 2	109.03	114.99	115.37	119.63	120.41	122.53	2110.00
	108.58	116.00	116.81	119.16	120.61	120.92	
	112.36	115.10	116.08	118.92	120.97	122.72	
	329.95	346.09	348.06	357.72	362.00	366.17	
	608.66	633.72	656.79	666.62	682.19	692.83	3940.60

TRIMETOPRIM CONSTANTE A 15 mcg/ml							TABLA 86
C O N C E N T R A C I O N E S							
	1	2	3	4	5	6	
DIA 1	95.87	97.65	99.85	106.26	107.23	101.99	1822.40
	97.31	99.60	102.38	104.14	105.49	106.63	
	92.72	97.28	101.81	99.08	102.06	105.04	
	285.90	294.53	304.04	309.48	314.78	313.86	
DIA 2	95.23	98.29	101.89	106.33	107.70	107.71	1851.83
	96.02	101.48	102.17	105.46	106.83	107.35	
	92.44	101.22	102.69	103.99	107.70	107.35	
	283.68	300.99	306.75	315.78	322.23	322.40	
	569.59	595.52	610.79	625.25	637.01	636.07	3674.23

TABLAS DE ANADVA PARA LOS RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE CONCENTRACIONES POR REGRESION LINEAL MULTIPLE. RESULTADOS EN (%) RECUPERADO DE SMX

SULFAMETOXAZOL CONSTANTE A 5 mcg/ml

TABLA 87

		C O N C E N T R A C I O N E S						
		1	2	3	4	5	6	
DIA	1	106.42	106.57	102.18	98.80	101.83	107.31	1858.55
		106.81	100.07	106.26	100.05	103.29	104.91	
		104.28	103.93	98.82	99.63	101.96	103.43	
		319.51	310.58	307.28	298.48	307.07	315.65	
DIA	2	97.35	98.80	98.05	100.28	101.50	102.59	1806.25
		94.49	99.54	102.63	99.37	98.79	109.49	
		96.32	98.48	103.50	99.89	101.97	103.21	
		290.18	294.82	304.19	299.53	302.26	315.29	
		608.67	605.40	611.45	598.01	609.33	630.94	3664.80

SULFAMETOXAZOL CONSTANTE A 7.5 mcg/ml

TABLA 88

		C O N C E N T R A C I O N E S						
		1	2	3	4	5	6	
DIA	1	107.29	107.83	108.16	101.78	108.25	109.33	1934.97
		105.19	112.17	108.09	107.73	109.78	109.15	
		107.93	110.49	108.20	104.25	106.10	107.27	
		320.41	330.49	320.44	313.76	324.11	325.75	
DIA	2	104.43	105.08	104.80	102.94	103.69	103.64	1869.60
		102.93	105.31	103.84	103.37	102.18	103.57	
		102.14	106.45	104.55	103.30	104.23	103.19	
		309.51	316.82	313.19	308.61	310.07	310.40	
		629.92	647.31	633.63	623.37	634.19	636.15	3804.57

SULFAMETOXAZOL CONSTANTE A 10 mcg/ml

TABLA 89

		C O N C E N T R A C I O N E S						
		1	2	3	4	5	6	
DIA	1	106.60	104.53	101.73	100.77	100.08	102.36	1854.75
		105.98	103.69	102.94	105.09	102.68	100.78	
		106.81	103.43	105.00	101.13	100.07	101.12	
		319.39	311.65	308.67	306.99	302.81	304.25	
DIA	2	98.72	101.42	99.12	98.25	98.62	100.43	1796.56
		98.69	101.89	99.55	99.08	98.31	99.31	
		98.72	101.41	100.36	101.02	98.36	103.33	
		296.12	304.72	299.03	298.35	295.28	303.06	
		615.51	616.36	608.70	605.34	598.10	607.31	3651.31

**TABLAS DE ANAVEVA PARA LOS RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE CONCENTRACIONES POR REGRESION LINEAL MULTIPLE. RESULTADOS EN (%) RECUPERADO DE TMP**

**SULFAMETOXAZOL CONSTANTE A 5 mcg/ml**

**TABLA 90**

		C O N C E N T R A C I O N E S					
		1	2	3	4	5	
DIA	1	110.37	103.06	109.68	105.01	104.80	1633.82
		116.80	107.56	109.78	109.28	109.78	
		109.00	111.39	112.18	110.66	104.47	
		336.17	322.00	331.64	324.96	319.05	
DIA	2	105.82	110.93	108.10	99.90	101.08	1589.20
		110.85	108.94	107.54	101.00	102.72	
		108.41	111.23	108.37	105.20	101.11	
		325.06	331.09	322.02	306.10	304.91	
		661.24	653.10	653.66	631.06	623.96	3223.02

**SULFAMETOXAZOL CONSTANTE A 7.5 mcg/ml**

**TABLA 91**

		C O N C E N T R A C I O N E S					
		1	2	3	4	5	
DIA	1	104.08	100.14	112.57	112.96	108.38	1626.33
		107.11	107.77	108.44	108.45	107.97	
		108.41	119.07	108.56	109.39	108.13	
		320.59	328.96	327.58	328.70	322.48	
DIA	2	100.88	105.72	105.19	104.62	103.64	1562.60
		96.61	106.64	111.55	103.94	102.91	
		98.29	107.85	110.33	104.13	102.30	
		293.78	320.21	327.06	312.66	308.84	
		614.37	647.19	654.66	641.38	631.32	3188.93

**SULFAMETOXAZOL CONSTANTE A 10 mcg/ml**

**TABLA 92**

		C O N C E N T R A C I O N E S					
		1	2	3	4	5	
DIA	1	112.62	108.77	111.91	113.33	108.65	1629.60
		100.56	105.79	114.55	109.28	107.18	
		104.08	104.10	110.03	110.23	108.53	
		317.26	318.66	336.48	332.84	324.35	
DIA	2	101.65	105.95	106.16	104.05	103.95	1550.24
		100.42	108.24	103.87	104.02	104.71	
		92.18	108.25	104.43	104.93	99.42	
		294.25	320.45	314.46	313.00	308.08	
		611.52	639.11	650.95	645.84	632.43	3179.84

**TABLAS DE ANADAVA PARA LOS RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE CONCENTRACIONES POR REGRESION LINEAL MULTIPLE. RESULTADOS EN (%) RECUPERADO DE SMX**

TRIMETOPRIM CONSTANTE A 5 mcg/ml						TABLA 93
	C O N C E N T R A C I O N E S					
	1	2	3	4	5	
DIA	101.55	101.08	102.65	102.72	100.45	
1	113.49	103.86	102.08	101.74	100.21	
	110.01	99.56	100.42	101.56	100.35	
	<u>325.05</u>	<u>304.49</u>	<u>305.14</u>	<u>306.02</u>	<u>301.01</u>	1541.70
DIA	111.33	99.51	102.60	104.00	101.79	
2	108.47	101.64	102.60	101.88	101.48	
	105.83	102.80	102.76	102.30	101.79	
	<u>325.62</u>	<u>303.76</u>	<u>307.96</u>	<u>308.16</u>	<u>305.05</u>	1560.58
	650.68	608.25	613.09	614.20	606.06	3092.28

TRIMETOPRIM CONSTANTE A 19 mcg/ml						TABLA 94
	C O N C E N T R A C I O N E S					
	1	2	3	4	5	
DIA	104.42	98.23	98.92	98.16	98.90	
1	108.23	100.82	99.76	97.75	98.97	
	104.93	98.65	99.17	98.41	99.08	
	<u>315.57</u>	<u>297.49</u>	<u>297.85</u>	<u>294.35</u>	<u>295.96</u>	1502.20
DIA	90.77	104.69	101.53	99.65	99.43	
2	108.23	102.48	102.33	100.81	98.93	
	107.15	102.90	102.73	101.29	100.36	
	<u>308.15</u>	<u>310.08</u>	<u>308.59</u>	<u>301.75</u>	<u>298.71</u>	1524.28
	621.72	607.57	604.44	588.10	598.66	3026.48

TRIMETOPRIM CONSTANTE A 15 mcg/ml						TABLA 95
	C O N C E N T R A C I O N E S					
	1	2	3	4	5	
DIA	111.81	102.37	98.26	101.94	101.05	
1	112.32	102.39	98.48	100.05	99.44	
	112.64	102.63	105.87	100.76	99.17	
	<u>336.76</u>	<u>307.40</u>	<u>302.61</u>	<u>302.76</u>	<u>299.67</u>	1549.20
DIA	115.03	105.07	102.75	101.31	100.25	
2	113.40	106.81	103.70	102.03	100.42	
	104.07	105.79	104.29	101.31	100.42	
	<u>332.50</u>	<u>317.67</u>	<u>310.75</u>	<u>304.65</u>	<u>301.09</u>	1566.65
	669.27	625.07	613.36	607.40	600.75	3115.85

TABLAS DE ANADAVA PARA LOS RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE CONCENTRACIONES POR REGRESION LINEAL MULTIPLE. RESULTADOS EN (%) RECUPERADO DE TMP

TRIMETOPRIM CONSTANTE A 5 mcg/ml							TABLA 96
	C O N C E N T R A C I O N E S						
	1	2	3	4	5	6	
DIA 1	88.33	92.99	94.96	93.26	94.25	93.17	1867.45
	98.11	88.06	91.90	87.88	95.11	93.66	
	92.86	87.24	92.40	94.49	93.89	94.86	
	279.30	268.32	279.25	275.63	283.24	281.72	
DIA 2	99.32	109.47	119.76	113.06	110.37	116.99	2005.88
	100.42	112.16	111.94	113.05	116.12	116.86	
	101.26	110.21	112.67	111.34	113.92	116.99	
	301.02	331.84	344.36	337.43	340.40	350.84	
	580.32	600.15	623.82	613.06	623.64	632.55	3673.34

TRIMETOPRIM CONSTANTE A 10 mcg/ml							TABLA 97
	C O N C E N T R A C I O N E S						
	1	2	3	4	5	6	
DIA 1	90.52	91.45	100.25	99.77	104.36	105.10	1789.72
	89.24	92.97	99.27	98.12	101.68	105.41	
	91.07	94.38	99.70	100.38	102.65	103.39	
	270.83	278.79	299.23	298.27	308.69	313.90	
DIA 2	106.70	112.46	112.40	116.38	116.82	116.80	2054.10
	108.21	113.43	113.69	115.89	117.00	116.95	
	110.13	112.52	113.13	115.65	117.37	116.78	
	323.05	338.41	339.22	347.92	351.18	354.33	
	593.88	617.20	638.45	646.19	659.87	668.23	3823.82

TRIMETOPRIM CONSTANTE A 15 mcg/ml							TABLA 98
	C O N C E N T R A C I O N E S						
	1	2	3	4	5	6	
DIA 1	94.75	97.65	99.85	106.26	107.23	101.99	1819.00
	96.22	98.60	102.38	104.14	105.49	106.63	
	91.53	97.28	101.81	99.08	102.06	105.04	
	282.50	294.53	304.04	309.48	314.78	313.66	
DIA 2	94.10	96.95	100.38	104.66	105.81	105.57	1822.85
	94.92	100.21	100.67	103.77	104.91	105.20	
	91.25	99.97	101.20	102.26	105.81	105.20	
	280.27	297.14	302.24	310.69	316.53	315.98	
	562.77	591.67	606.28	620.16	631.31	629.64	3641.84

**TABLAS DE ANADEVIA PARA LOS RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE CONCENTRACIONES POR REGRESION LINEAL MULTIPLE DE LAS FRACCIONES**

**RESULTADOS EN (%) RECUPERADO DE 8MX**

**SULFAMETOXAZOL CONSTANTE A 5 mcg/ml**

**TABLA 99**

		C O N C E N T R A C I O N E S						
		1	2	3	4	5	6	
DIA	1	84.50	105.53	112.11	97.83	93.99	86.78	1702.21
		85.38	100.94	112.07	99.08	90.82	78.29	
		82.38	104.98	104.10	96.44	87.51	81.50	
		252.24	311.44	328.28	293.35	272.32	244.57	
DIA	2	80.89	103.19	103.79	100.89	99.91	85.17	1724.46
		79.65	102.84	106.57	100.43	94.89	92.98	
		78.61	103.01	107.74	102.10	93.95	86.07	
		239.15	308.84	320.10	303.42	288.74	284.20	
		491.40	620.29	648.38	596.77	581.07	508.77	3426.67

**SULFAMETOXAZOL CONSTANTE A 7.5 mcg/ml**

**TABLA 100**

		C O N C E N T R A C I O N E S						
		1	2	3	4	5	6	
DIA	1	85.84	103.41	114.49	107.33	109.12	110.92	1896.13
		85.22	103.75	112.01	114.21	115.77	109.10	
		85.87	102.91	106.26	113.02	110.07	106.95	
		256.73	310.07	332.85	334.55	334.98	326.97	
DIA	2	84.57	103.45	111.37	112.99	111.96	107.70	1888.59
		83.82	104.43	110.51	109.15	111.14	108.40	
		82.61	104.76	110.31	109.88	112.89	108.63	
		251.00	312.84	332.19	332.02	336.00	324.73	
		507.73	622.71	665.04	666.57	670.96	651.70	3784.71

**SULFAMETOXAZOL CONSTANTE A 10 mcg/ml**

**TABLA 101**

		C O N C E N T R A C I O N E S						
		1	2	3	4	5	6	
DIA	1	87.02	99.29	108.43	108.05	108.43	109.28	1862.24
		87.07	100.04	107.87	109.18	110.98	109.06	
		88.08	99.43	109.16	109.19	108.44	108.27	
		262.14	297.75	323.46	326.42	325.85	326.62	
DIA	2	85.45	99.46	106.38	109.49	111.49	111.42	1881.52
		86.46	99.74	105.78	111.15	111.28	109.78	
		85.45	101.01	108.76	111.95	110.70	117.80	
		257.35	300.21	318.92	332.59	333.47	339.00	
		519.49	597.96	642.38	659.01	659.32	665.62	3743.77



**TABLAS DE ANADIVA PARA LOS RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE CONCENTRACIONES POR REGRESION LINEAL MULTIPLE DE LAS FRACCIONES**

**RESULTADOS EN (%) RECUPERADO DE TMP**

**SULFAMETOXAZOL CONSTANTE A 5 mcg/ml**

**TABLA 102**

	C O N C E N T R A C I O N E S						
	1	2	3	4	5		
DIA	93.09	92.43	100.90	101.88	103.30	1493.30	
	98.82	92.46	100.38	102.87	105.93		
	93.78	97.44	101.48	103.90	104.63		
1	285.70	282.33	302.77	308.65	313.86		
	96.02	97.63	99.63	100.03	103.71		1487.43
	96.70	94.64	99.82	101.60	101.76		
96.23	95.18	99.12	101.89	103.48			
2	288.95	287.44	298.57	303.52	308.95		
	574.64	569.77	601.35	612.17	622.81		
	2900.73						

**SULFAMETOXAZOL CONSTANTE A 7.5 mcg/ml**

**TABLA 103**

	C O N C E N T R A C I O N E S						
	1	2	3	4	5		
DIA	93.60	86.42	95.42	95.72	95.90	1402.23	
	92.98	88.74	91.12	92.61	96.59		
	94.54	94.05	91.87	95.28	97.39		
1	281.12	289.21	278.41	283.61	289.89		
	93.53	89.34	91.88	94.39	97.11		1399.96
	91.69	90.15	94.28	94.78	96.85		
91.08	90.33	93.82	93.96	96.76			
2	276.30	289.82	279.99	283.13	290.72		
	557.42	539.03	558.39	586.74	580.61		
	2802.19						

**SULFAMETOXAZOL CONSTANTE A 10 mcg/ml**

**TABLA 104**

	C O N C E N T R A C I O N E S						
	1	2	3	4	5		
DIA	104.28	91.96	93.29	95.98	95.36	1424.61	
	99.91	90.16	92.35	93.14	95.47		
	101.43	88.55	92.34	94.72	95.86		
1	305.62	270.67	277.98	283.84	286.69		
	101.36	92.02	92.09	92.82	94.29		1408.27
	100.65	92.78	90.71	92.95	95.11		
97.48	91.55	90.04	93.32	91.10			
2	299.49	276.35	272.84	279.08	280.50		
	605.11	547.02	550.83	562.93	567.19		
	2833.08						

**TABLAS DE ANADAVA PARA LOS RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE CONCENTRACIONES POR REGRESION LINEAL MULTIPLE DE LAS FRACCIONES**

**RESULTADOS EN (%) RECUPERADO DE SMX**

TRIMETOPRIM CONSTANTE A 5 mcg/ml						TABLA 105
C O N C E N T R A C I O N E S						
	1	2	3	4	5	
DIA 1	107.22	113.57	111.19	107.05	103.81	1664.38
	124.90	116.83	112.95	106.55	103.66	
	122.39	114.11	109.91	106.82	103.43	
	354.51	344.51	334.05	320.42	310.89	
DIA 2	101.50	99.83	104.29	103.26	99.24	1520.27
	96.11	105.02	104.29	101.19	99.19	
	95.06	105.24	104.93	101.87	99.24	
	292.68	310.09	313.52	308.31	297.87	
	647.18	654.60	647.58	628.73	606.57	3184.65

TRIMETOPRIM CONSTANTE A 10 mcg/ml						TABLA 106
C O N C E N T R A C I O N E S						
	1	2	3	4	5	
DIA 1	72.37	103.64	112.82	109.87	108.96	1528.51
	72.79	107.31	114.66	111.17	106.87	
	67.89	104.68	112.56	111.03	109.79	
	213.06	315.63	340.04	332.17	327.62	
DIA 2	12.60	98.86	103.50	104.41	103.82	1327.37
	42.62	95.31	104.44	105.03	104.54	
	42.13	96.26	104.90	105.14	104.02	
	97.35	290.43	312.84	314.58	312.17	
	310.41	606.06	652.88	646.74	639.79	2655.87

TRIMETOPRIM CONSTANTE A 15 mcg/ml						TABLA 107
C O N C E N T R A C I O N E S						
	1	2	3	4	5	
DIA 1	9.87	89.91	100.14	110.15	114.59	1280.65
	6.57	86.38	102.51	109.90	110.51	
	12.50	87.52	115.58	113.19	111.33	
	26.93	263.81	318.23	333.24	336.44	
DIA 2	18.34	93.07	106.64	110.72	111.75	1314.53
	7.52	95.14	108.54	112.01	112.10	
	12.25	92.96	110.68	110.72	112.10	
	38.12	281.17	325.86	333.44	336.94	
	67.05	544.98	644.09	686.68	672.37	2595.18

**TABLAS DE ANADEVIA PARA LOS RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE CONCENTRACIONES POR REGRESION LINEAL MULTIPLE DE LAS FRACCIONES**

**RESULTADOS EN (%) RECUPERADO DE TMP**

		TRIMETOPRIM CONSTANTE A 5 mcg/ml						TABLA 108
		C O N C E N T R A C I O N E S						
		1	2	3	4	5	6	
DIA	1	141.37	97.11	86.15	86.57	86.73	92.38	1806.08
		157.48	90.04	86.53	84.46	89.52	92.89	
		158.88	91.04	86.71	86.11	89.06	93.14	
		467.81	278.20	284.39	259.14	287.33	278.21	
DIA	2	142.80	99.40	100.13	94.85	94.79	101.52	1897.83
		143.80	101.55	95.99	94.85	98.10	101.62	
		138.34	101.98	95.51	94.08	97.02	101.52	
		424.64	302.03	291.93	283.77	289.90	304.65	
		862.46	581.13	556.32	542.91	557.23	582.86	3702.91

		TRIMETOPRIM CONSTANTE A 10 mcg/ml						TABLA 109
		C O N C E N T R A C I O N E S						
		1	2	3	4	5	6	
DIA	1	138.49	105.53	98.54	92.31	92.03	91.04	1898.32
		85.28	105.44	97.08	91.20	91.07	91.13	
		80.79	105.42	96.13	92.46	91.17	90.21	
		284.98	317.38	293.75	275.98	274.27	272.38	
DIA	2	138.31	117.48	100.48	97.90	98.47	95.38	1923.86
		133.84	111.48	101.88	97.34	95.98	95.48	
		142.11	111.57	101.49	97.08	95.89	95.99	
		411.05	340.53	303.63	292.30	286.34	287.83	
		675.92	657.92	597.58	568.27	562.61	560.21	3622.20

		TRIMETOPRIM CONSTANTE A 15 mcg/ml						TABLA 110
		C O N C E N T R A C I O N E S						
		1	2	3	4	5	6	
DIA	1	133.43	112.02	102.89	99.94	94.59	90.27	1896.72
		135.22	112.48	103.63	99.00	94.72	92.99	
		131.59	111.67	103.33	93.77	92.96	92.45	
		400.24	336.14	309.66	292.71	282.27	275.71	
DIA	2	134.79	110.89	101.85	97.35	94.29	92.17	1897.32
		138.05	112.33	101.30	96.58	93.59	91.94	
		133.41	114.97	101.88	95.73	94.29	91.94	
		405.25	338.19	305.02	289.86	282.16	276.04	
		806.46	674.33	614.67	582.38	564.44	551.75	3794.03

## BIBLIOGRAFIA

- 1) DICCIONARIO DE QUIMICA Y PRODUCTOS QUIMICOS; Hawley, G., OMEGA; España, 1978; pp 02, 783, 783.
- 2) PRINCIPIOS DE QUIMICA FARMACEUTICA; Foye, W.O.; REVERTE; España, 1984; pp 272, 580-594, 751, 765, 765.
- 3) GUIA PROFESIONAL DE MEDICAMENTOS; 2a reimpresión de la 1a edición, EL MANUAL MODERNO; México, 1980; pp 113, 188, 189.
- 4) THE MERCK INDEX; MERCK - Co., Inc., Eleventh Edition; Centennial Edition; RAHWAY N.J., U.S.A. 1989; pp 870, 8300, 8626, 8992, 9624.
- 5) ANALYTICAL PROFILES OF DRUG SUBSTANCES "SULPHAMETHOXAZOLE" Rudy, B.C. and Bernard Z. Senkowski; Edited by Florey, K.; Vol. 2; ACADEMIC PRESS; U.S.A., 1973; pp 467-480.
- 6) "SOLUBILITIES AND INTRINSIC DISSOLUTION RATES OF SULPHAMETHOXAZOLE AND TRIMETHOPRIM"; Dahlan, R., et al; JOURNAL OF PHARMACY AND PHARMACOLOGY; 39(6) : 246-251, (1987).
- 7) CLARKE'S ISOLATION AND IDENTIFICATION OF DRUGS; 2a edición; THE PHARMACEUTICAL PRESS; Inglaterra, 1988; pp 227, 228, 988, 989.
- 8) ANALYTICAL PROFILES OF DRUG SUBSTANCES "TRIMETHOPRIM"; Manius, G.J.; Edited by Florey, K; Vol. 7; ACADEMIC PRESS, U.S.A., 1978; pp 445-475.

- 90 FARMACIA; Remington; 2a reimpression, 17a edición; PANAMERICANA; Argentina 1990; Vol. 1; pp 168,169,851; Vol. 2; pp 1512, 1505.
- 100 COMPENDIO DE FARMACOLOGIA; Manuel Litter; EL ATENEO; 4a edición; Argentina 1988; pp 495-69.
- 110 CURSO DE ANALISIS FARMACEUTICO; Connors, K. A., Edición española de la 2a edición inglesa; REVERTÉ; México 1980; pp 105-233, 623-632.
- 120 PHYSICAL PHARMACY; Martin, A., James Swarbrick; and Arthur Cammarata; 3a edición; LEA - FEBIGER; U.S.A. 1983; pp 119,120.
- 130 PHARMACEUTICAL ANALYSIS MODERN METHODS PART B; Drugs and the Pharmaceutical Sciences; Edited by James W. Monson; Vol. 11; MARCEL DEKKER INC., U.S.A. 1984; pp 495-9.
- 140 "APPLICATION OF ABSORBANCY RATIOS TO THE ANALYSIS OF PHARMACEUTICALS I" (Theory of the Analysis of Binary Mixtures); Pernarowski, M., Knevel, A. M., Christian, J.E., JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES; 50: 943-53 (1961).
- 150 "APPLICATION OF ABSORBANCY RATIOS TO THE ANALYSIS OF PHARMACEUTICALS II" (Practical Aspects of the Analysis of Binary Mixtures); Pernarowski, M., Knevel, A. M., Christian, J.E., JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES; 50: 946-53 (1961).
- 160 "APPLICATION OF ABSORBANCY RATIOS TO THE ANALYSIS OF PHARMACEUTICALS III" (Simultaneous Analysis of Aminophylline and Phenobarbital); Yokoyama, F., and Pernarowski, M., JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES; 50: 953-7 (1961).

- 17) "SIMULTANEOUS SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF TRIMETOPRIM AND SULPHAMETHOXAZOLE IN PHARMACEUTICAL PREPARATIONS"; Ghanem, A. - Meshali, M., JOURNAL OF PHARMACEUTICAL PHARMACOLOGY; 31:122-3 (1979).
- 18) "APPLICATION OF ABSORBANCY RATIOS TO THE ANALYSIS OF PHARMACEUTICALS IV"; Parnarowski, M., et al., JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES; 51:998-993 (1962).
- 19) Apuntes del curso "VALIDACION DE METODOS ANALITICOS"; Q.F.B. José Luis Alfredo Mora Guevara; Q.F.B. Alejandro Alcántara Pineda; M. en C. Franciscó Sánchez Ruiz; IPN; 1989.
- 20) "ESTABLECIMIENTO Y VALIDACION DE UN METODO ESPECTROFOTOMETRICO UV PARA DETERMINAR TOLBUTAMIDA EN PLASMA" José Antonio Garduño Rosas; Cuautitlán Izcalli México 1985.
- 21) "THEORY AND PRACTICE OF INDUSTRIAL PHARMACY"; Lachman, L., Lieberman, H.A. and Kanig, J.L., 3a edición, LEA - FEBIGER; U.S.A., 1980; pp 278-82.
- 22) PHARMACEUTICAL ESTATISTICS (Practical and Clinical Applications); DRUGS AND THE PHARMACEUTICAL SCIENCES Bolton Sanford; Vol. 25; MARCEL DEKKER INC., U.S.A. 1984; pp 13, 21, 24, 181-208.
- 23) METODOS ESTADISTICOS; Snedecor, G.W. and Cochran, W.G., CIA, EDITORIAL CONTINENTAL, S.A., México, 1981; pp 195, 211-3.
- 24) TEORIA Y PROBLEMAS DE ESTADISTICA (Serie Schaum); Spiegel, M.R., MC GRAW-HILL; México, 1970; pp 247,295.
- 25) Glen, A. L., JOURNAL OF PHARMACY AND PHARMACOLOGY; 12:598-608 (1960).

- 26) BRITISH PHARMACOPOEIA 1988; Vol. II; pp 728,729,924,925.
- 27) FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS; 5a. edición; México 1988; pp 1489, 1493.
- 28) "STANDARDISATION AND VALIDATION OF ANALYTICAL METHODS IN THE PHARMACEUTICAL INDUSTRY"; Rampazzo, P.; IL FARMACO; 45 (Supplement To N. 6); 807-15; (1990).
- 29) "RESOLUTION OF BINARY MIXTURES BY PARTIAL EXTRACTION AND SPECIALIZED SPECTROPHOTOMETRIC TECHNIQUES"; Pernarowski, M., and V.A. Padual; JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES; 52:218-23 (1963).
- 30) "HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS OF TRIMETHOPRIM AND SULFAMETHOXAZOLE IN DOSAGE FORMS"; Singletary, Jr R.O. and F.D. Sancilio; JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES; 69(2):144-8. (1980).
- 31) THE UNITED STATES PHARMACOPEIA; XXII edición, 1990; pp 1293, 1294.
- 32) "MULTICOMPONENT DERIVATIVE ESPECTROSCOPIC ANALYSIS OF SULFAMETHOXAZOLE AND TRIMETHOPRIM"; Othman, S.; INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS; 63:173-8 (1990).