



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA  
LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN FARMACÉUTICA**

**DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UNA TÉCNICA  
ANALÍTICA EN MICROESCALA PARA LA VALORACIÓN  
POTENCIOMÉTRICA DE DIPIRIDAMOL**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA**

**KARINA SOLIS CRUZ**

**Asesor de tesis: M. en C. Elizabeth G. Sánchez González**

**Director de tesis: M. en C. Vicente J. Hernández Abad**





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 esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

---

---

**EL PRESENTE TRABAJO SE DESARROLLÓ EN EL LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN FARMACÉUTICA DE LA FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA, UNAM. APOYADO CON RECURSOS DEL PROYECTO PAPIME EN215403, “IMPLEMENTACIÓN DE TÉCNICAS EN MICROESCALA EN LA ENSEÑANZA EXPERIMENTAL DE LA QUÍMICA EN LOS LABORATORIOS DE DOCENCIA DE LA FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA”.**

---

---

---

---

## AGRADECIMIENTOS

*Agradezco de forma especial a la M. en C. Elizabeth G. Sánchez González y al M. en C. Vicente J. Hernández Abad por todas sus enseñanzas, confianza y apoyo incondicional para la realización de este trabajo.*

*Agradezco a la Q.F.B. Rocío Ramírez Hernández, a la M. en C. Consuelo Bautista Aragón y al Mtro. José Luis Alfredo Mora Guevara porque sus comentarios enriquecieron mi trabajo.*

*Agradezco a todos aquellos profesores que con sus conocimientos aportados contribuyeron en mi formación como persona y profesionista.*

*Agradezco y dedico este trabajo a mi madre la Sra. Blanca E. Solís Cruz quien ha sido el eje de mi vida, de quien siempre he recibido amor, apoyo, paciencia y comprensión, a quien debo todo lo que tengo y todo lo que soy. Gracias mamá este nuevo logro también es tuyo.*

*Gracias a mi hermano Juan Antonio Solís Cruz y a mi abuelita Betita por todo su cariño y por toda una vida compartida.*

*Agradezco a todos mis amigos, por haber compartido conmigo infinidad de momentos inolvidables. Cada uno de ustedes se quedó en mi corazón.*

*Agradezco a Dios por haberme permitido vivir esta vida maravillosa y por su infinita bondad para conmigo.*

---

---

## ÍNDICE

---

---

CONTENIDO	PÁGINA
1. Introducción .....	1
2. Marco teórico .....	2
2.1 Microescala .....	2
2.2 Validación de métodos analíticos .....	6
2.2.1 Definición de método analítico .....	6
2.2.2 Tipos de procedimientos analíticos a ser validados .....	7
2.2.3 Linealidad .....	10
2.2.3.1 Linealidad del sistema .....	10
2.2.3.2 Linealidad del método .....	11
2.2.4 Exactitud .....	11
2.2.5 Precisión .....	13
2.2.5.1 Precisión del sistema .....	13
2.2.5.2 Precisión del método .....	13
2.2.6 Robustez .....	15
2.3 Valoraciones ácido-básicas en medios no acuosos .....	16
2.3.1 Generalidades .....	16
2.3.2 Disolventes .....	17
2.3.3 Equilibrios en un disolvente no acuoso .....	18
2.3.4 Valorantes .....	19
2.3.5 Detección del punto final .....	20
2.3.6 Electrodo .....	21
2.4 Valoraciones potenciométricas .....	21
2.4.1 Definición .....	21
2.4.2 Detección del punto final .....	25
2.5 Propiedades del Dipiridamol .....	25
2.5.1 Estructura química .....	25
2.5.2 Descripción .....	25
2.5.3 Clasificación farmacológica .....	25
2.5.4 Actividad terapéutica .....	26
2.5.5 Farmacocinética .....	26
2.5.6 Indicaciones, vías de administración y dosis .....	26
2.5.7 Contraindicaciones y precauciones .....	27
2.5.8 Reacciones adversas .....	27
2.5.9 Presentación .....	27
3. Planteamiento del problema .....	28
4. Objetivos .....	29
5. Hipótesis .....	30
6. Diseño experimental .....	31
6.1 Material, reactivos y equipo .....	31
6.2 Método .....	32

---

---

CONTENIDO	PÁGINA
6.2.1 Metodología de la valoración de Dipiridamol “técnica farmacopeica” .....	32
6.2.2 Metodología de la valoración de Dipiridamol a la escala de 25 % .....	32
6.2.3 Metodología de la valoración de Dipiridamol a la escala de 10 %” .....	33
6.2.4 Metodología de la validación .....	33
6.2.4.1 Linealidad del sistema .....	33
6.2.4.2 Precisión del sistema .....	33
6.2.4.3 Linealidad del método .....	34
6.2.4.4 Precisión intermedia .....	34
6.2.4.5 Exactitud y repetibilidad del método .....	34
6.2.4.6 Robustez .....	35
6.2.5 Diseño estadístico .....	35
6.2.6 Diagrama de flujo general .....	38
6.2.7 Diagrama de flujo de la validación .....	39
7. Resultados .....	40
7.1 Resultados del análisis de varianza multifactorial (ANOVA) para determinar el efecto de la concentración sobre el recobro .....	40
7.2 Resultados del análisis de varianza multifactorial (ANOVA) para determinar el efecto de la agitación sobre el recobro .....	42
7.3 Resultados de la validación del método analítico de la valoración potenciométrica de Dipiridamol a la concentración del 100 % .....	43
7.3.1 Linealidad del sistema .....	43
7.3.2 Precisión del sistema .....	45
7.3.3 Linealidad del método .....	46
7.3.4 Precisión intermedia .....	48
7.3.5 Exactitud y repetibilidad del método .....	49
7.3.6 Robustez .....	50
7.4 Resultados de la validación del método analítico de la valoración potenciométrica de Dipiridamol a la concentración del 10 % .....	51
7.4.1 Linealidad del sistema .....	51
7.4.2 Precisión del sistema .....	53
7.4.3 Linealidad del método .....	54
7.4.4 Precisión intermedia .....	56
7.4.5 Exactitud y repetibilidad del método .....	57
7.4.6 Robustez .....	58
8. Análisis de resultados .....	62
9. Conclusiones .....	66
10. Referencias bibliográficas .....	67

## 1. INTRODUCCIÓN

Es común observar que en los métodos analíticos que se encuentran descritos en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM), The United States Pharmacopea (USP), y en algunas otras fuentes, se utilizan reactivos en cantidades elevadas, mismos que en muchas ocasiones son sumamente costosos. Es probable que inicialmente, la economía haya forzado la adopción de los métodos de enseñanza en microescala. En los últimos años la microescala se emplea en numerosos cursos de Química en diferentes Universidades en el mundo no solo por la economía, sino también por su rapidez y conveniencia.

Las técnicas en Microescala se definen como “aquellas técnicas donde se busca la reducción de la cantidad de reactivos químicos utilizados a su mínima expresión, suficiente para que los experimentos puedan ser efectivamente realizados, con un impacto mínimo en el ambiente, a través de la generación de residuos en cantidades mínimas” (esta definición es la aprobada por la International Union of Pure and Applied Chemistry, donde se reconoce a la Microescala como Química en Escala Pequeña).

La implementación de la microescala en los cursos de laboratorio de todos los niveles tiene como objetivo, además de sus múltiples beneficios, formar en el estudiante una conciencia del impacto que la actividad propia de su profesión genera en el ambiente. Así mismo, la química en microescala con manipulaciones apropiadas apunta a la gestión de calidad total, toda vez que se reúne en ella eficacia (cumplimiento de los objetivos) y eficiencia (uso racional de los recursos).

En este trabajo se desarrolló y validó una técnica analítica en microescala que es precisa, eficiente y eficaz para la valoración potenciométrica de Dipiridamol que permite, disminuir la cantidad de muestra, reactivos químicos, tiempo, esfuerzo, costos generales y específicos, riesgos para el operador y medio ambiente, generados al realizar la técnica en la escala convencional de trabajo.

---

---

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 MICROESCALA

El desarrollo de todas las operaciones de un laboratorio químico va unido al manejo de materiales en porciones de considerable peso y volumen; solo en las últimas décadas se ha planteado el trabajo en pequeña escala, a la que se le denominó microescala.

La reducción de la llamada “escala de trabajo” tuvo un gran éxito en los años cincuenta y sesenta, y supuso una revolución técnica notable. Originalmente, la química en microescala fue introducida en los laboratorios de química orgánica en el colegio Bowdoin, más tarde su expansión fue general abarcando la química orgánica, analítica y la química ambiental.

El Centro Nacional de Química en microescala en Estados Unidos fue establecido en el colegio Merrimack en 1992-1993, es el primer centro en proponer formalmente la química en microescala adiestrando a maestros y químicos en todos los niveles, desde la escuela primaria hasta la universidad. La química en microescala ha experimentado un rápido crecimiento en los Estados Unidos y alrededor del mundo. En la actualidad ya se aplica en muchos países técnicas en microescala en cursos de laboratorio de química desde el nivel de bachillerato y hasta el de posgrado.<sup>1,2</sup>

La nomenclatura de la “pequeña escala” es un poco imprecisa, pues el termino micro se ha usado para un amplio rango de medidas. Inicialmente se proponían experimentos que requerían una cantidad de reactivos en una escala de 50 a 100 gramos de sólido y de 500 a 2000 mililitros para líquidos. Posteriormente, se redujo la escala usual a alrededor de 10 gramos, y la tendencia a disminuir la escala continuó hasta llegar a lo que actualmente se conoce como microescala, en donde la cantidad de reactivos empleada es menor de 1 gramo o 2 mililitros, preferentemente de 25 a 150 miligramos para sólidos y de 100 a 1000 microlitros para líquidos.

---

---

Es necesario tener en cuenta que, en muchos grupos académicos y profesionales, se ha puesto en tela de juicio a la microescala, toda vez que es común escuchar que es difícil llegar a reproducir los experimentos realizados con estas técnicas y que su trazabilidad es dudosa, conjuntamente con su alta incertidumbre; sin embargo, se ha señalado que en estas pequeñas cantidades hay todavía un número suficiente de moléculas presentes para poder establecer una relación reproducible, y que solo en muestras tan reducidas como  $10^{-16}$  gramos o menores, el equilibrio químico está sujeto a variación, al variar la masa absoluta del sistema. Así, la química permanece inalterable en la escala micro, y la única cuestión es que las técnicas de manipulación sean apropiadas a esta escala.

Es indispensable hacer mención que, gracias a la factibilidad de obtener instrumentos de alta precisión, y a través de la validación estadística de los resultados obtenidos en el laboratorio, es posible asegurar que los resultados obtenidos con microescala son tan válidos como los que se generan por técnicas convencionales.

En la figura 1, se muestran de forma general los objetivos de la microescala en el área de química analítica. Tal como puede observarse, se clasifican en tres tipos: genéricos (A), básicos (B) y específicos (C). Entre ellos existe una jerarquía de importancia y extensión:  $A > B > C$ , es decir, un objetivo específico se enmarca en uno básico que contribuye a alcanzar el general.<sup>3</sup>

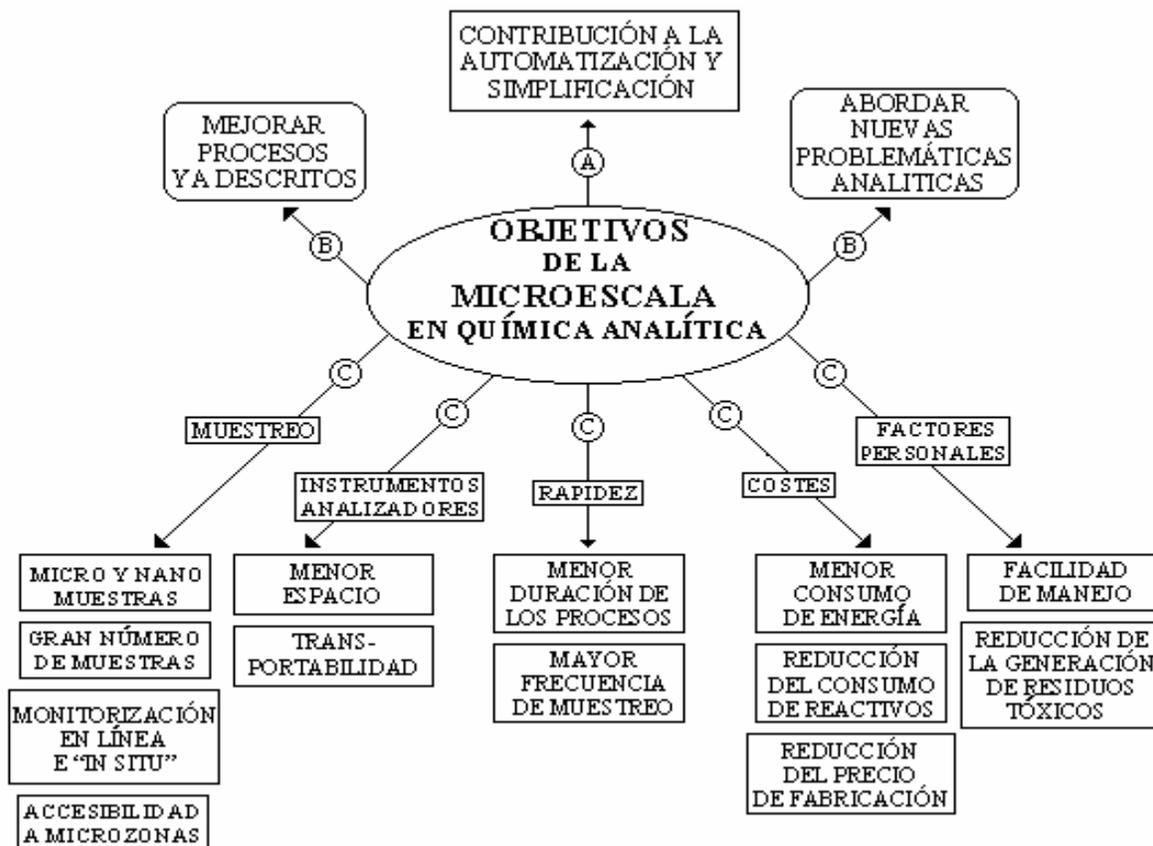


Figura I. Objetivos genéricos (A), básicos (B) y específicos (C) que pueden alcanzarse con el empleo de herramientas y procesos analíticos en microescala.

La implementación de técnicas de microescala en la enseñanza experimental de la química tiene probadas ventajas:

- La química en microescala reduce notablemente la cantidad de reactivos químicos utilizados en el laboratorio.
- A causa de las pequeñas cantidades de químicos utilizados, el tiempo requerido para manipular y completar un experimento es considerablemente reducido.
- La generación de desechos químicos es drásticamente reducida, contribuyendo significativamente a la preservación del medio ambiente.

- d) Los accidentes relacionados con fuego o explosión provocados por reactivos químicos son marcadamente reducidos. Si estos accidentes ocurren, serán necesariamente menos graves.
- e) La calidad del aire en el laboratorio es mejorada al trabajar con pequeñas cantidades de compuestos volátiles, además, es menor el deterioro de la salud provocado por la emanación de vapores tóxicos.
- f) Se requieren espacios más pequeños para el almacenamiento de sustancias químicas y materiales de laboratorio, (se disminuyen los riesgos de almacenamiento y se optimizan los espacios para la docencia).<sup>4</sup>

De los inconvenientes de la Microescala en la práctica de la Química se puede anotar:

- a) La necesidad de adquisición de material de vidrio especial y de equipos de medición más precisos, así como de reactivos más puros. Este inconveniente es salvable conforme disminuye el gasto en reactivos, que a corto plazo amortigua la inversión inicial en equipo especializado.
  - b) La dificultad en la observación de ciertos fenómenos, como por ejemplo la liberación de calor en algunas reacciones. En este caso, la Microescala se auxilia entonces de técnicas instrumentales de vanguardia, como el análisis térmico diferencial, donde se usan muestras del orden de 5 miligramos, o la Cromatografía de Alta Resolución (de líquidos o de gases) donde pueden analizarse trazas de los compuestos de interés.
  - c) La imposibilidad de aplicar óptimamente algunas técnicas como sería el caso, por ejemplo, de la destilación fraccionada.
  - d) Un incremento en el riesgo de contaminación del producto y de obtener menores rendimientos debido a pérdidas mecánicas. Por esta razón, resulta indispensable fomentar la destreza del alumno en el manejo de los materiales y trabajar, donde sea posible, con reactivos de alta pureza.
- 
-

## 2.2 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

### 2.2.1 Definición de método analítico

Un método analítico se define como la descripción de la secuencia de actividades, recursos materiales y parámetros que se deben cumplir, para llevar a cabo el análisis de un componente específico de la muestra. Un analito se define como un componente específico en una muestra a medir en un análisis, por lo que un método analítico mide un componente específico (analito) en una muestra y como todo proceso de medición, éste debe ser confiable para ser utilizado con un propósito definido. La validación de métodos analíticos es el proceso por el cual se demuestra, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada; es decir, cumple con su propósito.<sup>5</sup>

La validación de métodos analíticos puede ser justificada por los siguientes aspectos:

Moral y ética. El profesional farmacéutico es el responsable de los procesos farmacéuticos y por lo tanto de la calidad de estos. Todo producto farmacéutico (materias primas, producto intermedio, producto a granel y producto terminado) debe satisfacer requisitos y para ello se utilizan métodos para medir componentes específicos en el producto, lo cual es llevado a cabo con métodos analíticos.

Aseguramiento de calidad. Los métodos analíticos están definidos como un sistema crítico en el aseguramiento de la calidad en una empresa farmacéutica, ya que impactan de manera directa en la calidad de un producto.

Económica. La carrera de muchas empresas por alcanzar una productividad elevada a costos menores, está determinada, entre otros factores, al dictamen del producto en menor tiempo, utilizando métodos de prueba de menor costo, mantenimiento o tiempo de análisis, entre otros.

Regulatoria. La validación de métodos analíticos esta justificada con base en las siguientes referencias:

Artículo 15 del Reglamento de Insumos para la Salud. Publicado en el Diario Oficial el 4 de Febrero de 1998 referente a los establecimientos que se destinen a la fabricación de insumos (medicamentos, fármacos, materias primas y aditivos).

Numerales 5.6, 5.6.3, 5.7, 5.7.4, 9.11.3 y 9.12.3 de la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA-1993. Buenas Practicas de Fabricación para establecimientos de la industria químico farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos.

Numerales 16.1 y 16.1.5 de la Norma Oficial Mexicana NOM-164-SSA1-1998, Buenas Practicas de Fabricación para fármacos.

Numerales 5.5, 5.10.2, 5.10.2.3 y 6 de la Norma Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-1993, Estabilidad de medicamentos.<sup>5</sup>

### **2.2.2 Tipos de procedimientos analíticos a ser validados**

La discusión de la validación de procedimientos analíticos está dirigida a los cuatro tipos más comunes de procedimientos analíticos:

- a) Pruebas de identificación.
- b) Pruebas cuantitativas para el contenido de impurezas.
- c) Pruebas límite para el control de impurezas.
- d) Pruebas cuantitativas del activo en muestras de la sustancia o del producto terminado, o de otros componentes seleccionados en el producto.

Las pruebas de identificación están diseñadas para asegurar la identidad de un analito en una muestra. Esto se logra normalmente mediante la comparación de una propiedad de la muestra (por ejemplo, espectro, comportamiento cromatográfico, reactividad química, etc.) con la de un estándar.

El análisis de impurezas puede ser, ya sea una prueba cuantitativa o una prueba límite para la impureza en una muestra. Cualquiera que sea, se pretende reflejar con exactitud las características de pureza de la muestra. Se requieren diferentes características de validación para una prueba cuantitativa, que para una prueba límite.

Los procedimientos de ensayo pretenden medir el analito presente en una muestra dada. En este contexto, el ensayo representa una medición cuantitativa del o de los componentes principales en la sustancia. Para el producto final, se aplican características de validación similares cuando se trata del activo que para otros componentes relacionados. Las mismas características de validación pueden también aplicarse a los ensayos asociados con otros procedimientos analíticos (por ejemplo, disolución).

En la tabla 1 se enlistan los parámetros de desempeño que son considerados típicos para una validación pero no son los únicos, existe una gran variedad de parámetros de desempeño. Por lo tanto se sugiere que antes de validar cualquier método analítico debe plantearse primero la aplicación y el objetivo que persigue el método y, en base a estos criterios, seleccionar que parámetros deben ser validados.<sup>6</sup>

MARCO TEÓRICO

Tabla I. Procedimientos analíticos a ser validados y parámetros de desempeño evaluados

TIPO DE PROCEDIMIENTO ANALÍTICO	IDENTIFICACIÓN	PRUEBAS DE IMPUREZAS		ENSAYO -DISOLUCIÓN (MEDICIÓN ÚNICA) -CONTENIDO/POTENCIA
		CONTENIDO	LÍMITE	
PARÁMETROS DE DESMPENÑO				
EXACTITUD	-	+	-	+
PRECISIÓN				
REPETIBILIDAD	-	+	-	+
PRECISIÓN INTERMEDIA	-	+(1)	-	+(1)
ESPECIFICIDAD (2)	+	+	+	+
LÍMITE DE DETECCIÓN	-	-(3)	+	-
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	-	+	-	-
LINEALIDAD	-	+	-	+
RANGO	-	+	-	+

(-) Parámetros de desempeño no evaluados

(+) Parámetros de desempeño evaluados

(1) En casos donde la reproducibilidad puede realizarse perfectamente, la precisión intermedia no es necesaria

(2) La especificidad de un procedimiento analítico puede ser reemplazada por otro procedimiento analítico de soporte

(3) Puede ser necesaria en algunos casos

Los métodos analíticos que se encuentran ya establecidos en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM), The United States Pharmacopea (USP), o de algunas otras fuentes deben ser adecuadamente validados, debido a que sí se somete el método a nuevas condiciones (reactivos, instrumentos, etc.), pueden alterarse los resultados y características que ya se tenían.

Para estos métodos analíticos la validación general incluye una evaluación de la linealidad, exactitud, precisión y especificidad.

### 2.2.3 Linealidad

La linealidad es la habilidad para asegurar que los resultados obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática definida, son proporcionales a la concentración del analito, dentro de un intervalo determinado.

La linealidad debe determinarse tanto del método como del sistema, entendiéndose la primera como aquella que se refiere a todo el procedimiento y la segunda como aquella que considera solamente la manipulación del error atribuible al sistema operativo en sí, y no al error debido a la manipulación de la muestra.

#### 2.2.3.1 Linealidad del sistema.

Este parámetro se caracteriza por estudiar la relación concentración contra respuesta analítica en un intervalo apropiado de concentración “únicamente del analito” sin incluir otros componentes de la muestra.

Determinación: se preparan por lo menos por triplicado 5 niveles de concentración (intervalo) de la solución de referencia ya sea por dilución (a partir de una misma solución concentrada) o por pesadas independientes (cuando no sea posible prepararlas por dilución). La concentración central debe ser igual a la concentración que represente el 100% en la muestra. El intervalo debe incluir la especificación dependiendo del método.

Criterios de aceptación:  $r \geq 0.99$

$$r^2 \geq 0.98$$

$IC(\beta_1)$ , no debe incluir el cero

$r$  = coeficiente de correlación.

$r^2$  = coeficiente de determinación.

$IC(\beta_1)$  = intervalo de confianza para la pendiente.

---

---

### 2.2.3.2 Linealidad del método.

La linealidad de un método es la relación que se establece mediante una recta entre la propiedad medible y el valor real de dicha propiedad.

El método analítico debe ser lineal, ya que de esta forma se medirá sin error la cantidad del analito presente en una muestra no solamente en una cantidad constante, sino también en una cantidad variable.

Determinación: se preparan placebos analíticos con el tipo de componentes que generalmente están presentes en la muestra. A la cantidad de placebo analítico se adicionan cantidades conocidas de la muestra que incluyan la concentración del 100% de la muestra y al menos dos niveles, superior e inferior de concentración, realizando el análisis de cada nivel por lo menos por triplicado.<sup>5-9</sup>

Criterios de aceptación:  $r \geq 0.99$

$$r^2 \geq 0.98$$

El  $IC(\beta_1)$  debe incluir la unidad

El  $IC(\beta_0)$  debe incluir el cero

El  $CV_{y/x}$  del porcentaje de recobro debe cumplir con lo especificado en la tabla II

$CV_{y/x}$  = coeficiente de variación de regresión.

$IC(\beta_1)$  = intervalo de confianza para la pendiente.

$IC(\beta_0)$  = intervalo de confianza para la ordenada al origen.

### 2.2.4 Exactitud

La exactitud de un método analítico es la concordancia entre el valor obtenido experimentalmente empleando el método y el valor de referencia.

---

---

Existen factores intrínsecos que influyen en la respuesta analítica de un método. Entre estos factores se encuentran los factores instrumentales (instrumentos mal calibrados, etc.), factores del método (asociados principalmente a aspectos del diseño del método como el uso de indicadores no adecuados, temperaturas inadecuadas, etc.) y factores operativos (asociados principalmente a la experiencia del analista). La concordancia de estos dos valores dependerá del error “in situ” del método analítico empleado.

La exactitud se expresa con frecuencia como el porcentaje de recobro por medio del ensayo de cantidades adicionadas conocidas del analito.

La exactitud debe establecerse a lo largo del rango especificado del procedimiento analítico.

Determinación: la exactitud se evalúa analizando un mínimo de 9 determinaciones en un mínimo de 3 niveles de concentración que cubran el rango especificado (por ejemplo, 3 replicas en cada una de las tres concentraciones del procedimiento analítico total).

Criterios de aceptación: el intervalo de confianza para la media poblacional ( $IC(\mu)$ ) debe incluir el 100 % o que el promedio aritmético del % de recobro se incluya en el intervalo.

Debe cumplir en cuanto al % de recobro y CV con lo especificado en la siguiente tabla.<sup>5-9</sup>

Tabla II. Valores para el criterio de aceptación de los diferentes métodos analíticos.

METODO	PORCENTAJE DE RECOBRO	CV
Cromatográficos	98-102%	$\leq 2\%$
Volumétricos	98-102%	$\leq 2\%$
Químicos y espectrofotométricos	97-103%	$\leq 3\%$
Microbiológicos	95-105%	$\leq 5\%$

### **2.2.5 Precisión**

La precisión se define como el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea del producto o de una referencia. La precisión debe determinarse tanto del método como del sistema.

#### **2.2.5.1 Precisión del sistema**

Determinación de la precisión del sistema: se evalúa analizando por lo menos un sextuplicado de soluciones a la concentración que representa el 100% de la muestra, preparadas por dilución o por pesadas independientes. La respuesta analítica se mide bajo las mismas condiciones.

Criterios de aceptación:  $CV \leq 1.5\%$  para métodos físico-químicos.

$CV \leq 3\%$  para métodos biológicos.

#### **2.2.5.2 Precisión del método**

La precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre resultados de pruebas individuales cuando el procedimiento se aplica de manera repetida a muestras múltiples de una muestra homogénea.

La precisión de un método analítico se expresa generalmente como la desviación estándar relativa (DER) ó coeficiente de variación (CV).

La precisión puede ser una medida del grado de reproducibilidad o de repetibilidad del método analítico bajo condiciones normales de operación.

---

---

1. Reproducibilidad. Se refiere al uso del procedimiento analítico en diferentes laboratorios.

Determinación de la reproducibilidad: se evalúa mediante un estudio interlaboratorio, con 3 replicas en el 100% de la concentración de la prueba, bajo diferentes condiciones (días, analistas, laboratorios, etc.)

Criterios de aceptación: el coeficiente de variación (CV) debe ser menor que el criterio establecido previamente para el método particular (tabla II).

2. Repetibilidad. Se refiere al uso del procedimiento analítico dentro del laboratorio en un periodo corto de tiempo utilizando el mismo analista, con el mismo equipo.

Determinación de la repetibilidad: debe evaluarse utilizando un mínimo de 9 determinaciones que cubran el rango especificado para el procedimiento (por ejemplo, 3 replicas de cada una de 3 concentraciones), ó un mínimo de seis determinaciones en el 100% de la concentración de la prueba.

Criterios de aceptación: el coeficiente de variación (CV) debe ser menor que el criterio establecido previamente para el método particular (tabla II).

3. Precisión intermedia. Expresa la variación dentro del laboratorio, en diferentes días o con diferentes analistas o equipo dentro del mismo laboratorio.<sup>5-9</sup>

Criterios de aceptación: el coeficiente de variación (CV) debe ser menor que el criterio establecido previamente para el método particular (tabla II).

---

---

### 2.2.6 Robustez

La robustez de un método analítico es el grado de reproducibilidad de los resultados de la prueba, obtenidos mediante el análisis de las mismas muestras bajo diversas condiciones, tales como diferentes laboratorios, diferentes analistas, diferentes instrumentos, diferentes lotes de reactivos, diferentes tiempos de ensayo, diferentes temperaturas, diferentes días, etc.

Determinación: en cada condición de operación distinta; así como a la condición normal, analizar la misma muestra por lo menos por triplicado. Reportar el contenido/potencia/valoración del analito para las muestras de condición normal de operación y para la(s) muestra(s) de la otra(s) condición(es) de operación, expresada(s) como %.

Calcular la media aritmética de la condición normal de operación ( $y_0$ ) y de cada condición de operación diferente a la condición normal ( $y_i$ ).

Calcular la diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición respecto a la condición normal ( $ldil$ ).<sup>5-9</sup>

Criterios de aceptación:  $ldil \leq 2\%$  para métodos cromatográficos y volumétricos.

$ldil \leq 3\%$  para métodos químicos y espectrofotométricos.

$ldil \leq 5\%$  para métodos biológicos.

## 2.3 VALORACIONES ÁCIDO-BASE EN MEDIOS NO ACUOSOS

### 2.3.1 Generalidades

La neutralización de compuestos orgánicos es una reacción rápida y cuantitativa; por eso muchos procedimientos de determinación de sustancias orgánicas se basan en neutralizaciones. Puede tratarse de una valoración directa en la cual el compuesto orgánico ácido o básico se valora con un patrón básico o ácido, respectivamente. También puede ser una valoración indirecta en la cual el producto formado o el reactivo consumido tiene propiedades ácidas o básicas.

Algunos de los compuestos ácidos valorables son los ácidos alifáticos carboxílicos, ácidos aromáticos carboxílicos, fenoles, enoles, imidas, entre otros. Las aminas alifáticas y aromáticas, alcóxidos, hidróxidos de amonio cuaternario y poliamidas, son algunos de los ejemplos de compuestos básicos valorables.

El éxito de la valoración, sobre todo para ácidos y bases débiles, dependerá de la elección del disolvente adecuado.

Pero ¿por qué debe cambiarse el agua, un disolvente muy común y en el cual los conceptos de disociación y equilibrio pueden comprenderse claramente, por otros disolventes no acuosos, caros, tóxicos y de olor desagradable?, Hay tres razones:

- 1) Muchos compuestos orgánicos son insolubles en agua.
  - 2) Los ácidos y las bases de  $k_a$  o  $k_b$  inferiores a  $10^{-7}$  no pueden valorarse cuantitativamente en agua.
  - 3) El ácido y la base más fuertes que pueden existir en el agua son, respectivamente, los iones hidronio e hidroxilo.<sup>10</sup>
- 
-

### 2.3.2 Disolventes

El análisis en un disolvente no acuoso está controlado por la fuerza del ácido o la base en dicho disolvente, por las propiedades ácido-básicas de este y por su constante dieléctrica.

Un modo de clasificar los disolventes es denominar anfipróticos a los que tienen propiedades ácido-básicas y apróticos (inertes) a los que no los tienen. Los anfipróticos, a su vez, se dividen en dos grupos: aquellos que tienen marcadas propiedades ácidas (protogénicos) y los que tienen marcadas propiedades básicas (protofilicos). No obstante, los disolventes pertenecientes a estos dos grupos mostrarán ligeras propiedades básicas o ácidas, respectivamente.

La elección del disolvente en este tipo de valoraciones es muy importante, en la tabla III se muestran algunos ejemplos de los disolventes utilizados con más frecuencia.

Tabla III. Disolventes para valoraciones ácido-básicas

Disolvente <sup>a</sup>	Constante dieléctrica	Disolvente <sup>a</sup>	Constante dieléctrica
<b>Anfipróticos , anfóteros</b>		<b>Apróticos (inertes)</b>	
Etilenglicol	24.3	Acetonitrilo	36.0
Metanol (16.7)	32.6	Acetona l	20.7
Etanol (19.1)	24.3	Metilisobutilcetona	13.1
Isopropanol	18.3	Piridina	12.5
<i>t</i> -Butanol		Dimetilformamida	27.0
Agua (14.0)	78.5	Nitrometano	35.9
<b>Anfipróticos, protogénicos</b>		Anhídrido acético	20.7
Ácido acético (14.45)	6.13	Dioxano	2.21
Ácido fórmico (6.2)	58.5	Nitrobenceno	39.0
<b>Anfipróticos, protofilicos</b>		Benceno	2.3
Amoniac	22.0 (-33°)	Cloroformo	4.8
Butilamina	5.3		
Etilendiamina	12.9		

<sup>a</sup> Los números entre paréntesis son las constantes de autoprotólisis

Los disolventes que tienen propiedades básicas, entre otros la piridina, éteres, cetonas y ésteres, han sido colocados en el grupo de los apróticos debido a que no muestran propiedades ácidas, o al menos ellas no son detectables en condiciones normales. Lo contrario ocurre con el nitrometano, el nitroetano y el metilsulfóxido, ya que presentan ligeras propiedades ácidas pero no básicas. Las propiedades ácidas y básicas de estos disolventes son respectivamente mucho menores que las de los disolventes protogénicos y protofílicos.<sup>10</sup>

### 2.3.3 Equilibrios en un disolvente no acuoso

Es muy importante el hecho de que un disolvente tenga propiedades ácido-básicas o no las tenga. En un disolvente aprótico, como el benceno o el tetracloruro de carbono, no se disocia el soluto o solo se disocia una parte. Por eso las propiedades ácidas o básicas del soluto se manifiestan al añadir una base o un ácido, respectivamente.

Si el disolvente tiene propiedades básicas, al añadir un soluto ácido se producirá el siguiente equilibrio:



Donde HA es el ácido, SH el disolvente básico y  $\text{SH}_2^+$  el protón solvatado. Al aumentar la basicidad del disolvente también aumentará el grado de disociación del ácido.

De manera similar, se produce el equilibrio si el disolvente tiene propiedades ácidas y se añade un soluto básico.



Donde B es una base, SH es ahora un disolvente con propiedades ácidas,  $\text{S}^-$  es el anion del disolvente (ion liato) y  $\text{BH}^+$  el ácido conjugado de la base B. Al aumentar la acidez del disolvente, también aumentara la disociación de la base.

---



---

Si el disolvente tiene propiedades ácidas y básicas, el ácido y la base más fuertes que pueden existir en él son, respectivamente,  $\text{SH}^+$  y  $\text{S}^-$ , y la constante de autoprotólisis es una medida de este equilibrio.



Los razonamientos anteriores en una valoración en medio no acuoso, en la práctica fundamentan la elección del disolvente adecuado y en teoría aportan una base firme para comprender las reacciones químicas que ocurren en el disolvente.

Los razonamientos anteriores se aplican a las valoraciones en medio no acuoso para realizar una elección adecuada del disolvente.<sup>10</sup>

#### 2.3.4 Valorantes

En las valoraciones no acuosas se utilizan muchos valorantes disueltos en una gran variedad de disolventes. Generalmente se emplean ácidos o bases fuertes a fin de obtener una curva de valoración bien definida. Si el disolvente que se emplea para el valorante no es el mismo que el de la muestra, se originará un disolvente mixto durante la valoración. Por regla general, la mezcla tendrá el efecto nivelador del disolvente más nivelador (cuanto mayor sea la acidez o basicidad del disolvente, tanto mayor será el efecto nivelador que se ejerza sobre las bases o ácidos) y, en consecuencia, se reducirá el poder de diferenciación; por lo tanto, es más provechoso emplear el mismo disolvente para el valorante y para la muestra.

a) Valorantes ácidos. El ácido perclórico ( $\text{HClO}_4$ ) es el que se emplea más de los ácidos corrientes, por lo general se disuelve en dioxano o en ácido acético.

El  $\text{HClO}_4$  es el de mayor fuerza y esto hace que sea el ácido más utilizado. Solo hay otros de fuerza parecida: el ácido fluorosulfónico, el trifluorometilsulfónico, el 2,4-dinitrobenzenosulfónico y el 2,4,6-trinitrobenzenosulfónico. Los dos últimos son asequibles y se les utiliza muy a menudo.

b) Valorantes básicos. Los más utilizados son las bases de amonio cuaternario disueltas en metanol, etanol, isopropanol o una mezcla de benceno y uno de estos alcoholes.<sup>10</sup>

### **2.3.5 Detección del punto final**

a) Indicadores coloridos. Un método muy útil para detectar el punto final es el empleo de indicadores ácido-básicos que cambian de color. Al igual que en medio acuoso, se elige el indicador cuyo viraje esté cercano al punto estequiométrico. Los indicadores pueden clasificarse según el potencial en el que cambien de color. Si se los conoce puede elegirse el indicador más adecuado.

b) Otros métodos de detección del punto final. En valoraciones no acuosas, la potenciometría se emplea con la misma frecuencia que los indicadores coloreados. El método tiene la ventaja de proporcionar un registro permanente de la curva de valoración, lo cual permite detectar comportamientos anómalos al observar la curva a simple vista. La respuesta es, casi siempre, rápida y el método puede automatizarse. Los puntos finales en valoraciones no acuosas pueden detectarse por conductimetría, espectrofotometría, termometría y amperometría.<sup>10,11</sup>

### 2.3.6 Electrodo

Las curvas de titulación potenciométrica se pueden efectuar también en la misma forma que para las soluciones acuosas, pero los electrodos se seleccionan de acuerdo con el disolvente que se emplee y la escala está en función de la constante de autoprotólisis.

a) Electrodo indicadores. El electrodo de vidrio es el más empleado, pues proporciona resultados satisfactorios tanto para ácidos como para bases en una gran variedad de disolventes. Cuando el electrodo de vidrio se sumerge en disolventes no acuosos de carácter muy básico se obtienen errores muy grandes porque es necesario que existan moléculas de agua entre las superficies de la membrana de vidrio, las cuales son extraídas por la acción deshidratante del disolvente. Para estos casos se emplea otro tipo de indicadores. Varios autores han propuesto el uso de electrodos metálicos, como oro, platino, platino polarizado (el cual tiene la desventaja de que se debe polarizar antes de cada titulación para obtener resultados reproducibles), níquel, cobre, óxido de antimonio, acero inoxidable, etc.

b) Electrodo de referencia. El electrodo de calomel con solución saturada de cloruro de potasio se puede usar cuando el disolvente tiene constantes dieléctricas relativamente altas. Otro electrodo de referencia que se ha empleado para este tipo de titulaciones es el de plata-cloruro de plata con un puente salino de solución saturada de cloruro de potasio en dimetil sulfóxido.<sup>11</sup>

## 2.4 VALORACIONES POTENCIOMÉTRICAS

### 2.4.1 Definición

Una valoración potenciométrica es una valoración basada en medidas de potencial de un electrodo indicador adecuado en función del volumen del valorante adicionado.

---

---

Las valoraciones potenciométricas proporcionan resultados más fiables que cuando se usan indicadores químicos. Resultan particularmente útiles en el caso de disoluciones coloreadas o turbias, y para detectar la presencia de especies insospechadas. Tienen el inconveniente de ser menos rápidas que las que utilizan indicadores. Por otra parte son fácilmente automatizadas.

La figura II ilustra un aparato típico para hacer una valoración potenciométrica manual. Para llevarla a cabo hay que medir y representar el potencial de la célula (en unidades de milivoltios o pH, según convenga) después de cada adición de reactivo. Al principio, el valorante se añade en incrementos grandes, y luego en incrementos cada vez menores a medida que se acerca el punto final (como indican los mayores cambios de la respuesta por unidad de volumen).<sup>12</sup>

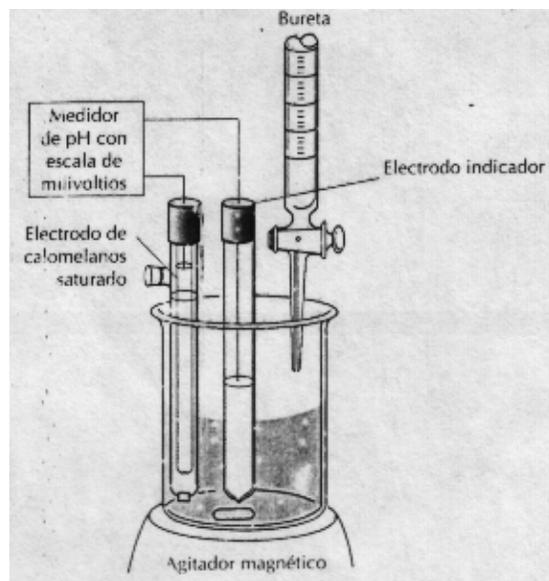


Figura II. Aparato para realizar una valoración potenciométrica.

---

---

### 2.4.2 Detección del punto final

Se pueden usar varios procedimientos para determinar el punto final de una valoración potenciométrica. El más sencillo es el registro directo del potencial en función del volumen de reactivo, como se muestra en la figura IIIa ; se estima visualmente el punto medio del tramo de subida rápida de la curva, y se le toma como punto final. Se han propuesto varios métodos gráficos para ayudar a establecer el punto medio, pero es dudoso que estos procedimientos mejoren significativamente su determinación.

Un segundo procedimiento para la determinación de punto final es calcular el cambio de potencial por unidad de volumen de valorante (esto es,  $\Delta E/\Delta V$ ). Una representación de estos datos en función del volumen medio  $V$ , da origen a una curva con un máximo que corresponde al punto de inflexión (figura IIIb). Otra manera de hacerlo es ir evaluando esta relación durante la valoración y representarla en lugar del potencial.

La figura IIIc muestra que la segunda derivada de los datos cambia de signo en el punto de inflexión. Este cambio se utiliza como señal analítica en algunos valoradores automáticos.

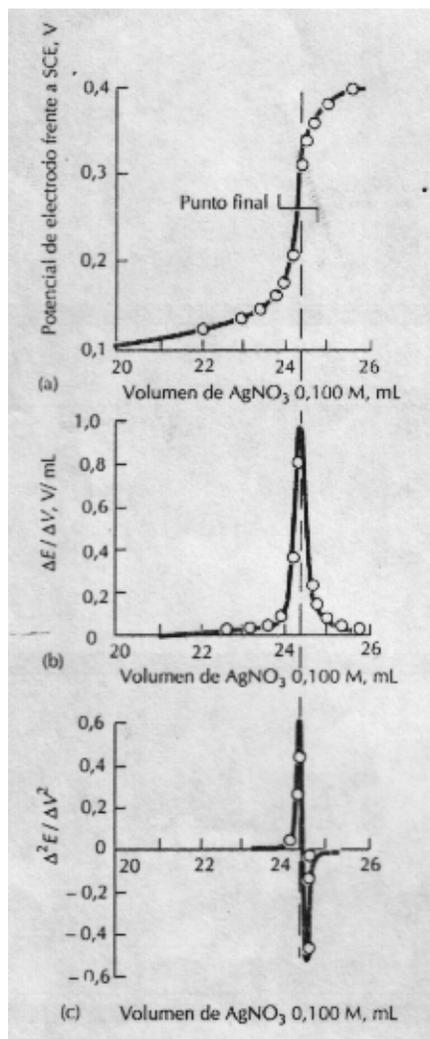


Figura III. Ejemplo de una valoración de 2.433 mmoles de ion cloruro con nitrato de plata 0,1000 M.  
 (a) curva de valoración. (b) curva de la primera derivada. (c) curva de la segunda derivada.

Todos los métodos anteriores de evaluación del punto final suponen que la curva de valoración es simétrica en torno al punto de equivalencia, y que la inflexión de la curva corresponde a este punto. Esta suposición es perfectamente valida siempre que las especies que intervienen en la valoración reaccionen entre si en relación equimolar y también que la reacción de electrodo sea perfectamente reversible.<sup>12</sup>

## 2.5 PROPIEDADES DEL DIPIRIDAMOL

### 2.5.1 Estructura química

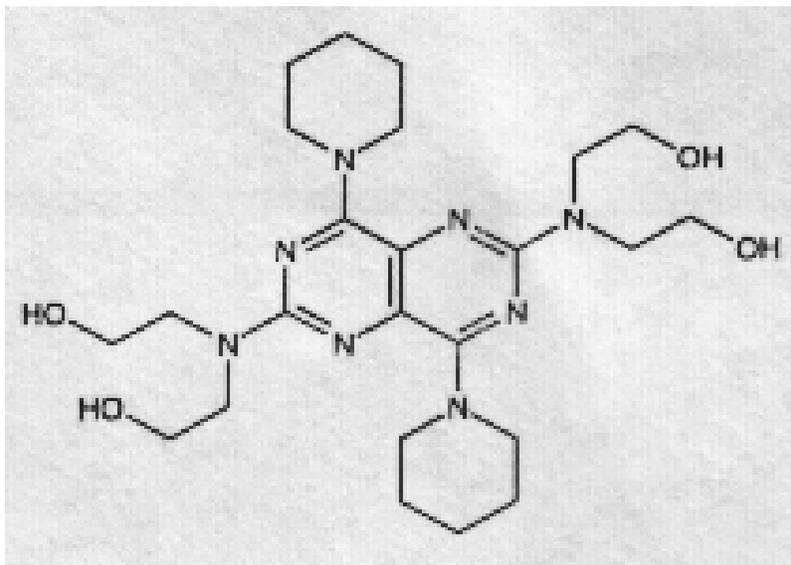


Figura IV. Estructura química del Dipiridamol

### 2.5.2 Descripción

Polvo o agujas cristalinas de color amarillo intenso, con punto de fusión de 163°. Ligeramente soluble en agua; muy soluble en metanol, etanol y cloroformo; ligeramente soluble en acetona, benceno y acetato de etilo. Sus soluciones son amarillas y muestran fuerte fluorescencia azul-amarilla.<sup>13,16</sup>

### 2.5.3 Clasificación farmacológica

El Dipiridamol es un análogo de la pirimidina.<sup>14,15</sup>

---

---

#### **2.5.4 Actividad terapéutica**

El Dipyridamol es un vasodilatador coronario, inhibidor de la agregación plaquetaria. Aumenta el flujo sanguíneo coronario mediante dilatación selectiva de las arterias coronarias. El efecto vasodilatador coronario sigue a la inhibición de la adenosina desaminasa del suero, que permite acumulación de adenosina, un vasodilatador potente. El dipyridamol inhibe la adhesividad plaquetaria aumentando los efectos de la prostaciclina o inhibiendo la fosfodiesterasa.<sup>14,15</sup>

#### **2.5.5 Farmacocinética**

- **Absorción:** La absorción es variable y lenta; la biodisponibilidad varía de 27 a 59%. Después de la administración oral, las concentraciones séricas máximas de Dipyridamol llegan a su máximo en 2 a 2 ½ horas.
- **Distribución:** Los estudios en animales indican una amplia distribución en los tejidos del cuerpo; cantidades pequeñas cruzan la placenta. Su unión a proteínas varía de 91 a 97%.
- **Metabolismo:** El Dipyridamol se metaboliza en el hígado.
- **Excreción:** La eliminación ocurre a través de la excreción biliar de glucorónidos conjugados. Parte del Dipyridamol y de los conjugados pueden someterse a la circulación enterohepática y a la excreción fecal; muy poco se excreta en la orina. Su vida media es de 1 a 12 horas.<sup>14,15</sup>

#### **2.5.6 Indicaciones, vías de administración y dosis**

Angina de pecho crónica

Adultos: 50 mg por vía oral, tres veces al día al menos una hora antes de las comidas, hasta un máximo de 400 mg diarios. Para obtener respuesta clínica se necesitaran de 2 a 3 meses de tratamiento.

---

---

Inhibición de la adhesividad plaquetaria en pacientes con prótesis de válvulas cardiacas, en combinación con warfarina o aspirina

Adultos: 100 a 400 mg por vía oral.

Como alternativa para ejercer en la imagen de la perfusión miocárdica con talio

Adultos: 0.142 mg/kg/minuto infundidos durante cuatro minutos (0.57 mg/kg en total).<sup>14,15</sup>

### **2.5.7 Contraindicaciones y precauciones**

El medicamento es ineficaz en la angina aguda, no se debe sustituir por otro tratamiento apropiado como la nitroglicerina.

El Dipiridamol esta contraindicado en pacientes con hipersensibilidad conocida al fármaco.

Usar el medicamento con precaución en personas con hipotensión y en aquellas que toman anticoagulantes.<sup>14,15</sup>

### **2.5.8 Reacciones adversas**

- SNC (Sistema Nervioso Central): Cefalea, mareo, síncope.
- CV (Cardiovascular): Rubor.
- GI (Gastrointestinal): Nausea, vómito y diarrea.
- Otras: Sudación, erupción, debilidad.

Nota: el medicamento se suspenderá si ocurre hipotensión excesiva.<sup>14,15</sup>

### **2.5.9 Presentación**

Solo disponible con receta. Tabletas: 25 mg, 50 mg, 75 mg e inyecciones: 10 mg/ampolleta.

<sup>14,15</sup>

---

---

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La escala tradicional de trabajo en química analítica implica la utilización de grandes cantidades de reactivos y por consiguiente la generación de desechos químicos que pueden alterar el medio ambiente es drásticamente elevada, se requiere mayor tiempo para llevar a cabo los procesos y técnicas analíticas provocando una mayor exposición del factor humano con reactivos químicos que pueden deteriorar su salud. Es común observar, que en varios métodos analíticos que se encuentran descritos en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM), The United States Pharmacopea (USP), y en algunas otras fuentes, se requiere la utilización de reactivos químicos en cantidades elevadas, mismos que en muchas ocasiones son sumamente costosos o tóxicos. Tal es el caso del Dipiridamol, donde para realizar la valoración se requiere una cantidad considerable del mismo, así como de ácido acético glacial y acetona. Para minimizar estas inconveniencias se propuso desarrollar una técnica analítica en microescala de la valoración de Dipiridamol que sea precisa, eficiente y funcional, y que además pueda llegar a implementarse en los laboratorios de docencia, creando una mayor conciencia en los alumnos y docentes ya que, la implementación de estas técnicas, además de presentar un ahorro efectivo en materiales, y por lo tanto en costos, significa una reducción en los problemas de contaminación ambiental, de higiene y seguridad.

#### 4. OBJETIVOS

##### **GENERAL:**

- Desarrollar y validar una técnica analítica en microescala que sea precisa, eficiente y eficaz para la valoración potenciométrica de Dipiridamol.

##### **ESPECIFICOS:**

- Disminuir la escala convencional de trabajo de la técnica analítica para la valoración potenciométrica de Dipiridamol, en una proporción del 25 y 10 %.
- Disminuir la cantidad de muestra, reactivos químicos, tiempo, esfuerzo, costos generales y específicos, riesgos para el operador y medio ambiente, generados al realizar la técnica en la escala tradicional de trabajo de la valoración potenciométrica de Dipiridamol.

## **5. HIPÓTESIS**

Al realizar la valoración potenciométrica de Dipiridamol con una técnica en microescala se pretende disminuir la cantidad de muestra y reactivos utilizados sin alterar la química de la valoración, por lo tanto se espera que los resultados obtenidos tanto de la técnica a escala convencional de trabajo como de la técnica en microescala sean semejantes, precisos, eficientes y confiables.

## 6. DISEÑO EXPERIMENTAL

### 6.1 MATERIAL, REACTIVOS Y EQUIPO

Material utilizado en la parte experimental

<b>MATERIAL</b>	<b>CAPACIDAD</b>	<b>MARCA</b>
Buretas	100 mL	Pyrex
	25 mL	Pyrex
	10 mL	Kimax
Matraces erlenmeyer	250 mL	Pyrex
Matraz volumétrico	1000 mL	Pyrex
Pipeta graduada	10 mL	Pyrex
Pipeta volumétrica	5 mL	Pyrex
Probetas	100 mL	Kimax
	50 mL	P.K. México
	10 mL	IVA
Vasos de precipitado	5 mL	IVA
	250 mL	Pyrex
	150 mL	Pyrex
	100 mL	Pyrex
Soporte universal	50 mL	Pyrex
		AESA
Pinza doble		Lab-line instruments
Agitador magnético		Spinbar

Reactivos utilizados en la parte experimental

<b>REACTIVO</b>	<b>MARCA</b>	<b>LOTE</b>
Acetona	J.T Baker	39457
Ácido acético glacial	J.T Baker	A36C77
Ácido perclórico	J.T Baker	39465
Anhídrido acético	J.T Baker	Y28C56
Biftalato de potasio	J.T Baker	Y09598
Cristal violeta	Sigma	LL78-Z
Dipiridamol (materia prima)	FISONS	A-0550
Metanol	J.T Baker	Y32C18

---

---

Equipo utilizado en la parte experimental

EQUIPO	MARCA	MODELO
Balanza analítica	OHAUS	EP214C
Placa de agitación	THERMOLYNE	SP46925.
Potenciómetro con electrodos de plata/cloruro de plata	CORNING	540 pH

## 6.2. MÉTODO

### 6.2.1 Metodología de la valoración de Dipiridamol “técnica farmacopeica”

**VALORACIÓN.** *MGA 0991, Titulación no acuosa.* En un vaso de precipitados de 250 mL, pasar 450 mg de la muestra y disolver en 50 ml de ácido acético glacial. Agitar durante 30 minutos. Agregar 75 ml de acetona y agitar durante 15 minutos más. Titular con solución 0.1 N de ácido perclórico; determinar el punto final potenciométricamente, utilizar un sistema de electrodos de plata/cloruro de plata. Efectuar una prueba en blanco y hacer la corrección necesaria. Cada mililitro de solución 0.1 N de ácido perclórico consumido, es equivalente a 50.46 mg de Dipiridamol.<sup>16</sup>

### 6.2.2 Metodología de la valoración de Dipiridamol a la “escala de 25 %”

*Titulación no acuosa.* En un vaso de precipitados de 100 mL, pasar 112.5 mg de la muestra y disolver en 12.5 ml de ácido acético glacial. Agitar durante 30 minutos. Agregar 18.75 ml de acetona y agitar durante 15 minutos mas. Titular con solución 0.1 N de ácido perclórico; determinar el punto final potenciométricamente, utilizar un sistema de electrodos de plata/cloruro de plata. Cada mililitro de solución 0.1 N de ácido perclórico consumido, es equivalente a 50.46 mg de Dipiridamol.

---

---

---

---

### 6.2.3 Metodología de la valoración de Dipiridamol a la “escala de 10 %”

*Titulación no acuosa.* En un vaso de precipitados de 50 mL, pasar 45 mg de la muestra y disolver en 5 ml de ácido acético glacial. Agitar durante 30 minutos. Agregar 7.5 ml de acetona y agitar durante 15 minutos más. Titular con solución 0.1 N de ácido perclórico; determinar el punto final potenciométricamente, utilizar un sistema de electrodos de plata/cloruro de plata. Cada mililitro de solución 0.1 N de ácido perclórico consumido, es equivalente a 50.46 mg de Dipiridamol.

### 6.2.4 Metodología de la validación

#### 6.2.4.1 Linealidad del sistema.

Preparar y analizar por lo menos por triplicado 5 niveles de concentración (intervalo) de la solución de referencia, por pesadas independientes. La concentración central debe ser igual a la concentración que represente el 100% en la muestra. El intervalo debe incluir las concentraciones del 80 al 120 %.

Criterios de aceptación:  $r \geq 0.99$

$$r^2 \geq 0.98$$

IC( $\beta_1$ ), no debe incluir el cero

#### 6.2.4.2 Precisión del sistema

Analizar por lo menos un sextuplicado de soluciones a la concentración del analito que represente la concentración de la solución de referencia utilizada, o la concentración que represente el 100% de la muestra procesada para su medición, prepararlas por pesadas independientes y medir la respuesta analítica bajo las mismas condiciones.

Criterios de aceptación:  $CV \leq 1.5$

---

---

**6.2.4.3 Linealidad del método.**

Preparar placebos adicionados que incluyan la concentración del 100% de la muestra y al menos dos niveles, superior e inferior de concentración del analito, realizar el análisis de cada nivel por lo menos por triplicado.

Criterios de aceptación:  $r \geq 0.99$

$$r^2 \geq 0.98$$

El IC( $\beta_1$ ) debe incluir la unidad

El IC( $\beta_0$ ) debe incluir el cero

$$\text{El } CV_{y/x} \leq 2\%$$

**6.2.4.4 Precisión intermedia.**

Analizar por triplicado una muestra homogénea del producto que tenga un nivel cercano o igual a la concentración de 100%, en dos días diferentes y por dos analistas diferentes. Utilizar de preferencia la misma sustancia de referencia y los mismos instrumentos y/o equipos.

Criterios de aceptación: El (CV)  $\leq 2\%$

**6.2.4.5 Exactitud y repetibilidad.**

Analizar por lo menos un sextuplicado de muestras, preparadas por pesadas independientes con la cantidad de analito correspondiente al 100 %. Las muestras deben ser analizadas por un mismo analista bajo las mismas condiciones

Criterios de aceptación: El (IC( $\mu$ )) debe incluir el 100 % o que el promedio aritmético del % de recobro se incluya en el intervalo.

$$CV \leq 2\%$$

---

---

**6.2.4.6 Robustez.**

Analizar la misma muestra por lo menos por triplicado en la condición normal de operación utilizando como disolvente ácido acético ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) grado analítico; así como a la condición de operación distinta en donde se utilizara como disolvente ácido acético ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) grado técnico.

Criterios de aceptación:  $\text{Idil} \leq 2\%$

**6.2.5 Diseño estadístico**

Se realizó el análisis estadístico de los resultados (% de recobro) de cada una de las valoraciones de Dipiridamol, mediante un análisis de varianza multifactorial (ANOVA).

La base del diseño es la siguiente:

FACTORES	NIVELES	UNIDADES
Concentración	3	%
Día	2	Nivel 1, 1; Nivel 2, 2
Técnica	1	Nivel 1 grafica
RESPUESTAS	UNIDADES	
Recobro	%	

Como se muestra en la tabla, los factores analizados son:

1. La concentración en tres niveles: 100%, 25% y 10 %.
2. El día con dos niveles, ya que las valoraciones se realizaron dos días diferentes con muestras por sextuplicado.
3. La técnica mediante graficas por medio de la cual se obtuvo el volumen en mL de valorante gastado en el punto de equivalencia y por lo tanto el % de recobro de cada valoración.

Este método supone un análisis de varianza multifactorial del recobro. Permite la construcción de varias pruebas y graficas mediante las cuales se puede determinar que factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el recobro. Además se realizan pruebas para las interacciones significativas entre los factores, proporcionando suficientes datos para el análisis. Las pruebas-F en la tabla de ANOVA permiten identificar los factores significativos. Para cada factor significativo, las múltiples pruebas permiten conocer que medias son significativamente diferentes. El trazo de las medias y de las interacciones ayuda a interpretar los efectos significativos. Los trazos de los residuales ayudan a estimar si las suposiciones implícitas en el análisis de varianza son violadas por los datos.

Como ya se mencionó anteriormente, una de las ventajas de la microescala es que “a causa de las pequeñas cantidades de reactivos químicos utilizados, el tiempo requerido para manipular y completar un experimento es considerablemente reducido” esta afirmación entra en contradicción al observar que en la metodología de la técnica de la valoración de Dipiridamol se requiere que cada muestra permanezca en agitación 45 minutos durante su preparación para ser posteriormente valorada. Se decidió por lo tanto ver el efecto de la agitación sobre el recobro realizando un análisis estadístico semejante al descrito con anterioridad, pero en este caso la base del diseño es la siguiente:

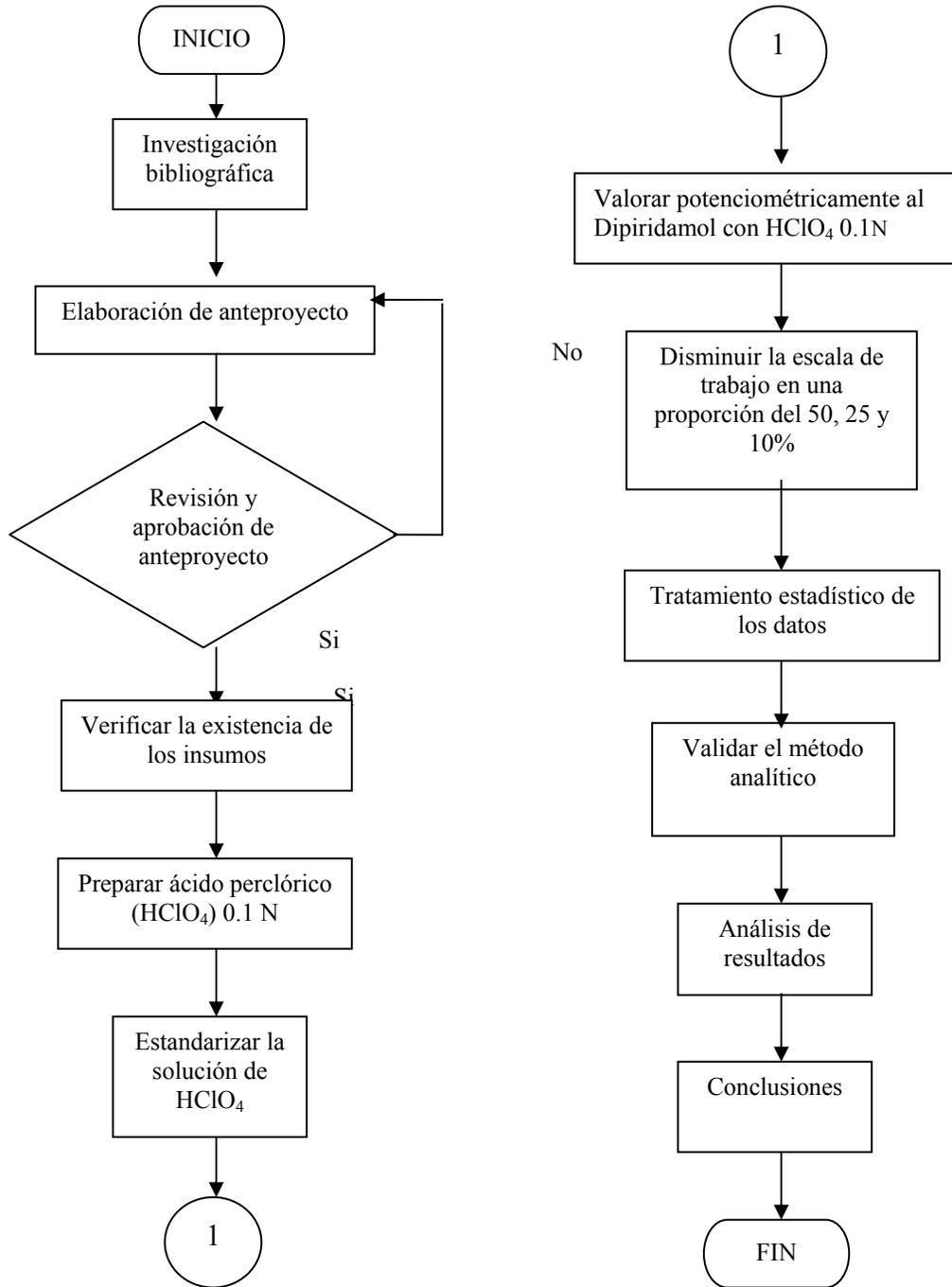
FACTORES	NIVELES	UNIDADES
Concentración	2	%
Agitación	2	Nivel 1 sin, Nivel 2 con
Técnica	1	Nivel 1 grafica
RESPUESTAS	UNIDADES	
Recobro	%	

En donde los factores analizados son:

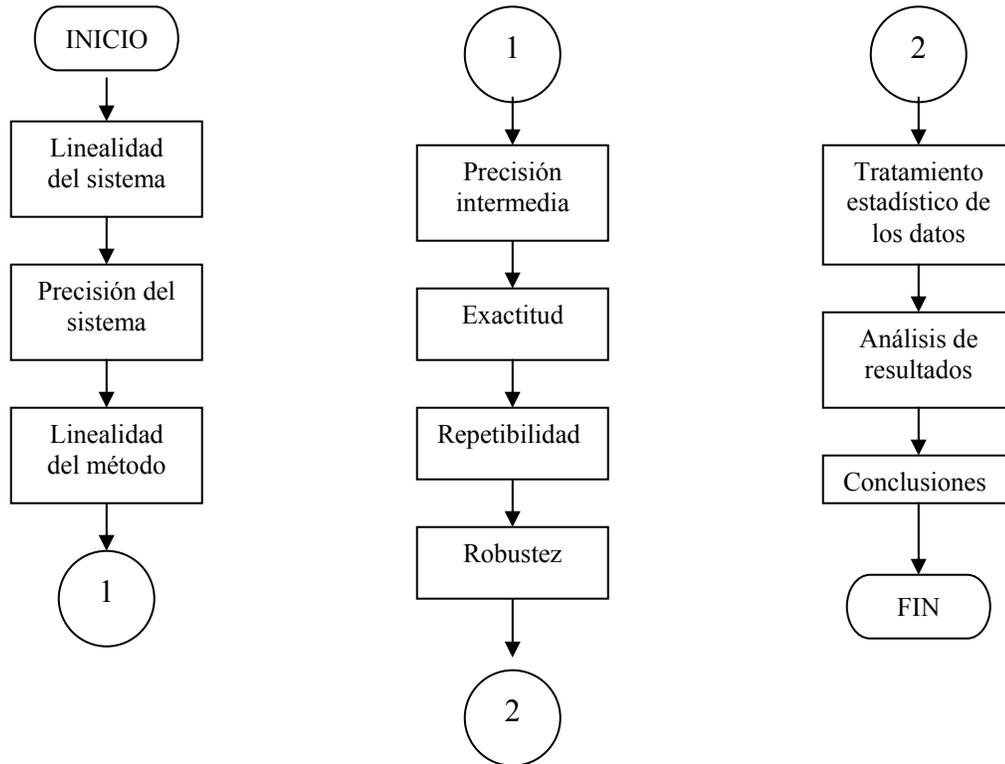
1. La concentración en dos niveles: 10% y 100 %.
2. La metodología sin agitación de 45 minutos que corresponde al nivel 1 y la metodología con agitación de 45 minutos que corresponde al nivel 2.
3. La técnica mediante graficas por medio de la cual se obtuvo el volumen en mL de valorante gastado en el punto de equivalencia y por lo tanto el % de recobro de cada valoración.

Si una vez obtenidos los resultados del análisis estadístico se demuestra que no hay efecto significativo de la concentración ni de la agitación sobre el recobro y como la finalidad es que la técnica sea lo mas eficiente posible, se validará entonces la técnica a la escala del 10 %, así como la técnica original al 100 % sin agitación en la preparación de las muestras.

6.2.6 Diagrama de flujo general



### 6.2.7 Diagrama de flujo de la validación



## 7. RESULTADOS

### 7.1 RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA MULTIFACTORIAL (ANOVA) PARA DETERMINAR EL EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN SOBRE EL RECOBRO

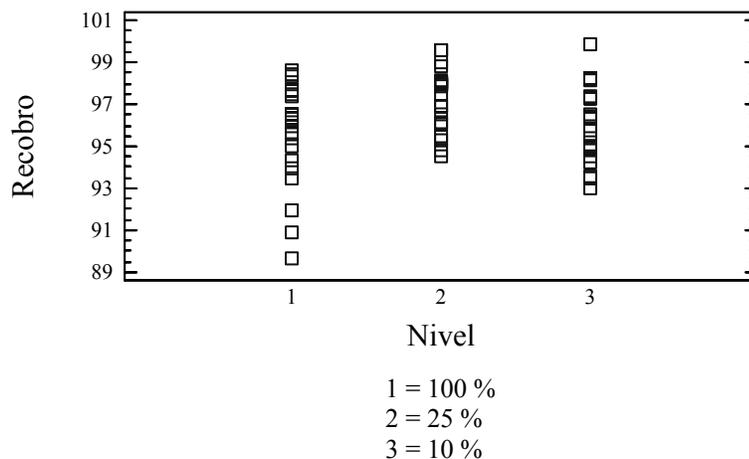


Figura V. Trazo de la dispersión del recobro por nivel (concentración).

Analysis of Variance for Recobro - Type III Sums of Squares					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Nivel	34.6762	2	17.3381	7.96	0.0008
B:Día	6.4082	1	6.4082	2.94	0.0913
C:Técnica	95.8189	1	95.8189	43.99	0.0000
INTERACTIONS					
AB	11.4591	2	5.72953	2.63	0.0801
AC	4.66634	2	2.33317	1.07	0.3489
BC	3.00125	1	3.00125	1.38	0.2450
RESIDUAL	135.055	62	2.1783		
TOTAL (CORRECTED)	291.085	71			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Tabla IV. Tabla de análisis de varianza para el recobro – Tipo III suma de cuadrados.

RESULTADOS

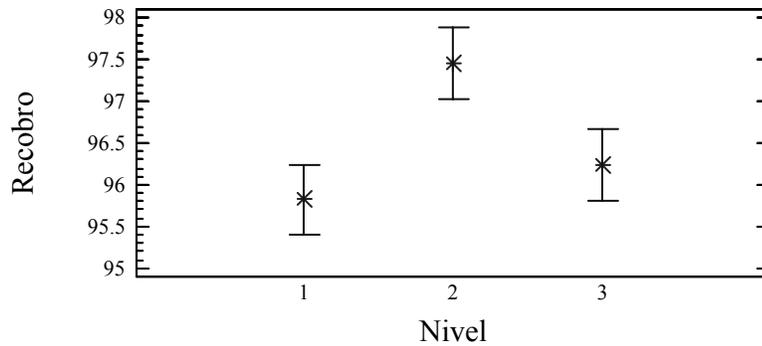


Figura VI. Representación gráfica de las medias con intervalos de confianza de 95.0 por ciento de diferencia significativa mínima.

Multiple Range Tests for Recobro by Nivel

Method: 95.0 percent LSD			
Nivel	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
1	24	95.8229	X
3	24	96.2375	X
2	24	97.4579	X

Contrast	Difference	+/- Limits
1 - 2	*-1.635	0.851679
1 - 3	-0.414583	0.851679
2 - 3	*1.22042	0.851679

\* denotes a statistically significant difference.

Tabla V. Procedimiento de comparación múltiple de las medias.

**7.2 RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA MULTIFACTORIAL (ANOVA) PARA DETERMINAR EL EFECTO DE LA DE LA AGITACIÓN SOBRE EL RECOBRO**

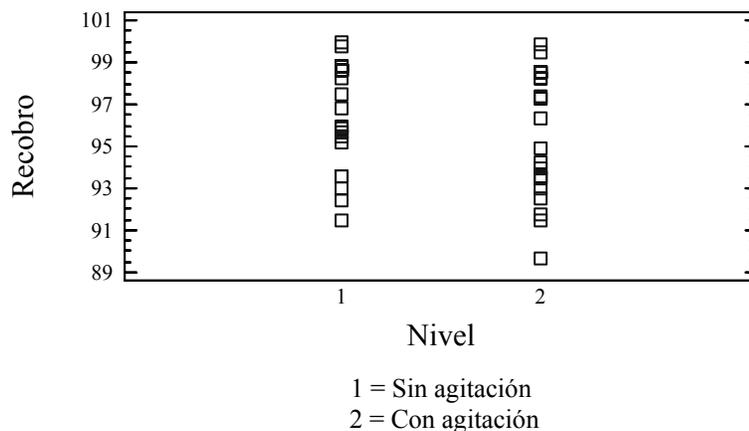


Figura VII. Trazo de la dispersión del recobro por nivel (concentración).

Analysis of Variance for Recobro - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Nivel	11.96	1	11.96	4.47	0.0405
B:Agitacion	0.644033	1	0.644033	0.24	0.6262
C:Tecnica	222.396	1	222.396	83.19	0.0000
INTERACTIONS					
AB	3.22403	1	3.22403	1.21	0.2785
AC	0.986133	1	0.986133	0.37	0.5470
BC	9.75603	1	9.75603	3.65	0.0631
RESIDUAL	109.606	41	2.67332		
TOTAL (CORRECTED)	358.573	47			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Tabla VI. Tabla de análisis de varianza para recobro – Tipo III suma de cuadrados.

---

---

RESULTADOS

**7.3 RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO DE LA VALORACIÓN POTENCIOMÉTRICA DE DIPIRIDAMOL A LA CONCENTRACIÓN DEL 100 %**

**7.3.1 Linealidad del sistema**

Tabla VII. Resultados de la linealidad del sistema (concentración al 100%)

CONCENTRACIÓN-PROPIEDAD MEDIDA

MUESTRA	x (mg adicionados)	y (mL gastados)
80% <sub>01</sub>	360.3	8.5
80% <sub>02</sub>	360.4	8.5
80% <sub>03</sub>	360.8	8.5
90% <sub>01</sub>	406.1	9.5
90% <sub>02</sub>	405.2	9.5
90% <sub>03</sub>	408.2	9.6
100% <sub>01</sub>	450.4	10.6
100% <sub>02</sub>	450.3	10.6
100% <sub>03</sub>	450.4	10.6
110% <sub>01</sub>	495.3	11.7
110% <sub>02</sub>	495.1	11.6
110% <sub>03</sub>	495.0	11.6
120% <sub>01</sub>	540.5	12.7
120% <sub>02</sub>	540.8	12.7
120% <sub>03</sub>	540.7	12.7

$$\begin{aligned}\sum x &= 6759.5 \\ \sum y &= 158.9 \\ \sum x^2 &= 3106535.27 \\ \sum y^2 &= 1716.37 \\ \sum xy &= 73020.05\end{aligned}$$

---

---

RESULTADOS

Coefficiente de correlación  
 $r = 0.9998$

Coefficiente de determinación  
 $r^2 = 0.9997$

Pendiente  
 $b_1 = 0.0234$

Ordenada  
 $b_0 = 0.0545$

Intervalo de confianza para la pendiente  
 $IC(\beta_1) = 0.0234 \pm 2.16 \times 0.0001 = 0.0236, 0.0231$

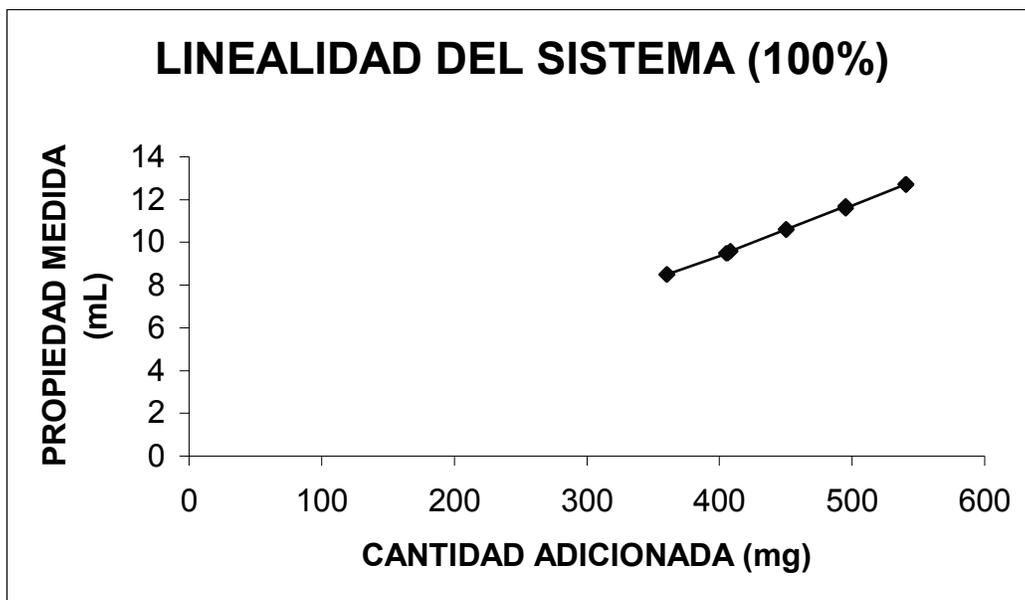


Figura VIII. Linealidad del sistema (concentración al 100%).

---

---

RESULTADOS

**7.3.2 Precisión del sistema**

Tabla VIII. Resultados de la precisión del sistema (concentración al 100%)

PROPIEDAD MEDIDA (mL GASTADOS)

MUESTRA	y (mL gastados)
1	10.5
2	10.5
3	10.4
4	10.4
5	10.5
6	10.5

$$\begin{aligned}\sum y &= 62.8 \\ \sum y^2 &= 657.32 \\ n &= 6\end{aligned}$$

$$\bar{y} = 10.4667$$

Desviación estándar  
 $S = 0.0516$

Coefficiente de variación  
 $CV = 0.4930 \%$

---

---

RESULTADOS

7.3.3 Linealidad del método

Tabla IX. Resultados de la linealidad del método (concentración al 100%).

CANTIDAD ADICIONADA (x)-CANTIDAD RECUPERADA (y)

MUESTRA	x (mg adicionados)	y (mg recuperados)	% de recobro
80% <sub>01</sub>	360.3	356.04576	98.8192
80% <sub>02</sub>	360.9	356.04576	98.6549
80% <sub>03</sub>	360.3	356.04576	98.8192
90% <sub>01</sub>	405.3	402.6708	99.3512
90% <sub>02</sub>	405.0	402.6708	99.4248
90% <sub>03</sub>	405.2	402.6708	99.3758
100% <sub>01</sub>	450.2	445.0572	98.8576
100% <sub>02</sub>	450.9	449.29584	99.6442
100% <sub>03</sub>	450.1	445.0572	98.8796
110% <sub>01</sub>	495.2	491.68224	99.2896
110% <sub>02</sub>	495.2	491.68224	99.2896
110% <sub>03</sub>	495.3	491.68224	99.2695
120% <sub>01</sub>	540.1	543.06864	98.8832
120% <sub>02</sub>	540.2	543.06864	98.8649
120% <sub>03</sub>	540.0	543.06864	98.9016

$$\begin{aligned}\sum x &= 6754.2 \\ \sum x^2 &= 3101834.2 \\ \sum y &= 6692.81256 \\ \sum y^2 &= 3045697.86 \\ \sum xy &= 3073626.06\end{aligned}$$

Coefficiente de correlación  
 $r = 0.9998$

Coefficiente de determinación  
 $r^2 = 0.9996$

---

---

RESULTADOS

Pendiente  
 $b_1 = 0.9906$

Ordenada  
 $b_0 = 0.1208$

Intervalo de confianza para la pendiente

$$S_{y/x} = 1.3418$$

$$S_{b_1} = 0.0055$$

$$IC(\beta_1) = 0.9906 \pm 2.16 \times 0.0055 = 1.0024, 0.9787$$

Intervalo de confianza para la ordenada

$$S_{y/x} = 1.3418$$

$$S_{b_0} = 2.4797$$

$$IC(\beta_0) = 0.1208 \pm 2.16 \times 2.4797 = 5.4769, -5.2353$$

Coefficiente de variación de la regresión

$$CV_{xy} = (1.3418 / 446.1875) \times 100 = 0.3007 \%$$

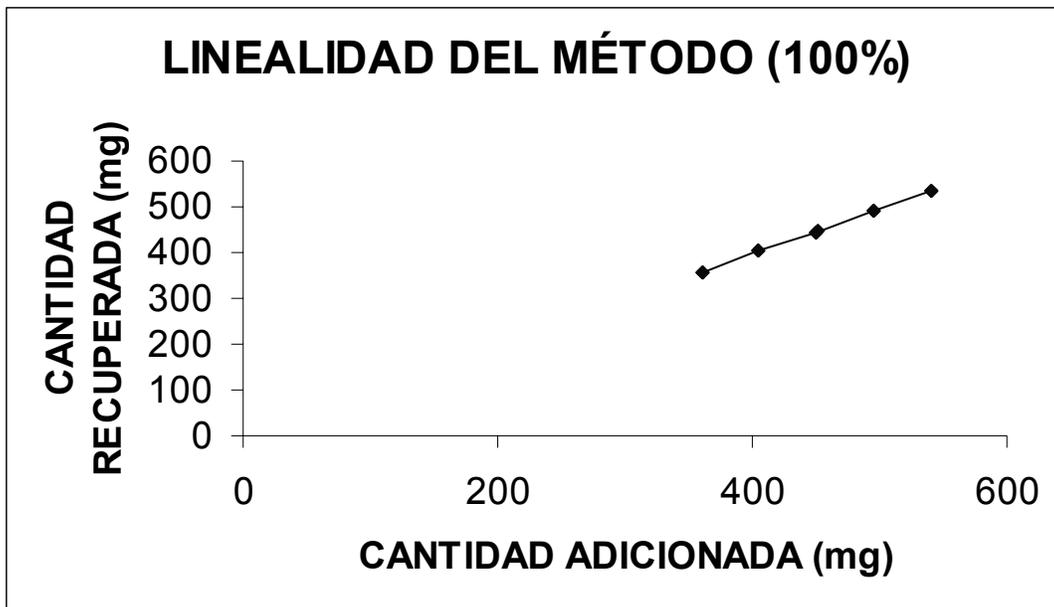


Figura IX. Linealidad del método (concentración al 100%).

---

---

**7.3.4 Precisión intermedia**

Tabla X. Resultados de la precisión intermedia (concentración al 100%).

CONTENIDO DE ANALITO (mg)

	ANALISTA	
	1	2
DIA 1	445.0572	449.29584
	449.29584	445.0572
	445.0572	445.0572
DIA 2	449.29584	449.29584
	445.0572	445.0572
	445.0572	445.0572

$$\begin{aligned} \sum y &= 5357.64096 \\ \sum y^2 &= 2392074.3 \\ n &= 12 \end{aligned}$$

$$\bar{y} = 446.47008$$

Desviación estándar  
 $S = 2.08696207$

Coefficiente de variación  
 $CV = 0.4674 \%$

**7.3.5 Exactitud y repetibilidad del método**

Tabla XI. Resultados de la exactitud y repetibilidad (concentración al 100%).

CANTIDAD ADICIONADA - CANTIDAD RECUPERADA - % DE RECOBRO

MUESTRA	CANTIDAD ADICIONADA (mg)	CANTIDAD RECUPERADA (mg)	% DE RECOBRO (y)
1	450.8	449.29584	99.6663
2	450.4	445.0572	98.8138
3	450.4	445.0572	98.8138
4	450.2	445.0572	98.8577
5	450.8	449.29584	99.6663
6	450.6	445.0572	98.7699

$$\sum y = 594.5878$$

$$n = 6$$

$$\bar{y} = 99.0980$$

Desviación estándar

$$S = 0.4411$$

Coefficiente de variación

$$CV = 0.4451 \%$$

Intervalo de confianza para la media poblacional

$$IC(\mu) = 99.0980 \pm 2.571 \times 0.1800 = 99.5608, 98.6352$$

RESULTADOS

7.3.6 Robustez

Tabla XII. Resultados de la robustez (concentración al 100%).

VALORACION (%) DEL ANALITO

MUESTRA	CONDICIÓN	
	CH <sub>3</sub> COOH GRADO ANALITICO (y <sub>0</sub> )	CH <sub>3</sub> COOH GRADO TÉCNICO (y <sub>1</sub> )
1	98.7898	100.5843
2	98.2249	100.6066
3	98.7699	100.6066

$$\sum y_0 = 295.7846$$

$$\sum y_1 = 301.7975$$

$$n_0 = 3$$

$$n_1 = 3$$

$$\bar{y}_0 = 98.5949$$

$$\bar{y}_1 = 100.5991$$

$$|d_1| = |100.5991 - 98.5949| = 2.00$$

**7.4 RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO DE LA VALORACIÓN POTENCIOMÉTRICA DE DIPIRIDAMOL A LA CONCENTRACIÓN DEL 10 %**

**7.4.1 Linealidad del sistema**

Tabla XIII. Resultados de la linealidad del sistema (concentración al 10%).

CONCENTRACIÓN-PROPIEDAD MEDIDA

MUESTRA	x (mg adicionados)	y (mL gastados)
80% <sub>1</sub>	36.1	0.85
80% <sub>2</sub>	36.2	0.85
80% <sub>3</sub>	36.4	0.85
90% <sub>1</sub>	40.5	0.95
90% <sub>2</sub>	40.6	0.95
90% <sub>3</sub>	40.7	0.9625
100% <sub>1</sub>	45.0	1.0625
100% <sub>2</sub>	45.3	1.0625
100% <sub>3</sub>	45.6	1.075
110% <sub>1</sub>	49.7	1.1625
110% <sub>2</sub>	49.6	1.15
110% <sub>3</sub>	49.5	1.1625
120% <sub>1</sub>	54.3	1.275
120% <sub>2</sub>	54.1	1.275
120% <sub>3</sub>	54.2	1.275

$$\sum x = 677.8$$

$$\sum y = 15.9125$$

$$\sum x^2 = 31233.6$$

$$\sum y^2 = 17.2145313$$

$$\sum xy = 733.2525$$

---

---

RESULTADOS

Coefficiente de correlación  
 $r = 0.9994$

Coefficiente de determinación  
 $r^2 = 0.9988$

Pendiente

$b_1 = 0.0235$

Ordenada

$b_0 = 0.0007$

Intervalo de confianza para la pendiente

$IC(\beta_1) = 0.0235 \pm 2.16 \times 0.0002 = 0.0239, 0.0230$

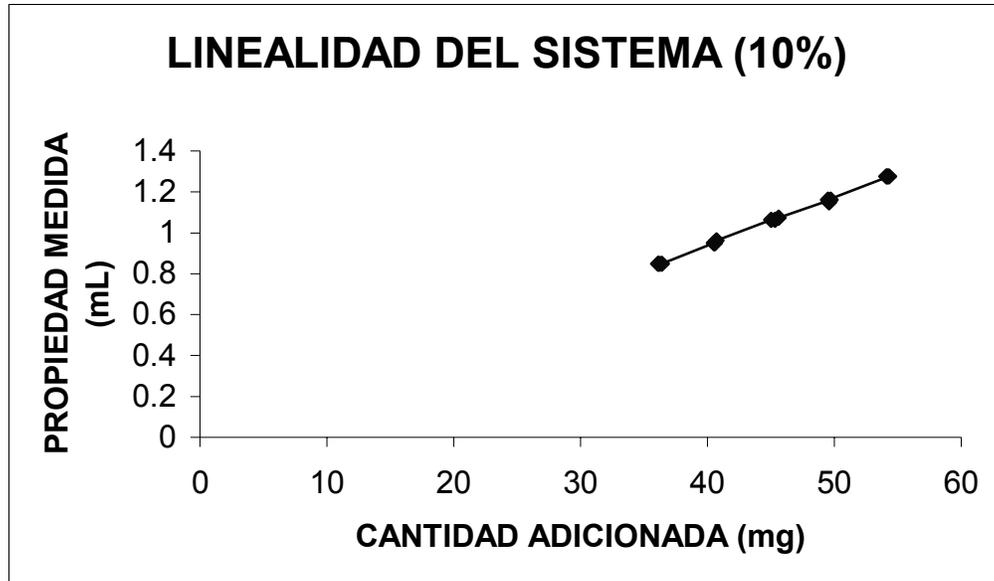


Figura X. Linealidad del sistema (concentración al 10%).

---

---

---

---

RESULTADOS

**7.4.2 Precisión del sistema**

Tabla XIV. Resultados de la precisión del sistema (concentración al 10%).

PROPIEDAD MEDIDA (mL GASTADOS)

MUESTRA	y (mL gastados)
1	1.05
2	1.0625
3	1.0625
4	1.0625
5	1.05
6	1.05

$$\begin{aligned}\Sigma y &= 6.3375 \\ \Sigma y^2 &= 6.6942 \\ n &= 6\end{aligned}$$

$$\bar{y} = 1.05625$$

Desviación estándar  
 $S = 0.00684653$

Coefficiente de variación  
 $CV = 0.6482 \%$

RESULTADOS

7.4.3 Linealidad del método

Tabla XV. Resultados de la linealidad del método (concentración al 10%).

CANTIDAD ADICIONADA (x)-CANTIDAD RECUPERADA (y)

MUESTRA	x (mg adicionados)	y (mg recuperados)	% de recobro
80% <sub>01</sub>	36.6	36.55827	99.8860
80% <sub>02</sub>	36.2	36.02844	99.5261
80% <sub>03</sub>	36.0	36.02844	100.079
90% <sub>01</sub>	40.6	40.26708	99.18
90% <sub>02</sub>	40.6	40.26708	99.18
90% <sub>03</sub>	40.6	40.26708	99.18
100% <sub>01</sub>	45.2	45.03555	99.6362
100% <sub>02</sub>	45.1	45.03555	99.8571
100% <sub>03</sub>	45.0	45.03555	100.079
110% <sub>01</sub>	49.5	49.27419	99.5438
110% <sub>02</sub>	49.6	49.27419	99.3431
110% <sub>03</sub>	49.8	49.27419	98.9442
120% <sub>01</sub>	54.5	54.04266	99.1608
120% <sub>02</sub>	54.0	53.51283	99.0978
120% <sub>03</sub>	54.1	53.51283	98.9147

$$\sum x^2 = 31196.64$$

$$\sum y = 673.41393$$

$$\sum y^2 = 30813.212$$

$$\sum Xy = 31004.11509$$

Coefficiente de correlación

$$r = 0.9997$$

Coefficiente de determinación

$$r^2 = 0.9995$$

---

---

RESULTADOS

Pendiente  
 $b_1 = 0.9793$

Ordenada  
 $b_0 = 0.6680$

Intervalo de confianza para la pendiente

$$S_{y/x} = 0.2831$$

$$S_{b_1} = 0.0115$$

$$IC(\beta_1) = 0.9793 \pm 2.16 \times 0.0115 = 1.0041, 0.9544$$

Intervalo de confianza para la ordenada

$$S_{y/x} = 0.2831$$

$$S_{b_0} = 0.5248$$

$$IC(\beta_0) = 0.6680 \pm 2.16 \times 0.5248 = 1.8016, -0.4656$$

Coefficiente de variación de la regresión

$$CV_{xy} = (0.1529 / 44.8943) \times 100 = 0.3405 \%$$

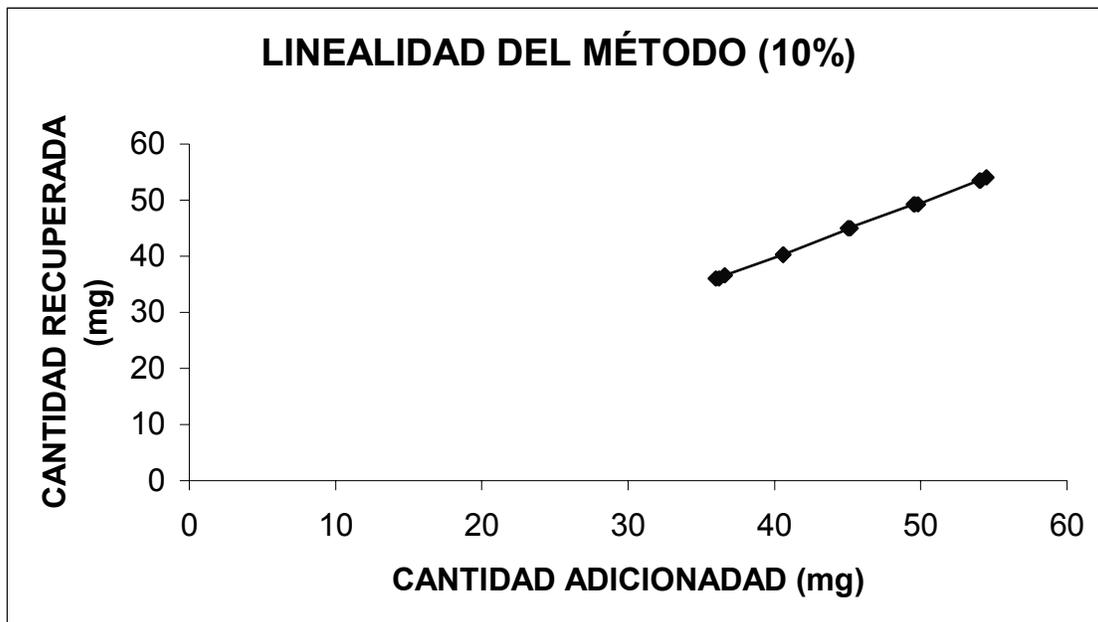


Figura XI. Linealidad del método (concentración al 10%).

---

---

**7.4.4 Precisión intermedia**

Tabla XVI. Resultados de la precisión intermedia (concentración al 10%).

CONTENIDO DE ANALITO (mg)

	ANALISTA	
	1	2
DIA 1	45.03555	44.50572
	45.56538	45.03555
	45.03555	45.03555
DIA 2	45.03555	45.03555
	45.03555	44.50557
	45.56538	45.03555

$$\begin{aligned} \sum y &= 540.42645 \\ \sum y^2 &= 24339.5187 \\ n &= 12 \end{aligned}$$

$$\bar{y} = 45.0355$$

Desviación estándar  
 $S = 0.3195$

Coefficiente de variación  
 $CV = 0.7094 \%$

**7.4.5 Exactitud y repetibilidad del método**

Tabla XVII. Resultados de exactitud y repetibilidad (concentración al 10 %).

CANTIDAD ADICIONADA - CANTIDAD RECUPERADA - % DE RECOBRO

MUESTRA	CANTIDAD ADICIONADA (mg)	CANTIDAD RECUPERADA (mg)	% DE RECOBRO (y)
1	45.2	44.50572	98.4640
2	45.6	45.03555	98.7622
3	45.5	45.03555	98.9792
4	45.5	45.03555	98.9792
5	45.2	44.50572	98.4640
6	45.5	45.03555	98.9792

$$\sum y = 529.6278$$

$$n = 6$$

$$\bar{y} = 98.7713$$

Desviación estándar

$$S = 0.2525$$

Coefficiente de variación

$$CV = 0.2556 \%$$

Intervalo de confianza para la media poblacional

$$IC(\mu) = 98.7713 \pm 2.571 \times 0.1031 = 99.0364, 98.5062$$

RESULTADOS

7.4.6 Robustez

Tabla XVIII. Resultados de la robustez (concentración al 10%)

VALORACION (%) DEL ANALITO

MUESTRA	CONDICIÓN	
	CH <sub>3</sub> COOH GRADO ANALITICO (y <sub>0</sub> )	CH <sub>3</sub> COOH GRADO TÉCNICO (y <sub>1</sub> )
1	99.4162	99.4162
2	98.6823	99.8571
3	99.1972	98.9016

$$\sum y_0 = 297.2957$$

$$\sum y_1 = 298.1749$$

$$n_0 = 3$$

$$n_1 = 3$$

$$\bar{y}_0 = 99.0986$$

$$\bar{y}_1 = 99.3916$$

$$|d_1| = |99.3916 - 99.0986| = 0.293$$

RESULTADOS

Tabla XIX. Contraste de los valores entre los criterios de aceptación y los valores obtenidos experimentalmente de la validación del método analítico de la valoración potenciométrica de Dipiridamol a la concentración del 100%

PARÁMETRO	RESULTADOS (100 %)	CRITERIOS DE ACEPTACIÓN
Linealidad del sistema	$r = 0.9998$ $r^2 = 0.9997$ $IC(\beta_1) = 0.0236, 0.0231$	$r \geq 0.99$ $r^2 \geq 0.98$ $IC(\beta_1)$ , no debe incluir el cero
Precisión del sistema	$CV = 0.4930 \%$	$CV \leq 1.5\%$
Linealidad del método	$r = 0.9998$ $r^2 = 0.9996$ $IC(\beta_1) = 1.0024, 0.9787$ $IC(\beta_0) = 5.4769, -5.2353$ $CV_{y/x} = 0.3007 \%$	$r \geq 0.99$ $r^2 \geq 0.98$ El $IC(\beta_1)$ debe incluir unidad El $IC(\beta_0)$ debe incluir el cero $CV_{y/x} \leq 2 \%$
Precisión intermedia	$CV = 0.4674 \%$	$CV \leq 2 \%$
Exactitud y repetibilidad	$IC(\mu) = 99.5608, 98.6352$ $\bar{y} = 99.0980$ $CV = 0.4451 \%$	$IC(\mu)$ debe incluir el 100 % o que el promedio aritmético del % de recobro se incluya en el intervalo. % de recobro = 98-102 % $CV \leq 2 \%$
Robustez	$ d_i  / 2.00$	$ d_i  \leq 2\%$

RESULTADOS

Tabla XX. Contraste de los valores entre los criterios de aceptación y los valores obtenidos experimentalmente de la validación del método analítico de la valoración potenciométrica de Dipiridamol a la concentración del 10%

PARAMETRO	RESULTADOS (10 %)	CRITERIOS DE ACEPTACIÓN
Linealidad del sistema	$r = 0.9994$ $r^2 = 0.9988$ $IC(\beta_1) = 0.0239, 0.0230$	$r \geq 0.99$ $r^2 \geq 0.98$ $IC(\beta_1)$ , no debe incluir el cero
Precisión del sistema	$CV = 0.6482 \%$	$CV \leq 1.5\%$
Linealidad del método	$r = 0.9997$ $r^2 = 0.9995$ $IC(\beta_1) = 1.0041, 0.9544$ $IC(\beta_0) = 1.8016, -0.4656$ $CV_{y/x} = 0.3405 \%$	$r \geq 0.99$ $r^2 \geq 0.98$ El $IC(\beta_1)$ debe incluir unidad El $IC(\beta_0)$ debe incluir el cero $CV_{y/x} \leq 2 \%$
Precisión intermedia	$CV = 0.7094 \%$	$CV \leq 2 \%$
Exactitud y repetibilidad	$IC(\mu) = 99.0364, 98.5062$ $\bar{y} = 98.7713$ $CV = 0.2556 \%$	$IC(\mu)$ debe incluir el 100 % o que el promedio aritmético del % de recobro se incluya en el intervalo. % de recobro = 98-102 % $CV \leq 2 \%$
Robustez	$ d_1  = 0.293$	$ d_i  \leq 2\%$

---

---

RESULTADOS

Tabla XXI. Comparación de la cantidad de reactivos utilizados en el parámetro de exactitud y repetibilidad entre el método a la concentración del 100 % y el método a la concentración del 10%

<b>REACTIVO</b>	<b>1 MUESTRA 100 %</b>	<b>1 MUESTRA 10 %</b>	<b>6 MUESTRAS 100 %</b>	<b>6 MUESTRAS 10 %</b>
Dipiridamol	450 mg	45 mg	2700 mg	270 mg
Ácido acético glacial	50 mL	5 mL	300 mL	30 mL
Acetona	75 mL	7.5 mL	450 mL	45 mL
Ácido perclórico	10.83 mL	1.083 mL	64.98 mL	6.498 mL

## 8. ANÁLISIS DE RESULTADOS

El análisis de varianza multifactorial (ANOVA) para determinar el efecto de la concentración sobre el recobro se realizó con el programa computacional Stat graphics plus versión 5.1 del que se tomaron las gráficas y tablas originales, las cuales son mostradas en los resultados.

En la base del diseño final, el factor concentración se evaluó con 3 niveles 100, 25 y 10 %. El diseño es estándar, en el cual se realizaron todas las combinaciones de los niveles de los factores, se llevaron a cabo varias pruebas y se construyeron varias gráficas con las que fue posible determinar que factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el recobro, así como las interacciones significativas entre los factores. Para cada factor significativo, las múltiples pruebas realizadas permitieron conocer que medias son significativamente diferentes.

La figura V es la representación gráfica de la dispersión de los datos en cada uno de los niveles de concentración ó escala, se puede observar que los datos del nivel 1 y los datos del nivel 3 que corresponden a la escala del 100 y 10 % respectivamente presentan una dispersión mas semejante en comparación con los datos del nivel 2 correspondientes a la escala del 25 % que son los que se encuentran menos dispersos.

Con la información proporcionada en la tabla IV que muestra el análisis de varianza para determinar el efecto de la concentración sobre el recobro fue posible determinar que el nivel de concentración tiene efecto estadísticamente significativo sobre el recobro ya que presenta un valor de p menor a 0.05, p es un valor de probabilidad equivalente al nivel de significación que en este caso es  $\alpha = 0.05$ , este valor sirve como criterio de aceptación o rechazo de una suposición.

---

---

En la figura VI están representadas las medias de los valores de cada nivel de concentración, con un intervalo de confianza de 95 por ciento, siendo mas similares las medias de los niveles 1 y 3.

Debido a que los resultados del análisis de varianza mostraron que el nivel de concentración tiene efecto estadísticamente significativo sobre el recobro fue necesario realizar una prueba de comparación múltiple de las medias para determinar cuáles son significativamente diferentes de otras. En la tabla V, en la parte inferior de la tabla un asterisco denota una diferencia estadísticamente significativa entre ese par de medias, así se pudo determinar entonces que al contrastar la media del nivel de concentración 1 (100 %) y la media del nivel de concentración 3 (10 %), no hay diferencia estadísticamente significativa entre las mismas.

En cuanto al análisis de varianza multifactorial (ANOVA) para determinar el efecto de la agitación sobre el recobro, el programa computacional realizó de la misma manera la representación gráfica de la dispersión de los datos, lo cual se puede observar en la figura VII pero en este caso el nivel 1 corresponde a la técnica sin agitación de las muestras y el nivel 2 a la técnica con 45 minutos de agitación, siendo la dispersión de los dos niveles muy semejante entre si.

Con la información proporcionada en la tabla VI que representa el análisis de varianza para determinar el efecto de la agitación sobre el recobro fue posible observar que el tiempo de agitación no tiene efecto estadísticamente significativo sobre el recobro al obtener un valor de p mayor a 0.05.

Una vez obtenidos los resultados del efecto de la concentración y de la agitación sobre el recobro y como la finalidad es que la técnica sea lo más eficiente posible, se validó entonces la técnica a la escala del 10 %, así como la técnica original al 100 % sin agitación en la preparación de las muestras.

---

---

En cuanto a la validación del método analítico de la valoración potenciométrica de Dipiridamol a la concentración del 100 %, así como a la concentración del 10 % los resultados muestran que el sistema es adecuado en ambos casos ya que se observa una relación lineal en el intervalo de concentraciones evaluadas (80 a 120 %), con valores del coeficiente de determinación  $\geq 0.98$ , además de ser preciso, al obtener valores del coeficiente de variación dentro de los criterios de aceptación establecidos.

Las figuras VIII y X son la representación gráfica de la linealidad del sistema para el 100 % y 10 % respectivamente, las cuales muestran que no existe una dispersión significativa de los datos.

Con respecto a la linealidad del método, en los dos casos el coeficiente de determinación y el coeficiente de variación del porcentaje de recobro presentan valores dentro de los criterios de aceptación, el intervalo de confianza para la pendiente incluye la unidad y el intervalo de confianza para la ordenada incluye el valor de cero, por lo que se considera que en ambos casos la relación es lineal entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada en el intervalo de concentraciones evaluadas ( 80 a 120 %).

Las figuras IX y X son la representación gráfica de la linealidad del método para el 100 % y 10 % respectivamente, las cuales muestran que no existe una dispersión significativa de los datos.

Los resultados de la precisión intermedia, así como los resultados de exactitud y repetibilidad, presentan valores del coeficiente de variación menores al valor teórico ( $\leq 2$  %) por lo que se considera que el método es preciso, exacto y repetible en ambos casos.

En lo que se refiere a la robustez, los valores de la diferencia absoluta de la media aritmética de la condición diferente respecto a la condición normal, se encuentran dentro del criterio de aceptación en ambos casos ( $\leq 2\%$ ).

Las tablas XIX y XX permiten contrastar los valores de los criterios de aceptación y los valores obtenidos experimentalmente de la validación del método analítico de la valoración potenciométrica de Dipiridamol a la concentración del 100 y 10 % respectivamente, demostrando así que todos los valores experimentales se encuentran dentro de los criterios de aceptación.

Con respecto al ahorro de reactivos, en la Tabla XXVII se hace una comparación de la cantidad de reactivos utilizados en el parámetro de exactitud y repetibilidad entre el método a la concentración del 100 % y el método a la concentración del 10%, donde se observa que se redujo en un 90 % la cantidad de reactivos utilizados al trabajar con la técnica en microescala.

## 9. CONCLUSIONES

- La prueba de comparación múltiple entre la media del nivel de concentración 1 (100 %) y la media del nivel de concentración 3 (10 %) permitió demostrar que no hay diferencia estadísticamente significativa entre las mismas.
- Con el análisis de varianza multifactorial (ANOVA) se demostró que no hay efecto significativo de la agitación sobre el recobro.
- Se validó el método analítico de la valoración potenciométrica de Dipiridamol a la concentración de 100 y 10 %, sin agitación en la preparación de las muestras.
- De acuerdo con los resultados obtenidos de la validación del método analítico de la valoración potenciométrica de Dipiridamol, se determinó que en ambas concentraciones el sistema es lineal y preciso, y que el método es lineal en el intervalo de concentraciones de 80 a 120 %, además de ser exacto, repetible, preciso y presentar robustez.
- Al no haber efecto significativo sobre el recobro al disminuir la escala convencional de trabajo, se puede afirmar que la técnica en microescala (concentración al 10%) es equivalente y altamente confiable en comparación con la técnica de farmacopea (concentración al 100%).
- Con el empleo de la técnica en microescala (concentración al 10%), se redujo en un 90 % la cantidad de reactivos químicos utilizados, reduciendo de esta manera los costos generados por la adquisición de estos reactivos, disminuyó en un 90 % la cantidad de residuos químicos y el tiempo requerido para realizar la técnica también fue notablemente reducido.
- La técnica analítica en microescala de la valoración potenciométrica de Dipiridamol es precisa al obtener un alto grado de concordancia entre los resultados, eficiente al hacer uso racional de los recursos y eficaz al cumplir con el objetivo para el cual fue creada, por lo tanto puede ser implementada a nivel docente obteniendo múltiples ventajas.

### 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Singh MM, Szafran Z, Pike MR. Microscale chemistry and green chemistry complementary pedagogies. *Journal of chemical education* 1999; 76: 1684-1686.
  2. Singh MM, McGowan BC, Szafran Z, Pike MR. A comparative study of microscale and standard burets. *Journal of chemical education* 2000; 77: 625-626.
  3. Cárdenas Ma. S, Valcárcel M. Automatización y miniaturización en química analítica. España: Springer-verlag iberica, S.A, 2000: 221-261.
  4. Singh MM, Pike MR, Szafran Z. Microscale and selected macroscale experiments for general and advanced general chemistry: An innovative approach. USA: John Wiley & Sons, Inc, 1995: 6, 26-44.
  5. Guía de validación de métodos analíticos. Colegio nacional de químicos farmacéuticos.
  6. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Text on validation of analytical procedures Q2A.
  7. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation of analytical procedures: methodology Q2B.
  8. Asturias Rodríguez K, Domínguez Rodríguez JL. Validación y comparación de un método potenciométrico para la determinación del ion fluoruro en sal, empleando dos diferentes soluciones amortiguadoras. México: FES Zaragoza UNAM, 1999: 14-24.
  9. García Zaragoza R. Desarrollo y validación de métodos analíticos para determinar, sodio, potasio, cloruros y citratos en polvos para preparación de soluciones orales. México: FES Zaragoza, UNAM, 1998: 20-27.
  10. Pietrzyk JD. Química analítica. 2ª. ed. México: Interamericana, S.A de C.V, 1983: 194-205.
  11. Watty BM. Química analítica. México: Alhambra mexicana, S.A, 1982: 115-127
  12. Skoog AD. Fundamentos de química analítica. 4ª. ed. España: Reverte, S.A, 1997: 432-434.
  13. The merck index. 11ª. ed. USA: Merck & CO., Inc., 1996: 567.
- 
-

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

---

14. McVan FB. Índice de medicamentos, para la consulta de médicos, odontólogos y farmacéuticos. México: Manual moderno, S.A de C.V, 1995: 533-535.
15. Skidmore RL. Mosby's drug guide for nurses. 3<sup>a</sup>. ed. USA: Mosby, Inc, 1999: 437-438.
16. Goodman GA. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 8<sup>a</sup>. ed. México: Medica Panamericana, S.A de C.V, 1991: 763, 1284.
17. Farmacopea de los estados unidos mexicanos. 7<sup>a</sup>. ed. México: Secretaria de salud, 2000: vol. 1 y 2: 741-742.
18. Farmacopea de los estados unidos mexicanos. 5<sup>a</sup>. ed. México: Secretaria de salud, 1988: 60-61, 247-248, 278.
19. Gómez Dantés O, Llopiz Aviles M. Las referencias bibliograficas en los escritos médicos. Salud Publica Mex 1988; 30: 760-765.
20. Flint BE, Kortz LC, Taylor AM. Microscale pH titrations using an automatic pipet. Journal of chemical education 2002; 79: 705-706.
21. Murray RS. Estadística. 2<sup>a</sup>. ed. España: M<sup>c</sup> Graw Hill, 1991: 375-405.
22. Wonnacott TH. Introducción a la estadística. 5<sup>a</sup>. Ed. México: Limusa, S.A de C.V, 1999: 375-401.
23. Jonson R. Estadística elemental. USA: Iberoamérica, S.A de C.V,1990: 430-449.