



---

---

---

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

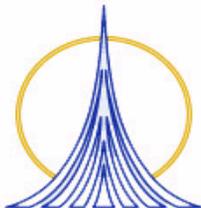
DISEÑO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO  
EN MICROESCALA PARA CUANTIFICAR ÓXIDO DE ZINC.

TESIS  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO  
PRESENTA:

ELSA ESPIDIO FLORES

M. en C. ELIZABETH G. SÁNCHEZ GONZÁLEZ  
**DIRECTOR**

M. en C. VICENTE J. HERNÁNDEZ ABAD  
**ASESOR**





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 PAPIIME 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".

---

---

---

---

A mi madre; la señora Amalia Flores

A mi padre; el señor Pablo Espidio

Y a mis hermanos; Pablo Alberto y Raúl

Por su apoyo, y porque son lo más valioso que me ha dado la vida.

A mis amigos: Juan López, Homero Flores, Sandra Ortega, Esmeralda García, Bernardo Bautista, Israel Ruz, Brenda Sánchez, Alejandra García, Gladis Vázquez, Bety Martínez, Javier Miranda, Ricardo Peña, Jorge Morales, Edith Cabañas y Brisa Méndez, por todo lo que hemos compartido.

A Israel Villagrana, por su colaboración en el desarrollo de éste proyecto.

A mis profesores, en especial al M. en C. Vicente Hernández y a la M. en C. Elizabeth Sánchez, por su apoyo y confianza en todo momento.

---

---

---

---

**ÍNDICE**

	<b>Pag.</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	
<b>2. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>1</b>
1.1 Microescala.....	1
1.1.1 Antecedentes.....	1
1.1.2 Ventajas.....	2
1.1.3 Desventajas.....	2
1.2 Óxido de Zinc.....	3
1.2.1 Propiedades como materia prima.....	3
1.2.2 Reacciones.....	4
1.2.3 Usos.....	4
1.2.4 Presentaciones comerciales.....	5
1.3 Técnica farmacopéica y fundamento de la valoración.....	5
2.4 Valoraciones.....	7
2.4.1 Tipos de valoraciones volumétricas.....	7
2.4.2 Valoraciones de neutralización.....	8
2.4.3 Valoración por retroceso.....	8
2.4.4 Valoración complejométrica.....	9
2.4.5 Valoración por precipitación.....	9
2.4.6 Valoración por óxido – reducción.....	10
2.5 Validación de métodos analíticos.....	11
2.5.1 Definición.....	11
2.5.2 Procedimientos analíticos a ser validados.....	12
2.5.3 Características de desempeño de los métodos analíticos.....	13
2.5.4 Parámetros a evaluar.....	14
2.5.4.1 Linealidad.....	14

---

---

---

---

	<b>Pag.</b>
2.5.4.2 Precisión.....	16
2.5.4.2.1 Repetibilidad.....	16
2.5.4.2.2 Precisión intermedia.....	17
2.5.4.2.3 Reproducibilidad.....	18
2.5.4.3 Exactitud.....	18
2.5.4.4 Robustez.....	19
<b>3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>21</b>
<b>4. OBJETIVO.....</b>	<b>22</b>
<b>5. HIPÓTESIS.....</b>	<b>23</b>
<b>6. MATERIALES.....</b>	<b>24</b>
6.1 Reactivos.....	24
6.2 Material.....	24
6.3 Equipo.....	25
<b>7. MÉTODO.....</b>	<b>26</b>
7.1 Diagrama de flujo.....	26
7.2 Identificación de Óxido de zinc.....	27
7.2.1 Descripción.....	27
7.2.2 Solubilidad.....	27
7.2.3 Ensayo de identidad.....	27
7.2.4 Alcalinidad.....	28
7.2.5 Carbonatos y color de la solución.....	28
7.2.6 Preparación y estandarización de soluciones.....	28
7.2.7 Escalamiento de la técnica farmacopéica a microescala..	30
7.2.8 Determinación estadística de la técnica en microescala..	33
7.2.9 Validación del método analítico al 100%.....	33
7.2.9.1 Linealidad del método.....	33

---

---

---

---

	<b>Pag.</b>
7.2.9.2 Exactitud del método.....	34
7.2.9.3 Precisión del método.....	35
7.2.9.3.1 Repetibilidad.....	35
7.2.9.3.2 Precisión intermedia.....	35
7.2.9.4 Robustez.....	36
7.2.10 Validación del método analítico en microescala.....	36
7.2.10.1 Linealidad del método.....	36
7.2.10.2 Exactitud del método.....	38
7.2.10.3 Precisión del método.....	38
7.2.10.3.1 Repetibilidad.....	38
7.2.10.3.2 Precisión intermedia.....	38
7.2.10.4 Robustez.....	39
<b>8. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....</b>	<b>40</b>
8.1 Identificación de la materia prima.....	40
8.2 Resultados del escalamiento de la técnica farmacopéica.....	41
8.3 Resultados de linealidad del método al 100%.....	43
8.4 Resultados de linealidad del método al 10%.....	45
8.5 Exactitud del método (100% y 10%).....	48
8.6 Precisión del método (100% y 10%).....	49
8.6.1 Repetibilidad (100% y 10%).....	49
8.6.2 Precisión intermedia (100% y 10%).....	50
8.7 Robustez del método.....	51
8.8 Comparación analítica de los métodos.....	53
8.9 Comparación de costos de los métodos.....	54
8.10 Comparación de generación de desechos de ambos métodos.....	56
<b>9. CONCLUSIONES.....</b>	<b>58</b>
<b>10. REFERENCIAS.....</b>	<b>59</b>

---

---

## 1. INTRODUCCIÓN

Conforme la preocupación por el medio ambiente, la seguridad y los elevados costos de operación de los laboratorios ha ido creciendo, se ha hecho más patente la necesidad de reducir la escala de los experimentos en los laboratorios.

El enfoque de la Química en Microescala es vital en un mundo cada vez más contaminado, donde es necesario formar una conciencia del impacto que la actividad propia de las prácticas químicas genera en el ambiente, es decir, fomentar el concepto de la "Química Verde". Así mismo, la Química en Microescala apunta a la Gestión de la Calidad Total, toda vez que se reúnen en ella eficacia (cumplimiento de objetivos) y eficiencia (uso racional de los recursos).

A manera de definición, puede decirse que las técnicas en Microescala son aquellas 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. En la actualidad ya se aplican en muchos países técnicas de Microescala en cursos de laboratorio de Química desde el nivel de bachillerato y hasta el de Posgrado.

Finalmente, 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, 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 el presente trabajo se desarrolló y validó el método analítico farmacopéico para la cuantificación de óxido de zinc en la modalidad de microescala, evaluando la linealidad, precisión, exactitud, repetibilidad y robustez, tanto del método oficial (FEUM 7<sup>a</sup> edición) como del método desarrollado de acuerdo a lo señalado en la International Conference on Harmonization, Validation on Analytical Procedures. Los datos obtenidos fueron analizados por técnicas estadísticas adecuadas para comprobar que se cumpliera con los criterios de aceptación para cada parámetro de la validación.

La técnica analítica farmacopéica se escaló a 10%, logrando trasladar el método convencional a un método en microescala, ambos métodos validados son lineales, exactos, reproducibles y repetibles en el rango de 80 a 120% y el ahorro económico de recursos en sustancias es del 90%, al igual que la reducción en la generación de desechos.

---

---

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 MICROESCALA

#### 2.1.1 ANTECEDENTES

La química en microescala es el proceso de dirigir los experimentos a las cantidades mínimas de químicos requeridos y lograr los mismos resultados, como con aquellos métodos en los que se requiere de mayor cantidad. Esto es una atractiva alternativa para cambiar la forma tradicional de enseñar la química experimental.

La microescala inició en 1980 en química orgánica, en Bowden College, después se fue adaptando para el uso en química inorgánica, analítica y en química general. El centro nacional de microescala química (NMCC por sus siglas en inglés) fue establecido en enero de 1993 con donación de la comunidad de Massachusetts, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos y otras agencias. Su principal propósito es enseñar la práctica de la microescala química a otros maestros y la investigación científica alrededor del mundo. <sup>1</sup>

Una aproximación a la microescala comprende usar pequeñas cantidades de reactivos y materiales, típicamente de 25 a 150 mg, mejor que la escala tradicional, en donde se emplean de 5 a 25 g, haciendo énfasis en el incremento de la protección de la ecología, buscando minimizar la exposición y la producción de productos dañinos.

Hoy más productos son caracterizados por técnicas instrumentales, incluyendo análisis térmicos, infrarrojo, resonancia magnética nuclear, y espectroscopia. Estas técnicas son inherentemente en microescala, ya que se requiere 1 g de producto para un estudio completo, suficiente para caracterizar el material en varios métodos. <sup>2</sup>

### 2.1.2 VENTAJAS

Algunas de las ventajas más relevantes de las técnicas en microescala, de índole ecológica, de higiene, de seguridad y económicas son:

- Una mejoría impresionante de la calidad del aire en los laboratorios, ya que se puede eliminar casi totalmente la presencia de vapores de disolventes.
- Una disminución notable de los riesgos a la salud originados por exposición a compuestos tóxicos, irritantes, alergénicos, mutagénicos o cancerígenos.
- Una contribución significativa a la preservación de nuestro medio ambiente y la ecología, al haber una reducción radical de entre el 75% hasta el 99% en la generación de desechos químicos, además de simplificarse su eliminación y reducirse notablemente los costos asociados.
- La reducción radical de costos de operación de los laboratorios, sobre todo en el ahorro de sustancias químicas y en costos del material. Indirectamente los costos también se reducen ya que la fragilidad del material de microescala es menor porque el grosor del vidrio es algo mayor y la resistencia mecánica en las piezas pequeñas es más alta.
- La variedad de experimentos que pueden realizarse en microescala es más amplia, ya que pueden utilizarse reactivos mucho más costosos.
- La habilidad y cuidado en el manejo de sustancias químicas tienden a acrecentarse y las pérdidas mecánicas a disminuir. <sup>3</sup>

### 2.1.3 DESVENTAJAS

- La necesidad de adquisición de material de vidrio especial y de equipos de medición más precisos, así como de reactivos más puros.
- 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 de técnicas instrumentales de vanguardia, como el análisis térmico diferencial, o la Cromatografía de Alta Resolución (de líquidos o de gases).
- La imposibilidad de aplicar óptimamente algunas técnicas, como sería el caso, de la destilación fraccionada.
- Un incremento en el riesgo de contaminación del producto y de obtener menores rendimientos debido a pérdidas mecánicas.<sup>4</sup>

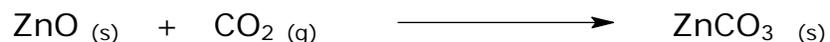
## 2.2 ÓXIDO DE ZINC

### 2.2.1 PROPIEDADES COMO MATERIA PRIMA

- Polvo blanco burdo o grisáceo, inodoro, sabor amargo, no combustible, no tóxico como materia prima.
  - Peso molecular: 81.39 g/mol.
  - Oxígeno % 19.66
  - Zinc % 80.34
  - Preparado por vaporización del zinc metálico y oxidación de los vapores con aire precalentado.
  - Prácticamente insoluble en agua.<sup>5,6</sup>
  - Fórmula condensada: ZnO
- 
-

### 2.2.2 REACCIONES

Absorbe dióxido de carbono del aire (CO<sub>2</sub>)



Algunos óxidos tienen propiedades ácidas y básicas. Se llaman óxidos anfóteros, formados principalmente por los elementos del centro de la tabla periódica, cerca de la zona límite entre los metales y los no metales.<sup>7</sup>

Reacción de ZnO en solución ácida



Reacción de ZnO en solución básica



### 2.2.3 USOS

- Pigmentos.
- Inhibidor del crecimiento del moho en pinturas.
- Aditivo de alimentos.
- Cosméticos.
- Suplemento alimenticio.
- Fotocopiador en máquinas conductoras.<sup>6</sup>

Es utilizado como materia prima en los siguientes productos:

- Cremas bloqueadoras de la radiación solar, destinadas al uso en bebés y adultos.

- 
- 
- Talco para bebés destinadas al uso en zonas de roce (pliegues) y alta humedad.
  
  - Talco para pies, antitranspirante y desodorante.
  - Cosméticos, como polvos compactos, rubores, bases de maquillaje, entre otros.<sup>5,6</sup>

#### 2.2.4 PRESENTACIONES COMERCIALES

##### Pasta

Óxido de Zinc .... 25 g.

Excipiente c.b.p. ...100 g

##### Ungüento

Óxido de zinc ..... 40 g

Excipiente c.b.p. ....100 g<sup>8,9</sup>

#### 2.3 TÉCNICA FARMACOPEICA Y FUNDAMENTO DE LA VALORACIÓN

Para la valoración farmacopéica del óxido de zinc, se sigue la siguiente técnica;

Disolver 1.5 gramos de la muestra recién calcinada y 2.5 gramos de cloruro de amonio ( $\text{ClNH}_4$ ) en 50 mL de solución 1N de ácido sulfúrico, calentando suavemente, si es necesario. Cuando esté totalmente disuelta, agregar sistema indicador (SI) de anaranjado de metilo y titular el exceso de ácido sulfúrico con solución 1N de hidróxido de sodio.<sup>10</sup>

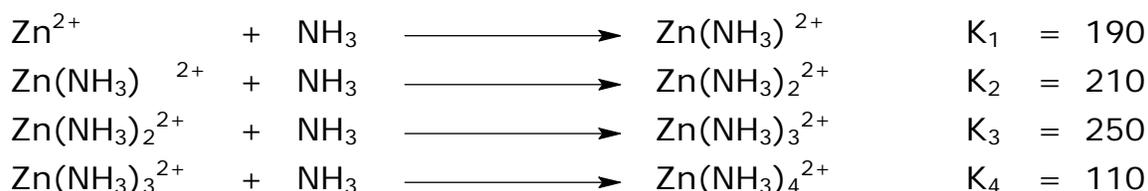
La valoración del Óxido de Zinc se realiza por retroceso o enmascaramiento.

El Óxido de Zinc absorbe dióxido de carbono del medio ambiente formando carbonato de sodio, para su valoración es necesario eliminar

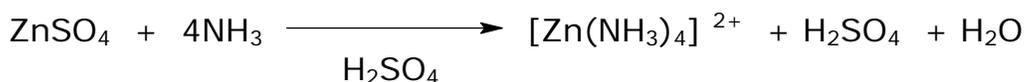
los carbonatos por lo que la muestra es calcinada antes de la valoración.



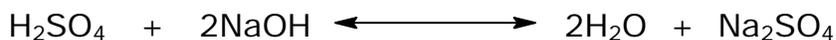
El Óxido de Zinc es un óxido metálico anfótero que reacciona fácilmente con ácidos y bases, por lo que puede ser necesario adicionar ligandos que formen complejos para prevenir la precipitación del hidróxido metálico.



Las soluciones con frecuencia están amortiguadas y los aniones del amortiguador o las moléculas como el acetato o el amoniaco pueden formar iones complejos con el metal, de esta forma se estabiliza la solución y se puede valorar el exceso del ácido sin que intervenga otra sustancia.<sup>11</sup>



El ácido sulfúrico sobrante es valorado por retroceso con el hidróxido de sodio, sin intervención de alguna otra especie presente en la valoración.



Finalmente se calcula el % de Óxido de Zinc con la siguiente fórmula:

$$\%ZnO = \frac{((Nácido \times Vácido) - (Nbase \times Vbase))(peqZnO)}{gZnO} \times 100$$

## 2.4 VALORACIONES

### 2.4.1 TIPOS DE VALORACIONES VOLUMÉTRICAS

Las valoraciones constituyen un amplio y valioso conjunto de procedimientos cuantitativos. Los métodos volumétricos representan uno de los tres tipos de titulaciones, que están basados en la medida de la cantidad de reactivo, de concentración conocida, que consume el analito. Los otros dos tipos son valoración por pesada o valoración gravimétrica y valoración culombimétrica.<sup>12</sup>

En una valoración volumétrica, una solución de un reactivo de concentración exactamente conocida (el valorante o solución estándar), se añade a un segundo reactivo, la solución de la muestra cuya cantidad o concentración se va a determinar. Se añade el valorante a la muestra hasta que se ha completado la reacción, es decir, hasta que la cantidad de valorante añadido equivale químicamente a la cantidad de la muestra. El estado en que se produce esta equivalencia se conoce como punto de equivalencia de la valoración y su estimación experimental como punto final de la valoración.<sup>13</sup>

La exactitud del análisis volumétrico depende de varios factores:

- La exactitud con que se conoce la concentración de la solución
- 
-

valorante.

- La precisión en la detección del punto final.
  
- La medida del volumen del valorante en el punto final.
- Factores relativos a la preparación de la muestra. <sup>13</sup>

#### 2.4.2 VALORACIONES DE NEUTRALIZACIÓN.

Las soluciones patrón de ácidos fuertes y de bases fuertes se emplean ampliamente para determinar analitos que por si mismos son ácidos o bases, o bien para analitos que pueden convertirse en estas especies mediante un tratamiento químico. El punto de equivalencia se señala con un indicador químico o con una medición instrumental.

El agua es el disolvente común para las titulaciones de neutralización, ya que es fácil de adquirir, de bajo costo e inocua. Otra ventaja es su bajo coeficiente de expansión con los cambios de temperatura. Sin embargo, algunos analitos no se pueden titular en medio acuoso debido a su baja solubilidad o porque su fuerza como ácidos o bases es baja, por lo que es común valorar estos analitos con disolventes como el alcohol metílico, alcohol etílico, ácido acético glacial, metil-isobutilcetona, etc. <sup>14</sup>

#### 2.4.3 VALORACIÓN POR RETROCESO

A veces es necesario añadir un exceso de solución patrón y después valorar el exceso, por retrotitulación. Este es un procedimiento donde el exceso de solución patrón utilizada para consumir un analito se determina mediante titulación con una segunda solución patrón. Este método suele emplearse cuando la velocidad de reacción entre el

analito y el reactivo es lenta, cuando la solución patrón es inestable, o no existe un indicador adecuado para la reacción.<sup>14</sup>

#### 2.4.4 VALORACIÓN COMPLEJOMÉTRICA

Los reactivos de formación de complejos se usan con frecuencia para valorar cationes. Los mas útiles de estos reactivos son compuestos orgánicos con varios grupos donadores de electrones que forman múltiples enlaces covalentes con los cationes metálicos<sup>12</sup>. Los grupos mas efectivos para formar complejos en un ligando son grupos amino y carboxilato, de estos el mas ampliamente utilizado es el ácido etilendiamino tetraacético (EDTA) que posee dos grupos amino y cuatro carboxilos.

Se conocen muchas sustancias que actúan como indicadores visuales, los cuales forman complejos con los iones metálicos y presentan distinto color de las formas complejadas y las no complejadas, tales compuestos se conocen como indicadores metalocrómicos. El indicador metalocrómico mas utilizado es el negro de eriocromo T.<sup>13</sup>

#### 2.4.5 VALORACIÓN POR PRECIPITACIÓN

El nitrato de plata se emplea para la determinación de aniones que precipitan como sales de plata. Entre estas especies están los haluros, algunos aniones divalentes, mercaptanos y ciertos ácidos grasos. Con pocas excepciones de menor importancia, ningún otro reactivo precipitante reacciona con suficiente rapidez para ser útil como reactivo volumétrico.<sup>12</sup>

---

---

El medio más sencillo de detección del punto final consiste en el empleo de un indicador visual. Uno de los mecanismos de acción comprende la formación de una sustancia coloreada por reacción del indicador con exceso del valorante, siendo de los indicadores más utilizados el cromato de potasio.<sup>13</sup>

#### 2.4.6 VALORACIÓN POR ÓXIDO-REDUCCIÓN

En las reacciones de óxido-reducción intervienen dos semireacciones; cada semireacción incluye un par conjugado redox, y el proceso neto de la reacción global es la transferencia de uno o mas electrones desde un par a otro. Se representa una semireacción redox general por la ecuación.



Donde red representa la forma reducida; ox, la forma oxidada; n al número de electrones transferidos; y  $\text{ne}^-$ , al electrón.<sup>13</sup>

Para que un reactivo se pueda utilizar como oxidante o reductor debe reaccionar cuantitativamente con el analito. Además se deben poder eliminar los excesos del reactivo no consumido, porque esos excesos interfieren consumiendo la solución estándar. En las titulaciones de óxido-reducción el analito debe encontrarse en un único estado de oxidación. Sin embargo, con frecuencia los pasos que preceden a la valoración convierten al analito en una mezcla de estados de oxidación, por lo que se debe tratar la solución con un agente auxiliar reductor, o con un reactivo oxidante auxiliar.

Los indicadores generales de oxidación/reducción son sustancias que cambian de color cuando se oxidan o reducen. El cambio de color de los verdaderos indicadores redox es independiente de la naturaleza de

química del analito y del valorante , y depende solo de los cambios del potencial de electrodo del sistema que ocurre a medida avanza la valoración. Los puntos finales también son fácilmente identificables a partir de las curvas potenciométricas. <sup>12</sup>

## 2.5 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Una de las tendencias en la química moderna es el desarrollo de nuevas técnicas analíticas y métodos que pueden identificar fielmente y cuantificar los componentes de complicadas muestras.<sup>15</sup> La puesta en marcha de estos tipos de estudios exige, una validación de los métodos aplicados. Ésta exigencia de validación es una práctica común en el campo industrial donde cualquier método nuevo descrito en un expediente debe ir acompañado de una validación completa. <sup>16</sup>

La parte medular de la validación es, sin duda, la aplicación de toda una serie de fórmulas y criterios para el manejo de los datos que se obtienen en el laboratorio al hacer un análisis o experimento de manera repetida. El agrupamiento, manejo y evaluación de los mismos arroja resultados que, a lo largo de los años y con el desarrollo de la validación se han convertido en lenguaje común y se han venido uniformando para poder establecer, con unos cuantos resultados si el método es válido o no. <sup>17</sup>

### 2.5.1 DEFINICIÓN

La validación de un método analítico es el proceso por el cual se establece por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada.<sup>18</sup> La validación de un método analítico puede definirse como un paso crítico

---

---

cuyo propósito es asegurar su calidad o validez, correspondiendo a un estudio científico de los criterios de confiabilidad de esta técnica.<sup>19</sup>

## 2.5.2 PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS A SER VALIDADOS

La discusión de la validación de procedimientos analíticos esta dirigida a los cuatro tipos más comunes de procedimientos analíticos.

- Pruebas de identificación
- Pruebas cuantitativas para el contenido de impurezas
- Pruebas límite para el control de impurezas
- Pruebas cuantitativas del activo en muestras de sustancia o del producto terminado o de otros componentes seleccionados en el producto.

Las pruebas de identificación están destinadas a asegurar la presencia 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 una sustancia de referencia.

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.

Los procedimientos de valoración pretenden medir el analito presente en una muestra dada. En este contexto, la valoración representa una medición cuantitativa del o de los componentes principales en una sustancia. Para el producto final, se aplican

características de validación similares cuando se trata del activo que para otros componentes seleccionados, las mismas características de validación pueden también aplicarse a las valoraciones asociadas con otros procedimientos analíticos, por ejemplo disolución.<sup>17</sup>

### 2.5.3 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS

La United States Pharmacopeia (USP) divide los ensayos en categorías asignando a cada una de ellas la diferente información analítica que es necesario obtener, esta clasificación es la siguiente.<sup>18</sup>

Categoría I: Métodos analíticos para la cuantificación de los componentes principales del producto a granel o de los ingredientes activos (incluyendo los conservadores) en los productos terminados.

Categoría II: Métodos analíticos para la determinación de impurezas en productos a granel o compuestos de degradación en el producto terminado. Estos métodos incluyen ensayos cuantitativos y pruebas límite.

Categoría III: Métodos analíticos para la determinación de las características de desempeño (ej. Disolución, liberación de fármacos)

Categoría IV: Pruebas de identificación.<sup>18</sup>

En función de la aplicación analítica del método, se indican los siguientes parámetros de desempeño a estudiar.

**Tabla I.** Parámetros de desempeño a estudiar en validación <sup>20</sup>

Característica	Identificación	Pruebas de cuantitativo	Impurezas Límite	Contenido/ potencia/ valoración
Exactitud	No	Si	No	Si
Precisión				
Repetibilidad	No	Si	No	Si
Reproducibilidad	No	Si	No	Si
Especificidad	Si	Si	Si	Si
Límite de detección	No	No	Si	No
Límite de cuantificación	No	Si	No	No
Linealidad	No	Si	No	Si
Rango	No	Si	No	Si

#### 2.5.4 PARÁMETROS A EVALUAR

##### 2.5.4.1 LINEALIDAD

a) Definición: La linealidad de un procedimiento analítico es su habilidad (dentro de un rango dado) para obtener los resultados de la prueba, que son directamente proporcionales a la concentración (la cantidad) de analito en la muestra.<sup>20</sup>

b) Se determina construyendo una curva de calibración (concentración vs respuesta medida) utilizando cuando menos 5 diluciones preparadas a partir de una misma solución patrón, haciendo análisis cuando menos por triplicado para cada dilución. El intervalo entre las concentraciones dependerá del propósito de método.

- Valoración de un fármaco: de 80 % a 120 % de la prueba de concentración.
- Determinación de impurezas: de 50% a 120% de la especificación.
- Uniformidad de contenido: un mínimo de 70% a 130% de la prueba de concentración.<sup>20</sup>

Si hay una relación lineal, los resultados de la prueba deben evaluarse por el método de mínimos cuadrados. En algunos casos, para obtener la linealidad entre las valoraciones y la concentración de la muestra, los datos deben ser sujetos a una transformación matemática previa.

Los datos de la regresión lineal que pueden proporcionar las estimaciones matemáticas del grado de linealidad son: el coeficiente de la correlación, la ordenada al origen, la pendiente de la recta, y suma residual de cuadrados, así como el análisis de la desviación estándar.<sup>21</sup>

c) Criterio de aceptación.

El coeficiente de determinación de la cantidad adicionada vs cantidad recuperada debe ser mínimo 0.98. Valores menores del coeficiente de determinación deben ser justificados.

El intervalo de confianza de la pendiente debe incluir unidad.

El intervalo de confianza para la ordenada al origen debe incluir el cero.

El coeficiente de variación de regresión (C.V.):

No debe ser mayor de 2% si el método es cromatográfico o Volumétrico.

No mayor de 3% si el método es químico o espectrofotométrico.

No mayor del 5% si el método es microbiológico.

#### 2.5.4.2 PRECISIÓN

a) Definición: Es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestreos de una muestra homogénea del producto, bajo condiciones normales de operación.<sup>20</sup>

La precisión puede ser considerada a tres niveles: la repetibilidad, la precisión intermedia y reproducibilidad. Normalmente se expresa la precisión de un procedimiento analítico como la variación, desviación normal o el coeficiente de variación de una serie de medidas.<sup>21</sup>

##### 2.5.4.2.1 REPETIBILIDAD

a) Definición: La repetibilidad expresa la precisión bajo las mismas condiciones que operación en un intervalo de tiempo. La repetibilidad también es la precisión de intra-ensayo, realizadas bajo las mismas condiciones (analista, tiempo, aparato, laboratorio, etc.)<sup>18,20</sup>

b) La repetibilidad puede evaluarse de las siguientes formas:

1. Un mínimo de 9 determinaciones que cubren el rango especificado para el procedimiento (por ejemplo, 3 concentraciones /3 repeticiones de cada uno); o

2. Un mínimo de 6 determinaciones al 100 por ciento de la concentración de la prueba. <sup>21</sup>

c) Criterio de aceptación.

El intervalo de confianza del recobro debe de incluir el 100%, o que el promedio aritmético del % de recobro se incluya en el intervalo.

El coeficiente de variación (C.V.) del % de recobro.

No debe ser mayor de 2% si el método es cromatográfico.

No mayor de 2% si el método es volumétrico.

No mayor de 3% si el método es químico o espectrofotométrico.

No mayor del 5% si el método es microbiológico.

#### 2.5.4.2.2 PRECISIÓN INTERMEDIA

a) Definición: Expresa la precisión con diferentes analistas y en días diferentes.

b) Se analizan por triplicado una muestra homogénea del producto que tenga un nivel cercano o igual al 100 % (en el caso de contenido) o una muestra homogénea cuyo contenido este incluido en el rango lineal de exactitud (para el caso de impurezas), en dos días diferentes y por dos analistas diferentes, aplicando el método analítico.

---

---

c) Criterio de aceptación:

Reportar el contenido de cada muestra.

C.V.  $\leq$  2% para métodos cromatográficos y volumétricos.

C.V.  $\leq$  3% para métodos químicos o espectrofotométricos.

C.V.  $\leq$  5% para métodos biológicos.

#### 2.5.4.2.3 REPRODUCIBILIDAD

a) Definición: expresa la precisión entre los laboratorios (los estudios colaborativos normalmente aplicado a la estandarización de metodología).<sup>20</sup>

b) La reproducibilidad se evalúa por medio de un ensayo Inter-laboratorio, inter-día, inter-analista la reproducibilidad debe ser considerado en caso de la estandarización de un procedimiento analítico, se realiza analizando por triplicado una muestra homogénea cercana al 100% en dos días diferentes, por dos diferentes analistas

c) Reportar el contenido de cada muestra y calcular promedio aritmético, desviación estándar y el coeficiente de variación total (C.V.).

C.V.  $\leq$  2% para métodos cromatográficos y volumétricos.

#### 2.5.4.3 EXACTITUD

a) Definición: La exactitud de un procedimiento analítico expresa la concordancia entre el valor que se acepta como verdadero o un valor de la referencia aceptado y el valor que se encuentra experimentalmente.<sup>20</sup>

b) Varios métodos para determinar la exactitud están disponibles:

1. La Aplicación de un procedimiento analítico a un analito de pureza conocida (por ejemplo, el material de la referencia)

2. La Comparación de los resultados del método analítico propuesto con los obtenidos de un segundo método bien caracterizado.

3. La Exactitud puede inferirse una vez que la precisión, linealidad, y especificidad han sido establecidos.<sup>20</sup>

c) Criterio de aceptación.

El intervalo de confianza del recobro debe de incluir el 100% o que el promedio aritmético del % de recobro se incluya en el intervalo.

El C.V. del porcentaje de recobro:

No debe ser mayor de 2% si el método es cromatográfico

No mayor de 2% si el método es volumétrico

No mayor de 3% si el método es químico o espectrofotométrico

No mayor del 5% si el método es microbiológico.

#### 2.5.4.4 ROBUSTEZ

a) Definición: La robustez de un método analítico es una medida de la capacidad de respuesta del método cuando se le realizan variaciones deliberadas en los parámetros, está destinada a asegurar la validez de un método siempre que es utilizado.<sup>18,20</sup>

b) La evaluación de robustez debe ser considerada durante la fase de desarrollo y debe mostrar la fiabilidad de un análisis con respecto a las variaciones deliberadas en los parámetros del método.

Si las medidas son susceptibles a las variaciones en las condiciones analíticas, debe controlarse adecuadamente o una declaración preventiva debe ser incluida en el procedimiento.<sup>21</sup>

Definir al menos dos condiciones de operación con cambios menores (pH de la fase móvil, composición de la fase, velocidad de flujo, temperatura, entre otras) en el método analítico. Analizar una muestra

homogénea del producto que tenga un nivel cercano o igual al 100 % por triplicado a las dos diferentes condiciones de operación de análisis, además de la condición normal de operación.

c) Reportar el contenido para cada condición instrumental y calcular el promedio aritmético de cada condición y de la condición normal de operación.

La diferencia absoluta entre el promedio de cada condición instrumental respecto de la condición normal de operación no debe exceder:

El 2 % para métodos cromatográficos y volumétricos

El 3% para métodos químicos y espectrofotométricos y

El 5% para métodos microbiológicos.



### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En la valoración de Óxido de Zinc se emplea gran cantidad de reactivos sólidos y líquidos, produciendo también abundantes desechos que requieren de tratamiento para ser eliminados, y siendo comúnmente utilizada esta materia prima por los alumnos de la FES Zaragoza, provoca gastos en material y reactivos para la universidad. Por tal motivo, se disminuirá la escala del experimento con la finalidad de abatir el daño al medio ambiente, los costos de las prácticas, la generación de desechos, así como para aumentar la seguridad en el laboratorio, se desarrollará a partir del método farmacopéico oficial, manteniendo los parámetros de validación, con los que se asegurará su calidad y validez.

## 4.OBJETIVO

Diseñar y validar un método analítico a microescala para cuantificar Óxido de Zinc que cumpla con los parámetros farmacopéicos de calidad.

### 4.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Optimizar recursos.
- Analizar y comparar costos de los dos métodos.

## 5. HIPÓTESIS

Al no existir diferencias significativas en la comparación de la validación de los dos métodos analíticos ( oficial y microescala), estos serán equivalentes y será posible emplearlos indistintamente en la valoración del Oxido de Zinc tanto en práctica académica, como en el uso cotidiano.

## 6. MATERIALES

### 6.1 REACTIVOS

**Tabla II.** Lista de reactivos, marca y lote

REACTIVO	MARCA	LOTE
Óxido de zinc	Mexicana S.A.	114
Cloruro de amonio	J.T. Baker	S/L
Ácido sulfúrico	Baker Analyzed® reactivo	9535-62
Hidróxido de sodio, lentejas	Merck México S.A.	S/L
Biftalato de potasio, cristal	J.T. Baker	2958-00
Carbonato de sodio anhidro, polvo	J.T. Baker	3602-01
Anaranjado de metilo	S/M	S/L
Fenolftaléina	S/M	S/L

### 6.2 EQUIPO

**Tabla III.** Lista de equipos, marca y modelo.

EQUIPO	MARCA	MODELO
Parrilla de agitación y calentamiento	Barnstead International S.A.	SP46925
Estufa de secado	National Appliance Co.	5836
Campana de extracción	ESEVE ®	CH 76
Balanza analítica	OHAUS	Explorer®Pro
Balanza granataria	OHAUS	-----

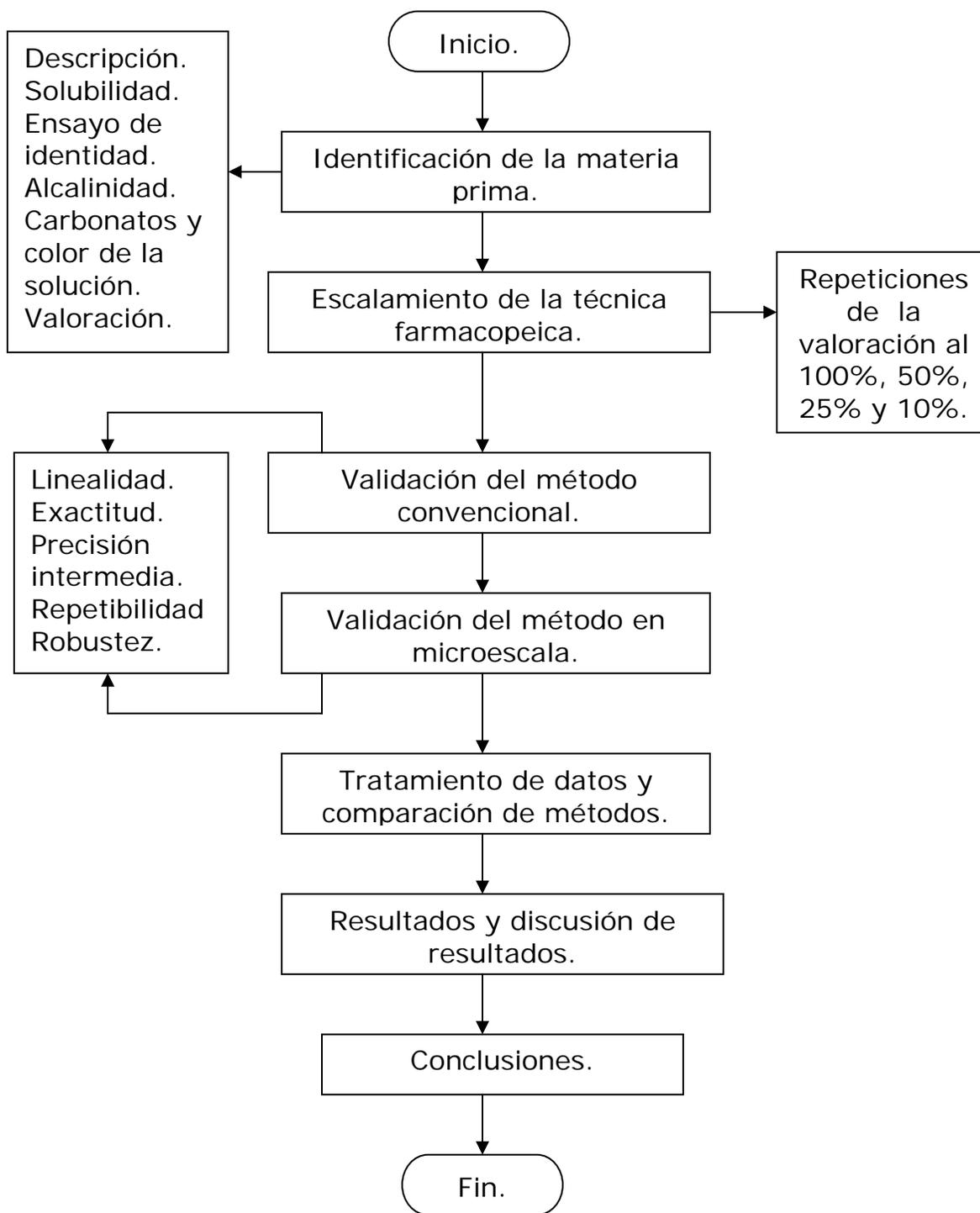
## 6.3 MATERIAL

**Tabla IV.** Lista de material, características y volumen

MATERIAL	CARACTERISTICA	VOLUMEN
Matraz volumétrico	Vidrio	2000 y 1000 mL
Matraz Erlenmeyer	Vidrio	250, 125, 50 y 25 mL
Probeta graduada	Plástico	1000 mL
Probeta graduada	Vidrio	100 y 50 mL
Bureta graduada	Vidrio	50, 25 y 10 mL
Vaso de precipitado	Vidrio	500, 250, 100 y 50 mL
Embudo	Vidrio, talle corto	-----
Crisoles	Porcelana, grandes	-----
Agitadores magnéticos	Chico, mediano, grande	-----
Soporte universal	-----	-----
Mechero Bunsen	-----	-----
Tripie	-----	-----
Triángulo de porcelana	-----	-----
Pinzas para bureta	-----	-----
Anillo de hierro	-----	-----

## 7. MÉTODO

### 7.1 DIAGRAMA DE FLUJO



## 7.2 IDENTIFICACIÓN DEL ÓXIDO DE ZINC (ZnO)

### 7.2.1 DESCRIPCIÓN

- a) Se tomó una muestra representativa de ZnO.
- b) Se observó en un lugar bien alumbrado que cumpliera con las siguientes características.

- Polvo fino.
- Amorfo.
- Blanco o amarillo claro.
- Libre de arenillas.

### 7.2.2 SOLUBILIDAD

- a) Soluble en ácidos diluidos.

- Se pesó 1g de ZnO.
- Se colocó en 30 mL de ácido sulfúrico 1N.
- Al agitar la muestra se disolvió.

- b) Casi insoluble en agua y etanol.

- Se pesó 10 mg de ZnO por duplicado.
- Se colocaron en 100 mL de agua y 100 mL de etanol respectivamente.
- Al agitar las muestras se disolvieron.

### 7.2.3 ENSAYO DE IDENTIDAD

- a) Se Pesaron 2 g de ZnO y se colocaron en un crisol de porcelana.
- b) Se calentó la muestra con un mechero Bunsen durante 3 minutos.

---

---

c) Ésta tomó color amarillo que desapareció al enfriar.

#### 7.2.4 ALCALINIDAD

- a) Se Pesó 1 g de ZnO.
- b) Se mezcló con 10 mL de agua caliente, entre 50 y 55 °C.
- c) Se agregaron 2 gotas de solución indicadora (SI) de fenolftaleína.
- d) Se Filtró la solución.
- e) No se produjo color rojo.

#### 7.2.5 CARBONATOS Y COLOR DE LA SOLUCIÓN

- a) Se pesó 2 g de ZnO.
- b) Se mezcló con 10 mL de agua.
- c) Se agregó 30 mL de solución 2 N de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).
- d) Se calentó en baño de vapor (BV) con agitación continua.
- e) La solución resultante fue transparente e incolora.

#### 7.2.6 PREPARACIÓN Y ESTANDARIZACIÓN DE LAS SOLUCIONES

##### 7.2.6.1 SOLUCIÓN VOLUMÉTRICA DE HIDRÓXIDO DE SODIO (NaOH) 1N

- a) Preparación
  - Se pesaron 103 g de NaOH en una balanza granataria.
  - Se disolvieron en 75 mL de agua libre de dióxido de carbono(CO<sub>2</sub> (g))
  - Se dejó enfriar la solución a temperatura ambiente.
  - Se filtró a través de papel filtro waltman No. 4
  - Se Transfirieron 54.5 mL del filtrado claro a un matraz volumétrico de 1000 mL.
  - Se Aforó con agua libre de CO<sub>2</sub> (g).

## b) Estandarización

- Se molió finamente y se secó durante 2 horas a 120 ° C biftalato de potasio.
- Se pesó con exactitud 5 g de éste.
- Se pasó a un matraz cónico.
- Se disolvió en 75 mL de agua libre de CO<sub>2</sub> (g)
- Se agregaron 2 gotas de SI de fenofaleína.
- Se tituló con la solución de NaOH 1N preparada hasta un vire a color rosa pálido permanente.
- Se calculó la normalidad con la siguiente fórmula:

$$N = \frac{m}{V \times peq}$$

7.2.6.2 SOLUCIÓN VOLUMÉTRICA DE ÁCIDO SULFÚRICO (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 1N.

## a) Preparación

- Se colocaron 500 mL de agua destilada en un matraz volumétrico de 1000 mL.
- Se midieron 30 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en una probeta de 50 mL.
- Se pasó el ácido al matraz volumétrico de 1000 mL cuidadosamente y con agitación.
- Se enfrió a 25 ° C.
- Se aforó a 1000 mL con agua destilada.

## b) Estandarización

- Se secó durante 1 hora a 270 ° C carbonato de sodio anhidro.
- Se pesó 1 g de carbonato de sodio.
- Se disolvió en 50 mL de agua destilada.

- Se añadió 0.1 mL de SI de anaranjado de metilo.
- Se tituló con la solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> hasta un vire a amarillo rojizo.
- Se hirvió la solución durante 2 minutos.
- Se enfrió.
- Se tituló hasta que el color amarillo rojizo no desapareció.
- Se calculó la normalidad con la siguiente fórmula:

$$N = \frac{m}{V \times peq}$$

### 7.2.7 ESCALAMIENTO DE LA TÉCNICA FARMACOPÉICA A MICROESCALA

#### a) Valoración convencional farmacopéica de ZnO al 100%.<sup>20</sup>

- Se calcinó aproximadamente 10 g de ZnO en un crisol durante 5 minutos con un mechero Bunsen, en una campana de extracción.
- Se pesó 1.5 g de ZnO recién calcinado.
- Se pesó 2.5 g de cloruro de amonio.
- Se disolvió en 50 mL de solución 1N de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, medidos exactamente en una bureta.
- Se calentó suavemente cuando fue necesario para disolver.
- Cuando estuvo totalmente disuelta, se agregó 2 gotas de SI de anaranjado de metilo.
- Se tituló el exceso de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> con solución 1N de NaOH.
- Se calculó el % de pureza del ZnO con la siguiente fórmula.

$$\%ZnO = \frac{((Nácido \times Vácido) - (Nbase \times Vbase))(peqZnO)}{gZnO} \times 100$$

- Se realizó por sextuplicado.

b) Valoración de ZnO reduciendo reactivos al 50 %.

- Se calcinó aproximadamente 5g de ZnO colocados en un crisol durante 5 minutos con un mechero Bunsen, en una campana de extracción.
- Se pesó 0.750 g de ZnO recién calcinado.
- Se pesó 1.25 g de cloruro de amonio.
- Se disolvió en 25 mL de solución 1N de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, medidos exactamente en una bureta.
- Se calentó suavemente cuando fue necesario.
- Cuando estuvo totalmente disuelta, se agregó 1 gota de SI de anaranjado de metilo.
- Se tituló el exceso de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> con solución 1 N de NaOH.
- Se calculó el % de pureza del ZnO con la siguiente fórmula:

$$\%ZnO = \frac{((Nácido \times Vácido) - (Nbase \times Vbase))(peqZnO)}{gZnO} \times 100$$

- Se realizó por sextuplicado.

c) Valoración de ZnO reduciendo reactivos al 25 %.

- Se calcinó aproximadamente 2.5g de ZnO colocados en un crisol durante 5 minutos con un mechero Bunsen, en una campana de extracción.
- Se pesó 0.375 g de ZnO recién calcinado.
- Se pesó 0.625 g de cloruro de amonio.
- Se disolvió en 12.5 mL de solución 1N de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, medidos exactamente en una bureta.
- Se calentó suavemente cuando fue necesario.

- Cuando estuvo totalmente disuelta se agregó 0.1 mL de SI de anaranjado de metilo con ayuda de una micropipeta.
- Se tituló el exceso de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> con solución 1N de NaOH.
- Se calculó el % de pureza del ZnO con la siguiente fórmula.

$$\%ZnO = \frac{((Nácido \times Vácido) - (Nbase \times Vbase))(peqZnO)}{gZnO} \times 100$$

- Se realizó por sextuplicado.

d) Valoración de ZnO reduciendo reactivos al 10 %.

- se calcinó aproximadamente 1.2 g de ZnO colocados en un crisol durante 5 minutos con un mechero Bunsen, en una campana de extracción.
- Se pesó 0.150 g de ZnO recién calcinado.
- Se pesó 0.250 g de cloruro de amonio.
- Se disolvió en 5 mL de solución 1N de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, medidos exactamente en una bureta.
- Se calentó suavemente cuando fue necesario.
- Cuando estuvo totalmente disuelta, se agregó 0.1 mL de SI de anaranjado de metilo.
- Se tituló el exceso de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> con solución 1N de NaOH.
- Se calculó el % de pureza del ZnO con la siguiente fórmula.

$$\%ZnO = \frac{((Nácido \times Vácido) - (Nbase \times Vbase))(peqZnO)}{gZnO} \times 100$$

- Se realizó por sextuplicado.

---

---

### 7.2.8 DETERMINACIÓN ESTADÍSTICA DE LA TÉCNICA EN MICROESCALA.

Utilizando como factor la escala de trabajo (100%, 50% 25% y 10%) se analizó si existían diferencias estadísticamente significativas para los diferentes niveles del factor, mediante tabla de Análisis de Varianza , una vez establecido el mínimo nivel en que no existe diferencia con respecto al método oficial, se validó el método propuesto, de acuerdo a los parámetros planteados en las normas de la International Conference On Harmonization Q2A y Q2B.

### 7.2.9 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO AL 100%

#### 7.2.9.1 LINEALIDAD DEL MÉTODO.

7.2.9.1.1 Se preparó una curva de concentraciones, usando como disolvente solución 1N de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

- Se pesaron 36 gramos de ZnO recién calcinado y se aforaron a 1000 mL en un matraz volumétrico.
- Se Tomó una alícuota de 50 mL con una bureta y se colocó en un matraz Erlenmeyer de 250 mL.
- Se tomó una alícuota de 45.8 mL con una bureta, se colocó en un matraz Erlenmeyer de 250 mL y se agregó 4.2 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N con una bureta.
- Se tomó una alícuota de 41.7 mL con una bureta, se colocó en un matraz Erlenmeyer de 250 mL y se agregó 8.3 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N con una bureta.
- Se tomó una alícuota de 37.5 mL con una bureta, se colocó en un matraz Erlenmeyer de 250 mL y se agregó 12.5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N con una bureta.

- 
- 
- Se tomó una alícuota de 33.3 mL con una bureta, se colocó en un matraz Erlenmeyer de 250 mL y se agregó 16.7 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1N con una bureta.
  - Se realizó por triplicado.

7.2.9.1.2 Se agregaron 2 gotas de Solución indicadora de anaranjado de metilo, se tituló con solución volumétrica de NaOH 1N, hasta un vire a amarillo pálido.

7.2.9.1.3 Una vez obtenidos los volúmenes gastados, se calculó el % recuperado para cada una de las muestras.

7.2.9.1.4 Se llevó a cabo la correlación del % adicionado vs. el % recuperado. Se obtuvo el coeficiente de determinación ( $r^2$ ), pendiente (m) y ordenada al origen (b), el coeficiente de variación (C.V.) de la regresión y el valor de la F calculada, de la tabla de análisis de varianza.

#### 7.2.9.2 EXACTITUD DEL MÉTODO.

- Se calcinó 9.5 g de ZnO.
- Se pesó por separado 1.5 g de ZnO recién calcinado y 2.5 g de cloruro de amonio.
- Se disolvió en 50 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1N.
- Se agregaron 2 gotas de SI de anaranjado de metilo.
- Se tituló con solución de NaOH 1N.
- Se realizó por sextuplicado.

7.2.9.2.1 Se calculó el % de recobro de cada muestra y se reportó el promedio aritmético, el coeficiente de variación (C.V.) y el intervalo de confianza del recobro.

---

---

### 7.2.9.3 PRECISIÓN DEL MÉTODO.

#### 7.2.9.3.1 REPETIBILIDAD.

7.2.9.3.1.1 Se determinó el coeficiente de variación(C.V.) considerando los valores que corresponden al 80%, 100% y 120% de la concentración obtenidos en 7.2.9.1.4.

7.2.9.3.1.2 Se calculó el coeficiente de variación (C.V.) del % de recobro.

#### 7.2.9.3.2 PRECISIÓN INTERMEDIA.

7.2.9.3.2.1 Se analizó por triplicado una muestra homogénea del producto en dos días diferentes y por dos analistas diferentes, cumpliendo con el siguiente formato:

	ANALISTA 1	ANALISTA 2
DIA 1		
DIA 2		

7.2.9.3.3 Se calculó el contenido de cada muestra y se reportó el coeficiente de variación total (C.V.).

---

---

#### 7.2.9.4 ROBUSTEZ.

7.2.9.4.1 Se consideraron como cambios el lote del ácido ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) y el lote de base ( $\text{NaOH}$ ).

7.2.9.4.2 Se tomaron los tres primeros valores obtenidos en 7.2.10.2.

7.2.9.4.3 Se prepararon soluciones correspondientes al 100% por triplicado para cada cambio considerado.

7.2.9.4.4 Se analizaron las muestras considerando los cambios en los factores analíticos.

7.2.9.4.5 Se reportó el contenido para cada condición y se calculó el promedio aritmético de cada condición y de la condición normal de operación.

7.2.9.4.6 Se calculó la diferencia absoluta entre el promedio de cada condición instrumental respecto de la condición normal de operación.

#### 7.2.10 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO EN MICROESCALA (10%)

##### 7.2.10.1 LINEALIDAD DEL MÉTODO.

7.2.10.1.1 Se preparó una curva de concentraciones, usando como disolvente solución 1N de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

- Se pesaron 3.6 gramos de  $\text{ZnO}$  recién calcinado y se aforaron a 100 mL en un matraz volumétrico.

- 
- 
- Se Tomó una alícuota de 5.0 mL con una bureta y se colocó en un matraz Erlenmeyer de 250 mL.
  - Se tomó una alícuota de 4.6 mL con una bureta, se colocó en un matraz Erlenmeyer de 250 mL y se agregó 0.4 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N con una bureta.
  - Se tomó una alícuota de 4.2 mL con una bureta, se colocó en un matraz Erlenmeyer de 250 mL y se agregó 0.8 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N con una bureta.
  - Se tomó una alícuota de 3.75 mL con una bureta, se colocó en un matraz Erlenmeyer de 250 mL y se agregó 1.25 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N con una bureta.
  - Se tomó una alícuota de 33 mL con una bureta, se colocó en un matraz Erlenmeyer de 250 mL y se agregó 1.7 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N con una bureta.
  - Se realizó por triplicado.

7.2.10.1.2 Se Agregó 1 gota de Solución indicadora de anaranjado de metilo, se tituló con solución volumétrica de NaOH 1N, hasta un vire a amarillo pálido.

7.2.10.1.3 Una vez obtenidos los volúmenes gastados, se calculó el% recuperado para cada una de las muestras.

7.2.10.1.4 Se Llevó a cabo la correlación del % adicionado vs. El % recuperado. Se obtuvo el coeficiente de determinación ( $r^2$ ), pendiente(m) y ordenada al origen(b), el porcentaje de coeficiente de variación (C.V.) de la regresión y el valor de la F calculada, de la tabla de análisis de varianza.

#### 7.2.10.2 EXACTITUD DEL MÉTODO.

- Se calcinó 0.950 g de ZnO.
- Se pesó por separado 0.150 g de ZnO recién calcinado y 0.250 g de cloruro de amonio.
- Se disolvió en 5.0 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N.
- Se agregó 1 gota de SI de anaranjado de metilo.
- Se tituló con solución de NaOH 1N.
- Se realizó por sextuplicado.

7.2.10.2.1 Se calculó el % de recobro de cada muestra y se reportó el promedio aritmético, el coeficiente de variación (C.V.) y el intervalo de confianza del recobro.

#### 7.2.10.3 PRECISIÓN DEL MÉTODO.

##### 7.2.10.3.1 REPETIBILIDAD.

7.2.10.3.1.1 Se determinó el coeficiente de variación (C.V.) considerando los valores que corresponden al 80%, 100% y 120% de la concentración obtenidos en 7.2.10.1.4.

7.2.10.3.1.2 Se calculó el coeficiente de variación (C.V.) del % de recobro.

##### 7.2.10.3.2 PRECISIÓN INTERMEDIA.

7.2.10.3.2.1 Se analizó por triplicado una muestra homogénea del producto en dos días diferentes y por dos analistas diferentes, cumpliendo con el siguiente formato:

---

---

	ANALISTA 1	ANALISTA 2
DÍA 1		
DÍA 2		

7.2.10.3.3 Se calculó el contenido de cada muestra y se reportó el coeficiente de variación total (C.V.).

#### 7.2.10.4 ROBUSTEZ.

7.2.10.4.1 Se consideraron como cambios el lote del ácido ( $H_2SO_4$ ) y el lote de base (NaOH).

7.2.10.4.2 Se tomaron los tres primeros valores obtenidos en 7.2.10.2

7.2.10.4.3 Se prepararon soluciones correspondientes al 100% por triplicado para cada cambio considerado.

7.2.10.4.4 Se analizaron las muestras considerando los cambios en los factores analíticos.

7.2.10.4.5 Se reportó el contenido para cada condición y se calculó el promedio aritmético de cada condición y de la condición normal de operación.

7.2.10.4.6 Se calculó la diferencia absoluta entre el promedio de cada condición instrumental respecto de la condición normal de operación.

## 8. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 8.1 IDENTIFICACION DE LA MATERIA PRIMA

Se realizaron los análisis para Oxido de Zinc como materia prima, según la farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 7ª edición, obteniendo los siguientes resultados.

**Tabla V.** Resultados de los análisis para la identificación de ZnO

<b>Análisis</b>	<b>Especificación</b>	<b>Resultado</b>
Descripción	Polvo fino, blanco o amarillo claro, libre de arenillas.	Cumple
Solubilidad	Soluble en ácidos diluidos, casi insoluble en agua y etanol	Cumple
Ensayos de identidad A)	Toma color amarillo que desaparece al enfriar.	Cumple
Alcalinidad	Se requieren no más de 0.3 mL de solución 0.1 N de ácido clorhídrico para decolorarla.	Cumple
Carbonatos y color de la solución	No se produce efervescencia y la solución resultante es transparente e incolora.	Cumple
Valoración	Recién calcinado, no menos del 99 % y no mas del 100.5 %	99.65 %

Al realizar la identificación completa de la materia prima es posible continuar con los ensayos para escalar la técnica analítica, ya que la materia prima cumple con todas las especificaciones farmacopéicas.

## 8.2 RESULTADOS DEL ESCALAMIENTO DE LA TÉCNICA FARMACOPÉICA

El análisis de varianza (ANDEVA) es una técnica mediante la cual la variación total presente en un conjunto de datos se divide en varios componentes, cada una de las cuales tiene asociada una fuente de variación específica, de manera que en el análisis sea posible conocer la magnitud de las contribuciones de cada fuente de variación a la variación total.<sup>23</sup>

Con los resultados obtenidos del escalamiento de la técnica a los niveles de 50%, 25% y 10%, considerando también el 100% se realizó la siguiente tabla de análisis de varianza en la cual se descompone la variación de los datos en dos componentes; uno entre grupos y otro dentro del grupo para realizar el análisis.

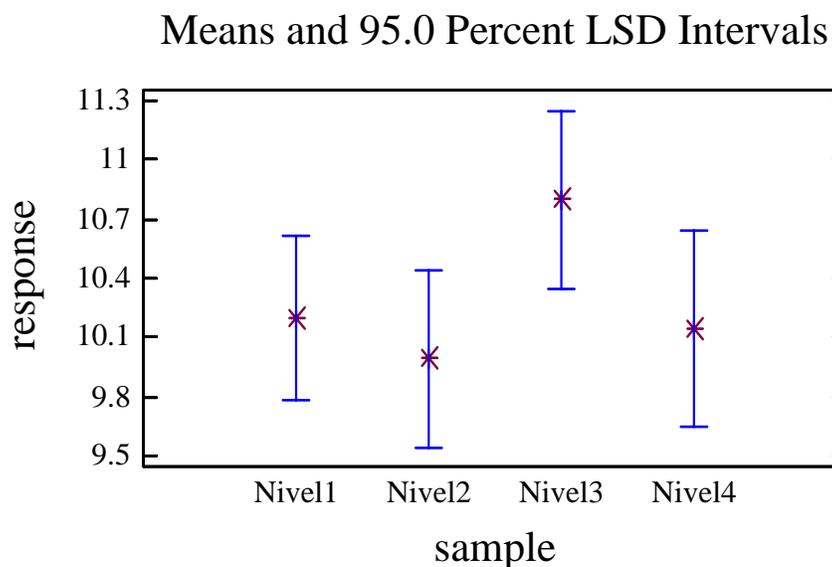
**Tabla VI.** Tabla de análisis de varianza del escalamiento considerando los 4 niveles

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	2.25133	3	0.750443	1.35	0.2855
Within groups	11.0884	20	0.554419		
Total (Corr.)	13.3397	23			

El valor de P (Probabilidad) a partir de la F calculada es mayor a 0.05% nos muestra que no existe una relación estadísticamente significativas entre las medias de las variables a un nivel de confianza del 95%; ya que el propósito es escalar la técnica farmacopéica a la menor cantidad de reactivos con los cuales se obtengan resultados equivalentes a la técnica convencional, a partir de este dato no se elegiría ningún método, sin embargo se elige trabajar con la técnica escalada de 10%, lo cual se explica con el siguiente diagrama.

La grafica 1 muestra la media para cada grupo de datos, también muestra el error normal de cada media que es una medida de su variabilidad.

**Gráfica 1.** Diagrama de medias



En la gráfica 1, el nivel 1 representa el grupo de datos obtenidos al realizar la valoración de ZnO al 100%, el nivel 2 representa el grupo

de datos obtenidos en la valoración del ZnO al 50%, el nivel 3 representa los datos de la valoración al 25% y el nivel 4, el grupo de datos obtenidos de la valoración al 10%. Al disminuir la escala de la valoración, el material empleado se hace menos preciso, con lo que los resultados de la valoración son menos exactos, lo cual se ve reflejado en la gráfica I; sin embargo la valoración al 10% (nivel 4) se llevó a cabo con material adecuado, lo cual da por resultado que la media del grupo de datos obtenidos de la valoración al 10% coincida con la media del grupo de datos obtenidos de la valoración al 100%, por lo cual se eligió el método escalado al 10%.

### 8.3 RESULTADOS DE LINEALIDAD DEL MÉTODO AL 100 %

A continuación se muestran los resultados de la linealidad del método al 100%, mostrando la tabla de análisis de varianza, tabla de criterios de aceptación y la grafica del % adicionado y % recuperado.

**Tabla VII.** Tabla de análisis de varianza de linealidad del método al 100%

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	0.632204	1	0.632204	16619.15	0.0000
Residual	0.000494529	13	0.0000380407		
Total (Corr.)	0.632699	14			

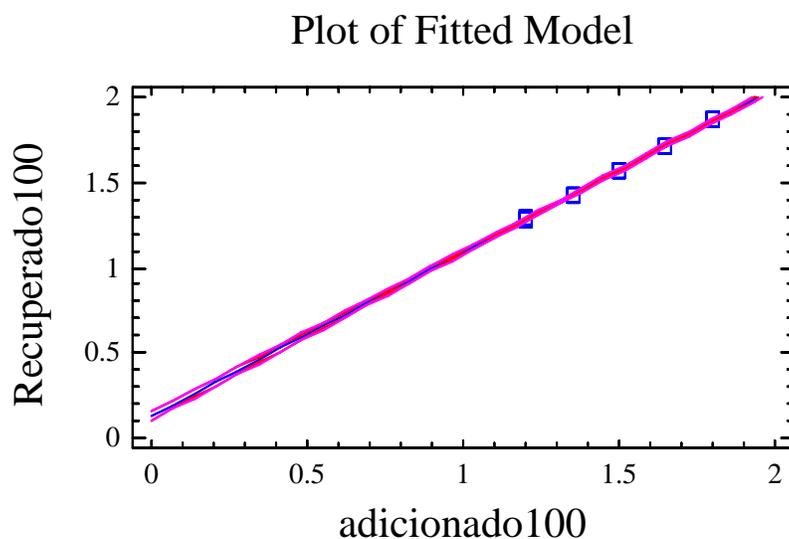
El valor de F obtenido de tablas es de 9.07

$F(glr, gler, 0.01) = 9.07$

La F calculada es de 16619.15, siendo mayor que la F de tablas nos indica que existe una relación altamente significativa entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada.

El valor de P mostrado en la tabla de análisis de varianza es menor a 0.01, por lo que se concluye que existe una relación estadísticamente significativa entre el % recuperado y el % adicionado con un nivel de confianza del 99 %.

**Gráfica 2.** Linealidad del método al 100%



La gráfica 2 representa la linealidad del método a los niveles de 80%, 90%, 100%, 110%, y 120%, cada punto representa un nivel con la desviación de las 3 muestras.

**Tabla VIII.** Tabla de criterios de aceptación para la linealidad del método al 100%

CRITERIO DE ACEPTACIÓN	RESULTADO	CUMPLE
Coeficiente de determinación debe ser mayor a 0.98	0.999218	SI
Intervalo de confianza de la pendiente debe incluir la unidad	0.9829 a 1.15058	SI
Intervalo de confianza de la ordenada al origen debe incluir el cero	-1.010 a 0.9873	SI
El coeficiente de variación de la regresión no debe ser mayor al 2%	0.3919	SI
La F calculada debe ser mayor a la F de tablas	16619.1523 > 9.07	SI

El método de valoración de ZnO cumple con los criterios de aceptación para la linealidad del método cuando se realiza como se indica en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 7<sup>a</sup> edición.

#### 8.4 RESULTADOS DE LINEALIDAD DEL METODO AL 10%

A continuación se muestran los resultados de la linealidad del método al 10%, mostrando la tabla de análisis de varianza, la grafica del % adicionado vs % recuperado y la tabla de criterios de aceptación.

**Tabla IX.** Tabla de análisis de varianza de linealidad del método al 10%

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	0.00629609	1	0.00629609	3278.59	0.0000
Residual	0.0000249647	13	0.00000192036		
Total (Corr.)	0.00632105	14			

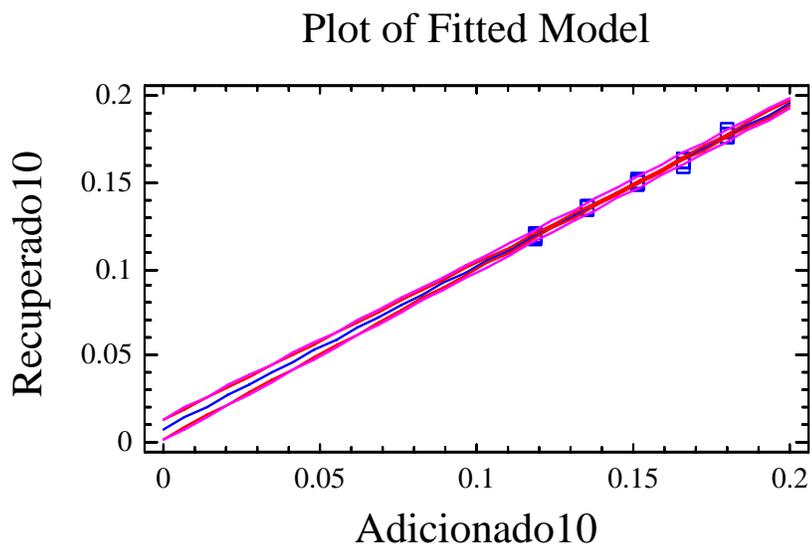
El valor de F obtenido de tablas es de 9.07  
 $F(glr, gler, 0.01) = 9.07$

La F calculada es de 3278.59, siendo mayor que la F de tablas nos indica que existe una relación altamente significativa entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada

El valor de P mostrado en la tabla de análisis de varianza es menor a 0.01, por lo que se concluye que existe una relación estadísticamente significativa entre el % recuperado y el % adicionado con un nivel de confianza del 99 %.

En la grafica 3 se muestra la linealidad del método a los niveles de 80%, 90%, 100%, 110% y 120%, cada punto representa un nivel con cada la desviación de las 3 muestras correspondientes.

**Gráfica 3.** Linealidad del método al 10%



**Tabla X.** Tabla de criterios de aceptación para la linealidad del método al 100%

CRITERIO DE ACEPTACIÓN	RESULTADO	CUMPLE
Coeficiente de determinación debe ser mayor a 0.98	0.99605	SI
Intervalo de confianza de la pendiente debe incluir la unidad	0.9816 a 1.01026	SI
Intervalo de confianza de la ordenada al origen debe incluir el cero	-0.9968 a 0.9952	SI
El coeficiente de variación de la regresión no debe ser mayor al 2%	0.93008	SI
La F calculada debe ser mayor a la F	3278.59 > 9.07	SI

---



---

de tablas

---

El método de valoración de óxido de Zinc cumple con los criterios de aceptación para la linealidad del método cuando se realiza con la técnica escalada al 10%.

### 8.5 EXACTITUD DEL METODO (100% Y 10%)

La siguiente tabla muestra los resultados de la exactitud en la validación del método obtenido a partir de 6 muestras independientes

**Tabla XI.** Criterios de aceptación para la exactitud del método al 100% y 10%

CRITERIO DE ACEPTACIÓN	RESULTADO	CUMPLE
<b>NIVEL 100%</b>		
El intervalo de confianza del recobro debe incluir el promedio aritmético	Promedio = 1.50473 Intervalo = 1.5070 a 1.5024	SI
El C.V. del % del recobro debe ser menor o igual al 2%	0.146793%	SI
<b>NIVEL 10%</b>		
El intervalo de confianza del recobro debe incluir el promedio aritmético	Promedio = 0.151827 Intervalo = 0.1530 a 0.1505	SI
El C.V. del % del recobro debe ser menor o igual al 2%	0.77154%	SI

---



---

En la tabla XI se muestran los resultados y los criterios de aceptación para la exactitud cuando el método se desarrolla en forma convencional y cuando se realiza con el método escalado al 10%, se muestran juntos para facilitar la comparación de los resultados.

En ambos casos se observa que el intervalo de confianza del recobro incluye el promedio aritmético, los intervalos de confianza son calculados con el estadígrafo de contraste t de student, esta herramienta es útil al comparar dos medias o dos grupos de datos.

El coeficiente de variación del recobro no excede el 2% en ambos casos, por lo que cumple con ese parámetro para la exactitud.

El propósito de la exactitud es verificar la concordancia entre el valor experimental (cantidad recuperada) con su verdadero valor (cantidad adicionada), al desarrollar el método al 100 y al 10 % existe una concordancia entre la cantidad adicionada y la cantidad recuperada.

## 8.6 PRECISIÓN DEL MÉTODO

### 8.6.1 REPETIBILIDAD (100% Y 10%)

Existen diversas formas de evaluar la repetibilidad de un método analítico, de hecho, puede ser evaluada con los datos obtenidos en la exactitud, ya que ambos se encargan de medir la concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica bajo las mismas condiciones de trabajo, sin embargo, en este caso se empleó uno de los métodos propuestos en las guías de la International Conference On Harmonization (ICH Q2A Y Q2B) haciendo 3

repeticiones de 3 niveles de concentraciones, se calculó el coeficiente de variación obteniendo los siguientes resultados.

**Tabla XII.** Repetibilidad

CRITERIO DE ACEPTACIÓN	RESULTADO	CUMPLE
<b>NIVEL 100%</b>		
El coeficiente de variación total no debe exceder el 2%	0.921532	SI
<b>NIVEL 10%</b>		
El coeficiente de variación total no debe exceder el 2%	0.762262	SI

En la tabla XII se muestran los resultados de la repetibilidad del método al 100% y 10% donde se observa que ambos métodos cumplen con el criterio de aceptación, ya que en ninguno de los casos el coeficiente de variación (C.V.) es mayor a 2%.

El coeficiente de variación es una medida de dispersión relativa, ya que está exenta de unidades, debido a esta propiedad, el coeficiente de variación (C.V.) es la forma mas adecuada de medir la variabilidad de dos conjuntos de datos.

Los resultados presentados muestran que existe una variabilidad de menos del 2% cuando se realiza el método al 100 y al 10%.

#### 8.6.2 PRECISIÓN INTERMEDIA (100% Y 10%)

La precisión intermedia se realizó por dos diferentes analistas en dos diferentes días, con pesadas independientes en cada muestra por triplicado, de donde se derivan los siguientes resultados.

**Tabla XIII.** Tabla de criterios de aceptación de la precisión intermedia al 100% y 10%

CRITERIO DE ACEPTACIÓN	RESULTADO	CUMPLE
<b>NIVEL 100%</b>		
El coeficiente de variación debe ser menor al 2%	0.517925	SI
<b>NIVEL 10%</b>		
El coeficiente de variación debe ser menor al 2%	0.954237	SI

Se cumple con el criterio de aceptación para la precisión intermedia (Inter-día, Inter-analista) de ambos métodos.

## 8.7 ROBUSTEZ DEL MÉTODO

Ya que la robustez de un método analítico representa su capacidad para proporcionar resultados confiables al realizar cambios internos en los parámetros del método, en este caso se realizó el cambio deliberado de lote de ácido (lote de  $H_2SO_4$ ) y de base (NaOH), ya que son los cambios más comunes que pueden ocurrir en la práctica común.

**TABLA XIV.** Tabla de criterios de aceptación de la robustez del método al 100% y 10 % cambiando el ácido

CRITERIO DE ACEPTACIÓN	RESULTADO	CUMPLE
<b>NIVEL 100%</b>		
La diferencia absoluta de la media aritmética de la condición dada, respecto a la media de la condición normal no debe ser mayor de 3%	0.793880	SI
<b>NIVEL 10%</b>		
La diferencia absoluta de la media aritmética de la condición dada, respecto a la media de la condición normal no debe ser mayor de 3%	2.594302	SI

**Tabla XV.** Tabla de criterios de aceptación de la robustez del método al 100% y 10 % cambiando la base.

CRITERIO DE ACEPTACIÓN	RESULTADO	CUMPLE
<b>NIVEL 100%</b>		
La diferencia absoluta de la media aritmética de la condición dada, respecto a la media de la condición normal no debe ser mayor de 3%	2.2850	SI

**NIVEL 10%**

La diferencia absoluta de la media aritmética de la condición dada, respecto a la media de la condición normal no debe ser mayor de 3%	1.9199	SI
--	--------	----

---

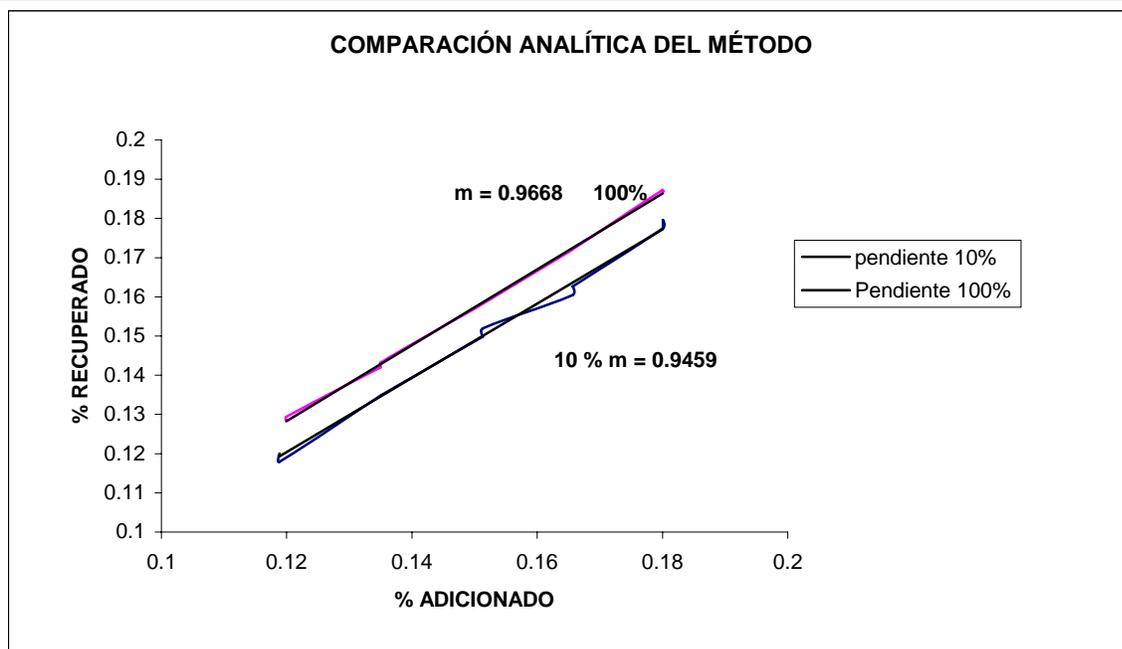
Se cumple con el criterio de aceptación para la robustez del método cuando se realiza al 100% y al 10%, ya que la diferencia absoluta de la media aritmética de la condición dada, respecto a la media de la condición normal no es mayor al 3%, sin embargo se recomienda ser cuidadosos al hacer el cambio de lote de reactivos, ya que los valores obtenidos son altos para el ácido al 100% y para la base al 10%.

Las tablas XI, XII, XIII, XIV y XV muestran una comparación entre ambos métodos, donde se puede observar que los criterios para cada parámetro evaluado se encuentran dentro del rango de aceptación.

**8.8 COMPARACIÓN ANALÍTICA DE LOS MÉTODOS**

En la gráfica cuatro se muestra la comparación de las pendientes obtenidas con la linealidad de ambos métodos.

**Gráfica 4.** Comparación analítica de los métodos



Se graficó el % recuperado vs % adicionado, para observar una comparación entre ambas rectas, los valores obtenidos en el método al 100% se dividieron entre 10 para tener la misma escala en ambos métodos.

**Tabla XVI.** Comparación analítica de los métodos.

	Pendiente	Error
100%	0.9668	0.0061672
10%	0.9459	0.0013210

La pendiente es uno de los coeficientes de regresión, la cual nos indica cuanto aumenta Y por cada aumento de una unidad de X, como se muestra en la tabla XVI y en la gráfica 4 las pendientes de ambas rectas son similares por lo que el aumento de valor de Y cuando aumenta X es similar.

El error estándar muestra la desviación estándar del residual que es el valor observado de las variables dependiente y el valor predicho empleando la ecuación de regresión, como se puede observar en la tabla xv el error es muy poco.

## 8.9 COMPARACIÓN DE COSTOS DE LOS METODOS

Uno de los objetivos planteados al inicio fue, una vez escalada la técnica farmacopeica evaluar el ahorro económico que representa el escalar la técnica y así poder ver uno de sus beneficios reales

**Tabla XVII.** Tabla de comparación de costos del método al 100% y 10%

Reactivo	Cantidad utilizada al 100%	Costo en la valoración al 100% (USD)	Cantidad utilizada al 10%	Costo en la valoración al 10% (USD)
Óxido de Zinc	5 g	3.5	0.5 g	0.35
Cloruro de Amonio	8 g	7.9	0.8 g	0.79
Ácido Sulfúrico	30 mL	0.5196	3mL	0.05196
Hidróxido de Sodio	81 g	4.58	8.1 g	0.458
<b>TOTAL</b>		<b>16.4996</b>		<b>1.64996</b>

Datos obtenidos del catálogo Aldrich 2003-2004

Para construir la tabla XVII se redondeó la cantidad de reactivos que se requiere para realizar la valoración por triplicado de ZnO con base en la cantidad de reactivos que se emplearon durante el estudio, se obtuvo la equivalencia del precio a esa cantidad de reactivos según los costos mostrados en el catálogo Aldrich 2003-2004.

En la tabla XVII se observa que la reducción de costos en este caso es del 90%, lo que implica una reducción radical de costos de operación en el ahorro de sustancias químicas.

Actualmente el material para microescala con juntas ensamblables (muchas de ellas no sólo esmeriladas, sino con rosca) son

relativamente más costosos que los convencionales, pero conforme aumente su demanda y consecuentemente la competencia entre los diferentes fabricantes, sus costos bajarán apreciablemente. A pesar de esto, en química analítica no es necesario adquirir material especial para microescala, ya que se puede realizar eficazmente con el material con el que cuenta comúnmente un laboratorio.

Indirectamente los costos también se reducen ya que la fragilidad del material pequeño es menor porque el grosor del vidrio es algo mayor y la resistencia mecánica en las piezas pequeñas es más alta.

#### 8.10 COMPARACION DE GENERACIÓN DE DESECHOS DE AMBOS METODOS

**Tabla XVIII** Comparación de generación de desechos del método al 100% y 10%

---

---

Reactivo	Cantidad utilizada al 100%	Cantidad utilizada al 10%
Ácido sulfúrico	150 mL	15 mL
Hidróxido de sodio	48 mL	4.8 mL
Total	198 mL	19.8 mL

---

---

Los reactivos empleados en la valoración de ZnO son Cloruro de Amonio, Soluciones indicadoras, ácido sulfúrico, e hidróxido de sodio; ya que es una valoración volumétrica por retroceso se emplea una cantidad exacta establecida de 50 mL del reactivo en exceso ( $H_2SO_4$ ) y

un volumen variable del reactivo valorante (NaOH) que es aproximadamente de 16 mL por cada valoración, se consideran como desechos solo estos dos volúmenes ya que las otras sustancias (ZnO, Cloruro de Amonio, soluciones indicadoras) se encuentran disueltas aquí.

Al realizar la valoración en un análisis normal por triplicado tenemos un volumen de 50 mL de  $H_2SO_4$  y 48 mL de NaOH, lo que nos da un total de 198 mL de desechos, sin embargo al utilizar el método escala al 10% tenemos un volumen total de desechos de 19.8 mL, lo que implica una reducción de desechos del 90%.

Los beneficios de esta reducción de desechos se puede ver reflejada en diferentes ámbitos. Económicamente es menos costosa la eliminación de desechos, la probabilidad de accidentes es menor, y el ambiente del laboratorio mejora al tener menor exposición a los compuestos tóxicos.



## 9. CONCLUSIONES

- Se escaló a un 10% la técnica para la cuantificación de óxido de zinc, con respecto a la técnica farmacopéica.
- Ambos métodos validados son lineales, exáctos, reproducibles y repetibles en el rango de 80 a 120%
- Es posible emplear indistintamente cualquiera de los dos métodos en la valoración de Óxido de Zinc.
- El ahorro económico de recursos es del 90%, al igual que la reducción en la generación de desechos.

---

---

## 10. REFERENCIAS

1. Jeannie Stell, Microscale Chemistry, Journally Speaking , Oil & Gas Journal, Oct 8 2001: 99, 41, pagina 17.
2. Zsafran Zvi, Pike Ronald M Singh, Mono M. Microscale Inorganic Chemistry, Ed JHON WILEY & SONS, ICC, U.S.A. 1991.
3. Universidad Iberoamericana (En línea) Centro Mexicano de Química en Microescala, Departamento de Ingeniería y Ciencias Químicas (México) 1990, fecha de acceso: octubre 2004  
[www.uia.mx/ibero/oacademica/posgrado/ciencias/cienquimi/microescala](http://www.uia.mx/ibero/oacademica/posgrado/ciencias/cienquimi/microescala)
4. PAPIME EN215403 "Implementación de técnicas en microescala en la enseñanza experimental de química en los laboratorios de docencia de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.
5. THE MERCK INDEX on CD-ROM versión 12:1, Content copyright© 1996 by Merck & Co., Inc., Whitehouse Station,NJ, USA.
6. Handbook of pharmaceutical excipients, Arthur H. Kibbe, Ph. 3ra ed. American Pharmaceutical Association and Pharmaceutical Press, 2000.
7. Mortimer Charles E, Química. Editorial, Grupo Editorial Iberoamericana S. A. de C.V. México D.F. 1997.
8. Vademécum Farmacéutico, Información Profesional Especializada S.A. de C.V., Versión digital 2000 9ª. Edición, Rezza Editores, S.A. de C.V. <<E:\Vademecum\vademecum.htm>>

- 
- 
9. Diccionario de especialidades Farmacéuticas, PLM®, DEF 45, México Versión Digital, 2000.
  10. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, Secretaria de Salud, 7ª. Edición, publicaciones e impresiones de calidad, S.A. de C.V. México D.F. 2000.
  11. Day R. A. Jr. Química analítica cuantitativa, 5ta. Edición Prentice – Hall Hispanoamericana, México 1989.
  12. Skoog, Douglas A. et.al. Fundamentos de Química analítica, 4ª. Edición, editorial Reverte, Barcelona, 2000.
  13. Connors Kenneth A. Curso de Análisis Farmacéutico (ensayo del medicamento) Reverte, S.A. España 1981.
  14. Skoog, Douglas A. et.al. Química analítica 7ª. Edición, editorial McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A de C.V., México 2000.
  15. Trullols Esther, Ruiz Sánchez Itzar, Rius Xavier, validation of qualitative analytical methods, Trends in Analytical Chemistry, Vol. 23, No. 2, 2004, pags. 137-145.
  16. Roger Wood, How to validate analytical methods, trends in analytical chemistry, vol. 18, nos. 9+10, 1999, pags. 624-633. 2001.
  17. Validación de métodos analíticos, resumen del curso impartido por la AFM en febrero del 2001, Informaceutico, No. 45, 2001, pags. 45-51.
  18. The United States Pharmacopeia 25, The National Formulary 20, United states Pharmacopeia Convention, INC., Toronto canada,
- 
-

- 
- 
19. Pradeau Dominique, Análisis Químicos Farmacéuticos de Medicamentos, ed UTEHA Noriega Editores, MÉXICO 1998.
  20. International Conference On Harmonisation Of Technical, Text On Validation Of Analytical Procedures Q2A, ICH Steering Committee, 1994.
  21. International Conference On Harmonisation Of Technical Validation Of Analytical Procedures: Methodology, Q2B, ICH Steering Committee, 1996.
  22. Aldrich, Manual de Químicos finos y equipos de laboratorio, Sigma-Aldrich Química, S.A de C.V. México 2003-2004.
  23. Márquez Dos Santos Ma. Jose , Estadística para ciencias químico biológicas, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza UNAM, México 2004.
  24. NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-1993 prácticas de fabricación para establecimientos de la industria químico farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos, Secretaria de salud.