



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

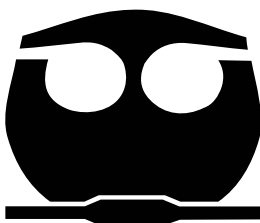
**VALIDACIÓN DE UNA METODOLOGÍA PARA  
LA CUANTIFICACIÓN DE CEFADROXILO EN  
TABLETAS UTILIZANDO LA TÉCNICA DE  
ESPECTROSCOPIA UV-VIS.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTA**

**LILIA DEL CARMEN LÓPEZ SERRANO**



**MÉXICO, D. F.**

**2007**



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.

## **Jurado asignado**

<b>Presidente</b>	Prof. Francisco Rojo Callejas
<b>Vocal</b>	Prof. Adolfo García Osuna
<b>Secretario</b>	Profa. Georgina Artemisa Duarte Lisci
<b>1<sup>er</sup>. Suplente</b>	Prof. Ricardo Rodríguez Sáenz
<b>2<sup>o</sup>. Suplente</b>	Prof. Raúl Lugo Villegas

### **Sitio en el que se desarrolló el tema:**

Departamento de Química Analítica  
Edificio "A" Laboratorio 3B y 3F.  
Facultad de Química Cd. Universitaria.

### **Asesor del tema**

-----

Q. Adolfo García Osuna

### **Supervisor técnico**

-----

Q.F.B. Silvia Mendoza Arellano

### **Sustentante**

-----

Lilia del Carmen López Serrano

# *Agradecimientos*

## *A mi Familia:*

*A mi papá Mario López Flores  
y a mi mamá Lilia Serrano Bermúdez*

*porque como ya deben saberlo son la mayor parte de mi fuerza de cada día son quienes han hecho de mi lo que soy y lo que seré, para ti papá porque somos tan distintos porque nos parecemos tanto, para ti mamá porque eres la paciencia y la esperanza cuando siento que ya no puedo más. A mi hermano Mario por ser la parte más loca y divertida de mi vida y más que nada gracias por ser mi hermano. A mis abuelos y abuelas Tomás (†), Guadalupe, Carmen y Esteban (†) pues gracias a ustedes tengo los papás más maravillosos. A mis tías y tíos Catalina (gracias por todas tus oraciones y cariño por mi), Maria Esther (gracias por tu apoyo y cariño), Jesús, Esteban, Cesar, Patricia y Enrique por todos los momentos que han compartido a mi lado. A mis primos y primas, en especial a Luis Esteban y Alma Yolotzin por hacerme sonreír tanto y por ser casi mis mueganitos. A Mechita por ser siempre mi compañera canina. Gracias a ustedes se lo que es ser amada*

*A la Universidad Nacional Autónoma de México*

*A la E.N.P. 5 José Vasconcelos mi querida prepa de Coapa*

*A la Facultad de Química*

*a estas tres por tantos recuerdos tan dulces*

## *A mis profesores*

*Maria Concepción Castañeda Salas, Miguel Cisneros, por enseñarme el valor del conocimiento.*

*Mi tutor Adolfo García Osuna por toda la dedicación prestada a mi trabajo, por el apoyo, la amistad y la confianza.*

*A mi supervisora técnica Silvia Mendoza Arellano por la convivencia, el apoyo, la amistad y el estímulo, por hacer sentir la escuela como un segundo hogar.*

*A la profesora Ernestina Cervera Flores por su amistad y confianza*

## *A mis amigos*

*Alejandra, Vanesa, Erika, Clara, Guadalupe, Daniel, Fernando, Charly, Oscar, Claudia, Marquelia, Mónica, Paola, Lulu, Jenni,*

*América, Angélica, Demetrio, Alberto, Roberto, Alfredo. Edgar, Mayell, Susana, Adriana, Elizabeth, Alma Delia quienes además de amigos han sido mis compañeros de estudio y que han hecho mi vida más alegre y porque además de mi familia agradezco que sean también parte de mi vida. Gracias por todo lo que he aprendido de ustedes.*

*“Perseverancia no es una larga carrera son muchas carreras una a la vez.”Walter Elliott*

*“La peor tragedia de la vida, es negarle la posibilidad de ser bella”. Roberto Beligni*

## ÍNDICE

	Página
CAPÍTULO I	
INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	1
CAPÍTULO II. ANTECEDENTES TEÓRICOS	5
INTRODUCCIÓN DE ANTIBIÓTICOS	6
CEFADROXILO	10
ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA	15
VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO	26
CAPÍTULO III. DESARROLLO EXPERIMENTAL	35
EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS	36
SISTEMA	38
MÉTODO	40
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	50
SISTEMA	
CONDICIONES ÓPTIMAS DE TRABAJO	51
LINEALIDAD DE SISTEMA	52
PRECISIÓN DE SISTEMA	55
ESTABILIDAD	56
MÉTODO	
CONDICIONES ÓPTIMAS DE TRABAJO	60
PRECISIÓN DE MÉTODO	
REPETIBILIDAD	62
REPRODUCIBILIDAD	66
RECOBRO	69
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES	70
CAPÍTULO VI BIBLIOGRAFÍA	73
ANEXOS	76
ANEXO I	77
ANEXO II	85
ANEXO III	88
ANEXO IV	92
ANEXO V	96
ANEXO VI	99





# CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS





---

---

## INTRODUCCIÓN

Las cefalosporinas fueron descubiertas en 1945 por Giuseppe Brotzu cuando este analizó el agua del golfo de Cagliari. En el agua el doctor Brotzu descubrió la presencia de un hongo microscópico al que denominó *Cephalosporium acremonium*, del filtrado obtenido después del cultivo de este hongo logró identificar tres compuestos con actividad antibiótica, las cefalosporinas C, P y N. Una vez que se determinó la estructura de la cefalosporina C se inició el auge de las cefalosporinas pues se comenzaron a sintetizar en gran medida realizando cambios en los sustituyentes de la cefalosporina C. El cefadroxilo monohidratado es un antibiótico que pertenece al grupo de las cefalosporinas semisintéticas de 1ª generación. Se puede describir como un polvo blanco finamente dividido, soluble en agua y etanol que absorbe radiación ultravioleta a 263nm. Tiene un peso molecular de 363,4 g/mol, un punto de ebullición de 197°C. Es utilizado en el tratamiento de enfermedades causadas por cocos grampositivos ya sea infecciones de la piel o tejido blando, además de ser utilizado en cirugía torácica, ortopédica y abdominal. Su mecanismo de acción es a través de la inhibición de la síntesis de la pared celular en los microorganismos.

En la industria Farmacéutica es necesario usar métodos analíticos confiables que permitan la cuantificación de los principios activos en una formulación. Para asegurar la confiabilidad de los métodos analíticos estos se deben someter a un proceso de validación, mediante este proceso se comprueba si el método es lo suficientemente confiable para su uso. En México la NOM-059-SSA1-1993 y la NOM-164-SSA1-1998 hacen referencia a la validación pues actualmente no hay una norma específica de validación. De estas normas se plantea que se validan métodos para asegurar que un procedimiento, técnica, instrumento, software, analista o método analítico hace apropiadamente las mediciones con los requerimientos de precisión y exactitud establecidos, siendo fundamental el desarrollo metodológico en una técnica de análisis para el Control de Calidad de una forma farmacéutica.

La química analítica instrumental actualmente es una herramienta muy utilizada para el análisis cualitativo y cuantitativo de compuestos que se encuentran en muestras. Entre las técnicas de análisis instrumental una de las más utilizadas es la espectroscopia ultravioleta-visible. La espectroscopia ultravioleta es una técnica que puede ser utilizada para la cuantificación e identificación de sustancias químicas que se encuentran contenidas en una forma farmacéutica; debido a los grupos cromóforos que contiene la estructura del cefadroxilo, esta técnica permite su análisis en tabletas, además de que la técnica permite realizar un análisis sencillo y rápido de muestras que contengan este principio activo.



Para realizar una validación de una técnica y del método se consideraron los siguientes puntos a realizar:

Para el caso de sistema:

- Condiciones óptimas de trabajo
- Linealidad
- Precisión
- Estabilidad

Para el caso de la metodología desarrollada:

- Condiciones óptimas de trabajo
- Precisión (repetibilidad)
- Precisión (reproducibilidad)
- Recobro

Además, en este trabajo experimental se buscó reducir la cantidad de residuos generados optimizando la metodología para muestras más pequeñas.



---

---

## OBJETIVOS

- Diseñar la metodología de extracción del principio activo cefadroxilo de la forma farmacéutica (tableta).
  
- Optimizar las condiciones de trabajo de la espectroscopia ultravioleta visible.
  
- Realizar la validación de la técnica de espectroscopia ultravioleta visible evaluando la linealidad del sistema, la precisión del sistema y la estabilidad de los estándares.
  
- Realizar la validación de la metodología en términos de repetibilidad, reproducibilidad y recobro.



# CAPÍTULO II

## ANTECEDENTES TEÓRICOS



## INTRODUCCIÓN DE ANTIBIÓTICOS<sup>1,2,3,4,5</sup>

El uso de los agentes antimicrobianos se remonta a los chinos que utilizaban una cáscara enmohecida para el tratamiento de carbuncos y forúnculos. En 1877 se reconoció la utilidad de los microorganismos como agentes terapéuticos. La llamada edad de oro de los antibióticos comienza en 1941 con la producción de la penicilina y su utilización con buenos resultados en la terapéutica antimicrobiana.

Un antibiótico es una sustancia producida por microorganismos o bien obtenidos de manera sintética y que suprimen el crecimiento de microorganismos. Muchas veces se usa de manera indistinta un antimicrobiano como antibiótico o agente quimioterapéutico.

Por el mecanismo de acción de los antibióticos se clasifican en dos grandes grupos:

- ◆ Bacteriostáticos que son aquellos que inhiben la multiplicación de los microorganismos, pero que una vez que cesa el tratamiento se reanuda el crecimiento microbiano.
- ◆ Bactericidas, que destruyen a los microorganismos pero de manera irreversible.

De manera general los antibióticos se pueden clasificar de la siguiente manera:

- ◆ Antibióticos que inhiben la síntesis de la pared celular
- ◆ Antibióticos que ejercen su acción a través de la membrana celular y afectan su permeabilidad.
- ◆ Fármacos que inhiben la síntesis proteica.
- ◆ Fármacos que inhiben la síntesis de los ácidos nucleicos.

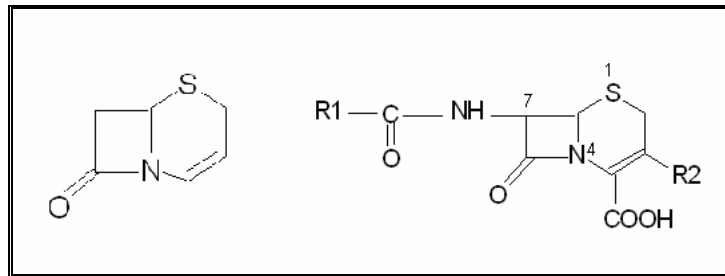
Las cefalosporinas son un grupo de antibióticos que se clasifican como agentes que inhiben la síntesis de la pared celular.

### CLASIFICACIÓN DE LAS CEFALOSPORINAS

Además de inhibir la síntesis de la pared celular, las cefalosporinas son un grupo de antibióticos que se clasifican como betalactámicos debido a su estructura que es muy semejante a la estructura de las penicilinas. Las cefalosporinas deben su nombre a la fuente de la cual se obtuvieron inicialmente. Fue en 1948 cuando el doctor Giuseppe Brotzu fijó su atención en un microorganismo que posteriormente determinó era productor de agentes

antimicrobianos. El microorganismo que aisló de las aguas del golfo de Cagliari es el hongo microscópico *Cephalosporium acremonium*. Este hongo procedía de las aguas negras descargadas al mar.

El doctor Brotzu realizó pruebas con el hongo aislado utilizando diferentes microorganismos para establecer si había o no actividad antimicrobiana. Después de realizar las pruebas Brotzu verificó que los filtrados realizados del cultivo del hongo tenían actividad antimicrobiana para el *Staphylococcus aureus*, se podía utilizar además para el tratamiento de fiebre tifoidea e infecciones por estafilococos. Cuando el doctor Brotzu realizó el análisis del líquido donde se cultivó el hongo logró identificar tres compuestos diferentes, los tres tenían actividad como antibióticos. Estos tres antibióticos los llamó cefalosporinas P, N y C. De estos compuestos además se identificó que parte de la estructura era en la que residía la actividad antimicrobiana de las cefalosporinas. El núcleo activo era el ácido 7-aminocefalosporánico (figura 1.1), además es la estructura de las moléculas de cefalosporinas. Dentro de este núcleo activo se reconoce una subestructura que recibe el nombre de núcleo Cefem el cual se muestra también en la figura 1.1.



**Fig. 1.1 Núcleo Cefem (a la izquierda de la imagen) y anillo 7-amino cefalosporánico(derecha).**

Una vez establecidas, el desarrollo de las cefalosporinas tuvo gran auge pues sobre el núcleo activo solamente se realizaron modificaciones en los sustituyentes obteniendo así gran variedad de compuestos semisintéticos comenzando a generarse en gran medida una variedad de cefalosporinas utilizadas para el tratamiento de diferentes padecimientos, en especial; para enfermedades infecciosas. Además del hecho que las cefalosporinas eran resistentes a las penicilasas lo que les confería ventaja para ser utilizadas en lugar de las penicilinas. En la tabla 1.1 observamos diferentes cefalosporinas, cuya única diferencia estructural radica en los sustituyentes R1 y R2.

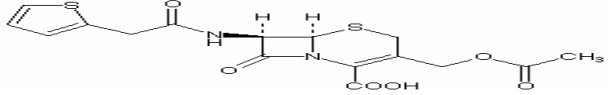
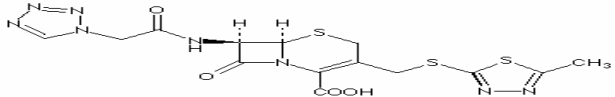
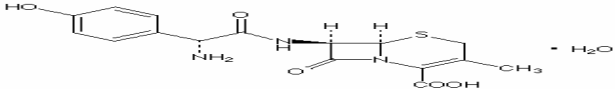
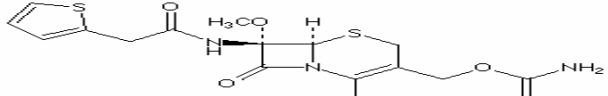
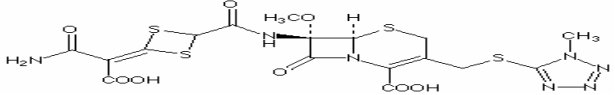
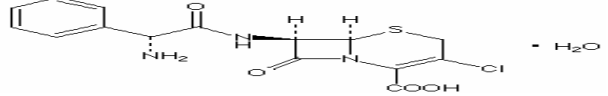
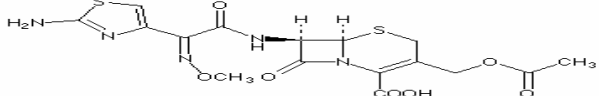
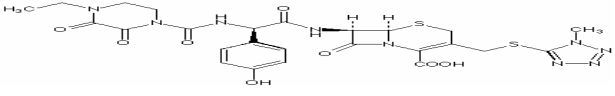
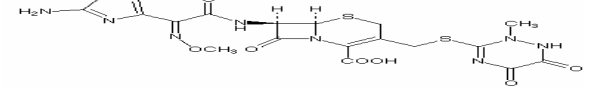
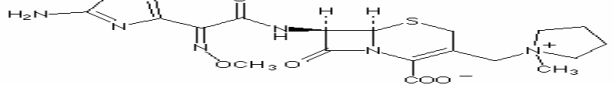
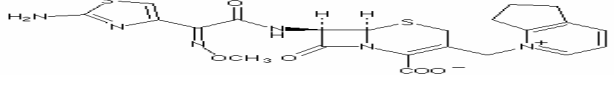
CEFALOSPORINAS	
NOMBRE	ESTRUCTURA QUÍMICA
<b>PRIMERA GENERACIÓN</b>	Cefalotin 
	Cefazolina 
	Cefadroxilo 
<b>SEGUNDA GENERACIÓN</b>	Cefoxitina 
	Cefotetan 
	Cefaclor 
<b>TERCERA GENERACIÓN</b>	Cefotaxima 
	Cefoperazona 
	Ceftriaxona 
<b>CUARTA GENERACIÓN</b>	Cefepima 
	Cefpiroma 

Tabla 1.1 Estructura y nombre de algunas cefalosporinas.



Las cefalosporinas se clasifican en cuatro generaciones. Esta clasificación por generaciones se basa en características generales de acción antimicrobiana. La primera generación de cefalosporinas como lo son la cefalotina, la cefazolina y el cefadroxilo tienen actividad antimicrobiana contra bacterias grampositivas y actividad antimicrobiana moderada contra bacterias gramnegativas.

A la segunda generación de cefalosporinas pertenecen la cefoxitina, el cefotetán y cefaclor, compuestos mucho más eficaces contra bacterias gramnegativas.

Las cefalosporinas de la tercera generación por su parte, son menos activas que las cefalosporinas de primera generación contra bacterias grampositivas, sin embargo son mucho más activas como antimicrobianos sobre microorganismos de la familia Enterobacteriaceae incluyendo cepas productoras de betalactamasas. A esta tercera generación de cefalosporinas pertenecen la cefotaxima, cefoperazona y la ceftriaxona.

Las cefalosporinas que pertenecen a la cuarta generación como la cefepima, la cefpiroma y la cefquinona; presentan un amplio espectro de acción antimicrobiana. Son mucho más útiles en el tratamiento de infecciones causadas por bacilos gramnegativos aerobios que resisten las cefalosporinas de tercera generación. Otras de las ventajas terapéuticas de las cefalosporinas de cuarta generación son:

1. Grupo betalactámico más estable.
2. Mayor resistencia a betalactamasas.
3. Mayor penetración celular.
4. Mayor actividad antipseudomona.

Algunas cefalosporinas penetran en el líquido cefalorraquídeo a concentración suficiente para ser útiles en el tratamiento de meningitis; las cefalosporinas también cruzan la placenta; aparecen en grandes concentraciones en el líquido sinovial y en el pericárdico.



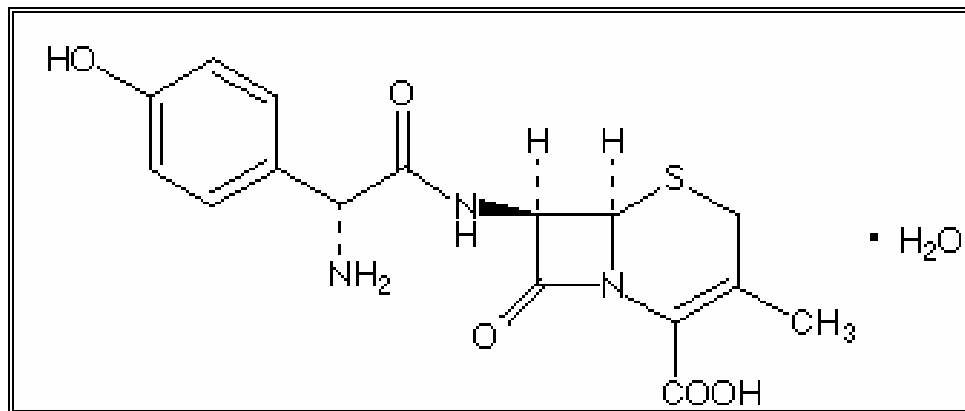
## CEFADROXILO <sup>4, 6, 7, 8, 9,10, 11</sup>

### PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL CEFADROXILO

El cefadroxilo es un polvo fino de color blanco que puede encontrarse como cefadroxilo monohidratado y como cefadroxilo anhidro, es soluble en agua (su solubilidad en agua es de 1110mg/L) además de ser ligeramente soluble en metanol, tiene un peso molecular de 381,4g/mol, un punto de ebullición de 197°C, presenta tres protonaciones con  $pK_{a1}= 2,64$  (que corresponde al ácido carboxílico),  $pK_{a2}= 7,30$  (que corresponde al grupo  $\alpha$  amino) y un tercer  $pK_{a3}= 9,69$  (correspondiente al grupo fenólico); se clasifica como agente antimicrobiano. Su fórmula molecular es  $C_{16}H_{17}N_3O_5S$  y su nombre químico IUPAQ es:

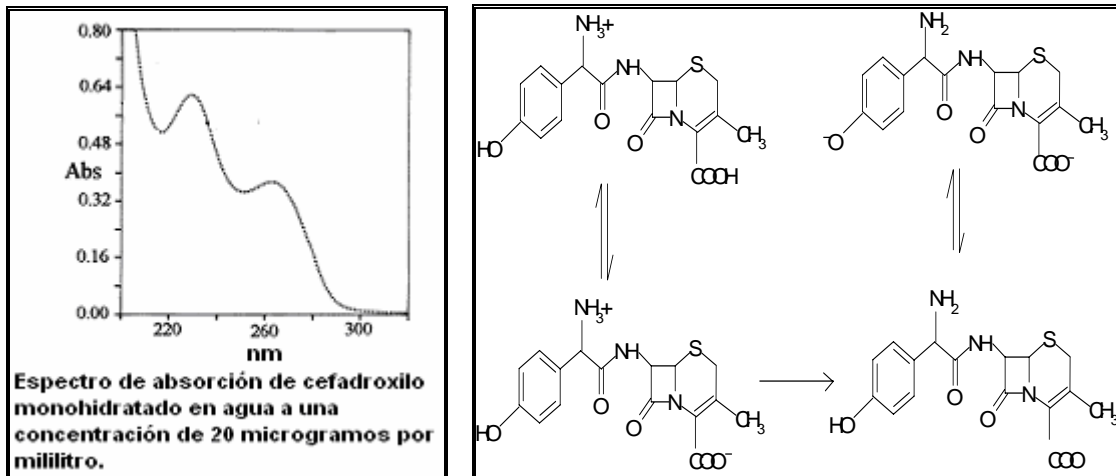
**ácido-8-[2-amino-2-(4-hidroxifenil)-acetil]-amino-4-metil-7-oxo-2-tia-6-azabicyclo-[4.2.0]-oct-4-ene-5-carboxílico**

En la figura 1.2 se presenta la estructura del cefadroxilo monohidratado.



**Fig. 1.2 Cefadroxilo monohidratado.<sup>4</sup>**

Absorbe en la región ultravioleta del espectro electromagnético a 263nm en agua destilada. La catálisis ácida o básica ocurre utilizando buffer de citrato y de fosfatos. En la figura 1.3 se aprecia el espectro de cefadroxilo reportado en la bibliografía y las modificaciones estructurales del cefadroxilo cuando se modifica el pH.



**Fig. 1.3 Espectro reportado en la bibliografía del cefadroxilo y estructura de cefadroxilo a diferentes valores de pH.**

En solución acuosa la degradación del cefadroxilo resulta en la ruptura de una parte del anillo  $\beta$ -lactámico por tres mecanismos que ocurren de manera paralela:

1. Aminólisis intramolecular.
2. Hidrólisis catalizada por agua.
3. Ataque nucleofílico por un ión hidróxido ( $\text{OH}^-$ ).

En el intervalo de pH de 2 a 10, el cefadroxilo existe en 4 formas diferentes; como catión, como zwitterión, como anión y como dianión.

Su nombre genérico es cefadroxilo y tiene como sinónimos los siguientes nombres (entre otros más):

1. Bidocef.
2. Cefa-drops.
3. Cefamox.
4. Duracef.
5. Duricef.

Los excipientes que se utilizan en la manufactura de las tabletas de cefadroxilo monohidratado son celulosa microcristalina, hidroxipropilmetilcelulosa y estearato de magnesio.

## MECANISMO DE ACCIÓN

El mecanismo de acción del cefadroxilo como antibiótico betalactámico es la inhibición de la D-alanina transpeptidasa utilizada en la síntesis de cadenas de péptidoglicano disminuyendo la estabilidad de la célula. Se produce un aumento en la permeabilidad celular se causa plasmólisis y finalmente muerte celular. Durante la biosíntesis de la pared celular, el ácido N-acetilmurámico y el dipéptido D-alanina-D-alanina se unen con uridin-difosfato(UDP) en el citoplasma formando así un polipéptido que conforma la mayor parte de la estructura de la pared celular. En la figura 1.4 se presenta un esquema que explica las uniones entre las diferentes moléculas que conforman la pared celular de las bacterias.

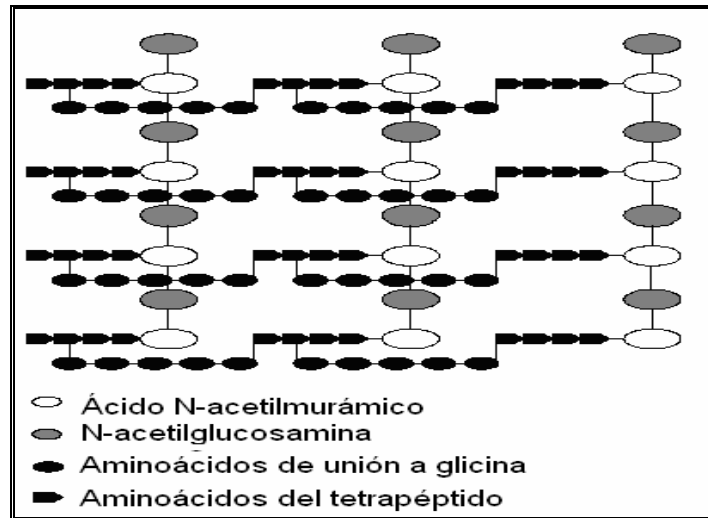


Fig. 1.4. Estructura del peptidoglicano.

## FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA

El cefadroxilo se absorbe rápidamente después de su administración oral. A dosis única de 500mg y 1 000mg alcanza concentraciones en suero máximas aproximadas de 16 y 28 microgramos por mililitro respectivamente. Se obtienen niveles detectables hasta 12 horas después de administrarse. Las características en la absorción no son diferentes entre los individuos en ayunas y quienes no se encuentran en ayuno. Más del 90% del medicamento es excretado sin cambios por la orina (el riñón es la vía por la cual se excreta mayoritariamente) dentro de las 24horas.

Pruebas in vitro demuestran que las cefalosporinas son bactericidas, debido a la inhibición de la síntesis de la pared celular. Es activo contra los siguientes organismos in vitro.

- ◆ Estreptococo betahemolítico.
- ◆ Estafilococo, incluyendo coagulasa-positivo y cepas productoras de penicilinas.
- ◆ Streptococcus pneumoniae.
- ◆ Escherichia coli.
- ◆ Proteus mirabilis.
- ◆ Klebsiella sp
- ◆ Moraxella (Branhamella) catarrhalis.

### PRESENTACIONES EN LAS QUE SE ENCUENTRA EL CEFADROXILO

El cefadroxilo monohidratado se encuentra en las siguientes presentaciones comerciales en México con el nombre de Duracef® cápsulas, tabletas y suspensión y Teroxina®. En la tabla 1.2 se mencionan las dosis y cantidad de producto en cada presentación. En la figura 1.5 se presenta la forma farmacéutica y la presentación del medicamento que se utilizó para el desarrollo de esta tesis.

Nombre	Presentación
DURACEF®, TEROXINA®	Cápsulas de 500mg, caja con 8 o 16 cápsulas en blister pack.
DURACEF®, TEROXINA®	Cápsulas de 250mg, caja con 20 cápsulas en blister pack.
DURACEF®	Tabletas de 1g, caja con 10 tabletas.
DURACEF®, TEROXINA®	Suspensión con 500mg por cada 5mL, frasco con 100mL.
DURACEF®, TEROXINA®	Suspensión con 250mg por cada 5mL, frasco con 100mL.
DURACEF®	Suspensión con 125mg por cada 5mL, frasco con 100mL.

**Tabla 1.2 Diferentes presentaciones en las que se puede encontrar al cefadroxilo comercialmente.**



**Fig. 1.5 Presentación comercial de cefadroxilo en tabletas de 1g.**



## INDICACIONES TERAPÉUTICAS

El cefadroxilo está indicado en el tratamiento de infecciones entre las que se encuentran:

- ◆ Infecciones en vías respiratorias altas y bajas.
- ◆ Infecciones de la piel y tejidos blandos.
- ◆ Infecciones del tracto genito-urinario causadas por *E. coli*, *P. mirabilis* y *Klebsiella sp.*
- ◆ Artritis séptica.

El cefadroxilo no puede utilizarse en el tratamiento de fiebre reumática pues no se ha demostrado su efectividad en este padecimiento.

Las especificaciones que deben cumplir las tabletas de cefadroxilo son en cuanto al contenido no menos del 90% y no más del 120% de cefadroxilo.

## REACCIONES SECUNDARIAS Y ADVERSAS

Los eventos adversos son generalmente:

Gastrointestinales: Pueden aparecer durante el tratamiento síntomas de colitis pseudomembranosa. Se han reportado raramente náuseas y vómito. También puede ocurrir diarrea.

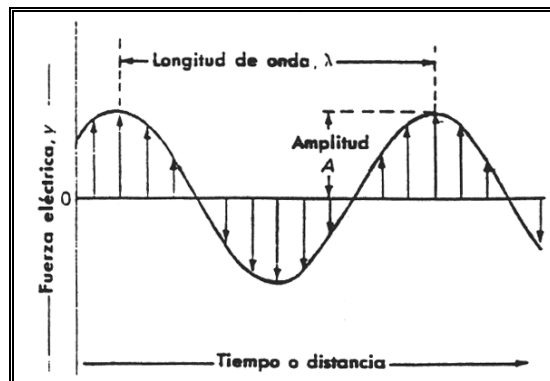
Hipersensibilidad: Se presenta en forma de prurito urticaria y angioedema.

Las reacciones al parecer son idénticas a las generadas por las penicilinas y ello depende de la estructura betalactámica compartida por ambos grupos de antibióticos. Debido al parecido estructural puede presentarse también una reacción cruzada con un miembro de otra clase.

## ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA <sup>12,13,14,15</sup>

La espectroscopia estudia la interacción de la materia con la energía (radiación) electromagnética. Para explicar esta interacción se consideran dos modelos.

En el primer modelo se plantea que la energía se desplaza en un medio en forma de ondas. La radiación electromagnética considerada como onda se caracteriza por una serie de propiedades entre las que se cuentan la amplitud, la frecuencia ( $\nu$ ), el periodo ( $\rho$ ), la longitud ( $\lambda$ ) y el número de onda ( $\bar{\nu}$ ), etc. Algunas de estas propiedades de la onda se describen en la figura 1.6.



**Fig. 1.6 Representación de los parámetros utilizados por la teoría ondulatoria.**

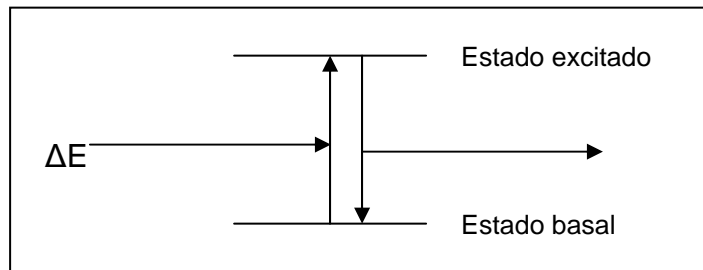
Otro aspecto importante en la espectroscopia es la relación de la velocidad de la luz con la frecuencia y la longitud de onda ya que es directamente proporcional a ambas propiedades. Esta teoría ondulatoria sirve para explicar los fenómenos de la radiación como son:

- Reflexión. La reflexión es un fenómeno que se explica cuando un haz incide sobre una superficie entre dos medios genera un haz reflejado que tiene como características primero que se mantiene en el mismo medio del haz incidente y que respecto a una normal tiene el mismo ángulo que el haz incidente.
- Refracción. Al igual que la reflexión la refracción es un fenómeno de la radiación en el que cuando un haz incide una superficie entre dos medios se genera un haz refractado que cambia de medio con respecto de donde viene y que además el ángulo del haz refractado es diferente al ángulo del haz incidente con respecto a una normal.
- Difracción. Cuando una onda se encuentra propagándose en un medio y se enfrenta a un obstáculo cambia de dirección y magnitud.

- **Dispersión.** La dispersión es la descomposición de la radiación electromagnética en todas las longitudes de onda que la componen utilizando un medio como los prismas.

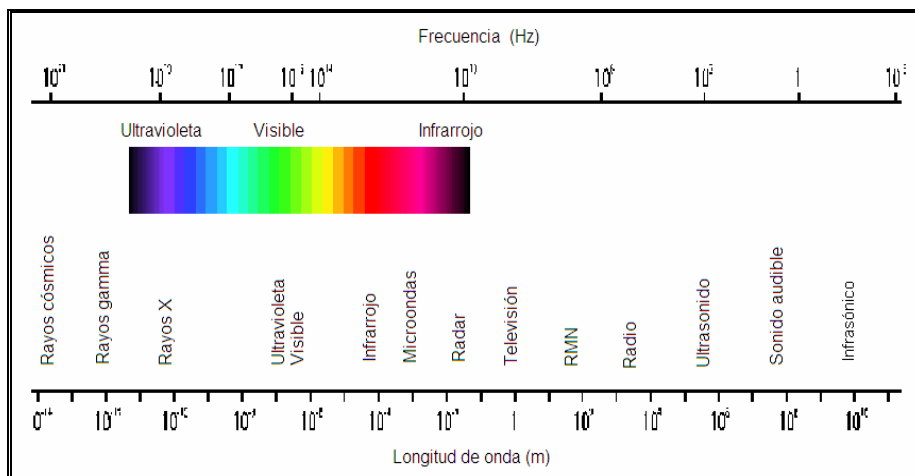
Además de la teoría ondulatoria para explicar la radiación electromagnética tenemos la teoría corpuscular, la cual es útil para explicar los fenómenos de absorción y emisión considerando a la radiación electromagnética como paquetes (cuantos) de energía.

Cuando a una molécula se le aplica energía electromagnética la absorbe y sus electrones pasan de un estado basal a un estado excitado el cual no es permanente, los electrones pueden emitir toda o parte de la energía electromagnética que absorbieron al regresar a su estado basal. El esquema que se presenta en la figura 1.7 representa de manera sencilla como ocurre el paso de un electrón de un nivel basal a un estado excitado.



**Fig. 1.7 Transición electrónica del estado basal al estado excitado (absorción) y del estado excitado al basal (emisión).**

La radiación electromagnética para su estudio se clasificó en zonas en el llamado espectro electromagnético el cual se representa en la figura 1.8.



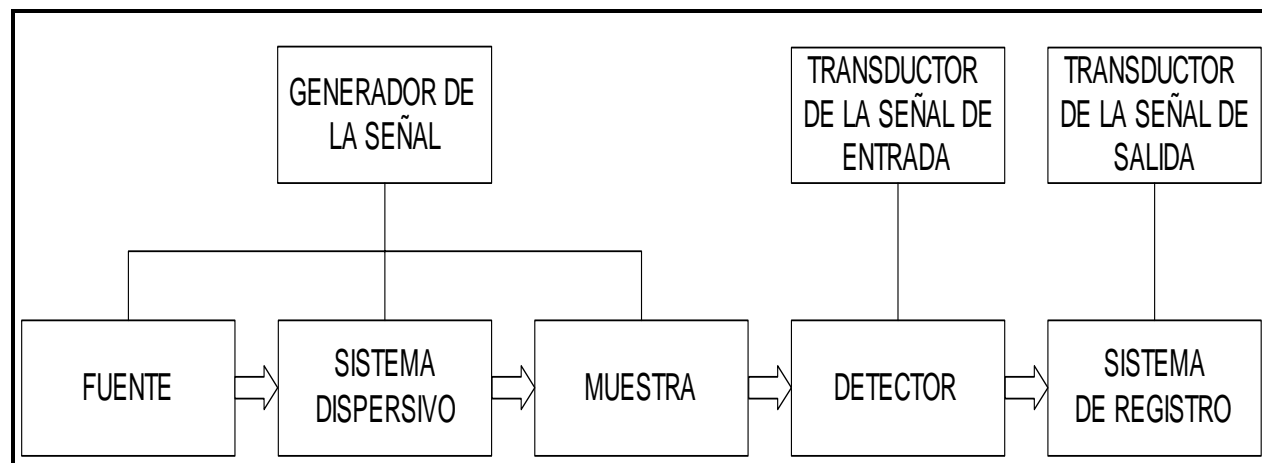
**Fig. 1.8 Clasificación del espectro electromagnético.**

La zona donde se localiza la espectroscopia ultravioleta-visible comúnmente utilizada comprende el intervalo de los 800-200nm, la región visible de 800-400nm y la región ultravioleta cercano (400-200nm). La radiación en esta zona ejerce su efecto sobre los electrones más externos de las moléculas. Para los compuestos orgánicos (como el cefadroxilo) las transiciones electrónicas que se presentan son de orbitales moleculares de enlace a orbitales moleculares de antienlace ( $\pi$  a  $\pi^*$ ,  $\sigma$  a  $\sigma^*$ ,  $n$  a  $\pi^*$  y  $n$  a  $\sigma^*$ ), los compuestos orgánicos que presentan absorción en la región ultravioleta-visible son los compuestos que presentan dobles ligaduras conjugadas y sistemas aromáticos, mientras que para los compuestos inorgánicos son transiciones electrónicas que para los aniones son de  $n$  a  $\pi^*$ , y para cationes y metales de transición son transiciones electrónicas de orbitales  $d$  y  $f$  basales a  $d^*$  y  $f^*$  excitados.

Cabe mencionar que además de las transiciones electrónicas mencionadas, la cantidad de energía produce movimientos vibracionales y rotacionales en las moléculas, estas transiciones electrónicas en conjunto con los movimientos vibracionales y rotacionales son los causantes de que los espectros obtenidos en espectroscopia ultravioleta sean bandas anchas.

## INSTRUMENTACIÓN

A grandes rasgos, la instrumentación se divide en tres partes de acuerdo al siguiente esquema:

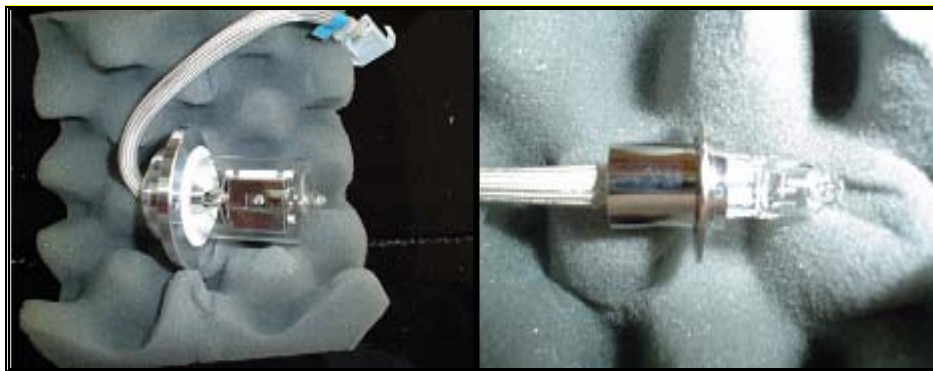




GENERADOR DE LA SEÑAL

**-FUENTES**

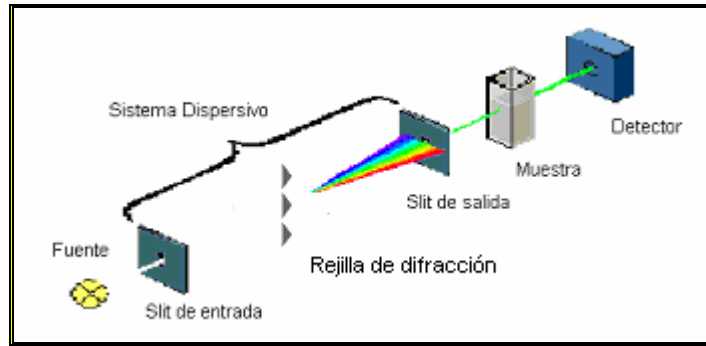
La fuente suministra la radiación electromagnética que va a generar la excitación de los electrones en los compuestos analizados. Algunas de las fuentes utilizadas son dos, para la región ultravioleta la lámpara de deuterio y la lámpara de tungsteno o wolframio para la región visible.



**Fig. 1.9 Fuentes de deuterio (izquierda) y tungsteno (derecha).**

**-SISTEMA DISPERSIVO O MONOCROMÁTICO**

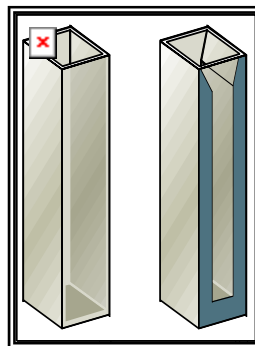
El sistema dispersivo tiene la finalidad de descomponer la radiación electromagnética en sus diferentes valores energéticos. Para lograr este fenómeno el sistema dispersivo se auxilia en diferentes aditamentos como son las rendijas de entrada y salida que permiten el paso de la radiación electromagnética a lo largo de todo el sistema, a estas rendijas también se les conoce comúnmente por su nombre en inglés como “slit”. Además de estas rendijas el sistema dispersivo se encuentra constituido por espejos que son los encargados de dirigir la radiación electromagnética, por lentes que se encargan de concentrar lo más posible la radiación electromagnética (colimar) y los filtros, estos se encargan de absorber o desviar radiación electromagnética que no interesa y que pase por nuestro sistema solo la radiación electromagnética que deseamos (monocromatización tosca). Finalmente esta la rejilla de difracción (monocromador) que es una superficie finamente rayada, esta se encarga de separar la radiación electromagnética en las diferentes longitudes de onda que la componen (monocromatización fina). En la figura 1.10 se muestra un arreglo esquemático de estos componentes.



**Fig. 1.10 Sistema dispersivo.**

**-MUESTRA**

Las muestras que se pueden analizar por espectroscopia ultravioleta-visible pueden trabajarse tanto en estado gaseoso, como sólidas y líquidas pero éstas dos últimas en disolución. Como contenedor de las muestras para espectroscopia se utilizan las llamadas celdas (o cubetas) que para la región visible pueden ser de plástico o vidrio y para la región ultravioleta necesariamente deben ser de cuarzo o sílice fundida. Generalmente las celdas tienen una longitud de paso óptico de 1cm. En la figura 1.11 se presentan dos diferentes tipos de celdas utilizadas en espectroscopia.



**Fig. 1.11 Tipos de celdas.**

TRANSDUCTOR DE ENTRADA

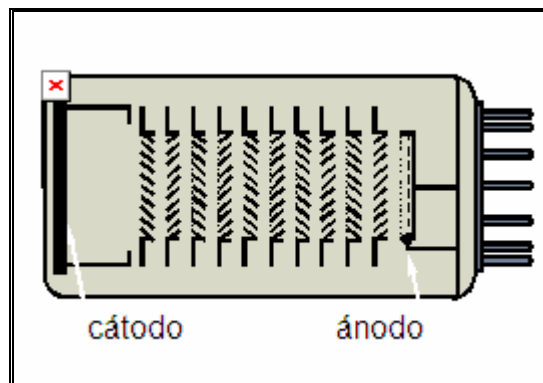
**SISTEMA DE DETECCIÓN**

Una vez que se produjo el fenómeno de absorción de la radiación, la radiación que no fue absorbida por la muestra llega al detector en el cual es convertida en una señal eléctrica. Los detectores más utilizados son:

- Fototubos. Cuando la radiación electromagnética llega al fototubo, los fotones de ésta interaccionan con una superficie emisora (cátodo) que libera electrones, estos electrones

son atraídos a un ánodo produciéndose con este paso una corriente que es directamente proporcional a la potencia de la radiación que incide sobre la superficie emisora.

- Fotomultiplicadores. Al igual que el fototubo, consta de una superficie emisora de electrones, pero los electrones salientes de éste pasan a interactuar con otras placas liberando más electrones, estas placas son conocidas como dínodos. Cuando la radiación incide sobre la primera superficie, emite electrones los cuales chocan contra un dínodo generando la emisión de más de un electrón (normalmente duplicándola), todos los electrones emitidos chocan contra otros dínodos. Este proceso se repite con cada uno de los dínodos, finalmente todos los electrones son recolectados en el ánodo, la corriente total generada ha sido amplificada y se mide. Un esquema del arreglo de un fotomultiplicador se puede observar en la figura 1.12.



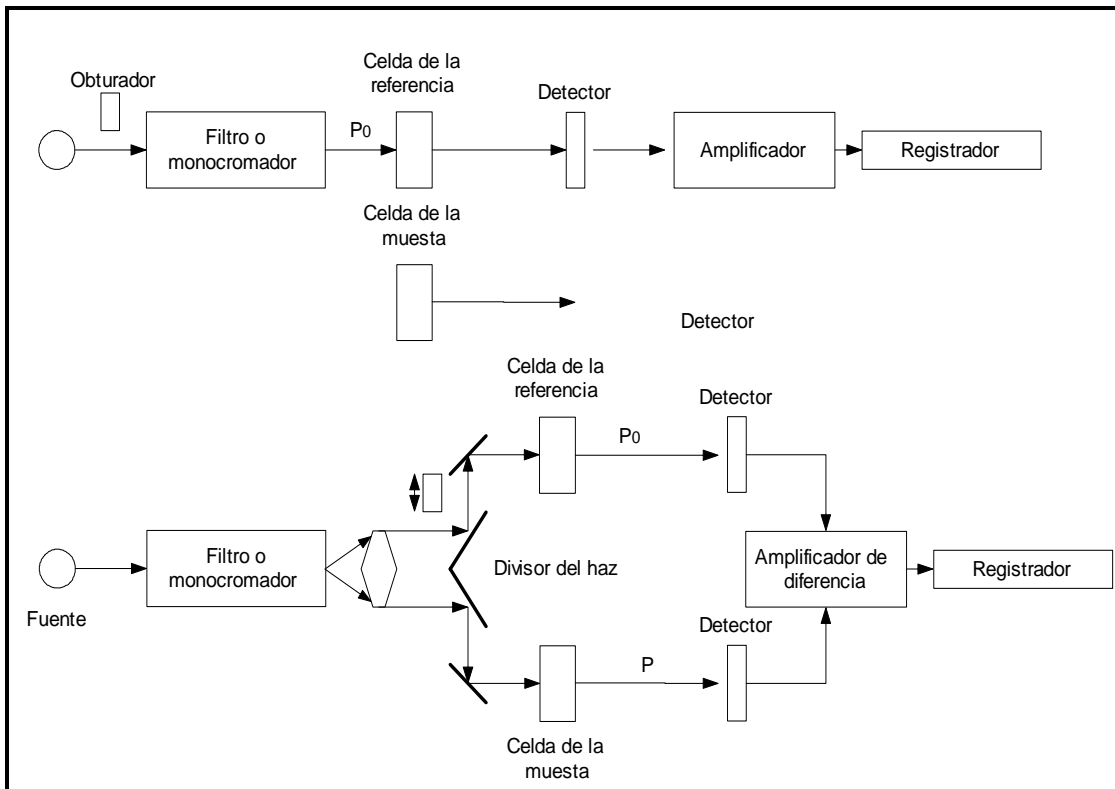
**Fig.1.12 Fotomultiplicador.**

### TRANSDUCTOR DE SALIDA

#### *SISTEMA DE REGISTRO*

El sistema de registro o transductor de salida convierte las señales eléctricas que se generaron en el detector en algo que pueda ser entendible y manejable por el analista, lo normal es un gráfico, en el caso de la espectroscopia el gráfico que se obtiene es conocido con el nombre de espectro. El espectro es un gráfico entre la respuesta analítica elegida (variable dependiente que puede ser absorbancia, transmitancia, etc.) contra una variable independiente que es la longitud de onda. Esta representación gráfica se puede obtener por medio de pantallas analógicas como las escalas, pantallas digitales y actualmente con sistemas de cómputo.

La instrumentación anterior describe un espectrofotómetro de un solo haz. Otro tipo de espectrofotómetro es de doble haz. En éste la radiación pasa de manera alterna por el contenedor de la muestra y de la referencia dirigida por un espejo móvil. De manera instantánea el equipo compara la potencia de la muestra y la referencia y hace la relación entre éstas. El arreglo y disposición de un instrumento de un haz y de doble haz se presenta en la figura 1.13.



**Fig. 1.13 Espectrofotómetro de un solo haz y de doble haz.**

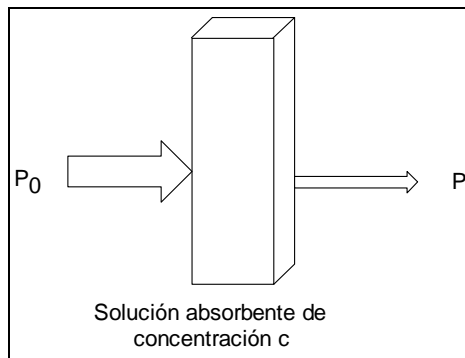
## ANÁLISIS CUALITATIVO Y CUANTITATIVO

Utilizando espectroscopia ultravioleta se puede realizar tanto análisis cualitativo como análisis cuantitativo. El análisis cualitativo no es tan útil porque los grupos cromóforos son compartidos por diferentes moléculas. En un análisis cualitativo no se podría asegurar la identidad del compuesto presente en la muestra. La longitud de onda de máxima absorción puede ser la misma para compuestos diferentes.

El análisis cuantitativo es de gran utilidad y se basa en la ley de Lambert-Beer.

**LA LEY DE LAMBERT-BEER**

Se define como  $P_0$  la potencia con la que un haz incide sobre una muestra. Se considera además que cuando este haz pasa a través de la muestra disminuye su potencia representada como  $P$ . Se puede decir que la muestra absorbió parte de la potencia radiante y que  $P_0$  es mayor a  $P$ . A través de esta potencia podemos definir la relación de la absorbancia y la transmitancia con la potencia radiante. La figura 1.14 muestra un esquema en el que las flechas representan la potencia de energía que incide sobre la muestra ( $P_0$ ) y la restante ( $P$ ) que pasa al detector.



**Fig. 1.14 Principio de la ley de Lambert-Beer.**

La transmitancia ( $T$ ), se define como la fracción de luz incidente que pasa a través de la muestra. La transmitancia puede tomar valores de 0 a 1.

$$T = \frac{P}{P_0}$$

Si la ecuación anterior es multiplicada por 100 entonces se tiene lo que se conoce como %T con valores de 0 a 100.

La absorbancia por su parte se define como:

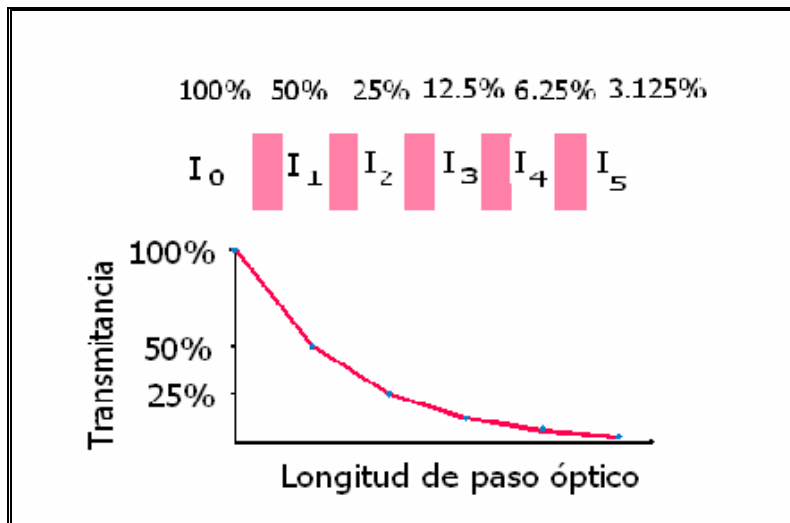
$$A = \log_{10} \left( \frac{P_0}{P} \right) = -\log T$$

La absorbancia es directamente proporcional a la concentración ( $c$ ), de la especie que absorbe la radiación en la muestra. Ahora bien, para explicar como se llegó al establecimiento de la ley de Lambert y Beer se tiene que hacer mención de lo siguiente, ambos tanto Lambert como Beer realizaron determinaciones importantes. Lambert en su experimento mantuvo la

concentración del analito constante y varió lo que se conoce como longitud de paso óptico, encontrando que la transmitancia varía en forma exponencial al variar la longitud de paso óptico y de una constante que es dependiente del analito y de la energía electromagnética que se envía, esto se describe mediante la siguiente ecuación matemática:

$$T = \frac{P}{P_0} = e^{-kl}$$

Lo que se observa gráficamente de la siguiente manera en la figura 1.15:



**Fig. 1.15 Variación de la transmitancia con respecto a la longitud del paso óptico.**

Por su parte, Beer realizó un experimento semejante pero variando la concentración del analito y dejando la longitud de paso óptico constante, encontró que la transmitancia varía en forma exponencial al variar la concentración y de una constante que es dependiente del analito y de la energía electromagnética que se envía, esto se describe mediante la siguiente ecuación matemática:

$$T = \frac{P}{P_0} = e^{-kC}$$

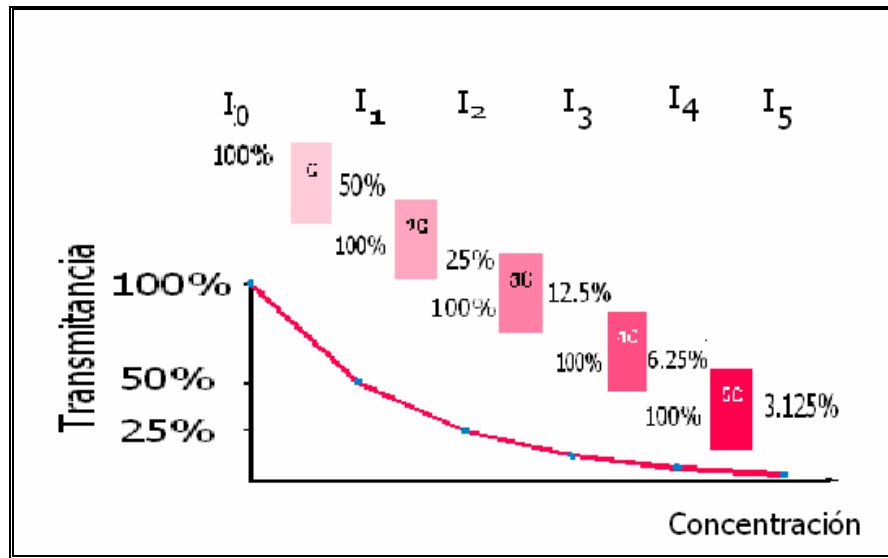


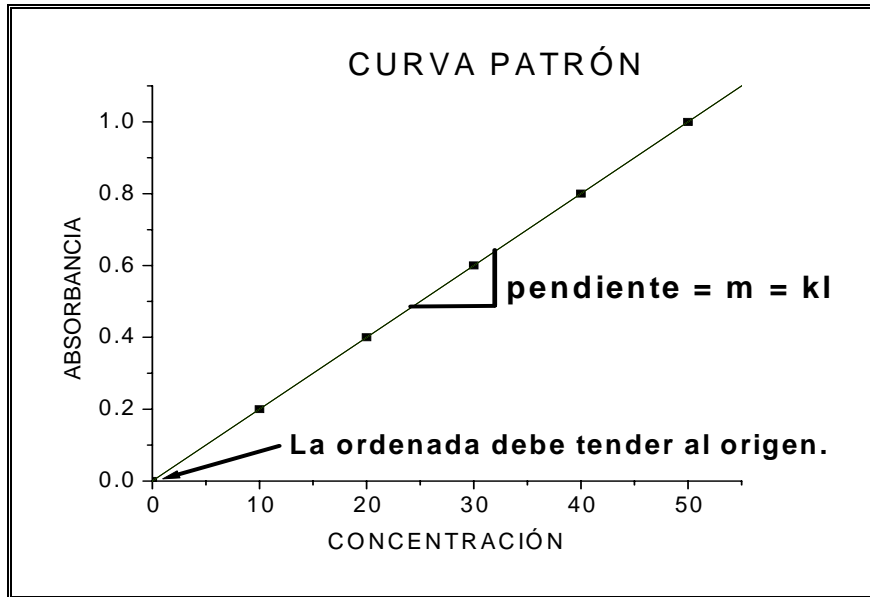
Fig. 1.16 Resultados de los experimentos de Beer.

Ambas funciones encontradas son complementarias quedando finalmente para poder hacer un mejor uso de la ley de Lambert-Beer al definir la unidad de absorbancia se logra que ésta quede en función directamente proporcional de la longitud de paso óptico ( $l$ ), que en los trabajos experimentales normalmente se mantiene constante, de la concentración del analito en la muestra; y de la constante que actualmente que se conoce con el nombre de coeficiente de absortividad (coeficiente de absortividad molar si las concentraciones con las que se trabajan son molares y entonces es utilizada la letra griega  $\epsilon$ ). Con lo mencionado anteriormente la ley de Lambert-Beer queda expresada como:

$$A = kcl$$

en donde A es la absorbancia,  $k$  el coeficiente de absortividad,  $l$  la longitud de paso óptico y  $c$  la concentración. El coeficiente de absortividad es característico para cada sustancia y longitud de onda.

Utilizando la última ecuación planteada y que en general se conoce como la ley de Lambert-Beer se pueden calcular las concentraciones de los analitos en estudio ya que esta ecuación indica que si se gráfica la Absorbancia vs Concentración ésta debe dar una línea recta con tendencia al origen y cuya pendiente será el coeficiente de absortividad y la longitud de celda. Gráficamente se pueden observar estas consideraciones en la figura 1.17.



**Fig. 1.17 Características ideales de una curva patrón para aplicar la ley de Lambert-Beer.**

Además, se puede utilizar una variante de la ley de Lambert-Beer para realizar un análisis cuantitativo en una muestra que contenga en disolución más de un analito que absorba. Esta variante se le llama ley de las aditividades.

$$A_T = A_1 + A_2 + \dots + A_n$$

Para una disolución con dos analitos que absorben:

$$A_T^{\lambda_1} = A_1^{\lambda_1} + A_2^{\lambda_1} = k^{\lambda_1} c_1 l + k^{\lambda_1} c_2 l$$

$$A_T^{\lambda_2} = A_1^{\lambda_2} + A_2^{\lambda_2} = k^{\lambda_2} c_1 l + k^{\lambda_2} c_2 l$$

Se necesitan tantas longitudes de onda y ecuaciones diferentes como analitos tenga la muestra.

**LIMITACIONES DE LA LEY DE LAMBERT-BEER**

Para poder utilizar en un análisis cuantitativo la ley de Lambert-Beer se debe asegurar que se mantiene una relación lineal entre la característica a medir y la respuesta analítica de lo contrario esta ecuación no puede ser utilizada. Algunos de los factores (conocidas como limitaciones a la Ley) que se deben considerar para cumplir esto son:



- Limitaciones debidas a la ley misma.
- Limitaciones instrumentales.
- Limitaciones químicas.

## **VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO** <sup>16, 17,18</sup>

Un método analítico es la descripción de la secuencia de actividades, materiales y parámetros que deben cumplirse para poder analizar un componente (analito) de una muestra. Un analito es el componente de la muestra que se va a medir en un análisis. La validación de un método analítico tiene la finalidad de asegurar la confiabilidad de un procedimiento para la cuantificación del analito y se define como el proceso mediante el cual se demuestra, mediante estudios de laboratorio que la capacidad de un método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada, es decir, cumple con el propósito para el cual fue creado.

Sin duda alguna el mayor valor que tiene un método analítico en la actualidad es asegurar la calidad que impactará de manera directa en la calidad del producto. Para el caso de la industria Farmacéutica la regulación de la validación esta descrita en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-1993 que de manera general en los puntos 5.6, 5.7 y 9.11 así como el 9.12 indican los parámetros necesarios para dar validez a los procesos de fabricación, sistemas; así como los métodos analíticos (de materias primas y de granel).

Para el presente trabajo experimental se realizaron los siguientes estudios estadísticos:

- Condiciones óptimas de trabajo en el sistema, de extracción y desarrollo del método.
- Linealidad de sistema.
- Precisión de sistema.
- Estabilidad de disoluciones.
- Precisión de método.
- Recobro.

Para cada uno de estos parámetros se deben realizar pruebas estadísticas que sirvan para asegurar los resultados obtenidos en la validación del método analítico.

## CONDICIONES ÓPTIMAS DE TRABAJO EN EL SISTEMA, DE EXTRACCIÓN Y DESARROLLO DEL MÉTODO

Al realizar la validación de un método es necesario encontrar las condiciones adecuadas de trabajo tanto en las técnicas de medición como de preparación de la muestra, en este caso la del Espectrómetro UV-Vis. así como para la técnica de extracción del principio activo de la matriz elegida.

### LINEALIDAD DEL SISTEMA

Linealidad de sistema es el grado de concordancia (relación lineal y proporcional) entre la respuesta analítica dada por el sistema (o instrumentos) y la concentración. La relación entre la respuesta analítica y la concentración comúnmente se representa con la ecuación de la recta.

$$y = mx + b$$

en donde m es la pendiente y b la ordenada al origen. Para el caso de una validación de una técnica espectrofotométrica, se requiere un coeficiente de correlación (r) de la regresión lineal mayor a 0.98 según la industria farmacéutica.

Dado que lo ideal en la mayoría de los sistemas (en el caso de este trabajo es la Espectroscopia UV-Vis.) se espera que la ordenada de la ecuación pase por el origen, es decir, que nuestra ordenada valga cero, en base a esto se realiza lo que se conoce estadísticamente como pruebas de hipótesis, en este proceso estadístico se propone una hipótesis nula ( $H_0$ ) y una hipótesis alterna ( $H_1$ ), este proceso estadístico confirmará si nuestro sistema tiende o no al origen, y dependiendo del resultado se planteará si se ocupa la ecuación base de la técnica instrumental utilizada (en Espectroscopia UV-Vis. es la ecuación de Lambert-Beer) o la ecuación de una línea recta. Por lo tanto se plantea que:

$$\text{(Hipótesis nula)} \quad H_0: b=\beta, \text{ donde } \beta=0$$

$$\text{(Hipótesis alterna)} \quad H_1: b\neq\beta$$

La prueba estadística aplicada para comprobar estas pruebas de hipótesis es la conocida como "t de student", para ello se tienen que realizar las operaciones matemáticas necesarias para obtener una t calculada ( $t_{cal.}$ ) para ser comparada contra una t de tablas ( $t_{\alpha/2}$ ) con n-2 grados de libertad (donde n es el número de datos experimentales) a un intervalo de confianza especificado (en este trabajo será del 95%).



La  $t_{cal.}$  se realiza con la siguiente fórmula:

$$t_{cal.} = \frac{b - \beta}{Se} \sqrt{\frac{nSxx}{Sxx + (n\bar{x})^2}}$$

donde cada uno de los términos en esta ecuación significan:

$b$  = Ordenada al origen.

$\beta$  = Ordenada al origen poblacional.

$Se$  = Error típico en la estimación.

$Sxx$  = Suma de cuadrados de la variable independiente.

$n$  = Número de observaciones experimentales independientes.

$\bar{x}$  = Media experimental de la variable independiente.

Para poder obtener la  $t$  calculada requerimos calcular  $Se$  y  $Sxx$  además de  $Syy$  y  $Sxy$ , estos se obtienen con las siguientes ecuaciones:

$$Se = \sqrt{\frac{SxxSyy - (Sxy)^2}{(n-2)nSxx}}$$

$$Sxx = n \sum_{i=1}^{i=n} x^2 - \left( \sum_{i=1}^{i=n} x \right)^2$$

$$Syy = n \sum_{i=1}^{i=n} y^2 - \left( \sum_{i=1}^{i=n} y \right)^2$$

$$Sxy = n \sum_{i=1}^{i=n} xy - \left( \sum_{i=1}^{i=n} x \right) \left( \sum_{i=1}^{i=n} y \right)$$

Posteriormente se busca la  $t_{\alpha/2}$  en las tablas respectivas, siendo para un valor de significancia del 95% ( $\alpha = [100 - \text{nivel de significancia}] / 100$ ) que  $t_{\alpha/2}$  sea  $t_{0.05/2}$  o  $t_{0.025}$ , esto es debido a que ésta es una prueba de 2 colas.

Una vez obtenidos estos valores se comparan tomando en cuenta que el criterio para rechazar la hipótesis nula es:

$$t_{calc.} < -t_{\alpha/2} \text{ O } t_{calc.} > t_{\alpha/2}$$



Además de demostrar si el sistema tiende o no al origen, se debe establecer el intervalo de confianza de la ordenada y de la pendiente. Estos dos intervalos se calculan con las ecuaciones matemáticas que se muestran a continuación.

Intervalo de confianza sobre la ordenada:

$$IC_b = b \pm t_{\alpha/2} \cdot Se \sqrt{\frac{S_{xx} + (n\bar{x})^2}{nS_{xx}}}$$

Intervalo de confianza sobre la pendiente:

$$IC_m = m \pm t_{\alpha/2} Se \sqrt{\frac{n}{S_{xx}}}$$

Estos valores de intervalo de confianza sobre la ordenada y la pendiente permiten establecer las oscilaciones aceptables en los resultados experimentales obtenidos respecto a un valor central y permiten en el caso de trabajar ya bajo el proceso de control de calidad saber que en el lote a analizar el sistema se mantiene en control como cuando fue planteada la metodología creada.

## PRECISIÓN DEL SISTEMA

Se puede definir la precisión de sistema como el grado de concordancia entre observaciones independientes de una misma población, indicando que tanto están oscilando los valores que se obtienen de manera experimental. Para realizar esta prueba se tiene que comparar el valor que se obtendrá experimentalmente con alguno que sea establecido, por ejemplo la industria farmacéutica pide para las técnicas espectroscópicas el que se tenga para esta prueba el cumplimiento de un coeficiente de variación (C.V.) del 3%, normalmente cuando se diseña una nueva metodología se plantea un C.V. del 5%.

Además de obtener el C.V. se puede realizar una prueba de hipótesis que permite sobre todo en los valores cercanos a los establecidos el saber si se cumple o no la condición establecida. Para realizar esto se establece una prueba de hipótesis en la que comparo:

$$H_0: s^2 = \sigma_0^2 \text{ (Hipótesis nula)}$$

$$H_1: s^2 > \sigma_0^2 \text{ (Hipótesis alterna)}$$

donde  $\sigma_0^2$  se obtiene de despejar del C.V. la desviación estándar al considerar el valor establecido (5% ó 3%).

La prueba estadística aplicada para comprobar estas pruebas de hipótesis es la conocida como Ji cuadrada “ $\chi^2$ ”, para ello se tienen que realizar las operaciones matemáticas necesarias para obtener una  $\chi^2$  calculada ( $\chi^2_{cal.}$ ) para ser comparada contra una  $\chi^2$  de tablas ( $\chi^2_{\alpha}$ ) con n-1 grados de libertad (donde n es el número de datos experimentales) a un intervalo de confianza especificado (en este trabajo será del 95%).

Con los datos se realiza el cálculo de:

$$\chi^2_{cal.} = \frac{(n-1)s^2}{\sigma_o^2}$$

donde:

n = Número de determinaciones.

$s^2$  = Varianza estándar muestral.

$\sigma_o^2$  = Varianza estándar máxima aceptada.

El criterio de rechazo para la  $H_0$  es:

$$\chi^2_{calculada} > \chi^2_{\alpha}$$

$$\chi^2_{calculada} > \chi^2_{0.05}$$

La conclusión que llevará la realización de esta prueba es que en caso de aceptarse la hipótesis nula la técnica instrumental de medición (en este trabajo la espectroscopia UV-Vis.) se mantiene estable y los valores que reporta para una misma población se encuentran en el intervalo de error establecido para sus mediciones por la instancia administrativa respectiva.

Posteriormente se realiza el intervalo de confianza al nivel de  $1-\sigma$ , para  $s^2$  utilizando la siguiente ecuación:

$$\frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{\alpha/2}} < s^2 < \frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{(1-\alpha/2)}}$$

Tomando la raíz cuadrada de cada miembro de la desigualdad obtenemos el intervalo de confianza para s con el mismo nivel  $1-\sigma$ .

$$\sqrt{\frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{\alpha/2}}} < s < \sqrt{\frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{(1-\alpha/2)}}}$$



## ESTABILIDAD DE ESTÁNDARES

Cuando se realiza un trabajo experimental debemos determinar el tiempo en el cual se mantiene íntegra nuestra sustancia que se van a analizar o cuantificar. Esto se logra mediante un estudio de estabilidad en el cual se visualiza mediante pruebas estadísticas el tiempo en el cual a determinadas condiciones de almacenaje las muestras o disoluciones estándar conservan las mismas características que tenían al inicio de un análisis y por lo tanto los resultados cualitativos o cuantitativos serán confiables.

Una vez que se toma en cuenta los factores que pueden afectar la estabilidad de las muestras, éstas se someten a un análisis inicial el día de su preparación y posteriormente se analizan a diferentes intervalos de tiempo que se establezcan para el estudio.

Para el estudio de estabilidad se determina de la comparación de las varianzas primero y las de las medias posteriormente dependiendo de lo que se encuentre de la prueba de varianzas.

La prueba de hipótesis sobre las varianzas es:

$$H_0: s_1^2 = s_2^2$$

$$H_1: s_1^2 \neq s_2^2$$

Como se trata de determinar si las muestras provienen de poblaciones iguales, para la comparación de varianzas se utiliza el estadístico F de Fisher o Snedecor, que se calcula como:

$$F_{cal} = \frac{s_1^2}{s_2^2}$$

donde:

$s_1^2$  = es la varianza muestral mayor con  $n_M - 1$  grados de libertad.

$s_2^2$  = es la varianza muestral menor con  $n_m - 1$  grados de libertad.

Se rechaza la hipótesis nula  $H_0$  si:

$$F_{cal.} > F_{\alpha/2}, \text{ con grados de libertad } n_M-1, n_m-1.$$

Según el resultado obtenido sobre las varianzas se procede a realizar la prueba de hipótesis sobre las medias y ésta se establece como:

$$H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0, \text{ es decir } \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$$



si en la prueba anterior de las varianzas se demostró que las varianzas son semejantes, es decir el analista presento la misma precisión, el estadístico de prueba utilizado es:

$$t_{cal.} = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}} \sqrt{\frac{n_1 n_2 (n_1 + n_2 - 2)}{n_1 + n_2}}$$

con  $n_1 + n_2 - 2$  grados de libertad y se rechaza la hipótesis nula si:

$$t_{cal.} < -t_{\alpha/2} \text{ O } t_{cal.} > t_{\alpha/2}$$

En el caso de que las varianzas no son comparables (o iguales), es decir el analista no presento la misma precisión, el estadístico de prueba utilizado es:

$$t_{cal.} = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

con  $\phi$  grados de libertad, calculando éstos con la siguiente ecuación:

$$\phi = \frac{\left(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right)^2}{\frac{\left(\frac{s_1^2}{n_1}\right)^2}{n_1 - 1} + \frac{\left(\frac{s_2^2}{n_2}\right)^2}{n_2 - 1}}$$

la hipótesis nula se rechaza si:

$$t_{cal.} < -t_{\alpha/2} \text{ O } t_{cal.} > t_{\alpha/2}$$

En el caso de que al realizar esta prueba se acepte la hipótesis nula de las medias y por lo tanto se acepte que los datos pertenecen a la misma población se concluirá que las muestras se mantienen estables a las condiciones de almacenamiento establecidas, en caso de rechazarse la hipótesis nula se concluirá que no se mantienen estables a dichas condiciones de almacenamiento.

## PRECISIÓN DE MÉTODO



Es el grado de concordancia entre los valores obtenidos individuales que provienen de una misma población que en este caso es de la muestra a la que se le aplicó la metodología desarrollada. Para precisión de método según el procedimiento de cómo se realice el estudio se conoce como repetibilidad y reproducibilidad.

### REPETIBILIDAD

Es el grado de concordancia entre las mediciones independientes que se efectúan por el mismo analista, utilizando la misma instrumentación y método analítico. En esta prueba se puede visualizar la variación en los resultados de análisis ocurridos por el analista al preparar las muestras. El parámetro estadístico de comparación y los pasos a seguir en cuanto a las pruebas de hipótesis es el mismo que se explicó para precisión del sistema pero como se mencionó, en este caso se trabajan los datos obtenidos de las muestras reales o sintéticas aplicándoles la metodología desarrollada, es decir que incluirá las diferentes técnicas de preparación de muestra e instrumentales. La conclusión a diferencia de la de precisión del sistema será la indicación en caso de aprobar la hipótesis nula que la metodología aplicada o desarrollada cumple o se encuentra en intervalo de error mínimo planteado por las instancias administradoras que lo hayan establecido, o en caso contrario al rechazarse la hipótesis nula que esta fuera de ese intervalo de error planteado.

### REPRODUCIBILIDAD

Es el grado de concordancia entre las mediciones independientes realizadas por la metodología analítica establecida pero en la que se realizan variaciones con respecto a las condiciones originales planteadas en la prueba de repetibilidad y que pueden ser: diferentes analistas, instrumento, etc. Para el caso de este trabajo se realizó la opción del cambio del analista manteniendo la misma metodología.

El parámetro estadístico de comparación y el procedimiento de trabajo matemático a seguir en cuanto a las pruebas de hipótesis es el mismo que se explicó para estabilidad de estándares, es decir prueba a las varianzas primero y a las medias después, pero en este caso se trabajan los datos obtenidos de las muestras reales o sintéticas aplicándoles la metodología desarrollada, es decir que incluirá las diferentes técnicas de preparación de muestra e instrumentales pero realizado por 2 analistas.

En el caso de que al realizar este estudio se acepte la hipótesis nula de las medias y por lo tanto se acepte que los datos pertenecen a la misma población sabremos que el método es



reproducibile a pesar del cambio que se le haya realizado a la metodología, en el caso de este trabajo el analista, lo que me dice que el método es confiable a pesar del cambio del analista, esto será así también para el caso de cualquier otro parámetro que se haya establecido modificar. En el caso de rechazarse la hipótesis nula indicará que el cambio que se haya efectuado a la metodología si causa variaciones importantes en la obtención de los datos.

## RECOBRO

El recobro es el resultado expresado en porcentaje de la comparación entre la concentración del analito problema que se obtiene y la concentración que debe obtenerse después de tratar con el método una muestra a la cual se le adiciona una concentración conocida del analito. El cálculo se realiza con la siguiente ecuación.

$$R = \frac{[Concentración]_{obt.exp}}{[Concentración]_{teórica}} \times 100$$

Este proceso se realiza ya sea fabricando una muestra sintética lo más parecida a la muestra que se va a trabajar en la que se le adicionaron cantidades conocidas y precisas del o los analito(s) a analizar y a la que se le aplicará la metodología desarrollada, esto se realiza normalmente en la industria maquiladora (como la farmacéutica) ya que se cuenta con todos los compuestos que se utilizan para fabricar a la muestra, siendo ésta la que se realizó en este trabajo.

O por medio de lo conocido como “adición a la muestra”, en la cual a una muestra que ya fue analizada con la metodología se le adicionan cantidades conocidas y precisas del o los analito(s) a analizar y que se utiliza en aquellas muestras en que no se puede fabricar a la muestra como las muestras de tipo biológico, ambientales, etc.



# CAPÍTULO III. DESARROLLO EXPERIMENTAL



En este proyecto para realizar la validación de la metodología se hicieron las siguientes pruebas:

Para sistema:

- Condiciones óptimas de trabajo.
- Linealidad de sistema.
- Precisión de sistema.

Para método:

- Condiciones óptimas de trabajo.
- Precisión de método.  
Repetibilidad.  
Reproducibilidad.
- Recobro.
- Linealidad de método.

## EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS UTILIZADOS.

### EQUIPOS

- Espectrofotómetro UV-Vis. de un solo haz marca Perkin-Elmer modelo Lambda 11.



**Fig. 2.1. Espectrofotómetro lambda 11 utilizado en el desarrollo de la tesis.**

- Balanza analítica Sartorius modelo BL-120S de peso máximo 120g y con una sensibilidad de 0,1mg.
- Equipo de baño ultrasónico marca Branson.



## MATERIALES

- Navecillas.
- Espátula cromo-níquel.
- Celdas de cuarzo.
- Matraz volumétrico de 10mL.
- Matraz volumétrico de 50mL.
- Matraz volumétrico de 100mL.
- Vasos de precipitados de 100mL.
- Parrilla de agitación magnética.
- Agitadores magnéticos.
- Matraces Erlenmeyer con capacidad de 250mL.
- Matraz kitasato con capacidad de 250mL.
- Embudo de filtración al vacío Fisher.
- Micropipetas de desplazamiento de aire:
  - ❖ 10-100 $\mu$ L marca Hamilton Soft-Grip con certificado ISO 9001.
  - ❖ 0,5-5mL Transferpette con certificado ISO 9001:14001.
- Papel filtro de poro mediano.
- Viales de vidrio color ámbar de 5mL de capacidad.

## REACTIVOS Y MUESTRAS

- Agua ASTM tipo I.
- Estándar secundario de Cefadroxilo monohidratado
  - ◆ No. de Lote: 3334035. Proveedor: Fersinsa G.B
  - ◆ No. de estandarización: STD-021-04
  - ◆ % Base Húmeda: 94,57
- Tabletas de Cefadroxilo monohidratado (DURACEF), Lotes: EH451-3, EM 443-3, EK5031-3.

Fabricadas por Mead Jonson de México, S. de R.L de C.V. Para Bristol Myers Squibb de México, S. de R.L. de C.V.

  - ◆ Dosis: Cada tableta contiene Cefadroxilo monohidratado equivalente a 1g.
  - ◆ Contenido: 10 tabletas
  - ◆ Clave: 7235-19
- Excipiente: Avicel



## SISTEMA “ESPECTROFOTÓMETRO UV-VIS”.

### CONDICIONES ÓPTIMAS DE TRABAJO

El primer punto a considerar para iniciar la validación de la metodología que se realizó, fue encontrar las condiciones óptimas a las cuales se va a trabajar. Tomando en consideración que el cefadroxilo es soluble en agua se procedió a realizar el espectro UV de éste por lo que se prepararon disoluciones de cefadroxilo de 126 Y 12,6 ppm. De estas disoluciones se realizó el barrido en el espectrofotómetro a las siguientes condiciones de trabajo:

- Intervalo de longitud de onda: 400-200nm.
- Velocidad de barrido: 240nm/min.
- Resolución: 1nm.
- “Smooth”: 4.

Una vez que se realizaron los barridos se registraron las longitudes de onda de máxima absorción. El espectro de cefadroxilo que se obtiene permite darse una idea del intervalo de concentraciones que debemos preparar para poder realizar posteriormente linealidad de sistema cumpliendo con la ley de Lambert-Beer.

### LINEALIDAD DEL SISTEMA

La linealidad del sistema permite ver la relación que mantienen la variable dependiente (absorbancia) con la variable independiente (concentración de cefadroxilo), idealmente se debe aproximar a una línea recta.

Las condiciones de trabajo en las que se mantuvo al equipo al realizar linealidad del sistema fueron:

- Longitud de onda: 263nm.
- Velocidad de barrido: 240nm/min.
- “Smooth”: 4.
- Corrección de línea base a 340nm.



Para este estudio se prepararon 5 soluciones estándar partiendo de una solución madre obtenida de la siguiente manera:

Se pesaron 5,5mg del estándar secundario de cefadroxilo monohidratado y se llevó a un volumen de 50mL con agua. Hay que mencionar que como se va a cuantificar el cefadroxilo se hicieron las correcciones tomando en consideración que:

- Se cuenta con un estándar secundario de cefadroxilo monohidratado cuya pureza es del 94,57%.
- Por cada 381,389g de cefadroxilo monohidratado tenemos 363,389g de cefadroxilo.

Asumiendo lo anterior se pesaron realmente 5mg de cefadroxilo, por lo tanto se obtuvo una solución madre con una concentración de 100ppm. De la solución madre se tomaron las siguientes alícuotas para preparar los estándares por duplicado:

Concentración de la solución madre (ppm)	Alícuota (mL)	Volumen de aforo (mL)	Concentración final del estándar (ppm)
100	0,96	10	9,6
	1,92		19,2
	2,88		28,8
	3,85		38,5
	4,80		48,0

Una vez que se prepararon los estándares se realizó el barrido de cada uno de ellos por triplicado a las condiciones óptimas de trabajo en el sistema, se utilizó como blanco el agua utilizada para preparar las soluciones.

## PRECISIÓN DEL SISTEMA

Para la precisión del sistema se preparó una solución madre de concentración igual a 92ppm y de esta solución madre se prepararon 9 soluciones estándar de cefadroxilo a una concentración de 23,9ppm.

Para la solución madre se pesaron 5,1mg del estándar secundario de cefadroxilo monohidratado y se llevó a un volumen de 50mL con agua, se realizaron las correcciones mencionadas anteriormente por lo que la cantidad real de cefadroxilo pesado fue de 4,6mg.



Las soluciones estándar se prepararon de la siguiente manera obteniéndose la siguiente concentración:

Concentración de la solución madre (ppm)	Alícuota (mL)	Volumen de aforo(mL)	Concentración del estándar (ppm)
92	2,6	10	23,9

Posteriormente se hizo el barrido de cada uno de ellos con las mismas condiciones de trabajo planteadas en el sistema por triplicado.

### ESTABILIDAD DE ESTÁNDARES

La prueba de estabilidad de los estándares se realizó utilizando las soluciones de precisión de sistema. Se registró la absorbancia de estos estándares al día cero (el día que se hizo la prueba de precisión de sistema) y posteriormente se almacenaron en viales de 5mL color ámbar y tapa de plástico; se sellaron con teflón y parafilm en refrigeración (4°C). Las soluciones se analizaron nuevamente cada 7 días por tres semanas en las mismas condiciones que el día cero y se volvían a guardar a las mismas condiciones de almacenaje. Todas se registraron por triplicado.

## MÉTODO

### CONDICIONES ÓPTIMAS DE TRABAJO (EXTRACCIÓN)

En esta parte del proyecto se procedió a plantear la metodología de tratamiento de la muestra (extracción del principio activo de las tabletas) para ser analizada posteriormente por el sistema espectroscópico y así poder plantear la metodología completa del análisis de cefadroxilo en tabletas y poder realizar las pruebas de validación. Las tabletas de la marca Duracef del laboratorio Bristol son las que se utilizaron para validar la metodología que se desarrolló, la presentación es en cajas con 10 tabletas de 1g de cefadroxilo.

Después de realizar algunas pruebas de solubilidad, agitación y filtración con las tabletas se buscaron las condiciones óptimas de trabajo para realizar la extracción del principio activo en las tabletas.



### PRUEBAS PRELIMINARES

El cefadroxilo se extrajo de la muestra comercial mediante la técnica de extracción líquido-sólido utilizando como disolvente agua y filtración al vacío con papel filtro de poro mediano.

Posteriormente la muestra se preparó considerando el peso promedio de 10 tabletas que fue 1,237g; se pesaron 1,06g del estándar secundario de cefadroxilo monohidratado y 0,240g de avicel (excipiente). Las condiciones del instrumento se mantienen igual.

Para el excipiente utilizado se buscó que éste fuera de los más utilizados en la producción de las tabletas a nivel industrial.<sup>9</sup> En la bibliografía se reportan principalmente dos excipientes, ambos derivados de la celulosa, uno de ellos es la hidroxipropilmetilcelulosa y el otro es la celulosa microcristalina (avicel). Estos excipientes fueron facilitados por el laboratorio de Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Química de la UNAM.

Otro de los aspectos que se consideró también en la parte experimental fue descartar la interferencia del excipiente para la posterior cuantificación del principio activo (blanco de la metodología). Se pesó solamente del excipiente 1,232g y esta muestra se sometió al mismo tratamiento que la anterior. Se hizo el barrido de las dos muestras por separado en un intervalo de 400-200nm manteniendo todas las condiciones del instrumento de la misma manera.

Además, para el desarrollo de la metodología se consideró reducir las cantidades de tableta para las muestras a analizar. Se realizaron pruebas en el que se prepararon 3 muestras pesando el equivalente a 1,  $\frac{1}{2}$  y  $\frac{1}{4}$  de tableta, cada una de estas muestras fue analizada utilizando la metodología final planteada. Para estas tres evaluaciones se pesaron 10 tabletas y se obtuvo el peso promedio para estas tabletas (fue 1,2453g). En la siguiente tabla se observa la cantidad de muestra que se utilizó en cada prueba.

Muestra	Cantidad (g) de tableta	Equivale a:		
		En tableta	Cantidad de cefadroxilo	Alícuota
1	1,245	1	1g	25 $\mu$ L
2	0,624	$\frac{1}{2}$	0,500g	50 $\mu$ L
3	0,312	$\frac{1}{4}$	0,250g	100 $\mu$ L





Al igual que en las ocasiones anteriores se realizó el barrido de las muestras de 400-200nm y el equipo se mantuvo en las mismas condiciones de trabajo. La única modificación entre las muestra fue el volumen de la alícuota para tratar de mantener el mismo orden de concentración final que se lee en el instrumento. Para la muestra de  $\frac{1}{2}$  tableta se tomó una alícuota de 50 $\mu$ L y para  $\frac{1}{4}$  de tableta 100 $\mu$ L. Posteriormente a estas pruebas iniciales se realizó la prueba que asegurara que el método se mantenía preciso para cantidades equivalentes a media tableta y un cuarto de tableta.

Para esta prueba tanto para media y un cuarto de tableta se prepararon nueve muestras y en cada una de ellas se registró su absorbancia a 263nm. Las cantidades de muestra que se pesaron se muestran a continuación.

Muestra	Peso (g)	
	Media tableta	Un cuarto de tableta
1	0,6188	0,3108
2	0.6184	0,3105
3	0,6190	0,3107
4	0,6188	0,3107
5	0,6189	0,3106
6	0,6315	0,3105
7	0,6311	0,3108
8	0,6307	0,3109
9	0,6318	0,3108

Después de la realización de las pruebas mencionadas anteriormente se estableció la metodología de extracción a utilizar de manera final junto con la del sistema lo que nos permite establecer la “Metodología para el análisis de Cefadroxilo en tabletas” y que se presenta a continuación:



### METODOLOGÍA ESTABLECIDA

De manera general el procedimiento para el tratamiento de la muestra es el siguiente:

1. Pesar 10 tabletas de cefadroxilo de la marca comercial Duracef® y obtener el peso promedio de la tableta.
2. Triturar en un mortero de porcelana las diez tabletas hasta que quede un polvo fino.



3. Pesar en una nave el equivalente a un cuarto de tableta.



4. Vaciar el contenido de la nave en un vaso de precipitados de 100mL.
5. Adicionar 40mL de agua.
6. Aplicar agitación magnética por 15 minutos.



7. Vaciar el contenido del vaso en un matraz aforado de 100mL llevar a aforo con agua.





8. Filtrar la solución por filtración al vacío utilizando papel filtro de poro mediano a un matraz Kitasato de 250mL.



9. Utilizando una micropipeta tomar de esta solución una alícuota de 100 $\mu$ L y depositar la alícuota en un matraz aforado de 10mL y llevar a aforo con agua. Las soluciones deben quedar a una concentración aproximada de 25ppm.



10. Registrar el espectro UV de las muestras (por triplicado) a las condiciones de:

- Longitud de onda: 263nm.
- Velocidad de barrido: 240nm/min.
- "Smooth": 4.
- Corrección de línea base a 340nm.



11. Realizar los cálculos respectivos y reportar cefadroxilo equivalente por tableta.



---

---

## PRECISIÓN DEL MÉTODO

Para esta parte de la validación la metodología explicada en el punto anterior se realizó en dos etapas, la primera fue realizando este estudio con una muestra sintética preparada en el laboratorio y la segunda fue realizándola con muestras comerciales.

Lo anterior permite visualizar la importancia que tiene el excipiente en la muestra comercial ya que debido a que no se cuenta con la información por parte de la empresa de que tipo de excipiente utilizan en su formulación se trabajó con una de las opciones de excipiente que es muy común en formulaciones de este tipo de antibióticos.

### **REPETIBILIDAD**

#### *Muestra sintética con avicel como excipiente*

Se realizó una muestra sintética de tabletas fabricado en el laboratorio, para ello se pesaron el equivalente en peso de principio activo y el equivalente en peso de excipiente (que para este trabajo se eligió a la celulosa microcristalina) para 10 tabletas de cefadroxilo monohidratado que es la formulación de uso común.

De esta muestra sintética se prepararon 9 muestras representativas para su análisis a las que se le aplicó la metodología planteada a excepción del punto 1. Se pesaron 10,001g de cefadroxilo monohidratado y 2,59g de excipiente, esta mezcla se pesó en un vaso de precipitados de 100mL con lo que se tiene el equivalente a 10 tabletas pues se consideró el peso promedio de las tabletas comerciales (1,259g), una vez que se tuvo en el mismo vaso tanto el excipiente como el principio activo, se tapó el vaso de precipitados con plástico y se agitó por 15 minutos.

Para esta prueba además se preparó un blanco de reactivos utilizando solo el avicel, pesando aproximadamente a éste a la misma cantidad que la que se utilizad para las muestras. Para este blanco se pesaron 0,3160g del excipiente mencionado.



Las cantidades que se pesaron para cada muestra fueron las siguientes:

Muestra	Peso en gramos
1	0,3166
2	0,3162
3	0,3161
4	0,3156
5	0,3165
6	0,3152
7	0,3153
8	0,3150
9	0,3153

Tabletas comerciales de cefadroxilo monohidratado

La prueba de repetibilidad también fue aplicada a tabletas comerciales para ver si la metodología era precisa en el caso de un cuarto de tableta, entonces se prepararon nueve muestras de un cuarto de tableta siguiendo la metodología antes descrita para muestras sintéticas. Cada una de estas muestras se registró por triplicado.

Los datos de las muestras utilizadas se muestran a continuación:

Muestra	Peso en gramos (cuarto tableta)
1	0,3108
2	0,3105
3	0,3107
4	0,3107
5	0,3106
6	0,3105
7	0,3108
8	0,3109
9	0,3108



## REPRODUCIBILIDAD

Para evaluar la reproducibilidad se pidió a otro analista (estudiante del laboratorio) realizara el método desarrollado siguiendo el protocolo establecido y trabajando el mismo lote de muestra que trabajo el primer analista (estudiante que desarrolló esta tesis) y sin realizar ninguna variante a la metodología ya descrita.

Para esta prueba se trabajo como muestra las tabletas comerciales. El lote que utilizaron ambos analistas fue el EK5031-3. Las muestras que realizó el segundo analista se someterán a comparación con los resultados obtenidos por el primer analista en la prueba de repetibilidad con un cuarto de tableta comercial.

Para ello el segundo analista trabajo también nueve muestras. Al seguir el método el analista 2 obtuvo un peso promedio de las tabletas de 1,2575g, además de preparar el blanco de reactivos para el cual pesó solamente 0,3144g de avicel, esto es, el equivalente a la cuarta parte del peso promedio.

Las cantidades pesadas para cada muestra fueron para el primer y segundo analista:

Muestra	Peso (g)	
	Analista 1	Analista 2
1	0,3108	0,3144
2	0,3105	0,3145
3	0,3107	0,3146
4	0,3107	0,3144
5	0,3106	0,3143
6	0,3105	0,3144
7	0,3108	0,3143
8	0,3109	0,3146
9	0,3108	0,3146



## RECOBRO

Para esta prueba se prepararon 5 lotes de muestra sintética de la misma forma que se explicó en la prueba de repetibilidad con muestra sintética. En cada uno de estos lotes se tomaron 6 muestras representativas para ser analizadas con la metodología desarrollada a excepción del punto 1, para esto se tomó en cuenta que las tabletas de cefadroxilo comerciales presentaron un peso promedio de 1,259g.

A continuación se dan los datos relevantes de cada uno de estos lotes:

### Lote 1

Este lote es el mismo que se empleó para la prueba de repetibilidad con muestra sintética, por lo que la información de este lote es la misma de esa prueba.

### Lote 2

Para este lote se pesaron 2,100g del estándar y 0,5196g de excipiente sintética.

Muestra	Peso(g)
1	0,2832
2	0,2837
3	0,2836
4	0,2838
5	0,2831
6	0,2834

### Lote 3

En este lote 3 se pesaron del estándar 3,000g y 0,7730g de excipiente.

Muestra	Peso(g)
1	0,3466
2	0,3465
3	0,3464
4	0,3463
5	0,3467
6	0,3467

**Lote 4**

Para este lote se realizó la preparación de la mezcla estándar y excipiente con las siguientes cantidades, 3,000g del primero y 0,7774g del segundo.

<b>Muestra</b>	<b>Peso(g)</b>
1	0,3779
2	0,3774
3	0,3772
4	0,3777
5	0,3777
6	0,3771

**Lote 5**

En este último lote se pesaron 2,0045g de estándar y 0,5029g de excipiente.

<b>Muestra</b>	<b>Peso(g)</b>
1	0,2978
2	0,2973
3	0,2977
4	0,2972
5	0,2972
6	0,2976

Nota: La dosis por tableta para los 5 lotes estudiados fue de 0,9g de cefadroxilo por tableta. Esta dosis se considera el 100% del contenido de cefadroxilo.

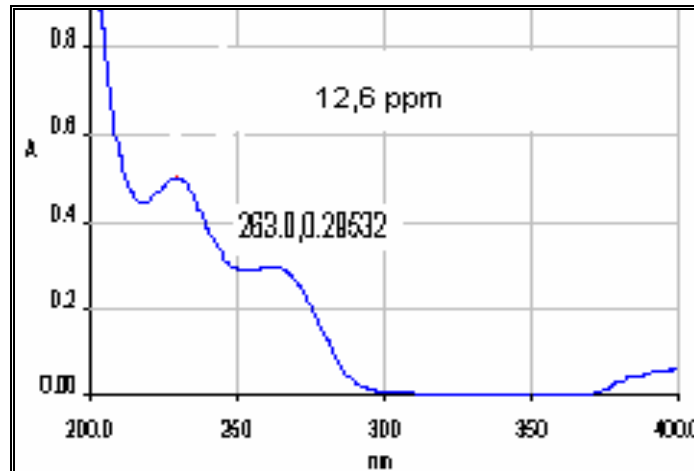


# CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

## SISTEMA

### CONDICIONES ÓPTIMAS DE TRABAJO

Con las condiciones de trabajo establecidas en el desarrollo experimental se realizó la preparación de una solución estándar de 12,6 ppm y se registró su espectro el cual se muestra a continuación:



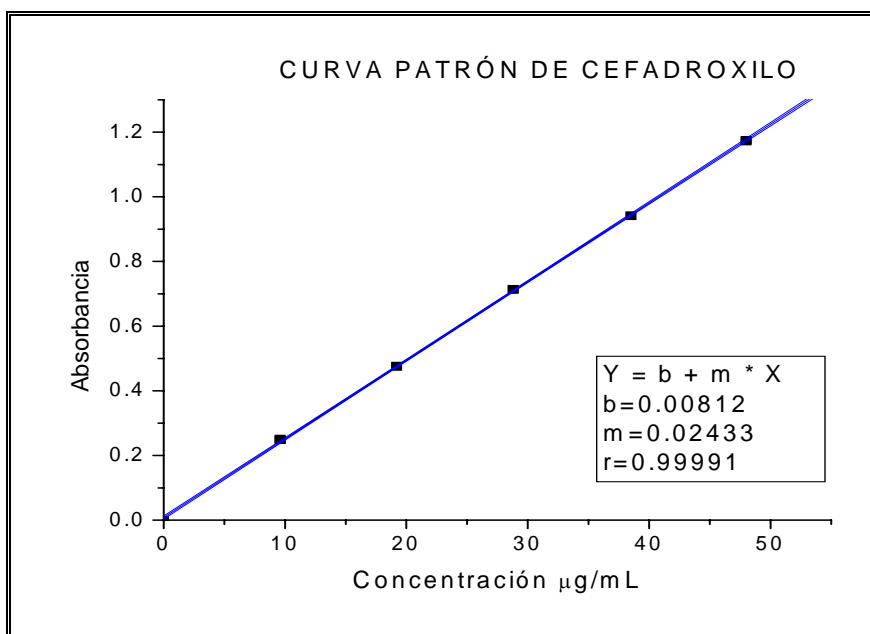
Se puede observar que el espectro coincide con el reportado en la bibliografía para el cefadroxilo y la longitud de onda de máxima absorción de cefadroxilo es de 263nm es igual a la reportada. La obtención de este espectro también permitió el plantear el orden de concentración para construir posteriormente una curva patrón en intervalos de concentración cuyas absorbancias cumplan con las restricciones de la ley de Lambert-Beer y por lo tanto las condiciones de trabajo que se establecen son óptimas para la preparación de los estándares de cefadroxilo.

**LINEALIDAD DE SISTEMA**

Como se indicó la curva patrón se realizó en un intervalo de concentración de entre 10 a 50ppm, se registró la absorbancia de las disoluciones patrón obteniéndose los resultados reportados en la tabla.

CONC. ppm	Absorbancia
0	0
0	0
0	0
9,6	0,2512
9,6	0,2485
9,6	0,2488
19,2	0,4770
19,2	0,4759
19,2	0,4753
28,8	0,7135
28,8	0,7143
28,8	0,7141
38,5	0,9415
38,5	0,9409
38,5	0,9408
48	1,1748
48	1,1749
48	1,1718

La gráfica obtenida y la regresión lineal correspondiente se muestra a continuación.



Como se puede observar en la gráfica se tiene una tendencia lineal de los datos obtenidos de las soluciones estándar y parece tender al origen, para comprobarlo para la ordenada al origen se realizó la prueba de hipótesis y el cálculo de los intervalos de confianza para la ordenada y la pendiente.

Las hipótesis propuestas para la ordenada son:

$$H_0: b=\beta, \beta=0$$

$$H_1: b\neq 0$$

Con 16 grados de libertad se tiene una  $t_{tablas}$  ( $t_{\alpha/2,0.95}$ ) de 2,11. El valor que se obtiene para la t calculada es:

$$t_{cal.} = \frac{b - \beta}{Se} \sqrt{\frac{nSxx}{Sxx + (n\bar{x})^2}} = 6,21$$

donde:

$$Sxx = n \sum_{i=1}^{i=n} x^2 - \left( \sum_{i=1}^{i=n} x \right)^2 = 87247,17$$

$$Syy = n \sum_{i=1}^{i=n} y^2 - \left( \sum_{i=1}^{i=n} y \right)^2 = 51,65$$

$$Sxy = n \sum_{i=1}^{i=n} xy - \left( \sum_{i=1}^{i=n} x \right) \left( \sum_{i=1}^{i=n} y \right) = 2122,60$$

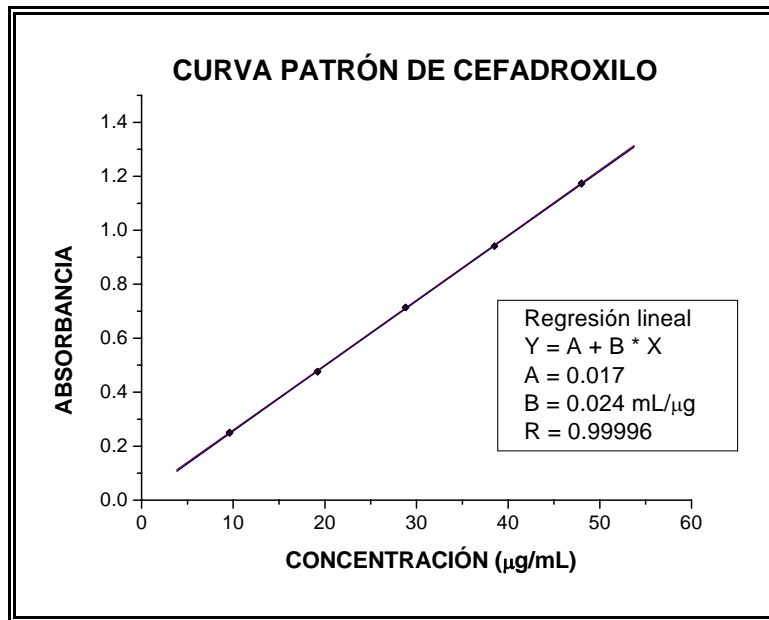
$$Se = \sqrt{\frac{SxxSyy - (Sxy)^2}{(n-2)nSxx}} = 0,0058$$

Como el criterio de de rechazo de la hipótesis nula ( $H_0$ ) es:

$$t_{calc.} < -t_{\alpha/2} \text{ O } t_{calc.} > t_{\alpha/2}$$

y se tiene que  $6,21 > 2,11$  por lo tanto la  $H_0$  se rechaza indicando que la ordenada no tiende al origen (a cero). Por lo tanto, la ecuación de la recta que se va a utilizar en el análisis cuantitativo es  $y = mx + b$ .

Por lo tanto la gráfica y la regresión que se uso es:



Los intervalos de confianza a un nivel de significancia del 95% fueron:

Sobre la ordenada,

$$b = 0,017$$

$$IC_b = 0,017 \pm t_{\alpha/2} \cdot Se \sqrt{\frac{Sxx + (n\bar{x})^2}{nSxx}} = 0,017 \pm 0,0039$$

$$0,0131 < 0,017 < 0,02094$$

Sobre la pendiente

$$m = 0,0240$$

$$IC_m = 0,024 \pm t_{\alpha/2, 0.95} Se \sqrt{\frac{n}{Sxx}} = 0,024 \pm 0,0001$$

$$0,0239 < 0,0240 < 0,0241$$

Se realizaron varias repeticiones del experimento, los resultados obtenidos de éstos se encuentran en el anexo I.

### PRECISIÓN DE SISTEMA

Los datos que se presentan a continuación fueron los obtenidos por la muestra utilizada en esta prueba.

Muestra	Concentración (ppm)	Absorbancia				
1	23,9	0,5801	0,581	0,5802	0,5798	0,5795
2		0,5855	0,5847	0,5851	0,5859	0,5846
3		0,5857	0,5838	0,584	0,5819	0,5829
4		0,5916	0,5917	0,5912	0,5905	0,5997
5		0,5879	0,5869	0,5856	0,5862	0,5853
6		0,5835	0,5844	0,5841	0,5833	0,5821
7		0,5849	0,5831	0,5855	0,5851	0,5839
8		0,5841	0,5856	0,5835	0,5837	0,5822
9		0,5837	0,5824	0,5828	0,5823	0,5801

RESULTADOS EXPERIMENTALES	
C.V.	0,63%
Media	0,585
s	0,00369
s <sup>2</sup>	1,36x10 <sup>-5</sup>

Las pruebas de hipótesis que se proponen son:

$$H_0: s^2 = \sigma_0^2$$

$$H_1: s^2 > \sigma_0^2$$

Donde el valor de  $\sigma_0^2$  sale del despeje de la desviación estándar de la ecuación de C.V. tomando en cuenta los datos experimentales, obteniéndose un valor de  $8,5 \times 10^{-4}$

Se obtuvo la  $\chi^2$  calculada:

$$\chi_{cal}^2 = \frac{(n-1)s^2}{\sigma_0^2} = 0,7$$

El criterio de rechazo de la hipótesis nula es:

$$\chi_{calculada}^2 > \chi_{\alpha}^2$$

donde la  $\chi_{\alpha}^2 (\chi_{0,05}^2)$  para 44 grados de libertad es de 60,48.

Como 0,7 es menor que 60,48 la  $H_0$  se acepta, por lo tanto el sistema tiene una precisión de por lo menos 95%.

Como puede observarse el C.V. obtenido en esta parte del trabajo fue menor del 3% lo que indica que además de cumplir el valor mínimo planteado para este trabajo se cumple también el indicado por la industria farmacéutica.

Posteriormente se realizó el cálculo del intervalo de confianza de la desviación estándar con la siguiente expresión matemática. El intervalo de confianza se muestra a continuación:

$$\sqrt{\frac{(n-1)s^2}{\chi_{\alpha/2}^2}} < s < \sqrt{\frac{(n-1)s^2}{\chi_{(1-\alpha/2)}^2}}$$

$$0,0031 < s < 0,0047$$

Para esta parte se realizaron repeticiones del experimento, los resultados obtenidos de éstos se tienen en el anexo II.

### ESTABILIDAD DE LAS DISOLUCIONES ESTÁNDAR

Una vez que se obtuvo la absorbancia de los estándares en los diferentes días de estudio (ver anexo III) se realizó el análisis estadístico.

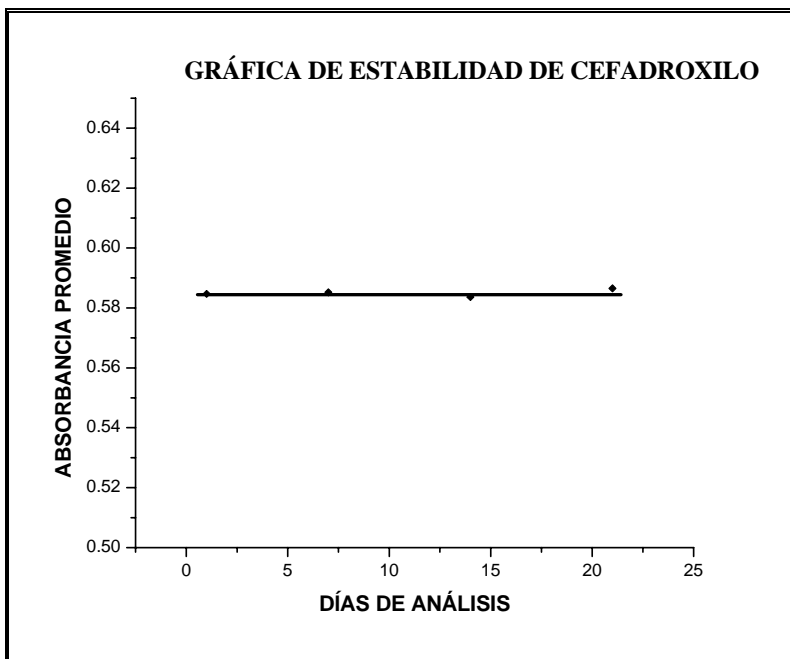
A continuación se muestran los resultados obtenidos los días 1 y 21.

No. de solución	No. de lectura	ABSORBANCIA DÍA 1	ABSORBANCIA DÍA 21
1	1	0,5801	0,5805
	2	0,5810	0,5789
	3	0,5802	0,5769

	4	0,5798	0,5761
	5	0,5795	0,5750
2	1	0,5855	0,5746
	2	0,5847	0,5730
	3	0,5851	0,5714
	4	0,5859	0,5722
	5	0,5846	0,5707
3	1	0,5857	0,5798
	2	0,5838	0,5811
	3	0,5840	0,5768
	4	0,5819	0,5809
	5	0,5829	0,5793
4	1	0,5916	0,5974
	2	0,5917	0,6036
	3	0,5912	0,5985
	4	0,5905	0,5900
	5	0,5997	0,5869
5	1	0,5879	0,6066
	2	0,5869	0,5947
	3	0,5856	0,5922
	4	0,5862	0,5913
	5	0,5853	0,5877
6	1	0,5835	0,5917
	2	0,5844	0,5916
	3	0,5841	0,5961
	4	0,5833	0,5915
	5	0,5821	0,5912
7	1	0,5849	0,5865
	2	0,5831	0,5880
	3	0,5855	0,5845
	4	0,5851	0,5844
	5	0,5839	0,5856
8	1	0,5841	0,5931
	2	0,5856	0,5919
	3	0,5835	0,5914
	4	0,5837	0,5884
	5	0,5822	0,5883
9	1	0,5837	0,5845
	2	0,5824	0,5894
	3	0,5828	0,5992
	4	0,5823	0,5906
	5	0,5801	0,5912

A continuación se muestra el comportamiento de las absorbancias de cefadroxilo obtenidas en los diferentes días análisis.





Como se puede observar en la gráfica las disoluciones trabajadas mantienen un valor constante de absorbancia a los diferentes días en que fueron estudiadas, lo que indica que se mantuvieron estables hasta por lo menos 21 días, para confirmar esta observación gráfica se procede a realizar el estudio estadístico respectivo.

A continuación se presentan los resultados de la prueba entre el día 1 y el día 21, las de las pruebas de los días 7 y 14 (las cuales indicaron que se mantenían estables) se encuentran en el anexo III.

Prueba estadística sobre las variancias

Las pruebas de hipótesis planteadas son:

$$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2$$

$$H_1: \sigma_1^2 \neq \sigma_2^2$$

Realizamos el cálculo de la:

$$F_{cal} = \frac{s_1^2}{s_2^2}$$

dónde:

$s_1^2$  = Varianza muestral mayor con  $n_M - 1$  grados de libertad (45-1= 44).



$s_2^2$  = Varianza muestral menor con  $n_m - 1$  grados de libertad ( $45-1= 44$ ).

$$F_{cal} = \frac{7,50 \times 10^{-5}}{1,36 \times 10^{-5}} = 5,51$$

Se rechaza la hipótesis nula, si:

$$F_{cal} > F_{\alpha/2}$$

con grados de libertad  $(n_M - 1, n_m - 1)$  y un nivel de significancia al 95% encontramos en tablas:

$$F_{tablas} = 1,82$$

Como  $5,51 > 1,82$  la  $H_0$  se rechaza, por lo que la precisión del analista fue diferente entre estos días. Por lo tanto la prueba sobre las medias se realizó calculándolo para varianzas diferentes.

#### Prueba estadística sobre las medias

La hipótesis nula y alterna que se proponen son:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$$

Con los resultados experimentales calculamos  $t_{cal.}$ :

$$t_{cal.} = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}} = -1,32$$

Como la  $t_{cal.}$  se obtiene para el caso de varianzas diferentes, los grados de libertad se calculan con la siguiente ecuación:

$$\varphi = \frac{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}{\frac{\left(\frac{s_1^2}{n_1}\right)^2}{n_{M-1}} + \frac{\left(\frac{s_2^2}{n_2}\right)^2}{n_{m-1}}} = 59,47$$

Con los grados de libertad y el nivel de significancia del 95% obtenemos la t de tablas igual a -2.00.

Como el criterio de rechazo de la hipótesis nula ( $H_0$ ) es:

$$t_{\text{calc.}} < -t_{\alpha/2} \text{ O } t_{\text{cal.}} > t_{\alpha/2}$$

como  $-1,32 > -2,00$  la  $H_0$  se acepta, por lo que se obtiene que las muestras del día 1 y 21 pertenecen a la misma población, lo que indica que las disoluciones estándar de cefadroxilo son estables por lo menos 21 días bajo las condiciones de almacenamiento establecidas.

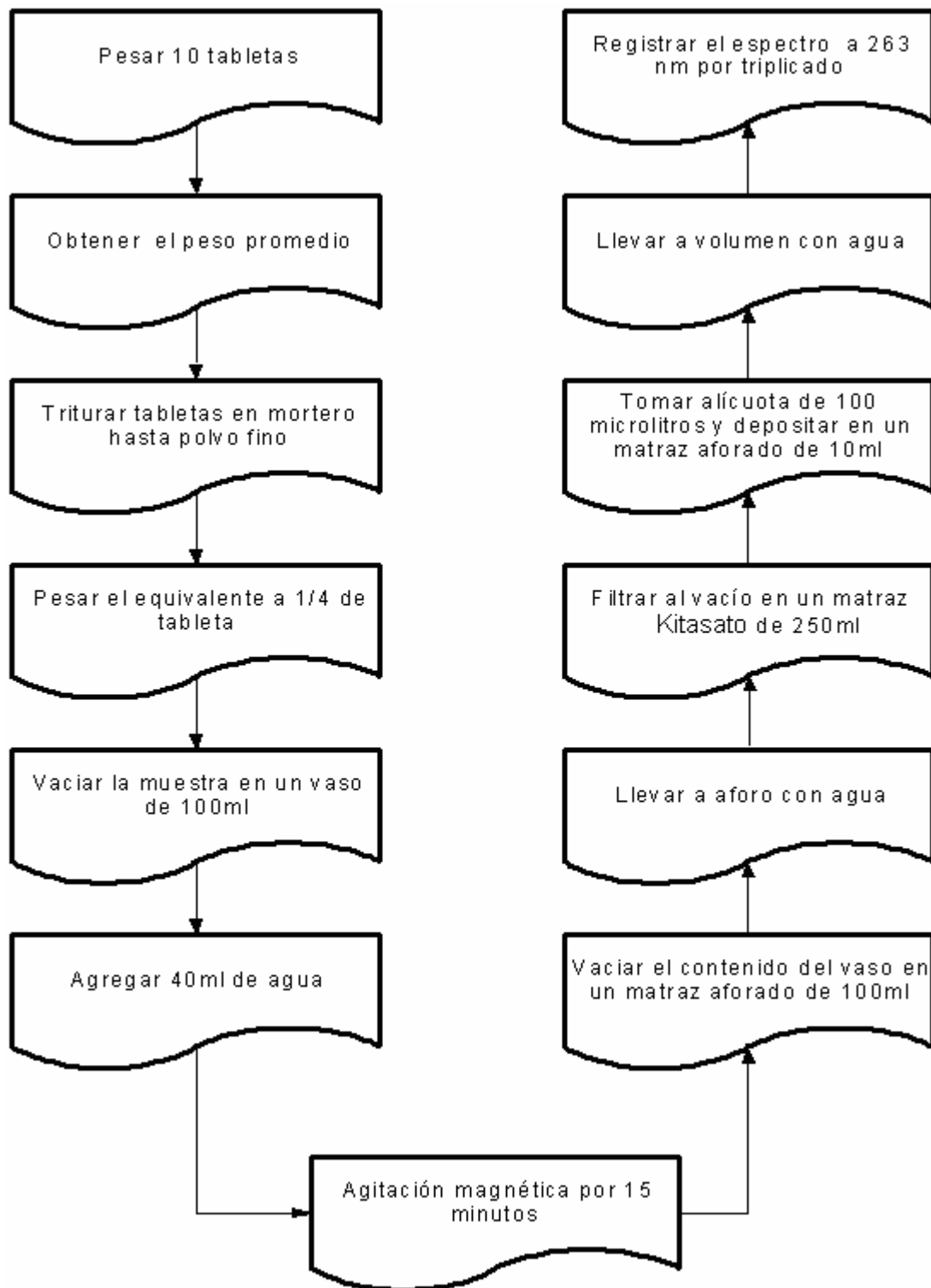
## MÉTODO

### CONDICIONES ÓPTIMAS DE TRABAJO (EXTRACCIÓN)

Como ya se explicó se realizaron varias pruebas que llevaron a plantear la metodología de extracción del cefadroxilo de las tabletas y al cual se le realizaron algunas pruebas estadísticas para validar una parte de ésta, y que se discutirán a continuación.

Se presenta solamente el diagrama de flujo de la metodología final planteada.

**DIAGRAMA DE FLUJO DE LA METODOLOGÍA ESTABLECIDA**



**PRECISIÓN DEL MÉTODO**

Como ya se había mencionado la precisión de método se expresa en términos de repetibilidad y reproducibilidad.

**REPETIBILIDAD**

Se muestra la prueba para un cuarto de tableta (tanto sintética como comercial). Los resultados obtenidos para media tableta se muestran en el anexo IV.

*Muestra sintética con avicel como excipiente*

No. M.	Réplica	g/Tableta
1	1	0,9219
	2	0,9219
	3	0,9219
2	1	0,9108
	2	0,9106
	3	0,9106
3	1	0,9441
	2	0,9436
	3	0,9438
4	1	0,9032
	2	0,9026
	3	0,9027
5	1	0,9300
	2	0,9293
	3	0,9290
6	1	0,8967
	2	0,8967
	3	0,8971
7	1	0,9434
	2	0,9434
	3	0,9455
8	1	0,9278
	2	0,9274
	3	0,9273
9	1	0,9127
	2	0,9127
	3	0,9151

Muestra sintética	
C.V.	1,75%
media	0,9212
s	0,01610
s <sup>2</sup>	2,6x10 <sup>-4</sup>

Las pruebas de hipótesis planteadas son:

$$H_0: s^2 = \sigma_0^2$$

$$H_1: s^2 > \sigma_0^2$$

Donde el valor de  $\sigma_0^2$  sale del despeje de la desviación estándar de la ecuación de C.V. tomando en cuenta los datos experimentales, obteniéndose un valor de  $2,12 \times 10^{-3}$

Se obtuvo la  $\chi^2$  calculada:

$$\chi_{cal}^2 = \frac{(n-1)s^2}{\sigma_0^2} = 3,18$$

El criterio de rechazo de la hipótesis nula es:

$$\chi_{calculada}^2 > \chi_{\alpha}^2$$

donde la  $\chi_{\alpha}^2 (\chi_{0,05}^2)$  para 26 grados de libertad es de 38,89.

Como 3,18 es menor que 38,89 la  $H_0$  se acepta, por lo tanto el método planteado tiene una repetibilidad de por lo menos 95% para la muestra sintética.

Como puede observarse el C.V. obtenido en esta parte del trabajo fue menor del 3% lo que indica que además de cumplir el valor mínimo planteado para este trabajo se cumple también el indicado por la industria farmacéutica.

Posteriormente se realizó el cálculo del intervalo de confianza de la desviación estándar con la siguiente expresión matemática. El intervalo de confianza se muestra a continuación:

$$\sqrt{\frac{(n-1)s^2}{\chi_{\alpha/2}^2}} < s < \sqrt{\frac{(n-1)s^2}{\chi_{(1-\alpha/2)}^2}}$$

$$0,0127 < s < 0,0221$$

Tabletas comerciales de cefadroxilo monohidratado

No. M.	Réplica	g/ tableta
1	1	0,9808
	2	0,9734
	3	0,9763
2	1	0,9787
	2	0,9805
	3	0,9802
3	1	0,9367
	2	0,9368
	3	0,9368
4	1	0,9350
	2	0,9349
	3	0,9340
5	1	0,9296
	2	0,9296
	3	0,9291
6	1	0,9710
	2	0,9718
	3	0,9698
7	1	0,9844
	2	0,9846
	3	0,9841
	1	0,9826
	2	0,9860
	3	0,9847
9	1	1,0094
	2	1,0139
	3	1,0090

Muestra comercial	
C.V.	2,76%
media	0,9675
s	0,02672
s <sup>2</sup>	7,2x10 <sup>-4</sup>



Las pruebas de hipótesis planteadas son:

$$H_0: s^2 = \sigma_0^2$$

$$H_1: s^2 > \sigma_0^2$$

Donde el valor de  $\sigma_0^2$  sale del despeje de la desviación estándar de la ecuación de C.V. tomando en cuenta los datos experimentales, obteniéndose un valor de  $2,34 \times 10^{-3}$

Se obtuvo la  $\chi^2$  calculada:

$$\chi_{cal}^2 = \frac{(n-1)s^2}{\sigma_0^2} = 7,93$$

El criterio de rechazo de la hipótesis nula es:

$$\chi_{calculada}^2 > \chi_{\alpha}^2$$

donde la  $\chi_{\alpha}^2$  ( $\chi_{0,05}^2$ ) para 26 grados de libertad es de 38,89.

Como 7,93 es menor que 38,89 la  $H_0$  se acepta, por lo tanto el método planteado tiene una repetibilidad de por lo menos 95% para las tabletas.

Como puede observarse el C.V. obtenido en esta parte del trabajo fue menor del 3% lo que indica que además de cumplir el valor mínimo planteado para este trabajo se cumple también el indicado por la industria farmacéutica.

Posteriormente se realizó el cálculo del intervalo de confianza de la desviación estándar con la siguiente expresión matemática. El intervalo de confianza se muestra a continuación:

$$\sqrt{\frac{(n-1)s^2}{\chi_{\alpha/2}^2}} < s < \sqrt{\frac{(n-1)s^2}{\chi_{(1-\alpha/2)}^2}}$$

$$0.02101 < s < 0.0366$$



**REPRODUCIBILIDAD**

Como se ha mencionado en este trabajo las pruebas estadísticas para el estudio de la reproducibilidad son las mismas que se aplican para la prueba de estabilidad de soluciones. Los resultados obtenidos se indican en el anexo V

A continuación se muestran los datos obtenidos tanto por el analista 1 y 2.

No. de muestra	No. de Lecturas	Analista 1	Analista 2
1	1	0,981	0,975
	2	0,973	0,975
	3	0,976	0,979
2	1	0,979	0,981
	2	0,980	0,983
	3	0,980	0,980
3	1	0,937	1,030
	2	0,937	1,034
	3	0,937	1,039
4	1	0,935	0,968
	2	0,935	0,971
	3	0,934	0,972
5	1	0,930	0,951
	2	0,930	0,951
	3	0,929	0,952
6	1	0,971	0,989
	2	0,972	0,992
	3	0,970	0,992
7	1	0,984	1,032
	2	0,985	1,032
	3	0,984	1,032
8	1	0,983	1,026
	2	0,986	1,027
	3	0,985	1,031
9	1	1,009	0,965
	2	1,014	0,969
	3	1,009	0,971
Media		0,9675	0,9926
Desviación estándar		0,0267	0,0300
Varianza		0,00072	0,0009
C.V.		2,76%	3,02%

Prueba estadística sobre las variancias

$$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2$$

$$H_1: \sigma_1^2 \neq \sigma_2^2$$

Realizamos el cálculo de la:

$$F_{cal} = \frac{s_1^2}{s_2^2}$$

dónde:

$s_1^2$  = Varianza muestral mayor con  $n_M - 1$  grados de libertad (27-1= 26).

$s_2^2$  = Varianza muestral menor con  $n_m - 1$  grados de libertad (27-1= 26).

$$F_{cal} = \frac{3,3 \times 10^{-4}}{2,5 \times 10^{-4}} = 1,26$$

Se rechaza la hipótesis nula, si:

$$F_{cal} > F_{\alpha/2}$$

con grados de libertad  $(n_M - 1, n_m - 1)$  y un nivel de significancia al 95% encontramos en tablas:

$$F_{tablas} = 2,19$$

Como  $2,19 > 1,26$  la  $H_0$  se acepta, por lo que la precisión del analista 1 y el analista 2 es la misma y está es por lo menos mayor al 95%. Por lo tanto la prueba sobre las medias se realizó calculándolo para variancias iguales.



### Prueba estadística sobre las medias

La hipótesis nula y alterna que se proponen son:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$$

Con los resultados experimentales calculamos  $t_{cal.}$ :

$$t_{cal} = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}} \sqrt{\frac{(n_1 + n_2 - 2)n_1 n_2}{n_1 + n_2}} = -3,24$$

Como la  $t_{cal.}$  se obtiene para el caso de varianzas iguales, los grados de libertad fueron  $g.l. = n_1 + n_2 - 2 = 27 + 27 - 2 = 52$ , con éstos y tomando un nivel de significancia del 95% se obtuvo una  $t_{tablas} = t_{\alpha/2, 52} = -2,31$ .

Para rechazar la hipótesis nula se aplica que:

$$t_{cal.} < -t_{\alpha/2} \text{ o } t_{cal.} > t_{\alpha/2}$$

Como  $-3,24 > -2,31$  rechazamos la hipótesis nula, lo que indica que los datos obtenidos por el analista 1 y 2 no provienen de la misma población y por lo tanto la metodología no fue reproducible por el analista 2.

**RECOBRO**

Se determinó la cantidad recuperada de cefadroxilo en g/tableta para cada uno de los 5 lotes de muestras sintéticas que se prepararon.

Para ejemplificar el cálculo en esta parte sólo se presentan los resultados del lote No.5 (que fue el último que se analizó), los resultados de los otros lotes se encuentran en el anexo VI.

Para este lote la concentración del principio activo en g/tableta fue de 0,9001 g/tableta:

LOTE 5				
MUESTRA	RÉPLICA	ABSORBANCIA	g/TABLETA	%RECOBRO
1	1	0,5288	0,9016	100,2
	2	0,5281	0,9003	100,0
	3	0,5270	0,8984	99,8
2	1	0,5359	0,9156	101,7
	2	0,5369	0,9174	101,9
	3	0,5367	0,9170	101,9
3	1	0,5424	0,9258	102,9
	2	0,5446	0,9297	103,3
	3	0,5447	0,9299	103,3
4	1	0,5422	0,9270	103,0
	2	0,5433	0,9290	103,2
	3	0,5431	0,9286	103,2
5	1	0,5474	0,9362	104,0
	2	0,5478	0,9369	104,1
	3	0,5469	0,9353	103,9
6	1	0,5475	0,9351	103,9
	2	0,5471	0,9344	103,8
	3	0,5472	0,9346	103,8
7	1	0,5499	0,9393	104,4
	2	0,5472	0,9346	103,8
	3	0,5480	0,9360	104,0
PROMEDIO			0,9258	102,8713
DESVIACIÓN ESTÁNDAR			0,0127	1,4095
VARIANZA			0,0002	1,9867
C.V.			1,37%	1,37%

Como se puede ver el valor de recobro permite que los valores que se encuentren, cumplirían con lo planteado por la farmacopea para el marbete que es entre 90 a 120% del principio activo.



# CAPÍTULO V. CONCLUSIONES



De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo y tomando en cuenta los objetivos planteados se tienen las siguientes conclusiones:

- Las condiciones de trabajo que se establecieron para el sistema son óptimas para realizar el análisis cuantitativo de cefadroxilo.
- Para el análisis de cefadroxilo se determinó que su longitud de onda de máxima absorción es de 263nm lo que concuerda con lo establecido en la bibliografía. La preparación de los estándares y cuantificación de cefadroxilo es óptima utilizando como disolvente agua ASTM Tipo I.
- El sistema es lineal en un intervalo de concentraciones de 10 a 50ppm, obteniéndose un coeficiente de correlación igual a 0,9999 , ordenada igual a 0,017 y pendiente de 0,024mL/mg cm. Siendo el coeficiente de correlación mayor a 0.98 que es el mínimo requerido para linealidad de sistema por la Industria Farmacéutica.
- Después de la realización del estudio estadístico para la ordenada al origen se obtiene que no tiende al origen, por lo que la ecuación utilizada para la cuantificación del cefadroxilo fue la ecuación de la recta  $y = mx + b$ .
- Para el caso de la prueba de precisión del sistema se tuvo que el coeficiente de variación experimental obtenido era de 0,63%, siendo menor al 5% planteado por el laboratorio donde se realizó este trabajo y también menor del 3% que es lo requerido por la Industria Farmacéutica para métodos espectroscópicos.
- En cuanto a la evaluación de la estabilidad de estándares se tiene que las soluciones estándar de cefadroxilo fueron estables por un periodo de 21 días a las condiciones de almacenaje establecidas. Esto se puede extrapolar a las disoluciones de las muestras.
- Se desarrollo una metodología de preparación con la cual se puede extraer de manera adecuada al cefadroxilo con agua y de manera rápida.
- La metodología desarrollada considera una disminución en la cantidad de muestra de tableta comercial utilizada, logrando una buena cuantificación en el caso de media tableta y un cuarto de tableta. Además con esta metodología se evita la utilización de disolventes orgánicos, generando menos desechos dañinos al ambiente y al analista.
- El método propuesto para el tratamiento de las muestras analizadas (tanto las tabletas comerciales como los placebos analíticos) es repetible con un coeficiente de variación menor al 5% con lo que podemos decir que el método desarrollado es preciso por lo menos un 95%. Con las muestras comerciales se obtuvo un coeficiente de variación de 2,76% y para muestra sintética uno de 1,74% quedando también abajo del valor de 3% que indica la industria farmacéutica.
- Dado que los resultados se muestran en el orden de preparación se concluye además que la metodología puede hacerse más repetible conforme el analista adquiere práctica. Algo normal en sistemas de calidad.



- Para la reproducibilidad del método, la prueba estadística indicó en este trabajo que el método no fue reproducible, debido a la falta de práctica sobre la metodología del analista que apoyo en esta prueba. Por lo que aunque la metodología de extracción parece ser simple, si requiere de habilidad y entrenamiento de ésta por parte de los analistas.
- Con respecto a la prueba de recobro se obtuvieron siempre valores mayores al 100% (aprox. un promedio 102,9%), aun así el contenido en gramos por tableta que se obtiene tomando en cuenta este recobro permite aprobar las condiciones de marbete ya que para el cefadroxilo en forma farmacéutica de tabletas la farmacopea indica que el contenido del principio activo de be estar entre 90-120% de las muestras.
- La variación del recobro mencionado en el párrafo anterior indica que se necesita optimizar los siguientes parámetros:
  - ❖ Utilizar los mismos excipientes que el fabricante fabricante de las tabletas.
  - ❖ Conocimiento del tamaño de partícula de los excipientes para poder utilizar el papel filtro adecuado para retener con mayor eficiencia al excipiente.
  - ❖ Por lo anterior tener un mejor blanco óptico para compensar los fenómenos de dispersión en el instrumento y que pueden estar dando mayor señal.

De manera general se puede concluir que:

El equipo utilizado (espectrofotómetro, en este caso el Perkin-Elmer modelo lambda 11) es adecuado para realizar la cuantificación de cefadroxilo y que aplicando la metodología desarrollada tanto en muestras comerciales como para muestras sintéticas, se puede analizar el cefadroxilo en tabletas con una precisión y repetibilidad mayor al 95%.



# CAPÍTULO VI BIBLIOGRAFÍA



---

---

## BIBLIOGRAFÍA

1. CORDIES, L. et.al. "*Principios generales de la terapéutica antimicrobiana*". Acta Médica. Vol. 8 Tomo 1. pp : 13-27, (1998).
2. GOODMAN L. S. "*Goodman and Gilman. Las bases Farmacológicas de la Terapéutica*". 9ª edición. Volumen II. Editorial McGraw Hill Interamericana.1996.
3. Zamora,M. et.al." Cefalosporinas"Acta médica 1998:8(1):40-47.
4. Index merck versión digital.
5. MUTSCHLER, E. Derendorf, H. "*Drug Actions. Basic Principles and Therapeutic Aspects*". Editorial MedPharm, Stuttgart Alemania, 1995. pp 519-543.
6. ROSENSTEN. "*Diccionario de Especialidades Farmacéuticas*". 47ª edición, 2001. Versión Digital.
7. CONNORS, K. A. "*Chemical Stability of Pharmacéuticals, a Handbook for Pharmacist*". 2ª edición, Editorial John Wiley and Sons, 1986.
8. MORELLI, B. "*Derivative spectrophotometry in the análisis of mixtures of cefotaxime sodium and cefadroxil monohydrate*". Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis Vol. 32 p.p:257-267. (2003)
9. <http://rxlist.com/cgi/generic/cefadrox.htm> (Drugbank) consultado el 29 de junio del 2006.
10. European Pharmacopeia 3ª Edición, editada por la convención de la Farmacopea Europea. Strasburgo1997.
11. United States Pharmacopeia NF28 editada por The united Pharmacopeial Convention (2005).
12. HARRIS, D. "*Análisis Químico Cuantitativo*". 2ª edición. Editorial Reverté. México 2001. p.p: 499-516
13. SKOOG, D. et.al. "*Química Analítica*". 7ª edición. Editorial McGraw Hill. México 2000. p.p: 567-620.
14. GÜNZLER H, Williams A. "*Handbook of Analytical Techniques*". Vol. I. Editorial Wiley-VCH. Alemania 2001.Pag 420-452.
15. SILVERSTEIN, R.M. Clayton G. "*Spectrometric Identification of Organic Compounds*". 5ª edición Editorial John Wiley and Sons. United Status of América 1991. Pag 289-296



- 
16. Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos. *“Guía de Validación de Métodos Analíticos”*, editada por el Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A.C; 2002.
  17. Secretaría de Salud. NOM-059-SSA-1993. Buenas Prácticas de Fabricación.
  18. Miller, J.N. *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. Editorial Pearson, S.A; Madrid España, 2000.

# ANEXOS



# ANEXO I. LINEALIDAD DEL SISTEMA

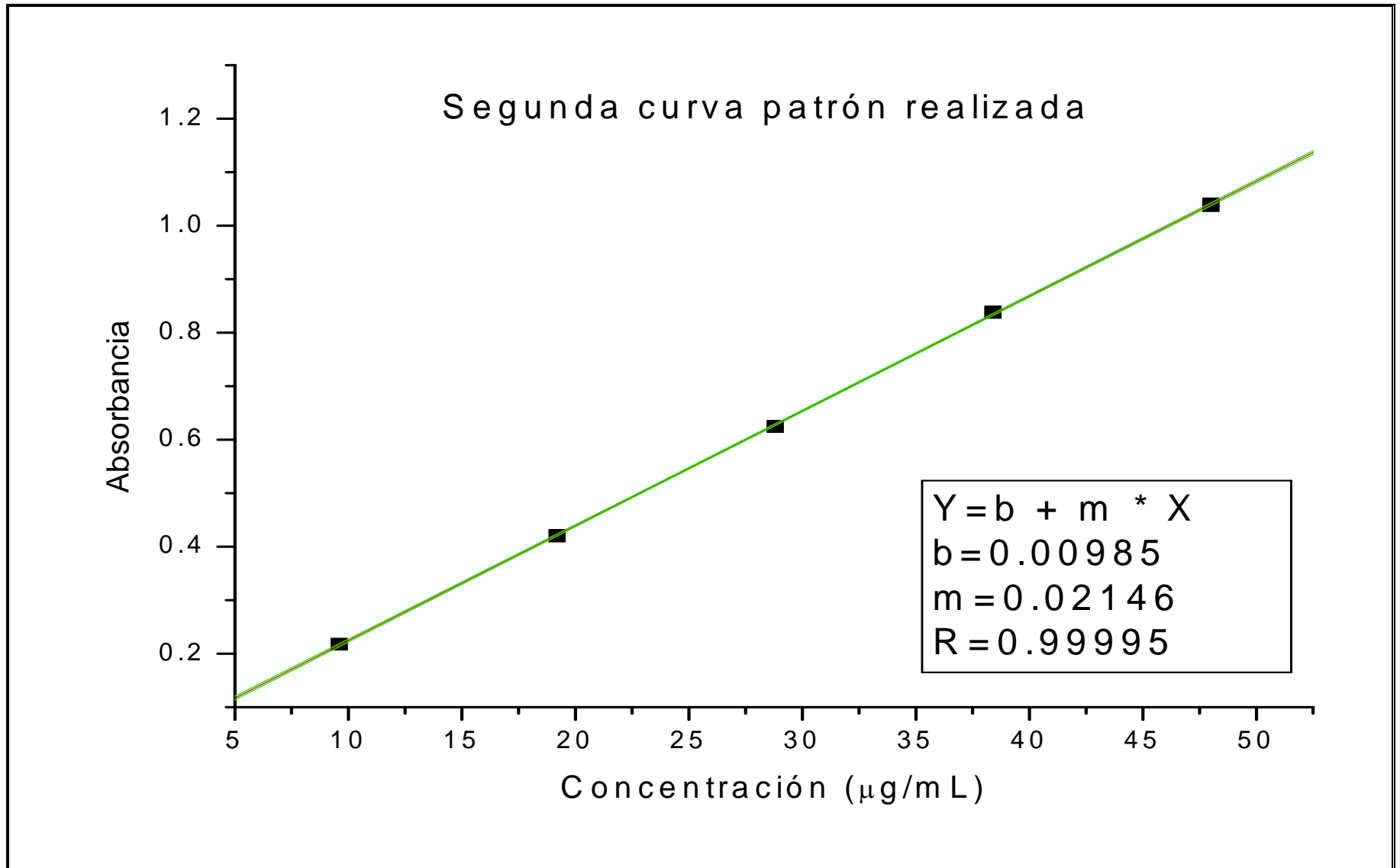
ANEXOS



CONC. ppm (Xi)	Absorbancia(Yi)	Xi*Xi	Yi*Yi	Xi*Yi		
9,6	0,2176	92,16	0,05	2,09	Suma Xi	432,00
9,6	0,2176	92,16	0,05	2,09	Suma Yi	9,42
9,6	0,2175	92,16	0,05	2,09	Suma Xi*Yi	330,62
19,2	0,4194	368,64	0,18	8,05	Suma Xi*Yi al cuadrado	109310,32
19,2	0,4212	368,64	0,18	8,09	Suma Xi al cuadrado	186624,00
19,2	0,4211	368,64	0,18	8,09	Suma Yi al cuadrado	88,73
28,8	0,6248	829,44	0,39	17,99	Suma Xi*Xi	15206,40
28,8	0,6242	829,44	0,39	17,98	Suma Yi*Yi	7,19
28,8	0,6247	829,44	0,39	17,99	Xi promedio	28,80
38,4	0,8389	1474,56	0,70	32,21	n	15,00
38,4	0,8381	1474,56	0,70	32,18	g.l.	13,00
38,4	0,8375	1474,56	0,70	32,16	(n-2)*n	195,00
48	1,0387	2304	1,08	49,86	n*Xi promedio	432,00
48	1,0411	2304	1,08	49,97	(n*Xi promedio)al cuadrado	186624,00
48	1,0371	2304	1,08	49,78	t tablas	2,16
					Sxx	41472,00
					Syy	19,11
					Sxy	890,09
					Se	0,00298
					ORDENADA EXPERIMENTAL	0,00985
					ORDENADA TEÓRICA	0,00
					t calculada	5,54
					INTERVALO DE CONFIANZA DE LA ORDENADA	
					MÍNIMO	0,0060
					MÁXIMO	0,0137
					PENDIENTE	0,02146
					INTERVALO DE CONFIANZA DE LA PENDIENTE	
					MÍNIMO	0,02134
					MÁXIMO	0,02158
					CONCLUSIÓN	
					La t calculada es mayor a t tablas por lo tanto la Ho se rechaza por lo que la ordenada no es igual a cero .	



## LINEALIDAD DE SISTEMA 1

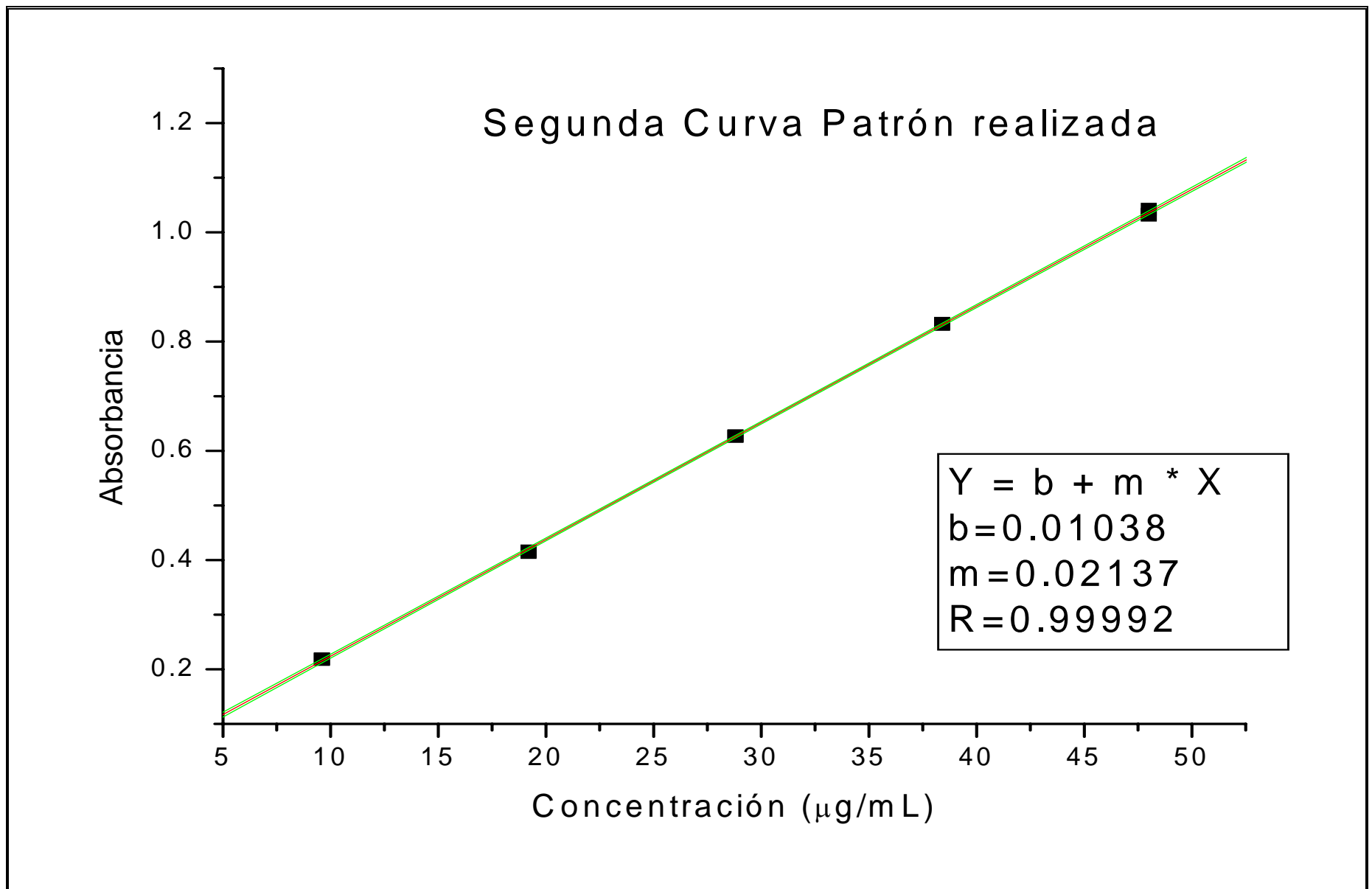




### LINEALIDAD DE SISTEMA

CONC. ppm (Xi)	Absorbancia(Yi)	Xi*Xi	Yi*Yi	Xi*Yi
9,6	0,2187	92,16	0,05	2,10
9,6	0,2178	92,16	0,05	2,09
9,6	0,2192	92,16	0,05	2,10
19,2	0,4168	368,64	0,17	8,00
19,2	0,4138	368,64	0,17	7,94
19,2	0,4153	368,64	0,17	7,97
28,8	0,6262	829,44	0,39	18,03
28,8	0,6266	829,44	0,39	18,05
28,8	0,6276	829,44	0,39	18,07
38,4	0,8336	1474,56	0,69	32,01
38,4	0,8328	1474,56	0,69	31,98
38,4	0,8313	1474,56	0,69	31,92
48	1,0332	2304	1,07	49,59
48	1,0422	2304	1,09	50,03
48	1,0313	2304	1,06	49,50

Suma Xi	432,00
Suma Yi	9,39
Suma Xi*Yi	329,40
Suma Xi*Yi al cuadrado	108507,52
Suma Xi al cuadrado	186624,00
Suma Yi al cuadrado	88,10
Suma Xi*Xi	15206,40
Suma Yi*Yi	7,14
Xi promedio	28,80
n	15,00
g.l.	13,00
(n-2)*n	195,00
n*Xi promedio	432,00
(n*Xi promedio)al cuadrado	186624,00
t tablas	2,16
Sxx	41472,00
Syy	18,94
Sxy	886,15
Se	0,00395
ORDENADA EXPERIMENTAL	0,01038
ORDENADA TEÓRICA	0,00
t calculada	4,34
INTERVALO DE CONFIANZA DE LA ORDENADA	
MÍNIMO	0,0052
MÁXIMO	0,0155
PENDIENTE	0,02137
INTERVALO DE CONFIANZA DE LA PENDIENTE	
MÍNIMO	0,02121
MÁXIMO	0,02153
CONCLUSIÓN	
La t calculada es mayor a t tablas por lo tanto la Ho se rechaza por lo que la ordenada no es igual a cero	







**LINEALIDAD DE SISTEMA REPORTADA EN RESULTADOS SIN 0,0 ( SU GRÁFICA APARECE EN EL CAPÍTULO DE RESULTADOS)**

CONC. ppm (Xi)	Absorbancia(Yi)	Xi*Xi	Yi*Yi	Xi*Yi
9,6	0,2512	92,16	0,06	2,41
9,6	0,2485	92,16	0,06	2,39
9,6	0,2488	92,16	0,06	2,39
19,2	0,477	368,64	0,23	9,16
19,2	0,4759	368,64	0,23	9,14
19,2	0,4753	368,64	0,23	9,13
28,8	0,7135	829,44	0,51	20,55
28,8	0,7143	829,44	0,51	20,57
28,8	0,7141	829,44	0,51	20,57
38,5	0,9415	1482,25	0,89	36,25
38,5	0,9409	1482,25	0,89	36,22
38,5	0,9408	1482,25	0,89	36,22
48	1,1748	2304	1,38	56,39
48	1,1749	2304	1,38	56,40
48	1,1718	2304	1,37	56,25

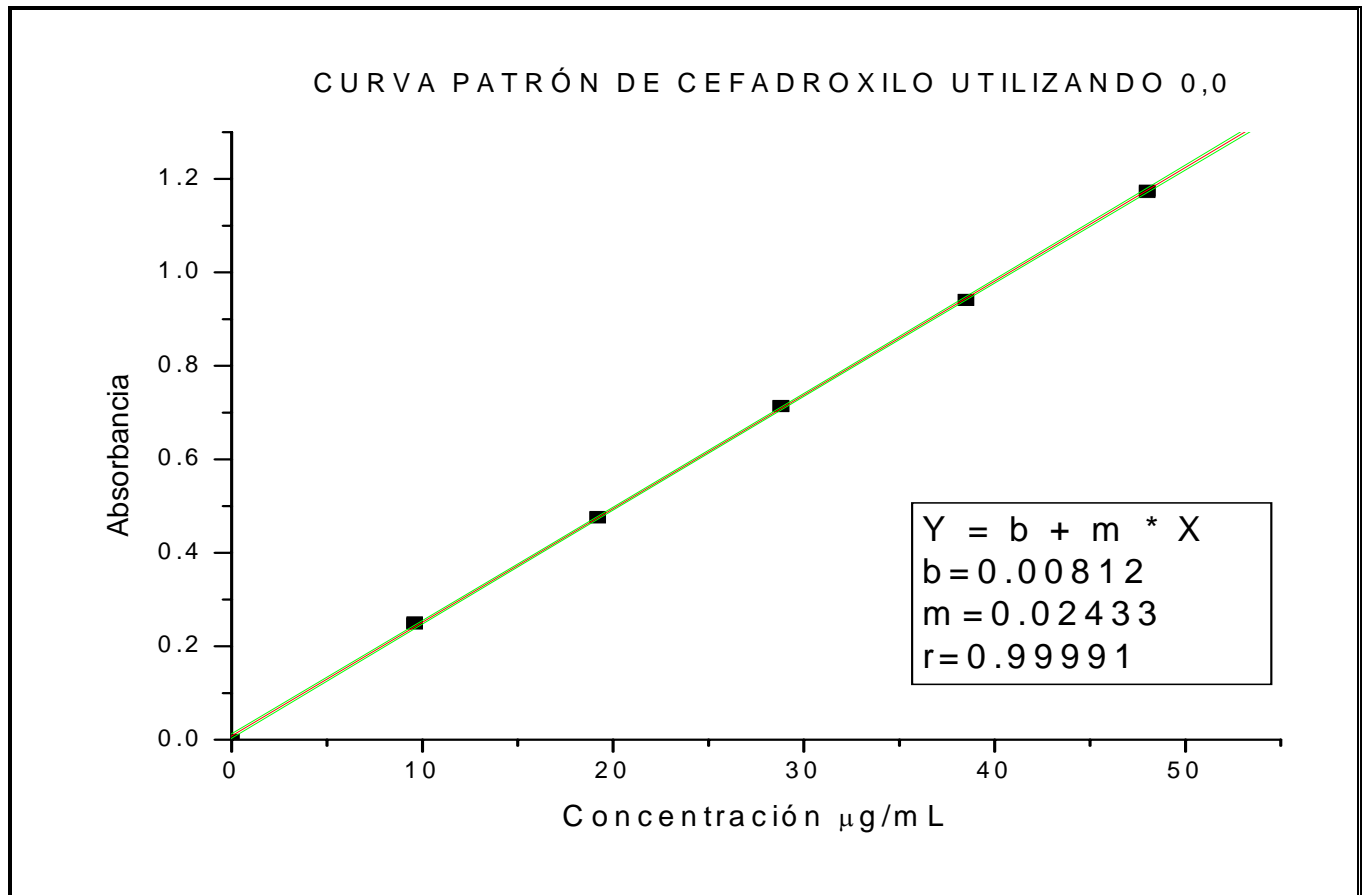
Suma Xi	432,30
Suma Yi	10,66
Suma Xi*Yi	374,02
Suma Xi*Yi al cuadrado	139890,18
Suma Xi al cuadrado	186883,29
Suma Yi al cuadrado	113,71
Suma Xi*Xi	15229,47
Suma Yi*Yi	9,19
Xi promedio	28,82
n	15,00
g.l.	13,00
(n-2)*n	195,00
n*Xi promedio	432,30
(n*Xi promedio)al cuadrado	186883,29
t tablas	2,16
Sxx	41558,76
Syy	24,09
Sxy	1000,54
Se	0,00299
ORDENADA EXPERIMENTAL	0,017
ORDENADA TEÓRICA	0,00
t calculada	9,40
INTERVALO DE CONFIANZA DE LA ORDENADA	
MÍNIMO	0,0131
MÁXIMO	0,0209
PENDIENTE	0,0240
INTERVALO DE CONFIANZA DE LA PENDIENTE	
MÍNIMO	0,0239
MÁXIMO	0,0241
CONCLUSIÓN	
La t calculada es mayor a t tablas por lo tanto la Ho se rechaza por lo que la ordenada no es igual a cero	



### LINEALIDAD DE SISTEMA REPORTADA EN RESULTADOS CON 0,0

CONC. ppm (Xi)	Absorbancia(Yi)	Xi*Xi	Yi*Yi	Xi*Yi
0	0	0	0	0
0	0	0	0	0
0	0	0	0	0
9,6	0,2512	92,16	0,06	2,41
9,6	0,2485	92,16	0,06	2,39
9,6	0,2488	92,16	0,06	2,39
19,2	0,477	368,64	0,23	9,16
19,2	0,4759	368,64	0,23	9,14
19,2	0,4753	368,64	0,23	9,13
28,8	0,7135	829,44	0,51	20,55
28,8	0,7143	829,44	0,51	20,57
28,8	0,7141	829,44	0,51	20,57
38,5	0,9415	1482,25	0,89	36,25
38,5	0,9409	1482,25	0,89	36,22
38,5	0,9408	1482,25	0,89	36,22
48	1,1748	2304	1,38	56,39
48	1,1749	2304	1,38	56,40
48	1,1718	2304	1,37	56,25

Suma Xi	432,30
Suma Yi	10,66
Suma Xi*Yi	374,02
Suma Xi*Yi al cuadrado	139890,18
Suma Xi al cuadrado	186883,29
Suma Yi al cuadrado	113,71
Suma Xi*Xi	15229,47
Suma Yi*Yi	9,19
Xi promedio	28,82
n	18,00
g.l.	16,00
(n-2)*n	288,00
n*Xi promedio	518,76
(n*Xi promedio)al cuadrado	269111,94
t tablas	2,11
Sxx	87247,17
Syy	51,65
Sxy	2122,60
Se	0,0058
ORDENADA EXPERIMENTAL	0,00812
ORDENADA TEÓRICA	0,00
t calculada	6,20
INTERVALO DE CONFIANZA DE LA ORDENADA	
MÍNIMO	0.0023
MÁXIMO	0.0139
PENDIENTE	0,0241
INTERVALO DE CONFIANZA DE LA PENDIENTE	
MÍNIMO	0,02421
MÁXIMO	0,02445
CONCLUSIÓN	
La t calculada es mayor a t tablas por lo tanto la H <sub>0</sub> se rechaza por lo que la ordenada no es igual a cero .	





# ANEXO II. PRECISIÓN DE SISTEMA



## PRECISIÓN DE SISTEMA 1

ST	Absorbancia	Concentración (ppm)
1	0,5747	23,6
	0,5743	23,6
	0,5721	23,6
	0,5725	23,6
	0,5744	23,6
2	0,5724	23,6
	0,5722	23,6
	0,5707	23,6
	0,5729	23,6
	0,5728	23,6
3	0,5727	23,6
	0,573	23,6
	0,5734	23,6
	0,5733	23,6
	0,5741	23,6
4	0,5728	23,6
	0,5728	23,6
	0,5727	23,6
	0,5724	23,6
	0,5733	23,6
5	0,5687	23,6
	0,5686	23,6
	0,565	23,6
	0,5661	23,6
	0,5649	23,6
6	0,5791	23,6
	0,5778	23,6
	0,5781	23,6
	0,5795	23,6
	0,5791	23,6
7	0,5742	23,6
	0,5761	23,6
	0,5763	23,6
	0,5763	23,6
	0,5766	23,6
8	0,5757	23,6
	0,5743	23,6
	0,574	23,6
	0,5761	23,6
	0,5746	23,6
9	0,5762	23,6
	0,5798	23,6
	0,5764	23,6
	0,5783	23,6
	0,5798	23,6

n	45
MEDIA EXP.	0,5740
DESVIACIÓN ESTANDAR EXP	0,003567477
VARIANZA EXP	1,27269E-05
% CV	5
DESVIACIÓN ESTANDAR PROPUESTA	0,023
VARIANZA PROPUESTA	0,00082
$\alpha$ =	0,05
g.l.(n-1)	44
$\chi^2$ DE TABLAS	
$\chi^2$ a (1- $\alpha$ /2) 0,975	27,6
$\chi^2$ a ( $\alpha$ /2) 0,025	64,2
$\chi^2$ a ( $\alpha$ ) 0,05	60,48
$\chi^2$ CALCULADA	0,68
INTERVALO DE CONFIANZA	
MÍNIMO	0,003
MÁXIMO	0,0045
C.V. EXPERIMENTAL	0,62
CONCLUSIÓN	
Como $\chi^2$ calculada menor a $\chi^2$ de tablas $H_0$ se acepta por lo que el sistema es preciso con un error máximo del 5%.	



PRECISIÓN DE SISTEMA REPORTADA EN RESULTADOS

ST	Absorbancia	Concentración (ppm)
1	0,5801	23,9
	0,581	23,9
	0,5802	23,9
	0,5798	23,9
	0,5795	23,9
2	0,5855	23,9
	0,5847	23,9
	0,5851	23,9
	0,5859	23,9
	0,5846	23,9
3	0,5857	23,9
	0,5838	23,9
	0,584	23,9
	0,5819	23,9
4	0,5829	23,9
	0,5916	23,9
	0,5917	23,9
	0,5912	23,9
5	0,5905	23,9
	0,5997	23,9
	0,5879	23,9
	0,5869	23,9
	0,5856	23,9
6	0,5862	23,9
	0,5853	23,9
	0,5835	23,9
	0,5844	23,9
	0,5841	23,9
7	0,5833	23,9
	0,5821	23,9
	0,5849	23,9
	0,5831	23,9
8	0,5855	23,9
	0,5851	23,9
	0,5839	23,9
	0,5841	23,9
9	0,5856	23,9
	0,5835	23,9
	0,5837	23,9
	0,5822	23,9
	0,5837	23,9
9	0,5824	23,9
	0,5828	23,9
	0,5823	23,9
	0,5801	23,9

n	45
MEDIA EXP.	0,585
DESVIACIÓN ESTANDAR EXP	0,00369
VARIANZA EXP	1,36E-05
% CV	5
DESVIACIÓN ESTANDAR PROPUESTA	0,0292
VARIANZA PROPUESTA	0,00085
$\alpha=$	0,05
g.l.(n-1)	44
$\chi^2$ DE TABLAS	
$\chi^2$ a (1- $\alpha/2$ ) 0,975	27,57
$\chi^2$ a ( $\alpha/2$ ) 0,025	64,20
$\chi^2$ a ( $\alpha$ ) 0,05	60,48
$\chi^2$ CALCULADA	0,7
INTERVALO DE CONFIANZA DE LA DESVIACIÓN ESTANDAR	
MÍNIMO	0,0031
MÁXIMO	0,0047
CONCLUSIÓN	
Como $\chi^2$ CALCULADA MENOR A $\chi^2$ DE TABLAS Ho se acepta por lo que el sistema es preciso con un error máximo del 5%	



## ANEXO III. ESTABILIDAD



## DATOS EXPERIMENTALES DE ESTABILIDAD

ABSORBANCIA DÍA 1	ABSORBANCIA DÍA 7	ABSORBANCIA DÍA 14	ABSORBANCIA DIA 21
0,5801	0,5828	0,5792	0,5805
0,581	0,5828	0,5776	0,5789
0,5802	0,5827	0,5763	0,5769
0,5798	0,5837	0,5711	0,5761
0,5795	0,5816	0,5746	0,575
0,5855	0,5829	0,5843	0,5746
0,5847	0,5783	0,5848	0,573
0,5851	0,5794	0,5849	0,5714
0,5859	0,5787	0,5828	0,5722
0,5846	0,5778	0,5839	0,5707
0,5857	0,5847	0,5767	0,5798
0,5838	0,5839	0,576	0,5811
0,584	0,5836	0,5719	0,5768
0,5819	0,5828	0,5721	0,5809
0,5829	0,5815	0,5725	0,5793
0,5916	0,5946	0,5861	0,5974
0,5917	0,5939	0,5841	0,6036
0,5912	0,5923	0,5837	0,5985
0,5905	0,5961	0,5829	0,59
0,5997	0,5909	0,5837	0,5869
0,5879	0,593	0,597	0,6066
0,5869	0,5934	0,5986	0,5947
0,5856	0,5949	0,5974	0,5922
0,5862	0,5926	0,5955	0,5913
0,5853	0,589	0,5911	0,5877
0,5835	0,5928	0,5933	0,5917
0,5844	0,593	0,5912	0,5916
0,5841	0,5888	0,5919	0,5961
0,5833	0,5913	0,5922	0,5915
0,5821	0,589	0,6039	0,5912
0,5849	0,5834	0,5779	0,5865
0,5831	0,5826	0,5753	0,588
0,5855	0,5816	0,578	0,5845
0,5851	0,5783	0,5638	0,5844
0,5839	0,5784	0,5764	0,5856
0,5841	0,5811	0,5883	0,5931
0,5856	0,5847	0,591	0,5919
0,5835	0,5841	0,5896	0,5914
0,5837	0,5756	0,5906	0,5884
0,5822	0,5763	0,5896	0,5883
0,5837	0,583	0,5777	0,5845
0,5824	0,5828	0,5921	0,5894
0,5828	0,5828	0,5794	0,5992
0,5823	0,5822	0,5749	0,5906
0,5801	0,5829	0,5779	0,5912





## PRUEBA ESTADÍSTICA ENTRE DÍA 1 Y 7

ESTABILIDAD DÍA 1 Y 7	
n1	45
n2	45
nM	44
nm	44
C.V.	5%
MEDIA DIA 1	0,5847
MEDIA DIA 7	0,5852
VARIANZA DÍA 1	1,36E-5
VARIANZA DÍA 7	3,2E-05
Fcal	2,37
F tablas	1,82
<b>CONCLUSIÓN</b>	
Fcal > Ftablas por lo que Ho se rechaza la varianza entre el día 1 y 7 no es la misma	

LA PRUEBA DE HIPÓTESIS SOBRE LAS MEDIAS QUEDARÍA	
n1	45
n2	45
nM	44
nm	44
C.V.	5%
MEDIA DIA 1	0,5847
MEDIA DIA 7	0,5852
VARIANZA DÍA 1	1,36E-05
VARIANZA DÍA 7	3,2E-05
tcal	-0,46
g.l.(Φ)	76,00
t tablas	-1,99
<b>CONCLUSIÓN</b>	
-tcal > ttablas, Ho se acepta por lo tanto las muestras pertenecen a la misma población	

## PRUEBA ESTADÍSTICA ENTRE DÍA 1 Y 14

ESTABILIDAD DÍA 1 Y 14	
n1	45
n2	45
nM	44
nm	44
C.V.	5%
MEDIA DIA 1	0,5847
MEDIA DIA 14	0,5836
VARIANZA DÍA 1	1,36E-05
VARIANZA DÍA 7	7,6E-05
Fcal	5,61
F tablas	1,82
<b>CONCLUSIÓN</b>	
Fcal > Ftablas por lo que Ho se rechaza la varianza entre el día 1 y 14 no es la misma	

LA PRUEBA DE HIPÓTESIS SOBRE LAS MEDIAS QUEDARÍA	
n1	45
n2	45
nM	44
nm	44
C.V.	5%
MEDIA DIA 1	0,5847
MEDIA DIA 14	0,5836
VARIANZA DÍA 1	1,36E-05
VARIANZA DÍA 14	7,6E-05
tcal	0,751
g.l.(Φ)	59,00
t tablas	2,00
<b>CONCLUSIÓN</b>	
tcal < ttablas, Ho se acepta por lo tanto las muestras pertenecen a la misma población	



## PRUEBA ESTADÍSTICA ENTRE DÍA 1 Y 21

ESTABILIDAD 1a Y 4a SEMANA	
n1	45
n2	45
nM	44
nm	44
C.V.	5%
MEDIA DIA 1	0,5847
MEDIA DIA 7	0,5866
VARIANZA DÍA 1	1,36E-05
VARIANZA DÍA 7	7,5E-05
Fcal	5,51
F tablas	1,82
<b>CONCLUSIÓN</b>	
Fcal > Ftablas por lo que Ho se rechaza la varianza entre el día 1 y 21 no es la misma	

LA PRUEBA DE HIPÓTESIS SOBRE	
n1	45
n2	45
nM	44
nm	44
C.V.	5%
MEDIA DIA 1	0,5847
MEDIA DIA 7	0,5866
VARIANZA DÍA 1	1,36E-05
VARIANZA DÍA 7	7,5E-05
tcal	-1,32
g.l(Φ)	59,00
t tablas	-2,00
<b>CONCLUSIÓN</b>	
-tcal < ttablas, Ho se acepta por lo tanto las muestras pertenecen a la misma población	



## ANEXO IV. REPETIBILIDAD



## REPETIBILIDAD CUARTO DE TABLETA MUESTRA SINTÉTICA

ST	Réplica	g/Tableta
1	1	0,9219
	2	0,9219
	3	0,9219
2	1	0,9108
	2	0,9106
	3	0,9106
3	1	0,9441
	2	0,9436
	3	0,9438
4	1	0,9032
	2	0,9026
	3	0,9027
5	1	0,9300
	2	0,9293
	3	0,9290
6	1	0,8967
	2	0,8967
	3	0,8971
7	1	0,9434
	2	0,9434
	3	0,9455
8	1	0,9278
	2	0,9274
	3	0,9273
9	1	0,9127
	2	0,9127
	3	0,9151

n	27
MEDIA EXP.	0,9212
DESVIACIÓN ESTANDAR EXP	0,0161
VARIANZA EXP	0,00026
% CV PROPUESTO	5
%C.V. EXPERIMENTAL	1,75
DESVIACIÓN ESTANDAR PROPUESTA	0,0461
VARIANZA PROPUESTA	0,00212
$\alpha=$	0,05
g.l.(n-1)	26
$\chi^2$ DE TABLAS	
$\chi^2$ a (1- $\alpha/2$ ) 0,975	13,84
$\chi^2$ a ( $\alpha/2$ ) 0,025	41,92
$\chi^2$ a ( $\alpha$ ) 0,05	38,89
$\chi^2$ CALCULADA	3,18
INTERVALO DE CONFIANZA DE DESVIACIÓN ESTÁNDAR	
MÍNIMO	0,0127
MÁXIMO	0,0221
<b>CONCLUSIÓN</b>	
Como $\chi^2_{cal}$ menor a $\chi^2_{tab}$ $H_0$ se acepta por lo que la metodología para un cuarto de tableta es repetible con un error máximo del 5%	



## REPETIBILIDAD CUARTO DE TABLETA COMERCIAL

ST	Réplica	g/ Tableta
1	1	0,9808
	2	0,9734
	3	0,9763
2	1	0,9787
	2	0,9805
	3	0,9802
3	1	0,9367
	2	0,9368
	3	0,9368
4	1	0,9350
	2	0,9349
	3	0,9340
5	1	0,9296
	2	0,9296
	3	0,9291
6	1	0,9710
	2	0,9718
	3	0,9698
7	1	0,9844
	2	0,9846
	3	0,9841
8	1	0,9826
	2	0,9860
	3	0,9847
9	1	1,0094
	2	1,0139
	3	1,0090

n	27
MEDIA EXP.	0,9675
DESVIACIÓN ESTANDAR EXP	0,0267
VARIANZA EXP	0,00071
% CV	5
% CV experimental	2,76
DESVIACIÓN ESTANDAR PROPUESTA	0,048
VARIANZA PROPUESTA	0,0023
$\alpha$ =	0,05
g.l.(n-1)	26
$\chi^2$ DE TABLAS	
$\chi^2$ a (1- $\alpha$ /2) 0,975	13,84
$\chi^2$ a ( $\alpha$ /2) 0,025	41,92
$\chi^2$ a ( $\alpha$ ) 0,05	38,89
$\chi^2$ CALCULADA	7,93
INTERVALO DE CONFIANZA DE DESVIACIÓN ESTÁNDAR	
MÍNIMO	0,02101
MÁXIMO	0,0366
CONCLUSIÓN	
Como $\chi^2_{cal}$ menor a $\chi^2_{tab}$ $H_0$ se acepta por lo que la metodología para cuarto de tabletas comerciales es repetible con un error máximo del 5%	



## REPETIBILIDAD MEDIA TABLETA

ST	Réplica	g/Tableta
1	1	1,0247
	2	1,0247
	3	1,0249
2	1	1,0107
	2	1,0109
	3	1,0106
3	1	1,0150
	2	1,0150
	3	1,0145
4	1	1,0669
	2	1,0687
	3	1,0682
5	1	1,0019
	2	1,0015
	3	1,0027
6	1	1,0394
	2	1,0317
	3	1,0396
7	1	0,9792
	2	0,9764
	3	0,9803
8	1	1,0132
	2	1,0161
	3	1,0155
9	1	0,9138
	2	0,9138
	3	0,9146

n	27
MEDIA EXP.	1,0072
DESVIACIÓN ESTANDAR EXP	0,041
VARIANZA EXP	0,0017
% CV	5
%C.V. EXP	4,07
DESVIACIÓN ESTANDAR PROPUESTA	0,0504
VARIANZA PROPUESTA	0,00254
$\alpha=$	0,05
g.l.(n-1)	26
$\chi^2$ DE TABLAS	
$\chi^2$ a (1- $\alpha/2$ ) 0,975	13,84
$\chi^2$ a ( $\alpha/2$ ) 0,025	41,92
$\chi^2$ a ( $\alpha$ ) 0,05	38,89
$\chi^2$ CALCULADA	17,21
INTERVALO DE CONFIANZA DE DESVIACIÓN ESTÁNDAR	
MÍNIMO	0,0323
MÁXIMO	0,0561
CONCLUSIÓN	
Como $\chi^2_{cal}$ menor a $\chi^2_{tab}$ $H_0$ se acepta por lo que la metodología para cuarto de tabletas comerciales es repetible con un error máximo del 5%	



# ANEXO V. REPRODUCIBILIDAD



No. de Solución	No. de Lecturas	Analista 1	Analista 2
1	1	0,9808	0,9749
	2	0,9734	0,9753
	3	0,9763	0,9791
2	1	0,9787	0,9813
	2	0,9805	0,9826
	3	0,9802	0,9798
3	1	0,9367	1,0300
	2	0,9368	1,0340
	3	0,9368	1,0388
4	1	0,9350	0,9682
	2	0,9349	0,9707
	3	0,9340	0,9721
5	1	0,9296	0,9510
	2	0,9296	0,9505
	3	0,9291	0,9519
6	1	0,9710	0,9893
	2	0,9718	0,9918
	3	0,9698	0,9919
7	1	0,9844	1,0325
	2	0,9846	1,0316
	3	0,9841	1,0321
8	1	0,9826	1,0262
	2	0,9860	1,0275
	3	0,9847	1,0310
9	1	1,0094	0,9650
	2	1,0139	0,9695
	3	1,0090	0,9706
Media		0,9675	0,9926
Desviación estándar		0,0267	0,0300
Varianza		0,00072	0,0009
%C.V.		2,76	3,02





Resultados Analista 1 y 2 Prueba sobre las varianzas	
n1	27
n2	27
nM	26
nm	26
C.V.	5%
MEDIA ANALISTA 1	0,9675
MEDIA ANALISTA 2	0,9926
VARIANZA ANALISTA 1	0,0007
VARIANZA ANALISTA 2	0,0009
Fcal	1,26
F tablas	1,820
CONCLUSIÓN	
F <sub>cal</sub> > F <sub>tablas</sub> por lo que H <sub>0</sub> se acepta y concluimos que las varianzas del analista 1 y 2 son iguales.	

LA PRUEBA DE HIPÓTESIS SOBRE LAS MEDIAS QUEDARÍA	
n1	27
n2	27
nM	26
nm	26
C.V.	5%
MEDIA ANALISTA 1	0,9675
MEDIA ANALISTA 2	0,9926
VARIANZA ANALISTA 1	0,0007
VARIANZA ANALISTA 2	0,0009
tcal	-3,24
g.l.	52,00
t tablas	-2,31
CONCLUSIÓN	
-t <sub>cal</sub> >- t <sub>tablas</sub> , H <sub>0</sub> se rechaza por lo tanto el método no es reproducible por el analista 2.	



# ANEXO VI. RECOBRO



LOTE 1				
MUESTRA	RÉPLICA	ABSORBANCIA	g/TABLETA	%RECOBRO
1	1	0,5734	0,9219	102,4
	2	0,5734	0,9219	102,4
	3	0,5734	0,9219	102,4
2	1	0,5660	0,9108	101,2
	2	0,5659	0,9106	101,2
	3	0,5659	0,9106	101,2
3	1	0,5859	0,9441	104,9
	2	0,5856	0,9436	104,8
	3	0,5857	0,9438	104,9
4	1	0,5604	0,9032	100,4
	2	0,5600	0,9026	100,3
	3	0,5601	0,9027	100,3
5	1	0,5781	0,9300	103,3
	2	0,5777	0,9293	103,3
	3	0,5775	0,9290	103,2
6	1	0,5558	0,8967	99,6
	2	0,5558	0,8967	99,6
	3	0,5560	0,8971	99,7
7	1	0,5840	0,9434	104,8
	2	0,5840	0,9434	104,8
	3	0,5853	0,9455	105,1
8	1	0,5741	0,9278	103,1
	2	0,5739	0,9274	103,0
	3	0,5738	0,9273	103,0
9	1	0,5656	0,9127	101,4
	2	0,5656	0,9127	101,4
	3	0,5670	0,9151	101,7
PROMEDIO			0,9212	102,4
DESVIACIÓN ESTÁNDAR			0,0161	1,79
VARIANZA			0,00026	3,20
C.V.			1,75	1,75



LOTE 90%2				
MUESTRA	RÉPLICA	ABSORBANCIA	g/TABLETA	%RECOBRO
1	1	0,5678	1,0203	112,1
	2	0,5685	1,0216	112,3
	3	0,5701	1,0245	112,6
2	1	0,5426	0,9719	106,8
	2	0,5423	0,9713	106,7
	3	0,5432	0,9730	106,9
3	1	0,5279	0,9450	103,8
	2	0,5294	0,9478	104,2
	3	0,5297	0,9484	104,2
4	1	0,5171	0,9244	101,6
	2	0,5189	0,9277	101,9
	3	0,5179	0,9259	101,7
5	1	0,5345	0,9589	105,4
	2	0,5358	0,9613	105,6
	3	0,5359	0,9615	105,7
6	1	0,5036	0,9007	99,0
	2	0,5042	0,9018	99,1
	3	0,5042	0,9018	99,1
PROMEDIO			0,9549	104,9
DESVIACIÓN ESTÁNDAR			0,0390	4,3
VARIANZA			0,00152	18,34
C.V.			4,08	4,08



LOTE 110%3				
MUESTRA	RÉPLICA	ABSORBANCIA	g/TABLETA	%RECOBRO
1	1	0,6133	0,9025	100,3
	2	0,611	0,8990	99,9
	3	0,6112	0,8993	99,9
2	1	0,6193	0,9119	101,3
	2	0,6204	0,9135	101,5
	3	0,6199	0,9128	101,4
3	1	0,616	0,9071	100,8
	2	0,6175	0,9094	101,0
	3	0,6168	0,9083	100,9
4	1	0,6274	0,9246	102,7
	2	0,6279	0,9254	102,8
	3	0,6292	0,9274	103,0
5	1	0,6248	0,9196	102,2
	2	0,6255	0,9207	102,3
	3	0,6256	0,9209	102,3
6	1	0,6334	0,9327	103,6
	2	0,6339	0,9334	103,7
	3	0,6355	0,9358	104,0
PROMEDIO			0,9169	101,9
DESVIACIÓN ESTÁNDAR			0,0116	1,285
VARIANZA			0,000134	1,65
C.V.			1,26	1,26



LOTE 120%4				
MUESTRA	RÉPLICA	ABSORBANCIA	g/TABLETA	%RECOBRO
1	1	0,6962	0,9428	104,8
	2	0,7017	0,9505	105,6
	3	0,7011	0,9496	105,5
2	1	0,6865	0,9306	103,4
	2	0,6796	0,9210	102,3
	3	0,6786	0,9196	102,2
3	1	0,7109	0,9650	107,2
	2	0,7089	0,9622	106,9
	3	0,7085	0,9617	106,9
4	1	0,6990	0,9472	105,2
	2	0,6983	0,9463	105,1
	3	0,6982	0,9461	105,1
5	1	0,6946	0,9411	104,6
	2	0,6946	0,9411	104,6
	3	0,6960	0,9431	104,8
6	1	0,6632	0,8989	99,9
	2	0,6627	0,8982	99,8
	3	0,6625	0,8980	99,8
PROMEDIO			0,9368	104,1
DESVIACIÓN ESTÁNDAR			0,0215	2,4
VARIANZA			0,00046	5,7
C.V.			2,29	2,29



LOTE 5				
MUESTRA	RÉPLICA	ABSORBANCIA	g/TABLETA	%RECOBRO
1	1	0,5288	0,9016	100,2
	2	0,5281	0,9003	100,0
	3	0,5270	0,8984	99,8
2	1	0,5359	0,9156	101,7
	2	0,5369	0,9174	101,9
	3	0,5367	0,9170	101,9
3	1	0,5424	0,9258	102,9
	2	0,5446	0,9297	103,3
	3	0,5447	0,9299	103,3
4	1	0,5422	0,9270	103,0
	2	0,5433	0,9290	103,2
	3	0,5431	0,9286	103,2
5	1	0,5474	0,9362	104,0
	2	0,5478	0,9369	104,1
	3	0,5469	0,9353	103,9
6	1	0,5475	0,9351	103,9
	2	0,5471	0,9344	103,8
	3	0,5472	0,9346	103,8
7	1	0,5499	0,9393	104,4
	2	0,5472	0,9346	103,8
	3	0,5480	0,9360	104,0
PROMEDIO			0,9258	102,9
DESVIACIÓN ESTÁNDAR			0,0127	1,41
VARIANZA			0,0002	1,99
C.V.			1,3702	1,3702