



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO
PARA LA CUANTIFICACIÓN DE
CLORURO DE CETILPIRIDINIO EN EL ENJUAGUE BUCAL.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

MARÍA CONCEPCIÓN MANCILLA GONZÁLEZ

MÉXICO, D. F.

AÑO 2010





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:

PRESIDENTE: **Profesor: PEDRO VILLANUEVA GONZÁLEZ**

VOCAL: **Profesor: EFREN HERNÁNDEZ BALTAZAR**

SECRETARIO: **Profesor: ENRIQUE AMADOR GONZÁLEZ**

1er. SUPLENTE: **Profesor: GLORIA GARCIA RAMIREZ**

2° SUPLENTE: **Profesor: VERONICA ZAMORA SALAZAR**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO DE QUÍMICA ANALÍTICA 3-D DE LA FACULTAD DE QUÍMICA

ASESOR DEL TEMA: Q. PEDRO VILLANUEVA GONZÁLEZ
(nombre y firma)

SUSTENTANTE (S): MARÍA CONCEPCIÓN MANCILLA GONZÁLEZ
(nombre (s) y firma (s))

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por darme la oportunidad de llegar a este momento, y de haberme escogido a un par de ángeles que han tenido la gran bondad de cuidarme, de protegerme y de darme todo lo que han tenido a su alcance, a mis padres, porque gracias a ellos son quien soy a hora.

Agradezco a mis padres, Joaquín A. Mancilla y Bertha González, por el apoyo, los consejos, los principios, los ejemplos, los regaños y las palabras de aliento, que siempre me han brindado. Y por todo el esfuerzo que han tenido que hacer para poder llegar a verme realizando este sueño.

A mis hermanos Noé, Iztaxochitl y Celibí, porque no importa lo pase siempre estaremos juntos y nos apoyaremos unos a otros.

Agradezco al Químico Pedro Villanueva González, por haber confiado y creído en mí por guiarme y apoyarme, por brindarme su amistad incondicionalmente, y ser más que mi guía, un gran amigo gracias, te quiero mucho.

Agradezco a mis amigos, parientes, profesores y personas que han sido parte de mi historia en algún momento dado, porque me han dado la oportunidad de conocerlos, y llevarme lo mejor de cada uno (a), porque con lo que pasamos y vivimos juntos he ido construyendo el camino a la lealtad, la amistad, la responsabilidad, la ética, mis ideales, que conllevan a mi madurez.

Agradezco, a mis seres querido que ya no están, que se han adelantado, mi abuelo Julio Mancilla, que estuviste durante mi infancia presente y te volviste en mi primer ángel, jamás me has abandonado, mi abuela Luisa Martínez, que se estarás contenta, aunque nunca haya escuchado de ti un te quiero, sé que te preocupabas por mí.

A mi tío Antonio Mancilla, que estarás contento con mis triunfos y logros dónde quiera que te encuentres, gracias porque siempre han estado presentes. Los seres queridos nunca mueren mientras uno nunca los olvide.

Hago un agradecimiento muy especial a la mejor compañía y amiga más fiel, “La Soledad”, gracias, por acompañarme durante mis traspasadas, y desvelos, durante mis horas de estudio, gracias por que cuando tropiezo y caigo me animas y me alientas para levantarme y continuar, eres quien me da la fortaleza de seguir luchando aún a pesar de todo y conseguir mis metas. Porque, adonde quiera que vaya y sin importar lo que decida, siempre me seguirás.

Agradezco infinitamente a la Máxima Casa de estudios por, haberme dado la oportunidad, de pertenecer a ella, de formarme profesionalmente ética, moral y culturalmente. Porque me acogiste en tu regazo durante toda mi carrera profesional, me brindaste la oportunidad de conocer el valor de la amistad, el sentimiento de amor y desamor, momentos y recuerdos que se quedaran guardados en las paredes de las aulas. Ahora te pago de la forma más humilde que conozco, esforzándome y trabajando día a día, con ética, profesionalismo y comprometida con la sociedad. Poniendo tu nombre en alto porque así me formaste. Gracias Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
CAPÍTULO I “GENERALIDADES”	
1.1 ANTECEDENTES HISTORICOS	5
1.2 FORMACIÓN DE PLACA DENTAL Y ENFERMEDADES PERIODONTALES	
1.3 CARIES DENTAL	7
1.4 ETIOLOGÍA DE LA CARIES	7
1.5 CARACTERÍSTICAS DE LOS AGENTES ANTIPLACA	10
1.6 DEFINICIÓN DE ENJUGUE BUCAL Y SU CLASIFICACIÓN	12
1.7 REGULACIÓN	14
1.8 MONOGRAFÍA DEL CLORURO DE CETILPIRIDINIO	16
1.9 MÉTODOS ANALITICOS ALTERNOS UTILIZADOS PARA LA DETERMINACIÓN DE CLORURO DE CETILPIRIDINIO	17
1.10 VALIDACIÓN DE PROCESOS	18
1.11 ESPECTROSCOPIA UV-VISIBLE	25
1.12 DIAGRAMA DE VALIDACIÓN	27
CAPITULO II “DESARROLLO ESXPERIMENTAL”	28
2.1 MATERIAL.	29
2.2 REACTIVOS.	30
2.3 EQUIPO.	30
2.4 DIAGRAMA DEL METODO EXPERIMENTAL	31
2.5 OBTENCIÓN DEL ESPECTRO DE ABSORCIÓN, DEL CLORURO DE CETILPIRIDINIO.	32
2.6 ESPECIFICIDAD	32

2.7 LINEALIDAD DEL SISTEMA	35
2.8 PRECISIÓN DEL SISTEMA	36
2.9 LINEALIDAD DEL MÉTODO	36
2.10 EXACTITUD Y REPETIBILIDAD DEL MÉTODO	38
2.11 PRECISIÓN DEL MÉTODO	38
2.12 ESTABILIDAD ANALÍTICA	39
2.13 CUANTIFICACION DE CLORURO DE CETILPIRIDINIO EN PRODUCTOS COMERCIALES	40
CAPITULO III “RESULTADOS Y DISCUSION”	
3.0 OBTENCIÓN DEL ESPECTRO DE ABSORCIÓN DEL CLORURO DE CETILPIRIDINIO	43
3.1 ESPECIFICIDAD	44
3.2 LINEALIDAD DEL SISTEMA	46
3.3 PRECISIÓN DEL SISTEMA	49
3.4 LINEALIDAD DEL MÉTODO	51
3.5 EXACTITUD Y REPETIBILIDAD DEL MÉTODO	53
3.6 PRECISIÓN DEL MÉTODO	54
3.7 ESTABILIDAD ANALÍTICA DE LA MUESTRA	56
3.8 RESUMEN DE LOS RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO	58
3.9 DETERMINACION DE CLORURO DE CETIL PIRIDINIO EN PRODUCTOS COMERCIALES	59
CAPITULO VI “CONCLUSIONES”	
CONCLUSIONES	62
BIBLIOGRAFIA	64
ANEXO I	67
ANEXO II	86

INTRODUCCIÓN

El presente trabajo tiene como objetivo, desarrollar y validar un método analítico para cuantificar, cloruro de cetilpiridinio en enjuague bucal, cuya principal aplicación es la de reducir la placa bacteriana, ya que en la cavidad bucal se dan condiciones micro ambientales ideales de temperatura y aporte de nutrientes adecuados, para un amplio rango de agentes microbianos.

Este estudio de validación, se llevo a cabo por medio de un método analítico instrumental como es la espectrofotometría ultravioleta visible, se utiliza un espectrofotómetro UV/Visible modelo 2800 Cole Parmer y celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico.

Se realizó la validación del sistema, utilizando como estándar el principio activo, cloruro de cetilpiridinio, Ronacare CPC-1, del proveedor Merck, y para realizar la validación del método se utilizó un enjuague bucal, fabricado y formulado dentro de los laboratorios de desarrollo e investigación de una empresa cosmética.

Existe un método basado en una titulación de tipo volumétrico, este método tiene su fundamento en el procedimiento descrito por Rosen (1987) que consiste en una valoración, en presencia de un indicador ácido mixto bifásico, (acuosa - orgánica).

El método se basa en la reacción que tiene lugar entre el indicador de naturaleza aniónica, como es el azul de bromofenol con el cloruro de cetilpiridinio, que en medio ácido fuerte, se encuentra en su forma catiónica, el cual forma un complejo que es extraído en la fase orgánica clorofórmica.

Al ir añadiendo el reactivo titulante, como es un tenso activo de naturaleza aniónica dodecilsulfato de sodio, éste irá neutralizando al cloruro de cetilpiridinio, y en el punto final, el tenso activo aniónico, reaccionará con el indicador de carácter catiónico, como es el bromuro de dimidio, formando un complejo de color rosa, que se extrae en la fase orgánica.

Este método es caro y laborioso por lo que se pretende desarrollar un método analítico instrumental validado, para la cuantificación del principio activo cloruro de cetilpiridinio, que sea más barato y de rápida elaboración, para el registro de estos productos, ya que están clasificados como, productos higiénicos clase I.

OBJETIVO GENERAL

Lograr obtener, el desarrollo de un método analítico para realizar la cuantificación del cloruro de cetilpiridinio en el enjuague bucal, por espectroscopia Ultravioleta Visible que sea de fácil aplicación, que genere un ahorro en cuanto a costo y tiempo, y de esta forma facilite la regulación a empresas dedicadas a la fabricación de productos higiénicos clase I.

OBJETIVOS PARTICULARES

- ✓ Desarrollar un método específico de cuantificación para el cloruro de cetilpiridinio
- ✓ Realizar la validación del método analítico desarrollado, para la cuantificación de cloruro de cetilpiridinio
- ✓ Evaluar los parámetros de validación como: linealidad, especificidad, precisión, exactitud, repetibilidad, reproducibilidad, etc. tanto del sistema como del método
- ✓ Una vez obtenido el método validado aplicarlo en productos comerciales que contengan como principio activo el cloruro de cetilpiridinio.

CAPÍTULO I

GENERALIDADES

1.1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS

Anton van Leeuwenhoek, descubrió organismos vivos depositados en los dientes (ahora llamado placa bacteriana). Experimentó con muestras de estas bacterias, añadiendo vinagre y brandy, observo como se inmovilizaban y morían estos organismos suspendidos en el agua. Experimento sobre él mismo y sobre otras personas enjuagando la boca con vinagre y brandy, y encontró que los organismos continuaban en la placa bacteriana. Él concluyo acertadamente, que el enjuague no permanecía suficiente tiempo en la boca para destruir a los organismos. Dejó este apartado hasta finales de los años 1960 cuando Harald Loe, demostró que, un compuesto de clorohexidina podría prevenir el desarrollo de placa dental. La razón de la eficacia de la clorohexidina, es que se adhiere a la superficie dental, permaneciendo más horas en la boca. Desde entonces el interés comercial por el enjuague ha sido intenso con gran reclamación de productos para combatir la placa bacteriana y las infecciones que esta conlleva como la gingivitis.

1.2 FORMACION DE PLACA DENTAL Y ENFERMEDADES PERIODENTALES

El acúmulo de placa supragingival, conduce inevitablemente a gingivitis. La periodontitis, se desarrolla a partir de gingivitis localizada. Los mecanismos fisiológicos y bacterianos específicos del huésped, que inducen el paso de gingivitis a periodontitis, no son del todo conocidos, por tanto la prevención de la enfermedad periodontal se basa en la disminución de la placa. Si a esto añadimos el insuficiente control mecánico de la misma, por técnica incorrecta de cepillado, y por hábitos higiénicos bucodentales inadecuados, en una parte extensa de la población, parece clara la necesidad de utilizar un agente antimicrobiano que complemente el control de la placa bacteriana de forma continua y eficaz.(18)_{ref}

La formación de placa, es un proceso dinámico y ordenado. Sobre una superficie dentaria limpia se establecen primero los formadores de placa primaria, los estreptococos, cuya presencia es esencial para la adhesión de otras especies bacterianas. Las especies siguientes aportan los medios y la creación de un ambiente adecuado para la adhesión y proliferación de otros microorganismos, aumentando la placa en cantidad y calidad

bacteriana. En la formación ordenada de placa, están involucrados procesos de adherencia microbiana, proliferación y división bacteriana.(18)_{ref}

La limpieza mecánica, actúa sobre la superficie dentaria no esterilizando la superficie sino limitando la masa bacteriana, dejando una pequeña placa no patógena que es compatible con salud gingival.

Las sustancias químicas actúan sobre la placa bacteriana, cuantitativa y cualitativamente por los siguientes medios:

- Evitando la adherencia bacteriana, con agentes antiadhesivos. Las sustancias antiputrefacción o los hipocloritos son antiadhesivos, pero son tóxicos en el medio bucal.
- Deteniendo o retrasando la proliferación bacteriana con antimicrobianos.
- Eliminando la placa bacteriana establecida con lo que a veces es llamado el "cepillado dental químico".
- Alterando la formación de la placa. Esto no se ha intentado, dada la incompleta comprensión de la etiología bacteriana de la gingivitis.

Los agentes inhibitorios más eficaces son aquellos cuya acción persiste en la boca durante el mayor tiempo posible, la persistencia de la acción o sustentividad depende de varios factores:

1. Retención prolongada por adsorción en las superficies bucales, incluidos los dientes cubiertos por película.
2. Conservación de la actividad antimicrobiana una vez adsorbidos.
3. Neutralización mínima o lenta de la actividad antimicrobiana en la cavidad bucal o lenta desaparición de las superficies.

1.3 CARIES DENTAL

La **caries** es una enfermedad infectocontagiosa multifactorial que se caracteriza por la destrucción de los tejidos duros del diente, como consecuencia de la desmineralización provocada por los ácidos que genera la placa bacteriana a partir de los restos de alimentos, que se exponen a las bacterias que fabrican ese ácido, de la dieta, la destrucción química dental se asocia a la ingesta de azúcares y ácidos contenidos en bebidas y alimentos, la caries dental se asocia también a errores en las técnicas de higiene así como pastas dentales inadecuadas, falta de cepillado dental, ausencia de hilo dental, así como también con una etiología genética, se estudia aún la influencia del pH de la saliva en relación a la caries. Tras la destrucción del esmalte ataca a la dentina y alcanza la pulpa dentaria produciendo su inflamación, pulpitis, y posterior necrosis (muerte pulpar). Si el diente no es tratado puede llevar posteriormente a la inflamación del área que rodea el ápice (extremo de la raíz) produciéndose una periodontitis apical, y pudiendo llegar a ocasionar un absceso, una celulitis o incluso un flemón.(18)_{ref}

1.4 ETIOLOGÍA DE LA CARIES

La caries dental es una enfermedad multifactorial, lo que significa que deben concurrir varios factores para que se desarrolle. Hasta el momento las investigaciones han logrado determinar cuatro factores fundamentales:

1. **Anatomía dental:** la composición de su superficie y su localización hace que los dientes retengan más o menos placa dental. Por ejemplo, los dientes posteriores (molares y premolares), son más susceptibles a la caries ya que su morfología es más anfractuosa y además presentan una cara oclusal donde abundan los surcos, fosas, puntos y fisuras, y la lengua no limpia tan fácilmente su superficie; las zonas que pueden ser limpiadas por las mucosas y por la lengua se denomina zona de autoclisis. Además es necesario nombrar el rol del hospedero a una mayor o menor incidencia, debido a una susceptibilidad genética heredada o bien por

problemas socioeconómicos, culturales y relacionados al estilo de vida (estos últimos condicionarán sus hábitos dietéticos y de higiene oral).

2. **Tiempo:** recordemos que la placa dental es capaz de producir caries debido a la capacidad ácido génica y ácido resistente de los microorganismos que la colonizan, de tal forma que los carbohidratos fermentables en la dieta no son suficientes, sino que además éstos deben actuar durante un tiempo prolongado para mantener un pH ácido constante a nivel de la interfase placa - esmalte. De esta forma el elemento tiempo forma parte primordial en la etiología de la caries. Un órgano dental es capaz de resistir 2 h por día de desmineralización sin sufrir lesión en su esmalte, la saliva tiene un componente amortiguador en este fenómeno pero el cepillado dental proporciona esta protección, es decir, 30 min posterior a la ingesta de alimentos el órgano dental tiene aún desmineralización, la presencia de azúcar en la dieta produce 18 h de desmineralización posterior al cepillado dental asociado como destrucción química dental independientemente de la presencia de un cepillado de calidad en el paciente.(13)_{ref}
3. **Dieta:** la presencia de carbohidratos fermentables en la dieta condiciona la aparición de caries, sin embargo, los almidones no la producen. Es necesario aclarar que el metabolismo de los hidratos de carbono se produce por una enzima presente en la saliva denominada alfa amilasa salival o ptialina, ésta es capaz de degradar el almidón hasta maltosa y de acuerdo al tiempo que permanezca el bolo en la boca podría escindirlos hasta glucosa, esto produce una disminución en el pH salival que favorece la desmineralización del esmalte. Un proceso similar sucede a nivel de la placa dental, donde los microorganismos que la colonizan empiezan a consumir dichos carbohidratos y el resultado de esta metabolización produce ácidos que disminuyen el pH a nivel de la interfase placa - esmalte. La persistencia de un pH inferior a 7, eventualmente produce la desmineralización del esmalte. Además la presencia de hidratos de carbono no es tan importante cuando la frecuencia con la que el individuo consume azúcares es menor, de esta manera la disminución brusca del pH puede restablecerse por la acción de los sistemas

amortiguadores salivales que son principalmente el ácido carbónico/bicarbonato y el sistema del fosfato.

4. **Bacterias:** aquellas capaces de adherirse a la película adquirida (formada por proteínas que precipitaron sobre la superficie del esmalte) y congregarse formando un "biofilm" (comunidad cooperativa), de esta manera, evaden los sistemas de defensa del huésped que consisten principalmente, en la remoción de bacterias saprófitas y/o patógenas no adheridas por la saliva, siendo estas posteriormente deglutidas. Inicialmente en el biofilm se encuentra una gran cantidad de bacterias grampositivas con poca capacidad de formar ácidos orgánicos y polisacáridos extracelulares, pero estas posteriormente, debido a las condiciones de anaerobiosis de las capas más profundas son reemplazadas por un predominio de bacterias gramnegativas y es en este momento cuando se denominada a la placa "cariogénica", es decir, capaz de producir caries dental. Las bacterias se adhieren entre sí pero es necesario una colonización primaria a cargo del *Streptococcus sanguis* perteneciente a la familia de los mutans, además de esta, se encuentran *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces naeslundii*, *Actinomyces viscosus*, etc.(13)_{ref}

PRINCIPALES MICROORGANISMOS IMPLICADOS EN LA CARIES DENTAL

- *Streptococcus sanguis* (1º en colonizar la película dental)
- *Streptococcus sobrinus*
- *Streptococcus mitis*
- *Streptococcus salivarius*
- *Streptococcus mutans* (predominan 7 días después de la colonización bacteriana).
- *Actinomyces viscosus*
- *Actinomyces naeslundii*
- *Streptococcus oralis*
- *Actinomyces*
- *Haemophilus*

- *Lactobacillus acidophilus*
- *Neisseria flava*, *Bifidobacterium*, *Rothias*, *Clostridium*, *Propionibacterium* y *Eubacterium*, poseen un potencial acidógeno y ácido tolerante, pero no como el que tiene *S. mutans*, y por lo tanto tienen un bajo potencial cariogénico.
- *Kostadinus ivaniniov*

1.5 CARACTERÍSTICAS DE LOS AGENTES ANTIPLACA

Una revisión de los agentes químicos para el control de placa, exige discutir los requisitos básicos que deben reunir:

ESPECIFICIDAD

El control de placa no debe basarse en antibióticos, que deben reservarse para uso sistémico en infecciones dentales o enfermedades sistémicas específicas.

EFICACIA

La pauta terapéutica viene determinada por la concentración mínima inhibitoria para las bacterias asociadas a patologías dentales. Aceptando la naturaleza no específica de la placa dental, las características antimicrobianas de los antisépticos bucales hacen que sean los fármacos de elección.

En el modelo de gingivitis experimental de Loe (1965), en ausencia de control mecánico de la placa durante 21 días, el agente antimicrobiano debería eliminar placa, prevenir su formación o reducir su cantidad por debajo del nivel patógeno. Esto corrobora la teoría inespecífica de placa bacteriana, ya que no se atribuye a una bacteria o grupo de bacterias el inicio en la progresión de las enfermedades periodontales, por lo tanto el antiséptico de elección debe ser de amplio espectro.(10)_{ref}

SUSTANTIVIDAD

Cualidad que mide el tiempo de contacto entre una sustancia y un sustrato en un medio dado. Al tratar infecciones dentales, ésta es una cualidad muy importante, ya que el agente antimicrobiano necesita cierto tiempo de contacto con el microorganismo para inhibirlo o eliminarlo, a diferencia de las infecciones sistémicas, en las que el tiempo de contacto deseado puede obtenerse mediante aplicaciones periódicas parenterales o enterales del fármaco. (10)_{ref.}

Esta propiedad de los antisépticos ha dado lugar a una clasificación en generaciones de los agentes como de primera generación (baja sustantividad) donde clasificamos algunos antibióticos, compuestos de amonio cuaternario, compuestos fenólicos, agentes oxidantes y fluoruros. (10)_{ref}

Los agentes antimicrobianos de segunda generación (alta sustantividad) son las bisguanidas (clorhexidina). Las sustancias de tercera generación son las que inhiben o interfieren la adhesión bacteriana. Estas sustancias están todavía en vías de estudio.

Por su potencia de acción se clasifican en las siguientes categorías: de alta potencia, los de acción similar a los antibióticos, en este grupo se encuentra la clorhexidina; de baja potencia el fluoruro sódico, y de muy baja potencia el cloruro de **cetilpiridinio**.

SEGURIDAD

Los agentes antimicrobianos se han ensayado extensamente, con lo que su uso está avalado científicamente. La seguridad de un fármaco viene condicionada por su:

- Permeabilidad. Se deben absorber en el tracto intestinal, y pasar después a la bolsa periodontal. La permeabilidad de la membrana es una característica importante de los agentes de peso molecular relativamente alto como la clorhexidina y la sanguinaria, que se absorben mal y su toxicidad es baja.(18)_{ref.}

- Potencial de toxicidad. Debe ser bajo. Los compuestos más tóxicos son las disoluciones de fluoruros en concentraciones de 0,2 a 2 %, siendo los menos tóxicos, los antibióticos como las tetraciclinas.

Sales cuaternarias de amonio: Las sales cuaternarias de amonio son los productos químicos tenso activos que consisten generalmente en un átomo de nitrógeno, rodeados por los grupos substitutivos que contienen de ocho a veinticinco átomos de carbón en cuatro perspectivas del átomo de nitrógeno. Estos compuestos son generalmente los más eficaces contra bacterias en gamas alcalinas de pH. Se cargan y enlazarán positivamente a los sitios negativamente cargados en la pared bacteriana de la célula. Estos enlaces electrostáticos causarían a las bacterias tensiones en la pared de la célula. También causan daño al flujo normal de compuestos que sostienen la vida a través de la pared de la célula al paralizarlo, disminuyendo su permeabilidad. El uso de las sales cuaternarias de amonio es limitado, debido a su interacción con el aceite cuando éste está presente y al hecho de que pueden causar espuma. (17)_{ref}

1.6 DEFINICIÓN DE ENJUGUE BUCAL Y SU CLASIFICACIÓN

Los enjuagues bucales o colutorios son disoluciones que se emplean después del cepillado con el fin de eliminar gérmenes y bacterias. Existen diferentes enjuagues cuyo efecto varía en función de su composición. Así, podemos encontrar colutorios ricos en flúor, para la prevención de las caries especialmente eficaces durante la calcificación del diente. Otros enjuagues están específicamente indicados para combatir y eliminar la placa bacteriana o la halitosis. La Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (US Food and Drug Administration, su sigla en inglés es FDA) clasifica a los enjuagues bucales en cosméticos y terapéuticos, o una combinación de los dos.(15)_{ref}

Enjuagues cosméticos

- Se venden como productos sin receta médica.
- Ayudan a eliminar los restos de alimentos antes y después del cepillado.
- Suprimen temporalmente el mal aliento.
- Reducen las bacterias en la boca.
- Refrescan la boca dejando un sabor agradable.

Es importante notar que la mayoría de los dentistas se muestran escépticos sobre el valor de estos productos que evitan la formación de placa bacteriana y enjuagan la boca. Se han realizado varios estudios que demuestran la eficacia mínima de dichos productos para reducir la placa bacteriana. Estos productos deben usarse con precaución, bajo la dirección de un especialista de la salud oral.(13)_{ref}

Enjuagues terapéuticos

- Se pueden vender con o sin receta médica.
- Ayudan a eliminar los restos de alimentos antes y después del cepillado.
- Suprimen temporalmente el mal aliento.
- Reducen las bacterias en la boca.
- Refrescan la boca dejando un sabor agradable.
- Contienen un ingrediente activo añadido que ayuda a proteger contra algunas enfermedades orales.
- Están regulados por la FDA y aprobados por la Asociación Dental Americana (American Dental Association, su sigla en inglés ADA).

1.7 REGULACIÓN

Basándose en la siguiente documentación CRITERIOS PARA LA CLASIFICACIÓN DE DISPOSITIVOS MÉDICOS CON BASE A SU NIVEL DE RIESGO SANITARIO, que ha sido elaborado por el Comité Técnico de Insumos para la Salud para homologar los criterios aplicables a la gran variedad de productos incluidos en el sector de Dispositivos Médicos en México, los cuales forman parte del importante sistema de salud en México, por su función y participación en el diagnóstico, prevención, tratamiento y rehabilitación de enfermedades y padecimientos en humanos, el cual tiene como finalidad, el de establecer los criterios bajo los cuales se clasifica a los Dispositivos Médicos en México con base a su nivel de riesgo a la salud. (1)_{ref}

Los criterios establecidos se presentan a manera de reglas, señalando las características de los productos en relación a su uso, actividad, contacto y permanencia con el organismo, así como la clase a la cual pertenecen, incluyendo una serie de ejemplos que de manera descriptiva y enunciativa, más no limitativa, ayudarán a que las personas interesadas en registrar en México un Dispositivo Médico tanto de fabricación nacional como extranjera, clasifiquen su producto de manera adecuada, y con ello puedan definir los requisitos de registro que les corresponden.

En apoyo a la armonización y al avance tecnológico en el marco de la globalización, el contenido de este documento concuerda parcialmente con los lineamientos internacionales aplicables a la clasificación de dispositivos médicos.

Clasificación de Dispositivos Médicos. Los dispositivos médicos, se clasificarán para efectos de registro de acuerdo con el riesgo que implica su uso, de la manera siguiente:

- **Clase I:** Aquellos insumos conocidos en la práctica médica y que su seguridad y eficacia están comprobadas y, generalmente, no se introducen al organismo.

- **Clase II:** Aquellos insumos conocidos en la práctica médica y que pueden tener variaciones en el material con el que están elaborados o en su concentración y, generalmente, se introducen al organismo permaneciendo menos de treinta días.

- **Clase III:** Aquellos insumos o recientemente aceptados en la práctica médica, o bien que se introducen al organismo y permanecen en él, por más de treinta días.

Por lo que de acuerdo a lo descrito en dicho documento los enjuagues bucales están clasificados de acuerdo a la regla 20 como producto higiénico clase 1(1)_{ref}

Regla 20. Productos higiénicos

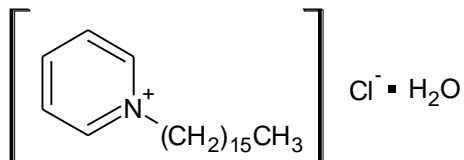
Se clasifican como clase I, los productos higiénicos que: Utilizados en la cavidad oral hasta la faringe, en el conducto auditivo externo hasta el tímpano, en la cavidad nasal o vaginal que no sean absorbidos por la membrana mucosa, los cuales se considerarán no invasivos.(1)_{ref}

Entre los que se encuentran de manera enunciativa más no limitativa:

- Pastas dentales
- Enjuagues bucales
- disoluciones dentales blanqueadoras

1.8 MONOGRAFÍA DEL CLORURO DE CETILPIRIDINIO

Fórmula: del cloruro de cetil piridinio, monohidratado



Nombre químico: Cloruro de 1-hexadecil-piridinio, monohidratado

Nomenclatura internacional de ingredientes cosméticos: Cloruro de cetilpiridina

Fórmula Condensada: $\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{ClN} \cdot \text{H}_2\text{O}$

Descripción: Polvo blanco, ligeramente jabonoso al tacto.

Solubilidad: muy soluble en agua, etanol y cloroformo, insoluble en éter, acetona y ácido acético.

Temperatura de fusión: 80 - 84 °C

Ensayo: contiene no menos de 99,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{ClN}$, calculado sobre la sustancia anhidra.

Identificación por absorción ultravioleta: Examinado entre 240 nm y 300 nm, la disolución muestra un máximo de absorción de 259 nm y 2 hombros alrededor de 254 nm y en 265 nm.(17)_{ref}

1.9 MÉTODOS ANALÍTICOS ALTERNOS UTILIZADOS PARA LA DETERMINACIÓN DE CLORURO DE CETILPIRIDINIO

Valoración - Transferir aproximadamente 200 mg de Cloruro de Cetilpiridinio, exactamente pesados, a una probeta de 250 mL provista de un tapón de vidrio, que contenga 75 mL de agua. Agregar 10 mL de cloroformo, 0,4 mL de disolución de azul de bromofenol (1 en 2000) y 5 mL de una disolución de bicarbonato de sodio (4,2g/L) recientemente preparada y titular con tetrafenilborato de sodio 0,02 M hasta que el color azul desaparezca de la capa clorofórmica. Agregar las últimas porciones de la disolución de tetrafenilborato de sodio, gota a gota, agitando vigorosamente después de cada adición. Cada mL de tetrafenilborato de sodio 0,02 M equivale a 6,800 mg de Cloruro de Cetilpiridinio.(16)_{ref}

Se tiene como método alternativo, una valoración volumétrica, para la determinación de surfactantes catiónico, pero que no está específicamente validado para este principio activo, dicho método tiene su fundamento en el procedimiento descrito por Rosen (1987) que consiste en una valoración, en presencia de un indicador ácido mixto, en dos fases, acuosa - orgánica.

El método se basa en la reacción que tiene lugar entre el indicador de naturaleza aniónica, azul de sulfácido con el anfótero, que en medio ácido fuerte se encuentra en su forma catiónica, el cual forma un complejo que es extraído en la fase orgánica (cloroformo).

Al ir añadiendo un agente valorante, como es un tenso activo de naturaleza aniónica, dodecilsulfato de sodio, éste irá neutralizando el tenso activo anfótero, y en el punto final, el tenso activo aniónico, reaccionará con el indicador de carácter catiónico (bromuro de dimidio), formando un complejo de color rosa que se extrae en la fase orgánica.(16)_{ref}

1.10 VALIDACIÓN DE PROCESOS

1.10.1 Definición de método analítico

El método analítico se describe como la secuencia de actividades, recursos materiales y parámetros que se deben cumplir, para llevar a cabo el análisis de un componente específico de la muestra; por lo que, un método analítico mide un componente específico en una muestra y como todo proceso de medición, este debe de ser confiable para ser utilizado con un propósito definido.(7)_{ref}

1.10.2 Definición de validación

La validación de un método analítico es el proceso por el cual se demuestra, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada; es decir que cumple con su propósito.

Esta actividad puede ser justificada por los siguientes aspectos: moral, ético, aseguramiento de calidad, económico y regulatorio. (7)_{ref}

Moral y ética.

El profesional farmacéutico, es el responsable de los procesos farmacéuticos y por lo tanto de la calidad de estos. Todo producto farmacéutico genera materia prima, producto intermedio, producto a granel y producto terminado, debe satisfacer requisitos y para ello se utilizan métodos para medir componente específicos en el producto.(7)_{ref}

Aseguramiento de calidad

Los métodos analíticos están definidos como, un sistema crítico en el aseguramiento de calidad en una empresa farmacéutica, ya que impactan de manera directa en la calidad de un producto.(7)_{ref}

Económica

La carrera de una empresa por alcanzar una productividad elevada a costos menores, está determinada, al dictamen del producto en menor tiempo, utilizando métodos de prueba de de menor costo, mantenimiento o tiempo de análisis, entre otros.(7)_{ref}

Regulatoria.

-Reglamento de Insumos para la Salud. Publicado, en el diario oficial del 4 de Febrero de 1998, referente a los establecimientos que se destinen a la fabricación de insumos (medicamentos, fármacos, materias primas y aditivos), establece lo siguiente:

Art.15._ los establecimientos que se destinen a la fabricación de insumos, llevarán el control analítico de estos. Dicho control deberá incluir(7)_{ref}

III.- la validación de las técnicas empleadas.

-PROYECTO de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-059-SSA1-2004, Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria químico farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos (modifica a la NOM-059-SSA1-1993, publicada el 31 de julio de 1998). Establece lo siguientes puntos referentes a la Validación de Métodos Analíticos.

Validación

Política.

Es un requerimiento de este Proyecto de Norma Oficial Mexicana, que los fabricantes de medicamentos determinen qué actividades de validación son necesarias para demostrar el control de los aspectos críticos de sus operaciones particulares.(3)_{ref}

Debe utilizarse un enfoque de análisis de riesgos para evaluar el ámbito y grado de validación.

Todas las instalaciones, equipos, sistemas críticos y computacionales (que impacten en la calidad del producto), deben estar calificados y los métodos de limpieza y analíticos deben validarse al inicio de la operación y terminados antes de la liberación de un producto.(3)_{ref}

Guión para la validación

Las actividades de validación deben estar integradas en un plan maestro de validación o equivalente, el cual debe incluir los elementos clave que lo integran.

El plan maestro de validación, debe ser un documento conciso y claro, que incluya al menos:

1. Procesos de producción.
2. Procesos de empaque primario.
3. Procesos o métodos de limpieza.
4. Equipo productivo y de acondicionamiento.
5. Métodos analíticos.
6. Programas o aplicaciones computacionales que impactan a la calidad del producto.
7. Sistemas críticos.
8. Proveedores.

El plan maestro de validación, debe contener los datos de por lo menos lo siguiente:

1. Política de validación.
2. Estructura organizacional para las actividades de validación.
3. Resumen de las instalaciones, sistemas, equipo y procesos a validar.
4. Formato a usarse para protocolos y reportes.
5. Planeación y programación.
6. Control de cambios.
7. Referencia a documentos existentes.

El plan maestro de validación debe indicar:

1. Vigencia.
2. Alcance.
3. Objetivos.
4. Mantenimiento del estado validado (Revalidación).

Documentación.

Debe establecerse un protocolo escrito que especifique cómo se llevará a cabo la validación. El protocolo debe especificar los pasos críticos, su calendario y los criterios de aceptación. Antes de su ejecución, el protocolo debe ser revisado por el responsable del proceso o sistema y aprobado finalmente por el responsable de la unidad de calidad y el responsable sanitario.(3)_{ref}

Debe prepararse un reporte que haga referencia cruzada al protocolo de validación, que reúna los resultados obtenidos, comentando acerca de cualquier desviación observada y mencionando las conclusiones necesarias, incluyendo los cambios necesarios recomendados para corregir las deficiencias. Los reportes de validación deben ser al menos aprobados por el responsable del proceso o sistema y por el responsable de la unidad de calidad.(3)_{ref}

Cualquier cambio al plan definido en el protocolo debe documentarse con la justificación apropiada. Los cambios deben ser revisados por el responsable del proceso o sistema y aprobados por el responsable de la unidad de calidad.

Validación de procesos.

La validación del proceso debe completarse normalmente antes de la distribución y venta del producto (validación prospectiva).

En circunstancias excepcionales, puede ser necesario validar los procesos durante la producción de rutina (validación concurrente). El racional para el enfoque concurrente

debe quedar documentado. Los lotes fabricados bajo este enfoque, podrán ser liberados individualmente si cumplen sus especificaciones.(3)_{ref}

El número de corridas de procesos necesarios para la validación dependerá de la complejidad del proceso o la magnitud del cambio. Un mínimo de 3 corridas o lotes consecutivos con resultados satisfactorios son necesarios para considerar validado el proceso.

Los parámetros críticos deben ser controlados y monitoreados durante los estudios de validación.

Las instalaciones, sistemas y equipos a utilizar, deben haber sido calificados y los métodos analíticos deben estar validados.

El personal que participe en las actividades de validación debe haber sido capacitado y calificado de manera apropiada.

1.10.3 Métodos analíticos.

Deben ser validados de acuerdo a un protocolo aprobado, los métodos analíticos usados para:

- 1.- Evaluación de materias primas.
- 2.-Evaluación de producto a granel, en proceso y terminado.
- 3.-Validaciones.

En el caso de métodos farmacopeicos para producto procesado o producto terminado deberá realizarse pruebas que demuestren la aplicabilidad del método a su producto e instalaciones.(3)_{ref}

Cualquier cambio en un método analítico validado debe ser sometido al proceso de control de cambios.

Los métodos analíticos usados para medir los parámetros críticos de procesos o de validación de limpieza, deben ser validados antes de cualquier estudio de validación.

1.10.4 Clasificación de Métodos Analíticos

La clasificación de los métodos analítico, en función de su estado de regularización, son:

- Métodos compéndiales Farmacopéicos: todos aquellos métodos que aparecen en cualquier farmacopea (FEUM,USP,BP)
- Métodos no Farmacopéicos: Aquellos métodos que no aparecen publicados en este tipo de compendios.

La clasificación de los métodos analítico, en función de su aplicación (NOM-059-SSA1 Y NOM-073-SSA1), son:

- Métodos para producto granel
- Métodos para producto terminado
- Métodos para materia prima
- Métodos indicador de estabilidad

La clasificación de los métodos analítico, en función de su propósito analítico, son:

- Métodos para cuantificar el analito (contenido y potencia)
- Métodos para establecer la presencia del analito a un limite
- Métodos para identificar el analito.

La clasificación de los métodos analítico, en función de la naturaleza de la respuesta analítica

- Métodos físico químico, cuando la respuesta es de carácter físico(absorción de luz, emisión de la luz y voltaje) o químico (consumo de iones)
- Métodos biológicos, cuando la respuesta es de carácter biológico (crecimiento microbiano, inhibición, etc.).

La clasificación de los métodos analítico, en función de la naturaleza del sistema de medición se clasifican en:

- Métodos en los cuales el instrumento de la medición de la respuesta analítica, permite medir una señal de ruido (cromatografo de líquidos, cromatografo de gases, espectrofotómetros, etc.)
- Métodos en los cuales el instrumento de la medición no permite medir una señal de ruido (buretas, medidor de halos, potenciómetros etc.)

1.11 ESPECTROSCOPIA UV-VISIBLE

FUNDAMENTO:

El espectrofotómetro es un instrumento que permite comparar la radiación absorbida o transmitida por una disolución que contiene una cantidad desconocida de soluto, y una que contiene una cantidad conocida de la misma sustancia. Todas las sustancias pueden absorber energía radiante. El agua absorbe fuertemente en la región del IR. La absorción de las radiaciones UV, visibles e IR depende de la estructura de las moléculas, y es característica para cada sustancia química. El color de las sustancias se debe a que absorben ciertas longitudes de onda de la luz blanca que incide sobre ellas y sólo dejan pasar a nuestros ojos aquellas longitudes de onda no absorbida. Esta espectrofotometría utiliza radiaciones del campo UV de 10 a 400 nm, principalmente de 200 a 400 nm (UV cercano) y de luz visible de 400 a 800 nm, por lo que es de gran utilidad para caracterizar las disoluciones en la región ultravioleta-visible del espectro. Se rige por una ley muy importante: la ecuación de Beer-Lambert.(5)_{ref}

Ley de Beer-Lambert

La ley de Beer permite cuantificar la concentración de una muestra por espectroscopia y puede ser expresada de la siguiente manera: $A = \epsilon Cl$, en donde:

A : Absorbancia

ϵ : Absortividad molar es característico de cada sustancia y está dada en $M^{-1}cm^{-1}$

l : Paso óptico de la radiación en cm.

C : Concentración en moles/L.

La zona de longitudes de onda que se registra en un espectro UV/Vis es de entre 200 y 800 nm. En esta zona no absorben dobles ni triples enlaces aislados. Sólo van absorber enlaces pi conjugados y heteroátomos con pares de electrones no compartidos (O, N y S), cómo los grupos cromóforos.(5)_{ref}

Características del sistema

- Las muestras en disolución se ponen en una pequeña celda.
- Se utilizan dos lámparas: una de deuterio para la región UV, y una de tungsteno para la región visible
- Se utiliza también una celda de referencia que contiene sólo disolvente.
- La luz pasa simultáneamente por la celda de muestra y la celda de referencia.
- El espectrómetro compara la luz que pasa por la muestra, con la que pasa por la celda de referencia.
- La radiación transmitida es detectada y el espectrómetro obtiene el espectro de absorción al barrer la longitud de onda de la luz que pasa por las celdas.

La espectroscopia ultravioleta-visible, es la más limitada para la información de compuestos. Los compuestos que tengan un cromóforo o insaturaciones, son visibles en esta región. Un cromóforo es cualquier grupo de átomos que absorben luz independientemente de que presente color o no, aunque también puede presentar un grupo auxócromo, que es el que amplía la conjugación de un cromóforo mediante la compartición de electrones de no enlace. (5)_{ref}

La máxima absorción se debe a la presencia de cromóforos en una molécula. Este tipo de espectroscopia sirve principalmente para el análisis de compuestos aromáticos y ácidos carboxílicos (α y β) insaturado. (5)_{ref}

1.12 DIAGRAMA DE VALIDACIÓN

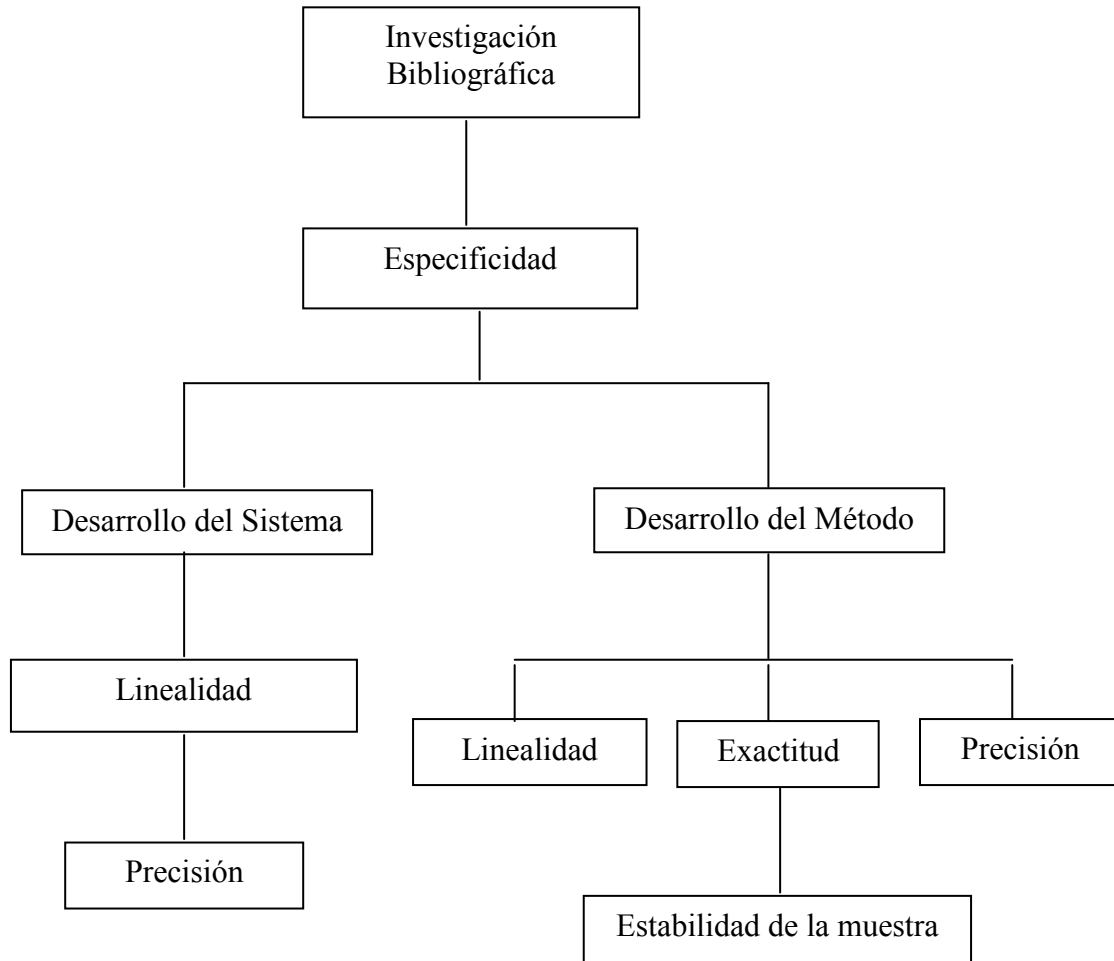


Figura No 1 Diagrama de validación

CAPÍTULO II

DESARROLLO EXPERIMENTAL

Los parámetros analíticos evaluados, se determinaron considerando la Guía Oficial de Validación de Métodos Analíticos, expedida por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos.

2.1 MATERIAL.

Matraces volumétricos de 100 mL

Matraces volumétricos de 10 mL

Vasos de precipitado de 250 mL

Vasos de precipitado de 150 mL

Vasos de precipitado de 100 mL

Pipetas Pasteur

Espátula de nicromel

Micropipeta 0-200 μ L Pipetman-Gilson

Piseta

Naves de pesado

Celdas de cuarzo

Bureta especial graduada de 5 mL

Puntas de plástico para micropipetas

Soporte universal

Gradillas

Parrilla eléctrica con agitación

Balanza analítica

Viales de 20 y 30 mL

Magnetos

2.2 REACTIVOS.

Sustancia de referencia de cloruro de cetilpiridinio

Éter

Agua destilada

Excipientes:

Glicerina

Metilparabeno

Benzoato de sodio

Sacarina sódica

PEG-40 aceite de ricino hidrogenado

Mentol

Alcohol etílico

Acido cítrico anhídrido

FD&C Azul No 1

Fragancia

2.3 EQUIPO.

Para la realización de esta validación se utiliza un equipo espectrofotómetro UV/Visible modelo 2800 Cole Parmer, y celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico.

2.4 DIAGRAMA DEL MÉTODODO EXPERIMENTAL PARA EL CLORURO DE CETILPIRIDINIO

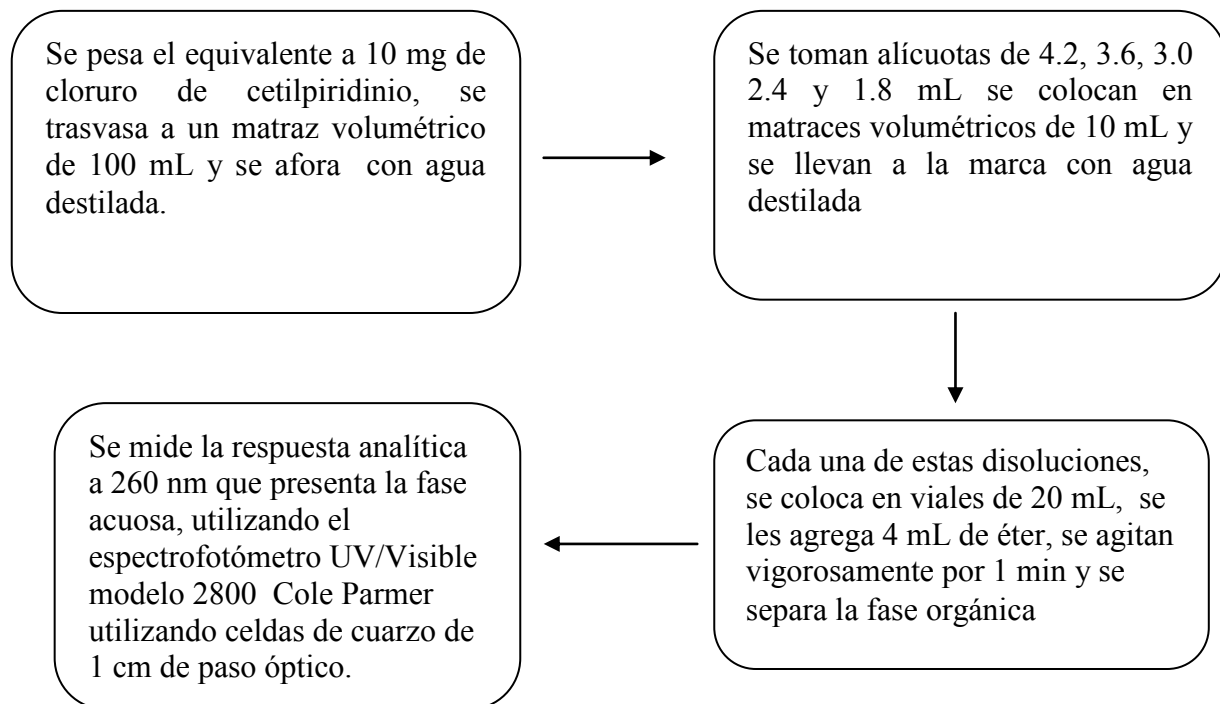


Figura No 2 Diagrama del método experimental

2.5 OBTENCIÓN DEL ESPECTRO DE ABSORCIÓN DEL CLORURO DE CETILPIRIDINIO.

Para obtener el espectro de absorción del cloruro de cetilpiridinio, se realiza un barrido espectrofotométrico de una disolución estándar preparada a una concentración equivalente a 27 $\mu\text{g/mL}$ de cloruro de cetilpiridinio. Una vez preparada la disolución se determina la absorbencia que presenta dicha disolución, utilizando un espectrofotómetro UV/Visible modelo 2800 Cole Parmer con celdas de cuarzo de un centímetro de paso óptico; en un rango de 200 a 300 nm.

La longitud de onda de máxima absorción del cloruro de cetilpiridinio, fue de 260 nm

PARÁMETROS PARA REALIZAR LA VALIDACIÓN DEL SISTEMA

2.6 ESPECIFICIDAD

Se debe realizar un barrido espectrofotométrico en un intervalo de 200 a 300 nm de las siguientes disoluciones.

Disolución de referencia de cloruro de cetilpiridinio a una concentración de 27 $\mu\text{g mL}^{-1}$

Disolución del placebo cargado con cloruro de cetilpiridinio a una concentración equivalente a 27 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Disolución del placebo equivalente a 27 $\mu\text{g mL}^{-1}$ del cloruro de cetilpiridinio.

PREPARACIÓN DE LA DISOLUCIÓN DE REFERENCIA

Preparación de la disolución de la muestra de referencia de cloruro de cetilpiridinio con una concentración de 27 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Se pesan 10 mg de cloruro de cetilpiridinio al 90 % de pureza, se traspasa a un matraz volumétrico de 100 mL, se disuelve y se lleva al aforo con agua destilada. Se toma una alícuota de 3 mL y se traspasa a un matraz volumétrico de 10 mL. La concentración de ésta disolución es de 27 $\mu\text{g mL}^{-1}$, la cual representa el equivalente al 100 %.

$$\frac{10 \text{ mg del estándar}}{100\text{mL}} * \frac{1000 \mu\text{g}}{1 \text{ mg}} * \frac{90 \%}{100 \%} * \frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} = 27 \mu\text{g mL}^{-1}$$

Preparación de la Formulación: fórmula para 100 mL de solución de enjuague bucal es:

Agua desmineralizada	91.843 g
Glicerina	1.000 g
Metilparabeno	0.200 g
Benzoato de sodio	0.100 g
Sacarina sódica	0.050 g
Cloruro de cetilpiridinio	0.070 g
PEG-40 aceite de ricino hidrogenado	1.500 g
Mentol	0.100 g
FD&C Azul No 1	0.033 g
Alcohol etílico	5.000 g
Acido cítrico	0.004 g

PREPARACIÓN DE LA DISOLUCIÓN PLACEBO CARGADO.

Preparación de la disolución del placebo cargado con cloruro de cetilpiridinio, a una concentración de $27 \mu\text{g mL}^{-1}$. Se pesa la formulación mencionada para preparar 100 g de placebo cargado con cloruro de cetilpiridinio, enseguida se pesa la cantidad de placebo equivalente a 10 mg de cloruro de cetilpiridinio, se trasvasa a un matraz volumétrico de 100 mL y se lleva al aforo con agua destilada. Se toma una alícuota de 3 mL se trasvasa a un matraz volumétrico de 10 mL, se lleva al aforo con agua destilada.

PREPARACIÓN DE LA DISOLUCIÓN PLACEBO.

Preparación de la disolución del placebo sin el principio activo. Se pesa la formulación mencionada para preparar el equivalente a 100 g de placebo sin principio activo, se mezcla por medio de agitación, enseguida se pesa la cantidad de placebo cargado equivalente a 10 mg de cloruro de cetilpiridinio, se trasvasa a un matraz volumétrico de 100 mL se lleva al aforo con agua destilada. Se toma una alícuota de 3 mL y se trasvasa a un matraz volumétrico de 10 mL se lleva al aforo con agua.

A continuación se realiza un barrido espectroscópico en un rango de 200 a 300 nm de longitud de onda, utilizando celdas de cuarzo de 1 centímetro de paso óptico, en el equipo espectrofotómetro UV/Visible modelo 2800 Cole Parmer, se utiliza como blanco de referencia agua destilada.

Se observó la interferencia de tres de las materias primas por lo que se propone desarrollar un método experimental, con éter para eliminar el componente que interfiere con mayor abundancia; el metilparabeno, en cuanto al resto de los componentes se eliminara la señal durante el proceso de validación del método utilizando placebo como blanco.

2.7 LINEALIDAD DEL SISTEMA

Para la evaluación de la linealidad del sistema, se analiza por triplicado, cinco niveles de concentración de la disolución de referencia preparadas por dilución (a partir de una misma disolución stock). La concentración de $27 \mu\text{g mL}^{-1}$ representa el 100% en la muestra procesada para su medición. Se mide la respuesta analítica en el espectrofotómetro UV/Visible modelo 2800 Cole Parmer a la longitud de onda de 260 nm, utilizando celdas de cuarzo de 1 cm. de paso óptico, y como blanco de referencia agua destilada bajo la mismas condiciones de medición.

Niveles	Volumen de solución de referencia cloruro de cetilpiridinio en mL	Concentración de cloruro de cetilpiridinio en $\mu\text{g mL}^{-1}$	Concentración de cloruro de cetilpiridinio en %
1	4.2	37.8	140
2	3.6	32.4	120
3	3.0	27.0	100
4	2.4	21.6	80
5	1.8	16.2	60

Determinar

1. La relación concentración vs respuesta analítica (absorbencia)
2. El valor de la pendiente (b_1)
3. La ordenada al origen (b_0)
4. El coeficiente de determinación (r^2)
5. El intervalo de confianza para la pendiente IC (β_1)

2.8 PRECISIÓN DEL SISTEMA

Para la evaluación de la precisión del sistema se analiza por sextuplicado, tres disoluciones de cloruro de cetilpiridinio correspondiente al 100 % y equivalente a una concentración de $27 \mu\text{g mL}^{-1}$, de la muestra procesada para su medición. Se mide la respuesta analítica en el espectrofotómetro UV/Visible modelo 2800 Cole Parmer a la longitud de onda de 260 nm, utilizando celdas de cuarzo de 1 cm. de paso óptico, bajo las mismas condiciones de medición, se utiliza como blanco y disolvente agua destilada.

Determinar:

1. La desviación estándar S
2. El coeficiente de variación CV de la respuesta analítica

PARÁMETROS PARA REALIZAR LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO

2.9 LINEALIDAD DEL MÉTODO

2.9.1 Preparación de la disolución del placebo cargado con cloruro de cetilpiridinio.

Se pesa la formulación mencionada para preparar 100 g de placebo adicionado con cloruro de cetilpiridinio, enseguida se seleccionan cinco niveles de concentraciones preparadas a partir de una disolución concentrada.

Se pesa por triplicado 14.28 g de placebo adicionado el cual contendrá el equivalente a 10 mg de cloruro de cetilpiridinio, enseguida se toman las alícuotas correspondientes a las concentraciones seleccionadas, se analiza por triplicado cada nivel. Estas muestras son tratadas con el método experimental siguiente, se adiciona a cada muestra 4 mL de éter, se agita en vortex durante 1 min. se decanta, cuidadosamente la fase orgánica, enseguida se mide la respuesta analítica a la fase acuosa en el espectrofotómetro UV/Visible modelo 2800 Cole Parmer a la longitud de onda de 260 nm, utilizando celdas

de cuarzo de 1 cm. de paso óptico, bajo las mismas condiciones de medición, se utiliza como blanco placebo sin principio activo, tratado con el método experimental, descrito en la pagina 31.

Niveles	Volumen de cloruro de cetilpiridinio en mL	Concentración de cloruro de cetilpiridinio en $\mu\text{g mL}^{-1}$	Concentración de cloruro de cetilpiridinio en %
1	4.2	37.8	140
2	3.6	32.4	120
3	3.0	27.0	100
4	2.4	21.6	80
5	1.8	16.2	60

Determinar:

1. La cantidad recuperada del analito
2. Graficar cantidad adicionada contra la cantidad recuperada
3. Valor de la pendiente b_1
4. La ordenada al origen b_0
5. Coeficiente de determinación r^2
6. Intervalo de confianza para la pendiente IC (β_1)
7. Intervalo de confianza para la ordenada al origen IC (β_0)
8. Coeficiente de variación $CV_{y/x}$
9. Promedio aritmético \bar{Y}
10. Desviación estándar S
11. Intervalo de confianza para la media poblacional IC (β_μ)

2.10 EXACTITUD Y REPETIBILIDAD DEL MÉTODO

Para la evaluación de la exactitud del método, se analiza por sextuplicado una disolución de placebo adicionado correspondiente al 100 % y equivalente a una concentración de $27 \mu\text{g mL}^{-1}$ cloruro de cetilpiridinio, estas disoluciones se preparan a partir de una disolución concentrada, se pesa 14.28 g de placebo analítico cargado, se disuelve y se trasvasa a un matraz volumétrico de 100 mL, se lleva al aforo con agua destilada, se toma una alícuota de 3 mL y se trasvasa a un matraz volumétrico de 10 mL se lleva al aforo con agua destilada. A estas muestras se les trata con el mismo método experimental ya descrito en el diagrama No 2. Se mide la respuesta analítica en el espectrofotómetro UV/Visible modelo 2800 Cole Parmer a la longitud de onda de 260 nm, utilizando celdas de cuarzo de 1 cm. de paso óptico, bajo las mismas condiciones de medición, se utiliza como blanco de referencia placebo sin principio activo, de igual forma se trata con el método experimental.

Determinar:

1. Promedio aritmético \bar{Y}
2. Desviación estándar S
3. Coeficiente de variación CV
4. Intervalo de confianza para la media poblacional IC (β_{μ})

2.11 PRECISIÓN DEL MÉTODO

Para la evaluación de la precisión del método se analizara por triplicado una muestra del producto equivalente al 100 % correspondiente a la concentración de $27 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cloruro de cetilpiridinio, en dos días y por dos analistas diferentes con los mismos reactivos, materiales e instrumentos.

Se prepara una disolución concentrada pesando el equivalente a 14.28 g de placebo adicionado, se disuelve y se trasvasa a un matraz volumétrico de 100 mL, se toma una alícuota de 3 mL y se trasvasa a un matraz volumétrico de 10 mL, se lleva al afora con agua destilada, esta disolución corresponde al 100 % de la muestra procesada y a una concentración de $27 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cloruro de cetilpiridinio, se trasvasa a un vial de 20 mL para ser tratado con el método experimental descrito en el diagrama No 2. Se mide la respuesta analítica en el espectrofotómetro UV/Visible modelo 2800 Cole Parmer a la longitud de onda de 260 nm, utilizando celdas de cuarzo de 1 cm. de paso óptico, bajo las mismas condiciones de medición, se utiliza como blanco de referencia placebo sin principio activo, de igual forma se trata con el método experimental descrito en la pagina 31.

Determinar:

1. Media aritmética \bar{y}
2. Desviación estándar S
3. Coeficiente de variación CV

2.12 ESTABILIDAD ANALÍTICA

Para evaluar la estabilidad de la muestra se preparan muestras dependientes, a partir de una muestra homogénea concentrada, se pesa 14.28 g de muestra, se disuelve y se trasvasa en un matraz aforado de 100 mL se lleva al aforo con agua destilada, se toma una alícuota de 3 mL, y se trasvasa a un matraz aforado de 10 mL, se trata con el método experimental descrito en el diagrama No 2 para luego ser trasvasada a viales de 20 mL, y ser sometidas a diferentes condiciones ambientales. Procesar el número de muestras necesarias para cada condición de almacenaje, al menos por triplicado, de la misma muestra homogénea.

La primeras tres muestras, se almacenas a 5°C, las siguientes tres muestras, se almacenan a la luz con temperatura ambiente y las últimas tres muestras, se almacenan a oscuridad

con temperatura ambiente. Se mide la respuesta analítica de cada una de las disoluciones a 0, 24, 48 y 72 horas, en el espectrofotómetro UV/Visible modelo 2800 Cole Parmer a la longitud de onda de 260 nm, utilizando celdas de cuarzo de 1 cm. de paso óptico, bajo las mismas condiciones de medición, se utiliza como blanco de referencia placebo sin principio activo, de igual forma se trata con el método experimental descrito en la pagina 31.

Determinar:

1. Media aritmética del análisis inicial \bar{y}_0
2. Media aritmética de cada condición de almacenaje \bar{y}_i
3. Diferencia absoluta de la media aritmética $|d_i|$

2.13 CUANTIFICACIÓN DE CLORURO DE CETILPIRIDINIO EN PRODUCTOS COMERCIALES

PREPARACIÓN DE LA DISOLUCIÓN DE REFERENCIA

Preparación de la disolución de la muestra de referencia de cloruro de cetilpiridinio con una concentración de $27 \mu\text{g mL}^{-1}$, se pesan 10 mg de cloruro de cetilpiridinio al 90 % de pureza y se trasvasa a un matraz volumétrico de 100 mL, se lleva al aforo con agua destilada. Se toma una alícuota de 3 mL y se trasvasa a un matraz volumétrico de 10 mL. Esta disolución representa el equivalente al 100%.

PREPARACIÓN DE LA DISOLUCIÓN DE LA MUESTRA

Pesar aproximadamente, con exactitud 14.28 g de producto en prueba, que es la cantidad equivalente a 10 mg de cloruro de cetilpiridinio, se trasvasa a una matraz volumétrico de 100 mL se afora con agua destilada, se toma una alícuota de 3 mL, se transfiere a un matraz volumétrico de 10 mL, se lleva al aforo con agua destilada. Se trasvasa a un vial de 20 mL y se trata con el método experimental descrito en la página 31 descrito en el

diagrama No 2. Se mide la respuesta analítica en el espectrofotómetro UV/Visible modelo 2800 Cole Parmer, a la longitud de onda de 260 nm, utilizando celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico, bajo las mismas condiciones de medición, se utiliza como blanco de referencia placebo sin principio activo, de igual forma se trata con el método experimental descrito en la pagina 31.

Fórmula para determinar el contenido de cloruro de cetilpiridinio por cada 100mL.

$$\frac{\text{mg}}{\text{mL}} = \frac{\text{abs mtra}}{\text{abs std}} \times \text{conc std} \times \frac{\text{pureza std}}{100} \times \frac{\text{aforo}}{\text{aliquota}} \times \frac{100}{\text{peso mtra} \times \text{densidad de la mtra}} \times 100$$

CAPITULO III
RESULTADOS
Y
DISCUSIÓN

3.0 OBTENCIÓN DEL ESPECTRO DE ABSORCIÓN DEL CLORURO DE CETILPIRIDINIO.

El barrido espectrofotométrico de una disolución de referencia del cloruro de cetilpiridinio, nos sirve para determinar la longitud de onda a la cual presenta su máxima absorción, y poder trabajar con esta longitud durante todo el desarrollo de validación. De esta manera nos aseguramos que esta longitud será específica para nuestro analito en estudio.

En la siguiente grafica, se muestra el espectro de absorción obtenido de la disolución de referencia, de cloruro de cetilpiridinio, mostrando la longitud de onda máxima a la cual se trabajo.

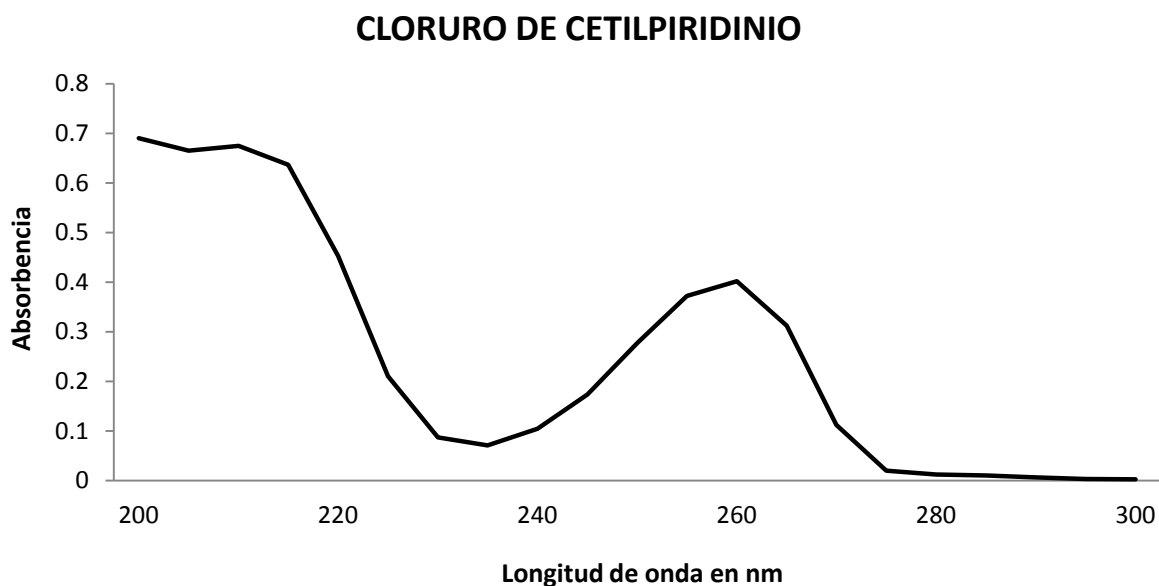


Figura No 3. Gráfico obtenido del barrido de la solución de referencia

PARÁMETROS DEL SISTEMA

3.1 ESPECIFICIDAD

En la tabla No 1 se observa la respuesta analítica de las sustancias del placebo sin cloruro de cetilpiridinio, placebo con cloruro de cetilpiridinio y la disolución de referencia. En un barrido que va de 200 a 300 nm de longitudes de onda.

ABSORBENCIA			
Longitud de onda	Placebo	Placebo cargado	Disolución de Referencia
200	0.025	0.631	0.690
205	0.018	0.601	0.665
220	0.010	0.666	0.675
215	0.004	0.677	0.637
220	0.006	0.606	0.453
225	0.005	0.48	0.210
230	0.001	0.200	0.087
235	0.001	0.117	0.071
240	0.016	0.153	0.104
245	0.015	0.228	0.173
250	0.018	0.320	0.277
255	0.018	0.401	0.372
260	0.015	0.461	0.402
265	0.019	0.392	0.312
270	0.018	0.220	0.112
275	0.016	0.036	0.020
280	0.004	0.016	0.012
285	0.016	0.025	0.010
290	0.010	0.016	0.006
295	0.003	0.006	0.003
300	0.002	0.004	0.002

Gráfico de Especificidad

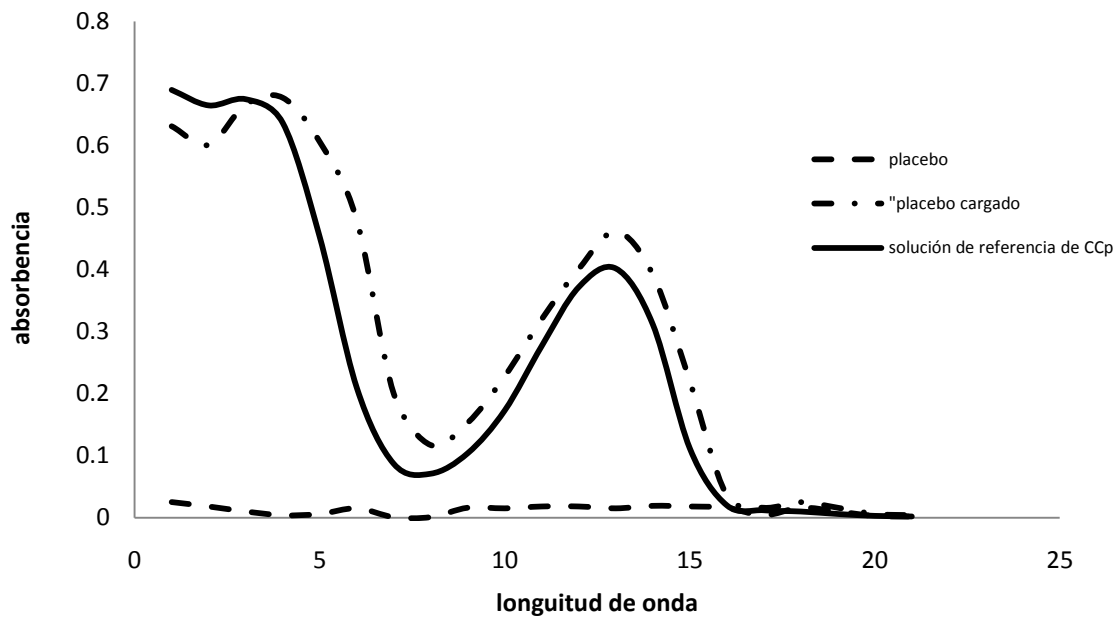


Figura No 4. Gráfico de la especificidad del método

3.2 LINEALIDAD DEL SISTEMA

En la tabla No 2 se muestran los resultados de la respuesta analítica obtenidas para la evaluación de la linealidad del sistema, las cuales fueron leídas en el espectrofotómetro UV/Visible modelo 2800 Cole Parmer a la longitud de onda de 260 nm, utilizando celdas de cuarzo de 1 cm. de paso óptico, se utiliza como blanco de referencia placebo sin principio activo, todas las muestras son tratadas con el mismo método experimental, descrito en el diagrama No 2.

Tabla No 2 Datos obtenidos para la Linealidad del Sistema

Linealidad del Sistema			
Solución	Concentración % X	Absorbancia Y	XY
1	60	0.198	11.874
2	60	0.198	11.880
3	60	0.198	11.868
1	80	0.292	23.360
2	80	0.292	23.344
3	80	0.292	23.352
1	100	0.378	37.790
2	100	0.378	37.780
3	100	0.378	37.760
1	120	0.455	54.636
2	120	0.455	54.588
3	120	0.455	54.576
1	140	0.582	81.494
2	140	0.582	81.466
3	140	0.582	81.466

En la tabla No. 3 se presentan los parámetros y criterios de aceptación para la linealidad del sistema

Criterios de aceptación para la linealidad del sistema		
Parámetro	Criterio de aceptación	Valor calculado
Pendiente (b_1)		0.0046
Ordenada al origen (b_0)		-0.0847
Coefficiente de determinación (r^2)	$r^2 \geq 0.9800$	0.9929
Intervalo de confianza para la pendiente ($IC\beta_1$)	IC (β_1) no debe incluir el cero	0.00490, 0.00442

Tabla No 3 Criterios de aceptación para la linealidad del sistema

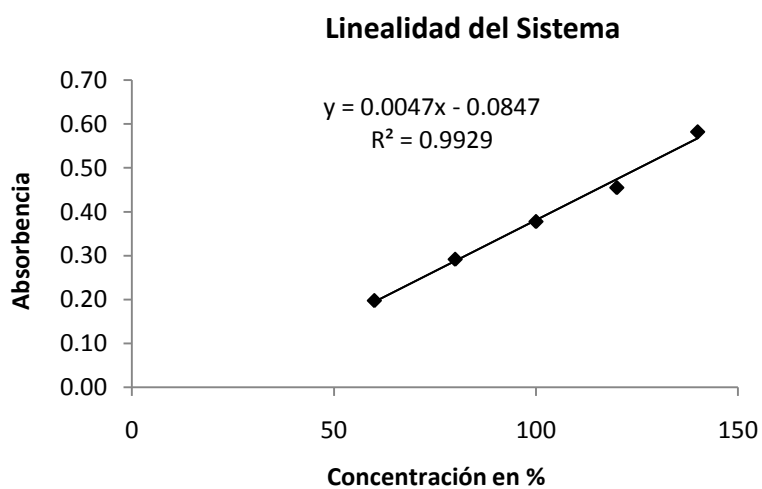


Figura No 5. Gráfico obtenido para la linealidad del sistema

En esta grafica, se puede observar la relación que existe entre la absorbencia y la concentración, es directamente proporcional, con lo que se comprueba que el método analítico cumple con la ley de Lamber-Beer y, por lo tanto también cumple con los criterios de aceptación y considerar al método analítico lineal para el sistema. Ya que se obtiene un coeficiente de determinación mayor al requerido por la especificación $r^2 \geq 0.98$.

3.3 PRECISIÓN DEL SISTEMA

En la tabla No 4 se muestran los resultados obtenidos para la evaluación de la precisión del sistema, a partir de una disolución analizada por sextuplicado que representa el 100 % de la concentración y el equivalente a $27 \mu\text{g mL}^{-1}$

Solución	Muestra	Concentración %	Concentración en $\mu\text{g mL}^{-1}$	Absorbencia
1	1	100	27.0	0.326
	2	100	27.0	0.327
	3	100	27.0	0.327
	4	100	27.0	0.328
	5	100	27.0	0.328
	6	100	27.0	0.327
2	1	100	27.0	0.327
	2	100	27.0	0.326
	3	100	27.0	0.325
	4	100	27.0	0.327
	5	100	27.0	0.327
	6	100	27.0	0.325
3	1	100	27.0	0.326
	2	100	27.0	0.327
	3	100	27.0	0.328
	4	100	27.0	0.327
	5	100	27.0	0.326
	6	100	27.0	0.326

Tabla No 4 Resultados obtenidos para la precisión del sistema

Criterios de aceptación para la precisión del sistema		
Parámetro	Criterio de aceptación	Valor calculado
n = 18		
\bar{y}		0.327
s		0.0009074
CV	CV ≤ 1.5 %	0.5122

Tabla No 5 Criterios de aceptación para la precisión del sistema

En la tabla No 4, se observan los resultados obtenidos de la respuesta analítica y en la tabla No 5, se presentan los valores calculados de los parámetros, como es la media aritmética, desviación estándar y el coeficiente de variación, de esta forma se verifica que el sistema cumpla con los criterios de aceptación para considerar que nuestro sistema sea preciso.

El coeficiente de variación debe de encontrarse entre un valor menor o igual al 1.5 %, para considerar al sistema como preciso. Por lo que de acuerdo a los resultados obtenidos podemos considerar que nuestro sistema es preciso, debido a que cumple con la especificación establecida, ya que observa un coeficiente de variación calculado igual a 0.5122 %.

Finalmente se observa que nuestro sistema cumple con los parámetros establecidos para considerarlo lineal y preciso, por lo que ahora procedemos a realizar los cálculos necesarios para la evaluación del método.

PARÁMETROS DEL MÉTODO

3.4 LINEALIDAD DEL MÉTODO

En la tabla No 6, se muestran los resultados de la respuesta analítica obtenidas para la evaluación de la linealidad del método, las cuales fueron leídas en el espectrofotómetro UV/Visible modelo 2800 Cole Parmer a la longitud de onda de 260 nm, utilizando celdas de cuarzo de 1 cm. de paso óptico, se utiliza como blanco de referencia placebo sin principio activo, todas las muestras son tratadas con el mismo método experimental, descrito en el diagrama No 2.

Concentración porcentual %	Absorbencia	X cantidad adicionada en $\mu\text{g mL}^{-1}$	Y cantidad recuperada en $\mu\text{g mL}^{-1}$	% de Recobro
60	0.218	16.20	15.75	97.20
60	0.217	16.20	15.73	97.07
60	0.217	16.20	15.74	97.16
80	0.295	21.60	21.35	98.84
80	0.295	21.60	21.37	98.95
80	0.295	21.60	21.34	98.81
100	0.373	27.00	27.02	100.07
100	0.373	27.00	27.02	100.07
100	0.373	27.00	27.01	100.04
120	0.444	32.40	32.14	99.19
120	0.444	32.40	32.15	99.24
120	0.444	32.40	32.13	99.16
140	0.525	37.80	37.99	100.50
140	0.525	37.80	37.97	100.46
140	0.524	37.80	37.96	100.42

Tabla No 6 Resultados para la linealidad del método

Parámetros calculados para la linealidad del método y su criterio de aceptación

Parámetros	Criterio de aceptación	Valor experimental
Pendiente (b_1)		1.0232
Ordenada al origen (b_0)		-0.7837
Coefficiente de determinación (r^2)	$r^2 \geq 0.98$	0.99969
Intervalo de confianza para la pendiente ($IC\beta_1$)	$IC\beta_1$ debe incluir la unidad	1.03443, 1.01209
Intervalo de confianza para la ordenada ($IC\beta_0$)	$IC\beta_0$ Debe de incluir el cero	0.4702, 1.0972
Coefficiente de variación $CV_{y/x}$	$CV_{y/x}$ No debe ser mayor al 3%	0.57%

Tabla No 7 Criterios de aceptación para la linealidad del método.

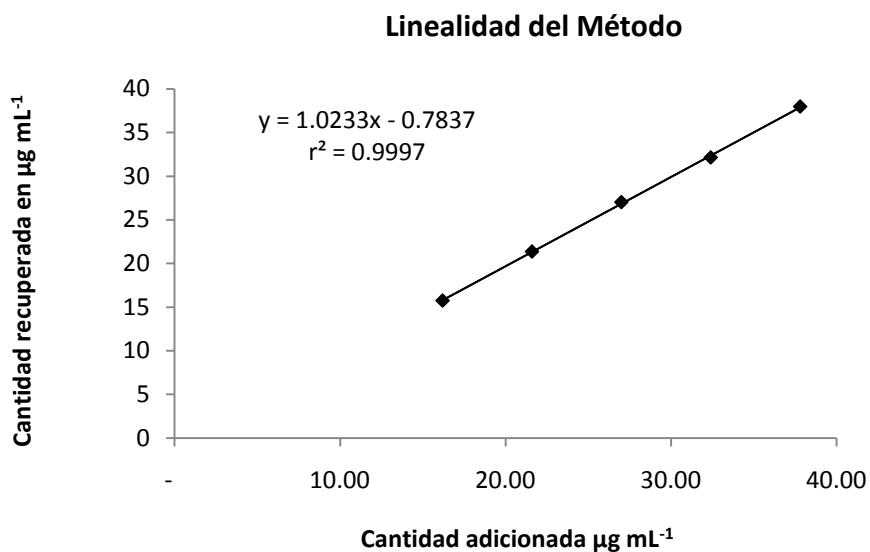


Figura No 6. Gráfico obtenido para la de la linealidad del Método

Resultados calculados para el porcentaje de recobro

Parámetros	Criterio de aceptación	Valor experimental
Media \bar{y}		99.15
Desviación estándar S		1.19499
Coeficiente de variación CV	No mayor al 3%	1.2 %
Intervalo de confianza para media poblacional ($IC_{\beta,\mu}$)	Debe incluir el 100% o que el promedio aritmético del % de recobro se incluya en el intervalo 97-103%	99.80, 98.48

Tabla No 8 criterios de aceptación para el porcentaje de recobro

De acuerdo a los resultados obtenido para el porcentaje de recobro presentados en la tabla No 8, podemos observar que todos los parámetros calculados son aceptados, presenta un coeficiente de variación de 1.2 %, cumpliendo así con el criterios de aceptación el cual nos indica que debe de ser menor al 3 %, mientras que el intervalo de confianza para la media poblacional no incluye el 100 %, pero el promedio de la media aritmética se encuentra dentro del intervalo de 97-103 %, como lo indica la especificación para métodos químicos o espectrofotométricos. Y por consecuencia podemos decir que nuestro método cumple con los criterios establecidos para considerarlo lineal.

3.5 EXACTITUD Y REPETIBILIDAD DEL MÉTODO

En la tabla No 9 se muestran los resultados de la respuesta analítica obtenidas para la evaluación de la exactitud y repetibilidad del método, las cuales fueron leídas en un espectrofotómetro UV/Visible modelo 2800 Cole Parmer a la longitud de onda de 260 nm, utilizando celdas de cuarzo de 1 cm. de paso óptico, se utiliza como blanco de referencia placebo sin principio activo, todas las muestras son tratadas con el mismo método de extracción, descrito en el diagrama No 2.

Muestra	Absorbencia	Cantidad Adicionada en µg/mL	Cantidad Recuperada en µg/mL	% de Recobro
1	0.373	27.024	26.99	99.88
2	0.372	27	26.93	99.75
3	0.373	27.01	27.03	100.07
4	0.372	27.03	26.98	99.83
5	0.373	27.02	27.02	100.02
6	0.373	27.012	27.01	99.99

Tabla No 9 Resultados de la respuesta analítica

Resultados calculados para la exactitud y repetibilidad del método

Parámetros	Criterio de aceptación	Valor experimental
Media \bar{Y}		99.92
Desviación estándar S		0.11552
Coefficiente de variación CV	No mayor al 3%	0.12 %
Intervalo de confianza para media poblacional ($IC_{\beta_{\mu}}$)	Debe incluir el 100% o que el promedio aritmético del % de recobro se incluya en el intervalo 97-103%	100.05 - 99.8

Tabla No 10 Criterios de aceptación para la repetibilidad y exactitud del método

De acuerdo a los resultados mostrados en la tabla No 10, podemos observar que todos los parámetros calculados entran dentro de la especificación establecida, se obtiene un coeficiente de variación de 0.12 %, cumpliendo así con el criterios de aceptación el cual nos indica que debe de ser menor al 3 %, mientras que el intervalo de confianza para la media poblacional incluye el 100 % encontrándose dentro del intervalo de 97-103 %, como lo indica la especificación para métodos químicos o espectrofotométricos. Por consiguiente, podemos decir, que nuestro método cumple con los criterios establecidos para considerar a nuestro método exacto y repetible.

3.6 PRECISIÓN DEL MÉTODO

En la tabla No 11 se muestran los resultados de la respuesta analítica obtenida para la evaluación de la precisión del método, realizadas en dos días diferente por dos analistas diferentes, las cuales fueron leídas en un espectrofotómetro UV/Visible modelo 2800 Cole Parmer a la longitud de onda de 260 nm, utilizando celdas de cuarzo de 1 cm. de paso óptico, se utiliza como blanco de referencia placebo sin principio activo, todas las muestras son tratadas con el mismo método experimental, descrito en el diagrama No 2.

DIA	Absorbencia Analista 1	Absorbencia Analista 2	Cantidad Adicionada Analista 1 en µg/MI	Cantidad Adicionada Analista 2 en µg/mL	Cantidad Recuperada Analista 1 en µg/mL	Cantidad Recuperada Analista 2 en µg/mL	% de Recobro Analista 1	% de Recobro Analista 2
1	0.375	0.373	27.24	27.12	27.35	27.00	100.42	99.55
	0.371	0.371	27.19	26.78	27.06	26.87	99.54	100.35
	0.373	0.367	27.15	26.89	27.17	26.57	100.07	98.81
2	0.373	0.369	27.26	27.03	27.29	26.72	100.10	98.84
	0.376	0.364	27.21	27.14	27.40	26.37	100.69	97.15
	0.374	0.368	27.12	26.75	27.23	26.63	100.40	99.55

Tabla No 11 Resultados obtenidos para la precisión del método

Parámetros	Criterio de aceptación	Valor experimental
Media \bar{Y}		26.9600
Desviación estándar S		0.3385
Coefficiente de variación CV	No mayor al 3%	1.2500

Tabla No 12 criterios de aceptación para la precisión del método

Con este parámetro evaluamos la concordancia relativa que puede existir entre las diferentes pesadas independientes realizadas dentro de un mismo laboratorio, por diferentes analistas en distintos días. Por lo tanto para nuestro método, se puede observar que no existe una diferencia significativa, puesto que se obtiene un coeficiente de variación de 1.25%, el cual entra dentro de las especificaciones establecidas para considerar a nuestro método, preciso.

3.7 ESTABILIDAD ANALÍTICA DE LA MUESTRA

Para poder realizar la evaluación de este parámetro se triplican muestras por cada condición ambiental, provenientes de una sola muestra homogénea.

En la siguiente tabla se muestran los resultados de la respuesta analítica obtenida

Muestra	% de Recobro			
	Tiempo inicial (y0)	Tiempo 24 h (y1)	Tiempo 48 h (y2)	Tiempo 72 h (y3)
1	100.06	100.12	99.88	98.87
2	98.12	100.08	98.94	98.94
3	98.11	99.75	99.76	99.46

Tabla No 13. Porcentaje de recobro, Oscuridad

Muestra	% de Recobro			
	Tiempo inicial (y0)	Tiempo 24 h (y1)	Tiempo 48 h (y2)	Tiempo 72 h (y3)
1	97.67	100.09	99.56	99.59
2	98.69	100.07	98.89	100.13
3	99.73	99.78	99.54	98.74

Tabla No 14. Porcentaje de recobro, Luz

Muestra	% de Recobro			
	Tiempo inicial (y0)	Tiempo 24 h (y1)	Tiempo 48 h (y2)	Tiempo 72 h (y3)
1	97.68	98.56	99.68	99.89
2	98.37	98.46	99.67	99.86
3	98.63	98.44	98.97	99.88

Tabla No 15. Porcentaje de recobro, temperatura 4 °C

Condición de almacenaje	Criterio de aceptación Idil	Valor calculado Id1	Valor calculado Id2	Valor calculado Id3
Temperatura ambiente Oscuridad	$Idil \leq 3 \%$	1.20	0.76	0.33
Temperatura ambiente Luz	$Idil \leq 3 \%$	1.28	0.63	0.79
Temperatura 4°C	$Idil \leq 3 \%$	0.26	1.21	1.65

Tabla No 16 Criterios de aceptación para la determinación de la estabilidad de la muestra

En la tabla No 16 se muestran los resultados obtenidos de la estabilidad de la muestra almacenada a diferentes condiciones de almacenaje, oscuridad, luz y a 4°C, obteniendo un $Idil \leq 3 \%$, para todos los casos, y horas de almacenaje, con estos resultados podemos darnos cuenta que la muestra, se mantiene estable a las diferentes condiciones al menos durante 72 hrs.

3.8 RESUMEN DE LOS RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO

Parámetro	Criterio de aceptación	Valor calculado			
Especificidad	Cumple	Cumple			
Linealidad del sistema	$r^2 \geq 0.9800$	0.9929			
	IC (β_1) no debe incluir el cero	0.00490, 0.00442			
Precisión del sistema	$CV \leq 1.5 \%$	0.1012			
Linealidad del método	Cantidad adicionada	Cantidad recuperada			
	$r^2 \geq 0.98$	0.99969			
	IC β_1 debe incluir la unidad	1.03443, 1.01209			
	IC β_0 Debe de incluir el cero	0.4702, 1.0972			
	CV $_{y/x}$ No debe ser mayor al 3%	0.57%			
	Porcentaje de recobro				
	CV no mayor de 3%	1.2 %			
	IC $_{\mu}$ Debe incluir el 100% o que el promedio aritmético del % de recobro se incluya en el intervalo 97-103%	99.80,98.48			
Exactitud y repetibilidad del método	$CV \leq 3\%$	0.12 %			
	IC $_{\mu}$ Debe incluir el 100% o que el promedio aritmético del % de recobro se incluya en el intervalo 97-103%	100.05 - 99.8			
Precisión del método	$CV \leq 3\%$	1.25%			
Estabilidad analítica de la muestra	Idil $\leq 3 \%$	Condición de almacenaje	Valor calculado Id1	Valor calculado Id2	Valor calculado Id3 I
		Oscuridad	1.20	0.76	0.33
		Luz	1.28	0.63	0.79
		Temperatura 4°C	0.26	1.21	1.65

3.9 DETERMINACION DE CLORURO DE CETILPIRIDINIO EN PRODUCTOS COMERCIALES

Se analizan cinco productos comerciales de diferentes marcas, utilizando el método analítico desarrollado, que de acuerdo con los resultados obtenidos cumple con los criterios de aceptación de la Guía de Validación de Métodos Analíticos.

	Repeticiones	Peso de la muestra en g	Absorbencia	Contenido en g/100mL	% de Recobro
Producto 1	1	14.276	0.375	0.0634	90.6
	2	14.276	0.375	0.0633	90.5
	3	14.276	0.376	0.0635	90.7
Producto 2	1	14.281	0.325	0.0549	103.7
	2	14.28	0.324	0.0548	103.5
	3	14.281	0.323	0.0546	103.1
Producto 3	1	14.281	0.311	0.0525	105
	2	14.28	0.31	0.0524	104.9
	3	14.283	0.31	0.0524	104.8
Producto 4	1	14.18	0.297	0.0504	100.9
	2	14.185	0.296	0.0502	100.5
	3	14.198	0.300	0.0509	101.8
Producto 5	1	14.267	0.287	0.0484	96.84
	2	14.269	0.289	0.0487	97.50
	3	14.26	0.285	0.0481	96.21

Tabla No 18 Resultados obtenidos de la determinación de cloruro de cetilpiridinio en productos comerciales.

Producto	X de % Recobro	SD	% CV
1	90.6	0.1	0.1104
2	103.43	0.3055	0.3
3	104.9	0.1	0.0953
4	101.06	0.6658	0.658
5	96.85	0.6450	0.6660

Tabla No 19 Datos estadísticos de la determinación de cloruro de cetilpiridinio en productos comerciales.

De acuerdo a los datos estadísticos reportados en la tabla No 19, el coeficiente de variación calculado para el porcentaje de recobro no excede el 3% para ninguno de los productos analizados. Y por tanto los productos cumplen con lo establecido en la NORMA Oficial Mexicana NOM-002-SCFI-1993, productos pre envasados contenido neto tolerancias y métodos de verificación. Por otra parte se considera el método reproducible y apto para poder aplicarlo en cualquier producto comercial.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

Se desarrollo un método de extracción líquido - líquido para lograr la determinación del analito en estudio, CLORURO DE CETILPIRIDINIO, contenido en el enjuague bucal, como antibacterial,

Una vez obtenido el método, se procede a realizar su validación, a través de la evaluación de los siguientes parámetros: especificidad, precisión, linealidad, exactitud, repetibilidad, y estabilidad. Obteniendo resultados congruentes, consistentes y satisfactorios, que nos proporcionan un alto grado de confianza y seguridad, para la determinación de cloruro de cetilpiridinio, ya que hasta ahora no existe suficiente información bibliográfica, sobre métodos validados para el cloruro de cetilpiridinio.

De acuerdo a los criterios de aceptación de la norma de validación para métodos espectrofotométricos, los parámetros que fueron evaluados en este trabajo, cumplen con las especificaciones establecidas, por lo que el método desarrollado para la cuantificación de cloruro de cetilpiridinio, en enjuagues bucales comerciales, es considerado confiable, y validado. Cumpliendo así con uno de los objetivos de este trabajo.

Finalmente concluimos que una de las grandes ventajas de poder realizar esta validación por medio de un método espectrofométrico, se debe a que el equipo es de fácil manipulación, el material y reactivos que se utilizan son de fácil adquisición y de muy bajo costo, haciéndolo práctico y de mucha utilidad para aquellas empresas que se dedican a la fabricación de productos higiénicos, como son los enjuagues bucales, para poder analizarlos en muy corto tiempo y bajo costo.

En cuanto al método de titulación volumétrica mencionado, no fue posible realizar su validación, debido a los altos costos y a su difícil adquisición de los reactivos involucrados,

por lo que solo queda como referencia, y motivo por el cual se realizó éste proyecto, para buscar una alternativa más accesible, sencilla, segura y económica.

Y como podemos ver este método realizado cumple con todas las expectativas, regulatorias, que nos pide una validación de un producto terminado.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) NORMA Oficial Mexicana NOM-137-SSA1-2008, Etiquetado de dispositivos médicos.
- 2) NORMA Oficial Mexicana NOM-002-SCFI-1993, productos preenvasados contenido neto tolerancias y métodos de verificación
- 3) PROYECTO de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-059-SSA1-2004, Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria químico farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos (modifica a la NOM-059-SSA1-1993, publicada el 31 de julio de 1998).
- 4) J.B. Wilkinson – R.J. Moore; Cosmétodología de Harry, segunda edición, Editorial Díaz de Santos, S. A., Madrid, pp. 693-696.
- 5) Skoog Douglas A; Fundamentos de Química Analítica, edición, Editorial Reverté, México, 2005, pp. 753.
- 6) Volker Buhler; Formulac Generic Drugs Formulations, 1st edición, fine chemicals BASF, 1997.
- 7) Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos A. C., Métodos analíticos guía de validación, Edición 20002, pp. 4-40, 57-89.
- 8) Remington Alfonso Genaro; Farmacia, vigésima edición, Tomo 1 editorial Medica panamericana, Argentina, 2003, pp. 1730.
- 9) Merritt P. Edlind, W.Lamar Smith, and Thomas D. Edlind, "Effects of Cetylpyridinium Chloride Resistance and Treatment on Fluconazole Activity *Candida albicans*". Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Feb. 2005. P. 843-845. vol. 49 ,No 2
- 10) Bascones A, Morante S."Antisépticos Orales",Av. Perodon Implantol. 2006, 31-39

- 11) Negroni. Microbiología Estomatológica, Fundamentos y Guía Práctica. (2004). Editorial Panamericana. Impreso en Buenos Aires. Argentina
- 12) Cuenca Sala, Emili (1999). *Odontología preventiva y comunitaria: principios, métodos y aplicaciones*. Barcelona: Masson. 84-458-0818-4.
- 13) Castaño Séiquer, Antonio Manual de Introducción a la Odontología, año 2005 editorial RIPANO, Madrid
- 14) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS,
Numero de publicación: 2 173 44786 Numero de solicitud europea: 97924017.3
Fecha de presentación: 20.05.1997
Numero de publicación de la solicitud: 0 910 333
Fecha de publicación de la solicitud: 28.04.1999
Titulo: Composiciones de enjuague bucal que comprenden cloruro de cetilpiridinio y un tensioactivo anfotero.
Titular/es: SMITHKLINE BEECHAM PLC New Horizons Court Brentford, Middlesex TW8 9EP, GB

BIBLIOGRAFÍA VIRTUAL

- 15) http://www.healthsystem.virginia.edu/UVAHealth/adult_oralhlth_sp/rinse.cfm
- 16) http://www.salutia.com.ar/Sitio/Sp/Servicios/Vademecum/Farmacopea_Argentina/Especif/sp_Vademecum_Farmacopea_Drogas_Cloruro_Cetilprridinio.htm
- 17) <http://www.lenntech.es/biocidas.htm#ixzz0WEF1URVr>
- 18) <http://es.wikipedia.org/wiki/Caries>

ANEXO I

FORMULAS Y PROCEDIMIENTOS DE CÁLCULOS CON EJEMPLO PARA LINEALIDAD DEL SISTEMA

Pendiente

$$b_1 = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

n=numero de mediciones (concentración – respuesta analítica)

Ordenada al origen

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n}$$

Coficiente de determinación

$$r^2 = \frac{[n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)]^2}{[n(\sum x^2) - (\sum x)^2][n(\sum y^2) - (\sum y)^2]}$$

Intervalo de confianza para la pendiente

$$IC(\beta_1) = \beta_1 \pm t_{0.975, n-2} S_{b_1}$$

$$S_{b_1} = s_{y/x} \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - b_1 \sum xy - b_0 \sum y}{n - 2}}$$

$t_{0.975, n-2}$ = Referirse al anexo II, para determinar el valor de la t de Student

Procedimiento de cálculo para la linealidad del sistema

1. Tabular los resultados:

Linealidad del Sistema			
Muestra	Concentración % X	Absorbencia Y	XY
1	60	0.198	11.874
2	60	0.198	11.88
3	60	0.198	11.868
1	80	0.292	23.360
2	80	0.292	23.344
3	80	0.292	23.352
1	100	0.378	37.79
2	100	0.378	37.78
3	100	0.378	37.76
1	120	0.455	54.636
2	120	0.455	54.588
3	120	0.455	54.576
1	140	0.582	81.494
2	140	0.582	81.466
3	140	0.582	81.466

2. Calcular Σx , Σy , Σx^2 , Σy^2 , Σxy y determinar n:

$$\sum x = 60 + \dots + 140 = 1500$$

$$\sum y = 0.198 + \dots + 0.582 = 5.7136$$

$$\sum x^2 = 60^2 + \dots + 140^2 = 162\,000$$

$$\sum y^2 = 0.198^2 + \dots + 0.582^2 = 2.4836$$

$$\sum xy = 60 * 0.198 + \dots + 140 * 0.582 = 627.234 \quad n = 15$$

3. Calcular b_1 , b_0 y r^2

$$b_1 = \frac{(15 * 627.234) - (1500 * 5.7136)}{(15 * 162\,000) - (1500)^2} = 0.00465617$$

$$b_0 = \frac{5.7136 - (0.00465617 * 1500)}{15} = -0.08471$$

$$r^2 = \frac{[(15 * 627.234) - (1500 * 5.7136)]^2}{[(15 * 162\,000) - (1500)^2][(15 * 2.43) - (5.7136)^2]} = 0.992913$$

El valor es mayor a 0.98 por lo tanto se aprueba el parámetro.

4. Calcular $S_{y/x}$ y S_{b1}

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{2.43836 - (0.00465617 * 627.234) - (-0.08471 * 5.7136)}{15 - 2}} = 0.01193$$

$$S_{b1} = 0.01193 \sqrt{\frac{1}{162\,000 - \frac{(1500)^2}{15}}} = 0.000109$$

5. Obtener del anexo II $t_{0.975, n-2}$ y determinar IC (β_1)

$$t_{0.975, 15-2} = 2.160$$

$$IC(\beta_1) = b_1 \pm t_{0.975, 15-2} S_{b1}$$

$$IC(\beta_1) = 0.004656 \pm 2.160 * 0.000109 = 0.004892, 0.004421$$

Formulas y procedimiento de cálculo con ejemplo para precisión del sistema

Media aritmética

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$$

Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}{n(n-1)}}$$

Coefficiente de variación:

$$CV = \frac{S}{\bar{y}} * 100$$

n = número de mediciones

Procedimiento de cálculo

Lecturas obtenidas

Disolución	Muestra	Concentración %	Concentración en µg / mL	Absorbencias
1	1	100	27.0	0.326
	2	100	27.0	0.327
	3	100	27.0	0.327
	4	100	27.0	0.328
	5	100	27.0	0.328
	6	100	27.0	0.327
2	1	100	27.0	0.327
	2	100	27.0	0.326
	3	100	27.0	0.325
	4	100	27.0	0.327
	5	100	27.0	0.327
	6	100	27.0	0.325
3	1	100	27.0	0.326
	2	100	27.0	0.327
	3	100	27.0	0.328
	4	100	27.0	0.327
	5	100	27.0	0.326
	6	100	27.0	0.326

1. Calcular $\sum y$, $\sum y^2$, determinar n

$$\sum y = 0.326 + \dots + 0.326 = 5.88$$

$$\sum y^2 = 0.326^2 + \dots + 0.326^2 = 1.920814$$

$$n = 18$$

2. Calcular \bar{y} , S y CV

$$\bar{y} = \frac{5.88}{18} = 0.3266$$

$$S = \sqrt{\frac{(18 * 0.19208) - (5.88)^2}{18 * (18 - 1)}} = 0.0009074$$

$$CV = \frac{0.00167}{0.3266} * 100 = 0.51224$$

Formulas y procedimientos de cálculos con ejemplo para linealidad del método Pendiente

$$b_1 = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

n = numero de mediciones (concentracion – respuesta analitica)

Ordenada al origen

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n}$$

Coficiente de determinación

$$r^2 = \frac{[n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)]^2}{[n(\sum x^2) - (\sum x)^2][n(\sum y^2) - (\sum y)^2]}$$

Intervalo de confianza para la pendiente

$$IC(\beta_1) = b_1 \pm t_{0.975, n-2} S_{b_1}$$

$$S_{b_1} = s_{y/x} \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - b_1 \sum xy - b_0 \sum y}{n - 2}}$$

$t_{0.975, n-2}$ = Referirse al anexo II, para determinar el valor de la t de Student

Intervalo de confianza para la ordenada al origen

$$IC(\beta_0) = b_0 \pm t_{0.975, n-2} S_{b_0}$$

$$S_{b_0} = s_{y/x} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(\bar{x})^2}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$\bar{x} = \frac{(\sum x)}{n}$$

Coefficiente de variación de regresión

$$CV_{y/x} = \frac{S_{y/x}}{\bar{y}} * 100$$

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$$

Procedimiento de cálculo para la linealidad del método

1. Tabular los resultados:

x (µg/mL)	y(µg/mL)
16.20	15.75
16.20	15.73
16.20	15.74
21.60	21.35
21.60	21.37
21.60	21.34
27.00	27.02
27.00	27.02
27.00	27.01
32.40	32.14
32.40	32.15
32.40	32.13
37.80	37.99
37.80	37.97
37.80	37.96

2. Calcular $\sum x$, $\sum y$, $\sum x^2$, $\sum y^2$, $\sum xy$ y determinar n

$$\sum x = 16.20 + \dots + 37.8 = 405.00$$

$$\sum y = 15.75 + \dots + 37.96 = 402.67$$

$$\sum x^2 = 16.20^2 + \dots + 37.8^2 = 11809.8$$

$$\sum y^2 = 15.75^2 + \dots + 37.96^2 = 11725.5345$$

$$\sum xy = 15.1 * 14.7 + \dots + 35.3 * 35.1 = 11767.1078$$

$$n = 15$$

3. Calcular b_1 , b_0 y r^2

Pendiente

$$b_1 = \frac{(15 * 11767.1078) - (405.00 * 402.67)}{(15 * 11809.8) - (405.00)^2} = 1.02326$$

Ordenada al origen

$$b_0 = \frac{402.67 - (1.013048 * 405.00)}{15} = -0.78372$$

Coefficiente de determinación

$$r^2 = \frac{[(15 * 11767.1078) - (405.00 * 402.67)]^2}{[(15 * 11725.5345) - (405.00)^2][(15 * 11809.8) - (402.67)^2]} = 0.9997$$

El valor es mayor a 0.98 por lo tanto se aprueba el parámetro.

4. Calcular $S_{y/x}$ y S_{b1}

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{11725.53 - (1.02326 * 11767.11) - (-0.783772 * 402.67)}{15 - 2}} = 0.021704$$

$$S_{b1} = 0.021704 \sqrt{\frac{1}{11809.8 - \frac{(405.00)^2}{15}}} = 0.00517$$

5. Obtener del anexo II $t_{0.975, n-2}$ y determinar IC (β_1)

$$t_{0.975, 15-2} = 2.160$$

$$IC(\beta_1) = b_1 \pm t_{0.975, 15-2} S_{b1}$$

$$IC(\beta_1) = 1.02326 \pm 2.160 * 0.00517 = 1.03443, 1.01209$$

6. Evaluar \bar{x} , S_{b0}

$$\bar{x} = \frac{405}{15} = 27$$

$$S_{b0} = 0.021704 \sqrt{\frac{1}{15} + \frac{(27)^2}{11809.8 - \frac{(405.00)^2}{15}}} = 0.14515$$

7. Calcular IC (β_1)

$$IC(\beta_1) = -0.78372 \pm 2.160 * 0.14515 = -0.4702, -1.0972$$

8. Determinar el $CV_{y/x}$

$$CV = \frac{0.021704}{26.84} * 100 = 0.57 \%$$

Formulas y procedimiento de cálculo con ejemplo para porcentaje de recobro

Media aritmética

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$$

Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}{n(n-1)}}$$

Coeficiente de variación:

$$CV = \frac{S}{\bar{y}} * 100$$

Intervalo de confianza para la media poblacional

$$IC(\mu) = \bar{y} \pm t_{0.975, n-1} \frac{S}{\sqrt{n}}$$

$t_{0.975, n-1}$ revisar el anexo II, para determinar el valor de la t de Student

n = numero de recobros

1. Tabular los resultados

% de recobro (Y)
97.20
97.07
97.16
98.84
98.95
98.81
100.07
100.07
100.04
99.19
99.24
99.16
100.50
100.46
100.42

Datos de referencia

Absorbencias referencia
0.3729
0.3729
0.373
X= .3729

$$\text{mg Recuperados} = \frac{\text{Abs muestra} * \text{mg referencia}}{\text{Abs referencia promedio}}$$

$$\mu\text{g/mL Recuperados} = \frac{0.2175 * 27\mu\text{g/mL}}{0.3729}$$

$$\% \text{ Recobro} = \frac{\text{Recuperada Y} * 100}{\text{Adicionada X}}$$

$$\% \text{ Recobro} = \frac{15.75 * 100}{16.2} = 97.2\%$$

2. Calcular $\sum y$, $\sum y^2$ y determinar n

$$\sum y = 97.2 + 97.07 + \dots + 100.46 + 100.42 = 1\,487.18$$

$$\sum y^2 = 97.2^2 + 97.07^2 + \dots + 100.46^2 + 100.42^2 = 147\,466.34$$

$$n = 15$$

3. Calcular \bar{y} y S

$$\bar{y} = \frac{1487.18}{15} = 99.15$$

$$S = \sqrt{\frac{(15 * 147466.34) - (1\,487.18)^2}{15 * (15 - 1)}} = 1.19499$$

4. Calcular el CV

$$CV = \frac{1.19499}{99.15} * 100 = 1.2$$

El valor no excede del 2 %

5. Determinar en el anexo II $t_{0.975, n-1}$ y calcular IC(μ)

$$t_{0.975, n-1} = 2.145$$

$$IC(\mu) = 99.15 \pm 2.145 \frac{1.19499}{\sqrt{15}} = 99.81, 98.48$$

Formulas y procedimiento de cálculo con ejemplo para exactitud y repetibilidad del método

Media aritmética

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$$

Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}{n(n-1)}}$$

Coefficiente de variación:

$$CV = \frac{S}{\bar{y}} * 100$$

Intervalo de confianza para la media poblacional

$$IC(\mu) = y \pm t_{0.975, n-1} \frac{S}{\sqrt{n}}$$

$t_{0.975, n-1}$ revisar el anexo II, para determinar el valor de la t de Student

n = numero de recobros

1. Tabular los datos

Muestra	Absorbencia	Cantidad Adicionada (µg/mL)	Cantidad Recuperada (µg/mL)	% de Recobro
---------	-------------	-----------------------------	-----------------------------	--------------

1	0.3725	27.024	26.99	99.88
2	0.372	27	26.93	99.75
3	0.3732	27.01	27.03	100.07
4	0.3723	27.03	26.98	99.83
5	0.373	27.02	27.02	100.02
6	0.3729	27.012	27.01	99.99

2. Calcular $\sum y$, $\sum y^2$ y determinar n

$$\sum y = 98.96 + \dots + 99.20 = 593.44$$

$$\sum y^2 = 98.96^2 + \dots + 99.20^2 = 58\,695.5264$$

$$n = 6$$

3. Calcular \bar{y} y S

$$\bar{y} = \frac{599.5442}{6} = 99.92$$

$$S = \sqrt{\frac{(6 * 59908.9414) - (599.5442)^2}{6 * (6 - 1)}} = 0.11556$$

4. Calcular el CV

$$CV = \frac{0.11556}{99.92} * 100 = 0.12 \%$$

El valor no excede del 2 %

5. Determinar en el anexo II $t_{0.975, n-1}$ y calcular IC(μ)

$$t_{0.975, 6-1} = 2.571$$

$$IC(\mu) = 99.92 \pm 2.571 \frac{0.11556}{\sqrt{6}} = 100.05, 99.80$$

Formulas y procedimiento de cálculo con ejemplo para precisión del método

Media aritmética

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$$

Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}{n(n-1)}}$$

Coefficiente de variación:

$$CV = \frac{S}{\bar{y}} * 100$$

n = numero de recobros

1. Tabular los datos obtenidos:

Día	Cantidad Recuperada 1 (µg/mL)	Cantidad Recuperada 2 (µg/mL)
1	27.35	27.00
	27.06	26.87
	27.17	26.57
2	27.29	26.72
	27.40	26.37
	27.23	26.63

2. Calcular $\sum y, \sum y^2$ y determinar n

$$\sum y = 27.35 + \dots + 26.63 = 323.65$$

$$\sum y^2 = 27.35^2 + \dots + 26.63^2 = 8730.597$$

$$n = 12$$

3. Calcular \bar{y} , S y CV

$$\bar{y} = \frac{323.65}{12} = 26.97$$

$$S = \sqrt{\frac{(12 * 8730.597) - (323.65)^2}{12 * (12 - 1)}} = 0.33846$$

$$CV = \frac{0.33846}{26.97} * 100 = 1.25 \%$$

Formulas y procedimiento de cálculo con ejemplo para estabilidad analítica de la muestra

Media aritmética del análisis inicial

$$\bar{y}_0 = \frac{\sum y_0}{n_0}$$

n_0 = numero de muestras del analisis inicial

Media aritmética del análisis de cada condición de almacenaje

$$\bar{y}_i = \frac{\sum y_i}{n_i}$$

n_i = numero de muestras del analisis de la i – esima condicion de almacenaje

Diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición de almacenaje respecto de la media aritmética del análisis inicial

$$|d_i| = |\bar{y}_i - \bar{y}_0|$$

1. Tabular los datos obtenidos

Muestra	% de Recobro			
	Tiempo inicial (y0)	Tiempo 24 h (y1)	Tiempo 48 h (y2)	Tiempo 72 h (y3)
1	100.06	100.12	99.88	98.87
2	98.12	100.08	98.94	98.94
3	98.11	99.75	99.76	99.46

2. Calcular $\sum y_0, \sum y_1, \sum y_2, \sum y_3$ y determinar n_0, n_1, n_2 y n_3

$$\sum y_0 = 100.06 + 98.12 + 98.11 = 296.29$$

$$\sum y_1 = 100.12 + 100.08 + 99.75 = 299.95$$

$$\sum y_2 = 99.88 + 98.94 + 99.46 = 298.58$$

$$\sum y_3 = 98.87 + 98.94 + 99.46 = 297.27$$

$$n_0 = 3$$

$$n_1 = 3$$

$$n_2 = 3$$

$$n_3 = 3$$

3. Calcular temperatura ambiente en oscuridad $\bar{y}_0, \bar{y}_1, \bar{y}_2$ y \bar{y}_3

$$\bar{y}_0 = \frac{296.29}{3} = 98.76$$

$$\bar{y}_1 = \frac{299.95}{3} = 99.98$$

$$\bar{y}_2 = \frac{298.58}{3} = 99.53$$

$$\bar{y}_3 = \frac{297.27}{3} = 99.09$$

4. Calcular $|d_1|$

$$|d_1| = |\bar{y}_1 - \bar{y}_0| = |99.98 - 98.76| = 1.2\%$$

$$|d_2| = |\bar{y}_2 - \bar{y}_0| = |99.53 - 98.76| = 0.76\%$$

$$|d_3| = |\bar{y}_3 - \bar{y}_0| = |99.09 - 98.76| = 0.33\%$$

El valor no excede del 3 %

ANEXO II

El límite unilateral inferior de confianza no excede el valor de 1.

ANEXO 28. TABLA ESTADÍSTICA DE LA DISTRIBUCIÓN t DE STUDENT.

GRADOS DE LIBERTAD	$t_{0.975}$	GRADOS DE LIBERTAD	$t_{0.975}$	GRADOS DE LIBERTAD	$t_{0.975}$
1	12.706	26	2.056	51	2.008
2	4.303	27	2.052	52	2.007
3	3.182	28	2.048	53	2.006
4	2.776	29	2.045	54	2.005
5	2.571	30	2.042	55	2.004
6	2.447	31	2.040	56	2.003
7	2.365	32	2.037	57	2.002
8	2.306	33	2.035	58	2.002
9	2.262	34	2.032	59	2.001
10	2.228	35	2.030	60	2.000
11	2.201	36	2.028	61	2.000
12	2.179	37	2.026	62	1.999
13	2.160	38	2.024	63	1.998
14	2.145	39	2.023	64	1.998
15	2.131	40	2.021	65	1.997
16	2.120	41	2.020	66	1.997
17	2.110	42	2.018	67	1.996
18	2.101	43	2.017	68	1.995
19	2.093	44	2.015	69	1.995
20	2.086	45	2.014	70	1.994
21	2.080	46	2.013	71	1.994
22	2.074	47	2.012	72	1.993
23	2.069	48	2.011	73	1.993
24	2.064	49	2.010	74	1.993
25	2.060	50	2.009	75	1.992

Los grados de libertad (gl) se fijan con base a la fórmula indicada en el subíndice del símbolo de la t de Student.

Datos Requeridos para la Validación de Valoraciones

Extraído de USP 23-NF 18, Capítulo de Información General <1225>, Validación de Métodos Farmacopeicos

Tabla 2. Datos Requeridos para la Validación de Valoraciones.

Parámetro de Desempeño Analítico	Categoría I	Categoría II		Categoría III
		Cuantitativo	Prueba de Límite	
Exactitud	Sí	Sí	*	*
Precisión	Sí	Sí	No	Sí
Especificidad	Sí	Sí	Sí	*
Límite de Detección	No	No	Sí	*
Límite de Cuantificación	No	Sí	No	*
Linealidad	Sí	Sí	No	*
Rango	Sí	Sí	*	*

* Puede requerirse, según la naturaleza de la prueba.

Categoría I - Los métodos analíticos para la cuantificación de los componentes mayoritarios de las materias primas o principios activos (incluyendo preservantes) en productos farmacéuticos terminados, se encuentran bajo la Categoría I.

Categoría II - Los métodos analíticos para la determinación de impurezas en las materias primas o productos de degradación en los productos farmacéuticos terminados, se encuentran bajo la Categoría II. Estos métodos incluyen valoraciones cuantitativas y pruebas de límite.

Categoría III - Los métodos analíticos para la determinación de las características de desempeño (por ejemplo, disolución, liberación de drogas) se consideran bajo la Categoría III.

© Copyright 1997 USPC

M929G