

45
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
"ZARAGOZA"

DESARROLLO Y VALIDACION DE
METODOS DE CUANTIFICACION DE
CAOLIN Y PECTINA EN UNA
SUSPENSION FARMACEUTICA

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
JOSE HERIBERTO TORRES ENRIQUEZ



MEXICO, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1991



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

I N D I C E

	Página
INTRODUCCION.....	VIII
1 GENERALIDADES.....	1
1.1 Caolín.....	1
1.2 Pectina.....	11
1.3 Validación de Métodos Analíticos.....	25
2 FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL TEMA.....	39
3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	41
4 OBJETIVOS.....	44
5 HIPOTESIS.....	44
6 MATERIAL Y METODOS.....	45
6.1 Material, Equipo y Reactivos.....	45
6.2 Métodos.....	47
7 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS.....	51
7.1 Validación de los Métodos Propuestos.....	76
7.2 Discusión de Resultados.....	76
8 CONCLUSIONES.....	78
9 BIBLIOGRAFIA.....	81

INTRODUCCION.

El presente trabajo tiene como finalidad resolver el problema de implementar métodos para cuantificar el contenido de caolin y de pectina en una suspensión desarrollada en un laboratorio farmacéutico, ya que no se contaba con los métodos analíticos para conocer su concentración en el medicamento.

El caolin es una arcilla natural y la pectina es un polisacárido de alto peso molecular; ambos son empleados tradicionalmente en diversas formas farmacéuticas (grageas, tabletas, suspensiones) destinadas al tratamiento de desordenes diarreicos, su acción terapéutica es local y se restringe al tracto gastro-intestinal, son bastante bien tolerados por el organismo, ya que hasta la fecha no se ha reportado que sean tóxicos o que presenten efectos colaterales. En el capítulo 1 (Generalidades), se profundizará más en las propiedades físico-químicas de estas sustancias y se exponen los lineamientos que se emplearan para validar los métodos analíticos propuestos.

Los métodos para la determinación cuantitativa de caolin y de pectina fueron definidos en base a una investigación bibliográfica exhaustiva, varios ensayos experimentales previos y sobre todo considerando los recursos con que disponía el laboratorio en que se realizó el proyecto. En el capítulo 3

(Planteamiento del problema) se proponen dos alternativas para cuantificar caolin y una para pectina, así como las propiedades físico-químicas que se tomaron en cuenta para proponer estos métodos.

En el capítulo 6 (Material y Métodos) se exponen con detalle los métodos propuestos considerando las variables a controlar, los reactivos, material y equipo necesario para realizarlos.

Posteriormente se procedió a validar los métodos analíticos para evaluar estadísticamente su confiabilidad bajo condiciones normales de operación, en el capítulo 7 (Resultados y Discusión de Resultados) se muestran los resultados obtenidos de la validación y se infiere que métodos cumplen con los requerimientos estadísticos de exactitud, precisión, linealidad y reproducibilidad.

Finalmente, en el capítulo 8 se establece en base a los resultados, que objetivos fueron alcanzados y que métodos analíticos serán empleados para cuantificar el caolin y la pectina en la suspensión farmacéutica.

1 GENERALIDADES .

1.1 CAOLIN .

1.1.1 Definición.

La siguiente definición de caolin de Ross y Kerr (1) es probablemente la más aceptada: "por caolin se entiende la roca compuesta esencialmente de un material arcilloso, que es bajo en fierro, generalmente blanco o casi blanco; las arcillas que forman el caolin son silicatos de aluminio hidratados, principalmente caolinita ($2\text{SiO}_2 \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) y se cree que otras sustancias, si es que están presentes representan impurezas o materiales absorbidos".

Dado su origen, el caolin crudo esta acompañado de diversas impurezas químicas como: fierro, magnesio, alcalis y titanio; e impurezas minerales como cuarzo, feldespato, mica, etc. El caolin crudo se debe procesar según el empleo que se le vaya a dar, siendo los caollines de uso farmacéutico los que cumplen las especificaciones de pureza más estrictas.

1.1.2 Estructura y Composición.

La unidad fundamental de la caolinita consta de dos unidades estructurales (estructura 1:1). La primera unidad esta constituida por tetraedros de silicio, cada tetraedro tiene un

átomo de silicio en la posición central, el cual equidista de cuatro átomos de oxígeno, figura 1.

Los tetraedros de silicio comparten tres de sus vértices entre sí, de tal forma que sus cúspides apuntan en una misma dirección y sus bases se encuentran en un mismo plano; los grupos de tetraedros están acomodados en forma de una red hexagonal, la cuál está repetida indefinidamente formando una lámina de sílica, figura 2.

La segunda unidad estructural está formada por átomos de aluminio octaédricamente coordinados por dos oxígenos y un hidroxilo por abajo y por tres hidroxilos por arriba, figura 3. Las unidades octaedrales están acomodadas de tal forma que, en conjunto, dan como resultado una estructura plana, figura 4.

La estructura fundamental de la caolinita está constituida por una sola lámina tetraedral de silicio y una sola lámina de alúmina octaedral, combinadas entre sí en una sola unidad, de tal forma que las cúspides de los tetraedros de silicio y una de las capas de la lámina octaedral forman una capa en común, figura 5.

1.1.3 Clasificación.

De acuerdo a la estructura el caolín se clasifica en cuatro clases distintas:

- a) Caolinita
- b) Nacrita

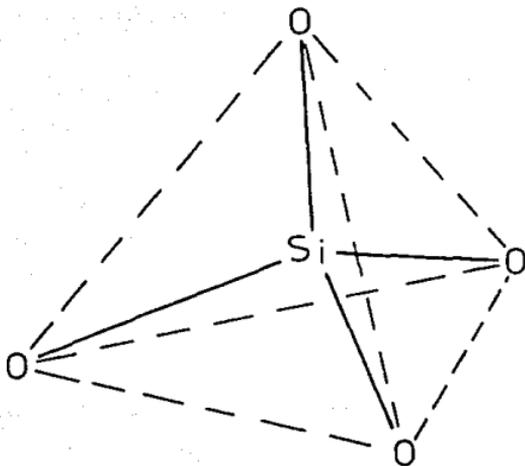


Figura 1. Unidad tetraedral de SiO_4 .

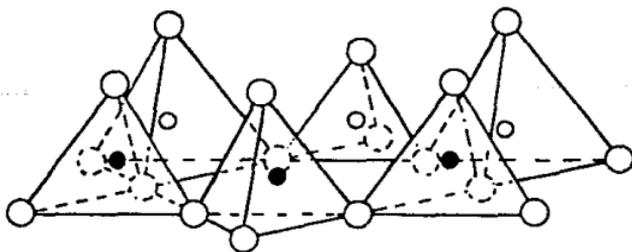


Figura 2. Grupo de tetraedros arreglados formando un hexagono.

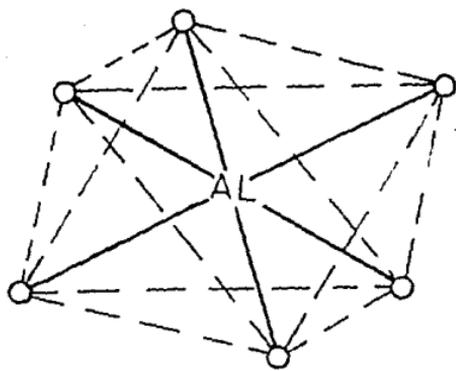


Figura 3. Unidad octaedral simple.

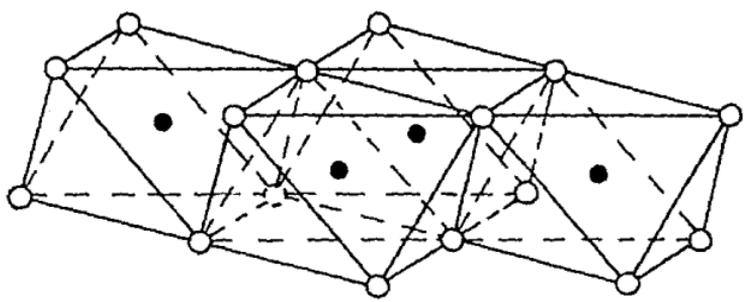


Figura 4. Estructura planar de unidades octaedrales.

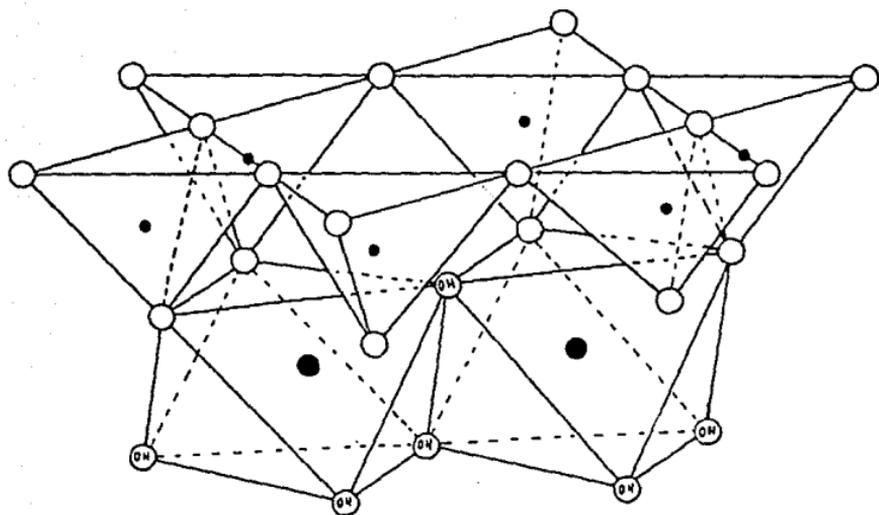


Figura 5. Diagrama de la estructura de una capa de caolinita.

c) Dicrita

d) Haloisita.

Las cuatro clases anteriores tienen la misma fórmula estructural ($2\text{SiO}_2 \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), pero difieren en la forma en que las unidades se agrupan una sobre la otra para formar los cristales. La caolinita es el más abundante de los minerales del caolín, en menor grado le sigue la haloisita, en cambio la nacrita y la dicrita son bastante raras y no forman depósitos comerciales.

1.1.4 Propiedades.

A) Propiedades Físicas.

1. Aspecto: el caolín es un polvo blanco, blanco grisáceo o ligeramente amarillento, cuando se humedece es untuoso al tacto, se oscurece y desprende olor a arcilla, sabor terroso, friable.

2. Solubilidad: insoluble en agua, en ácidos diluidos fríos y en hidróxidos de metales alcalinos.

3. Densidad: de 2.60 a 2.68 g/ml.

4. Punto de Fusión: de 1650 a 1775 °C.

5. Forma Cristalina: cristaliza en masas terrosas formadas por escamitas muy pequeñas de contornos pseudo hexagonales.

6. Área Superficial: 15.5 m²/g.

B) Propiedades Químicas.

1. Fórmula General: $2\text{SiO}_2 \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, por lo tanto su peso molecular es de 258 g/mol: su composición química teórica es la siguiente: sílica 46.53%, alúmina 39.50%, agua 13.96%.

2. El caolín tiene baja capacidad de intercambio catiónico (5 a 15 meq/100 g), su capacidad de intercambio aniónico es también baja (6.6 a 13.3 meq/100 g).

3. Es poco atacable por ácidos y álcalis a temperatura ambiente, pero a temperaturas elevadas estas sustancias producen ruptura del retículo cristalino del mineral.

4. Deshidroxilación, cuando los caolines se calientan, pierden agua estructural a aproximadamente 400 °C y la deshidratación es completa a 550-600 °C, el agua que se pierde cuando el caolín se descompone se deriva de los grupos hidroxilo que son parte integral del enrejado cristalino.

1.1.5 Análisis.

Los métodos más comunes para el análisis cuantitativo del caolín se basan su composición química y consisten en la valoración complejométrica de su contenido de aluminio (reportado como Al_2O_3), la determinación de su contenido de sílice (reportado como SiO_2) y la determinación gravimétrica por ignición de la arcilla.

A) Determinación de Alúmina (Al_2O_3).

El contenido de alúmina como aluminio en caolín generalmente se determina por titulación residual con EDTA y sulfato de zinc; para solubilizar el aluminio de la arcilla se procede inicialmente a modificar la estructura cristalina de la arcilla ya sea por fusión alcalina (con NaOH, KOH, Na_2CO_3 , K_2CO_3 o una mezcla de éstos últimos), o por fusión ácida (con $HCl-H_2SO_4$, $H_2SO_4-HClO_4$, $HCl-HNO_3$). Zemlyanitzuin, German-Geanata, Nazarenko-Pavlova y Werner proponen métodos de análisis de caolín que incluyen como paso inicial fusión alcalina (2-5). En tanto Babko, Dempir y Simoni proponen la fusión ácida como paso inicial para el análisis de la arcilla (6-8).

B) Determinación de Silica (SiO_2).

El contenido de silica en caolín se determina generalmente por métodos gravimétricos y se desprende del método anterior para cuantificar aluminio, la porción insoluble del producto de fusión se recupera por filtración, se incinera y se pesa, de esta forma se calcula el contenido de SiO_2 en el caolín. Tsybulovskii (9) y algunos autores del inciso anterior cuantifican el caolín por este método.

C) Determinación Gravimétrica de Caolín.

Atkins (10), basándose en las propiedades físico-químicas de esta arcilla propone un método gravimétrico para cuantificar caolín en cosméticos.

1.1.6 U s o s .

A) Usos Generales.

1. Industria Papelera. es usado como relleno para dar consistencia, peso y para recubrir la superficie del papel en el proceso de satinado, proporcionándole un acabado brillante y liso.

2. Cerámica. en la manufactura de porcelana, loza blanca y refractarios, así como en la fabricación de tabiques, tejas y cántaros.

3. Hule. el caolin se usa como material de relleno en la industria de los plásticos y gomas, proporcionandoles propiedades reforzantes, aumentando su resistencia a la tensión.

4. Industria Textil. el caolin se usa junto con otros aprestos para darle peso y consistencia a la tela.

5. Industria Petrolera. el caolin junto con otros minerales es empleado como catalizador en la manufactura de gasolina.

6. Pesticidas. es empleado como diluyente y soporte en la fabricación de pesticidas para eliminar plagas en la agricultura y en la ganaderia.

7. El caolin es empleado también entre otros por las industrias de cosméticos, pinturas y adhesivos.

B) Usos en la Industria Farmacéutica.

1. Por muchos años el caolín se ha usado en la terapéutica intestinal por medio de preparaciones adsorbentes para combatir la irritación intestinal. El caolín actúa adsorbiendo toxinas y bacterias que son responsables de la diarrea, vómito, náuseas y calambres en este tipo de desórdenes. El caolín como adsorbente para el tratamiento de diarreas puede encontrarse en forma farmacéutica de tabletas, grageas y suspensiones.

2. El caolín es usado en la Industria Farmacéutica como excipiente en la fabricación de comprimidos y grageas, ya que confiere a estos productos dureza y consistencia.

3. El caolín también se emplea en la fabricación de pastas, ungüentos y lociones para uso externo en el tratamiento de inflamaciones cutáneas.

1.2 Pectina.

1.2.1 Definición.

Pectina, es un término general para un interesante grupo de polisacáridos que se encuentran en las paredes celulares y las capas intercelulares de todas las plantas terrestres fotosintéticas, donde en combinación con celulosa y/o almidón actúan como cemento intracelular. Las pectinas comerciales están formadas de una gran proporción de ácido D-galacturónico de variable contenido de grupos metilester, son solubles en agua y forman geles bajo condiciones adecuadas.

La cantidad y composición de la pectina contenida en un material vegetal, varía de una planta a otra. Los frutos cítricos y las manzanas son los que principalmente se utilizan como materia prima en la manufactura de pectinas comerciales.

Las pectinas comerciales son producidas y vendidas como polvo seco o como soluciones acuosas concentradas.

1.2.2 Estructura y Composición.

La pectina, es un polisacárido esencialmente lineal que contiene de unos cientos a unos mil bloques estructurales con configuración semejante a una cadena, es una estructura heterogénea bastante compleja cuya composición varía con la fuente y las condiciones usadas en su aislamiento.

La pectina es considerada para fines prácticos como un polímero de ácido D-galacturónico, pero es en realidad una triada de polisacáridos: un galacturonano, un arábano y un galactano (aunque también se han hallado trazas de ramnosa, xilosa y otros azúcares neutros), de los cuales el componente central o principal es el galacturonano.

La estructura y composición de los polisacáridos que forman la pectina se muestran a continuación.

A) Galacturonano, es el principal componente de la pectina, es un polímero lineal cuyas unidades son el ácido alfa-D-galacturónico en configuración piranosa (figura 6). Las unidades de ácido galacturónico están ligadas unas a otras por enlaces $\alpha(1\rightarrow4)$ glicosídicos formando una estructura semejante a una cadena (figura 7). Los grupos carboxilo del ácido poligalacturónico están en mayor o en menor grado esterificados con grupos metoxilo y los grupos ácidos libres pueden estar parcial o totalmente neutralizados con iones sodio, potasio o amonio.

Las propiedades gelificantes de la pectina se deben completamente o casi en su totalidad al galacturonano metilesterificado, por lo cual la pectina para propósitos prácticos puede considerarse como un homopolímero de un galacturonano.

B) Arábano, es un polímero ramificado compuesto de unidades de L-arabinosa en configuración furanosa (figura 8).

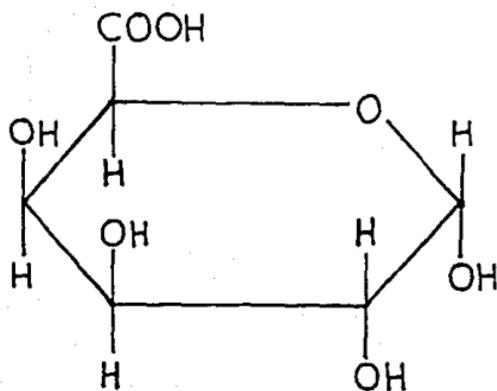


Figura 6. Acido α -D-Galacturónico.

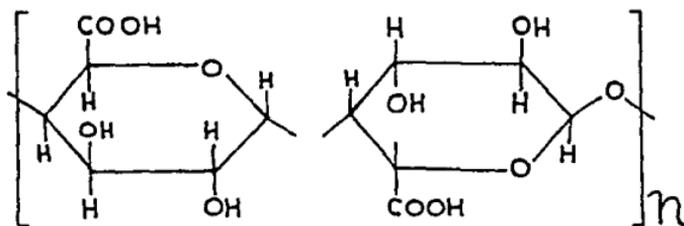


Figura 7. Representación básica del Acido Pectico.

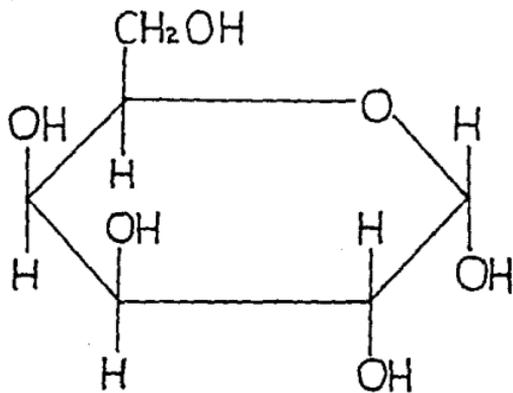


Figura 8. α -D-Galactosa, unidad estructural del galactano.

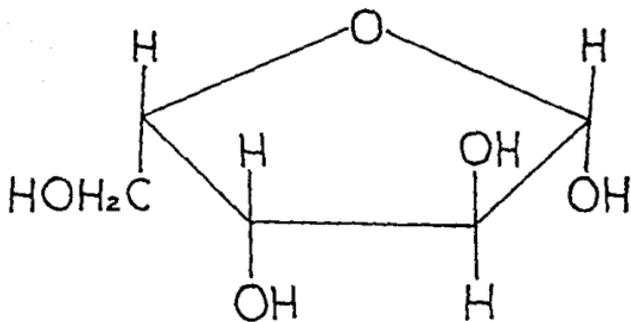
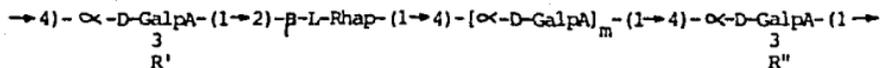


Figura 9. Arabinosa, unidad estructural del arabano.



Donde:

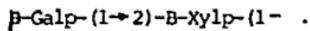
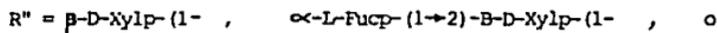
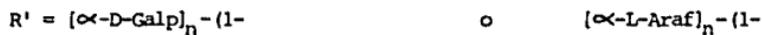


Figura 10. Estructura general de la pectina (como ácido pectico).

El arábano consiste de una cadena principal de unidades de L-arabinofuranosilos unidos por enlaces $\alpha(1 \rightarrow 5)$, a la cual estan ligadas por enlaces $\alpha(1 \rightarrow 3)$ cadenas laterales de L-arabinofuranosilos.

C) Galactano, es un polímero lineal formado de unidades de D-galactosa en conformación piranosa (figura 9) unidas por enlaces $\alpha(1 \rightarrow 4)$, con quizá algunas unidades de L-ramnosa unidas en posiciones indefinidas.

Las cantidades de arábano, galactano y azúcares neutros en las pectinas comerciales son generalmente de bajo orden por su ruptura y eliminación durante los pasos de manufactura.

La estructura más generalizada para la pectina (como ácido péctico) se da en la figura 10.

1.2.3 Clasificación.

Las pectinas se clasifican en base a su grado de esterificación, que se define como la proporción de ácido galacturónico esterificado con grupos metoxilo en relación al total de ácido galacturónico.

El grado de esterificación tiene influencia vital en las propiedades de la pectina, esencialmente en la solubilidad y en las propiedades gelificantes.

La clasificación más simple de estas sustancias considera solo dos clases de pectinas:

- a) Pectinas Regulares o pectinas con alto contenido de

grupos metoxilo (HMP), son pectinas con un grado de esterificación mayor del 50 % que requieren alto contenido de azúcar (más del 55 % en peso) y pH ácido (aproximadamente de 3) para gelificar.

b) Pectinas con bajo contenido de grupos metoxilo (LMP), tienen un grado de esterificación menor del 50 %, requieren de calcio para gelificar y no es necesaria la presencia de azúcar y/o pH ácido para que gelifiquen.

1.2.4 Propiedades.

Las propiedades físicas y químicas de las sustancias pécticas están íntimamente relacionadas a su estructura y más específicamente a la presencia de grupos carboxilo, a su grado de esterificación, peso molecular y longitud de la cadena como se verá a continuación:

a) Peso Molecular Promedio, varía de 20 000 a 400 000 dependiendo de su origen, método de preparación y método de medición empleado.

b) Color, una pectina comercial puede variar de blanco cremoso a café claro para una pectina precipitada con etanol, o algunas veces amarillo verdoso si es precipitada con sales de aluminio.

c) Humedad, las pectinas comerciales absorben agua en la mayoría de las condiciones climáticas, su contenido de agua en el equilibrio es de aproximadamente 10 %.

d) Solubilidad. las pectinas son en general solubles en agua e insolubles en etanol diluido y en otros solventes orgánicos, aunque se hincha y se disuelve en algún grado en los solventes orgánicos más polares como formaldehído, N-N-dimetilformamida y metilsulfóxido.

La solubilidad generalmente aumenta al disminuir el peso molecular y aumentar el contenido de grupos metilester, aunque la temperatura, el pH, el tipo y la concentración de las sales presentes u otras sustancias orgánicas como el azúcar tienen un marcado efecto en la solubilidad.

e) Viscosidad, ya que las pectinas son moléculas lineares de alto peso molecular, producen soluciones con viscosidades muy altas. Así como la solubilidad, la viscosidad es proporcional al grado de esterificación.

La viscosidad como es de esperarse, es proporcional a la concentración y a los cambios de temperatura; el pH también influye en la viscosidad de las soluciones de pectina.

La viscosidad se determina a pH de 4, en soluciones libres de cationes y a temperatura constante; la adición de cationes monovalentes como sodio y potasio reducen la viscosidad, los cationes di o trivalentes de sales solubles, por ejemplo: calcio, bario, aluminio, etc., incrementan la viscosidad al aumentar su concentración.

f) Estabilidad de las Soluciones de Pectina y

Desesterificación Total de Pectina.

En la mayoría de las reacciones que la pectina sufre en solución tiende a ser degradada, se ha demostrado experimentalmente que la máxima estabilidad de las soluciones de pectina es a pH de 4. A valores mayores o menores de pH la viscosidad disminuye como resultado de la desesterificación y depolimerización.

Por desesterificación total de la pectina se forma ácido péctico (pectina libre de grupos metilester), un método común para obtener ácido péctico consiste en ajustar a pH de 12 una solución de pectina y mantenerla a 25 °C por una hora (se forma pectato de sodio). El ácido péctico se obtiene acidificando la solución a pH de 1.5 y precipita como un gel firme que puede ser lavado con etanol para eliminar el ácido mineral.

El ácido péctico y sus sales di o trivalentes (pectatos de calcio o aluminio, por ejemplo), son insolubles o casi insolubles en agua, en cambio las sales monovalentes como el pectato de sodio o de potasio son muy solubles en agua y dan soluciones claras.

1.2.5 Análisis

Los principales métodos para la estimación cuantitativa de pectina son los siguientes:

A) Métodos Gravimétricos.

La precipitación directa de la pectina por solventes orgánicos seguida por pesada del material seco, fué empleada por Cambell. Asiya y más recientemente por Kaminskaya et. al., pero este método es muy poco usado ya que interfieren sustancias coloidales insolubles en solventes orgánicos, lo cual produce generalmente resultados muy altos, (11-13).

Carré y Haynes desesterificaron la pectina a pectato de sodio y precipitaron el material como pectato de calcio y ya seco lo determinaron por peso, (14).

B) Métodos por Descarboxilación.

Es un proceso ampliamente usado para medir el contenido de galacturonano, consiste en descarboxilar la pectina en solución con ácido clorhídrico al 19 % a temperatura de ebullición, el CO₂ formado se colecta en una solución estandarizada de hidróxido de sodio, una vez terminada la reacción el exeso de hidróxido de sodio se titula con solución estandarizada de ácido clorhídrico. La modificación más importante de este método es la propuesta por Mc Cready et. al. (15) y es la comúnmente empleada para este tipo de determinaciones.

El método de descarboxilación aunque se considera uno de los más confiables consume mucho tiempo, además la presencia de carbonatos y ácidos orgánicos causan interferencia en la

determinación, no interfieren ni el amoniaco ni las sales minerales.

C) Métodos Colorimétricos.

Por la facilidad de determinación de las sustancias pécticas por reacciones de color, son los métodos preferidos para su análisis.

El método más conocido utiliza carbazol como reactivo de desarrollo de color, en terminos generales el método consiste en hidrolizar la pectina con ácido sulfúrico concentrado y calor con posterior reacción con carbazol para producir un compuesto colorido. El método fué propuesto entre otros por Stark; Mc Cready-Mc Comb; Mc Comb-Mc Cready (16-18).

Bitter y Muir modificaron la reacción agregando borato, para aumentar la estabilidad del color y reducir la interferencia de lónes. Alacheva y Filippov establecen que la urea tiene el mismo efecto estabilizador que el borato, (19, 20). Otros reactivos empleados para determinar pectina por reacción de color son: anilina, empleada por Silin-Silina y por Bryant et. al.; antrona, empleada por Suyama-Tsusaka; dinitrosalicilato, empleado por Pzosa-Hajnal y por Polacsek-Pacz; m-hidroxifenilo, empleado por Robertson y ácido 2-tiobarbitúrico empleado por Wedlock et. al. (21-27).

D) Metodos Cromatográficos.

Diversas técnicas cromatográficas han sido

desarrolladas recientemente para la determinación cuantitativa de pectina, de las cuales se pueden mencionar las siguientes:

Mizote et. al., Stromeyer-Linow y Anderson desarrollaron respectivamente métodos de cromatografía de gases para determinar sustancias pécticas, (28-30).

Souty et. al., Forni et. al. y Voragen et. al., desarrollaron respectivamente diversos métodos de cromatografía de líquidos a alta presión, (31-33).

Finalmente Ford (34), desarrolló un método por cromatografía gas-líquido.

E) Métodos por Titulación Conductimétrica.

Los métodos conductimétricos para la determinación cuantitativa de pectina son también de reciente aparición y se basan en los fundamentos que tienen las titulaciones ácido-base, es decir, la titulación de los grupos carboxilo de la sustancia péctica con solución diluida de hidróxido de sodio. A grandes rasgos el método consiste en desesterificar la pectina con hidróxido de sodio al 40% para obtener pectato de sodio, el cual es convertido en ácido péctico por adición de ácido clorhídrico concentrado, finalmente por titulación conductimétrica con solución valorada de hidróxido de sodio se neutralizan el ácido residual y se determina el contenido de ácido péctico en la muestra.

Turdakova et. al. (35, 36) y Shelukina et. al. (37, 38) son los principales autores de éste método.

1.2.6 U s o s .

A) Alimentos.

1. Producción de jaleas, mermeladas y conservas de frutas, empleada como agente gelificante para complementar la pectina de la fruta misma.

2. Jugos de fruta y bebidas concentradas de fruta, la pectina es usada en estos casos, como suspensor de pulpa y estabilizador de emulsiones de aceite.

3. En productos lácteos, como leches malteadas, bebidas de cocoa, productos fermentados de leche y yoghurts, la pectina estabiliza los productos de leche previniendo su coagulación aún durante el proceso de pasteurización.

4. Otros usos como: emulsificante en la preparación de mayonesas, aderezos para ensaladas, salsas, pure de tomate, saborizantes emulsificados, estabilizador de natillas, helados, merengues y otros productos de repostería.

B) Aplicaciones en Productos Farmacéuticos.

1. Adsorbente, uno de los más antiguos y más ampliamente conocidos usos de la pectina es, el tratamiento de los desórdenes diarreicos, para lo cual ha sido recomendada domésticamente por centurias. Las suspensiones, polvos o tabletas contienen frecuentemente una mezcla de caolín y pectina y algunas veces un antibiótico.

2. La pectina en combinación con gelatina ha sido

sugerida para uso como agente encapsulante de ciertos antibióticos, hormonas, sulfas y analgésicos para promover su liberación sostenida.

3. Demulente, en combinación con la aspirina minimiza la irritación gastrointestinal notada algunas veces durante la administración de este medicamento.

4. La pectina es frecuentemente usada como sustituto de la goma arábica para hacer pastillas de goma.

5. La pectina es utilizada en varias preparaciones farmacéuticas líquidas por su capacidad para dar viscosidad y estabilizar emulsiones y suspensiones.

1.3 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS, (39-41).

La Industria Farmacéutica esta especialmente interesada en la validación de métodos analíticos debido al gran incremento de nuevos productos que tienen que ver con la salud y que requieren de métodos de análisis apropiados.

Una parte integral del desarrollo de un método analítico es la validación del mismo, es decir, el método debe probarse para determinar su confiabilidad y reproducibilidad. La validación generalmente incluye una evaluación de la exactitud, linealidad y precisión (repetibilidad y reproducibilidad), proporcionando de esta manera una medida del comportamiento del método.

La validación del método puede definirse como el proceso por el cual queda establecido, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas.

La técnica clásica para validar una metodología analítica es analizar muestras que son similares en todos los aspectos a las muestras en que se aplicará el método y comparar los resultados con los esperados.

El proceso de validación de un método en particular esta basado en principios estadísticos adecuados y ha sido optimizado para propósitos prácticos de medición.

Los parámetros de validación que se evaluarán en el

presente trabajo de tesis son los anteriormente mencionados: exactitud, linealidad y precisión (repetibilidad y reproducibilidad), la especificidad no se incluye pero se sabe por trabajos posteriores que los métodos propuestos son específicos.

1.3.1 Exactitud.

Exactitud, es el grado de concordancia entre un valor determinado experimentalmente y un valor real de referencia.

Se expresa como el por ciento de recobro obtenido del análisis de muestras a las que se les ha adicionado cantidades conocidas de la sustancia en estudio.

La exactitud puede variar con las posibles concentraciones, sin embargo para fines prácticos el rango de concentración al que se determina es del 85 al 115 % del valor teórico esperado, ya que en ese rango cercano al punto de interés del investigador (100 %) es fácil detectar las variaciones en el por ciento de recobro del método bajo estudio. En el presente trabajo se seguirá ese criterio, se prepararán en cantidad suficiente 6 muestras de cada por ciento escogido: el 100 %, una concentración inferior (85 %) y una concentración superior (115 %); 18 datos en total.

Las muestras se analizarán según el método bajo estudio y los resultados se tratarán de la siguiente manera.

a) Los datos se tabularán conforme al formato mostrado en la

tabla 1.

T A B L A I

NO. DE MUESTRA	NIVEL DE CONCENTRACION	mg. ADICIONADOS	mg. RECUPERADOS	% RECOBRO
1		-----	-----	-----
2		-----	-----	-----
3	85 %	-----	-----	-----
4		-----	-----	-----
5		-----	-----	-----
6		-----	-----	-----

7		-----	-----	-----
8		-----	-----	-----
9		-----	-----	-----
10	100 %	-----	-----	-----
11		-----	-----	-----
12		-----	-----	-----

13		-----	-----	-----
14		-----	-----	-----
15		-----	-----	-----
16	115 %	-----	-----	-----
17		-----	-----	-----
18		-----	-----	-----

b) Calcular la media del por ciento de recuperación (\bar{x}), la desviación estandar del por ciento de recuperación (s) y su coeficiente de variación (CV).

Criterio: El CV dependora del tipo de método como se indica a continuación.

Método:	CV:
Cromatográficos	2 %
Químicos y Espectrofotométricos	3 %
Microbiológicos	5 %

- c) Calcular el intervalo de confianza (IC) para el por ciento de recobro con la siguiente ecuación.

$$IC = \bar{X} \pm t(n-1, 0.975)(s/\sqrt{n}).$$

Donde: $t(n-1, 0.975)$ = Valor de la "t" de Student de dos extremos o bilateral, con $n-1$ grados de libertad y una probabilidad acumulada de 0.975.

Criterio: El IC para la media debe incluir el 100 %.

- d) Calcular el valor de la "t" experimental con la siguiente ecuación.

$$t_{\text{exp}} = \frac{\bar{X} - \mu}{s / \sqrt{n}}$$

Comparar el valor de t_{exp} contra el valor de $t(n-1, 0.975)$ de tablas (distribución "t" de Student, prueba de dos extremos o bilateral).

Deseamos verificar la hipótesis nula de modo que:

Hipotesis nula, H_0 : $\mu = 100 \%$.

Hipotesis alternativa, H_1 : $\mu \neq 100 \%$.

Criterio: El método se considera exacto si:

$$P[-t(n-1, 0.975) < t_{\text{exp}} < +t(n-1, 0.975)].$$

1.3.2 Linearidad.

La linealidad de un método analítico es su habilidad para asegurar que los resultados analíticos, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un rango determinado. Usualmente se expresa en términos de la varianza alrededor de la pendiente de la línea de regresión calculada de acuerdo a una relación matemática establecida, a partir de los resultados analíticos obtenidos al analizar muestras conteniendo concentraciones variables de la sustancia.

Se determina con placebos adicionados del principio activo (placebos cargados), cada uno de manera independiente, cuando menos a tres diferentes concentraciones incluyendo el 100 %. La amplitud del estudio dependerá del uso y aplicaciones del método y preferentemente deberá llevarse a cabo por el mismo analista en las mismas condiciones de operación.

Se emplearán los resultados obtenidos en la exactitud del método y los resultados se tratarán de la siguiente manera:

1. Tabular los resultados en base al formato de la tabla II. Para realizar los siguientes cálculos, es necesario que el número de replicaciones por cada nivel de concentración sean equivalentes.

T A B L A II

NO. DE MUESTRA	NIVEL DE CONCENTRACION	% ADICIONADO	% RECUPERADO
1		----	----
2		----	----
3		----	----
4	85 %	----	----
5		----	----
6		----	----

7		----	----
8		----	----
9	100 %	----	----
10		----	----
11		----	----
12		----	----

13		----	----
14		----	----
15	115 %	----	----
16		----	----
17		----	----
18		----	----

2. Cálculos Preliminares.

a) Calcular la suma de las "x".

$$\Sigma x = x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n.$$

b) Calcular la suma de las "y".

$$\Sigma y = y_1 + y_2 + y_3 + \dots + y_n.$$

c) La suma de cuadrados de las "x" .

$$\sum x^2 = x_1^2 + x_2^2 + x_3^2 + \dots + x_n^2 .$$

d) La suma de cuadrados de las "y" .

$$\sum y^2 = y_1^2 + y_2^2 + y_3^2 + \dots + y_n^2 .$$

e) La suma del producto de "x" por "y" .

$$\sum xy = x_1y_1 + x_2y_2 + x_3y_3 + \dots + x_ny_n .$$

f) Calcular $N = (\text{No. de Niveles de Concentración})(\text{No. de Repeticiones})$.

$$\text{En este caso } N = (3)(6) = 18 .$$

3. Cálculos Finales.

$$\text{Pendiente (m)} = \frac{N(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{N(\sum x^2) - (\sum x)^2}$$

$$\text{Ordenada al Origen (b)} = \frac{(\sum y) - m(\sum x)}{N}$$

$$\text{Coeficiente de Regresión (r)} = \frac{[N(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)]^2}{[N(\sum x^2) - (\sum x)^2][N(\sum y^2) - (\sum y)^2]}$$

Criterio: El método se considera lineal si $m \approx 1$, $b \approx 0$,
 $r^2 \geq 0.98$. (ver figura 11).

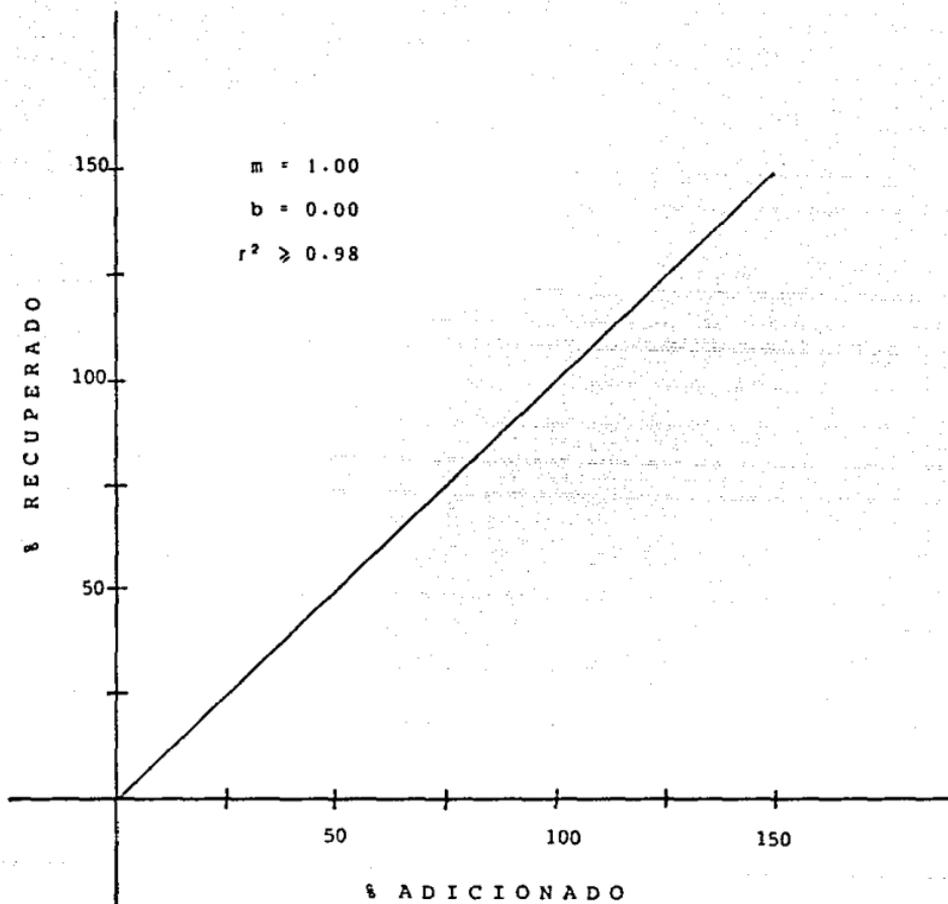


Figura 11. Linearidad de un Método.

1.3.3 Precisión.

La precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestreos de una muestra homogénea del producto.

La precisión es una medida del grado de reproducibilidad y/o repetibilidad del método analítico bajo las condiciones normales de operación.

A) Repetibilidad, es la precisión de un método analítico expresado como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas por un solo analista, usando los mismos aparatos y técnicas.

Como la repetibilidad refleja el grado de variabilidad de la respuesta, usualmente se expresa en términos de la desviación estándar o el coeficiente de variación.

Procedimiento para evaluar la repetibilidad:

1. Se analiza por sextuplicado la muestra bajo estudio con un 100 % de contenido de principio activo.

2. Se tabulan los resultados de acuerdo al formato mostrado en la tabla III.

3. Calcular la media (\bar{x}) y la desviación estándar (s) del por ciento de recuperación.

4. Calcular el coeficiente de variación (CV):

$$CV = \frac{s}{\bar{x}} \cdot (100).$$

Criterio: Si el CV es menor o igual al 2 % el método se considera preciso (repetible).

T A B L A III

NO. DE MUESTRA	mg. ACONDICIONADOS	mg. RECUPERADOS	RECOBRO (%)
1	-----	-----	-----
2	-----	-----	-----
3	-----	-----	-----
4	-----	-----	-----
5	-----	-----	-----
6	-----	-----	-----

B) Reproducibilidad.

Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia entre determinaciones realizadas por diferentes analistas, en diferentes días, en el mismo o en diferentes laboratorios, utilizando el mismo o diferentes equipos.

Se determina analizando el mismo lote por triplicado, por dos químicos diferentes en dos días diferentes o en otro equipo, los resultados se evalúan por análisis de varianza.

El modelo estadístico que expresa la reproducibilidad de un método analítico, es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \bar{x} + A_1 + D_{j(1)} + E_{k(1j)}$$

En este modelo matemático como se verá a continuación se consideran las posibles fuentes de variación que afectan la variable de respuesta bajo estudio, es decir, el recobro de principio activo obtenido por el método propuesto (representado por Y_{ijk}). \bar{x} representa la media del recobro; A_i representa el efecto del i-ésimo analista en el manejo de la muestra; $D_{j(i)}$ representa el efecto del i-ésimo analista anidado en el j-ésimo día y $E_{k(ij)}$ es el error experimental global.

Por lo tanto la variable de respuesta Y_{ijk} se puede definir como: el recobro obtenido en la k-esima muestra en el j-ésimo día por el i-ésimo analista (ver tabla IV).

En el caso particular de este modelo estadístico los valores máximos de "i", de "j" y de "k" son:

i = 1, 2 ya que el método será probado por dos analistas diferentes.

j = 1, 2 el método será probado en dos días diferentes.

k = 1, 2, 3 ya que cada analista hará el análisis por triplicado por día.

Procedimiento para evaluar la reproducibilidad.

1. Tabular los resultados conforme al formato mostrado en la tabla IV.

2. Calcular la suma de las siguientes combinaciones.

a) Analista-día (Y_{ij}): $Y_{11} \cdot Y_{12} \cdot Y_{21} \cdot Y_{22}$.

- b) La suma para cada analista ($Y_{1..}$): $Y_{1..} + Y_{2..}$.
- c) La suma total de los datos ($Y_{...}$).
- d) La suma de cada dato elevado al cuadrado ($\sum \sum \sum Y_{ijk}^2$).

T A B L A I V

	ANALISTA 1	ANALISTA 2
DIA 1	----- ----- -----	----- ----- -----
DIA 2	----- ----- -----	----- ----- -----

3. Calcular la suma de cuadrados del analista (SCA), con la siguiente ecuación:

$$SCA = \frac{(\sum Y_{1..}^2)}{6} - \frac{(Y_{...})^2}{12}$$

4. Calcular la suma de cuadrados del día (SCD) con la siguiente fórmula:

$$SCD = \frac{(\sum \sum Y_{jj.}^2)}{3} - \frac{(\sum Y_{1..}^2)}{6}$$

5. Calcular la suma de cuadrados del error (SCE) con la siguiente fórmula:

$$SCE = (\sum \sum \sum Y_{ijk}^2) - \frac{(\sum \sum Y_{jj.}^2)}{3}$$

6. Construir la tabla de Análisis de Varianza como se indica a continuación, tabla V.

T A B L A V

FUENTE DE VARIACION (FV)	GRADOS DE LIBERTAD (GL)	SUMA DE CUADRADOS (SC)	CUADRADO MEDIO (CM)	F_{exp}	$F(n_1, n_2, 0.975)$
Analista {A ₁ }	(a-1) = 1	SCA	$\frac{SCA}{GLA}$	$\frac{CMA}{CMD}$	$F(1, 8, 0, 975)$
D i a {D _{j(i)} }	(d-1)a = 2	SCD	$\frac{SCD}{GLD}$	$\frac{CMD}{CME}$	$F(2, 8, 0, 975)$
Error {E _{k(ij)} }	(r-1)ab = 8	SCE	$\frac{SCE}{GLE}$	---	-----

Donde: 1) "a" es el máximo valor de "i"; "b" es el máximo valor de "j" y "r" es el máximo valor de "k".

2) GLA, GLD, GLE = son respectivamente los grados de libertad para el Analista, el Día y el Error.

3) CMA, CMD, CME = son respectivamente el cuadrado medio del Analista, del Día, y del Error.

4) $F(n_1, n_2, 0.975)$ = es el valor de la distribución F, obtenido de tablas, con n_1 y n_2 grados de libertad y con una probabilidad acumulada de 0.975.

7. Determinar el Cuadrado Medio del Analista, del Día y

del Error, realizando los cocientes que se indican en la tabla de Análisis de Varianza.

8. Determinar el valor de "F" experimental para el Analista y para el Día, realizando los cocientes que se indican en la tabla V.

9. Obtener de las tablas de distribución "F", el valor de $F(n_1, n_2, 0.975)$ para el Analista ($n_1=1, n_2=8$) y para el Día -- ($n_1=2, n_2=8$) con una probabilidad acumulada de 0.975.

Deseamos contrastar la hipótesis nula de que no hay diferencia en las medias de los recobros de principio activo obtenidos por dos analistas diferentes en dos días diferentes con el método analítico propuesto.

La hipótesis alternativa consistirá por lo tanto en que, si se encontrara diferencia en las medias de recobro de principio activo:

Hipótesis Nula, $H_0: \mu_1 = \mu_2$

Hipótesis Alternativa, $H_1: \mu_1 \neq \mu_2$

Criterio: El método se considera reproducible si la F_{exp} es menor o igual a $F(n_1, n_2, 0.975)$.

2 FUNDAMENTACIÓN DE LA ELECCIÓN DEL TEMA.

La diarrea, es una evacuación intestinal frecuente, líquida, abundante e informe a intervalos más o menos cortos. Muchas veces las evacuaciones se acompañan de retortijones, náuseas, vómitos, dolor abdominal, falta de apetito, sed y ocasionalmente de sangre y pus en las deyecciones.

Entre las principales causas de este tipo de trastornos se pueden citar: factores infecciosos producidos por bacterias (E. coli, K. neumoniae, Salmonella, etc.), hongos (Candida albicans principalmente), parásitos (Entamoeba histolytica, Giardia lamblia, etc.), factores no infecciosos como intolerancia a algún alimento (irritante, descompuesto o algún tipo de alergia) y desórdenes psíquicos (tensión nerviosa, ansiedad, etc.).

En todos los casos clínicos de diarrea se recomienda el uso de adsorbentes, ya que producen un rápido alivio sintomático y en caso de ser necesario se prescribe conjuntamente el uso de antimicrobianos o antiparasitarios específicos. Entre los adsorbentes más comúnmente empleados para el tratamiento de desórdenes diarreicos se pueden mencionar: el caolín, la pectina, el carbón activado, la atapulguita y el subnitrito de bismuto; de los anteriores la mezcla de caolin-pectina (forma farmacéutica de suspensión o tabletas) es la más usualmente empleada.

En el caso particular de la mezcla de caolín-pectina, que es la base de este proyecto, se conjugan las siguientes propiedades que le confieren la calidad de antidiarreico.

a) Protector, la pectina además de actuar como adsorbente cubre las mucosas intestinales evitando su contacto con las sustancias irritantes.

b) Absorbente, el caolín es capaz de adsorber o fijar en su superficie bacterias, toxinas y gases, facilitando su eliminación.

c) Arrastre Mecánico, favorece la formación de heces consistentes y la evacuación de los factores causales de la diarrea.

Con lo anterior se logra el alivio sintomático, es decir, disminuye el número de evacuaciones hasta normalizarse, se evita la deshidratación y por lo tanto, desaparecen las molestias implícitas en este desorden.

Las estadísticas internacionales (año 1985) indican que en los países Latino Americanos, las diarreas y enteritis ocupan uno de los primeros lugares entre las causas de mortalidad en las comunidades que no han superado el saneamiento del medio, ni la elevación económica, social y cultural de su población.

Según datos de la Dirección General de Estadística, S.P.P., año 1985 (42), las diarreas y enteritis constituyen en promedio el 13 % anual de todas las defunciones registradas en

la Republica Mexicana, de las defunciones debidas a esta causa aproximadamente el 70 % ocurre en menores de 14 años.

3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El proposito del presente trabajo es el desarrollo y validación de métodos de cuantificación de caolin y de pectina en una suspensión farmacéutica, aplicables a este medicamento tanto en las fases de granel como de producto terminado.

En base a la revisión bibliográfica realizada previamente y considerando la disponibilidad de reactivos, de material y de equipo en el laboratorio en que se realizó el presente trabajo, se proponen los siguientes métodos para cuantificar caolin y pectina.

En el caso del caolin, para su análisis se proponen dos alternativas.

A) Determinación de Caolin por Titulación Complejométrica.

El caolin, es un silicato de aluminio hidratado en estado puro (ver secciones 1.1.1 y 1.1.4), tomando en cuenta esta característica y lo expuesto en la sección 1.1.5 (Análisis), puede cuantificarse en base a su contenido de aluminio por titulación con EDTA. Como los caolines empeados en la industria

Farmacéutica para uso interno cumplen con especificaciones estrictas de pureza, se consideró factible cuantificarlo en la suspensión farmacéutica en base a este método.

A grandes rasgos el método consistirá en destruir por ignición la materia orgánica de la suspensión con posterior fusión alcalina de la arcilla con una mezcla de carbonato de sodio y carbonato de potasio como lo propone Werner (5), el residuo de fusión se acidifica (con ácido clorhídrico) para obtener el ión aluminio III, el cual se valora por un método farmacopeico común (42) con soluciones valoradas de EDTA y sulfato de zinc, usando ditizona como indicador, finalmente por cálculos se expresará el contenido de aluminio como caolín presente en la suspensión.

B) Determinación Gravimétrica de Caolín.

El caolín por ser una arcilla inorgánica es bastante estable a diversas condiciones como se describió en la sección 1.1.4 (Propiedades), simplemente entre 550 y 600 °C se deshidrata completamente y funde entre 1650 y 1775 °C, tomando en cuenta esas propiedades se puede pensar en determinarlo cuantitativamente en la suspensión de una manera rápida y fácil por un método gravimétrico como el propuesto por Atkins (10); en términos generales el método consistirá en tomar una muestra de suspensión en un crisol tarado, destruir por ignición la materia orgánica a altas temperaturas (± 800 °C) con mechero y finalmente en mufla, enfriar, pesar, y determinar por diferencia

de pesos la cantidad de caolin presente en la muestra inicial.

Para el análisis de pectina se propone solo un método (por la disponibilidad de equipo y reactivos ya mencionada):

Valoración de Pectina como Acido Péctico.

La pectina es un polisacárido de alto peso molecular compuesto de ácido galacturónico, además como se expuso en la sección 1.2.4 (Propiedades) los grupos carboxilo de esta sustancia están parcialmente esterificados con grupos metoxilo que pueden ser eliminados de la molécula por hidrólisis alcalina y con posterior acidificación se puede obtener ácido péctico.

Turdakova et. al. y Shelukina et. al. (36, 37) desarrollaron un método de titulación para cuantificar pectina como ácido péctico en extractos vegetales y jugos de frutas, ver sección 1.2.5 (E).

El método propuesto para cuantificar pectina en la suspensión farmacéutica se basa en el desarrollado por estos autores, con la diferencia de que una vez aislada la pectina y convertida en ácido péctico se determinará por titulación potenciométrica (y no por titulación conductimétrica como lo indica la referencia original), con un titulador automático (Mettler Memotritator DL 40 RC), programado a las siguientes condiciones:

Capacidad de la bureta: 10 ml.

Titulante: Hidróxido de Sodio 0.1 N.

Electrodo: Electrodo de Vidrio Combinado DG 111.

Modo de Titulación: Recording.

Limite de Titulación: 5 ml/min.

Factor de Retraso (Slowdown Factor): 0.25.

4 OBJETIVOS .

a) Desarrollar y validar un método analítico para cuantificar caolín. en una suspensión farmacéutica, en base a su contenido de aluminio por titulación complejométrica con solución valorada de EDTA y sulfato de zinc.

b) Desarrollar y validar un método gravimétrico para cuantificar caolín (en una suspensión farmacéutica), por ignición de la materia orgánica presente en la suspensión.

c) Desarrollar y validar un método para cuantificar pectina en una suspensión farmacéutica, titulandola como ácido péctico con solución valorada de hidróxido de sodio.

5 HIPOTESIS .

a) Ya que el caolín es un silicato de aluminio hidratado, se puede cuantificar en base a su contenido de aluminio por

titulación complejométrica con EDTA del catión aluminio III, obtenido por conversión química del caolín.

b) Como el caolín es una arcilla, se puede aprovechar esta característica para cuantificarlo en la suspensión, destruyendo por ignición toda la materia orgánica y finalmente determinar el contenido de caolín por diferencia de peso.

c) Como la pectina por hidrólisis alcalina y posterior acidificación produce ácido péctico, se puede aprovechar esta propiedad para cuantificarla titulando el ácido péctico obtenido con solución valorada de hidróxido de sodio.

d) Si los métodos propuestos son exactos, lineares y precisos (repetibles y reproducibles), se demostrará estadísticamente y podrán establecerse como métodos de control químico de la suspensión farmacéutica y en caso contrario se rechazará el o los métodos que no cumplan con esos criterios.

6 MATERIAL Y METODOS .

6.1 Material, Equipo y Reactivos.

6.1.1 Soluciones y Reactivos:

Carbonato de Sodio R.A.

Carbonato de Potasio R.A.

Acido Clorhídrico R.A.

Alcohol Etilico R.A.
EDTA Disódico 0.05 M. S.V.
Sulfato de Zinc 0.05 M. S.V.
Hidróxido de Sodio 0.1 N. S.V.
Buffer de Acetatos S.R.
Ditizona S.I.
Acido Clorhídrico al 1 %.
Hidróxido de Sodio al 40 %.

6.1.2 M a t e r i a l :

Crisoles de Níquel.
Crisoles de Porcelana.
Mechero Fisher.
Matraces Volumétricos de 100 ml.
Matraces Erlenmeyer de 250 ml.
Pipetas Volumétricas de 20, 25 y 50 ml.
Pipetas Graduadas de 2, 5 y 10 ml.
Buretas de 25 ml.
Desecador.
Vasos de Precipitados.

6.1.3 E q u i p o :

Titulador Automático (Mettler Memotritator):
Modelo: DL 40 RC, Marca: Mettler.
Balanza Analítica: Modelo 2007 MP.
Marca: Sartorius.

Mufla Tipo Caja: Modelo 51 848.
Marca Linberg S.B.
Centrifuga: Modelo s/n.
Marca Sol-Bat.

6.2 M é t o d o s .

6.2.1 Determinación de Caolín por Titulación Complejométrica.

Se coloca una muestra de suspensión caolín-pectina (equivalente a 0.5 g. de caolín) en un crisol de níquel, evaporar el agua por calentamiento suave, quemar hasta cenizas la materia orgánica en mechero fisher.

Agregar 3.0 g. de mezcla de carbonato de sodio-carbonato de potasio (55:45) y mezclar, realizar la fusión alcalina calentando el crisol a 750 °C, enfriar, solubilizar el residuo de la fusión con agua caliente, acidificar con 10 ml. de ácido clorhídrico y llevar a 100 ml. en un matraz volumétrico.

Pasar una alícuota de 20 ml. a un matraz erlenmeyer de 250 ml. adicionar 25 ml. de EDTA 0.05 M. y 20 ml. de buffer de acetatos S.R., calentar 5 minutos cerca del punto de ebullición, enfriar, agregar 50 ml. de etanol y 2 ml. de ditiona S.I.

Titular con sulfato de zinc 0.05 M. hasta vire del indicador, determinar el contenido de caolín en la muestra inicial.

C á l c u l o s :

$$\text{mg. Caolín/5 ml.} = (V_a - V_b)(100/20)(Pe/W_m)(5)(6.45).$$

Dondp: V_a = Volumen de EDTA 0.05 M. empleados (ml.)

V_b = Volumen de $ZnSO_4$ 0.05 M. gastados (ml.)

W_m = Peso de la muestra (g.)

Pe = Peso específico de la suspensión (g/ml)

100/20 = Factor de dilución del problema.

6.45 = Factor de conversión de aluminio a caolín.

Obtenido del producto del peso molecular del caolín puro (258.17 g/mol) por el equivalente de aluminio (1.349) entre el contenido de aluminio en el caolín (53.963 g/mol).

Nota: los volúmenes empleados de EDTA 0.05 M. (V_A) y de sulfato de zinc 0.05 M. (V_B) se multiplican por sus respectivos Factores de corrección para la molaridad.

6.2.2 Determinación Gravimétrica de Caolín.

Colocar una muestra de suspensión (equivalente a 0.7 g. de caolín) en un crisol de porcelana, previamente puesto a peso constante, evaporar el agua por calentamiento suave y quemar la materia orgánica en mechero fisher, meter el crisol a la mufla y calentar a 800 °C por 30 minutos.

Enfriar a aproximadamente 200 °C, meter en desecador y enfriar a temperatura ambiente, pesar el crisol y determinar por diferencia de pesos el contenido de caolín en la muestra.

C á l c u l o s :

$$\text{mg. Caolín/5 ml.} = (W_r)(P_e/W_m)(5)(1.16).$$

Donde: W_r = Peso del residuo calcinado (mg).

P_e = Peso específico de la suspensión (g/ml).

W_m = Peso de la muestra (g).

1.16 = Factor de conversión de caolín anhidro a caolín deshidratado. Obtenido de dividir el peso molecular del caolín hidratado (258.17 g/mol) entre el peso molecular del caolín anhidro (222.14 g/mol).

6.2.3 Valoración de Pectina como Ácido Péctico con NaOH 0.1 N.

Colocar una muestra de suspensión (equivalente a 165 mg. de pectina) en un matraz erlenmeyer de 125 ml. y agregar 50 ml. de ácido clorhídrico al 1 %, agitar vigorosamente por 10 minutos. Centrifugar la solución a 2 500 rpm/10 min., tomar 50 ml. del sobrenadante, agregar 2 ml. de solución de hidróxido de sodio al 40 % y dejar reposar 30 minutos (se forma péctato de sodio), agregar 5 ml. de ácido clorhídrico. se forma ácido péctico que precipita por ser insoluble en agua, mezclar para homogenizar. Centrifugar a 2 500 rpm/15 min., decantar el líquido sobrenadante, resuspender el ácido péctico en agua destilada, si el pH de la suspensión resultante se encuentra entre 2.5 y 3.5 continuar con el siguiente paso, en caso contrario (pH menor de 2.5) centrifugar de nuevo.

Titular el ácido péctico con solución valorada de hidróxido de sodio 0.1 N. en el Titulador Automático (Mettler Memotritator) y determinar el contenido de pectina en la muestra inicial.

C á l c u l o s :

$$\text{mg. Pectina/5ml} = (V_g)(M + 50/50)(5/MC)(24.22).$$

Donde: V_g = Volumen de NaOH 0.1 N. gastados en la muestra (ml).

M = Cociente de dividir el peso de la muestra (g) entre el Peso específico de la suspensión (g/ml).

C = Contenido de ácido pectico (%) en una pectina de referencia = 92.56 %.

24.22 = Miliequivalentes de ácido pectico/ml de NaOH 0.1 N.

Nota: El volumen gastado de NaOH 0.1 N. (V_g) se multiplica por su Factor de corrección para Normalidad.

La pectina usada como referencia, cumple con los requerimientos de una pectina grado farmacéutico, según USP XXI, pag. 790, (43).

7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

7.1 Validación de los Métodos Analíticos Propuestos.

Los resultados que se exponen a continuación fueron obtenidos aplicando los lineamientos de la sección 1.3 (Validación de Métodos Analíticos) a los métodos desarrollados para cuantificar caolín y pectina en suspensión farmacéutica, expuestos en las secciones 6.2.1 a 6.2.3.

7.1.1 Determinación de Caolín por Titulación Complejométrica.

Se validó el método analítico para cuantificar caolín expuesto en la sección 6.2.1. los resultados obtenidos para la exactitud, linealidad y precisión (repetibilidad y reproducibilidad) son los siguientes.

A) Exactitud. Se analizaron 18 muestras preparadas de placebo (lote No. 015-147) adicionadas de caolín (lote de la materia prima No. 85-5, Probaind de México S.A.), a tres diferentes niveles de concentración (85, 100, 115 %), los resultados obtenidos se muestran en la tabla VI.

1. De la tabla VI se obtiene que la media del recobro es de 99.44 %, la desviación estandard del por ciento de recobro es de 0.754 y su coeficiente de variación es de 0.74 %, por lo tanto la variación entre los datos es pequeña ya que es menor al 3 %.

T A B L A VI

NO DE MUESTRA	NIVEL DE CONCENTRACION	mg. ADICIONADOS	mg. RECUPERADOS	% RECOBRO
1		427.1	425.0	99.52
2		428.5	425.1	99.20
3		425.9	425.1	99.80
4	85 %	426.1	427.6	100.35
5		430.2	430.6	100.10
6		427.9	427.6	99.94

7		501.9	499.4	99.50
8		502.0	498.6	99.32
9		503.1	502.6	99.88
10	100 %	501.4	498.8	99.48
11		501.3	504.3	100.60
12		505.2	506.1	100.56

13		573.4	563.3	98.25
14		573.7	569.6	99.29
15		578.7	574.0	99.20
16	115%	574.9	470.4	99.22
17		575.4	564.7	98.14
18		565.8	555.3	98.14

2. El intervalo de confianza para la media del por ciento de recobro es el siguiente:

$$IC = \bar{x} \pm t(n-1, 0.975)(s/\sqrt{n}).$$

$$IC = 99.44 \pm t(17, 0.975)(0.754/\sqrt{18}).$$

$$IC = 99.44 \pm 2.11(0.754/\sqrt{18}).$$

$$IC = 99.44 \pm 0.36.$$

3. El valor de la "t" experimental es el siguiente:

$$t_{\text{exp}} = \frac{\bar{x} - \mu}{s / \sqrt{n}}$$

$$t_{\text{exp}} = \frac{99.44 - 100}{0.754 / \sqrt{18}}$$

$$t_{\text{exp}} = -3.15.$$

$$t(17, 0.975) = 2.11.$$

El valor obtenido de la "t" experimental (-3.15), se encuentra fuera del rango obtenido en las tablas de distribución "t" (de -2.11 a 2.11) con 17 grados de libertad y una probabilidad acumulada de 0.975, por lo tanto existen diferencias significativas entre las cantidades de caolin agregadas y las recuperadas cuando las muestras son tratadas por el método propuesto, por lo tanto el método no se considera exacto.

B) Linearidad. Se emplearon los resultados obtenidos en la determinación de la exactitud del método, los resultados del por ciento adicionado de principio activo y el por ciento de recobro se muestran en la tabla VII.

T A B L A VII

NO. DE MUESTRA	NIVEL DE CONCENTRACION	% ADICIONADO	% RECUPERADO
1		85.42	85.00
2		85.70	85.02
3		85.18	85.02
4	85 %	85.22	85.52
5		86.04	86.12
6		85.58	85.52

7		100.38	99.88
8		100.40	99.72
9	100 %	100.62	100.52
10		100.28	99.76
11		100.26	100.86
12		101.40	101.62

13		114.68	112.66
14		114.74	113.92
15		115.74	114.80
16	115 %	114.98	112.94
17		115.08	111.06
18		113.16	111.06

1. Cálculos Preliminares.

a) $\Sigma x = 1804.86$

d) $\Sigma y^2 = 181154.39$

b) $\Sigma y = 1794.02$

e) $\Sigma xy = 182337.65$

c) $\Sigma x^2 = 183538.27$

f) $N = 18.$

2. Cálculos Finales.

$$m = \frac{18(182337.65) - (1804.86)(1794.02)}{18(183538.27) - (1804.86)^2}$$

$$m = 0.9557$$

$$b = \frac{(1794.02) \cdot 0.9557(1804.86)}{18}$$

$$b = 3.84$$

$$r = \frac{[18(182337.65) - (1804.86)(1794.02)]^2}{[18(183538.27) - (1804.86)^2][18(181154.39) - (1794.02)^2]}$$

$$r = 0.9975$$

$$r^2 = 0.9950$$

La pendiente calculada es menor de 1.0 ($m = 0.9557$), la ordenada al origen es mayor a cero ($b = 3.84$), y el coeficiente de regresión es mayor a 0.98, por lo tanto el método no se considera lineal, ver figura 12.

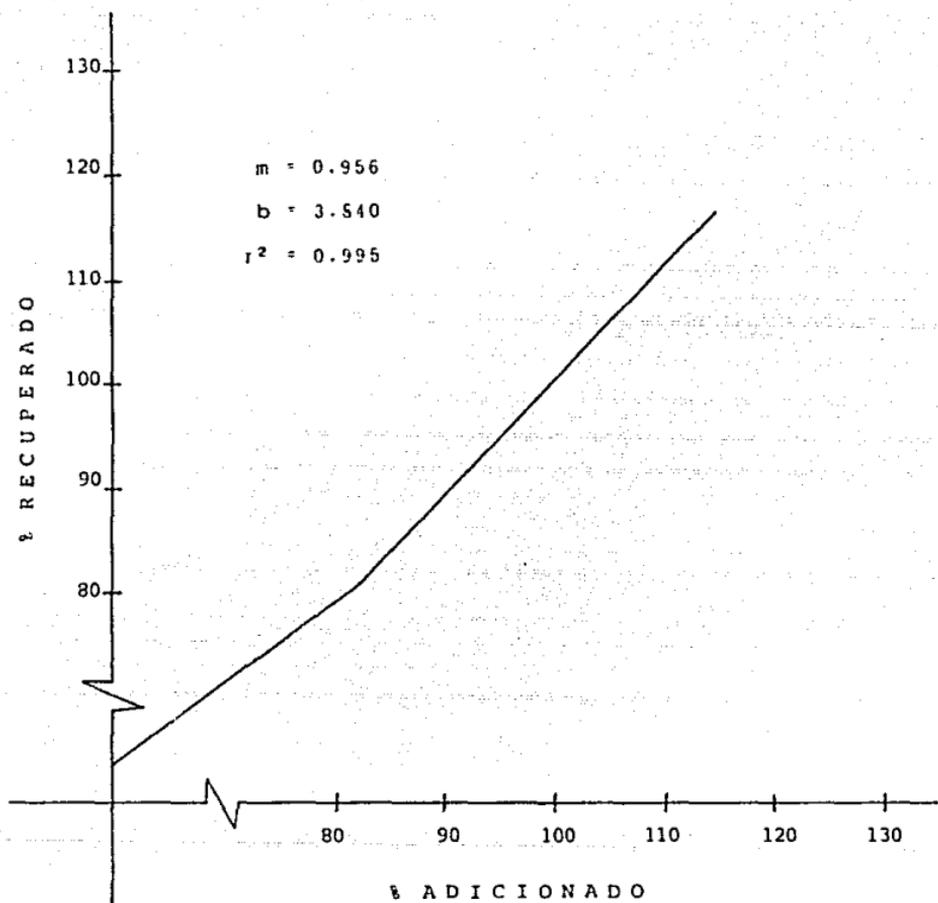


Figura 12. Linearidad del Metodo para Cuantificar Caolin por Titulación Complejometrica.

C) Precisión (Repetibilidad). Se analizaron 6 muestras de la suspensión caolin-pectina (lote No. 015-147), obteniéndose los por cientos de recobro mostrados en la tabla VIII.

T A B L A VIII

NO. DE MUESTRA	mg. ADICIONADOS	mg. RECUPERADOS	RECUPERADO (%)
1	501.6	496.5	98.99
2	501.0	503.2	100.44
3	499.9	495.0	99.03
4	502.2	497.2	99.01
5	503.0	497.4	98.88
6	500.9	500.8	99.98

1. De la tabla VIII se obtiene que la media del por ciento de recobro es de 99.39 % y la desviación estandard del por ciento de recobro es de 0.656.

2. El coeficiente de variación del por ciento de recobro es el siguiente:

$$CV = s(100)/\bar{x}$$

$$CV = 0.656(100)/99.39$$

$$CV = 0.660.$$

El coeficiente de variación es menor del 2 %, por lo tanto el método se considera preciso (reproducibile).

D) Reproducibilidad. Se analizó por el método propuesto la suspensión caolin-pectina lote No. 013-128, el análisis fue realizado por dos analistas en dos días ambos diferentes, los resultados de los ensayos se muestran en la tabla IX.

T A B L A IX

	ANALISTA 1	ANALISTA 2
DIA 1	99.80 %	100.12 %
	99.00 %	99.75 %
	102.00 %	99.24 %
DIA 2	99.87 %	104.00 %
	100.66 %	99.88 %
	99.42 %	99.99 %

Con los resultados anteriores se realizó un análisis de varianza, los resultados de dicho análisis se muestran en la tabla X.

Por los resultados obtenidos en la tabla X, puede apreciarse el método propuesto es estadísticamente reproducible de analista a analista, ya que la "F" experimental es menor a la "F" de tablas (0.19 contra 7.57); el método es también reproducible de día a día, ya que en este caso la "F" experimental también es menor a la "F" de tablas (0.92 contra 6.06), por lo tanto se acepta la hipótesis nula.

T A B L A X.

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD.	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F exp.	F tab.
Analista {A _i }	1	0.41	0.41	0.21	7.57
D I A {D _{j(i)} }	2	3.90	1.95	0.92	6.06
ERROR {E _{K(ij)} }	8	17.03	2.13	---	----

7.1.2 Determinación Gravimétrica de Caolín.

Se validó el método analítico para cuantificar caolín expuesto en la sección 6.2.2, los resultados obtenidos se dan a continuación.

A) Exactitud. Se analizaron 18 muestras preparadas de placebo (lote 015-147) adicionadas de caolín (lote de la materia prima No. 85-5, Probaínd de México S.A.), a tres diferentes niveles de concentración (85, 100, 115 %), los resultados obtenidos se muestran en la tabla XI.

1. De la tabla XI se tiene que la media del por ciento de recobro es de 100.15 %, la desviación estandard del por ciento de recobro es de 0.80 y su coeficiente de variación es de 0.79 %, por lo tanto la variación entre los datos obtenidos es pequeña ya que es menor al 3 %.

2. El intervalo de confianza para la media del por ciento de recobro es el siguiente:

$$IC = \bar{x} \pm t(n-1, 0.975)(s/\sqrt{n})$$

$$IC = 100.15 \pm t(17, 0.975)(0.80/\sqrt{18})$$

$$IC = 100.15 \pm 2.11(0.80/\sqrt{18})$$

$$IC = 100.15 \pm 0.39.$$

3. El valor de la "t" experimental es el siguiente:

$$t_{\text{exp}} = \frac{\bar{x} - \mu}{s / \sqrt{n}}$$

T A B L A XI

NO. DE MUESTRA	NIVEL DE CONCENTRACION	mg. ADICIONADOS	mg. RECUPERADOS	% RECOBRO
1		595.4	597.3	100.32
2		597.2	596.9	99.95
3		597.7	602.7	100.84
4	85 %	594.1	599.2	100.86
5		599.5	592.2	98.79
6		598.7	602.0	100.55

7		702.5	707.6	100.73
8		703.5	707.4	100.55
9	100 %	706.1	705.8	99.96
10		701.6	698.3	99.52
11		701.8	687.1	97.91
12		704.6	710.1	100.78

13		806.3	807.8	100.19
14		808.2	809.7	100.19
15	115 %	804.6	803.2	99.83
16		809.5	808.8	99.91
17		805.0	812.6	100.94
18		811.4	813.8	100.92

$$t_{\text{exp}} = \frac{100.15 - 100}{0.80 / \sqrt{18}}$$

$$t_{\text{exp}} = 0.80$$

$$t(17, 0.975) = 2.11.$$

El valor obtenido de la "t" experimental (0.80), se encuentra en el rango de aceptación, obtenido de las tablas de distribución "t" (con 17 grados de libertad y una probabilidad acumulada de 0.975), por lo que se considera que no existen diferencias significativas entre las cantidades de caolin agregadas y las recuperadas cuando las muestras a diferentes niveles de concentración (85, 100 y 115 %), son tratadas por el método propuesto, por lo tanto el método se considera exacto.

B) Linearidad, con los datos obtenidos en la exactitud del método se determino la linearidad, los resultados del por ciento de recobro del principio activo se muestran en la tabla XII.

1. Cálculos Preliminares.

a) $\Sigma x = 1806.77$	d) $\Sigma y^2 = 184520.50$
b) $\Sigma y = 1808.91$	e) $\Sigma xy = 164290.21$
c) $\Sigma x^2 = 184069.78$	f) $N = 18$

2. Cálculos Finales.

$$m = \frac{18(184290.21) - (1806.77)(1808.91)}{18(184069.78) - (1806.77)^2}$$

$$m = 1.00207$$

T A B L A XII

NO. DE MUESTRA	NIVEL DE CONCENTRACION	% ADICIONADO	% RECUPERADO
1		85.06	85.33
2		85.31	85.27
3		85.38	86.10
4	85 %	84.87	85.60
5		85.60	84.60
6		85.53	86.00

7		100.36	101.08
8		100.50	101.06
9		100.87	100.83
10	100 %	100.23	99.76
11		100.26	98.16
12		100.66	101.44

13		115.19	115.40
14		115.46	115.67
15		114.14	114.74
16		115.64	115.54
17	115 %	115.00	116.08
18		115.91	116.25

$$(1808.91) - 1.00207(1806.77)$$

b

18

b = -0.0888

$$r = \frac{[18(184290.21) - (1806.77)(1808.91)]^2}{[18(184069.78) - (1806.77)^2][18(184520.50) - (1808.91)^2]}$$

$$r = 0.9965$$

$$r^2 = 0.9929$$

Se obtuvo un valor de 1.00207 para la pendiente (m), -0.0888 para la ordenada al origen (b) y 0.9929 para el coeficiente de correlación, por lo tanto se cumplen los criterios para la linealidad del método, ver figura 13.

C) Precisión (Repetibilidad). Se analizaron 6 muestras de suspensión caolin-pectina (lote No. 013-128), obteniéndose los resultados mostrados en la tabla XIII.

T A B L A X I I I

NO. MUESTRA	DE	mg. ADICIONADOS	mg. RECUPERADOS	RECOBRO (%)
1		701.1	702.6	100.21
2		702.8	704.4	100.23
3		701.7	703.7	100.29
4		701.6	703.5	100.27
5		706.6	709.3	100.38
6		698.9	702.0	100.44

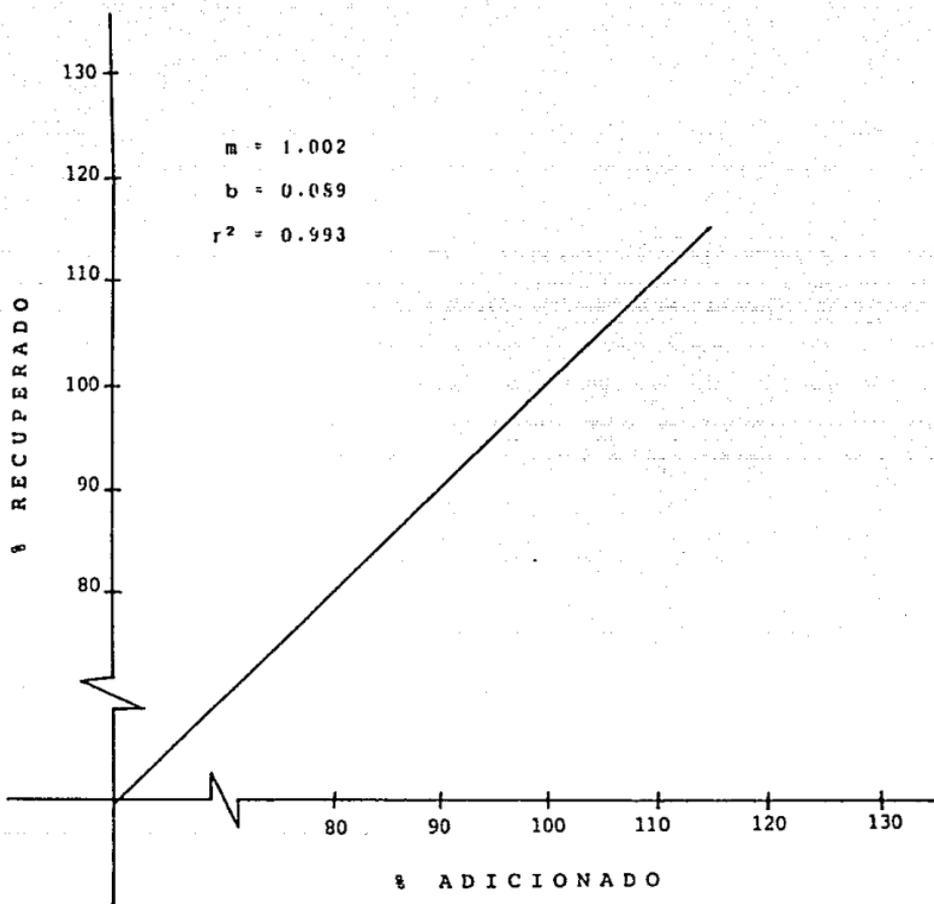


Figura 13. Linearidad del Método Gravimétrico para Cuantificar Caolín.

1. De la tabla XIII se obtiene que la media del por ciento de recobro es 100.30 % y la desviación estandard del por ciento de recobro es de 0.10.

2. El coeficiente de variación del por ciento de recobro es el siguiente:

$$CV = s(100) / \bar{x}$$

$$CV = 0.10(100) / 100.30$$

$$CV = 0.10 \%$$

El coeficiente de variación es menor del 2 %, por lo tanto el método se considera preciso.

D) Reproducibilidad. Se analizó por el método propuesto la suspensión caolín-pectina lote No. 013-128, el análisis fue realizado por dos analistas en dos días ambos diferentes, los resultados obtenidos se muestran en la tabla XIV.

T A B L A XIV

	ANALISTA 1	ANALISTA 2
DIA 1	100.06 %	100.22 %
	100.32 %	100.43 %
	100.15 %	100.12 %
DIA 2	100.53 %	99.57 %
	100.33 %	99.42 %
	100.35 %	99.48 %

Con los datos anteriores se realizó un análisis de varianza. La tabla de análisis de varianza obtenida se muestra a continuación (tabla XV).

T A B L A XV

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F _{exp}	F _{tab.}
Analista {A ₁ }	1	0.40	0.40	1.08	7.57
D I A {D _{j(i)} }	2	0.74	0.37	1.61	6.06
Error {E _{K(ij)} }	8	1.80	0.23	----	----

Se puede apreciar por los resultados obtenidos en la tabla anterior, que el método propuesto es estadísticamente reproducible de analista a analista, ya que la "F" experimental es menor a la "F" de tablas (1.74 contra 7.57). El método también es reproducible de día a día, ya que en este caso nuevamente la "F" experimental es menor a la "F" de tablas (0.92 contra 6.06), por lo tanto el método es reproducible y se acepta la hipótesis nula.

7.1.3 Valoración de Pectina como Ácido Pécico con NaOH 0.1 N.

Se validó el método propuesto para cuantificar pectina expuesto en la sección 6.2.3, los resultados obtenidos se muestran a continuación:

A) Exactitud. Se analizaron 18 muestras preparadas de placebo (lote No. 015-147) adicionadas de pectina (lote de la materia prima No. 4108-249, Helm de México S.A.), a tres diferentes niveles de concentración (85, 100 y 115 %). los resultados obtenidos se muestran en la tabla XVI.

1. De la tabla XVI se obtiene que la media del por ciento de recobro es de 99.96 %, la desviación estandard del por ciento de recobro es de 0.82 y su coeficiente de variación es de 0.82 %.

2. El intervalo de confianza para la media del por ciento de recobro es el siguiente:

$$IC = \bar{x} \pm t(n-1, 0.975)(s / \sqrt{n})$$

$$IC = 99.96 \pm 2.11(0.82 / \sqrt{18})$$

$$IC = 99.96 \pm 0.41.$$

3. El valor de la "t" experimental es el siguiente.

$$t_{\text{exp}} = \frac{\bar{x} - \mu}{s / \sqrt{n}}$$

T A B L A XVI

NO. DE MUESTRA	NIVEL DE CONCENTRACION	mg. ADICIONADOS	mg. RECUPERADOS	% RECOBRO
1		140.83	141.29	100.33
2		140.91	139.85	99.25
3		141.08	142.02	100.66
4	85 %	140.58	141.29	100.51
5		140.42	140.25	99.87
6		140.82	139.64	99.16

7		165.17	166.52	100.82
8		165.33	165.08	99.85
9		165.74	167.97	101.34
10		165.66	164.14	99.08
11	100 %	165.66	165.69	100.02
12		164.75	163.63	99.32

13		192.80	194.90	101.09
14		191.40	190.61	99.59
15		191.48	193.46	101.03
16		191.65	191.32	99.83
17	115 %	191.07	189.17	99.00
18		194.34	186.58	98.54

$$t_{\text{exp}} = \frac{99.96 - 100}{0.82 / \sqrt{18}}$$

$$t_{\text{exp}} = -0.21$$

$$t(17, 0.975) = 2.11$$

El valor obtenido de la "t" experimental (-0.21), se encuentra dentro del rango obtenido de las tablas de distribución "t" (de -2.11 a +2.11), por lo tanto puede afirmarse que no existen diferencias significativas entre las cantidades de caolin agregadas y las recuperadas cuando las muestras a diferentes niveles de concentración (85, 100 y 115%) son tratadas por el método propuesto, por lo tanto el método se considera exacto.

B) Linearidad. Con los datos obtenidos en la determinación de la exactitud del método, se determino la linearidad, los resultados del por ciento de adicionado y el por ciento de recobro del principio activo se muestran en la tabla XVII.

1. Cálculos Preliminares.

- | | |
|---------------------------|---------------------------|
| a) $\sum x = 1808.90$ | d) $\sum y^2 = 184438.64$ |
| b) $\sum y = 1808.13$ | e) $\sum xy = 184512.84$ |
| c) $\sum x^2 = 184599.85$ | f) $N = 18$ |

2. Cálculos Finales.

$$m = \frac{18(184512.84) - (1808.90)(1808.13)}{18(184599.85) - (1808.90)^2}$$

$$m = 0.9966$$

T A B L A XVII

NO. DE MUESTRA	NIVEL DE CONCENTRACION	% ADICIONADO	% RECUPERADO
1		85.35	85.63
2		85.40	84.76
3		85.50	86.07
4	85 %	85.20	85.63
5		85.10	85.00
6		85.35	84.63

7		100.10	100.92
8		100.20	100.05
9		100.45	101.80
10	100 %	100.40	99.48
11		100.40	100.42
12		99.85	99.17

13		116.85	118.12
14		116.00	115.52
15		116.05	117.25
16	115 %	115.15	115.95
17		115.80	114.65
18		114.75	113.08

$$b = \frac{(1808.13) - 0.9966(1808.90)}{18}$$

$$b = 0.2989$$

$$r = \frac{[18(184512.84) - (1808.90)(1808.13)]^2}{[18(184599.85) - (1808.90)^2][18(184438.64) - (1808.13)^2]}$$

$$r = 0.9955$$

$$r^2 = 0.9910$$

Ya que $m \cong 1$, $b \cong 0$, $r^2 > 0.98$; se cumple con los criterios para la linealidad del método, ver figura 14.

C) Precisión (Repetibilidad). Se analizaron 6 muestras de la suspensión caolín-pectina (lote No. 013-150), obteniéndose los por cientos de recobro mostrados en la tabla XVIII.

T A B L A XVIII

NO. DE MUESTRA	mg. ADICIONADOS	mg. RECUPERADOS	RECOBRO (%)
1	163.03	164.82	101.10
2	163.21	168.45	103.21
3	162.98	168.86	103.60
4	162.92	162.33	99.64
5	163.13	162.13	99.63
6	163.07	165.38	101.66

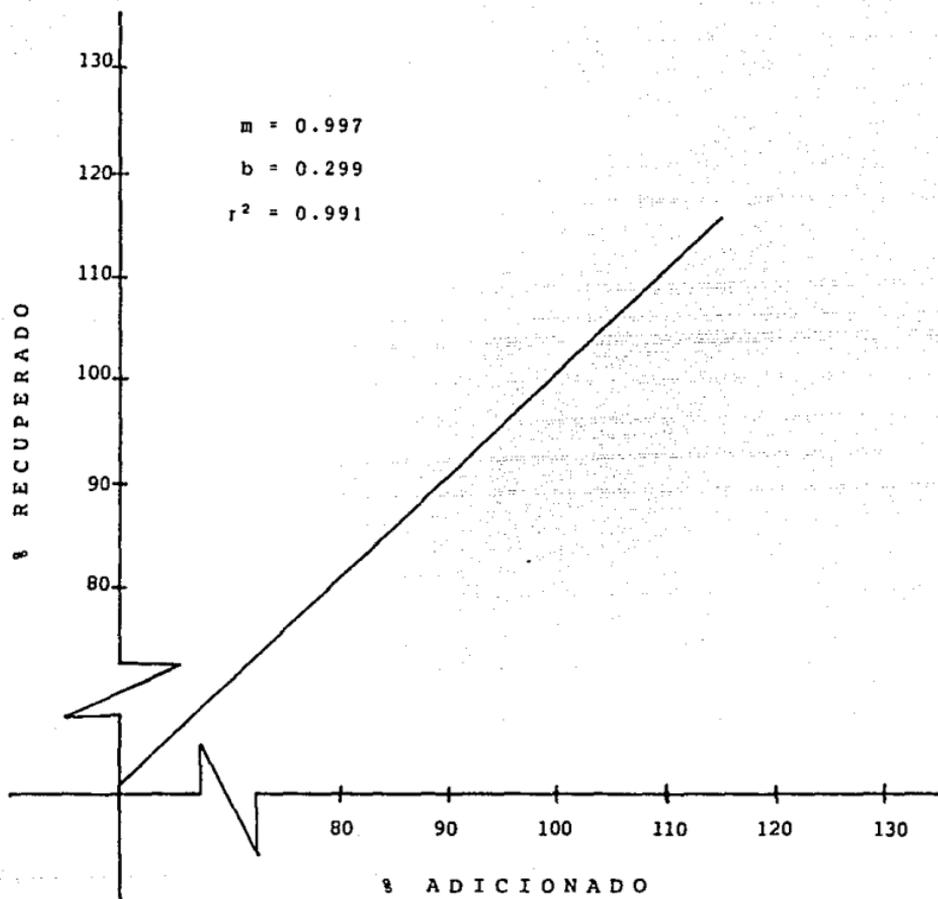


Figura 14. Linearidad del Método para Cuantificar Pectina.

1. De la tabla XVIII se obtiene que la media del por ciento de recobro es de 101.45 % y la desviación estandar del por ciento de recobro es de 1.715.

2. El coeficiente de variación del por ciento de recobro es el siguiente:

$$CV = s(100) / \bar{x}$$

$$CV = 1.715(100) / 101.45$$

$$CV = 1.691$$

El coeficiente de variación es menor de 2 % por lo tanto el método se considera preciso.

D) Reproducibilidad. Se analizó por el método propuesto la suspensión caolín-pectina lote No. 013-150, el análisis fue realizado por dos analistas en dos días ambos diferentes, los resultados de los análisis se muestran en la tabla XIX.

T A B L A XIX

ANALISTA 1 ANALISTA 2

	ANALISTA 1	ANALISTA 2
DIA 1	102.12 %	101.62 %
	102.55 %	102.88 %
	102.79 %	100.77 %
DIA 2	102.16 %	99.24 %
	100.66 %	101.67 %
	103.79 %	99.01 %

Con los resultados anteriores se realizó un análisis de varianza, la tabla de análisis de varianza obtenida es la siguiente (tabla XX).

T A B L A XX

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F_{exp}	F_{tab}
Analista {A _i }	1	6.57	6.57	2.68	7.57
D I A {D _{j(i)} }	2	4.89	2.45	1.66	6.06
ERROR {E _{k(ij)} }	8	11.73	1.47	----	----

Se puede apreciar por los resultados obtenidos, que el método propuesto para cuantificar pectina es estadísticamente reproducible de analista a analista, ya que la "F" experimental es menor a la "F" de tablas (4.46 contra 7.57). El método es también reproducible de día a día, ya que en este caso nuevamente la "F" experimental es menor a la "F" de tablas (1.66 contra 6.06).

7.2 Discusión de Resultados.

Resumiendo los resultados obtenidos de la validación de los métodos propuestos para el análisis cuantitativo de caolín y de pectina en la suspensión farmacéutica se tiene lo siguiente:

A) Exactitud. El análisis a tres diferentes niveles de concentración del principio activo (85, 100 y 115 %), demuestra que el método gravimétrico para cuantificar caolín y el método de valoración de pectina cumplen con los criterios de exactitud (prueba "t" de Student de dos extremos o bilateral, con una probabilidad acumulada de 0.975), en cambio el método para cuantificar caolín por titulación complejométrica no lo cumple, por lo tanto este último no es exacto.

B) Linearidad. El método gravimétrico para cuantificar caolín y el método para cuantificar pectina cumplen con los requisitos de linealidad ($m \approx 1$, $b \approx 0$, $r^2 > 0.98$), sin embargo el método para cuantificar caolín por titulación complejométrica no cumple con estos requisitos por lo tanto el método no se considera lineal.

C) Precisión (Repetibilidad). Los métodos propuestos son precisos como lo indica su coeficiente de variación, en los tres casos el coeficiente de variación fue menor al 2 %, que es el límite aceptable para un método analítico.

D) Reproducibilidad. Los métodos propuestos son reproducibles, el Análisis de Varianza indica que no hay diferencias significativas en los resultados obtenidos por dos químicos en dos días ambos diferentes, en todos los casos se encontró que la "F" experimental es menor que la "F" de tablas (con una probabilidad acumulada de 0.975), por lo tanto cumplen con este criterio.

8. CONCLUSIONES.

En base a los objetivos planteados inicialmente y los resultados obtenidos se concluye lo siguiente:

8.1 En base a la investigación realizada se propusieron y desarrollaron dos métodos analíticos para cuantificar caolín en una suspensión farmacéutica:

a) Un método por titulación complejométrica (método 1), en el cual el caolín se cuantifica en base a su contenido de aluminio después de la transformación química de la arcilla por fusión alcalina.

b) Un método gravimétrico (método 2), en el cual la arcilla se determina por peso después de haber destruido por ignición la materia orgánica de la suspensión.

8.2 Se propuso y desarrollo también un método analítico para cuantificar pectina, en base a su contenido de ácido péctico, por titulación ácido-base.

8.3 Los métodos propuestos se validaron estadísticamente, los resultados obtenidos se muestran en la tabla XXI.

De acuerdo a la tabla XXI, el método 2 para caolín y el método de cuantificación de pectina cumplen con los parámetros de validación satisfactoriamente.

T A B L A XXI

C A O L I N		P E C T I N A
METODO 1	METODO 2	
NO EXACTO	EXACTO	EXACTO
NO LINEAR	LINEAR	LINEAR
REPETIBLE	REPETIBLE	REPETIBLE
REPRODUCIBLE	REPRODUCIBLE	REPRODUCIBLE

En lo que respecta al método 1 para cuantificar caolín, además de no ser exacto ni lineal, presenta otras desventajas como: su consumo de tiempo, ya que es más largo que el método 2, por lado es menos económico que el método gravimétrico pues se consumen más reactivos para realizarlo.

Finalmente, cabe mencionar que al profundizar en el análisis de arcillas, se encontró que para caracterizar cuantitativamente un caolín se debe realizar un "Análisis Total", es decir, se debe determinar su contenido de aluminio (Al_2O_3), de sílice (SiO_2) y de agua; pues el contenido de este mineral en lo que respecta a sus componentes puede ser muy variable dependiendo de la fuente de donde se haya obtenido la arcilla; por lo tanto, no basta con solo determinar su contenido de aluminio para cuantificar un caolín como se propone en el

presente trabajo, ya que el contenido de impurezas no tóxicas (como gibsita u otras arcillas) puede aumentar modificando la proporción de óxido de aluminio (Al_2O_3) en los caolines comerciales de uso farmacéutico.

Por lo tanto, el método 2 (gravimétrico) para cuantificar caolín y el método de cuantificación de pectina se pueden establecer como métodos de control químico de la suspensión farmacéutica por cumplir con los parámetros estadísticos de validación mostrados en la tabla XXI.

9 BIBLIOGRAFI A .

1. Ross, C.S., Kerr, P.F., "The Kaolin Minerals"., U.S. Geol. Surv., Papper 165 E., pp. 151-175. (1931).
2. Zemlyanitzuin, V.P., "Volumetric Determination of Aluminum in Kaolin"., Zavodskaya Lab., 3, 115. (1934).
de: C.A.: 29, 72⁵. 1935.
3. German, A., Geanata, G., "A New Method for Complexometric Analysis of Kaolin"., Rev. Chim., 14(7), 424. (1963).
4. Nazarenko, Z.L., Pavlova, L.A., "Rapid Method for the Complexometric Determination of Aluminum Oxide Content in Clays, Kaolins, Groggs, Kyanates, Diskene-Sillimanite, High Alumina and Corundum Refractory Materials (98 % Alumina)"., Priloz-vq Spets Ogneuporov., 4, 66-70. (1977).
de: C.A.: 88, 26661h. 1978.
5. Werner, W., "Basic Decomposition of Pharmacopeial Silicates."., Pharm. Ztg., 127(2), 114-16. (1982).
de: C.A.: 96, 91754v. 1983.
6. Babko, A.K., "Determination of Aluminum (in Silicates) by Means of Oxalate Complex Formation."., Zavodskaya Lab., 4, 891-3. (1935).
de: C.A.: 30, 2132e. 1936.
7. Dempir, J., "Analysis of Kaolin with the Use of Complexometric Determination of Aluminum Oxide."., Stavivo.

41. 183-4. (1963).
de: C.A.: 60, 3490c, 1964.
8. Simoni, O.J., "Rapid Quantitative Determination of the Chemical Composition of Kaolin.", An. Dir. Nac. Quim., L8 (32), 15-16. (1967).
de: C.A.: 72, 128349z, 1970.
9. Tsybulevskii, Kh. I., "Rapid Determination of Silica in Kaolin.", Zovodskaya Lab., 7, 489-490. (1938).
10. Atkins, F., "Analysis of Powders Face.", Perfumery Essent. Oil Record., 39, 350. (1948).
de: C.A.: 45, 9802e, 1951.
11. Campbell, C.H., "Jelly".. J. Ind. Eng. Chem., 12, 558-9, (1920).
de: C.A.: 14, 222 , 1920.
12. Asiya, A., "Methods for the Determination of Gelling Power of Fruit Purces".. Konservnyy Plodovoshchaya Prom., 4, 32-5, (1938).
de: C.A.: 40, 7465⁸, 1940.
13. Kaminskaya, F.I., Davydova, E.V. and Phillipov, M.P., "Isolation of Pectin Substances from Juices with Natural Functions".. Izv. Akad. Nauk., Mold. S.S.R., Ser. Biol. Khim. Nauk., 2, 73-76. (1981).
de: C.A.: 95, 785641, 1981.
14. Carré, M.H. and Haynes, D., "Estimation of Pectin as Calcium

- Pectate and the Application of this Method to the Determination of the Soluble Pectin in Apples". Biochem. J., 16, 60-9, (1922).
de: C.A.: 16, 1994², 1922.
15. Mc Cready, R.M., Suenson, H.A. and Maclay, W.D., "Determination of Uronic Acids". Ind. Eng. Chem. Anal. Ed., 18, 290-1, (1946).
de: C.A.: 40, 4002⁹, 1946.
16. Stark Jr., S.M., "Determination of Pectic Substances in Cotton". Anal. Chem., 22, 1158-60, (1950).
de: C.A.: 45, 865g, 1951.
17. Mc Cready, R.M. and Mc Comb, E.A., "Extraction and Determination of Total Pectic Material in Fruits". Anal. Chem., 24, 1986-8, 1952.
18. Mc Comb, E.A. and Mc Cready, R.M., "Colorimetric Determination of Pectic Substances". Anal. Chem., 24, 1630-2, (1952).
19. Bitter, T. and Muir, H.M., "A Modified Uronic Acid Carbazole Reaction". Anal. Biochem., 4, 330-4, (1962).
de: C.A.: 58, 12585c, 1963.
20. Alacheva, D.T. and Filippov, M.P., "Colorimetric Determination of Uronides in Pectic Substances". Izv. Akad. Nauk. Mold. S.S.R., Ser. Biol. Khim. Nauk., 3, 76-9, (1973).
de: C.A.: 80, 58456w, 1974.

21. Silin, P.M. and Silina, Z.A., "The Colorimetric Determination of Pectins"., Z. Ver. Deut. Zuckerind., 83, 390-7, (1933).
de: C.A.: 28, 674⁵, 1934.
22. Bryant, E.F., Palmer, G.H. and Joseph, G.H., "Determination of Pectin in Biological Materials Modification of the Pentose-Furfural Method"., Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 16, 74-6, (1944).
23. Suyama, Y. and Tsusaka, N., "Pectic Substances I. Colorimetric Determination with Antrone"., Meiji Daigaku Nogakubu Kenkyu., Hokoku., No. 8, 6-8, (1958).
de: C.A.: 55, 16481d, 1961.
24. Pzozar-Hajnal, K. and Polacsek-Packz, M., "Determination of Pectic Substances of Tomatoes and Apples by Different Methods"., Proc. Hung. Annu. Mut. Biochem., 15, 69-70, (1975).
de: C.A.: 88, 61185, 1976.
25. Robertson, G.L., "The Fractional Extraction and Quantitative Determination of Pectic Substances in Grapes and Musts"., Am. J. Enol. Vitic., 30 (3), 182-6, (1979).
de: C.A.: 91, 155967y, 1980.
26. Robertson, G.L., "The Determination of Pectic Substances in Citrus Juices and Grapes by Two Spectrophotometric Methods", J. Food Biochem., 5 (2), 139-43, (1981).
de: C.A.: 96, 197987p, 1982.

27. Wedlock, D.J., Phillips, G.O. and Bachman, M., "A New Colorimetric Assay for Pectins".. Gums Stab. Food Ind. Appl. Hydrocolloids Proc. Inst. Conf., 2nd., 1983. (Pub. 1984), 529-33. Edited by Phillips Glyn. O., Wedlock, D.J. and Williams, P.A., Pergamon, Oxford. U.K.
28. Mizote, A., Odgari, H., Toei, K. and Tamaka, K., "Determination of Residues of Carboxylic Acids (Mainly Galacturonic Acid) and their Degree of Sterification in Industrial Pectins by Colloid Titration with Cat-Floc".. Analyst., 100 (1196), 822-6, (1975).
de: C.A.: 84. 42093x, 1976.
29. Stromeyer, M. and Linow, F., "Gas Chromatografic and Mass Spectrometric Analysis of Certain Pectin Preparations".. Rehbruecke., 23 (3), 327, (1979).
de: C.A.: 91. 89690z, 1980.
30. Anderson, N.E. and Claydesdale, F.M., "Quantitative Determination of Pectin by Gas Chromatography Method".. J. Food Sci., 45 (2), 336-40, (1979).
de: C.A.: 92. 179172g, 1980.
31. Souty, M., Lapize, F., and Breuils, L., "Simultaneous Determination with an Automated Analyzer of Galacturonic Acid and Neutral Sugars in Pectic Substances Analysis".. Ann. Technol. Agric., 29 (1), 89-90, 1980.
de: C.A.: 94. 172955x, 1981.

32. Forni, E., Giangiaco, R., and Polesillo, A., Separation and Estimation of Galacturonic Acid by HPLC., Recent. Div. Food Anal., Proc. Ecr. Conf. Food Chem., 1st., 1981 (Pub. 1982), 53-S., Edited by Bates, Werner, Czedick, Eysenberg, Pfannhauser Weinnheim., Fed. Rep. Ger.
do: C.A.: 98, 33170g, 1983.
33. Voragen, A.G.J., Schols, H.A., Clement, A.J.J. and Pilnik, W., Gum Stab. Food Ind. Appl. Hydrocolloids, Proc. Inst. Conf., 2nd., 1983 (Pub. 1984), 517-21., Edited by Phillips, Glyn, O., Wedlock, D.J., Williams, P.A., Pergamon, Oxford, U.S.
34. Ford, C.W., "A Routine Method for Identification and Quantitative Determination by Gas-Liquid Chromatography of Galacturonic Acid in Pectic Substances"., J. Sci. Food Agric. 33 (4), 318-24, (1982).
do: C.A.: 97, 54084b, 1982.
35. Turdakova, I.I., Shelukhina, N.P., Aimukhamedova, G.B., "Use of a Conductometric Method for Determining Galacturonic and Pectic Acids in their Mixtures"., Izv. Akad. Nauk. Kirg. S.S.R., 4, 76-8, (1969).
36. Turdakova, I.I., Shelukhina, N.P., Urisova, B.E., and Uimukhamedova, G.B., "Conductometric Method for the Quantitative Identification of Pectins in Plants Extracts"., Izv. Akad. Nauk. Kirg. S.S.R., 5, 37-9, (1982).

37. Shelukhina. N.P., Urisova, B.E., and Turdakova, I.I., "Characteristic of some Methods for the Analysis of Pectins". Izv. Akad. Nauk. Kirg. S.S.R., 4, 34-6, (1983). de: C.A.: 99, 196920m, 1984.
38. Shelukhina, N.P., Tsel, Sh. V., Fedichkina, L.G., "Analysis of Pectin Containin Materials".. Deposited Doc. 1982. Viniti., 915-23, 7pp., Avail. VINITI.
39. Requisitos Minimos para la Validación de Métodos Analíticos.. Comite de Elaboración de Guías Oficiales de Validación.. Colegio Nacional de Q.F.B., México, A.C.
40. Remington, R.D. and Schork, M.A., Estadística Blométrica y Sanitaria., Editorial Pretince/Hall Internacional., Mexico, 1974.
41. Taro Yamane., Estadística., Editorial Harla., México, 1984.
42. Anuario Estadístico de los Estados Unidos Mexicanos., S.P.P., Dirección General de Estadística., México, 1985.
43. The United States Pharmacopeia., Ed. by U.S. Convention., 5th. Ed., 21st. Revition .Inc., Rockville, 1984.