

300627

3



**UNIVERSIDAD LA SALLE**

**ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS**

**INCORPORADA A LA U. N. A. M.**

**VALIDACION DEL METODO ANALITICO DE  
DISOLUCION PARA UN PRODUCTO  
CEFALOSPORINICO EN FORMA FARMACEUTICA  
DE CAPSULAS**

**TESIS PROFESIONAL**

**PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA**

**PRESENTA**

**SILVIA RODRIGUEZ AVILA**

**ASESOR DE TESIS: Q.F.B. ANGELINA OCHOA ISLAS**

**MEXICO, D.F.**

**2002**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

**PAGINACION**

**DISCONTINUA**

**No existe en este mundo una meta imposible,  
pues siempre habrá alguien que la anhele  
con tanto amor y tanta fuerza  
que tendrá que alcanzarla.**

**A MI ESPOSO:**

**Salvador G. León Ramos**

**y**

**A MI HIJO:**

**Jorge Eduardo León Rodríguez**

**Con amor y gratitud  
porque sin su apoyo y comprensión  
no hubiera podido lograr esta meta.**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**A MI MADRE:**

**Ma. Eugenia Avila Ramírez**

**Con respeto y cariño por la oportunidad  
que me brindó para superarme.**

**A MIS ABUELOS:**

**Efraín Avila Díaz \***

**Lucila Ramírez Vda. de Avila**

**Por su gran cariño en mi vida.**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**A MI HERMANO:**

**José Luis Rodríguez Avila y**

**A MI CUÑADA:**

**Ma. Teresa Pedroza de Rodríguez**

**Por su apoyo y entusiasmo.**

**A MIS TIOS:**

**Efraín Avila Ramírez**

**Ma. Ausencia Barrón de Avila**

**Armando Avila Ramírez**

**Aída Torres de Avila**

**Jaime Avila Ramírez \***

**Con admiración y respeto**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**A MIS PRIMOS:**

**Lucila, Efraín y Mónica Avila Barrón**

**Claudia Avila Torres**

**Con gran cariño.**

**A MI SUEGRA:**

**Blanca Elvia Ramos Peña**

**y**

**A MI CUÑADO:**

**Jorge Antonio Sánchez Ramos**

**Por su apoyo y entusiasmo.**

**A Estela Hernández Sánchez**

**Gracias por su apoyo incondicional.**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**VALIDACION DEL METODO ANALITICO DE DISOLUCION  
PARA UN PRODUCTO CEFALOSPORINICO  
EN FORMA FARMACEUTICA DE CAPSULAS**

**INDICE**

Introducción.....	1
Objetivo.....	1
Justificación.....	1
I. Generalidades.....	4
1.1 Origen de las Cefalosporinas.....	4
1.2 Clasificación de las Cefalosporinas.....	5
1.3 Monografía de la Cefalexina Monohidrato.....	6
II. Fundamentos de la Técnica de Disolución.....	8
2.1 Principios básicos.....	8
2.2 Disolución de Cápsulas por Administración Oral.....	9
2.3 Descripción del Aparato.....	10
2.4 Medio de Disolución.....	15
2.5 Agitación y Tiempo.....	16
III. Fundamentos de la Técnica de Espectrofotometría UV-Visible.....	17
3.1 Principios Básicos.....	17
3.2 Espectros en la Región UV-Visible.....	18
3.2.1 Origen del Espectro.....	18
3.2.2 Longitud de Onda del Espectro UV-Visible.....	20
3.3 Instrumentos de Absorción UV-Visible.....	21
3.3.1 Espectrofotómetros UV-Visible.....	22
3.3.2 Componentes de los Espectrofotómetros.....	26
3.4 Desviaciones a la Ley de Beer-Lambert.....	30

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



3.5 Técnica Cuantitativa con una Longitud de Onda Sencilla.....	31
3.6 Verificación del Instrumento.....	32
IV. Validación.....	34
4.1 Definición y Objetivos.....	34
4.2 Categorías de la Validación.....	35
4.3 Elementos de Validación.....	36
4.4 Organización de la Validación.....	38
4.4.1 Manual de Validación.....	39
4.4.2 Plan Maestro de Validación.....	39
4.4.2.1 Validación y Calificación de SOPs.....	39
4.4.2.2 Protocolo y Reporte de Validación.....	41
4.5 Control de Cambios.....	42
4.6 Revalidación.....	42
V. Validación de Métodos Analíticos.....	45
5.1 Tipos de Métodos Analíticos.....	45
5.2 Parámetros de Validación.....	46
5.3 Definición y Metodología de los Parámetros de Validación....	48
5.4 Adecuabilidad de Sistemas Relacionado con Metodologías Físicas.....	52
5.5 Valoración Estadística.....	53
VI. Parte Experimental.....	55
Primera parte	
6.1 Disolutor.....	55
6.1.1 Calibración del Disolutor.....	56
6.1.2 Calificación del Disolutor.....	69
6.2 Espectrofotómetro UV-Visible.....	83
6.2.1 Verificación del Espectrofotómetro UV-Visible.....	83

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

Segunda parte	
6.3 Validación del Método Análítico de Disolución.....	93
Conclusiones.....	131
Bibliografía.....	132
Glosario de Abreviaturas.....	135
Glosario de Términos.....	136

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **INTRODUCCION**

### **OBJETIVO**

El presente trabajo pretende probar y determinar la efectividad del método analítico de disolución en un producto cefalosporínico contenido en la forma farmacéutica de cápsulas, a través del proceso de validación, el cual incluye una evaluación de los parámetros analíticos de precisión, linealidad, exactitud y especificidad entre otros. También pretende mostrar que los sistemas utilizados son adecuados al efectuar la verificación de los equipos necesarios durante el desarrollo de la prueba y asegurar de esta forma la confiabilidad del método y la calidad del producto farmacéutico.

### **JUSTIFICACION**

La validación ha sido un requerimiento de tipo regulatorio para la Industria Farmacéutica en los Estados Unidos desde la implementación de las Buenas Prácticas de Manufactura (cGMPs) en 1978, pero es hasta Marzo de 1983 cuando la Food and Drugs Administration (FDA) emite la primera Guía de Principios Generales para la Validación de Procesos, la cual va sufriendo modificaciones hasta que, en Mayo de 1987 se emite la última versión, en la cual se describen los principios generales que se consideran como parte importante de la validación de procesos para la preparación de productos farmacéuticos.

Requisitos similares existen en muchos otros países, sin embargo, en México la exigencia de realizar validaciones a los métodos analíticos y la primera

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

en hacerse pública, surge hasta el 18 de Enero de 1988, fecha en que se emitió en el Diario Oficial de la Federación, en su primera sección.

Como parte integral del Aseguramiento de Calidad se encuentra por tanto el proceso de validación, que ayuda a asegurar consistentemente la alta calidad de los productos. En los últimos años se ha incrementado el interés en el tema de la validación por el énfasis sobre la calidad y el mejoramiento de la productividad en la industria para así obtener eficiencia en los costos y reducir la incidencia de fallas en los procesos.

El concepto de validación de un proceso engloba elementos importantes que están presentes durante la elaboración de un producto farmacéutico como son: los equipos, áreas de fabricación, control de calidad en proceso y producto terminado, métodos analíticos, entre otros. Como se puede observar el desarrollo de la validación de métodos analíticos es un factor que debe llevarse a cabo necesariamente.

Entre los métodos analíticos que existen podemos encontrar la prueba de disolución que se basa en la "determinación cuantitativa del principio activo que se encuentre en solución, después de un determinado tiempo de agitación de la forma farmacéutica en un medio adecuado"<sup>1</sup>, esto implica que se encuentra íntimamente relacionado con la biodisponibilidad de la droga, dicho término indica el "grado en el cual un producto alcanza su sitio de acción o el fluido biológico que le permita llegar al mismo"<sup>2</sup>.

El requerimiento de la prueba de disolución fue añadido en las monografías de tabletas y cápsulas en 1970, como reconocimiento al proveer resultados que permiten evaluar objetivamente la calidad de un producto, siendo así una herramienta más para Control de Calidad, sin embargo hasta 1976 fue adoptada favorablemente debido a que maduraba tecnológicamente.

A partir de 1981 aparecen los primeros casos en donde la prueba de disolución fue aceptada. Con esto alcanzó un nivel tal que en 1990 se encontraba en 400 monografías y para 1995 se encontraba incluida en 532 monografías. En

<sup>1</sup> Comisión Permanente de la FEUM. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Secretaría de Salud. Sexta edición. México, D.F. MGA0291 p. 121.

<sup>2</sup> Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics. Pergamon Press, 1990. p. 5.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

la actualidad la FDA sigue aprobando el método analítico de disolución en más monografías de diversos productos farmacéuticos.

Como consecuencia, para el desarrollo del presente trabajo se eligió la forma farmacéutica de cápsulas y como principio activo una cefalosporina que presenta una actividad antibacterial importante.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## CAPITULO I.

### GENERALIDADES

#### 1.1 Origen de las cefalosporinas

Las cefalosporinas fueron aisladas por Brotzu en 1948 del hongo conocido como *Sardinian fungus*, sus cultivos eran capaces de inhibir el crecimiento del *Staphylococcus aureus* y curaba la fiebre tifoidea además de las infecciones causadas por estafilococos, "se encontró que contenían tres diferentes antibióticos, los cuales fueron nombrados como Cefalosporinas P, N, y C"<sup>3</sup>.

El aislamiento del núcleo activo de la Cefalosporina C y la adición de nuevas cadenas, hizo posible producir compuestos semisintéticos los cuales poseían una actividad antibacteriana mayor que la sustancia de origen.

Este fue el principio para crear una nueva familia de antibióticos cefalosporínicos, en donde las modificaciones que se realizan en la posición 7 del anillo beta-lactámico están asociados con la actividad antibacteriana y las sustituciones en la posición 3 del anillo de la dihidrotiazina corresponden a cambios en el metabolismo y propiedades de la droga.

La estructura química que representa a las cefalosporinas es la siguiente:

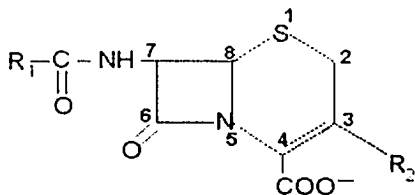


Figura No. 1. Estructura química de las cefalosporinas.

El continuo crecimiento de la familia de las cefalosporinas durante la década pasada hizo necesario crear un sistema de clasificación adecuado.

<sup>3</sup> Goodman and Gilman's. *Ibidem*. p. 1085-1092

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## 1.2 Clasificación de las Cefalosporinas

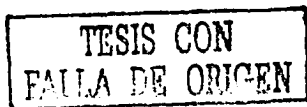
Las cefalosporinas se clasifican en base a sus características generales de actividad antimicrobiana por generaciones.

- A) *Primera Generación:* Presentan una actividad muy efectiva en infecciones severas por estafilococos y una acción modesta contra microorganismos gram-negativos.
- B) *Segunda Generación:* En comparación con las de primera generación, estas aumentan su actividad contra microorganismos gram-negativos.
- C) *Tercera Generación:* Son altamente resistentes a bacterias beta-lactamasas y además de actuar contra bacterias aeróbicas gram-negativas, presentan una buena actividad contra algunos microorganismos gram-positivos, pero en específico contra las *Pseudomonas*.
- D) *Cuarta Generación:* "Ya han surgido algunas cefalosporinas representativas en los últimos años".

Debido a sus características generales presentan una similitud con la estructura de las penicilinas, de esta forma pacientes alérgicos a esta clase de agentes pueden utilizarlas, sin embargo, pueden llegar a manifestar alguna reactividad cruzada cuando se administra un miembro de la otra clase. Algunas de las respuestas que suelen presentarse son: la anafilaxia, urticaria y broncoespasmos.

---

<sup>4</sup> www.fda.gov



### 1.3 Monografía de la Cefalexina Monohidrato

"La Cefalexina es un antibiótico cefalosporínico semisintético de primera generación para administración oral"<sup>5</sup>.

Nombre químico: [6R-[6 $\alpha$  , 7 $\beta$  (R\*)]]-7-[(aminofenilacetil)amino]-3-metil-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo [4.2.0] oct-2-eno-2-ácido carboxílico, monohidrato.

Fórmula molecular: C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S · H<sub>2</sub>O.

Peso molecular: 365.40

Descripción: Es un sólido cristalino blanco de sabor amargo. Su núcleo es semejante al de otras cefalosporinas, "tiene un grupo D-fenilglicil en la posición 7-amino y un grupo metilo no sustituido en la posición 3"<sup>6</sup>.

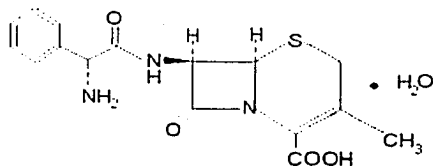


Figura No. 2. Estructura química de la Cefalexina Monohidrato

Solubilidad: A temperatura ambiente la cefalexina es poco soluble; se puede disolver con facilidad hasta 1 ó 2 mg/ml, pero es difícil hacer soluciones de mayor concentración. Es insoluble en alcohol, cloroformo y éter.

Posee una característica especial ya que es un zwitterion o ion anfótero, es decir, una molécula que contiene un grupo básico y un grupo ácido. "El punto isoelectrónico en agua es aproximadamente de 4.5 a 5"<sup>7</sup>, lugar en donde las cargas positivas y negativas se equilibran y motivo por el cual es poco soluble.

Longitud de onda de máxima absorbancia en el ultravioleta: 262 nm.

<sup>5</sup> E. Rosenstein. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. PLM S.A. de C.V. México, 2001 p. 1109.

<sup>6</sup> Merck and Company, Inc. The Index Merck. USA, 1996. p.2019

<sup>7</sup> Approved Drug Products and Legal Requirements. US Pharmacopeial Di. USP Convention, Inc., 1994. Vol. III p. III-90.



Forma Farmacéutica: La cefalexina se puede encontrar en forma de suspensión , tabletas y cápsulas debido a que es absorbida rápidamente por vía oral además de ser resistente al ácido.

Uso: "Se indica en el tratamiento de infecciones del aparato respiratorio causadas por estreptococos, infecciones de la piel y tejidos blandos, de hueso y articulaciones, así como dentales causadas por estafilococos y/o estreptococos. Inclusive actúa sobre algunos gram-negativos como la *Escherichia coli* en infecciones del aparato genitourinario, incluso en la prostatitis aguda"<sup>6</sup>.

Reacciones secundarias y adversas: Se pueden presentar problemas de tipo gastrointestinales como son: colitis, náuseas, vómito, diarrea, dispepsia o dolor abdominal; se observan reacciones alérgicas en forma de erupción cutánea y urticaria además de algunos mareos, fatiga o cefalea, entre otros.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

---

<sup>6</sup> E Rosenstein. *Ibidem*. p.1110

## CAPITULO II.

### FUNDAMENTOS DE LA TECNICA DE DISOLUCION.

El método analítico de disolución determina cuantitativamente el principio activo en una solución, se auxilia de dos técnicas para generar resultados satisfactorios como son: la disolución y la espectrofotometría, esta última es explicada en el Capítulo III.

#### 2.1 Principios básicos

El mundo es una mezcla de sustancias que se encuentran en tres estados físicos diferentes (sólido, líquido y gaseoso). La materia puede existir en fases. Una fase es un sistema físico y químicamente uniforme; la materia que posee una sola fase es considerada homogénea, de igual forma si posee dos o más fases y sustancias distintas se considera heterogénea. Las mezclas homogéneas se llaman disoluciones.

De esta forma, si una sustancia (disolvente) sirve de medio en el que se dispersan completamente las moléculas de otra sustancia (solute) se forma una disolución. Así "cuando un disolvente líquido dispersa un soluto, la mezcla es lenta, y solamente se consigue la homogeneidad con una agitación vigorosa"<sup>9</sup>. De aquí la importancia de las propiedades del disolvente y de las características del soluto, como lo es la solubilidad. Igualmente, existen factores como la temperatura y la presión, que hacen que el soluto se solubilice en un disolvente en mayor o menor cantidad.

De las mezclas heterogéneas es posible obtener una homogénea, al separar sustancias solubles de las insolubles por disolución.

Cuando el disolvente es agua, las disoluciones reciben el nombre de *disoluciones diluidas*.

<sup>9</sup> HB Gray, GP Haight, Jr. Principios Básicos de Química. Reverté, S.A. Barcelona, España 1983. p. 1-9 y 14-30.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

"En el trabajo químico cuantitativo es conveniente definir las concentraciones de las disoluciones de forma que nos permitan medir la cantidad de soluto conociendo simplemente el volumen de disolución"<sup>10</sup>.

En base a estos principios se considera la disolución como una técnica de aislamiento e identificación de sustancias importante en los laboratorios en general.

## 2.2 Disolución de Cápsulas por Administración Oral

"La forma farmacéutica de cápsulas es administrada vía oral debido a su fácil desintegración, estas contienen un principio activo además de aditivos, los cuales no deben afectar la estabilidad, la velocidad de disolución, y la biodisponibilidad ni presentar incompatibilidades con el resto de la formulación"<sup>11</sup>.

La disolución o solubilización de un principio activo dependen de las condiciones fisiológicas y de la permeabilidad del tracto gastrointestinal, al igual que el estado físico y su concentración en el sitio de absorción. Basado en estas condiciones generales, la disolución debe realizarse en la forma farmacéutica de cápsulas y puede ser usada en los siguientes casos:

- 1) "Estimar la calidad de un producto lote a lote;
- 2) Guiar el desarrollo de nuevas formulaciones; y
- 3) Asegurar continuamente la calidad del producto y su funcionamiento después de cambios en la formulación, el proceso de manufactura, el sitio de manufactura, entre otros".<sup>12</sup>

El requerimiento de disolución se encuentra establecido en la monografías de las drogas en base a la forma farmacéutica en la cual se administran y se encuentran descritas en la Farmacopea de los Estados Unidos (United States Pharmacopeia) aprobadas por la FDA.

<sup>10</sup> HB Gray, GP Haight, Jr. *Ibidem*. p. 6-12

<sup>11</sup> Comisión Permanente de la FEUM. Sexta edición. *Ibidem*. p. 858

<sup>12</sup> US Department of Health and Human Services, FDA, CDER. *Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms*. Agosto, 1997. p. 1-2.

La disolución se realiza a través de un aparato que recibe el nombre de Disolutor, el cual posee características específicas y detalladas para ejecutar sus funciones, sin embargo, precisa algunas recomendaciones especiales como "evitar presencia de gases disueltos en el medio de disolución, no debe existir movimiento, agitación o vibración significativa ajena a la que se produce durante la disolución".<sup>13</sup>

### 2.3 Descripción del Aparato

Los métodos más comunmente empleados para realizar disolución son (1) el método de canastilla y (2) el método de paleta. Ambos métodos son sencillos, vigorosos, bien estandarizados y usados mundialmente. Estos métodos son flexibles, lo suficiente para permitir la disolución de una gran variedad de productos. Por esta razón, la USP describe estos métodos de disolución como oficiales, conocidos como Aparato 1 y Aparato 2, debiendo ser usados a menos que muestren ser insatisfactorios durante la realización de las pruebas. Existen otros métodos de disolución como el de canastilla con movimiento vertical ascendente-descendente (Aparato 3) y el de flujo a través de celdas (Aparato 4), descritos también en la USP y que pueden llegar a ser considerados dentro de algunas monografías. Estos aparatos pueden ser usados en conjunto con un muestreo manual o automático.

#### A) APARATO 1.

Consta de un vaso de vidrio u otro material inerte con fondo esférico, debiendo ser un material transparente con una capacidad para 1000 ml con tapa, un motor, un eje metálico y una canastilla cilíndrica.

El vaso se sumerge parcialmente en un baño de agua de tamaño conveniente que permita sostener una temperatura de  $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}$ , con un ligero movimiento constante, la tapa debe estar ajustada para retardar la evaporación y

<sup>13</sup> Comisión Permanente de la FEUM Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Secretaría de Salud. Séptima edición. México, D.F. MGA0291 p. 245

debe tener un orificio el cual permita la inserción de un termómetro, así como la toma de muestras.

El aparato debe permitir la observación de la muestra durante el desarrollo de la disolución.

El eje transmisor debe ser de acero inoxidable tipo 316 y girar suavemente sin bambolearse. Se posiciona en el centro del vaso, de tal manera que no quede a más de 2 mm de cualquier punto del eje vertical del vaso. El regulador de la velocidad de rotación, debe mantener la velocidad constante de acuerdo a lo indicado para cada producto y con una variación de  $\pm 4$  por ciento.

La canastilla es de acero inoxidable tipo 316 y consta de dos partes: la parte superior que se encuentra unida al eje transmisor y se ajusta a la parte inferior para permitir se coloque la muestra en el interior. "A menos que se especifique otra cosa en la monografía, generalmente la canastilla es de Malla No. 40"<sup>14</sup>.

La canastilla puede ser usada con un recubrimiento de oro de 0.0001 pulgada (2.5  $\mu\text{m}$ ) de espesor.

La distancia entre el fondo del vaso y la canastilla debe ser de 25 mm  $\pm$  2 mm durante la prueba. (Ver Figura No. 3 página 12)

---

<sup>14</sup> United States Pharmacopeia USP 24/NF 19. US Pharmacopeial Convention, Inc., 2000. <711> Dissolution p. 1942.

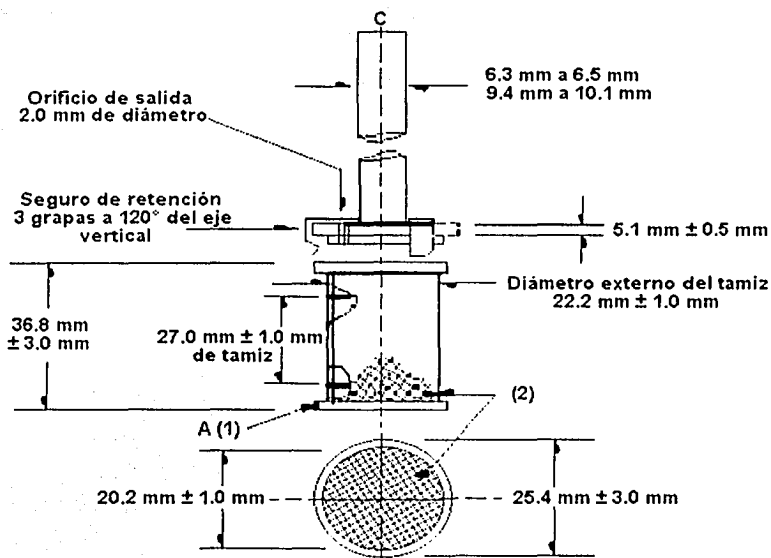


Figura No. 3. "Aparato 1 (Canastilla)"<sup>15</sup>

- (1) El corrimiento máximo permisible de "A" es ± 1.0 mm cuando esta parte es girada sobre el eje C con la canastilla montada.
- (2) Tamiz con malla 40x40, 0.254 mm de diámetro.

#### B) Aparato 2.

El vaso, el baño de agua, el regulador de velocidad y el eje transmisor siguen las mismas especificaciones que el aparato 1, excepto que el diámetro del eje transmisor debe ser de 9.4 mm a 10.1 mm.

<sup>15</sup> Comisión Permanente de la FEUM. Séptima edición. *Ibidem*. MGA0291 p. 246.

El elemento de agitación es una paleta, la cual debe rotar libremente y sin bamboleo.

"La distancia entre el fondo del vaso y la cuchilla, debe mantenerse constante a  $25 \text{ mm} \pm 2 \text{ mm}$  durante la prueba"<sup>16</sup>. La cuchilla pasa a través del diámetro del mango de modo que la sección de 42 mm de la misma quede perpendicular al final del mango, formando una unidad que puede estar recubierta con un material inerte, como puede ser un polímero de fluorocarbono.

La paleta tiene forma de sección de un círculo y cuerdas paralelas subtendidas, quedando la sección más pequeña hacia abajo.

Para mantener la muestra en el fondo del vaso y evitar que flote, se puede utilizar una espiral de material no reactivo, como vidrio o alambre de acero inoxidable".

Las especificaciones de tamaño podemos observarlas en la figura No. 4 (página 14) con más detalle.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

<sup>16</sup> United States Pharmacopeia USP 24/NF 19. Ibidem. <711> Dissolution p. 1942.

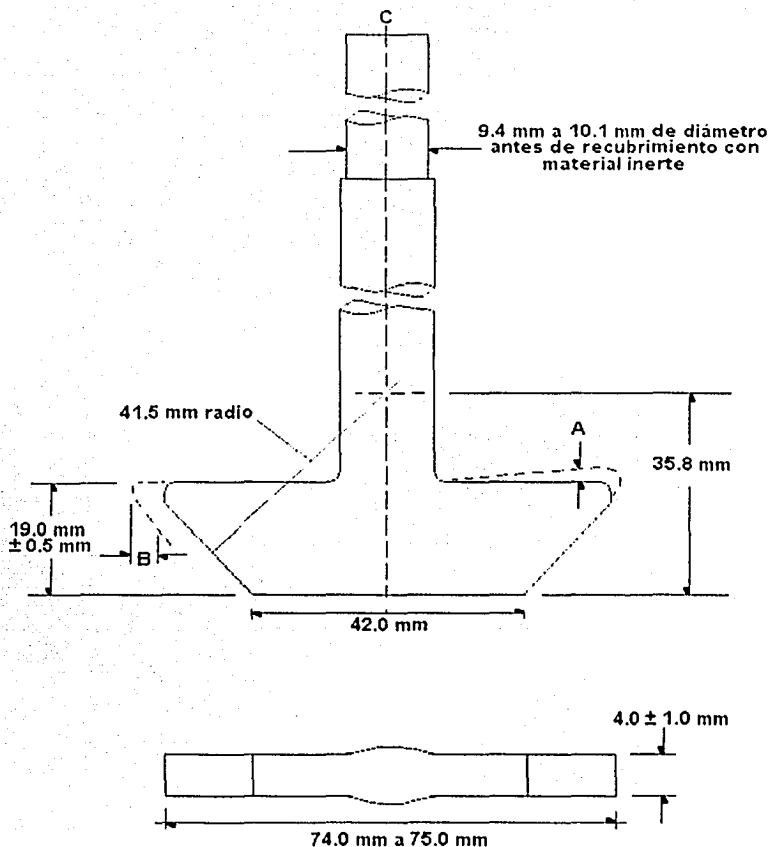


Figura No. 4. "Aparato 2. (paleta)"<sup>17</sup>

(1) Flecha y paleta de acero inoxidable

(2) A y B las dimensiones no varían más de 0.5 mm cuando la parte es girada sobre el eje C.

(3) Las tolerancias son  $\pm 1.0$  mm a menos que se establezca de otra manera.

<sup>17</sup> Comisión Permanente de la FEUM. Séptima edición. Ibidem. MGA0291 p. 247.



En la actualidad existen equipos con múltiples funciones que han sido manufacturados bajo las normas de control de calidad más rigurosas y de acuerdo a las especificaciones establecidas por la USP.

Gracias a la incorporación de componentes más modernos, estos sistemas aseguran un funcionamiento sobresaliente con una gran sensibilidad y magnífica calidad.

El equipo de disolución permite utilizar en una u otra forma los aparatos 1 y 2 descritos por la USP, además de contar con luz en el interior del baño que integra el equipo, de esta forma se puede observar el comportamiento de las disoluciones. Inclusive cuentan con programas de control electrónico en el termómetro que controla la temperatura del baño, en el reloj al contar con alarma de paro audible y en el tacómetro con el cual se controlan las rpm con las que deben girar las canastillas y las paletas. Debido a estos componentes "cuenta con un dispositivo de seguridad que impide el funcionamiento del equipo cuando no tiene el nivel adecuado de agua"<sup>18</sup>.

## 2.4 Medio de disolución

Las características del medio de disolución dependen de las propiedades fisicoquímicas del principio activo y se encuentra especificado dentro de la monografía individual de cada producto.

"El volumen del medio de disolución es generalmente de 500, 900 o 1000 ml y debe encontrarse a una temperatura de  $37 \pm 0.5^\circ \text{C}$ "<sup>19</sup>.

Si el medio de disolución es una solución reguladora, el pH debe ajustarse a 0.05 unidades, los rangos de pH comúnmente utilizados van de 1.2 a 6.8.

Los medios de disolución que tienen un pH de 6.8 simulan la disolución en el fluido intestinal, así como cuando es de 1.2 representa el del fluido gástrico.

<sup>18</sup> Aplicaciones Científicas. Manual de Operaciones: Disolutor ELECSA.

<sup>19</sup> US Department of Health and Human Services, FDA, CDER. Ibidem. p. A-1.2

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

"El uso de agua como medio de disolución ha sido discutido debido a que las condiciones de la disolución pueden verse modificadas por las condiciones de pH y tensión superficial ya que pueden variar dependiendo de la fuente que la genere y así cambiar los resultados durante la disolución, debido a la influencia de ingredientes activos e inactivos"<sup>20</sup>. Sin embargo, el agua sigue siendo el medio de disolución más utilizado en las monografías aprobadas por la USP, debiendo utilizarse en su forma más pura.

Algunos medios de disolución pueden llegar a presentar gases disueltos, por lo que el medio debe ser sometido a un proceso de eliminación.

## 2.5 Agitación y Tiempo

En general, las condiciones de agitación deben ser mantenidas durante todo el proceso de disolución y así lograr una homogenización adecuada del producto en el medio de disolución.

Las condiciones de agitación más comunes son: en el método de canastilla, una velocidad de 50 a 100 rpm; con el método de paleta, una velocidad de 50 a 75 rpm. Estos parámetros se encuentran determinados de igual forma ya para cada producto en su monografía y tienen una especial relación con el tiempo en el cual se efectúa la disolución.

Para productos que son altamente solubles y se disuelven rápidamente, el tiempo de disolución es menor a 45 minutos y requieren menor fuerza de agitación por lo que se realizan con el método de paleta. En el caso de que sean poco solubles en agua y se solubilicen lentamente, el tiempo de disolución va hasta los 60 minutos y requieren de una mayor fuerza de agitación, la cual es proporcionada por el método de canastilla.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

<sup>20</sup> US Department of Health and Human Services, FDA, CDER. *Ibidem* p. A-1

## CAPITULO III.

### FUNDAMENTOS DE LA TECNICA DE ESPECTROFOTOMETRIA UV-VISIBLE

#### 3.1 Principios básicos

La espectroscopia UV – Visible estudia la respuesta a la luz de una muestra, cuando un rayo de luz atraviesa una sustancia o solución, de esta forma, parte de la luz puede ser absorbida y el resto transmitida a través de la muestra. "El ratio de la intensidad de la luz que entra a la muestra ( $I_0$ ), la que sale de la muestra ( $I_t$ ) a una longitud de onda en particular se define como la transmitancia ( $T$ )"<sup>21</sup>. Con frecuencia se expresa en porcentaje de transmitancia (Ecuación 1):

$$\% T = \left( \frac{I_0}{I_t} \right) \times 100$$

La absorbancia ( $A$ ) de una muestra es el logaritmo negativo de la transmitancia, anteriormente conocida como densidad óptica (Ecuación 2):

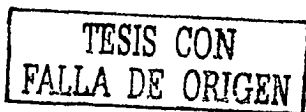
$$A = -\log T$$

El rango del UV-visible se extiende desde la longitud de onda del ultravioleta lejano (175 nm) a más allá del final del rojo visible (900 nm). En el análisis se usa comúnmente el agua (soluciones acuosas) ya que es casi completamente transparente en esta región.

El principio más importante es la Ley de Lambert-Beer, la cual establece que para una solución ideal existe una relación lineal entre la concentración y la absorbancia, teniendo constante el coeficiente de absorptividad molar ( $\epsilon$ ) (llamado antes coeficiente de extinción) característico para cada molécula en cada longitud de onda (Ecuación 3):

$$A = \epsilon c l$$

<sup>21</sup> RA Meyers. *Encyclopedia of Analytical Methods*. Board. USA, 2000. Vol. 2 p. 1701



Donde  $\epsilon$  es la absorptividad de la sustancia,  $c$  es la concentración y  $l$  el espesor finito de la muestra; teniendo como constantes la absorptividad y el espesor (ver Ecuación 3, página 17).

De esta manera, la técnica de espectroscopia es particularmente usada para la cuantificación, ofreciendo una gran flexibilidad y velocidad en instrumentación.

### 3.2 Espectros en la región del UV-Visible

#### 3.2.1 Origen del espectro.

Cuando se hace pasar un haz de radiación electromagnética por una sustancia, esta puede ser absorbida o transmitida, dependiendo de la frecuencia y de la estructura de la(s) molécula(s) que atraviesa generando una transición molecular.

Una molécula que absorbe radiación, gana energía y la cantidad depende de la frecuencia de la radiación, de esta forma a mayor frecuencia mayor ganancia de energía.

La frecuencia no depende del medio a través del cual se propaga la luz, como en el caso de la longitud de onda que si depende del medio, por lo que se genera la siguiente ecuación (Ecuación 4):

$$\lambda \cdot \nu = c$$

Donde  $c$  es la velocidad de la luz al vacío que equivale a  $3 \times 10^8$  m / s,  $\nu$  es la frecuencia y  $\lambda$  la longitud de onda.

La energía absorbida por la molécula está dada por la relación de Planck (Ecuación 5):

$$E = h \nu = h c / \lambda$$

Así la  $h$  representa la constante de Planck con un valor de  $6.626196 \times 10^{-34}$  J s y la  $E$  es la energía absorbida expresada en joules (J).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Los procesos que generan radiación en la diversas partes del espectro se resumen en la siguiente tabla:

**Tabla 1.** "Procesos de Transición por Tipo de Radiación"<sup>22</sup>

<i>Radiación</i>	<i>Proceso</i>	<i>Origen</i>
Rayos X	Transición de electrones internos en un átomo.	Detalles en la estructura electrónica.
UV y Visible	Transiciones de los electrones externos (valencia) en el átomo o molécula.	Detalles en la estructura electrónica y de la energía de enlace en la molécula.
Infrarrojo	Cambios en el estado vibracional-rotacional de la molécula.	Distancias internucleares, constantes de fuerza.
Infrarrojo lejano y microondas	Cambios sólo en el estado rotacional.	Distancias internucleares.
Radiofrecuencia	Cambios en la orientación del espín del núcleo en un campo magnético.	Ambiente magnético del núcleo en rotación a partir del cual se infiere la estructura.

El espectro de un compuesto es entonces un gráfico que indica cuánta radiación electromagnética se absorbe en cada frecuencia, y es altamente característico de su estructura.

La luz de la región UV-Visible es de una frecuencia elevada (mayor energía), ya que cuando es absorbida produce cambios en estados electrónicos que requieren de mayor energía.

La absorción ultravioleta genera pocas bandas anchas descritas en función de la posición del máximo de la banda ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) y de la intensidad de la absorción ( $\epsilon_{\text{máx}}$  = coeficiente de extinción).

El proceso de transición de los electrones externos de un orbital a otro de mayor energía es lo que se conoce como cambio de estado electrónico. Existen electrones  $\sigma$ ,  $\pi$  ó  $n$ ; donde el electrón  $\sigma$  está firmemente sujeto, por lo que

<sup>22</sup> GW Castellan. *Fisicoquímica*. Addison-Wesley Iberoamericana S.A. USA. 1987. p. 617.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

requiere de una gran cantidad de energía para excitarlo; energía correspondiente al ultravioleta lejano.

Las excitaciones que aparecen en el ultravioleta cercano y el visible, corresponden a los electrones  $\pi$  y  $n$ , que están más sueltos y que manifiestan saltos a los estados excitados más bajos, los más estables.

"Las transiciones electrónicas más comunes son:

a)  $n$  a  $\pi^*$  en la que un electrón de un par no compartido pasa a un orbital  $\pi$  (antienlazante e inestable).



b)  $\pi$  a  $\pi^*$  en el que un electrón pasa del orbital  $\pi$  estable (enlazante) a un  $\pi$  inestable<sup>23</sup>.



La conjugación de dobles enlaces reduce la energía requerida de transición por lo que la absorción se desplaza a longitudes de onda mayores. Si contiene suficientes dobles enlaces se desplaza hacia la región visible, pasando a ser un compuesto coloreado.

### 3.2.2 Longitud de Onda del Espectro UV-Visible.

Existen diversos tipos de espectros moleculares con diferentes valores de longitud de onda, en donde encontramos localizada la región UV-Visible, también conocida como espectros electrónicos y en ocasiones espectros ópticos. En la

<sup>23</sup> Morrison y Boyd. Química Orgánica. Addison-Wesley Iberoamericana S.A. USA, 1989. p. 687 y 688.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

siguiente figura podremos observar que longitud de onda corresponde a la región UV- Visible.

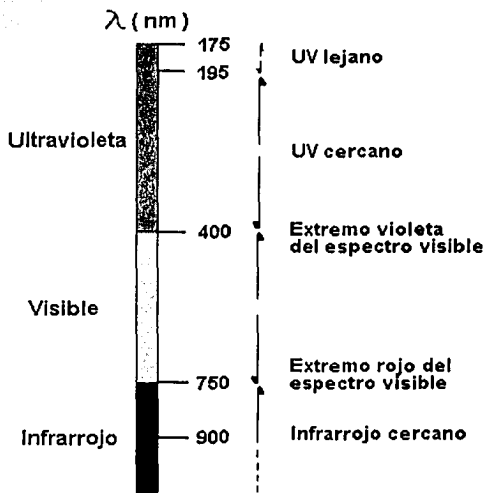


Figura No. 5. Longitud de Onda del Espectro UV-Visible.

Estos rangos son utilizados en los instrumentos de absorción llamados espectrofotómetros. La escala puede variar dependiendo de la calidad y del tipo de componentes que se utilicen en la fabricación de estos instrumentos.

### 3.3 Instrumentos de absorción UV –Visible

Los instrumentos de absorción UV Visible se presentan en dos modalidades: dispersivo y fotodiodo. El diseño en forma dispersiva utiliza un monocromador que se encuentra ubicado antes de la muestra, lo que permite convertir el rayo de luz que atraviesa la muestra en una luz con una longitud de onda sencilla y pura. El monocromador puede ser para longitud de onda fija o

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

variable (por ejemplo un prisma o una rejilla de difracción), este último muy poco usado en nuestros días.

Los instrumentos con más altas especificaciones presentan dos o más monocromadores que se presentan en serie y que permiten un alto grado de ejecución.

### 3.3.1 Espectrofotómetros UV –Visible.

Podemos encontrar cuatro configuraciones ópticas en espectrofotómetros UV – Visible de tipo dispersivo, como son:

- A) Espectrofotómetro de rayo simple,
- B) Espectrofotómetro de doble rayo (detector sencillo) y,
- C) Espectrofotómetro de rayo dual (detector dual).
- D) Espectrofotómetro de fotodiodo

#### A) Espectrofotómetro de rayo simple.

Este diseño contempla la configuración óptica más simple, que consiste en una fuente de luz, un monocromador, el compartimento de la muestra y el detector. Debido a esto, es necesario establecer un valor cero en el instrumento para establecer posteriormente la lectura de la muestra.

Este tipo de instrumento posee las especificaciones más pobres que el resto de los diseños, además de presentar un costo bajo por su sencillez. De esta forma, al ser el modelo más barato ofrece una resolución de espectros muy baja.

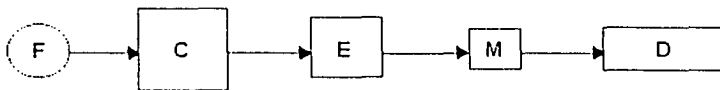


Figura No. 6. Diagrama conceptual del Espectrofotómetro de Rayo Simple.  
F =Fuente de luz, C =Monocromador, E =Hendidura de entrada, M =Muestra y D =Detector.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



### B) Espectrofotómetro de doble rayo.

Posee un detector sencillo, usualmente un fotomultiplicador. El rayo de luz es desviado alternativamente através de la muestra y de la muestra de referencia usando una hendidura de entrada rotatoria en forma circular. El detector se encuentra sincronizado con los rayos y de esta forma distingue la medición que está realizando entre el rayo de la muestra o el de referencia al mismo tiempo.

El detector recibe señales de completa oscuridad, la cual se conoce como corriente oscura, dando como resultado que temporalmente los rayos de luz sean bloqueados creando una señal residual que es medida y eliminada de la medición de la muestra y la referencia.

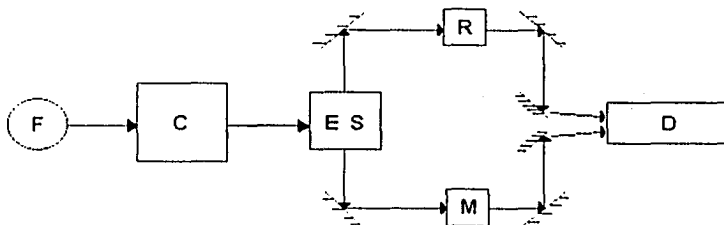


Figura No. 7. Diagrama conceptual del Espectrofotómetro de Doble Rayo.  
F =Fuente de luz, C =Monocromador, E =Hendidura de entrada, S =Divisor del rayo,  
M =Muestra, R =Referencia y D =Detector.

Este diseño presenta una precisión mucho más alta en comparación con el diseño de rayo simple.

### C) Espectrofotómetro de rayo dual.

El diseño del espectrofotómetro de rayo dual es una alternativa del diseño de doble rayo, ya que cada rayo posee su propio detector. De esta forma da resultados equivalentes comparados con los del diseño de doble rayo.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Los detectores usados se presentan en estado sólido, por lo que no hay necesidad de utilizar una fuente de poder de alta tensión para proveer el alto voltaje (alrededor de 1000 V) que requieren los fotomultiplicadores.

Su única debilidad es que posee una alta absorbancia (AU), pero esto puede cambiar si se utiliza una celda más corta de largo.

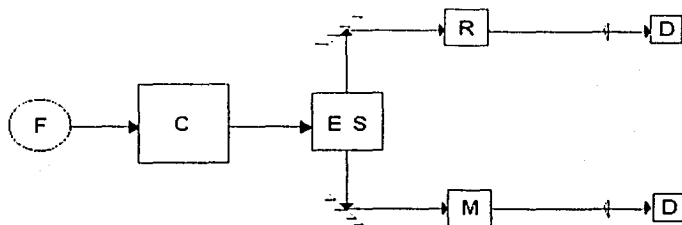


Figura No. 8. Diagrama conceptual del Espectrofotómetro de Rayo Dual.  
F =Fuente de luz, C =Monocromador, E =Hendidura de entrada, S =Divisor del rayo,  
M =Muestra, R =Referencia y D =Detector (fotodiodo).

La hendidura de entrada que se representa en las Figuras 7 y 8 poseen el ensamble que tiene la porción en negro que genera la corriente oscura, como se muestra en la siguiente figura:

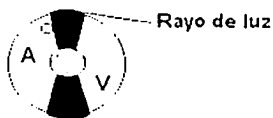


Figura No. 9. Ensamble de la Hendidura de Entrada con la porción en negro.  
A = Abierto y V = Espejo.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

#### D) Espectrofotómetro de fotodiodo.

Este tipo de diseño se encuentra disponible desde 1980 y es básicamente un instrumento de rayo simple pero la muestra es irradiada directamente con luz blanca, la cual después de pasar la muestra es dispersada por un monocromador de dispersión (también conocido como policromador) hacia un detector especial en estado sólido que posee segmentos individuales, una para cada longitud de onda.

Sin embargo presenta algunas desventajas como son: sigue siendo un instrumento de rayo simple, está propenso a errores en muestras de fluorescencia, ya que la radiación de la muestra es en todas las longitudes de onda y cualquier fluoróforo presente sería excitado, de igual manera, cualquier superficie no paralela en la muestra afectaría la dispersión del rayo en los elementos individuales.

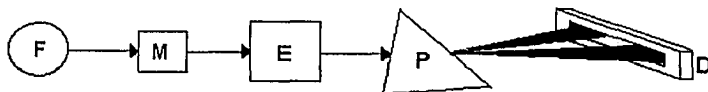


Figura No. 10. Diagrama conceptual del Espectrofotómetro de Fotodiodo.  
F =Fuente de luz, M =Muestra, E =Hendidura de entrada, P =Policromador y D =Detector.

Todos los diseños de espectrofotómetros deben estar situados en un lugar libre de vibración, de vapores y polvo del medio ambiente; así mismo, con un bajo índice de humedad y a una temperatura con la mínima variación para prolongar su vida.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### 3.3.2 Componentes de los espectrofotómetros

#### A) Fuente de luz.

Para un instrumento UV-Visible, la fuente de luz debe cubrir adecuadamente el rango del espectro con una intensidad suficiente y un rendimiento estable. Frecuentemente se utilizan las lámparas de deuterio y los filamentos de tungsteno, "empleados en las regiones con longitud de onda más baja (180-350 nm) y la más alta (330-900 nm), respectivamente"<sup>24</sup>.

Para longitudes de onda en regiones más altas, es posible utilizar lámparas de cuarzo con halógeno, compuestas de un filamento de tungsteno en una atmósfera de halógeno dentro de la lámpara de cuarzo. De esta forma, es posible operar a temperaturas altas, "ya que la atmósfera de halógeno prolonga la vida de la lámpara debido a que reacciona con los vapores de tungsteno evitando así el ennegrecimiento de la cubierta"<sup>25</sup>.

Los arcos de xenón de alta intensidad también pueden ser empleados cubriendo completamente la región, desde 175 a 1000 nm, sin embargo generan demasiado calor debido a su rendimiento de salida que es de 100 W. Otra alternativa, es el uso de láser el cual emite una radiación intensa pero produce una cantidad reducida de calor, además de que pueden ser eliminados los monocromadores.

#### B) Monocromadores.

Los monocromadores más sencillos- consisten en un prisma o una rejilla de difracción rotatoria junto con varios espejos que guían el rayo de luz desde su entrada hasta la hendidura de salida.

<sup>24</sup> JC Lindon, GE Tranter, JL Holmes. *Enciclopedia de Espectroscopia y espectrometría*. Academic Press. USA, 2000. Vol. 3 p. 2385.

<sup>25</sup> *Idem*.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

"El tamaño de la hendidura a través del cual la luz es concentrada, unido a la dispersión del monocromador, se determina el "espectro de banda ancha" (SBW) que produce la luz"<sup>26</sup>.

Los monocromadores sencillos pueden alcanzar un SBWs de 5 a 10 nm, mientras que la espectroscopia exacta del SBWs es del orden de 1 nm o menos, estos pueden ser apropiados, sin embargo los monocromadores en serie pueden reducir el SBW y mejorar su funcionamiento, con una inminente baja en la intensidad de la luz. También puede mejorar el SBW aumentando las dimensiones del monocromador, de esta forma la dispersión de la luz llega a ser más larga.

Las rejillas de difracción pueden ser ajustadas para dar un SBW independiente de la longitud de onda, en cambio, la dispersión de un prisma es altamente dependiente de la longitud de onda, requiriendo así un mecanismo de rotación.

### **C) Compartimiento de la muestra.**

La mayoría de los fabricantes otorgan un espacio ancho para el manejo de la muestra, algunos con sujetadores, agitadores y autocambiadores de celdas.

Independiente de la construcción de las celdas, se deben dar resultados confiables, por lo que su posición en el compartimiento tiene que ser fija y con una orientación adecuada de la superficie con respecto al rayo de luz y al detector para generar una buena y difusa reflectancia.

El tipo de material de la celda o cubeta y el solvente que se utiliza en la solución de la muestra son importantes para obtener también buenos resultados.

<sup>26</sup> JC Lindon, GE Tranter, JL Holmes. *Ibidem*. Vol. 3 p 2385

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### a. Cubetas.

Se pueden encontrar en el mercado cubetas de vidrio óptico y de cuarzo. Las de vidrio óptico transmiten la luz arriba de los 320 nm, mientras que las de cuarzo lo hacen por debajo de los 190 nm.

Existen también otras alternativas, fabricadas de diversos plásticos como el poliestireno y el acrílico, sin embargo presentan una desventaja importante ya que presentan un rango de longitud de onda restringida y un funcionamiento óptico muy bajo.

Las cubetas comúnmente presentan un tamaño de 1 cm de distancia de largo, sin embargo es posible encontrar de forma cilíndrica, microceldas, entre otras; además de presentar diferentes largos que pueden ir de 0.001 a 10 cm, donde el principal problema es una absorción excesiva o demasiado pequeña, lo que presenta complicaciones en la cuantificación.

En la figura No. 11 se muestran algunas características de transmisión de la luz para algunos materiales.

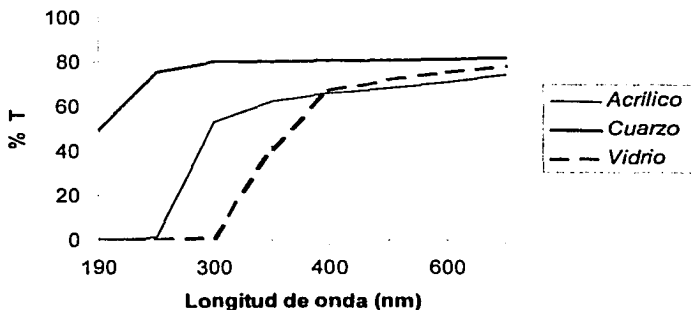


Figura No. 11. Transmisión de la luz de varios materiales de cubetas.

## b) Solventes.

El mejor solvente es el que es capaz de solubilizar por completo el soluto, es inerte y no interactúa con el soluto causando alguna perturbación en su estructura electrónica para no modificar la absorción de la muestra.

"Algunas veces se puede utilizar un solvente con alto poder para solubilizar, como el agua, etanol, etc. Estos deben tener un alto grado de pureza porque la presencia de impurezas puede afectar el espectro, reaccionando con el soluto o absorbiendo en su misma longitud de onda"<sup>27</sup>.

De todos los solventes, el agua absorbe en la región más baja, puede presentar algunas variaciones dependiendo de su fuente.

En la siguiente tabla se puede observar la longitud de onda máxima para algunos solventes.

**Tabla 2.**  $\lambda_{\text{máx}}$  para Diferentes Solventes

<i>Solvente</i>	<i>Longitud de onda máx. (nm)</i>
Agua	165
Acetonitrilo (grado espectroscopia)	190
Hexano	199
Heptano	200
Isoctano	202
Dietil éter	205
Etanol	207
2 - Propanol	209
Metanol	210
Ciclohexano	212
Acetonitrilo (grado químico)	213
Dioxano	216
Diclorometano	233
Tetrahidrofurano	238
Triclorometano	247
Cloroformo	250
Tetraclorometano	257
Dimetilsulfóxido	270
Dimetilformamida	271
Benceno	280
Piridina	306
Acetona	330
Propanona	331

<sup>27</sup> JC Lindon, GE Tranter, JL Holmes. *Ibidem*. Vol. 1 p. 217

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

#### **D) Detector.**

Los detectores más comunes en los espectrofotómetros UV-Visible son: el tubo fotomultiplicador (PMT) o el diodo de silicón.

El PMTs tiene una gran sensibilidad y es el más utilizado en instrumentos que se utilizan en las áreas de investigación. Sin embargo, el diodo de silicón es más pequeño y más barato, además de no requerir altos voltajes como los PMTs.

#### **3.4 Desviaciones a la Ley de Beer-Lambert.**

La relación entre la concentración de la muestra y la absorbancia es lineal, como lo menciona la Ley de Beer-Lambert, por lo que cualquier causa que genere una no-linealidad es una desviación a la Ley y por tanto produce variaciones en las lecturas.

Una de las principales razones de desviación es el fenómeno de luz extraviada. "Hay cinco fuentes potenciales de luz extraviada: a) muestras con fluorescencia/fosforescencia/luminiscencia, b) ambiente de luz dentro del instrumento, c) transmisión de luz desde la muestra (reflectancia), d) imperfecciones en los monocromadores y fuente de luz, y e) imperfecciones en el detector óptico"<sup>28</sup>.

En el primer caso, la emisión de la muestra es causada por fenómenos moleculares específicos que producen una mayor cantidad de luz, lo que da como resultado una longitud de onda más alta que la normal.

En el segundo y tercer caso, son generadas por un pobre diseño del instrumento, ya que el compartimiento debe asegurar que solo la luz que incide en la muestra se extienda al detector.

En los últimos dos casos, con el cuidado y mantenimiento adecuados del instrumento, este tipo de imperfecciones es minimizado, sin embargo, es inevitable

---

<sup>28</sup> JC Lindon, GE Tranter, JL Holmes. *Ibidem*. Vol. 3 p. 2386



que suceda tarde o temprano, además de ser importante la calidad de los componentes.

Otras causas de no-linearidad son los fenómenos químicos específicos de las muestras, como son: el pH, la variación de temperatura, la fuerza iónica, la polaridad del solvente, y la turbidez, entre otras.

El pH es muy importante en las soluciones acuosas, ya que puede ocasionar cambios en el espectro UV-Visible, como el tautomerismo que se produce en el equilibrio enol-ceto, inclusive puede ocasionar que algún grupo funcional que absorbe luz en la molécula modifique su longitud de onda.

La variación de temperatura puede conducir a cambios en la absorbancia de la muestra, debido a cambios en la energía de activación de la molécula.

La fuerza iónica de una solución es importante, sobre todo cuando contienen iones y alguna otra molécula, la cual puede llegar a interactuar y modificar la absorción de la luz incidente.

El uso de solventes de baja polaridad es frecuente debido a que no interfieren en la formación y descomposición de diferentes especies. Sin embargo, hay ocasiones en que solventes de alta polaridad son utilizados ya que incrementan la solubilidad de algunos solutos o afectan también la energía de activación, por esta razón el escoger el solvente más adecuado es muy importante.

Por último, la turbidez de una sustancia disminuye la cantidad de luz que llega al detector y genera datos falsos de absorbancia. Este fenómeno es relativamente fácil de observar en una solución y difícilmente aparece si nuestro procedimiento es el adecuado.

### **3.5 Técnica cuantitativa con una longitud de onda sencilla.**

Este método de cuantificación es usado en mediciones de absorción más que en cualquier otra técnica que tiende a requerir más datos que una sola longitud de onda, por lo que es comúnmente usada en espectros UV-Visible. "La

absorbancia de una solución con una concentración conocida (estándar), su lectura se compara con la absorbancia de una muestra con una concentración que necesita ser determinada. Entonces, si  $A_{mta}$  es la absorbancia de la muestra y  $A_{std}$  es la absorbancia del estándar y  $C_{std}$  es la concentración del estándar y la concentración de la muestra,  $C_{mta}$  se obtiene de la siguiente ecuación<sup>29</sup> (Ecuación 6):

$$C_{mta} = A_{mta} \times C_{std} / A_{std}$$

Cuando la concentración de las muestras varía en un cierto rango, es necesario generar una curva de calibración estándar y verificar que el coeficiente de regresión lineal sea lo más cercano a 1.

"Las muestras pueden contener otros compuestos que absorban en la misma longitud de onda e interfieran con la medición"<sup>30</sup>, entonces la cuantificación a través de longitud de onda sencilla es inadecuado y debe recurrirse a otro tipo de técnicas.

### 3.6 Verificación del instrumento.

La verificación del espectrofotómetro se lleva a cabo para asegurar el adecuado funcionamiento del instrumento y obtener datos confiables durante las mediciones que genera dentro de un análisis en particular.

Una verificación completa no es necesaria, a menos que el instrumento haya sido reparado o la lámpara haya sido cambiada.

Este tipo de instrumentos debe ser chequeado regularmente. La escala de longitud de onda se puede verificar mediante una serie de líneas de emisión que descarga la lámpara o a través de filtros estándar certificados (SRM).

<sup>29</sup> JC Lindon, GE Tranter, JL Holmes. *Ibidem*. Vol. 3 p. 1932

<sup>30</sup> *Idem*.

Generalmente, el método por filtros es el más común. Se pueden encontrar filtros de óxido de holmio y de óxido de didimio, estos tienen picos muy pronunciados en ciertas longitudes de onda, por esto considerados estándares de absorbancia por el Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST), además de que poseen una densidad neutral.

Otras alternativas que existen son las soluciones que contienen iones de lantánidos o el estándar de empleo más antiguo para la calibración de la escala de absorbancia, el dicromato de potasio

Cheques adicionales tales como, luz extraviada y ruido son ventajosos. En la actualidad la mayoría de los instrumentos cuentan con programas especiales para checar el funcionamiento del instrumento como mantenimientos de rutina.

## CAPITULO IV.

### VALIDACION

#### 4.1 Definición y objetivos.

"La validación es un programa documentado que proporciona un alto grado de aseguramiento para un proceso específico, método o sistema determinado que produce resultados de manera consistente dentro de criterios de aceptación pre-determinados."<sup>31</sup>

De esta forma la validación es parte integral del aseguramiento de calidad y fundamental para la eficiente operación de la producción.

La validación es más que un concepto ya que está formado por diversos elementos que es necesario cubrir con diversas actividades y que requieren esencialmente de una estrategia clara. Por tanto, la validación es total y debe llevarse acabo a las materias primas, a los procesos de manufactura, a sistemas relacionados y en círculo completo hasta el análisis del producto terminado, así la validación es el resultado de un trabajo en equipo.

Los objetivos por los cuales se debe desarrollar una validación son:

- A) Cumplir con reglamentaciones oficiales y normas legales.
- B) Asegurar la funcionalidad del proceso y calidad del producto.
- C) Reducir los costos de operación.
- D) Conocer a fondo la operación del proceso.

Entonces un proceso validado es aquel que ha sido probado y formalmente aprobado, además de cumplir con los estándares de calidad requeridos y que puede ser utilizado con seguridad al ser evaluado objetivamente.

---

<sup>31</sup> ICH Steering Committee. Q7A Good Manufacturing Practice Guide for API. Nov, 2000. p. 44.

## 4.2 Categorías de la Validación

La validación puede ser categorizada de acuerdo a su objetivo o al tiempo en que es ejecutada.

Las categorías por objetivo son las siguientes:

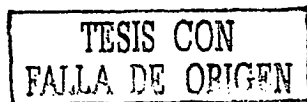
- A) Consistencia del proceso.** Es cuando un proceso es operado de acuerdo a un procedimiento de manufactura, el cual produce un producto que se encuentra dentro de sus especificaciones de manera consistente. Los lotes que son presentados durante el proceso de validación son referidos como calificación de lotes. Este tipo de resultados se utilizan en la obtención de licencias y se utilizan lotes preferiblemente consecutivos.
  
- B) Validación para acreditación.** “Es la demostración de que un proceso elimina o inactiva impurezas relacionadas al proceso y/o al producto dentro de niveles aceptables”<sup>32</sup>. Impurezas típicas que comprenden son virus, retrovirus, entre otras.
  
- C) Validación de rangos de operación.** “Cualquier proceso operado dentro de rangos establecidos como parámetros de operación críticos, generan un producto que se encuentra dentro de sus especificaciones”<sup>33</sup>. Como parámetros de operación críticos podemos mencionar el pH, la temperatura, niveles de oxígeno disuelto, entre otros. El último de los límites favorables se le conoce como el peor de los escenarios.

Las categorías de acuerdo al tiempo en el que se llevó a cabo el estudio de validación son manejadas con respecto a la distribución comercial del producto, que a continuación se enlistan:

---

<sup>32</sup> G Sofer, DW Zabriskie. *Biopharmaceutical Process Validation*. Marcel Decker, 2000. p. 4.

<sup>33</sup> *Idem*.



- a) **Validación Prospectiva.** Se lleva a cabo en todos los procesos y debe desarrollarse y terminar antes de la distribución comercial del producto terminado.
  
- b) **Validación Concurrente.** Se presenta cuando la producción no es frecuente, cuando un número limitado de lotes ha sido producido, o cuando se ha producido una modificación en el proceso. El producto utilizado para llevar a cabo este tipo de validación puede ser distribuido comercialmente previamente monitoreado y analizado.
  
- c) **Validación Retrospectiva.** Esta se genera de procesos de producción bien establecidos que no han presentado cambios significativos. Los lotes utilizados deben ser representativos para demostrar la consistencia del proceso. Las muestras de retención pueden ser utilizadas para obtener datos en este tipo de validación.

#### 4.3 Elementos de Validación

"La validación de un proceso requiere de la calificación de cada elemento, su importancia es relativa ya que depende del proceso"<sup>34</sup>. Elementos de soporte y manufactura son considerados comúnmente como lo podemos observar en la siguiente figura (Figura No. 12 página 37).

---

<sup>34</sup> FJ Cartenton, JP Agalloco. *Validation of Pharmaceutical Process*. Marcel Decker, 1999. p. 3.

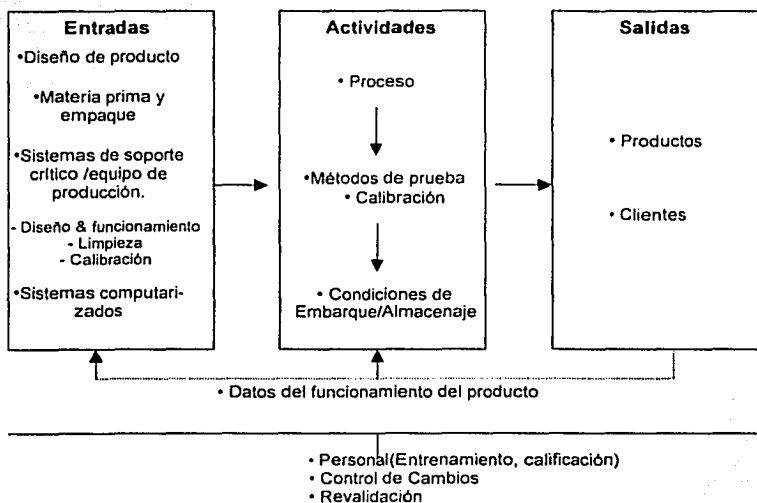


Figura No. 12. Modelo del proceso de manufactura.

Es una realidad que todos los elementos deben ser validados sin importar cuál fue primero o el último, esto depende del proceso pero también del equipo de validación que realiza el estudio. Este debe coordinar y planear adecuadamente las actividades a realizar y debe estar conformado por personal calificado de cada una de las disciplinas que estén involucradas en el estudio.

Debido a la cantidad de elementos que son estudiados, la documentación que se genera es considerable y por tanto requiere de organización.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

#### 4.4 Organización de la Validación

Se pueden encontrar diferentes modelos de organización, sin embargo los productos que se generan son siempre los mismos, claro que presentan algunas diferencias en la descripción. En la siguiente figura se muestra un ejemplo de como organizar la documentación en una validación:

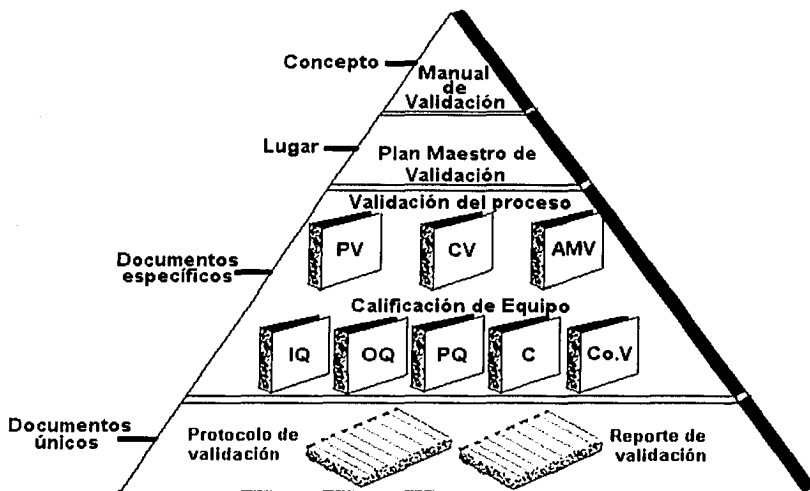


Figura No. 13. Modelo de Organización de la Documentación en las Validaciones.  
PV = Validación del proceso, CV = Validación de limpieza, AMV = Validación de Métodos Analíticos, IQ = Calificación de la Instalación, OQ = Calificación de la Operación, PQ = Calificación del Funcionamiento, C = Calibración, Co.V = Validación de computadoras.

De esta forma, cada elemento del proceso ha sido validado y por consecuencia ha sido probado y aprobado, además de generar un paquete de validación con una estructura definida.



#### **4.4.1 Manual de Validación**

El Manual de Validación describe el Procedimiento Estándar de Operación (SOP) para realizar validaciones, para asegurar la comparabilidad de los estudios. En su contenido debe aparecer la Política de Validación cubriendo los puntos de organización, responsabilidades y definiciones, así mismo los principios para realizar las validaciones prospectiva, concurrente y retrospectiva.

#### **4.4.2 Plan Maestro de Validación**

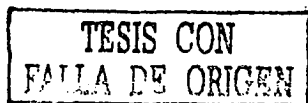
El Plan Maestro de Validación es la aplicación de la política general de validación en documentos que se encuentran en un lugar específico. Estos documentos son una herramienta para las validaciones con procedimientos y responsabilidades determinadas.

##### **4.4.2.1 Validación y Calificación de SOPs.**

Los detalles para todas las actividades de validación y calificación se describen en un Procedimiento Estándar de Operación, el cual se encuentra dividido en procedimientos para equipos y para actividades relacionadas con el proceso, esto se puede observar en la Figura No. 13 página 38. Así los SOPs son considerados una guía para la realización de una validación.

Los puntos que se generan con relación a los equipos son los siguientes:

- A) Calificación de la Instalación.** Este es un proceso documentado en el cual los componentes físicos de un equipo cumplen con los atributos de calidad y especificaciones de acuerdo al diseño y que ha sido instalado adecuadamente. Generalmente hay participación del proveedor junto con el departamento que va a operar el equipo, además de personal de



Ingeniería y Mantenimiento que proveen las condiciones adecuadas para situar el equipo y generar su plan de mantenimiento preventivo.

**B) Calificación de la Operación.** Es una parte complementaria a la calificación de la instalación y durante el desarrollo de esta fase se evalúa la operación del sistema en base a las especificaciones de su diseño, los datos generados son analizados y documentados.

**C) Calificación del Funcionamiento.** Es cuando el equipo se encuentra participando dentro de un proceso, por lo que se debe calificar su funcionamiento como elemento del proceso, un ejemplo de ello cuando se encuentra dentro del Laboratorio de Control de Calidad y es incluido en el programa de calificación de equipos como parte de una validación de métodos analíticos.

**D) Calibración.** Toda aquella actividad que es crítica para asegurar la calidad de un producto y en la que participe un equipo o instrumento, estos deben ser calibrados usando estándares certificados o rastreables, estos datos deben mantenerse y verificarse para detectar algún tipo de desviación y así checar su impacto y generar acciones inmediatas.

**E) Validación de Computadoras.** Todo sistema computarizado que se utilice debe tener un adecuado hardware y software para tener un funcionamiento óptimo. Así deben existir manuales de operación para su uso y mantenimiento, ya que la calidad de los datos que genere es importante.

Los procedimientos estándar de operación para las actividades relacionadas con el proceso, son las siguientes:

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

- a) **Validación del Proceso.** Es la validación de aquellas actividades que tienen relación con la manufactura de un producto y puede tener varios escenarios dependiendo de la complejidad del proceso. El documento que genera es una herramienta útil para indentificar desviaciones y localizar puntos críticos.
  
- b) **Validación de Limpieza.** Como su nombre lo indica se relaciona con todas las actividades de limpieza en áreas o equipos, debido a que es un factor muy importante durante la fabricación de productos ya que se debe evitar toda situación o proceso de contaminación que pueda afectar la calidad del producto.
  
- c) **Validación de Métodos Analíticos.** Se utiliza para demostrar que los procedimientos analíticos proveen resultados que permiten evaluar objetivamente la calidad de un producto. Estos deben probar su precisión, linealidad, exactitud y especificidad, además que todo aquel equipo o instrumento que participe durante la prueba debe ser calibrado para asegurar la confiabilidad de los resultados.

#### **4.4.2.2 Protocolo y Reporte de Validación.**

Son documentos únicos que se basan en el SOP, los protocolos incluyen el objetivo del estudio de validación, una descripción detallada del procedimiento, los criterios de aceptación y las responsabilidades. Estos requieren de aprobación.

Cuando el estudio de validación se ha terminado, "se elabora un reporte de validación en donde se resume y discuten los resultados obtenidos a la luz de los criterios de aceptación predefinidos"<sup>35</sup>.

---

<sup>35</sup> G Sofer, DW Zabriskio. *Ibidem*. p. 20.

#### 4.5 Control de Cambios

El estatus de la validación debe ser mantenido por un apropiado sistema de control de cambios, el cual evalúa el impacto en la calidad de todos los cambios que pueden afectar la producción de un producto durante y posterior a su fabricación, de tal forma que es un proceso continuo que debe mantenerse durante toda la vida de operación de cualquier proceso.

Es necesario un procedimiento de clasificación como ayuda para determinar el nivel de prueba, validación y documentación necesaria para justificar el cambio en un proceso ya validado.

Los cambios pueden ser clasificados en mayor o menor dependiendo de la naturaleza del cambio y de los efectos que imparte en el proceso, siendo responsables personal de Aseguramiento de Calidad, Manufactura y Control de Calidad acompañados si es necesario de gente de Ingeniería y/o Servicios Técnicos.

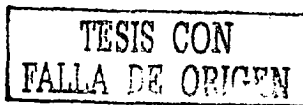
Cuando el análisis realizado considera que el cambio no afecta la calidad, se documenta para se incluída en la Evaluación Anual del Producto, sin embargo si se considera necesario verificar el cambio un proceso de revalidación se lleva a cabo.

#### 4.6 Revalidación

Se define como una "repetición parcial o completa de un programa de validación alrededor de un equipo o proceso"<sup>36</sup>. La operación de sistemas y procesos deben ser verificados periódicamente.

Los resultados deben documentarse en un reporte de validación, lógicamente debe existir un protocolo como antecedente de la operación realizada.

<sup>36</sup> G Sofer, DW Zabriskie. *Ibidem*. p. 21



Podemos encontrar tres tipos de revalidación que a continuación se describen:

- A) Revalidación Periódica.** No se requiere que un proceso completo sea revalidado si este no ha sufrido cambios. Sin embargo, en base a un análisis de riesgo algunos pasos del proceso pueden ser críticos en la operación, siendo así estos deben ser verificados periódicamente. Esto debe encontrarse definido dentro del Procedimiento Estandar de Operación.
- B) Revalidación Después de Cambios.** Esta se lleva a cabo como parte del Sistema de Control de Cambios, cuando ha sido determinado que el cambio afecta cualquiera de las siguientes características del producto: identidad, calidad, pureza, potencia, seguridad o eficacia.
- C) Revalidación por Desviaciones de Calidad.** Algunas desviaciones pueden requerir de acciones correctivas y por ende una revalidación posterior. Como ejemplos se pueden encontrar :
- 1) Desviaciones en los procesos de producción,
  - 2) Tendencia adversa observada,
  - 3) Desviaciones en las especificaciones analíticas, o
  - 4) Mal funcionamiento de equipos.

En la Figura 14 que se encuentra en la página 44, se encuentra un modelo que describe el concepto de revalidación, ofreciendo un panorama general para la toma de decisiones.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

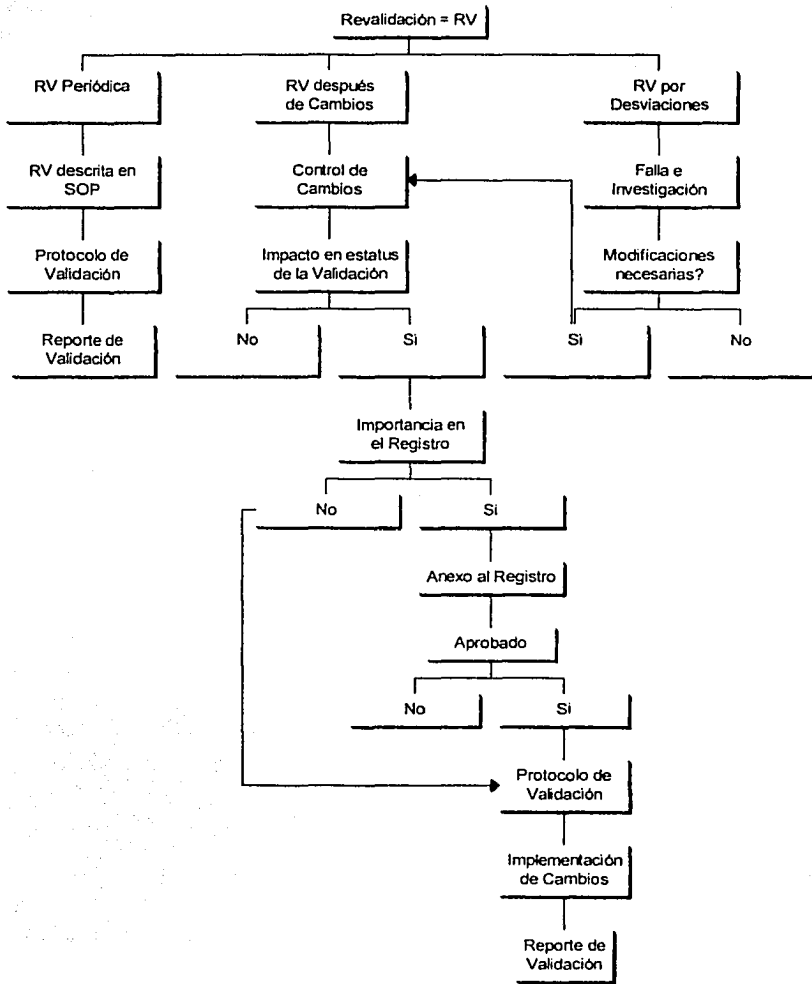


Figura No. 14. Modelo de Toma de Decisión para Revalidación

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## **CAPITULO V.**

### **VALIDACION DE METODOS ANALITICOS**

Como han podido observar en el Capitulo IV, los métodos analíticos forma parte del proceso de manufactura, convirtiéndose en un elemento importante y como tal debe ser evaluado a través del proceso de validación para demostrar que el procedimiento analítico es adecuado para ser usado con la seguridad de que cumple con las especificaciones requeridas.

La validación puede dividirse en tres etapas:

- a) Identificación de los parámetros apropiados de validación.
- b) Procedimiento de evaluación.
- c) Análisis de los resultados.

La validación es única para cada método y debe ser consistente con el propósito del mismo, el principio activo que se va a determinar y los excipientes que contiene la formulación, así mismo debe generar su protocolo y reporte de validación correspondiente.

#### **5.1 Tipos de métodos analíticos**

Los métodos pueden clasificarse en cuatro clases dependiendo de su aplicación:

- A) Identificación: Destinados a asegurar la identidad de una muestra, mediante la comparación con un estándar de referencia.
- B) Pruebas de impurezas: Pueden ser de tipo cuantitativo o una prueba de límite de impurezas, cualquiera de estas establecen las características de pureza de la muestra, sin embargo requieren de diferentes parámetros de validación.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

- C) **Ensayos:** Representa una medición cuantitativa de una sustancia, como puede ser el ingrediente activo o algún otro elemento de la formulación.
- D) **Pruebas específicas:** Utilizadas para el control de ciertas características de una muestra, excipiente o producto, como pueden ser el método de difracción de rayos-X, tamaño de partícula y rotación óptica, entre otras.

El objetivo del método analítico debe ser entendible y claro para que se puedan determinar los parámetros de validación que necesitan ser evaluados.

## 5.2 Parámetros de Validación

Encontramos como parámetros de validación los siguientes, que se detallaran más adelante:

- |  |                            |
|--|----------------------------|
| - Exactitud  | - Límite de cuantificación |
| - Precisión (repetibilidad y precisión intermedia) | - Linealidad               |
| - Especificidad                                    | - Tolerancia               |
| - Límite de detección                              | - Rango                    |

En base al propósito del método le corresponden ciertos parámetros de validación, esta relación se puede observar con más detalle en la Tabla 3 de la página 47:

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



**Tabla 3. "Parámetros de Validación por Tipo de Método Analítico"<sup>37</sup>.**

Tipo de método / Parámetro	Identificación	Impurezas		Ensayo Disolución (contenido/potencia)	Pruebas Específicas
		Cantidad	Límite		
Exactitud	-	+	-	+	+ <sup>4</sup>
Precisión- Repetibilidad	-	+	-	+	+ <sup>4</sup>
Precisión- Pre-Intermedia	-	+ <sup>1</sup>	-	+ <sup>1</sup>	+ <sup>4</sup>
Especificidad	+ <sup>2</sup>	+	+	+ <sup>5</sup>	+ <sup>4</sup>
Límite de Detección	-	- <sup>3</sup>	+	-	-
Límite de Cuantificación	-	+	-	-	-
Linealidad	-	+	-	+	-
Rango	-	+	-	+	-
Tolerancia	-	+	- <sup>3</sup>	+	+ <sup>4</sup>

**Notas:**

( - ) Parámetro no evaluado.

( + ) Parámetro a ser evaluado.

- 1 En caso de que la reproducibilidad haya sido realizada, la precisión intermedia no es necesaria.
- 2 A falta de especificidad en un método analítico, esta puede ser compensada agregando un segundo método.
- 3 Puede ser necesario en algunos casos.
- 4 Puede no ser necesario en algunos casos.
- 5 A falta de especificidad en un ensayo, esta puede ser compensada por una prueba de impurezas.

La Tabla de Parámetros de Validación por Tipo de Método Analítico constituye una guía apropiada, para dar al analista un soporte técnico adecuado durante la validación de cualquier método, cabe señalar que en la aplicación de los criterios de evaluación prevalecerá ante todo el criterio del analista.

<sup>37</sup> US Department of Health and Human Services, FDA, CDER. *Guidance for Industry: Analytical Procedures and Methods Validation* Marzo, 2001. p. 16 y 17

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

### 5.3 Definición y Metodología de los Parámetros de Validación

#### 1. Exactitud

Es la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia, debe ser establecido a través de un rango específico en el procedimiento. Existen varios métodos para determinar la exactitud:

- Realizar mezclas sintéticas con cantidades conocidas de los componentes de un producto para ser analizadas, conocido como porcentaje de recobro.
- En caso de que sea imposible obtener muestras de todos los componentes de un producto, puede ser aceptable añadir una cantidad conocida de la sustancia a analizar al mismo producto y comparar resultados con un segundo análisis, esto requiere de un procedimiento independiente.
- Puede ser inferido una vez que la linealidad, precisión y especificidad han sido establecidos.

Para obtener resultados óptimos es necesario realizar un mínimo de 9 determinaciones cubriendo un mínimo de 3 diferentes concentraciones. (por ejemplo, 3 concentraciones / 3 análisis). Estos deben encontrarse en los rangos establecidos por tipo de método, los cuales se muestran a continuación:

**Tabla 4.** Rangos de Porcentaje de Recobro y Coeficiente de Variación por Método.

<i>Método</i>	<i>Porcentaje de Recobro</i>	<i>Coefficiente de variación</i>
Cromatográficos	98 – 102 %	≤ 2 %
Titrimétricos	98 – 102 %	≤ 2 %
Químicos y espectrofotométricos	97 – 103 %	≤ 3 %
Microbiológicos	95 – 105 %	≤ 5 %

**Nota:** Para suspensiones y semisólidos se acepta una ampliación del 1% en el rango del porcentaje de recobro y un  $CV \leq 3\%$ .

## **2. Precisión**

Es el grado de concordancia entre los resultados de diferentes muestreos de un producto homogéneo. Esta puede ser considerada en tres niveles: repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad.

También puede utilizar muestras preparadas sintéticamente o una solución de la muestra.

Usualmente se expresa como varianza, desviación estándar o coeficiente de variación de la serie de mediciones efectuadas.

- a) **Repetibilidad:** Es la precisión de un método bajo las mismas condiciones de operación en un corto intervalo de tiempo, mediante determinaciones independientes. Se pueden utilizar dos procedimientos diferentes:
  - realizar un mínimo de 9 determinaciones cubriendo un mínimo de 3 diferentes concentraciones, o
  - realizar un mínimo de 6 determinaciones a una concentración del 100%.
- b) **Precisión Intermedia:** Es la precisión de un método en base a determinaciones realizadas con variaciones dentro del mismo laboratorio: días, analistas y/o equipos diferentes. Si la reproducibilidad se llevo a cabo, está prueba puede ser omitida.
- c) **Reproducibilidad:** Es la precisión de un método en base a determinaciones realizadas con variaciones entre laboratorios, se presenta en caso de una estandarización de un método analítico.

## **3. Especificidad**

Es la habilidad de un método para obtener una respuesta únicamente de la substancia de interés y no del resto de los componentes de la muestra.

La falta de especificidad de un método puede ser compensada mediante el soporte de otro procedimiento.

Las implicaciones en los diferentes métodos son:

- **Identificación:** Asegurar la identidad de una sustancia.
- **Pruebas de pureza:** Asegurar con el método el contenido de impurezas de un producto.
- **Ensayos (contenido/ potencia):** Proveer un resultado exacto, el cual permita conocer el contenido o potencia de la sustancia de interés dentro de un producto.

Se puede realizar el análisis de placebos o mediante la identificación de la respuesta del principio activo, y si procede, de los excipientes y/o de otras sustancias presentes.

#### **4. Límite de Detección**

Es la mínima concentración de una sustancia en una muestra la cual puede ser detectada mediante el método, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones de operación establecidas.

Existen diversos procedimientos aceptados como la evaluación visual, sin embargo es necesario presentar la justificación, mediante cromatogramas, etc.

En el caso de ser evaluado a través de cálculos o de extrapolación, este requiere ser validado mediante un análisis independiente de un adecuado número de muestras preparadas que se encuentren cerca del límite de detección estimado.

#### **5. Límite de Cuantificación**

Es la más baja concentración de una sustancia en una muestra que puede ser determinada con adecuada precisión y exactitud.

El límite de cuantificación es un parámetro para ensayos cuantitativos de niveles bajos de composición, es usado particularmente para la determinación de impurezas y/o productos de degradación.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

Los procedimientos aceptados son los mismos que para el límite de detección y al igual deben ser validados mediante un análisis independiente.

## 6. **Linealidad**

Es la habilidad de un método de obtener resultados dentro de un intervalo determinado, los mismos que son directamente proporcionales a la concentración de la sustancia analizada.

La linealidad debe ser evaluada mediante una relación lineal obtenida de un apropiado método estadístico. De esta forma todos los estimados matemáticos ayudan a la evaluación de este parámetro como son el coeficiente de correlación, el coeficiente de determinación, el coeficiente de variación, la pendiente y la ordenada al origen, entre otros.

Se determina construyendo una curva de calibración utilizando cuando menos 5 diluciones preparadas a partir de una misma solución patrón, el análisis puede realizarse con diferente enfoque pero requiere estar justificado.

## 7. **Rango**

Se deriva normalmente del estudio de la linealidad. Se realiza para confirmar que el método provee un grado aceptable de linealidad, exactitud y precisión cuando es aplicado a muestras que contienen cantidades de la sustancia a analizar dentro o en los extremos del rango especificado utilizando placebos añadidos.

Los rangos mínimos que deben ser considerados son:

- En ensayos para sustancias o para productos terminados: normalmente 80 a 120% de la concentración.
- Para uniformidad de contenido, cubrir un mínimo del 70 a 130% de la concentración, a menos que requiera uno diferente basado en la naturaleza de la forma de dosificación.
- Para prueba de disolución: + / - 20% del rango especificado.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **8. Tolerancia**

Es la confiabilidad de un método al producir resultados analíticos obtenidos de la misma muestra con variaciones deliberadas en los parámetros establecidos. Una consecuencia de la evaluación de la tolerancia es que los parámetros de adecuabilidad del sistema están establecidos en el procedimiento y aseguran que la validación del método se mantiene.

Ejemplo de variaciones típicas:

- estabilidad de soluciones analíticas
- tiempo de extracción
- temperatura
- variación de longitudes de onda.

Este parámetro requiere de la comparación de los resultados analíticos normales y de los que sufrieron alguna modificación.

## **5.4 Adecuabilidad de Sistemas Relacionados con Metodologías Físicas**

La adecuabilidad del sistema es una parte integral de los métodos analíticos, basado en el concepto de que los equipos, instrumentos, operaciones analíticas y muestras constituyen un solo sistema y que puede ser evaluado como tal. Los parámetros de validación correspondientes, dependen del tipo de metodología física que será validado. Como ejemplo podemos mencionar que los procedimientos analíticos espectrofotométricos se encuentran con frecuencia relacionados a metodologías físicas (ejemplo: disolución), por lo que deben tener una apropiada adecuabilidad que puede ser evaluada a través de la verificación del instrumento. De esta forma el criterio de validación para determinar los parámetros a utilizar deberá incluir la especificidad, demostrando la no interferencia del placebo, linealidad, repetibilidad, precisión intermedia y tolerancia.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## 5.5 Valoración Estadística

El proceso de validación de un método en particular está basado en principios científicos adecuados que han sido optimizados para propósitos prácticos de medición. De esta forma, los modelos estadísticos son utilizados para describir la variación normal y las tendencias de las características de calidad de un producto en un proceso.

Algunos de los cálculos estadísticos que se utilizan para efectuar una validación de métodos analíticos se describen en la siguiente tabla:

**Tabla 5.** Fórmulas para Uso en Validación de Métodos

Nombre	Fórmula	Definición	Empleo
Media aritmética	$\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$	Valor muestral que representa el centro de gravedad de los valores. Considera toda la información muestral.	Estima la tendencia central de una variable de un proceso.
Desviación estándar	$s = \sqrt{\frac{\sum (y - \bar{y})^2}{n - 1}}$	Valor muestral que representa el grado de concordancia respecto a la media aritmética. Considera todos los valores muestrales.	Permite obtener límites y medir la capacidad de un proceso.
Varianza	$s^2 = \frac{\sum (y - \bar{y})^2}{n - 1}$	Valor muestral que representa el grado de concordancia respecto a la media aritmética. Considera todos los valores muestrales.	Estima la variabilidad de un proceso.
Coefficiente de variación o Desviación estándar relativa	$CV = \frac{s}{\bar{y}} \times 100$	Valor muestral que representa la variabilidad relativa.	Estima la variabilidad relativa de un proceso y permite comparar con diferentes tipos de procesos.
Intervalo de Confianza	$IC = (\bar{y}_1 - \bar{y}_0) \pm t^* \cdot \sqrt{sp_p^2(2/3)}$	Estima el parámetro de tendencia central de un proceso mediante un intervalo de confianza.	Permite obtener límites para medias aritméticas para muestras de tamaño n.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Una técnica importante en las ciencias, es el modelo lineal y de regresión para ajustar datos experimentales, utilizada también en la validación de métodos.

Generalmente las mediciones observadas no se encuentran sobre una línea recta con precisión por lo que muestran una discrepancia entre la predicción y la realidad, dichas variaciones deben reducirse seleccionando la recta en donde la suma de las desviaciones sea lo más pequeña posible para entonces cancelar las desviaciones positivas con las negativas utilizando la suma de sus cuadrados, a dicho procedimiento se le conoce como Método de Mínimos Cuadrados, el cual es fácilmente obtenido mediante el uso de calculadoras científicas o programas especiales que disminuyen el tiempo de análisis de datos.

Tenemos que la ecuación lineal que representa a la recta se muestra a continuación (Ecuación 7):

$$y = m x + b$$

Donde, "x" y "y" son los valores de los datos experimentales en sus ejes respectivos, m es la pendiente de la curva y b la intercepción con el eje de las ordenadas. Mediante diversas operaciones es posible obtener el coeficiente de correlación y el de determinación que son puntos de referencia para el análisis de algunos parámetros en la validación de métodos.

En la siguiente tabla se muestran las fórmulas correspondientes para la obtención de los valores arriba mencionados:

**Tabla 6. Fórmulas para la Obtención de Valores de la Ecuación Lineal**

Nombre	Fórmula
Pendiente	$m = \frac{n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{n(\sum x^2) - (\sum x)^2}$
Coefficiente de correlación	$r = \frac{n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{\sqrt{[n\sum x^2 - (\sum x)^2][n\sum y^2 - (\sum y)^2]}}$
Coefficiente de determinación	$r^2 = \frac{[n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)]^2}{[n\sum x^2 - (\sum x)^2][n\sum y^2 - (\sum y)^2]}$
Intercepción con el eje de las ordenadas	$b = y - m x$



## CAPITULO VI.

### PARTE EXPERIMENTAL

El desarrollo de este trabajo se divide en dos partes:

- a) **Primera Parte:** Incluye la calificación de equipo y la verificación de los instrumentos utilizados en el método analítico que se está validando, ya que deben poseer el diseño y la capacidad propios para llevar a cabo el proceso al cual están destinados y comprobar que su operación se ajusta a normas aceptadas de seguridad, asimismo se determina su confiabilidad mediante pruebas de desempeño adecuadas.
- b) **Segunda Parte:** Muestra el desarrollo de la validación del método de disolución para un producto cefalosporínico (Cefalexina Monohidrato) que se presenta en la forma farmacéutica de cápsulas, en base a la selección adecuada de parámetros de validación para probar su efectividad y demostrar que posee un funcionamiento analítico aceptable al cumplir con todos los criterios de aceptación establecidos.

#### Primera Parte

##### 6.1 Disolutor

Es el equipo principal para realizar la prueba de disolución, por lo que debe ser calibrado como parte de la calificación del equipo, utilizando los adecuados estándares de referencia USP.

### 6.1.1 Calibración del Disolutor

Objetivo	Establecer el procedimiento a seguir para la calibración del Disolutor ELECSA modelo DIE 25-250, para garantizar la calidad y confiabilidad con la que se realiza la Validación del Método Analítico de Disolución.
Método de Calibración	Realizar la calibración del disolutor utilizando dos tipos de tabletas: a. Desintegrantes de prednisona (50 mg) b. No desintegrantes de ácido salicílico (300 mg).
<b>a. Tabletado tipo desintegrante de Prednisona 50 mg.</b>	
Medio de Disolución	900 ml de agua purificada libre de gases disueltos.
Estándar de Referencia	Pesar 6.0 mg de estándar de referencia de prednisona en un matraz volumétrico de 100 ml. Disolver con 5 ml de etanol y aforar con agua purificada. Tomar una alícuota de 10 ml y aforar en un matraz volumétrico de 50 ml con agua purificada.
Procedimiento	Agregar una tableta de prednisona ( $C_{21}H_{26}O_5$ ) en cada vaso del disolutor. Tiempo de disolución: 30 minutos A una temperatura de $37^{\circ}C \pm 5^{\circ}C$ operando los aparatos a cada una de las velocidades indicadas en la Tabla No. 7 página 57. Al término de la disolución, tomar una alícuota de 15 ml de la parte media de cada vaso del disolutor, donde los primeros 2 ml se desechan y el resto se filtra, colocar 10 ml de la alícuota filtrada en un matraz volumétrico de 50 ml y aforar con agua purificada.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Leer en el espectrofotómetro a una longitud de onda de máxima absorción de 242 nm en comparación con la solución estándar de referencia de prednisona.

Determinar la cantidad de prednisona disuelta en cada vaso, expresada en porcentaje.

Obtener la media aritmética con los resultados obtenidos y comparar con los criterios de aceptación para cada caso.

Criterio de  
Aceptación

**Tabla 7.** % disuelto de Prednisona para el Lote K.

<i>Aparato Tipo</i>	<i>50 rpm</i>	<i>100 rpm</i>
1	7 - 20	36 - 60
2	41 - 54	57 - 66

**b. Tabletas tipo no desintegrante de Acido Salicilico 300 mg.**

Medio de Disolución

Pesar 54.4 g de fosfato monobásico de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) y 12.5 g de hidróxido de sodio (NaOH).

Disolver en agua purificada libre de gases a un volumen de 8 litros.

Ajustar el pH a  $7.40 \pm 0.05$  con ácido fosfórico al 85% ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) o con hidróxido de sodio.

Colocar 900 ml de esta solución en cada vaso del disolutor.

Estándar de  
Referencia

Pesar 16.0 mg de estándar de referencia de ácido salicílico en un matraz volumétrico de 100 ml.

Disolver con 1 ml de etanol y aforar con el medio de disolución ya preparado.

Tomar una alícuota de 5 ml y aforar en un matraz volumétrico de 50 ml con el medio de disolución.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

---

Procedimiento

Agregar una tableta de ácido salicílico ( $C_7H_6O_3$ ) en cada vaso del disolutor.

Tiempo de disolución: 30 minutos

A una temperatura de  $37^\circ C \pm 5^\circ C$  operando los aparatos a cada una de las velocidades indicadas en la Tabla No. 8 .

Al termino de la disolución, tomar una alicuota de 10 ml de la parte media de cada vaso del disolutor, donde los primeros 2 ml se desechan y el resto se filtra, colocar 5 ml de la alicuota filtrada en un matraz volumétrico de 100 ml y aforar con el medio de disolución.

Leer en el espectrofotómetro a una longitud de onda de máxima absorción de 296 nm en comparación con la solución estándar de referencia de ácido salicílico.

Determinar la cantidad de ácido salicílico disuelta en cada vaso, expresada en por ciento.

Obtener la media aritmética con los resultados obtenidos y comparar con los criterios de aceptación para cada caso.

---

Criterio de  
Aceptación

**Tabla 8.** % disuelto de Acido Salicilico para el Lote K.

<i>Aparato Tipo</i>	<i>50 rpm</i>	<i>100 rpm</i>
1	14 - 21	23 - 29
2	13 - 22	16 - 27

---

Notas

Los estándares de referencia son calidad USP y se encontraban vigentes en el momento de su uso.

---

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

Tratamiento para eliminar gases disueltos

Calentar el agua a 41°C y filtrar al vacío a través de una membrana porosa de 0.45 µm en un matraz con agitación constante. Al terminar, cerrar el matraz y aplicar por otros 5 minutos el vacío mientras se continúa agitando. La temperatura no debe descender de los 37°C antes de la iniciación de la prueba.

Resultados

A continuación los resultados de la calibración del Disolutor ELECSA modelo DIE 25-250 realizada en los aparatos 1 y 2 ( canastillas y paletas, respectivamente).

**Tabla 9.** Resultados de la Calibración del Disolutor con Tabletas Desintegrantes de Prednisona (50 mg).

<b>% Disuelto en 30 minutos. Lote K</b>				
	<b>Aparato 1 (Canastilla)</b>		<b>Aparato 2 (Paleta)</b>	
	50 rpm	100 rpm	50 rpm	100 rpm
Vaso 1	14.7	57.0	50.9	58.2
Vaso 2	16.1	55.7	48.9	61.4
Vaso 3	16.9	58.1	48.6	61.3
Vaso 4	13.5	56.0	51.0	64.3
Vaso 5	16.7	53.3	50.4	62.2
Vaso 6	16.1	48.6	50.5	62.6
Media aritmética	<b>15.7</b>	<b>54.8</b>	<b>50.0</b>	<b>61.7</b>
Criterio de Aceptación	7 – 20	36 – 60	41 - 54	57 - 66
Aceptado (si / no)	Si	Si	Si	Si

**TESIS CON FALLA DE ORIGEN**

**Tabla 10.** Resultados de la Calibración del Disolutor con Tabletas No Desintegrantes de Acido Salicilico (300 mg).

<b>% Disuelto en 30 minutos. Lote K</b>				
	<b>Aparato 1 (Canastilla)</b>		<b>Aparato 2 (Paleta)</b>	
	50 rpm	100 rpm	50 rpm	100 rpm
Vaso 1	17.6	24.7	19.3	22.0
Vaso 2	18.2	23.2	21.6	24.2
Vaso 3	18.1	24.3	20.0	20.2
Vaso 4	17.5	24.5	20.8	21.4
Vaso 5	17.5	24.1	21.1	20.9
Vaso 6	17.4	24.3	17.7	22.1
Media aritmética	<b>17.7</b>	<b>24.2</b>	<b>20.1</b>	<b>21.8</b>
Criterio de Aceptación	14 - 21	23 - 29	13 - 22	16 - 27
Aceptado (si / no)	Si	Si	Si	Si

Las gráficas correspondientes a las Tablas 9 y 10 se muestran de acuerdo a la siguiente relación (Tabla 11).

**Tabla 11.** Relación de Gráficas de la Calibración del Disolutor.

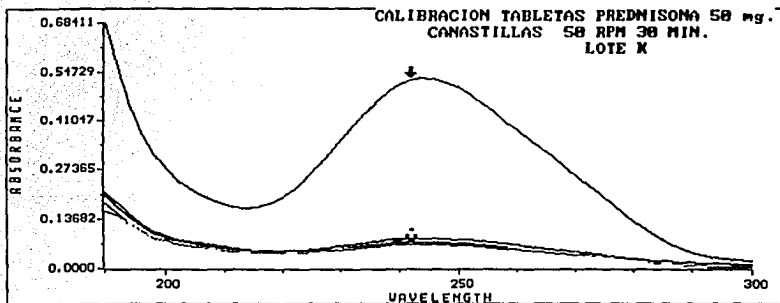
<b>Gráfica No.</b>	<b>Descripción</b>	<b>Página No.</b>
1	Aparato 1.Prednisona a 50 rpm	61
2	Aparato 1.Prednisona a 100 rpm	62
3	Aparato 2.Prednisona a 50 rpm	63
4	Aparato 2.Prednisona a 100 rpm	64
5	Aparato 1.Acido Salicilico a 50 rpm	65
6	Aparato 1.Acido Salicilico a 100 rpm	66
7	Aparato 2.Acido Salicilico a 50 rpm	67
8	Aparato 2.Acido Salicilico a 100 rpm	68

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

GRAFICA No. 1. Aparato 1. Prednisona a 50 rpm

---φ Overlaid Spectra ---

Reg	File Name	Sample Name
A		STANDARD
B		VASO 1
C		VASO 2
D		VASO 3
E		VASO 4
F		VASO 5
G		VASO 6



Marked Wavelengths

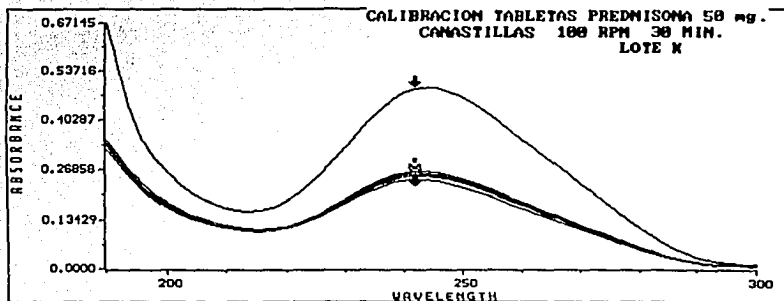
Reg A:	L 242	=	0.52440
Reg B:	L 242	=	0.07152
Reg C:	L 242	=	0.07843
Reg D:	L 242	=	0.08194
Reg E:	L 242	=	0.06546
Reg F:	L 242	=	0.08095
Reg G:	L 242	=	0.07796

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

GRAFICA No. 2. Aparato 1. Prednisona a 100 rpm

---φ Overlaid Spectra \_---

Reg	File Name	Sample Name
A		STANDARD
B		VASO 1
C		VASO 2
D		VASO 3
E		VASO 4
F		VASO 5
G		VASO 6



Marked Wavelengths

Reg A:	L 242	=	0.48532
Reg B:	L 242	=	0.25613
Reg C:	L 242	=	0.25023
Reg D:	L 242	=	0.26112
Reg E:	L 242	=	0.25159
Reg F:	L 242	=	0.23949
Reg G:	L 242	=	0.21858

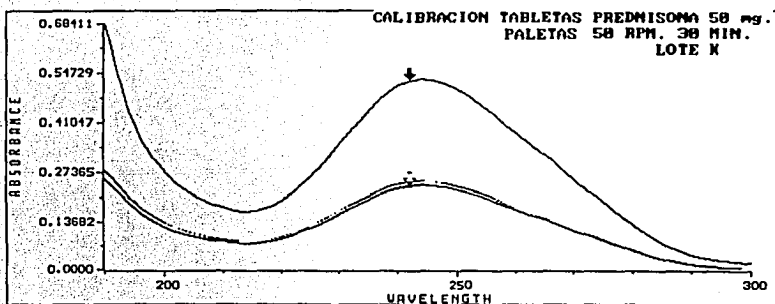
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



GRAFICA No. 3. Aparato 2. Prednisona a 50 rpm

---φ Overlaid Spectra \_---

Reg	File Name	Sample Name
A		STANDARD
B		VASO 1
C		VASO 2
D		VASO 3
E		VASO 4
F		VASO 5
G		VASO 6



Marked Wavelengths

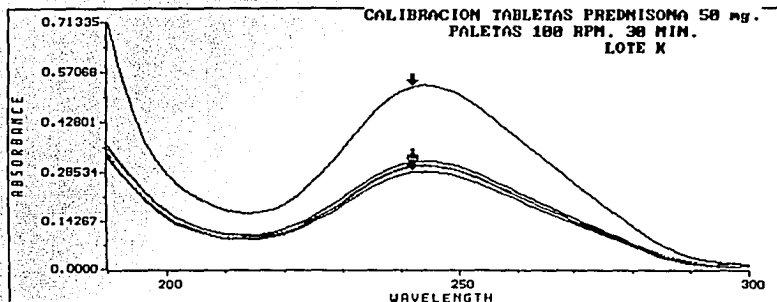
Reg A:	L 242	=	0.52440
Reg B:	L 242	=	0.24716
Reg C:	L 242	=	0.23729
Reg D:	L 242	=	0.23576
Reg E:	L 242	=	0.24750
Reg F:	L 242	=	0.24477
Reg G:	L 242	=	0.24518

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

GRAFICA No. 4. Aparato 2. Prednisona a 100 rpm

---Ç Overlaid Spectra \_---

Reg	File Name	Sample Name
A		STANDARD
B		VASO 1
C		VASO 2
D		VASO 3
E		VASO 4
F		VASO 5
G		VASO 6



Marked Wavelengths

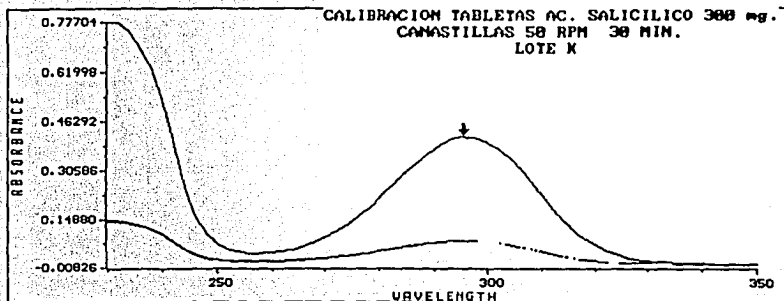
Reg A:	L 242	=	0.52696
Reg B:	L 242	=	0.28377
Reg C:	L 242	=	0.29971
Reg D:	L 242	=	0.29897
Reg E:	L 242	=	0.31371
Reg F:	L 242	=	0.30334
Reg G:	L 242	=	0.30528

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

GRAFICA No. 5. Aparato 1. Acido salicilico a 50 rpm

---φ Overlaid Spectra ---

Reg	File Name	Sample Name
A		STANDARD
B		VASO 1
C		VASO 2
D		VASO 3
E		VASO 4
F		VASO 5
G		VASO 6



Marked Wavelengths

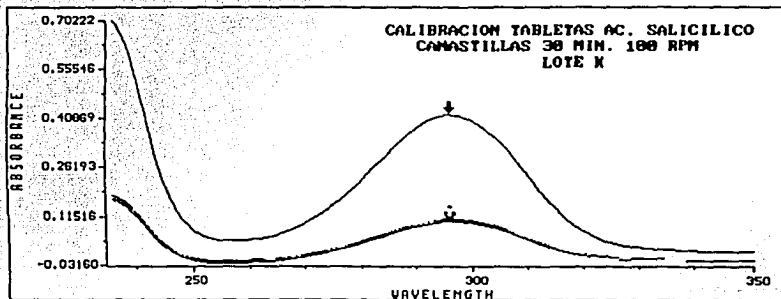
Reg A:	L 296	=	0.41360
Reg B:	L 296	=	0.07622
Reg C:	L 296	=	0.07875
Reg D:	L 296	=	0.07845
Reg E:	L 296	=	0.07591
Reg F:	L 296	=	0.07587
Reg G:	L 296	=	0.07513

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

GRAFICA No. 6. Aparato 1. Acido salicilico a 100 rpm

---φ Overlaid Spectra \_---

Reg	File Name	Sample Name
A		STANDARD
B		VASO 1
C		VASO 2
D		VASO 3
E		VASO 4
F		VASO 5
G		VASO 6



Marked Wavelengths

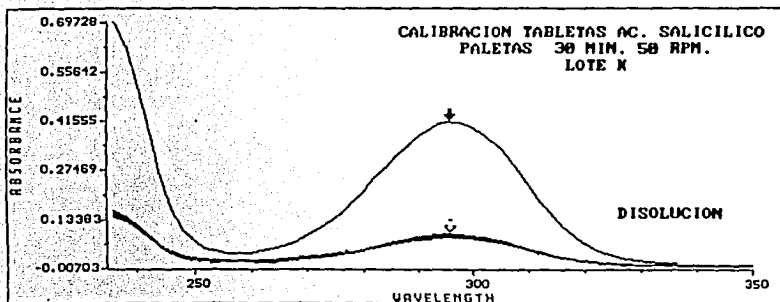
Reg A:	L 296	=	0.41791
Reg B:	L 296	=	0.10690
Reg C:	L 296	=	0.10014
Reg D:	L 296	=	0.10516
Reg E:	L 296	=	0.10583
Reg F:	L 296	=	0.10414
Reg G:	L 296	=	0.10518

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**GRAFICA No. 7. Aparato 2. Acido salicilico a 50 rpm**

---◇ Overlaid Spectra \_---

Reg	File Name	Sample Name
A		STANDARD
B		VASO 1
C		VASO 2
D		VASO 3
E		VASO 4
F		VASO 5
G		VASO 6



**Marked Wavelengths**

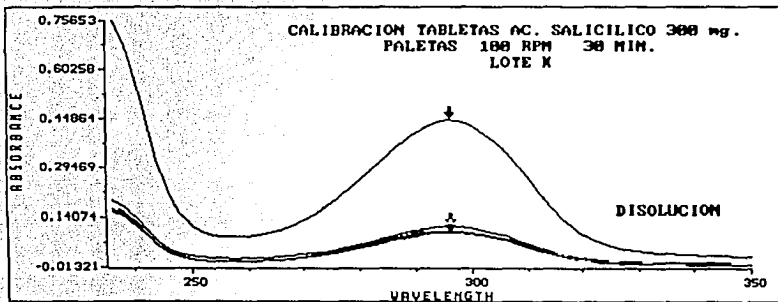
Reg A:	L 296	=	0.41187
Reg B:	L 296	=	0.08238
Reg C:	L 296	=	0.09203
Reg D:	L 296	=	0.08507
Reg E:	L 296	=	0.08879
Reg F:	L 296	=	0.08974
Reg G:	L 296	=	0.07542

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

GRAFICA No. 8. Aparato 2. Acido salicilico a 100 rpm

---φ Overlaid Spectra \_---

Reg	File Name	Sample Name
A		STANDARD
B		VASO 1
C		VASO 2
D		VASO 3
E		VASO 4
F		VASO 5
G		VASO 6



Marked Wavelengths

Reg A:	L 296 =	0.44438
Reg B:	L 296 =	0.10110
Reg C:	L 296 =	0.11128
Reg D:	L 296 =	0.09273
Reg E:	L 296 =	0.09843
Reg F:	L 296 =	0.09601
Reg G:	L 296 =	0.10136

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## 6.1.2 Calificación del Disolutor

**Objetivo** Asegurar que el disolutor se encuentra listo para operar dentro de las especificaciones y requerimientos establecidos para la prueba de disolución.

---

**Contenido** Se divide en tres secciones, las cuales fueron verificadas:  
Sección A. Calificación de la Instalación  
Sección B. Calificación de la Operación  
Sección C. Calificación del Funcionamiento.

---

### SECCION A. CALIFICACION DE LA INSTALACION.

**Descripción del equipo** Disolutor Estándar Digital ELECSA con seis unidades Modelo DIE 25-250 Tipo N.

---

**Características generales del equipo** El equipo posee las siguientes características:

- Elementos de Seguridad
- Controladores y Sensores
- Baño María
- Material de Gabinete

---

**Uso del equipo** El equipo se utiliza para realizar la prueba de disolución en tabletas y cápsulas, con la facilidad de poder usar tanto el Aparato 1 y 2 dependiendo del procedimiento indicado para cada producto en su monografía.

---

TESIS COM  
FALLA DE ORIGEN

Elementos de Seguridad

---

El equipo posee un dispositivo de seguridad a un determinado nivel de agua, lo cual permite iniciar su funcionamiento.

Posee una alarma audible que previene el incremento en el tiempo de disolución.

Controladores y sensores

---

El equipo cuenta con los siguientes sensores y controladores:

- Interruptor General de 20 amperes, 2 polos 2 tiros, con una corriente máxima permitida de 120 volts.
- Control de tiempo digital electrónico de 0 a 24 horas
- Alarma electrónica
- Control de Temperatura con foco indicador
- Sensor de Temperatura digital de 80 cms, con sensibilidad de  $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ .
- Control e indicador de velocidad variable que va de 0 a 250 rpm

Baño María

---

Este posee un dispositivo de agitación, por medio de dos propelas que giran agitando el agua. Las propelas se encuentran sostenidas por flechas de acero inoxidable Tipo 316. Utiliza agua destilada para evitar incrustación de sales en las paredes. Cuenta con dos lámparas de luz.

Material de Gabinete

---

El equipo consta del siguiente material:

- Seis flechas
- Seis embragues independientes
- Seis bujes con prisionero para ajustar la altura indicada a cada vaso
- Cuatro pernos laterales para la tapa del Baño María
- Seis tapas con tres orificios, uno al centro y dos orificios a los costados cada uno.
- Seis canastillas y seis paletas.

---

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## Refacciones

Las refacciones que se encontraban disponibles en el momento de la calificación son:

**Tabla 12.** Refacciones Disponibles para el Disolutor

<i>Refacción</i>	<i>Cantidad</i>
Canastillas	6
Paletas	6
Tapas de Vasos	6
Tapa del Disolutor	1
Rectificador de altura	1

## Material de Construcción

El material de construcción de las principales partes del equipo se encontraban de acuerdo con los criterios de aceptación:

**Tabla 13.** Materiales de Construcción de Partes del Disolutor

<i>Parte del equipo</i>	<i>Criterio de Aceptación</i>	<i>Material</i>
Canastilla	Acero inoxidable Tipo 316	Acero inoxidable Tipo 316
Flechas o ejes	Acero inoxidable Tipo 316	Acero inoxidable Tipo 316
Soportes	Acero inoxidable Tipo 316	Acero inoxidable Tipo 316
Vasos	Material inerte y transparente	Acrílico cristal
Tapas de Vasos	Material inerte y transparente	Acrílico cristal
Tapa del Disolutor	Material inerte y transparente	Acrílico cristal
Recubrimiento de Paletas (opcional)	Polímero de fluorocarbono o material inerte	Teflón

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

Mantenimiento preventivo

---

Esta incluido dentro del Programa de Mantenimiento Preventivo el cual se realiza anualmente.

El equipo no cuenta con ningún mantenimiento preventivo previo a está calificación ya que no contaba con un año a la fecha de la calificación.

---

## SECCION B. CALIFICACION DE LA OPERACION.

Especificaciones de las partes

Las partes deben cumplir con los criterios de aceptación correspondientes que se mencionan a lo largo de está sección.

Durante la verificación de las dimensiones y funciones del Disolutor se deben usar instrumentos calibrados.

Las canastillas, vasos, tapas y paletas se deben encontrar debidamente identificados del 1 al 6 para su fácil manejo.

---

### CANASTILLAS

---

Procedimiento

Verificar con un vernier calibrado las dimensiones de las canastillas de acuerdo a los criterios de aceptación establecidos, los resultados se observan en la Tabla 14 de la página 73.

---

Datos del vernier calibrado:

Frecuencia de Calibración: Anual

Calibrado por CALIPEN

Vigente al día de la calificación.

---

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**Tabla 14. Resultados de las Dimensiones de las Canastillas.**

Canastilla	Diámetro interno (D.I.*)	Diámetro externo (D.E.*)	Longitud interna (L.I.*)	Longitud externa (L.E.*)	Diámetro externo del tamiz (D.M.*)	Malla No.
1	20.2	25.5	26.9	37.0	22.2	40
2	20.2	25.3	26.9	36.7	22.2	40
3	20.3	25.2	27.0	36.8	22.1	40
4	20.3	25.3	27.1	36.8	22.2	40
5	20.2	25.2	27.0	36.7	22.2	40
6	20.2	25.4	27.2	37.0	22.1	40
Criterio de Aceptación	20.2 ±1.0 mm	25.4 ±3.0 mm	27.0 ±1.0 mm	36.8 ±3.0 mm	22.2 ±1.0 mm	40
Aceptado (Si/No)	Si	Si	Si	Si	Si	Si

\* Ver su referencia en la Figura No. 15

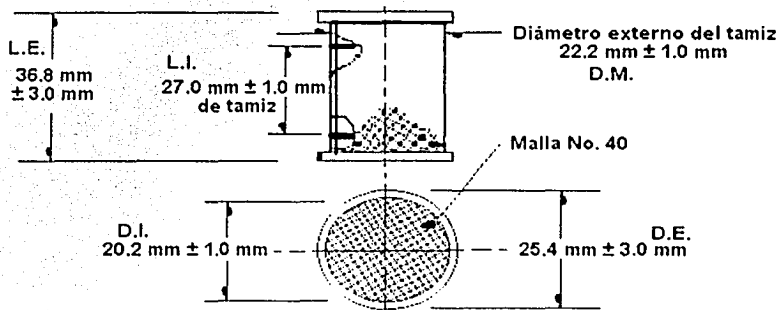


Figura No. 15. Dimensiones de las canastillas.

D.I. = Diámetro Interno, D.E. = Diámetro Externo, D.M. = Diámetro externo del tamiz, L.I. = Longitud interna, L.E. = Longitud Externa.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Especificaciones de las Partes

## EJE TRANSMISOR Y SOPORTE

Procedimiento

Verificar utilizando el mismo vernier calibrado las dimensiones de los ejes transmisores y soportes del equipo.

Los resultados se observan en la Tabla 15.

**Tabla 15.** Resultados de las Dimensiones de los Ejes Transmisores y de los Soportes.

Eje y Soporte No.	Diámetro del Eje (D.F.*)		Espesor del Soporte (E.S.*)	Diámetro del orificio de ventaneo (O.V.*)	Rota suave y sin bamboleo
	Vaso	Paleta			
1	6.3	10.0	5.2	2.0	Si
2	6.3	10.0	5.1	2.0	Si
3	6.3	10.0	5.1	2.0	Si
4	6.4	10.0	5.1	2.0	Si
5	6.3	9.9	5.1	2.0	Si
6	6.3	10.0	5.1	2.0	Si
Criterio de Aceptación.	6.3-6.5 mm	9.4-10.1 mm	5.1 ± 0.5 mm	2.0 mm	Si rota suave y sin bamboleo
Aprobado (Si / No)	Si		Si	Si	Si

\* Ver su referencia en la Figura No. 16.

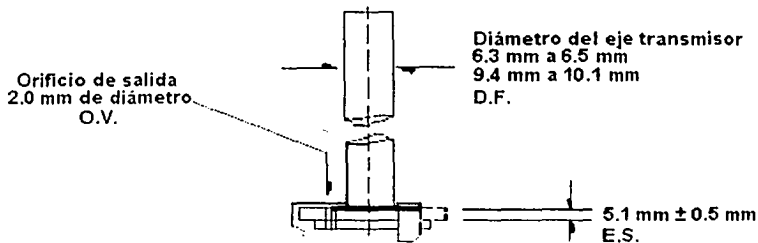


Figura No. 16. Dimensiones del Eje Transmisor y Soporte.

D.F.=Diámetro del eje, E.S.=Espesor del soporte y O.V.=Diámetro del orificio de ventaneo.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Especificaciones de las Partes

**VASOS**

Procedimiento

Verificar la forma de los vasos visualmente y con el mismo vernier calibrado las dimensiones de los vasos. Los resultados se observan en la Tabla. 16

**Tabla 16.** Resultados de las Dimensiones de los Vasos.

Vaso No.	Vaso cilíndrico	Fondo esférico	Alto del Vaso (Al.°)	Diaméto interno del vaso (D.V.°)
1	Si	Si	16.1	10.5
2	Si	Si	16.1	10.5
3	Si	Si	16.1	10.5
4	Si	Si	16.1	10.5
5	Si	Si	16.1	10.4
6	Si	Si	16.2	10.4
Criterio de Aceptación	Si es un vaso cilíndrico	Si tiene fondo esférico	16-17.5 cm	9.8 - 10.6 cm
Aprobado (Si / No)	Si	Si	Si	Si

\* Ver su referencia en la Figura No. 17 página 76.

Todos los vasos tienen una capacidad nominal de 1000 ml y se encuentran marcados a los 900 y 1000 ml.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

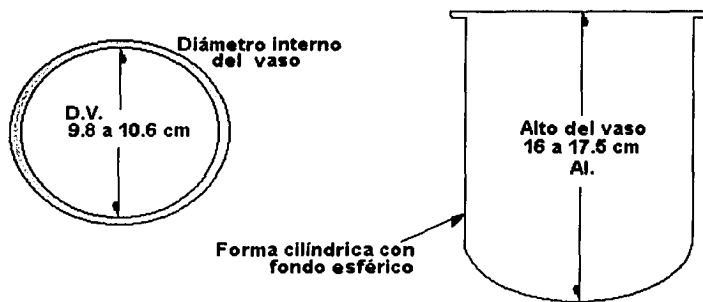


Figura No. 17. Dimensiones de los Vasos.  
Al. = Altura del vaso y D.V. = Diámetro interno del vaso.

Especificaciones de las Partes

### TAPAS DE LOS VASOS

Procedimiento

Verificar las tapas de los vasos, de tal forma que se encuentren dentro de los criterios de aceptación establecidos.

Los resultados se observan en la Tabla. 17.

**Tabla 17.** Resultados de las Tapas de los Vasos.

<i>Tapas de los Vasos</i>	
Características	Las tapas se ajustan a los vasos. Constan de tres orificios: uno central para los ejes, dos a los costado, para insertar un termómetro y para extraer la muestra y/o respiradero.
Criterio de Aceptación	Tapa bien ajustada y que permita la inserción de un termómetro, así como la toma de la muestra.
Aprobado (Si/No)	Si

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Especificaciones de  
las Partes

---

**Tapa del Disolutor**

---

Procedimiento

Verificar las características generales de la tapa del disolutor.

Los resultados se observan en la Tabla. 18.

**Tabla 18.** Resultados de la Tapa del Disolutor.

<i>Tapa del Disolutor</i>	
Características	Tiene un espesor de 10 mm y es transparente. Cuenta con 6 orificios para vasos que mantienen firmes a los mismos durante la prueba. Posee un orificio central para colocar un termómetro y medir la temperatura del baño.
Criterio de Aceptación	Debe permitir que seis vasos se sumergan parcialmente en el baño de agua y que se encuentren firmes durante la prueba.
Aprobado (Si/No)	Si

---

**PALETAS**

---

Procedimiento

Verificar con el vernier calibrado las dimensiones de las paletas de acuerdo a los criterios de aceptación establecidos, los resultados se observan en la Tabla 19 de la página 78.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN <sup>77</sup>

**Tabla 19. Resultados de las Dimensiones de las Paletas.**

Paleta	Espesor de la paleta (E.P.*)	Alto de la paleta (A.P.*)	Cuerda paralela superior (C.S.*)	Cuerda paralela inferior (C.I.*)	Radio de la sección de forma circular (R.C.*)	Distancia entre la base y la sección circular (D.C.*)
1	4.1	19.0	74.3	42.1	41.6	35.9
2	4.1	19.0	74.2	42.0	41.5	35.9
3	4.0	19.0	74.2	42.1	41.5	35.8
4	4.1	19.1	74.2	42.1	41.6	35.7
5	4.0	18.9	74.2	42.0	41.4	35.7
6	4.0	18.9	74.2	42.0	41.5	35.8
Criterio de Aceptación	4.0±1.0 mm	19.0 ± 0.5 mm	74.0 a 75.0 mm	42.0±1.0 mm	41.5 ± 1.0 mm	35.8 ± 1.0 mm
Aprobado (Si/No)	Si	Si	Si	Si	Si	Si

\* Ver su referencia en la Figura No. 18.

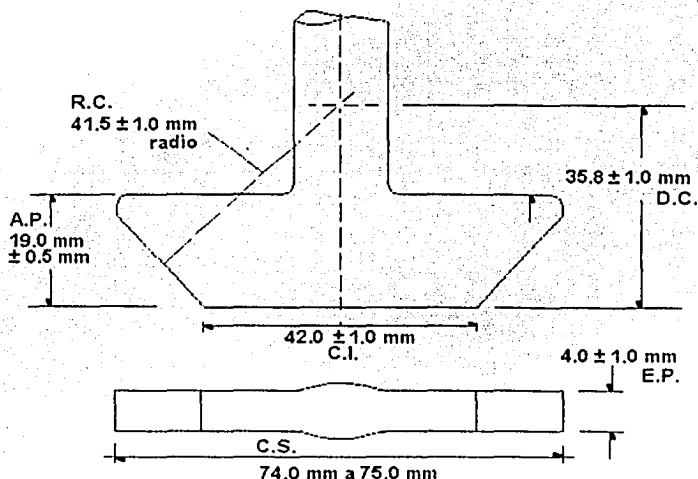


Figura No. 18. Dimensiones de las paletas.

A.P.=Alto de la paleta, C.S.=Cuerda paralela superior, C.I.=Cuerda paralela inferior, E.P.=Espesor de la paleta, D.C.=Distancia entre la base y la sección circular y R.C.=Radio de la sección de forma circular.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Control Digital  
Electrónico

**RELOJ DEL DISOLUTOR**

Procedimiento

Realizar la siguiente prueba para asegurar que el reloj propio del equipo marca la hora real. Utilizar un cronómetro calibrado.

Tomar la hora inicial de la prueba y posteriormente hacer lecturas cada 30 minutos durante 3 horas. Llevar acabo la prueba durante tres días consecutivos. El disolutor se deberá mantener encendido durante la prueba.

Los resultados se observan en la Tabla 20.

**Tabla 20.** Resultados del Control Digital Electrónico.

<i>Lectura del instrumento patrón</i>	<i>Lectura del Reloj del Disolutor</i>		
	Primer día	Segundo día	Tercer día
----	3:00 pm	11:00 am	10:00 am
30 min	3:30 pm	11:30 am	10:30 am
1 hr	4:00 pm	12:00 pm	11:00 am
1 hr 30 min	4:30 pm	12:31 pm	11:30 am
2 hr	5:00 pm	1:00 pm	12:00 pm
2 hr 30 min	5:31 pm	1:31 pm	12:31 pm
3 hr	6:01 pm	2:00 pm	1:00 pm
Desviación promedio por día	+ 0.33 min	+ 0.33 min	+ 0.17 min
Criterio de Aceptación	± 1.00 min con respecto a la desviación promedio por día		
Aprobado (Si /No)	Si		

Datos del cronómetro calibrado:

Tipo: Análogo      Marca: Haste      Alcance: 60 min

Frecuencia de Calibración: Anual

Certificado de Calibración Interna : 1994-1

Vigente al día de la calificación.

Control de  
Temperatura

**Temperatura del Baño**

Procedimiento

Realizar la siguiente prueba para asegurar que la temperatura del baño sea homogénea y corresponda a la indicada por el control de temperatura del aparato. Utilizar termómetros calibrados.

Colocar tres termómetros calibrados en las siguientes posiciones: uno al centro y los otros dos a los costados utilizando los orificios correspondientes a los vasos del disolutor.

Establecer la temperatura del baño a 25°C, tomar las lecturas de los termómetros cada 10 minutos durante media hora. Repetir el mismo procedimiento para 37°C y 42°C.

Reportar la temperatura promedio de los tres termómetros a las diferentes temperaturas.

Los resultados se observan en la Tabla 21.

**Tabla 21.** Resultados del Control de Temperatura.

<i>Lectura</i>	<i>Temperatura 25 °C</i>	<i>Temperatura 37 °C</i>	<i>Temperatura 42 °C</i>
1a (10 min)	25.3	37.4	43.0
2a (20 min)	25.7	37.8	42.5
3a (30 min)	25.7	37.8	43.0
Promedio	25.6	37.7	42.8
Variación	+ 0.6 °C	+ 0.7 °C	+ 0.8 °C
Criterio de Aceptación	± 5 °C		
Aprobado (Si/No)	Si		

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Datos de los termómetros calibrados utilizados se encuentran en la Tabla 22.

**Tabla 22.** Características de los Termómetros Calibrados.

Termómetro	Marca	Capacidad °C	Rango de Operación
1	AMA	-5 / 110	20 / 80
2	AMA	-5 / 110	20 / 80
3	AMA	-5 / 110	20 / 80
Frecuencia de Calibración:		Anual	
Vigentes al día de la calificación.			

Control de Velocidad

Procedimiento

## VELOCIDAD

Verificar la velocidad del disolutor conectando un tacómetro calibrado al motor.

Realizar la prueba por triplicado con una diferencia de 5 min. entre cada una y tomando lecturas a 30, 50 y 100 rpm.

Los resultados se observan en la Tabla 23.

**Tabla 23.** Resultados del Control de Velocidad

Lectura	Velocidad		
	30 rpm	50 rpm	100 rpm
1a	30	51	101
2a	30	51	101
3a	30	50	101
Promedio	30	50.7	101
Porcentaje de Desviación	0 %	+ 1.4 %	+ 1 %
Criterio de Aceptación	± 4 %		
Aprobado (Si/No)	Si		

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Datos del tacómetro calibrado:

Tipo: Digital                      Modelo: DT-205B

Frecuencia de Calibración:    Anual

Certificado de Calibración: 1-94092-2-1

Calibrado por: TRANSCAT Calibration Services

Vigente al día de la calificación.

---

### SECCION C. CALIFICACION DEL FUNCIONAMIENTO.

Calibración del  
Disolutor

Verificar el funcionamiento del Disolutor por medio de la Calibración del Disolutor realizada de acuerdo al procedimiento correspondiente que se encuentra descrito en el punto 6.1.1 Calibración del Disolutor en la página 56.

En base a los resultados de dicha prueba que se muestran en las siguientes tablas de referencia:

Tabla 9      Página 59

Tabla 10    Página 60

Se determina que el funcionamiento del Disolutor **cumple** con un funcionamiento adecuado.

---

Calificación del  
Disolutor

Una vez realizada la Calificación de la Instalación, Operación y Funcionamiento del Disolutor ELECSEA Modelo DIE 25-250 Tipo N se considera **aprobado para llevar a cabo la prueba de disolución.**

---

## 6.2 Espectrofotómetro UV – Visible

Como parte del método analítico de disolución, el espectrofotómetro debe asegurar un adecuado funcionamiento para así obtener datos confiables durante la realización de la prueba. Por esta razón, la verificación del instrumento se llevó a cabo como se indica a continuación.

### 6.2.1 Verificación del Espectrofotómetro UV –Visible

El instrumento utilizado es un Espectrofotómetro UV – Visible HP8452, el cual posee las siguientes características generales:

Configuración óptica:	Tipo dispersivo con fotodiodo integrado.
Tipo de rayo:	Rayo simple.
Detector:	Diodo.
Rango en el UV –Visible:	Va de 190 a 820 nm.
Tipo de Lámpara:	Lámpara de deuterio con filamentos de tungsteno.
Sistema óptico:	Sin movimiento
Diagnóstico:	Proporciona un diagnóstico de los componentes electrónicos y de los componentes ópticos.
	A) Componentes electrónicos: Prueba el funcionamiento adecuado de la memoria RAM, de la unidad central de proceso, interruptores, interfaces de comunicación y convertidores.

B) Componentes ópticos: Prueba el buen estado y funcionamiento de la corriente oscura, checa la intensidad emitida por la lámpara y su estabilidad

Posición del compartimiento:

El compartimiento de la muestra es fijo, posee sujetadores que son ajustables dependiendo del tamaño de la cubeta.

Celda de verificación:

Celda de holmio de tamaño estándar.

Procedimiento:

Colocar la celda de holmio en el compartimiento de la muestra perfectamente limpia y libre de polvo. Determinar la absorbancia a 280 y 361 nm en el rango del ultravioleta y de 453 y 536 nm para la luz blanca en el rango del visible.

Se realizan quince lecturas tomadas con una frecuencia semanal y se obtiene la media aritmética de los valores registrados, de tal forma que ningún valor debe salirse del  $\pm 2\%$  de la media.

Las tolerancias aceptadas correspondientes a las longitudes de onda son las siguientes:

- a) 240 a 280 nm  $\pm 0.5$  nm
- b) 280 a 320 nm  $\pm 1.0$  nm
- c) Arriba de los 320 nm  $\pm 2.0$  nm

Los resultados de la verificación realizada al espectrofotómetro UV – Visible HP8452 se muestran en la Tabla 24 de la página 85.

**Tabla 24. Resultados de la Verificación del Espectrofotómetro UV-Visible HP8452**

Lectura	Longitudes de Onda			
	280 nm	361 nm	453 nm	536 nm
1 *	0.36914	0.53641	0.74788	0.30525
2	0.36938	0.53216	0.74596	0.30024
3	0.37009	0.53571	0.74239	0.29662
4	0.37061	0.52957	0.74313	0.30441
5	0.36994	0.52814	0.74528	0.29897
6	0.37054	0.52893	0.74811	0.30119
7	0.36976	0.53088	0.74750	0.30505
8	0.37043	0.53620	0.74396	0.29738
9	0.36927	0.52835	0.74824	0.29857
10	0.37088	0.53682	0.74507	0.30470
11	0.36912	0.53270	0.74691	0.29788
12	0.37014	0.53432	0.74264	0.30246
13	0.36966	0.52899	0.74723	0.30573
14	0.37025	0.53364	0.74412	0.29856
15 *	0.37047	0.52945	0.74364	0.29700
Media aritmética	0.36998	0.53215	0.74547	0.30093
Criterio de Aceptación $\pm 2\%$ respecto a la media.	0.36258 a 0.37738	0.52151 a 0.54279	0.73056 a 0.76038	0.29491 a 0.30695
Todos los valores caen dentro del $\pm 2\%$ (Si/No)	Si	Si	Si	Si

\* Lecturas de las cuales se obtuvieron reportes impresos. Se encuentran relacionadas en la Tabla 25 de la página 86.

Nota: El espectrofotómetro se encontraba al momento de la verificación dentro de un programa de mantenimiento externo proporcionado por el proveedor con una frecuencia de cada seis meses, de la misma forma el diagnóstico realizado en cada lectura se encontraban aprobados.

**TESIS CON FALLA DE ORIGEN**

Las gráficas correspondientes a la primera y última lecturas se muestran de acuerdo a la siguiente relación (Tabla 25).

**Tabla 25.** Relación de Gráficas de la Verificación del Espectrofotómetro UV-Visible HP8452.

<i>Gráfica No.</i>	<i>Descripción</i>	<i>Página No.</i>
9	Primera lectura. Longitud de Onda de la Celda de Holmio.	87
10	Primera lectura. Diagnóstico de la Corriente Oscura y la Intensidad de la Lámpara.	88
11	Primera lectura. Diagnóstico Interno y de Estabilidad	89
12	Ultima lectura. Longitud de Onda de la Celda de Holmio.	90
13	Ultima lectura. Diagnóstico de la Corriente Oscura y la Intensidad de la Lámpara.	91
14	Ultima lectura. Diagnóstico Interno y de Estabilidad	92

El resultado de la verificación del espectrofotómetro UV – Visible HP8452 es satisfactoria por lo que el instrumento se encuentra en condiciones adecuadas para participar dentro de la validación del método analítico de disolución y de cualquier tipo de análisis.

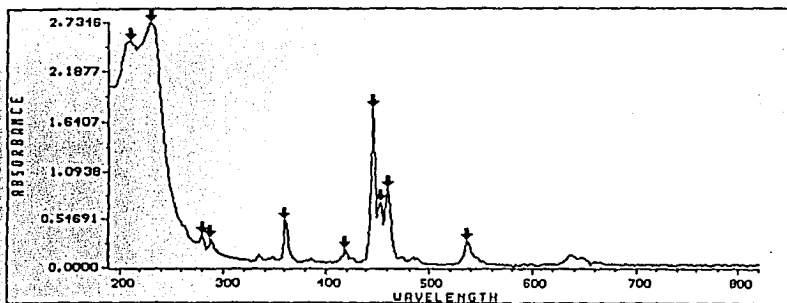
**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



GRAFICA No. 9. Primera lectura. Longitud de Onda de la Celda de Holmio.

---☐ WAVELENGTH SCAN REPORT \_---

File Name : Register: A  
Sample Name : CELDA DE HOLMIO Function : Absorbance  
Solvent Name : Wavelength Range : 190 to 820 nm  
Concentration : 1.0000 Integration Time : 1 s  
Units : Std Deviation : Off

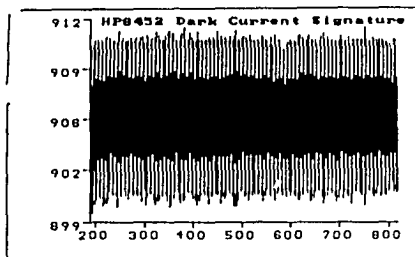


Marked Wavelengths

Reg A: L 210 = 2.5296  
Reg A: L 230 = 2.7346  
Reg A: L 280 = 0.36914  
Reg A: L 288 = 0.32805  
Reg A: L 360 = 0.53641  
Reg A: L 418 = 0.20462  
Reg A: L 446 = 1.7902  
Reg A: L 454 = 0.74788  
Reg A: L 460 = 0.89473  
Reg A: L 536 = 0.30525

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

GRAFICA No. 10. Primera lectura. Diagnóstico de la Corriente Oscura y la Intensidad de la Lámpara.



**Dark Current Test Results**

Dark Current Range: 300 900 to 912  
 Specification: <= 300  
 Range is Okay

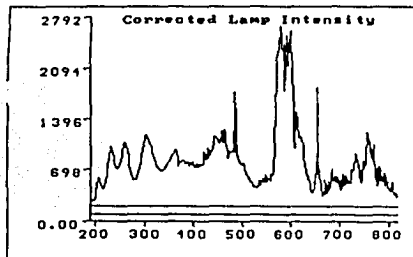
Disparity: 11.00  
 Specific Disparity: <= 100  
 Passes Disparity Test

Average Dark Current: 905.0  
 Specification: <= 2000  
 Average is Okay

HP0452 Diagnostics Rev. 2.0

HP0452 Status Code: 7	Available Commands
HP0452 Error Message: 000 NO ERROR	Dark Current Check
Resolution: 0 nm	Lamp Check
Power-Up Error: 0	Stability
	Internal Diagnostics
	Hardcopy
	Quit

Sending Output to HP Printer...



**Lamp Test Results**

Intensity Range : 100.0 to 2672.4  
 Specification : 100.0 to 14000.0  
 Average Intensity: 839.1

000 Lamp is okay 000

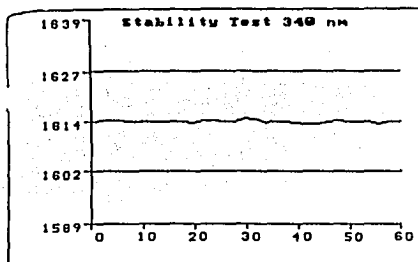
HP0452 Diagnostics Rev. 2.0

HP0452 Status Code: 7	Available Commands
HP0452 Error Message: 000 NO ERROR	Dark Current Check
Resolution: 0 nm	Lamp Check
Power-Up Error: 0	Stability
	Internal Diagnostics
	Hardcopy
	Quit

Sending Output to HP Printer...

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

GRAFICA No. 11. Primera lectura. Diagnóstico Interno y de Estabilidad.



HP8452 Internal Diagnostics

PAGE Number : 30

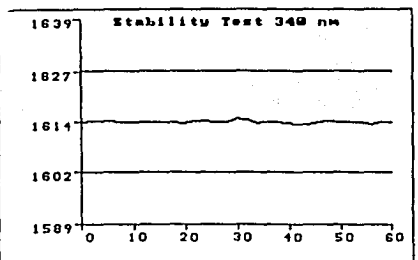
CPU	.....	Passed
ROM	.....	Passed
RAM	.....	Passed
Multiplier	.....	Passed
Interrupt	.....	Passed
Analogs	.....	Passed

Elapsed Time : 3.00 minutes

HP8452 Diagnostics Rev. 2.0

HP8452 Status	Code	7	Available Commands
HP8452 Signal	Code	0	Park Current Check
HP8452 Status	Code	0	Lamp Check
HP8452 Error Message	Code	999 NO ERROR	Stability
HP8452 Resolution	Code	3 nm	Internal Diagnostics
HP8452 Lamp	Code	On	Hardcopy
HP8452 Power-Up Error	Code	0	Quit

Sending Output to HP Printer...



Stability Test Results at 340 nm

Range: 1607.2

Specification is  $\leq 25$  at 340 nm

Range is Okay

HP8452 Diagnostics Rev. 2.0

HP8452 Status	Code	7	Available Commands
HP8452 Signal	Code	0	Park Current Check
HP8452 Status	Code	0	Lamp Check
HP8452 Error Message	Code	999 NO ERROR	Stability
HP8452 Resolution	Code	3 nm	Internal Diagnostics
HP8452 Lamp	Code	On	Hardcopy
HP8452 Power-Up Error	Code	0	Quit

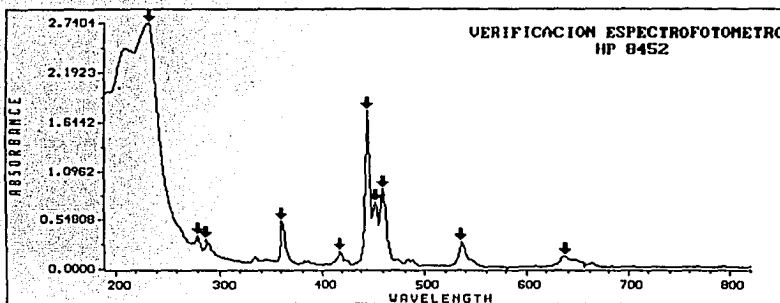
Sending Output to HP Printer...

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

GRAFICA No. 12. Ultima lectura. Longitud de Onda de la Celda de Holmio.

---◄ WAVELENGTH SCAN REPORT \_---

File Name : Register: A  
 Sample Name : CELDA DE HOLMIO Function : Absorbance  
 Solvent Name : Wavelength Range : 190 to 820 nm  
 Concentration : 1.0000 Integration Time : 1 s  
 Units : Std Deviation : Off

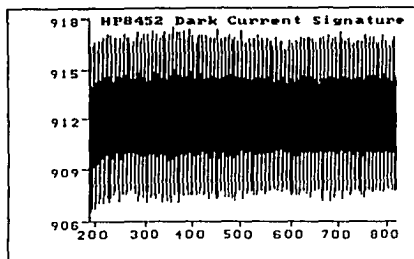


Marked Wavelengths

Reg A: L 232	=	2.7404
Reg A: L 280	=	0.37047
Reg A: L 288	=	0.32681
Reg A: L 360	=	0.52945
Reg A: L 418	=	0.19759
Reg A: L 446	=	1.7771
Reg A: L 454	=	0.74364
Reg A: L 460	=	0.90373
Reg A: L 536	=	0.29700
Reg A: L 638	=	0.14169

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**GRAFICA No. 13. Ultima lectura. Diagnóstico de la Corriente Oscura y la Intensidad de la Lámpara.**



**Dark Current Test Results**

Dark Current Range: 906 to 918  
 Specification:  $\leq 500$   
 Range is Okay

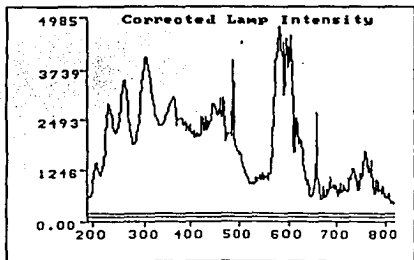
Disparity: 9.90  
 Specification:  $\leq 100$   
 Passes Disparity Test

Average Dark Current: 912.0  
 Specification:  $\leq 2000$   
 Average is Okay

**HP8452 Diagnostics Rev. 2.0**

HP8452 Status	7	Available Commands
HP-IB Select Code	8	Dark Current Check
HP-IB Status	8	Lamp Check
HP8452 Status	000 NO ERROR	Stability
Error Message	000 nm	Internal Diagnostics
Resolution	000 nm	Hardcopy
Power-Up Error	00	Quit

Sending Output to HP Printer...



**Lamp Test Results**

Intensity Range : 426.2 to 4768.4  
 Specification : 100.0 to 14000.0  
 Average Intensity: 1886.2

000 Lamp is okay 000

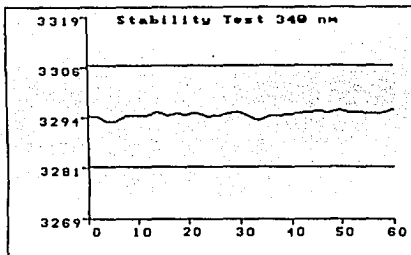
**HP8452 Diagnostics Rev. 2.0**

HP8452 Status	7	Available Commands
HP-IB Select Code	8	Dark Current Check
HP-IB Status	8	Lamp Check
HP8452 Status	000 NO ERROR	Stability
Error Message	000 nm	Internal Diagnostics
Resolution	000 nm	Hardcopy
Power-Up Error	00	Quit

Sending Output to HP Printer...

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

GRAFICA No. 14. Ultima lectura. Diagnóstico Interno y de Estabilidad.



HP0452 Internal Diagnostics

PASS Number : 11

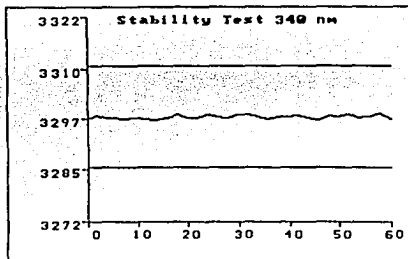
CPU	Passed
ROM	Passed
RAM	Passed
Multiplier	Passed
Interrupts	Passed
Analogs	Passed

Elapsed Time : 1.10 minutes

HP0452 Diagnostics Rev. 2.0

HP0452 Status		Available Commands
HP-IB Select Code	7	Dark Current Check
HP-IB Status	0	Lamp Check
HP0452 Status	0	Stability
Error Message	000 NO ERROR	Internal Diagnostics
Resolution	2 nm	Hardcopy
Power-Up Lamp	On	Quit
Power-Up Error	0	

Sending Output to HP Printer...



Stability Test Results at 340 nm

Range: 1.6

Specification is  $\leq 25$  at 340 nm

Range is Okay

HP0452 Diagnostics Rev. 2.0

HP0452 Status		Available Commands
HP-IB Select Code	7	Dark Current Check
HP-IB Status	0	Lamp Check
HP0452 Status	0	Stability
Error Message	000 NO ERROR	Internal Diagnostics
Resolution	2 nm	Hardcopy
Power-Up Lamp	On	Quit
Power-Up Error	0	

Sending Output to HP Printer...

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## Segunda Parte

### 6.3 Validación del Método Analítico de Disolución

#### 1. Características generales:

Principio Activo	Cefalexina Monohidrato
Forma Farmacéutica:	Cápsulas
Contenido:	Equivalente a 250 mg de cefalexina base

La razón para llevar a cabo la validación del método es la modificación en la formulación del excipiente.

Las condiciones establecidas por la USP para la disolución son:

Medio de disolución:	Agua (900 ml)
Aparato:	Canastilla (aparato 1)
Velocidad:	100 rpm
Tiempo:	45 minutos
Temperatura:	37°C
Estándar:	Cefalexina RS USP

#### 2. Preparación del estándar:

- Pesar con exactitud, aproximadamente 58.8 mg de cefalexina RS USP que presentan ya el ajuste en base a su potencia.
- Transferir los mg de cefalexina RS USP a un matraz volumétrico de 100 ml, disolver y diluir con agua destilada conocida como solución patrón.
- Tomar con pipeta volumétrica una alícuota de 4 ml.
- Transferir la alícuota a un matraz volumétrico de 100 ml y diluir con agua destilada. Esta solución se encuentra a una concentración al 100%.

Nota: El estándar debe prepararse el mismo día de su utilización.

**Referencias del estándar:**

**Cefalexina RS USP**

**Lote RS0047**

**Potencia: 0.943 mcg/mg**

**Vigente al momento de la validación**

**3. Preparación de la muestra (Placebo cargado):**

- a. Pesar la cefalexina monohidrato con exactitud, aproximadamente el equivalente a los 250 mg de cefalexina base.
- b. Pesar con exactitud una cantidad aproximada en mg de cada una de las materias primas que forman el excipiente en la formulación.
- c. Agregar los mg de principio activo y los mg de cada materia prima que forma el excipiente en un matraz de capacidad adecuada y disolver con agitación en 900 ml de agua destilada.
- d. Filtrar la solución usando papel filtro de 0.45  $\mu$ .
- e. Tomar una alícuota de 4 ml de la solución filtrada utilizando una pipeta volumétrica.
- f. Transferir la alícuota a un matraz volumétrico de 50 ml y diluir con agua destilada. Esta es la solución que se usará para realizar la validación.

**Nota:** Se puede utilizar una cantidad menor de monohidrato de cefalexina y de cada una de las materias primas que forman el excipiente siempre que sea a una escala proporcional con respecto a la formulación, manteniéndose siempre constante la dilución arriba indicada.

**4. Preparación del placebo:**

Se realiza siguiendo el mismo procedimiento que en el punto 3., exceptuando el inciso "a".



Nota: Se puede utilizar una cantidad menor de cada una de las materias primas que forman el excipiente siempre que sea a una escala proporcional con respecto a la formulación, manteniéndose siempre constante la dilución indicada en el punto 3 inciso "a".

5. Cuidados generales en la preparación del estándar, la muestra y el placebo:

- a. Utilizar material de laboratorio limpio.
- b. Utilizar un marcador para identificar cada una de las soluciones.
- c. Cerrar perfectamente el recipiente de cada uno de los materiales utilizados, proteger de la luz y guardar en un lugar fresco perfectamente bien identificados.

6. Condiciones de operación para el Espectrofotómetro UV-Visible:

- a. Leer a una longitud de onda máxima de 262 nm.
- b. Utilizar agua destilada como blanco.
- c. Utilizar una cubeta de cuarzo de tamaño estándar (1 cm).
- d. Las paredes externas de la cubeta deben encontrarse perfectamente limpias durante las lecturas.

Nota: No utilizar el espectrofotómetro inmediatamente después de ser encendido.

7. Recomendaciones:

Es importante cubrir los puntos anteriores para llevar a cabo una validación adecuada y sin contratiempos. Se debe generar un plan de trabajo adecuado para evitar dejar inconcluso algún punto de la validación que pudiera afectar los resultados.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

A continuación se presentan los parámetros que se analizaron para llevar a cabo la validación:

- A) Linearidad del sistema
- B) Precisión del sistema
- C) Linearidad del método
- D) Precisión del método (Repetibilidad)
- E) Precisión intermedia
- F) Exactitud
- G) Especificidad
- H) Tolerancia

#### A) LINEARIDAD DEL SISTEMA

Se determinó construyendo una curva de calibración (concentración contra respuesta medida) utilizando 5 diluciones preparadas a partir de la misma solución patrón. El rango utilizado va del 60 al 140% de la concentración de la muestra en la solución final a analizar.

El análisis se realizó por duplicado para cada solución.

En la Tabla 26 se indican los porcentajes analizados, su concentración y su preparación en base a la solución patrón.

**Tabla 26.** Preparación de Soluciones para la Linearidad del Sistema.

<i>Dilución con respecto a la solución patrón</i>	<i>Concentración (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</i>	<i>Concentración final en por ciento.</i>
6/250	13.3	60 %
8/250	17.8	80 %
4/100	22.2	100 %
12/250	26.6	120 %
14/250	31.1	140 %

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

El criterio de aceptación para la linealidad del sistema es un coeficiente de determinación ( $r^2$ ) mayor o igual a 0.99 y un coeficiente de correlación ( $r$ ) mayor o igual al 0.995. Además de que el coeficiente de variación debe ser menor o igual al 3%.

Las lecturas obtenidas a través del espectrofotómetro UV-Visible se muestran a continuación:

**Tabla 27. Resultados para la Linealidad del Sistema.**

Concentración ( $\mu\text{g/ml}$ )	Respuesta medida Absorbancia	
	Primera serie	Segunda Serie
13.3	0.28329	0.28421
17.8	0.37877	0.38062
22.2	0.47922	0.48154
26.6	0.56743	0.57082
31.1	0.66405	0.66771

El análisis estadístico a través del método de mínimos cuadrados de los resultados muestra:

Ordenada al origen ( $b$ ) = 0.0011

Pendiente ( $m$ ) = 0.0215

Coficiente de correlación ( $r$ ) = 0.9998

Criterios:  $r \geq 0.995$

Coficiente de determinación ( $r^2$ ) = 0.9996

$r^2 \geq 0.99$

Para realizar el cálculo del coeficiente de variación se obtuvo el valor del factor ( $F$ ) que se determina mediante la siguiente ecuación (Ecuación 8):

$$F = \frac{\text{Propiedad medida}}{\text{Concentración de la dilución}}$$

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Los resultados del factor (F) se muestran a continuación:

**Tabla 28.** Resultados del factor F para la Linearidad del Sistema.

<i>Factor</i>
0.02130
0.02137
0.02128
0.02138
0.02159
0.02169
0.02133
0.02146
0.02135
0.02147

Media aritmética = 0.02142

Desviación estándar (s) = 0.00013

Coefficiente de variación (CV) = 0.61%

Criterio:  $CV \leq 3\%$

Las gráficas correspondientes a la primera serie y segunda serie de lecturas para la linealidad del sistema se muestran a continuación en las Gráficas No.15 y 16 de las páginas 99 y 100 respectivamente.

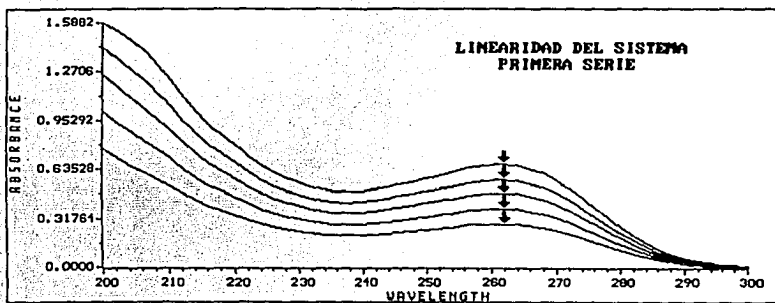
De igual forma, la línea recta que representa la Linearidad del Sistema se encuentra en la Gráfica No. 17 de la página 101.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

GRAFICA No. 15. Linearidad del Sistema. Primera Serie.

---Ç Overlaid Spectra \_---

Reg	File Name	Sample Name
A		MTA.1 CONC. 60%
B		MTA.2 CONC. 80%
C		MTA.3 CONC.100%
D		MTA.4 CONC.120%
E		MTA.5 CONC.140%



Marked Wavelengths

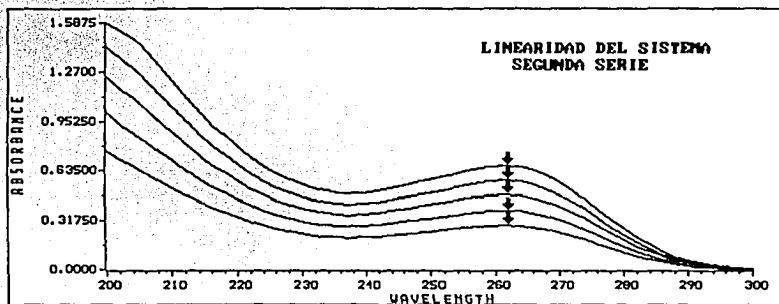
Reg A:	L 262	0.28329
Reg B:	L 262	0.37877
Reg C:	L 262	0.47922
Reg D:	L 262	0.56743
Reg E:	L 262	0.66405

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

GRAFICA No. 16. Linearidad del Sistema. Segunda Serie.

---Ç Overlaid Spectra \_---

Reg	File Name	Sample Name
A		MTA.1 CONC. 60%
B		MTA.2 CONC. 80%
C		MTA.3 CONC.100%
D		MTA.4 CONC.120%
E		MTA.5 CONC.140%

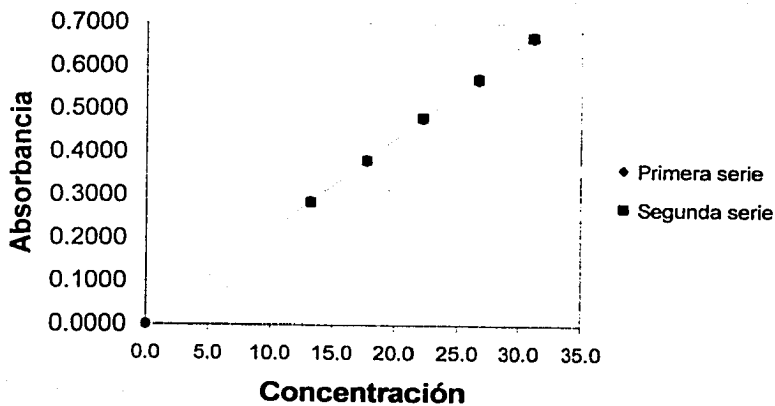


Marked Wavelengths

Reg A:	L 262	=	0.28421
Reg B:	L 262	=	0.38062
Reg C:	L 262	=	0.48154
Reg D:	L 262	=	0.57082
Reg E:	L 262	=	0.66771

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

GRAFICA No. 17. Linearidad del Sistema.



Ecuación que representa la Linearidad del Sistema

$$y = 0.0215 x + 0.0011$$

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## B) PRECISION DEL SISTEMA

Se determinó mediante el análisis por sextuplicado de una misma solución estándar correspondiente al 100% de la concentración de la muestra en la solución final a analizar.

El criterio de aceptación para la precisión del sistema es que el coeficiente de variación debe ser menor o igual al 3%.

La Tabla 29 presenta las lecturas obtenidas del espectrofotómetro UV-Visible para este análisis.

**Tabla 29. Resultados para la Precisión del Sistema.**

<i>Respuesta medida Absorbancia</i>
0.47945
0.48030
0.48102
0.48239
0.48175
0.47821

El análisis de los resultados para obtener el coeficiente de variación son los siguientes:

Media aritmética = 0.48052

Desviación estándar (s) = 0.00153

Coefficiente de variación (CV) = 0.32%

Criterio:  $CV \leq 3\%$

La Gráfica No.18 de la página 103 se muestran los resultados para la precisión del sistema.

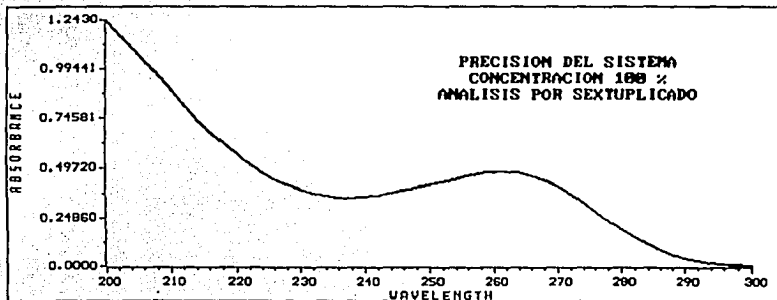
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



GRAFICA No. 18. Precisión del Sistema.

---φ Overlaid Spectra \_---

Reg	File Name	Sample Name
A		MTA.1 CONC.100%
B		MTA.2 CONC.100%
C		MTA.3 CONC.100%
D		MTA.4 CONC.100%
E		MTA.5 CONC.100%
F		MTA.6 CONC.100%



Marked Wavelengths

Reg A:	L 262	=	0.47945
Reg B:	L 262	=	0.48030
Reg C:	L 262	=	0.48102
Reg D:	L 262	=	0.48239
Reg E:	L 262	=	0.48175
Reg F:	L 262	=	0.47821

TESIS CON  
FOLIO DE ORIGEN

### C) LINEARIDAD DEL METODO

Se determinó utilizando placebos cargados de 5 diferentes cantidades de la sustancia de interés, cada uno de manera independiente. El rango utilizado deberá contener los valores que van del 80 al 120% de la concentración de la muestra a analizar, además de encontrarse dentro del rango de la linealidad del sistema.

El análisis se realizó por triplicado para cada solución con el fin de que los resultados de este parámetro justifiquen la exactitud del método junto con la precisión del método y la especificidad.

En la Tabla 30 se indican los porcentajes analizados, su concentración y su preparación en base a la solución de la muestra.

**Tabla 30. Preparación de Soluciones para la Linealidad del Método.**

<i>Dilución con respecto a la solución de la muestra</i>	<i>Concentración (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</i>	<i>Concentración final en porcentaje.</i>
14/250	15.6	70 %
16/250	17.8	80 %
4/50	22.2	100 %
24/250	26.6	120 %
26/250	28.9	130 %

El criterio de aceptación para la linealidad del método de la cantidad adicionada contra la cantidad recuperada es un coeficiente de determinación ( $r^2$ ) mayor o igual a 0.98 y un coeficiente de correlación ( $r$ ) mayor o igual al 0.99, con una pendiente de aproximadamente 1 y una ordenada al origen de aproximadamente 0.

El porcentaje de recobro debe estar entre el 97 y el 103% y tener un coeficiente de variación menor o igual al 3%.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Los resultados de los análisis se muestran a continuación:

**Tabla 31. Resultados para la Linearidad del Método.**

Lectura del estándar: 0.47398				
Rango	Lecturas	Cantidad Adicionada (mg)	Cantidad recuperada (mg)	% Recobro
70.0%	0.33330	175.00	175.62	100.3
	0.33618	175.00	177.14	101.2
	0.33047	175.00	174.13	99.5
80.0%	0.37900	200.00	199.70	99.8
	0.37982	200.00	200.14	100.1
	0.37654	200.00	198.41	99.2
100.0%	0.47255	250.00	249.00	99.6
	0.47444	250.00	249.99	100.0
	0.47156	250.00	248.47	99.4
120.0%	0.56804	300.00	299.31	99.8
	0.56770	300.00	299.13	99.7
	0.56787	300.00	299.22	99.7
130.0%	0.61792	325.00	325.60	100.2
	0.61598	325.00	324.57	99.9
	0.61459	325.00	323.84	99.6
Análisis estadístico	Ordenada al origen ( b ) = 0.8770			Media aritmética = 99.9%
	Pendiente ( m ) = 0.995			Desviación estándar (s) = 0.4746
	Coeficiente de correlación ( r ) = 0.9998			
	Coeficiente de determinación ( r <sup>2</sup> ) = 0.9997			Coeficiente de variación (CV) = 0.47%
Criterios de Aceptación	Ordenada al origen ( b ) ≈ 0			% Recobro 97 a 103%
	Pendiente ( m ) ≈ 1			
	Coeficiente de correlación ( r ) ≥ 0.99			CV ≤ 3%
	Coeficiente de determinación ( r <sup>2</sup> ) ≥ 0.98			

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

Las gráficas correspondientes a las lecturas tomadas por el espectrofotómetro UV-Visible y la gráfica que demuestra la linealidad del método se muestran en base a la siguiente relación:

**Tabla 32.** Relación de Gráficas para la Linealidad del Método

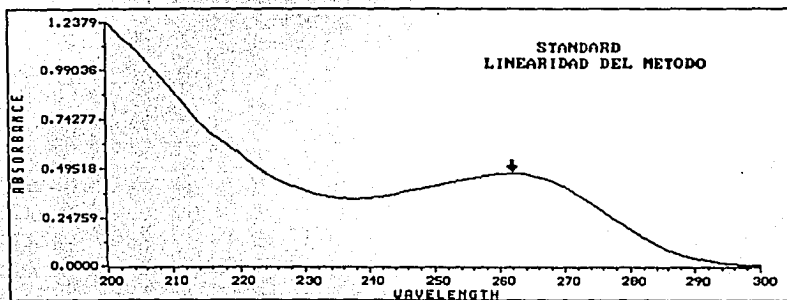
<i>Gráfica No.</i>	<i>Descripción</i>	<i>Página No.</i>
19	Lectura del Estándar para la Linealidad del Método	107
20	Lecturas para la Linealidad del Método al 70%	108
21	Lecturas para la Linealidad del Método al 80%	109
22	Lecturas para la Linealidad del Método al 100%	110
23	Lecturas para la Linealidad del Método al 120%	111
24	Lecturas para la Linealidad del Método al 130%	112
25	Linealidad del Método	113

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

GRAFICA No. 19. Lectura del Estándar para la Linearidad del Método.

---◊ WAVELENGTH SCAN REPORT \_---

File Name : Register: A  
Sample Name : STANDARD Function : Absorbance  
Solvent Name : Wavelength Range : 190 to 820 nm  
Concentration : 1.0000 Integration Time : 1 s  
Units : Std Deviation : Off



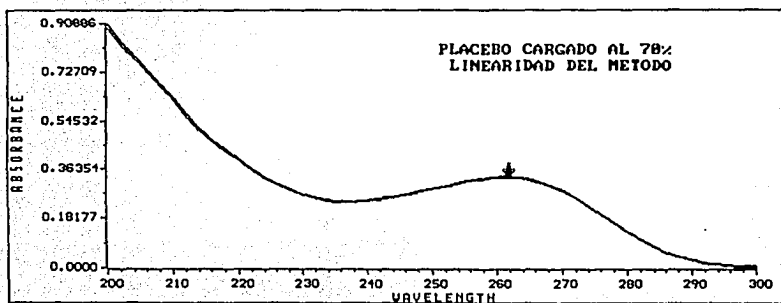
Marked Wavelengths  
Reg A: L 262 = 0.47398

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

GRAFICA No. 20. Lecturas para la Linearidad del Método al 70%.

---φ Overlaid Spectra \_---

Reg	File Name	Sample Name
A		P.ACTIVO 70%-1
B		P.ACTIVO 70%-2
C		P.ACTIVO 70%-3



Marked Wavelengths

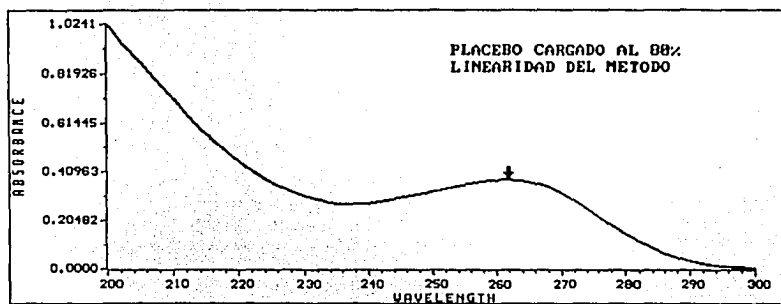
Reg A:	L 262	=	0.33330
Reg B:	L 262	=	0.33618
Reg C:	L 262	=	0.33047

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

GRAFICA No. 21. Lecturas para la Linealidad del Método al 80%.

---Ç Overlaid Spectra \_---

Reg	File Name	Sample Name
A		P.ACTIVO 80%-1
B		P.ACTIVO 80%-2
C		P.ACTIVO 80%-3



Marked Wavelengths

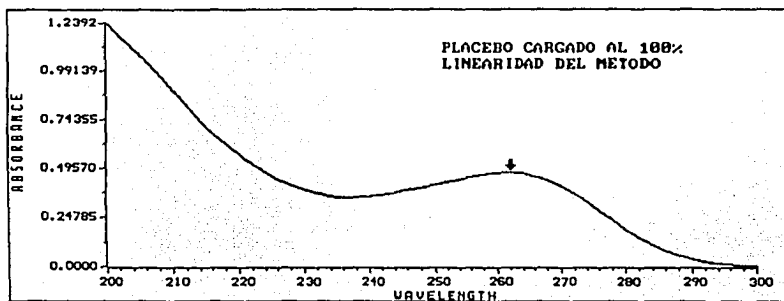
Reg A:	L 262	=	0.37900
Reg B:	L 262	=	0.37982
Reg C:	L 262	=	0.37654

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

GRAFICA No. 22. Lecturas para la Linearidad del Método al 100%.

---φ Overlaid Spectra \_---

Reg	File Name	Sample Name
A		P.ACTIVO 100%-1
B		P.ACTIVO 100%-2
C		P.ACTIVO 100%-3



Marked Wavelengths

Reg A:	L 262	=	0.47255
Reg B:	L 262	=	0.47444
Reg C:	L 262	=	0.47156

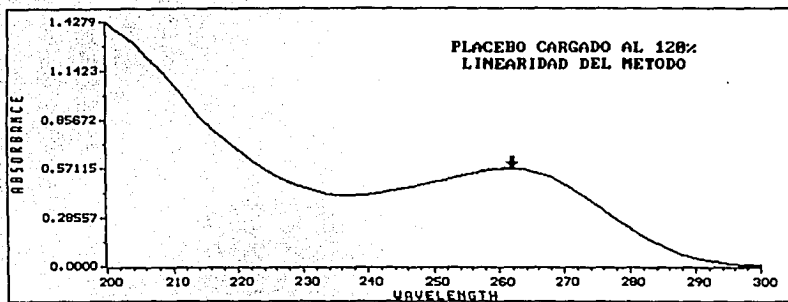
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



GRAFICA No. 23. Lecturas para la Linearidad del Método al 120%.

---Ç Overlaid Spectra \_---

Reg	File Name	Sample Name
A		P.ACTIVO 120%-1
B		P.ACTIVO 120%-2
C		P.ACTIVO 120%-3



Marked Wavelengths

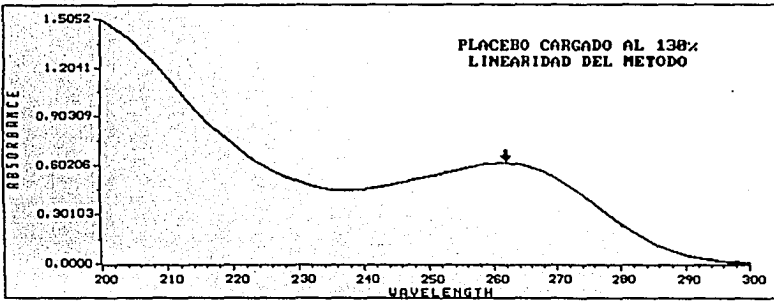
Reg A:	L 262	=	0.56804
Reg B:	L 262	=	0.56770
Reg C:	L 262	=	0.56787

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

GRAFICA No. 24. Lecturas para la Linealidad del Método al 130%.

---φ Overlaid Spectra \_---

Reg	File Name	Sample Name
A		P.ACTIVO 130%-1
B		P.ACTIVO 130%-2
C		P.ACTIVO 130%-3

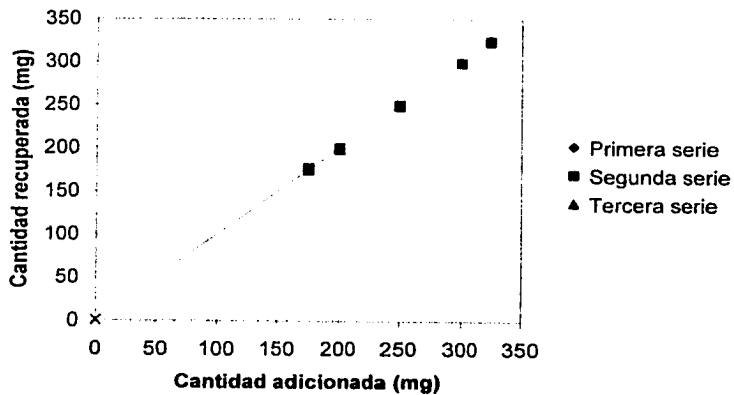


Marked Wavelengths

Reg A:	L 262	=	0.61792
Reg B:	L 262	=	0.61598
Reg C:	L 262	=	0.61459

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**GRAFICA No. 25. Linearidad del Método.**



Ecuación que representa la Linearidad del Método

$$y = 0.995 x + 0.877$$

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

#### D) PRECISION DEL METODO (REPETIBILIDAD)

Se determinó mediante el análisis de manera independiente por sextuplicado de placebos cargados con el 100% de principio activo y utilizando el procedimiento para la preparación de la muestra, haciendo el análisis en las mismas condiciones de operación y por el mismo analista.

El criterio de aceptación para la precisión del método (reproducibilidad) es que el coeficiente de variación debe ser menor o igual al 3% y un porciento de recobro entre el 97 y el 103%.

La siguiente tabla presenta los resultados para este análisis.

**Tabla 33. Resultados para la Precisión del Método (Repetibilidad).**

Lectura del estándar: 0.47272		
Cantidad adicionada a cada placebo cargado: 250 mg		
Lectura	Cantidad recuperada (mg)	% Recobro
0.47490	250.90	100.4
0.47023	248.43	99.4
0.47333	250.07	100.0
0.47592	251.44	100.6
0.47595	251.46	100.6
0.47774	252.40	101.0
Análisis estadístico	Media aritmética =	100.3
	Desviación estándar (s) =	0.5609
	Coefficiente de Variación (CV) =	0.56%
Criterios de Aceptación	% Recobro 97 al 103%	
	CV $\leq$ 3%	

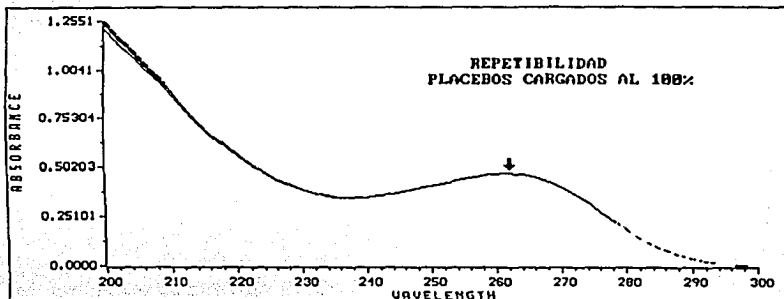
La Gráfica No. 26 de la página 115 se muestran los resultados para la precisión del método.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

GRAFICA No. 26. Precisión del Método (Repetibilidad).

---Ç Overlaid Spectra \_---

Reg	File Name	Sample Name
A		STANDARD
B		PLACEBO 1
C		PLACEBO 2
D		PLACEBO 3
E		PLACEBO 4
F		PLACEBO 5
G		PLACEBO 6



Marked Wavelengths.

Reg A:	L 262	=	0.47272
Reg B:	L 262	=	0.47490
Reg C:	L 262	=	0.47023
Reg D:	L 262	=	0.47333
Reg E:	L 262	=	0.47592
Reg F:	L 262	=	0.47595
Reg G:	L 262	=	0.47774

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## E) PRECISION INTERMEDIA

Se determinó mediante el análisis de manera independiente por triplicado de placebos cargados con el 100% de principio activo y utilizando el procedimiento para la preparación de la muestra, realizando el análisis en dos días diferentes y por dos analistas.

El criterio de aceptación para la precisión intermedia del método es que el coeficiente de variación debe ser menor o igual al 3%.

La siguiente tabla presenta los resultados para este análisis.

**Tabla 34. Resultados para la Precisión Intermedia.**

<b>Analista 1</b>			
	<i>Lectura</i>	<i>Cantidad recuperada (mg)</i>	<i>% Recobro</i>
<b>1er. día</b> Estándar = 0.47870	0.47873	249.77	99.9
	0.47836	249.57	99.8
	0.47623	248.46	99.4
<b>2do. día</b> Estándar = 0.47952	0.47688	248.37	99.3
	0.47511	247.45	99.0
	0.47997	249.98	100.0
<b>Analista 2</b>			
<b>1er. día</b> Estándar = 0.48189	0.47876	248.13	99.2
	0.48135	249.47	99.8
	0.48024	248.89	99.6
<b>2do. día</b> Estándar = 0.48135	0.48004	249.07	99.6
	0.48076	249.44	99.8
	0.47777	247.89	99.2
Análisis estadístico	Media aritmética =		99.5
	Desviación estándar (s)=		0.3233
	Coeficiente de variación (CV)=		0.32%
Criterio de Aceptación	CV ≤ 3%		

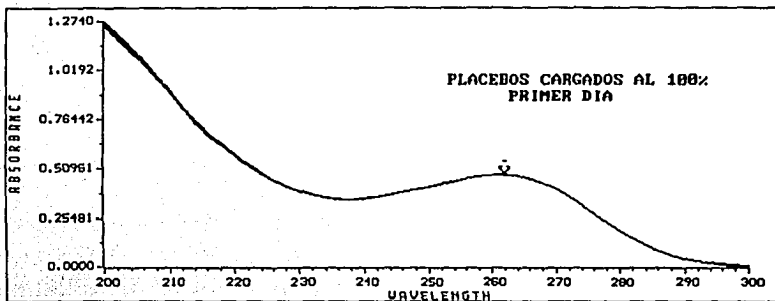
Las gráficas correspondientes a los resultados que se muestran en la Tabla 34 para la precisión intermedia se encuentran en las siguientes páginas.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**GRAFICA No. 27. Precisión Intermedia. Primer día. Analista 1.**

---Ç Overlaid Spectra \_---

Reg	File Name	Sample Name
A		STANDARD
B		PLAC. CARG. 1
C		PLAC. CARG. 2
D		PLAC. CARG. 3



**Marked Wavelengths**

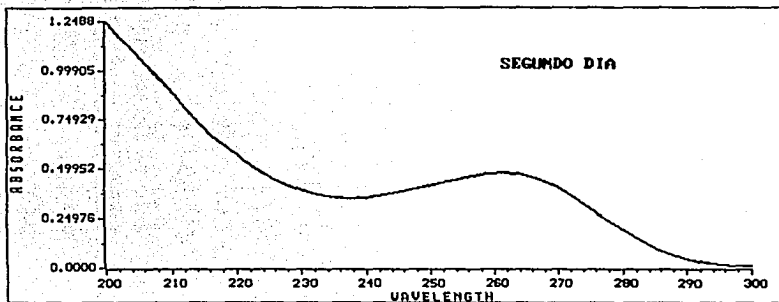
Reg A:	L 262	=	0.47870
Reg B:	L 262	=	0.47873
Reg C:	L 262	=	0.47836
Reg D:	L 262	=	0.47623

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

GRAFICA No. 28. Precisión Intermedia. Segundo día. Analista 1.

---Ç Overlaid Spectra \_---

Reg	File Name	Sample Name
A		STANDARD
B		PLAC. CARG. 1
C		PLAC. CARG. 2
D		PLAC. CARG. 3



Marked Wavelengths

Reg A:	L 262	=	0.47952
Reg B:	L 262	=	0.47688
Reg C:	L 262	=	0.47511
Reg D:	L 262	=	0.47997

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

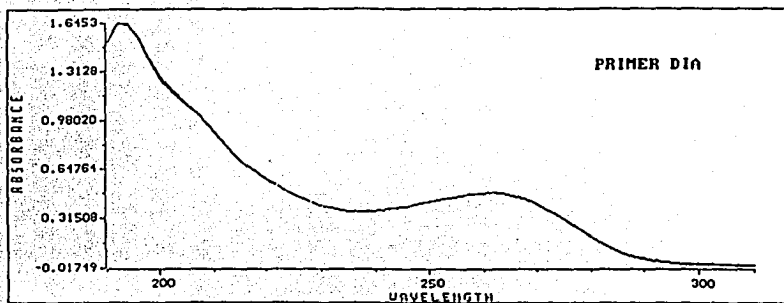


**GRAFICA No. 29. Precisión Intermedia. Primer día. Analista 2.**

---☐ Overlaid Spectra ---

Reg File Name Sample Name

A	ESTANDAR
B	MUESTRA 1
C	MUESTRA 2
D	MUESTRA 3



**Marked Wavelengths**

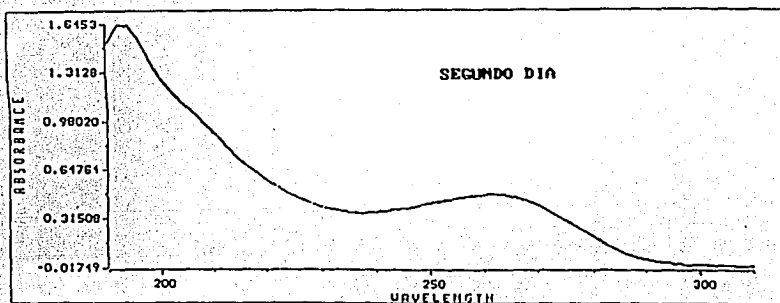
Reg A:	L 262	==	0.48189
Reg B:	L 262	==	0.47876
Reg C:	L 262	==	0.48135
Reg D:	L 262	==	0.48024

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

GRAFICA No. 30. Precisión Intermedia. Segundo día. Analista 2.

---φ Overlaid Spectra ---

Reg	File Name	Sample Name
A		ESTANDAR
B		MUESTRA 1
C		MUESTRA 2
D		MUESTRA 3



Marked Wavelengths

Reg A:	L 262 =	0.48135
Reg B:	L 262 =	0.48004
Reg C:	L 262 =	0.48076
Reg D:	L 262 =	0.47777

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## F) EXACTITUD

Se justifica mediante el porciento de recobro calculado en la linealidad del método la cual se realizó por triplicado en placebos cargados con diferentes concentraciones de principio activo y utilizando el procedimiento para la preparación de la muestra, de igual forma se sustenta de la prueba de precisión y especificidad.

El procedimiento para llevar a cabo la prueba de exactitud requiere de un mínimo de 9 determinaciones cubriendo un mínimo de 3 diferentes concentraciones determinando cada una por triplicado. (3 concentraciones / 3 análisis ).

El criterio de aceptación para la exactitud es que el coeficiente de variación debe ser menor o igual al 3% y el porciento de recobro debe estar entre el 97 y 103%.

**Tabla 35. Resultados para la Exactitud.**

<i>Concentración (%)</i>	<i>% Recobro</i>
70%	100.3
	101.2
	99.5
80%	99.8
	100.1
	99.2
100%	99.6
	100.0
	99.4
120%	99.8
	99.7
	99.7
130%	100.2
	99.9
	99.6
Análisis estadístico	Media aritmética = 99.9% Desviación estándar (s)= 0.4746 Coeficiente de variación (CV)= 0.47%
Criterios de Aceptación	% Recobro: 97 a 103% CV ≤ 3%

## G) ESPECIFICIDAD

Para confirmar que el método es capaz de cuantificar la sustancia de interés sin que existan interferencias de otras sustancias presentes, se procedió a analizar el placebo cargado al 100% con su correspondiente tratamiento indicado en la preparación de la muestra y el placebo utilizados durante los análisis, además de incluir la solución estándar y la cápsula vacía.

El criterio de aceptación es confirmar que el método es capaz de cuantificar la sustancia de interés sin que existan interferencias en la longitud de onda de máxima absorbancia para la cefalexina a los 262 nm.

Los resultados obtenidos se muestran en la página 123 en la Gráfica No. 31, que a continuación se describen:

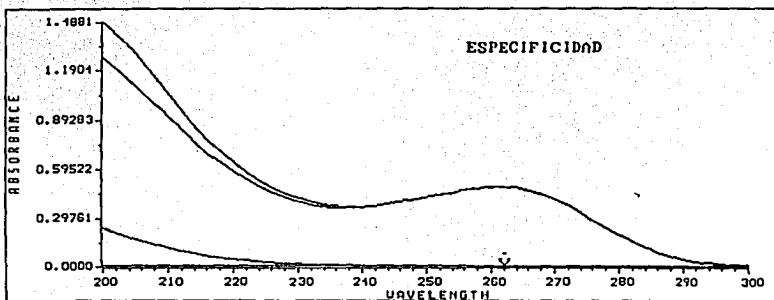
Lectura del Estándar a 262 nm:	0.48807
Lectura del Placebo Cargado a 262 nm:	0.49217
Lectura del Placebo a 262 nm:	0.00330
Lectura de la Cápsula a 262 nm:	0.00650

Podemos observar que las lecturas correspondientes al placebo (incluye todas las materias primas que forman el excipiente) y la cápsula no interfieren en lo absoluto en la lectura para el principio activo que se está cuantificando en este método.

GRAFICA No. 31. Especificidad.

---☉ Overlaid Spectra \_---

Reg	File Name	Sample Name
A		STANDARD
B		PLACEBO CARGADO
C		PLACEBO
D		CAPSULAS



Marked Wavelengths

Reg A: L 262 = 0.48807  
Reg B: L 262 = 0.49217  
Reg C: L 262 = 0.00330  
Reg D: L 262 = 0.00650

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## H) TOLERANCIA

Se determinó mediante la comparación del análisis de manera independiente de placebos cargados con el 100% de principio activo y utilizando el procedimiento para la preparación de la muestra en condiciones normales de operación y del análisis de las mismas bajo modificaciones de las condiciones normales de operación.

Las modificaciones que se realizaron son:

- a) Variación de la longitud de onda

A continuación se muestran los resultados con más detalle.

### a) Variación de la longitud de onda.

En condiciones normales de operación la longitud de onda de máxima absorbancia es a 262 nm, el análisis de tolerancia se realizó en un  $\pm 1.5\%$  a 6 muestras, por lo que se utilizaron los valores de 258 y 266 nm como longitudes de onda en los análisis.

El criterio de aceptación para la tolerancia es que el coeficiente de variación debe ser menor o igual al 3%, mostrando un intervalo de confianza en base a la diferencia de la media de la muestra con respecto a la media del análisis inicial que incluya el valor de cero y/o la magnitud del efecto no exceda el valor establecido para el coeficiente de variación.

En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos del análisis inicial y de las variaciones en la longitud de onda.

**Tabla 36.** Resultados del Análisis con Variación en la Longitud de Onda.

	Condiciones normales 262 nm		258 nm		266 nm	
	Lectura	Cantidad recuperada (mg)	Lectura	Cantidad recuperada (mg)	Lectura	Cantidad recuperada (mg)
Std.	0.48816		0.47696		0.46902	
1	0.48134	246.26	0.47025	246.24	0.46248	246.27
2	0.48363	247.43	0.47229	247.30	0.46474	247.47
3	0.48311	247.17	0.47176	247.03	0.46405	247.10
4	0.48090	246.04	0.46953	245.86	0.46193	245.97
5	0.48106	246.18	0.46977	245.98	0.46196	245.99
6	0.48370	247.47	0.47247	247.40	0.46474	247.47

Se obtuvieron los porcentos de recobro para cada resultado que se presenta en la Tabla 36 y se realizó un análisis estadístico en el cual se obtuvieron la media aritmética, la desviación estándar, la varianza y una nueva variable, la varianza ponderada que nos sirve para obtener los intervalos de confianza que más adelante se muestran.

La varianza ponderada se obtiene en base a la siguiente ecuación (Ecuación 9):

$$sp_i^2 = \frac{2s_0^2 + 2s_1^2}{2(c+1)}$$

Donde c es el número de comparaciones,  $s_0^2$  y  $s_1^2$  son los valores de la varianza del análisis inicial y uno de los análisis que se están comparando, respectivamente.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**Tabla 37. Porcentaje de Recobro para el Análisis con Variación en la Longitud de Onda.**

% Recobro			
	Condiciones normales 262 nm	258 nm	266 nm
1	98.5	98.5	98.5
2	99.0	98.9	99.0
3	98.9	98.8	98.8
4	98.4	98.3	98.4
5	98.5	98.4	98.4
6	99.0	99.0	99.0
Media aritmética	98.7	98.6	98.7
Desviación estándar (s)	0.2787	0.2881	0.2858
Varianza (s <sup>2</sup> )	0.0777	0.0830	0.0817
Varianza ponderada (sp <sup>2</sup> )		0.0536	0.0531

A continuación se muestran los resultados para el Intervalo de Confianza (IC) calculado utilizando la siguiente ecuación (Ecuación 10):

$$IC = (\bar{y}_1 - \bar{y}_0) \pm t^* \times \sqrt{sp^2(2/3)}$$

En la que se utiliza el valor de la t de Dunnett (t\*) con c comparaciones y 2(c+1) grados de libertad y una probabilidad acumulada del 0.975.

De esta forma obtenemos que :

258 nm el Intervalo de confianza es -0.6406 a +0.4406

266 nm el Intervalo de confianza es -0.5381 a +0.5381

No hay diferencias significativas ya que el intervalo de confianza incluye el valor de cero en ambos resultados.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Para realizar el cálculo del Coeficiente de Variación se utiliza el Factor I expresado en porcentaje que presenta la siguiente ecuación (Ecuación 11):

$$\text{Factor I} = \frac{\% \text{Recobro (análisis/condición/tiempo)}}{\% \text{Recobro (análisis en condiciones normales)}} \times 100$$

**Tabla 38.** Factor I para el Análisis con Variación en la Longitud de Onda.

	Factor I	
	258 / 262 nm	266 / 262 nm
1	100.0	100.0
2	99.9	100.0
3	99.9	99.9
4	99.9	100.0
5	99.9	99.9
6	100.0	100.0
Media aritmética	99.9	100.0
Desviación estándar (s)	0.0516	0.0516
Coeficiente de Variación (CV)	0.05%	0.05%
Criterio de Aceptación	CV ≤ 3%	

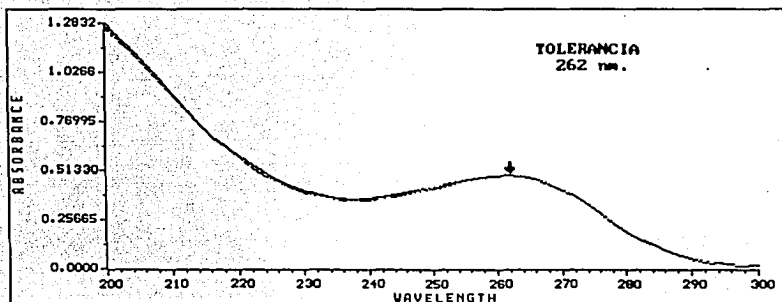
Las gráficas correspondientes a las Variaciones en Longitud de Onda se muestran en las siguientes páginas en las Gráficas No. 32, 33 y 34.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**GRAFICA No. 32.** Resultados a Condiciones Normales de Operación.  
 Longitud de Onda a 262 nm.

---⊕ Overlaid Spectra \_---

Reg	File Name	Sample Name
A		STANDARD
B		PLAC. CARG. 1
C		PLAC. CARG. 2
D		PLAC. CARG. 3
E		PLAC. CARG. 4
F		PLAC. CARG. 5
G		PLAC. CARG. 6



**Marked Wavelengths**

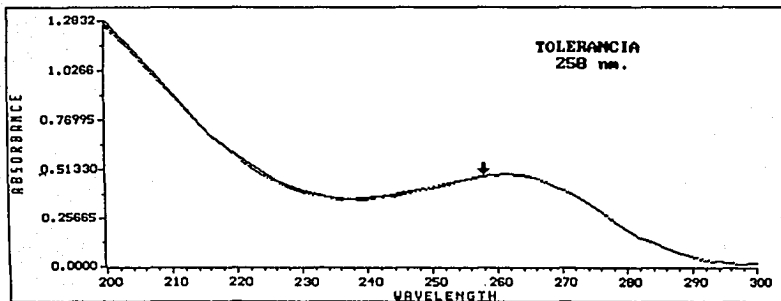
Reg A:	L 262	=	0.48816
Reg B:	L 262	=	0.48134
Reg C:	L 262	=	0.48363
Reg D:	L 262	=	0.48311
Reg E:	L 262	=	0.48090
Reg F:	L 262	=	0.48106
Reg G:	L 262	=	0.48370

**TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN**

**GRAFICA No. 33. Resultados a una Longitud de Onda de 258 nm.**

---Ç Overlaid Spectra \_---

Reg	File Name	Sample Name
A		STANDARD
B		PLAC. CARG. 1
C		PLAC. CARG. 2
D		PLAC. CARG. 3
E		PLAC. CARG. 4
F		PLAC. CARG. 5
G		PLAC. CARG. 6



**Marked Wavelengths**

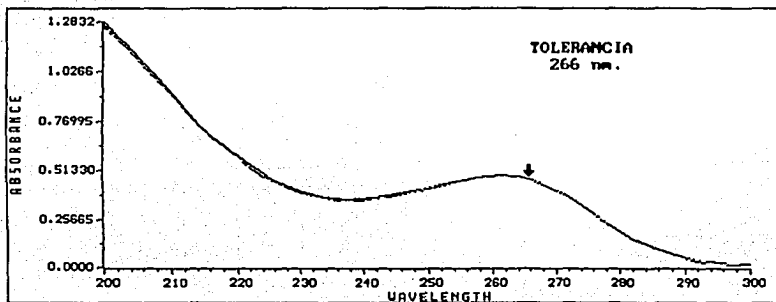
Reg A:	L 258	=	0.47696
Reg B:	L 258	=	0.47025
Reg C:	L 258	=	0.47229
Reg D:	L 258	=	0.47176
Reg E:	L 258	=	0.46953
Reg F:	L 258	=	0.46977
Reg G:	L 258	=	0.47247

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**GRAFICA No. 34. Resultados a una Longitud de Onda de 266 nm.**

---φ Overlaid Spectra \_---

Reg	File Name	Sample Name
A		STANDARD
B		PLAC. CARG. 1
C		PLAC. CARG. 2
D		PLAC. CARG. 3
E		PLAC. CARG. 4
F		PLAC. CARG. 5
G		PLAC. CARG. 6



**Marked Wavelengths**

Reg A:	L 266	=	0.46902
Reg B:	L 266	=	0.46248
Reg C:	L 266	=	0.46474
Reg D:	L 266	=	0.46405
Reg E:	L 266	=	0.46193
Reg F:	L 266	=	0.46196
Reg G:	L 266	=	0.46474

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos se concluye que el método analítico de disolución para la cefalexina monohidrato en forma farmacéutica de cápsulas cumple con los requisitos de precisión, exactitud, linealidad y especificidad, los cuales demostraron encontrarse dentro de los criterios de aceptación establecidos, probando que puede ser utilizado como un método de control de calidad confiable y efectivo, el cual asegura la calidad del producto farmacéutico.

Así mismo, el sistema demuestra estar en condiciones adecuadas para realizar el método de disolución al cumplir con los requisitos necesarios y demostrar que es lineal y preciso para cuantificar el principio activo (cefalexina monohidrato) sobre el cual se realizó la validación.

Los pasos desarrollados previo y durante la validación del método analítico de disolución pueden servir como base para llevar a cabo alguna otra validación en otro producto que puede pertenecer a la misma familia de las cefalosporinas o a otras que se presenten en forma farmacéutica de cápsulas, o inclusive como tabletas.

De esta forma la validación de métodos analíticos o procedimientos analíticos (como también es conocida), es y seguirá siendo una herramienta esencial para el aseguramiento de calidad, que nunca debe ponerse en duda en ningún producto farmacéutico en vista de su uso como medicamento; los parámetros a evaluar se encuentran bien establecidos y su estandarización se está dando con pasos firmes, a pesar de las distintas estructuras y políticas empresariales, que conllevan a un mismo fin.

El control de cambios y la revalidación son procesos continuos que vislumbran tomar un papel muy importante dentro de la industria farmacéutica para mantener la calidad de los productos, pero no menos importante es la capacitación y entrenamiento del personal que conduce una validación.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## BIBLIOGRAFIA

1. Aplicaciones Cientificas. MANUAL DE OPERACIONES: DISOLUTOR ELECSA.
2. APPROVED DRUG PRODUCTS AND LEGAL REQUIREMENTS. US PHARMACOPEIAL DI. Vol. III. US Pharmacopeial Convention, Inc., 1994. 14<sup>th</sup> edition.
3. Carleton, Frederick J., Agalloco, James P.. VALIDATION OF PHARMACEUTICAL PROCESSES. Marcel Decker, 1999. 2<sup>nd</sup> edition.
4. Castellan G.W. FISICOQUIMICA. Addison-Wesley Iberoamericana S.A.. USA, 1987.
5. Comisión Permanente de la FEUM. FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS. Secretaría de Salud. 6a edición. México, D.F., 1994.
6. Comisión Permanente de la FEUM. FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS. Secretaría de Salud. 7a edición. México, D.F., 2000.
7. Diario Oficial de la Federación. Primera Sección. Enero 18, 1988.
8. FDA, CDER. GUIDELINE FOR SUBMITTING SAMPLES AND ANALYTICAL DATA FOR METHODS VALIDATION. Febrero, 1987.
9. Gray H.B., Haight G.P. Jr.. PRINCIPIOS BASICOS DE QUIMICA. Reverté, S.A.. Barcelona, España 1983.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

10. Goodman and Gilman's. THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS. Pergamon Press, 1990. 8<sup>th</sup> edition.
11. ICH Steering Committee. Q2A TEXT ON VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES. Octubre, 1994.
12. ICH Steering Committee. Q2B VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES: METHODOLOGY. Noviembre, 1996.
13. ICH Steering Committee. Q7A GOOD MANUFACTURING PRACTICE GUIDE FOR API. Noviembre, 2000.
14. Lindon, J.C., Holmes, J.L., Tranter, G.E. ENCICLOPEDIA DE ESPECTROSCOPIA Y ESPECTROMETRIA. Vol. 1 y 3. Adademic Press. USA, 2000.
15. Marqués de Cantú, M.J.. PROBABILIDAD Y ESTADISTICA PARA CIENCIAS QUIMICO-BIOLÓGICAS. McGraw-Hill Interamericana de México, S.A. de C.V.. Preedición. México, D.F., 1991.
16. Merck and Company, Inc. THE INDEX MERCK. 12<sup>th</sup> edition. USA, 1996.
17. Meyers, R.A. ENCYCLOPEDIA OF ANALYTICAL METHODS. Vol. 2 y 15. Editorial Board. USA, 2000.
18. Morrison y Boyd. QUIMICA ORGANICA. Addison-Wesley Iberoamericana S.A.. USA, 1989.
19. Owen, Anthony J. GOOD LABORATORY PRACTICE WITH A UV-VISIBLE SPECTROSCOPY SYSTEM. Agilent Techonologies, 1995. Publicación número 5963-5615E.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

20. Rosenstein, E. DICCIONARIO DE ESPECIALIDADES FARMACEUTICAS. PLM S.A. de C.V.. 47a edición. México, D.F., 2001.
21. Sofer, G., Zabriskie D.W. BIOPHARMACEUTICAL PROCESS VALIDATION. Marcel Decker, 2000. 1<sup>st</sup> edition.
22. UNITED STATES PHARMACOPEIA USP 24/ NF 19. US Pharmacopeial Convention, Inc., 2000.
23. US Department of Health and Human Services, FDA, CDER. GUIDANCE FOR INDUSTRY: ANALYTICAL PROCEDURES AND METHODS VALIDATION. Marzo, 2001.
24. US Department of Health and Human Services, FDA, CDER. GUIDANCE FOR INDUSTRY: DISSOLUTION TESTING OF IMMEDIATE RELEASE SOLID ORAL DOSAGE FORMS. Agosto, 1997.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## GLOSARIO DE ABREVIATURAS

<b>API</b>	Active Pharmaceutical Ingredient
<b>AU</b>	Absorbance Unit
<b>CDER</b>	Center for Drug Evaluation and Research
<b>cGMP</b>	Current Good Manufacturing Practice
<b>CRM</b>	Certificate of Reference Material
<b>FEUM</b>	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>ICH</b>	International Conference on Harmonisation
<b>NIST</b>	National Institute of Standards and Technology
<b>PMT</b>	Photomultiplier
<b>RAM</b>	Random Access Memory
<b>SBW</b>	Spectrum Band Weight
<b>SOP</b>	Standard Operation Procedure
<b>US</b>	United States
<b>USP</b>	United States Pharmacopeia
<b>UV</b>	Ultravioleta

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## GLOSARIO DE TERMINOS

**Aseguramiento de Calidad.** Conjunto de actividades planeadas y sistemáticas que lleva a cabo una empresa, con el objeto de brindar la confianza de que un producto o servicio cumple con los requisitos de calidad especificados.

**Calidad.** Cumplimiento de la especificaciones establecidas para garantizar la aptitud de uso.

**Compuesto.** Dos o más elementos que se combinan químicamente en proporciones constantes y definidas.

**Concentración.** Cantidad del fármaco presente en el medicamento expresado como peso/peso, peso/volumen o unidad de dosis/volumen.

**Control de Calidad.** Comprobar que todas las pruebas relevantes y necesarias sean llevadas a cabo para que los materiales y productos puedan ser liberados y aprobados.

**Criterio de Aceptación.** Límites numéricos, rangos u otras medidas de los resultados en los procedimientos analíticos.

**Electrón.** Una parte de un átomo con carga  $-1$  y masa despreciable, se encuentra en niveles de energía alrededor del núcleo.

**Electrones de Valencia.** Los electrones más externos en un átomo.

**Fármaco.** Sustancia natural o sintética que tenga alguna actividad farmacológica y que se identifique por sus propiedades químicas, físicas o acciones biológicas,

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

que no se presenten en forma farmacéutica y que reúna condiciones para ser empleada como medicamento o ingrediente de un medicamento.

**Forma Farmacéutica.** Es la mezcla de uno o más fármacos con o sin aditivos, que presentan características para su adecuada dosificación, conservación y administración.

**Materia prima.** Substancia de cualquier origen que se use para la elaboración de medicamentos.

**Medicamento.** Toda substancia o mezcla de substancias de origen natural o sintético que tenga efecto terapéutico, preventivo o rehabilitatorio, que se presenta en forma farmacéutica y se identifique como tal por su actividad farmacológica, características físicas, químicas y biológicas.

**Método.** Una descripción comprensiva de todos los procedimientos usados en el análisis de una muestra.

**Nivel de energía.** Una región en el espacio, a alguna distancia general desde el núcleo, en donde existe gran probabilidad de encontrar un grupo de electrones.

**Orbital** Una región en el espacio, dentro de un átomo o molécula, en donde no puede haber más de dos electrones.

**Peso Molecular.** Suma de los pesos atómicos en la fórmula de una substancia.

**pH.** Logaritmo negativo de la concentración de iones  $H^+$ .

**Placebo.** Contiene todos los componentes (materias primas) que forman parte de alguna forma farmacéutica (tabletas, cápsulas, etc.) a excepción del principio activo.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**Placebo cargado.** Es el placebo al que se le adiciona una cantidad conocida de principio activo.

**Principio activo.** Ver fármaco.

**Procedimiento.** Descripción documentada de las operaciones a ser ejecutadas.

**Producto terminado.** Medicamento en su presentación final.

**Pureza.** Grado en el cual las materias primas, los productos intermedios y a granel, están exentos de materiales extraños.

**Recobro.** La extracción eficiente de un proceso analítico, reportado en porcentaje de la cantidad conocida de un placebo cargado a través de los pasos de extracción y ejecución del método.

**Unidad de Calidad.** Una unidad organizacional independiente de producción, la cual cumple con las responsabilidades de Control de Calidad y Aseguramiento de Calidad. Estos pueden estar en forma separada o en grupo, dependiendo del tamaño y estructura de la organización.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**