

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA**

**UNAN-León**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICA**

**CARRERA DE FARMACIA**



*“A la libertad por la universidad”*

**MONOGRAFIA PARA OPTAR AL TITULO DE Lic. QUÍMICO  
FARMACÉUTICO.**

**ESTUDIO DE LA EXACTITUD DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN COMO  
HERRAMIENTA DE EVALUACIÓN DE CALIDAD EN LA MEDICIÓN DEL pH  
EN JARABE.**

**AUTOR: Katya Mercedes Ruiz Miranda.**

**TUTOR: Msc. Roberto Jesús Tórrez Barrera.**

*2012 Año del bicentenario y refundación de la universidad*

*León, Diciembre 2012*

## AGRADECIMIENTO

**A** Dios, por acompañarme en cada momento de mi vida brindándome fortaleza, por ser mi guía y mi refugio en momentos difíciles que me han enseñado a valorar cada día. Por su amor y gracia infinita hace posible que pueda alcanzar mis metas dándome sabiduría y entendimiento.

A mis amados padres por sus esfuerzos y sacrificios, por brindarme su apoyo moral y económico, y ser mis ejemplos a seguir.

A mi familia por su apoyo y cariño, a mi hermano, a mi esposo por su ayuda, y a todos los miembros de mi familia que de una u otra manera han sido un gran apoyo para mí.

A mi tutor Mcs. Roberto Jesús Tórrez Barrera, por su disposición, tiempo y apoyo. A los docentes que me han transmitido sus conocimientos a lo largo de mi carrera.

A todas aquellas personas y amigos que son parte de la culminación de este trabajo monográfico y ocupan un lugar en mi corazón.

¡Muchas Gracias!

*Katya Mercedes Ruiz Miranda.*

## **DEDICATORIA.**

**A** Dios en primera instancia, por darme el don de la vida, y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mis padres por su apoyo incondicional, que con su amor y esfuerzo han luchado para darme lo mejor, y me han permitido lograr la meta de culminar mis estudios profesionales.

Dedico especialmente este trabajo monográfico a mi hija Elizabeth Daniela Prado Ruiz mi razón de ser y mi mayor fuerza para luchar y seguir adelante te amo mi pequeña princesa.

*Katya Mercedes Ruiz Miranda.*

## INDICE

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
<b>I. Introducción.....</b>	<b>1</b>
<b>II. Planteamiento del problema.....</b>	<b>3</b>
<b>III. Justificación.....</b>	<b>4</b>
<b>IV. Hipótesis.....</b>	<b>5</b>
<b>V. Objetivos.....</b>	<b>6</b>
<b>VI. Marco Teórico.....</b>	<b>7</b>
<b>VII. Material y Método .....</b>	<b>14</b>
<b>VIII. Resultados y Discusión.....</b>	<b>21</b>
<b>IX. Conclusión.....</b>	<b>24</b>
<b>X. Recomendaciones.....</b>	<b>25</b>
<b>XI. Bibliografía.....</b>	<b>26</b>
<b>XII. Anexos.....</b>	<b>27</b>



## INTRODUCCIÓN

En la mayoría de los procesos de fabricación de medicamentos es muy importante el control del pH que presentan los productos que son elaborados o las soluciones que serán utilizadas para alguna parte del proceso.

El pH se emplea normalmente como un indicador de la calidad y estabilidad química de los medicamentos, un valor adecuado de pH garantiza la liberación del principio activo así como la estabilidad fisicoquímica del producto terminado, es por ello que el control de calidad en las mediciones del pH es muy importante.

En la actualidad hay muchos laboratorios de control de calidad de medicamentos que realizan incorrectamente mediciones manuales del pH, sin previa calibración o uso de soluciones de referencias amortiguadoras certificadas y trazables al sistema internacional de medidas, al mismo tiempo no cuentan con un procedimiento adecuado para asegurar la calidad interna de sus resultados que garanticen que el instrumento de medición está debidamente calibrado antes de ser utilizado en los ensayos de rutina, esta práctica resta confianza y credibilidad a los resultados emitidos por dichas instituciones.

Existen muchos factores que pueden influir en la exactitud y precisión en las mediciones del pH. La calibración correcta del medidor de pH, mediante el uso de soluciones de referencia certificadas, el contar con un sistema práctico y operativo para la medición de la actividad de los iones hidrógenos que permita comparar los resultados entre los laboratorios.

En este sentido la farmacopea USP establece el uso de un instrumento potenciométrico medidor de pH adecuadamente calibrado usando soluciones de referencia certificadas, capaz de reproducir valores de pH de hasta 0.02 unidades, que utilice un electrodo indicador que consiste en una delgada membrana de vidrio sensible a la actividad del ion hidrogeno sellada en el extremo y un electrodo de referencia generalmente de plata/cloruro de plata o de calomelanos saturado sumergido en una disolución cuyo pH se va a determinar.



Al mismo tiempo establece un sistema práctico y operativo para la medición de la actividad de los iones hidrógenos que se basa en la aplicación de la ecuación que define la escala de pH en función del potencial de la solución de referencia certificada y la de la muestra. Esta ecuación permite estimar la incertidumbre en la medición del pH de la muestra y asegura que los resultados emitidos sean trazables al sistema internacional de medida<sup>1</sup>.

Para garantizar la correcta calibración del pH-metro se debe contar con una herramienta estadística que permita evaluar que el potencial estimado de las soluciones de referencia difiere estadísticamente de su pH, según John Mandel y Frederic J. Linning esto se logra mediante la elaboración de un gráfico de control que permita evaluar la estabilidad y validez de la curva de calibración mediante la monitorización de la magnitud de la pendiente e intercepto<sup>2</sup>.



## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿El pH-metro Mettler Toledo SevenMulti produce resultados exactos en la medición del pH de formas farmacéuticas en jarabe, después de una correcta y adecuada calibración?



## JUSTIFICACIÓN

A pesar que la farmacopea de los Estados Unidos de norte América USP propone una metodología para la medición del pH basada en el uso de la ecuación de escala de pH que permita comparar los resultados obtenidos con otros laboratorios y al no existir ningún estudio farmacéutico donde se aplica dicha metodología la mayoría de las mediciones de pH realizada se hacen por medición directa.

Con el propósito de garantizar trazabilidad y elevar la confianza en los resultados emitidos en la medición del pH por parte del Laboratorio de aseguramiento de la calidad de medicamentos de la Facultad de Ciencias Química, ubicado en el departamento de farmacia industrial se realizó la calibración del pH-metro **METTLER TOLEDO SevenMulti™** usando soluciones de referencia certifica, se aplicó la metodología propuesta por la USP como un sistema práctico y operativo para la medición de la actividad de los iones hidrógenos en jarabe que permitira comparar los resultados entre los laboratorios, así como de hacer uso del método de John Mandel y Frederic J. Linnig para elaborar el grafico de control que evalué la estabilidad de la curva de calibración.





## HIPÓTESIS

El pH-metro **METTLER TOLEDO SevenMulti™** cumple con todo los parámetros de calibración, la eficiencia del electrodo está comprendida entre el 80 y 105%. La metodología propuesta por la USP para la medición del pH de los jarabes produce resultados exactos. El método de John Mandel y Frederic J. Linnig que evalué la estabilidad de la curva de calibración garantiza la calidad en la mediciones del pH.



## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

- ✍ Aplicar el método estadístico para el estudio de la exactitud de la curva de calibración propuesto por John Mandel y Frederic J. Linnig como herramienta de evaluación de la calidad en la medición del pH en jarabe.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✍ Realizar la calibración del pH-metro METTLER TOLEDO SevenMulti™ usando tres soluciones amortiguadora certificada a pH 4.01, 7.00 y 10.01.
- ✍ Medir la intensidad de la relación lineal, así como del tipo de correlación, por medio de la magnitud y signo del coeficiente de correlación lineal.
- ✍ Estimar la magnitud del intercepto y la pendiente de calibración para encontrar la ecuación del mejor ajuste.
- ✍ Encontrar la ecuación de la elipse propuesta por John Mandel y Frederic J. Linnig para la elaboración del gráfico de control como herramienta de evaluación de la calidad en las medidas de pH.
- ✍ Usar la ecuación propuesta por la Farmacopea de los Estados Unidos de Norte América, USP30-NF25, para calcular el pH de los jarabes como una herramienta práctica y operativa que asegure que los resultados se puedan comparar entre laboratorios.



## MARCO TEORICO

### Definición de pH

El pH fue definido por Sorensen en 1909, como el menos logaritmo del cociente de la concentración de iones hidrogeno y la concentración estándar:

$$pH = -\log\left(\frac{c_H}{c^0}\right) \quad (1)$$

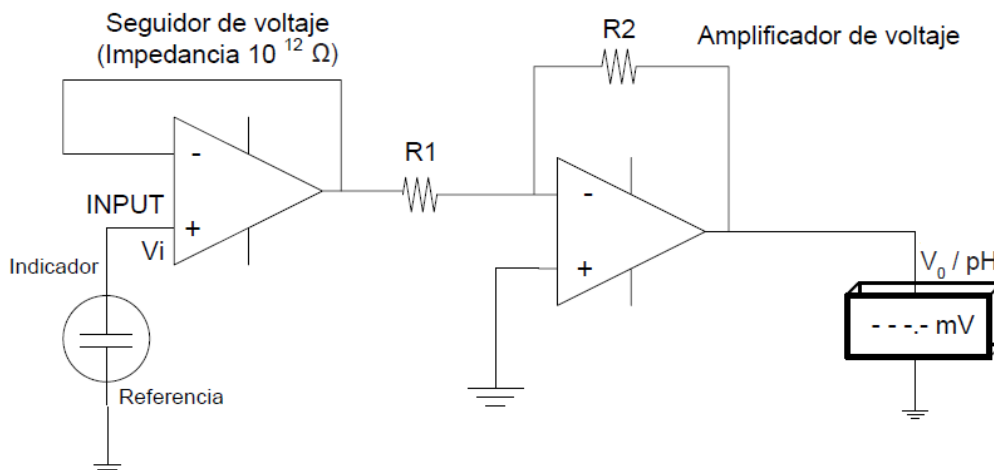
Donde  $c_H$  es la concentración de iones hidrogeno en  $\text{mol dm}^{-3}$ , y  $c^0 = 1 \text{ mol dm}^{-3}$  es la concentración estandar. Posteriormente, se acepto que es más satisfactorio definir el pH en términos de la actividad relativa de los iones hidrógenos en disolución:

$$pH = -\log a_H = -\log\left(\frac{m_H \gamma_m}{m^0}\right) \quad (2)$$

Donde  $a_H$  es la actividad relativa y  $\gamma_m$  es el coeficiente de actividad molal de los iones hidrogeno a la molalidad  $m_H$ , y  $m^0$  es la molalidad estandar<sup>5</sup>.

### Principio de la calibración

El circuito básico de un pH-metro o medidor de voltaje se presenta en la figura 1. El funcionamiento se puede describir de la siguiente manera: la celda, constituida por el electrodo indicador y el de referencia, está conectada al amplificador seguidor de voltaje que tiene una alta impedancia  $10^{12} \Omega$ . La función de este amplificador es amplificar la potencia que tiene grandes corrientes de salida; se le denomina buffer, porque el voltaje  $V_i$  permanece inalterable. El diseño del segundo amplificador permite amplificar el voltaje, produciendo un voltaje  $V_0$  de salida mucho mayor que el de entrada  $V_i$ . La resistencia  $R_2 > R_1$  y dado que el amplificador es inversor, la ganancia es la razón negativa de  $R_2$  con respecto a  $R_1$ , es decir  $G = -R_2/R_1$ . Por tanto, el voltaje de salida  $V_0$  tiene un valor amplificado de  $V_i$  en un factor  $G$ .



**Figura 1. Circuito simplificado de un pH-metro.**

Todo instrumento de medición debe estar calibrado antes de su utilización. Esto significa que es necesario verificar las especificaciones de un pH-metro de acuerdo a lo declarado por el fabricante en el manual del usuario. Existen dos pruebas básicas para verificar las especificaciones: 1) al cortocircuitar la entrada (INPUT) del electrodo indicador y de referencia el valor de pH debe ser 7 y el potencial 000.0 mV; 2) al proporcionar un valor de potencial de  $\pm 89$  mV en las entradas de la celda con un calibrador, el pH registrado por el pH-metro debe ser de 5.5 y 8.5.

El pH-metro está diseñado para registrar un valor de potencial de cero voltios a pH 7. Los electrodos de vidrio y de referencia son también diseñados para obtener el mismo potencial cuando los electrodos se sumergen en una solución buffer de pH 7.

De acuerdo a lo anterior, a 25 °C se tiene una pendiente de  $-59.16$  mV/pH y un intercepto de 414.1 mV. Por tanto, cuando se calibra el sistema potenciométrico (pH-metro + electrodos) se debe verificar la eficiencia de la respuesta del electrodo comparando el valor de la pendiente obtenida para las lecturas de pH de diferentes soluciones de referencias certificadas (o tampones trazable a patrones primarios) con respecto al valor teórico a 25°C.



## Definición operacional de pH

La utilidad del pH como medida de la acidez de medios acuosos, la amplia disponibilidad de electrodos de vidrio comerciales y la proliferación relativamente reciente de pH-metros de estado sólido baratos han hecho que la medida potenciométrica sea la técnica analítica de uso más común en cualquier ciencia. Es por tanto muy importante que el pH se defina de una manera que sea fácilmente reproducible en el tiempo y en los distintos laboratorios en cualquier parte del mundo. Para cumplir estos requisitos, es necesario definir el pH en términos operacionales, es decir, según el modo como hace la medida. Solo entonces el pH que mida un analista será el mismo que mida el otro<sup>6</sup>.

La definición operacional de pH avalada por el National Institute of Standards and Technology (NIST), por organismos semejantes en otros países y la IUPAC se basa en el calibrado directo del medidor con tampones estándar, cuidadosamente descrito, seguido de la medida potenciométrica del pH de las disoluciones de muestras problemas.

Consideremos, por ejemplo el sistema vidrio/calomelano, cuando se sumergen estos electrodos en un tampón patrón a 25 °C, el pH de la solución está determinado por la siguiente ecuación:

$$pH_p = \frac{E_p - k}{0.0592} \quad (3)$$

Donde  $E_p$  es el potencial de la celda cuando los electrodos se sumergen en la disolución tampón patrón y  $k$  es la suma del potencial del electrodo indicador, el potencial del electrodo referencia y el potencial de unión. De manera similar, si el potencial de celda es  $E_U$  cuando los electrodos se sumergen en una disolución de pH desconocido también a 25 °C, se tiene:

$$pH_U = \frac{E_U - k}{0.0592} \quad (4)$$



Restando la primera ecuación de la segunda y resolviendo para  $pH_U$ , se obtiene:

$$pH_U = pH_p - \frac{E_U - E_p}{0.0592} \quad (5)$$

La ecuación 5 se ha adoptado en todo el mundo como la *definición operacional de pH*.

Esta ecuación se aplica sólo a disoluciones a 25 °C. Una ecuación más general es:

$$pH_U = pH_p - \frac{(E_U - E_p)}{RT \ln 10} \quad (6)$$

Donde  $T$  es la temperatura de la muestra y de la solución tampón patrón,  $R$  la constante de los gases y  $pH_p$  es el pH del patrón a la temperatura  $T$ .

### **Medición del pH según la USP**

Para propósitos farmacopólicos, se define el pH como el valor dado por un instrumento potenciométrico (medidor de pH) apropiado, adecuadamente normalizado, capaz de reproducir valores de pH de hasta 0,02 unidades de pH que emplea un electrodo indicador sensible a la actividad del ion hidrogeno, el electrodo de vidrio y un electrodo de referencia apropiado. El instrumento debe ser capaz de detectar el potencial a través del par de electrodos y, a los fines de normalización del pH, de aplicar un potencial regulable al circuito mediante la manipulación de los controles de “normalización” ,“cero”, “asimetría” o “calibración” y debe poder controlar el cambio en mili voltios por cada cambio de unidad en la lectura de pH a través de un control de “temperatura” y/o “pendiente”. Las mediciones se hacen a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , a menos que se especifique algo diferente en la monografía individual.



La escala de pH se define por la ecuación:

$$pH = pH_s + \frac{(E - E_s)}{k} \quad (7)$$

Donde E y  $E_s$  son los potenciales medidos cuando la celda galvánica contiene la solución en análisis, representada por el pH y la *solución Amortiguadora de Normalización* apropiada, representada por  $pH_s$ , respectivamente. El valor de k es el cambio en el potencial por cambio de unidad en el pH y teóricamente es  $[0.05916 + 0.000198(t - 25^\circ\text{C})]$  voltios a cualquier temperatura  $t$ .

Se debe enfatizar que la definición de pH, la escala de pH y los valores asignados a las soluciones amortiguadoras de normalización tienen el pro de establecer un sistema práctico y operativo para que los resultados se puedan comparar entre laboratorio. Los valores de pH así medidos no se corresponden exactamente con los medidos por la definición,  $pH = -\log a_{H^+}$ . Siempre que la solución que se está midiendo sea lo suficientemente similar en composición a la solución amortiguadora usada para la normalización, el pH operacional será bastante cercano al pH teórico. Aunque no se hace ninguna afirmación en lo que se refiere a la aptitud del sistema para medir la actividad o la concentración del ion hidrogeno, los valores obtenidos están estrechamente relacionados con la actividad del ion hidrogeno en solución acuosa.

Cuando un medidor de pH se normaliza mediante el uso de una solución amortiguadora acuosa y luego se emplea para medir el “pH” de una solución o suspensión no acuosa, la constante de ionización del ácido o de la base, la constante dieléctrica del medio, el potencial de unión líquida (que puede originar errores de aproximadamente 1 unidad de pH) y la respuesta del electrodo de vidrio al ion hidrogeno cambian totalmente. Por razones, los valores así obtenidos con soluciones que son sólo de carácter parcialmente acuoso pueden considerarse únicamente como valores aparente de pH.



## Región de confianza para la pendiente y el intercepto

La pendiente y el intercepto han sido utilizados tradicionalmente para determinar si las concentraciones estimadas de los patrones de validación se diferencian estadísticamente (o no), de las nominales. El procedimiento consistía en verificar si los valores ideales de la pendiente e intercepto (1 y 0 respectivamente) estaban contenidos dentro de los correspondientes intervalos de confianza para la pendiente y la ordenada al origen. Sin embargo, actualmente se considera que este procedimiento es incorrecto, puesto que no tiene en cuenta que la pendiente e intercepto no son variables estadísticamente independiente, y que siempre existe un cierto grado de correlación entre ellas<sup>7</sup>.

El procedimiento correcto debe considerar el intervalo de confianza conjunto entre la pendiente y la ordenada al origen) que tiene forma elíptica por este motivo, la prueba estadística correcta consiste en investigar si el punto (1,0) está contenido en la región elíptica de confianza conjunta de la pendiente y la ordenada al origen. La prueba se conoce como EJCR (por *elliptical joint confidence región*) propuesta por John Mandel y Frederic J. Linnig en la revista *Analytical Chemistry*, Volumen. 29, página 743, en mayo 1957. Específicamente, la región elíptica está descrita por la ecuación 8:

$$N(\beta - b_0)^2 + 2 \sum_{i=1}^q x_i (\alpha - b_1)(\beta - b_0) + \sum_{i=1}^q x_i^2 (\alpha - b_1)^2 = 2s_{y/y}^2 F_{2,N-2} \quad (8)$$

En la ecuación 8,  $\alpha$  y  $\beta$  son las variables que corresponden a las dos dimensiones del plano en que se representan la región elíptica, y  $F_{2,N-2}$  es el valor del parámetro estadístico (F de Fisher) F con 2 y N-2 grados de libertad para un dado nivel de confianza usualmente 95%.

Por lo tanto debe dibujarse un gráfico bidimensional y verificar si la elipse contiene al punto (1,0). Si el punto no está contenido dentro de la elipse, esto implica que el método no es exacto.

Es importante remarcar que el tamaño de la elipse, que está controlado, entre otros parámetros, por el desvío estándar de la regresión  $s_{y/x}$ , da una idea de la precisión del método analítico que se está probando. En este sentido, es importante utilizar un número significativo de niveles de concentración para la prueba de exactitud, de manera que  $s_{y/x}$  sea representativo de la regresión. De lo contrario, si se emplean sólo unos pocos niveles de





concentración, se corre el riesgo de que la elipse abarque un área considerable, e incluya al punto ideal (1,0) sólo por azar.

### **Jarabes**

Los jarabes se usan desde hace mucho tiempo y antes de descubrirse el azúcar, se preparaban con miel. Su empleo se generalizó ampliamente porque enmascaran el sabor desagradable de algunas drogas y se conservan por más tiempo. Los líquidos que habitualmente integran el jarabe son el agua destilada, soluciones, extractivas, zumos, y otros.

### **Definición:**

Son Soluciones acuosas con alta concentración de carbohidratos, de consistencia viscosa, en la que se encuentra el o los principios activos y aditivos.

### **Propiedades**

1. Contienen alta concentración de azúcar (45-85%).
2. Densidad específica de 1.32 a 15 °C.
3. Viscosidad de 100 cp.
4. Se presentan como líquidos homogéneos, transparentes, brillantes, incoloros o coloreados, de sabor y olor agradable.

### **Ventajas**

1. Pueden administrarse por vía oral, a niños o a adultos incapaces de deglutir comprimidos o cápsulas
2. Son muy eficaces para enmascarar el sabor de las drogas amargas o saladas



## MATERIAL Y METODOS.

**Tipo de estudio:** Experimental

**Área de estudio:** Laboratorio de aseguramiento de la calidad de medicamentos de la Facultad de Ciencias Químicas, ubicado en el departamento de Farmacia industrial.

**Universo:** Conjunto de todos los jarabes que se comercializan a nivel nacional.

**Muestras:** La muestra estará conformada por 3 frascos de jarabe de 5 diferentes principios activos.

**Muestreo:** Las muestras de jarabes serán adquiridas en las farmacias privadas tomando como consideración que el número de lote de los 3 frascos de los 5 diferentes principios activos sea el mismo.

Jarabe	Lote	Rango de aceptación
Dextrometorfano	009080	3.0-4.2
Salbutamol	080089	3.4-3.8
Acetaminofén	020014	4.0-6.9
Furosemida	013856	7.0-10
Difenhidramina	931510	5.0-6.0

**Unidad de Análisis:** pH versus potencial (en mili voltio) de 5 diferente jarabe.

**Método:** Potenciométrico que comprenderá la determinación del pH midiendo la diferencia del potencial desarrollado a través de una fina membrana de vidrio que separa a la solución de análisis de una solución de referencia de acidez conocida.

**Técnica:** Instrumental, se utilizara el pH-metro METTLER TOLEDO SevenMulti™ como sensor electroquímico para medir el pH y el potencial de las soluciones de referencias y muestra.

**Instrumentos:** El instrumento para obtención de los datos es el pH-metro METTLER TOLEDO SevenMulti™



**Procedimiento:**

**Calibración del el pH-metro METTLER TOLEDO SevenMulti™**

1. Conectar los electrodos de vidrio y el de referencia
2. Encender el pH-metro METTLER TOLEDO SevenMulti™ presionando el botón On - Off.
3. Esperar media hora para estabilizar el pH-metro.
4. Colocar el pH-metro en la función lectura en milivoltio presionando la tecla mV.
5. Enjuagar el electrodo con abundante agua destilada y secarlo sin frotar el electrodo con papel absorbente para eliminar el exceso de líquido.
6. Enjuagar el electrodo con una pequeña porción de buffer pH 7.00.
7. Introducir el electrodo en la solución buffer pH 7.00 y presionar la tecla READ.
8. Anotar los valores de potencial en la tabla 1.
9. Efectuar cinco lecturas en milivoltio para cada solución buffer.
10. Repetir los pasos 6 a 9 usando las soluciones buffer de pH 4.01 y 10.01.

**Tabla 1. Valores de potencial registrados de las soluciones de referencia de pH 4.01, 7.00 y 10.01.**

<b>pH</b>	<b>E<sub>1</sub></b>	<b>E<sub>2</sub></b>	<b>E<sub>3</sub></b>	<b>E<sub>4</sub></b>	<b>E<sub>5</sub></b>	<b><math>\bar{E}</math></b>	<b>S<sup>2</sup></b>
<b>4.01</b>							
<b>7.00</b>							
<b>10.01</b>							

**Test F para la verificación de la linealidad de la respuesta del potencial del electrodo versus el pH.**

Para verificar la linealidad del modelo de calibración se aplicara el análisis de varianza de un factor tabla 2. Para demostrar que el modelo es lineal y que los datos se ajusta a una línea recta se utilizar el estadístico de prueba F, según las ecuaciones 1 y 2.



Tabla 2. ANOVA.

<i>Suma de cuadrados, fuente de variación</i>	<i>Fórmulas</i>	<i>Grados de libertad</i>
SS <sub>T</sub> , Total	$\sum y_i^2$	n
SS <sub>M</sub> , Media	$n\bar{y}^2$	1
SS <sub>corr</sub> , M corregida	$\sum (y_i - \bar{y})^2$	n-1
SS <sub>modelo</sub> , Modelo	$\sum (\hat{y}_i - \bar{y})^2$	p-1
SS <sub>Rs</sub> , Residual	$\sum (y_i - \hat{y}_i)^2$	n-p
SS <sub>LOF</sub> , Falta de ajuste	$\sum (\bar{y}_i - \hat{y}_i)^2$	f-p
SS <sub>pe</sub> , Err. Exp. puro	$\sum (y_i - \bar{y}_i)^2$	n-f

n: número de lecturas en y; p: número de coeficientes de regresión; f: niveles de pH.

$$F_{(\alpha; p-1, n-p)} = \frac{SS_{modelo} / (p-1)}{SS_{Residual} / (n-p)}$$

Ecuación 1. Estadígrafo de F para demostrar la linealidad del modelo.



$$F_{(\alpha;p-1,n-p)} = \frac{SS_{Faltadeajuste} / (f - p)}{SS_{Errorexp. puro} / (n - f)}$$

Ecuación 2. Estadígrafo de F para demostrar el ajuste del modelo.

La hipótesis a aprobar son:

$H_0$ :  $F(\alpha;p-1,n-p) > F_{Critico}$  el modelo es lineal

$H_1$ :  $F(\alpha;p-1,n-p) < F_{Critico}$  el modelo no es lineal

$H_0$ :  $F(\alpha;p-1,n-p) < F_{Critico}$  buen ajuste

$H_1$ :  $F(\alpha;p-1,n-p) > F_{Critico}$  falta de ajuste

### Medición la intensidad de la relación lineal así como del tipo de correlación

La medición de la intensidad de la relación lineal se lograra con el cálculo del coeficiente de correlación aplicando la ecuación 3:

$$r = \frac{\sqrt{\sum(\hat{y}_i - \bar{y})^2}}{\sqrt{\sum(y_i - \bar{y})^2}}$$

Ecuación 3. Estadígrafo de r para el cálculo del coeficiente de correlación.

El criterio para establecer la intensidad de la relación lineal se muestra en la figura 1.

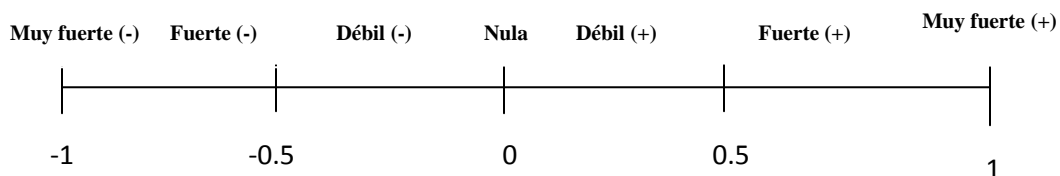


Gráfico 1. Medida de la intensidad de la relación lineal.



El tipo de relación lineal está determinada por el signo del coeficiente de determinación y de la pendiente de la curva de calibración.

### Estimación de la magnitud del intercepto y la pendiente de calibración.

La magnitud de la pendiente se calcula con la ecuación 4:

$$b_1 = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}_i)}{\sum(x_i - \bar{x})^2}$$

Ecuación 4.

El intercepto se estima con la ecuación 5:

$$b_0 = \bar{y} - b_1\bar{x}$$

Ecuación 5.

### Evaluación de la eficiencia del electrodo

Para evaluar la eficiencia del electrodo se encontrara la relación existente entre la pendiente experimental y la teórica según la ecuación 6.

$$\%P = \frac{b_1}{\beta_1} 100$$

Ecuación 6.

Donde:

$b_1$  es la pendiente experimental

$\beta_1$  es la pendiente teórica = -59.16

Criterios de aceptación:

La eficiencia del electrodo debe estar entre 80 y el 105%

### Ecuación de la elipse propuesta por John Mandel y Frederic J. Linnig para la elaboración de la grafico de control.

La ecuación del elipse propuesta por JonhnMandel y Frederic J. Linning para evaluar la exactitud de la linealidad y elaborar el grafico de control se muestra en la ecuación 7.

$$N(\alpha - b_0)^2 + 2S(\alpha - b_0)(\beta - b_1) + Q(\beta - b_1)^2 = 2FS^2$$

Ecuación 7.



Donde:

N es el número de puntos de calibración

S es igual a  $\sum x$

Q es igual a  $\sum x^2$

$s^2$  es la varianza residual del modelo de calibración

F es el valor del parámetro estadístico con 2 y N-2 grados de libertad para un nivel de confianza del 95%.

$\alpha$  y  $\beta$  son las variables que corresponden a las dos dimensiones del plano en que se representa la región elíptica.

**Calculo del pH de jarabes usando la ecuación propuesta por la Farmacopea de los Estados Unidos de Norte América, USP30-NF25, como una herramienta práctica y operativa que asegure que los resultados se puedan comparar entre laboratorios.**

1. Medir el potencial de la solución de referencia a pH 4.01, si el pH del jarabe es menor a 7.00, o el potencial de la solución de referencia a pH 10.01, si el pH del jarabe es mayor a 7.00.
2. Medir el potencial de los 5 jarabes y anotarlos en la tabla 3.
3. Calcular el pH de los jarabes mediante la ecuación 8.

Muestras	Potenciales en milivoltio
1	
2	
3	
4	
5	

Tabla 3. Potenciales de 5 jarabes

$$pH = pH_s + \frac{(E - E_s)F}{\ln 10 RT}$$

Ecuación 8.

Donde:

pH es el pH de la muestra (Jarabe).

E es el potencial de la muestra (Jarabe).

$E_s$  es el potencial de la solución de referencia.



$pH_s$  es el pH de la solución de referencia.

R es la constante de los gases 8.31441

F es la constante de Faraday 96484.56

T es la temperatura en grados Kelvin.

**Plan de Análisis:** El análisis de los datos se realizara a través del programa estadístico Microsoft Office Excel 2007.





## RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### Calibración del el pH-metro METTLER TOLEDO SevenMulti™

Los resultados de la calibración del pH-metro, utilizando 3 soluciones de referencia certificadas (pH 4.01, 7.00 y 10.01), se muestran en la tabla 1.

pH	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>	E <sub>4</sub>	E <sub>5</sub>	E promedio	S <sup>2</sup>
4.01	167	168	167	167	168	167.4	0.3
7.00	-6	-6	-7	-7	-6	-6.4	0.3
10.01	-179	-183	-183	-182	-182	-181.8	2.7

Tabla 1. Valores de potencial medidos de tres soluciones de referencia.

La verificación de la linealidad del modelo de calibración aplicando el análisis de varianza de un factor, arroja los resultados mostrados en la tabla 2.

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados medios	Fcalculado	F Crítico
SST, Total	305588	15	20372.53333		
SSM, Media	721.0666667	1	721.0666667		
SScorr, M corregida	304866.9333	14	21776.20952		
SSmodel, Modelo	304853.5749	1	304853.5749	296674	6.41
SSR, Residual	13.35841275	13	1.027570211		
SSLOF, Falta de Ajuste	13.2	1	13.2	999	6.55
SSPe, Err, Exp, Puro	0.158412747	12	0.013201062		

Tabla 2. Resultados de la verificación del modelo de calibración a través de ANOVA de un factor.

El valor calculado del test de Fisher (Fisher calculado = 296674), para la fuentes de variación entre el modelo y la residual, reflejado en la tabla 2, es mucho mayor al valor de Fisher crítico (Fisher Crítico = 6.41), lo que confirma que el modelo de calibración es lineal. Sin embargo el valor de Fisher calculado, para las fuentes de variación entre la falta de ajuste y el error puro es mayor (Fisher calculado = 999) al valor critico (Fisher Crítico = 6.55) lo que demuestra que no existe un buen ajuste del modelo, debido a imperfecciones de la membrana del electrodo.

Los resultados de la medición la intensidad de la relación lineal, el tipo de correlación, la magnitud de la pendiente, la magnitud del intercepto y la eficiencia del electrodo se presenta en la tabla No 3.



Parámetro	Valor	Criterios de aceptación
Coefficiente de correlación	-0.9999	$\pm 0.9999$
Pendiente	-58.2	
Intercepto	400.9	
Eficiencia del electrodo	98.4%	80% y 105%

Tabla 3. Datos de la intensidad de la relación lineal, tipo de correlación, pendiente, intercepto y eficiencia del electrodo.

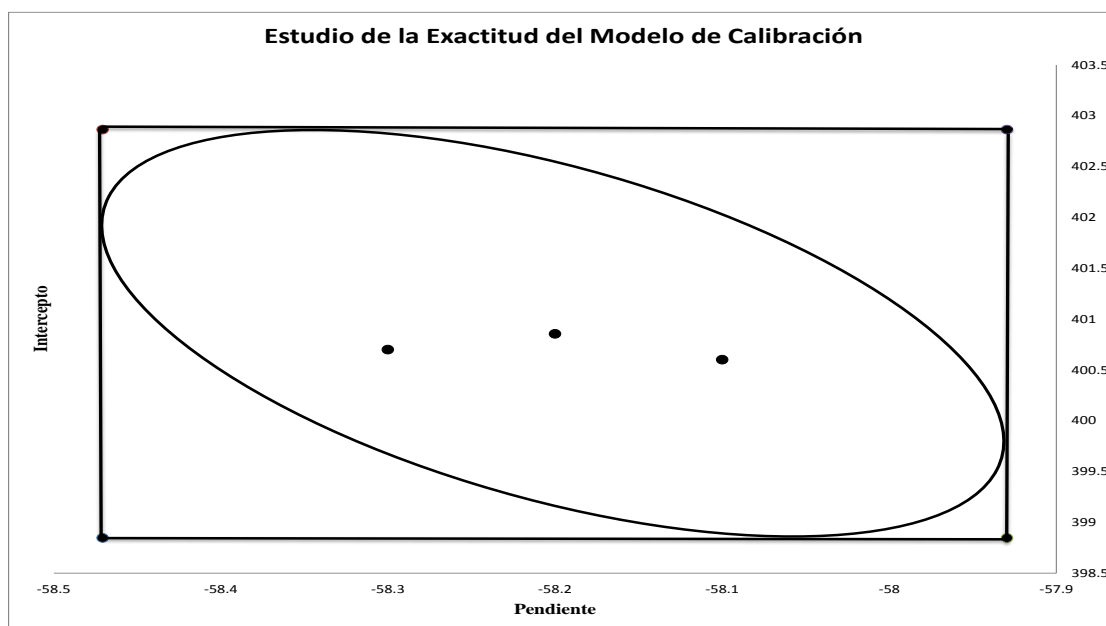
La intensidad de la correlación, entre las variables pH y potencial medido, así como el tipo de correlación, es fuerte y negativa respectivamente, como lo indica la magnitud y el signo del coeficiente de correlación. El electrodo refleja una excelente eficiencia del 98.4%.

La ecuación del elipse, para evaluar la exactitud de la linealidad y elaborar el gráfico de control se muestra en la ecuación 1.

$$15(\alpha - 400.9)^2 + 210.2(\alpha - 400.9)(\beta + 58.2) + 826.401(\beta + 58.2)^2 = 12.33$$

Ecuación 1.

La grafica 1 muestra el grafico de control para evaluar la exactitud de la linealidad durante el uso de rutina del pH-metro.



Grafica 1. Gráfico de control para monitorear la exactitud de la curva de calibración



Los tres puntos dentro del elipse de la gráfica de control, corresponde a 3 pares de coordenadas (Pendiente, Intercepto), de 3 curvas de calibración, usando soluciones de referencia certificadas, realizada durante el análisis de rutina durante la medición del pH de jarabe. Los puntos dentro de la elipse, nos indica que el electrodo realiza medidas exactas en la lectura del pH, con una elevada eficiencia y por lo tanto el electrodo sigue proporcionando datos lineales y que el procedimiento de calibración se encuentra bajo control estadístico.

La tabla 4 presenta el promedio de 5 lecturas de potenciales (en milivoltio) medido de 5 jarabes así como el pH calculado usando la ecuación propuesta por la Farmacopea de los Estados Unidos de Norte América, USP30-NF25.

Jarabe	E (mV)	Es (mV)	pH Buffer	pH Jarabe	Rango de aceptación
<b>Dextrometorfano</b>	191.49	168.00	4.01	3.8	3.0-4.2
<b>Salbutamol</b>	207.12	168.00	4.01	3.5	3.4-3.8
<b>Acetaminofén</b>	83.28	168.00	4.01	5.6	4.0-6.9
<b>Furosemida</b>	-72.42	-6.00	7	8.2	7.0-10
<b>Difenhidramina</b>	94.49	168.00	4.01	5.4	5.0-6.0

Tabla 4. Datos para el cálculo del pH en Jarabe. E, es el potencial en milivoltio de la muestra, Es, es potencial en milivoltio de las soluciones de referencia.

Los datos obtenidos por la ecuación propuesta por la farmacopea están dentro del rango de aceptación.



## CONCLUSIÓN

El modelo de calibración del sistema potenciométrico Mettler Toledo, medidor de pH, es lineal, con una intensidad muy buena y eficiencia del electrodo de 98.4%.

El gráfico de control para evaluar la exactitud de las mediciones y establecer si la calibración está bajo control estadístico, demuestra que el pH-metro arroja resultados veraces y lineales.

Se demostró, mediante la medición del pH de 5 jarabe, que el método para estimar el pH propuesta por la Farmacopea de los Estados Unidos de Norte América, produce resultados reproducible.



### RECOMENDACIONES

1. Para realizar las mediciones de pH el laboratorio de aseguramiento de la calidad debe de utilizar soluciones de referencia certificadas, con el objetivo de asegurar la trazabilidad en las mediciones.
2. El laboratorio de aseguramiento de la calidad, debe de adoptar el procedimiento propuesto por la farmacopea de los estados unidos, para la medición del pH de preparados farmacéuticos, con el objetivo de asegurar la reproducibilidad de los resultados entre laboratorios.



### BIBLIOGRAFIA.

1. Farmacopea de los estados Unidos de norte América USP30-NF25.
2. John Mandel, Frederic j. Linnig., Study of Accuracy in Analysis Using Linear Calibration Curves. Analytical Chemistry, Vol. 29, page 743, May 1957.
3. Marco Delgado, Manuel Vanegas y *Gustavo Delgado*, Metrología Química I: Calibración de un pH-metro y Control de Calidad, Universitat, Volumen 1, Año 1, 2007, 14-20.
4. Marco Delgado, Manuel Vanegas y *Gustavo Delgado*, Metrología Química II: Estimación de la Incertidumbre en la Medición de pH en Aguas, Universitat, Volumen 1, volumen2, 2008, 8-18.
5. IUPAC, Measurement of pH. Definition, Standards, and Procedures, Pure Appl. Chem., Vol. 74, No. 11, pp.2169-2200, 2002.
6. Skoog, West, Holler, Fundamentos de Química Analítica, 8<sup>VA</sup> edición, editorial Reverte, 1996.
7. Olivieri, Alejandro C., Regresión lineal en química Analítica. <http:// analisisindustrial.wikispaces.com/file/view/Apunte+regresion+lineal.pdf>
8. BIPM, IEC, IFCC, IUPAC, OIML, (1995) Guide for to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM), ISO, Ginebra.

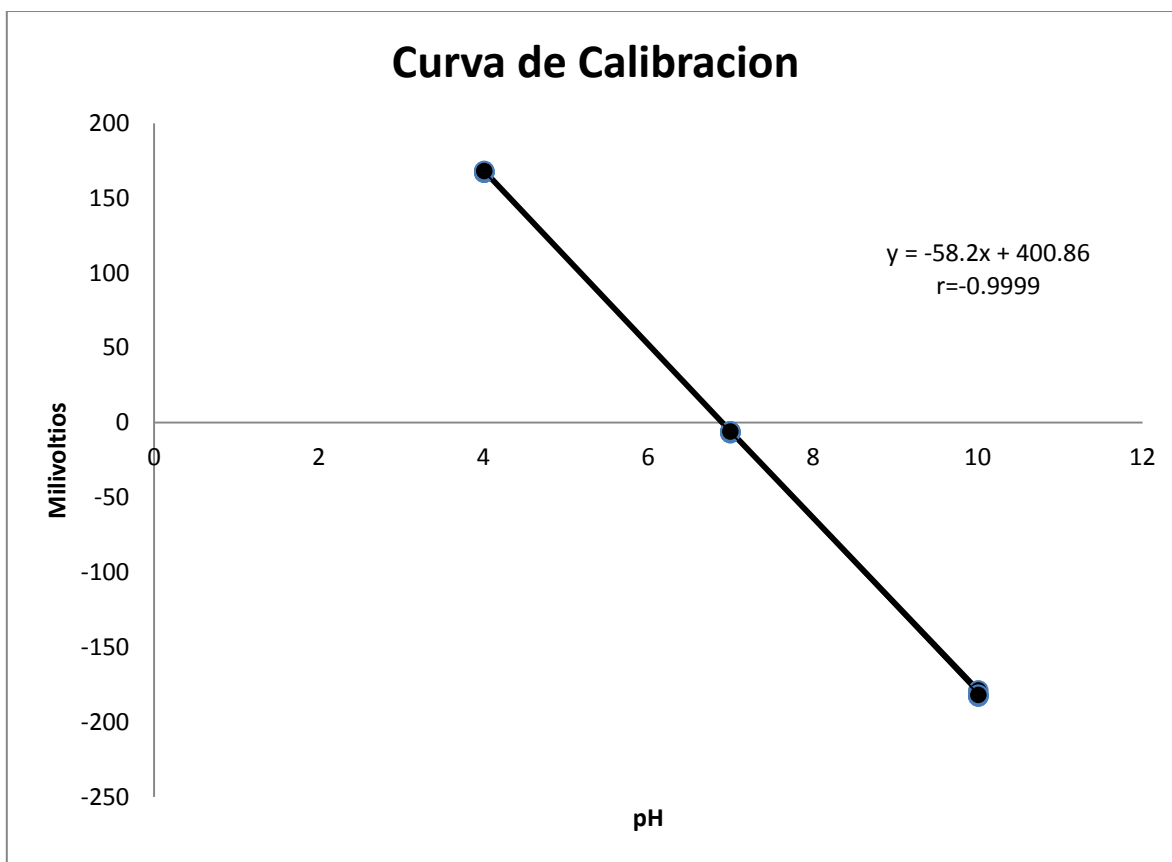


# ANEXOS



Anexo N° 1

Curva de Calibración







Anexo N° 2

Datos para la elaboración de ANOVA de un Factor.

x=pH	y=mV	y <sup>2</sup>	(y <sub>i</sub> -y <sub>p</sub> ) <sup>2</sup>	y <sub>m</sub>	(y <sub>m</sub> -y <sub>p</sub> ) <sup>2</sup>	(y <sub>i</sub> -y <sub>m</sub> ) <sup>2</sup>	(y <sub>i</sub> ·y <sub>p</sub> )
4.01	167	27889	30252.80444	167.472909	30417.5372	0.22364256	0.16
4.01	168	28224	30601.67111	167.472909	30417.5372	0.27782532	0.36
4.01	167	27889	30252.80444	167.472909	30417.5372	0.22364256	0.16
4.01	167	27889	30252.80444	167.472909	30417.5372	0.22364256	0.16
4.01	168	28224	30601.67111	167.472909	30417.5372	0.27782532	0.36
7	-6	36	0.871111111	-6.5453328	0.15054442	0.29738786	0.16
7	-6	36	0.871111111	-6.5453328	0.15054442	0.29738786	0.16
7	-7	49	0.004444444	-6.5453328	0.15054442	0.20672227	0.36
7	-7	49	0.004444444	-6.5453328	0.15054442	0.20672227	0.36
7	-6	36	0.871111111	-6.5453328	0.15054442	0.29738786	0.16
10.01	-179	32041	29606.93778	-181.727576	30553.0272	7.43966987	7.84
10.01	-183	33489	30999.47111	-181.727576	30553.0272	1.61906328	1.44
10.01	-183	33489	30999.47111	-181.727576	30553.0272	1.61906328	1.44
10.01	-182	33124	30648.33778	-181.727576	30553.0272	0.07421493	0.04
10.01	-182	33124	30648.33778	-181.727576	30553.0272	0.07421493	0.04
Suma		305588	304866.9333		304853.575	13.3584127	13.2



Anexo N° 3

Datos para encontrar el intercepto, la pendiente y coeficiente de Correlación.

pH	mV	x <sup>2</sup>	xy	y <sup>2</sup>	$\hat{y}$	$(\hat{y}-yp)^2$	$(yi-yp)^2$	$(yi-\hat{y})^2$	$(xi-xp)^2$
4.01	167	16.0801	669.67	27889	167.472909	30417.5372	30252.8044	0.22364256	8.98001111
4.01	168	16.0801	673.68	28224	167.472909	30417.5372	30601.6711	0.27782532	8.98001111
4.01	167	16.0801	669.67	27889	167.472909	30417.5372	30252.8044	0.22364256	8.98001111
4.01	167	16.0801	669.67	27889	167.472909	30417.5372	30252.8044	0.22364256	8.98001111
4.01	168	16.0801	673.68	28224	167.472909	30417.5372	30601.6711	0.27782532	8.98001111
7	-6	49	-42	36	-6.5453328	0.15054442	0.87111111	0.29738786	4.4444E-05
7	-6	49	-42	36	-6.5453328	0.15054442	0.87111111	0.29738786	4.4444E-05
7	-7	49	-49	49	-6.5453328	0.15054442	0.00444444	0.20672227	4.4444E-05
7	-7	49	-49	49	-6.5453328	0.15054442	0.00444444	0.20672227	4.4444E-05
7	-6	49	-42	36	-6.5453328	0.15054442	0.87111111	0.29738786	4.4444E-05
10.01	-179	100.2001	-1791.79	32041	-181.727576	30553.0272	29606.9378	7.43966987	9.02001111
10.01	-183	100.2001	-1831.83	33489	-181.727576	30553.0272	30999.4711	1.61906328	9.02001111
10.01	-183	100.2001	-1831.83	33489	-181.727576	30553.0272	30999.4711	1.61906328	9.02001111
10.01	-182	100.2001	-1821.82	33124	-181.727576	30553.0272	30648.3378	0.07421493	9.02001111
10.01	-182	100.2001	-1821.82	33124	-181.727576	30553.0272	30648.3378	0.07421493	9.02001111
105.1	-104	826.401	-5966.72	305588		304853.575	304866.933	13.3584127	90.0003333

Anexo N° 4

