

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA
UNAN-LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE FARMACIA



“Validación del método de valoración de Óxido de Cinc en Pasta al Agua fabricada por el laboratorio Mauricio Díaz Müller, aplicando la técnica de volumetría directa de formación de complejos, Septiembre 2017 - Septiembre 2018.”

Monografía para optar al título de Licenciado Químico-Farmacéutico

Autoras:

- Br. Lucía Alejandra Montenegro Ramírez.
- Br. María Inés Ocón Benavides.
- Br. Perla Nadieska Osorio López.

Tutora: Lic. Fania Valesca Valladares Silva.

León, Nicaragua, Septiembre 2018

“A la libertad por la Universidad”

AGRADECIMIENTO

Agradecemos en primer lugar a *Dios nuestro padre*, por permitirnos llegar hasta este momento de nuestras vidas, gozando de buena salud y sobre todo por bendecirnos con la sabiduría necesaria para culminar con nuestra carrera universitaria.

A *nuestros padres*, por todo su apoyo incondicional a lo largo de nuestros estudios, brindándonos todos los recursos necesarios para poder lograrlo, por guiarnos por el buen camino, darnos amor y comprensión, por estar siempre con nosotras en todo momento motivándonos a nunca darnos por vencidas.

A *nuestros maestros*, que formaron parte de nuestra preparación como profesionales, transmitiendo el pan del saber a lo largo de estos cinco años, por proporcionarnos las herramientas necesarias para formarnos como profesionales de calidad.

Agradecimiento especial a nuestra tutora *Lic. Fania Valladares* por orientarnos en la elaboración del presente trabajo, por su tiempo, dedicación y paciencia hacia nosotras.

Al personal del Laboratorio Mauricio Díaz Müller y del Laboratorio de Control de Calidad de Medicamentos, por permitirnos llevar a cabo nuestro trabajo en sus instalaciones y apoyarnos en todo lo que necesitábamos.

A todas y cada una de las personas que hicieron posible que llegáramos hasta aquí y culmináramos con éxito nuestra meta.

DEDICATORIA

Dedicamos este trabajo a Dios nuestro señor y a la virgen Santísima por ser nuestras guías fundamentales y bendecirnos a lo largo de nuestras vidas.

A nuestros padres que sin su ayuda, apoyo, amor y comprensión nada de esto sería posible.

A nuestra familia que de una u otra forma nos apoyaron en el transcurso de nuestros estudios y de nuestras vidas.

A los maestros de la Facultad de Ciencias Químicas por formarnos a lo largo de nuestra carrera universitaria, con humanismo y profesionalismo.

A nuestra tutora Lic. Fania Valladares por guiarnos en la elaboración de nuestro trabajo, brindándonos los mejores consejos, con paciencia y sabiduría para lograr culminar de manera exitosa nuestra investigación.

ÍNDICE

Contenido	Pág.
Abreviaturas y símbolos.....	0
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
III. OBJETIVOS.....	5
3.1 Objetivo General.....	5
3.2 Objetivos Específicos	5
IV. MARCO TEÓRICO.....	6
4.1 Generalidades de validación.....	6
4.1.1 Definición.....	6
4.1.2 Tipo de Validación.....	7
4.1.3 Razones que justifican la validación de métodos analíticos	8
4.1.4 Requerimientos iniciales para realizar una validación.....	9
4.1.5 Requisitos para la documentación de una validación.....	9
4.1.6 Métodos susceptibles a ser validados.....	10
4.1.7 Tipos de métodos analíticos.....	11
4.1.8 Clasificación de los procedimientos analíticos que son objetivo de validación.....	12
4.2 Características de desempeño.....	14
4.2.1 Parámetros de pre validación.....	14
4.2.1.1 Robustez.....	14
4.2.1.2 Idoneidad del sistema	20
4.2.2 Parámetros de validación.....	22
4.2.2.1 Selectividad.....	22
4.2.2.2 Linealidad e intervalo.....	27
4.2.2.3 Precisión	29
4.2.2.4 Exactitud.....	32
4.3 Fundamentos generales del análisis volumétrico.....	40
4.3.1 Definición.....	40
4.3.2 Requisitos fundamentales.....	40
4.3.3 Clasificación de los métodos volumétricos de análisis.....	41
4.3.4 Métodos de estandarización de soluciones.....	45
4.3.5 Disolución patrón.....	46
4.3.6 Ensayo del blanco en un análisis volumétrico.....	46

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA
POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA
DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

4.3.7	Titre.....	47
4.3.8	Punto de equivalencia y punto final.....	48
4.4	Valoraciones complejométricas.....	49
4.4.1	Fundamentos generales.....	49
4.4.2	El ácido etilendiaminotetracético (EDTA).....	51
4.4.3	Factores que afectan la estabilidad de los complejos Metal-EDTA.....	52
4.4.4	Métodos de valoración complejométricas con EDTA.....	53
4.4.5	Indicadores de metal.....	54
4.5	Dureza del agua.....	56
4.6	Generalidades del Óxido de Cinc.....	57
4.6.1	Reactividad y peligros.....	57
4.6.2	Usos.....	58
4.7	Pastas.....	59
V.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	60
5.1	Tipo de estudio.....	60
5.2	Tipo de validación.....	60
5.3	Área de estudio.....	60
5.4	Población y muestra de estudio.....	60
5.5	Alcance de validación.....	60
5.6	Variables.....	61
5.7	Tipo de variables.....	61
5.8	Método de recolección de la información.....	61
5.9	Plan de análisis.....	61
5.10	Procedimientos de calificación de áreas y equipos.....	62
5.9.1	Verificación de la balanza.....	62
5.9.2	Comprobación del electrodo del pH – metro.....	62
5.9.3	Control de humedad y temperatura ambiental.....	62
5.11	Reactivos utilizados.....	63
5.12	Materiales utilizados.....	65
5.13	Muestras utilizadas.....	67
5.14	Preparación de reactivos.....	68
5.15	Determinación de la precisión (repetibilidad) de la estandarización del EDTA (0,05 M).....	72
5.16	Estabilidad de la solución de EDTA (0,05 M).....	73
5.17	Determinación de la dureza del agua destilada.....	74
5.18	Procedimiento para la determinación de la pureza del estándar de Óxido de Cinc.....	75
5.19	Procedimiento de valoración del placebo de Pasta al Agua.....	76
5.20	Procedimiento para la valoración de óxido de cinc en Pasta al Agua.....	76
5.21	Procedimiento para determinar la robustez del método.....	78

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA
POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA
DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

5.21.1	Preparación de las muestras a ensayar.....	79
5.22	Procedimiento para determinar la idoneidad del sistema.....	81
5.22.1	Preparación del blanco.....	81
5.22.2	Preparación de solución estándar.....	81
5.23	Procedimiento para determinar los parámetros de validación.....	82
5.23.1	Selectividad (por adición de interferencias).....	82
5.23.1.1	Preparación de la solución estándar....	82
5.23.1.2	Preparación del placebo cargado.....	82
5.23.2	Linealidad e intervalo.....	85
5.23.3	Precisión.....	91
5.23.4	Exactitud.....	96
VI.	RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	100
6.1	Estandarización del EDTA 0,04 M, 0,05 M, 0,06 M.....	100
6.2	Precisión de estandarización de EDTA 0,05 M.....	101
6.3	Estabilidad del EDTA 0,05 M.....	102
6.4	Determinación de la dureza del agua.....	104
6.5	Pureza del estándar de óxido de cinc.....	105
6.6	Valoración del placebo de Pasta al Agua (Blanco).....	106
6.7	Valoración (cuantificación) de óxido de cinc en Pasta al Agua.....	107
6.8	Robustez.....	108
6.9	Idoneidad el sistema.....	110
6.10	Selectividad.....	111
6.11	Linealidad e intervalo.....	113
6.9.1	Linealidad del sistema.....	113
6.9.2	Linealidad del método.....	118
6.12	Precisión.....	124
6.9.3	Repetibilidad del sistema.....	125
6.9.4	Repetibilidad del método.....	126
6.9.5	Precisión intermedia del método.....	127
6.13	Exactitud.....	129
VII.	CONCLUSIÓN.....	131
VIII.	RECOMENDACIONES.....	132
IX.	BIBLIOGRAFÍA.....	133
X.	ANEXOS.....	136

Abreviaturas y símbolos.

AEFI	Asociación española de farmacéuticos de la industria.
ANOVA	Análisis de la variancia.
AOAC-I	Association of Official Analytical Chemists.
BP	Pharmacopea Británica
CaCO₃	Carbonato de calcio
EDTA	Ácido Etilendiaminotetracético
FDA	Food and Drug Administration
FI	Farmacopea internacional
FT-IR	Espectrometría IR con transformada de Fourier.
GC	Cromatografía de gases.
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución.
ICH	International Conference of Harmonisation.
ISO	International organization for standardization
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry.
LCCM	Laboratorio de control de calidad de medicamento.
Mg⁺²	Magnesio
MRC	Materiales de referencia certificados.
mM	Milimol
mg	Miligramo
M	Molaridad

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

mL	Mililitro
NET	Eriocromo negro T
OMS	Organización Mundial de la Salud.
pH	Potencial de Hidrogeno
RTCA	Reglamento Técnico Centroamericano.
USP	United States Pharmacopeia
VIM	Vocabulario Internacional de Metrología
Zn⁺²	Cinc

I. INTRODUCCIÓN

En Nicaragua, la fabricación de medicamentos es regida por el RTCA 11.03.42.07 (productos farmacéuticos medicamentos de uso humano, buenas prácticas de manufactura para la industria farmacéutica), el cual establece los principios y directrices de las Buenas Prácticas de Manufactura que regulan todos los procedimientos involucrados en la manufactura de productos farmacéuticos, a fin de asegurar la eficacia, seguridad y calidad de los mismos.

Para asegurar la eficacia, seguridad y calidad de los medicamentos, el laboratorio fabricante, debe contar entre otros, con una unidad de control de calidad, que tiene dentro de sus obligaciones: establecer, validar, verificar y aplicar procedimientos de control de calidad. Para verificar la calidad de un medicamento, la unidad de control de calidad debe tener a su disposición la información de la metodología analítica para el análisis de la materia prima y del producto terminado.

Para asegurar la confiabilidad de estos métodos analíticos, deben someterse a un proceso de validación, el cual se basa en establecer evidencia de manera documentada que el proceso a utilizar, producirá resultados que cumplan con las especificaciones y características predeterminadas.

En Nicaragua, para comercializar un medicamento, según la ley 292 “Ley de Medicamentos y Farmacia”, se deben cumplir con exigencias legales como es el “Registro de Medicamentos”. Estas exigencias se establecen en el RTCA 11.03.59:11 (Productos Farmacéuticos, Medicamentos para uso humano, Requisitos de Registro Sanitario); y como parte de estos requisitos, se debe presentar un informe de validación del método analítico elaborado según el Reglamento Técnico Centroamericano de Validación de Métodos Analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos vigentes (RTCA 11.03.39:06).

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA
POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA
DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

El Laboratorio Mauricio Díaz Müller requiere la Renovación del Registro Sanitario del producto Pasta al Agua para su comercialización, por lo cual, debe de cumplir con las exigencias legales antes mencionadas.

Para aportar al proceso de renovación del registro sanitario del producto, procedimos a efectuar la validación del método analítico para la cuantificación de Óxido de Cinc en Pasta al Agua aplicando la técnica de volumetría directa de formación de complejos. Este estudio, se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Control de Calidad de Medicamentos (LCCM) de la UNAN-León, evaluando la robustez, idoneidad y parámetros como selectividad, linealidad, exactitud y precisión. La metodología validada, fue adaptada del método de valoración de Pasta al Agua indicado en la USP 39. Los resultados de este estudio se presentan en este documento.

En la biblioteca de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (UNAN-León) no se encontraron estudios de validación de métodos de cuantificación de óxido de cinc en pasta al agua; sin embargo, se encontraron los siguientes estudios de validación de métodos volumétricos:

- Osejo H., López D., Reyes F.: Universidad Nacional Autónoma de León, Facultad de Ciencias Química, Carrera de Farmacia, Agosto 2014; realizaron un estudio de *“Validación del método volumétrico para la determinación de contenido de yodo en tintura de Yodo al 2% del Laboratorio Mauricio Díaz Müller.”* En este estudio, se evaluaron diversos parámetros de validación de métodos físicos-químicos, los cuales cumplían con las especificaciones establecidas y se demostró que el método propuesto es apto para el fin esperado.

- Herdocia M., Herrera T., Huerta A.: Universidad Nacional Autónoma de León, Facultad de Ciencias Química, Carrera de Farmacia, Abril - Noviembre 2017. *“Validación de un método de cuantificación de Hidróxido de Magnesio en suspensión de Leche Magnesia*

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

425mg / 5 mL fabricada por el Laboratorio Mauricio Díaz Müller.” En este estudio, se evaluaron diversos parámetros de validación como exactitud, precisión, selectividad, linealidad e intervalo los cuales cumplen con los criterios de aceptación establecidos y concluyeron que la metodología propuesta es apta para la cuantificación de hidróxido de magnesio en Suspensión de Leche Magnesia.

Con los resultados obtenidos en nuestro estudio, evidenciamos que el método validado es apto para la valoración de óxido de cinc en Pasta al Agua fabricada por el Laboratorio Mauricio Díaz Müller, permitiendo de esta manera su implementación como ensayo de rutina.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Es apto el método de valoración de óxido de cinc en Pasta al Agua fabricada por el Laboratorio Mauricio Díaz Müller aplicando la técnica de volumetría directa de formación de complejos?

III. OBJETIVOS

Objetivo General:

Validar el método de valoración de óxido de cinc en Pasta al Agua fabricada por el Laboratorio Mauricio Díaz Müller, aplicando la técnica de volumetría de formación de complejos, Septiembre 2017- Septiembre 2018.

Objetivos Específicos:

1. Verificar la Idoneidad del sistema en la valoración de óxido de cinc en Pasta al Agua.
2. Determinar la Robustez del método de valoración de óxido de cinc en Pasta al Agua.
3. Evaluar los parámetros de desempeño para la categoría I: selectividad, linealidad, precisión y exactitud, establecidos en el RTCA 11.03.39:06.

IV. MARCO TEÓRICO

4.1 Generalidades de validación

Toda validación comienza a partir de un método ya probado y ajustado. La validación trata de demostrar con un número mínimo de ensayos, que tanto el método de análisis como su sistema analítico asociado producirán resultados adecuados a las exigencias preestablecidas.¹

4.1.1 Definición

El término validación ha sido definido en la literatura, de diversas maneras y por numerosos autores. Aunque los términos dados son diferentes, el significado es siempre el mismo: “especificar e implementar, aprobar y documentar resultados de laboratorio”.¹

Según la USP, “la validación de un procedimiento analítico es el proceso que establece, mediante estudios en laboratorio, que las características de desempeño del procedimiento cumplen los requisitos para las aplicaciones analíticas previstas”.²³

Las Normas de Correcta Fabricación definen que “la validación es la obtención de pruebas de que cualquier procedimiento, proceso, equipo, material, actividad o sistema, produce en realidad el resultado previsto”.¹

Analíticamente la validación, es “el establecimiento de la evidencia documental de que un procedimiento analítico conducirá, con un alto grado de seguridad, a la obtención de resultados precisos y exactos, dentro de las especificaciones y los atributos de calidad previamente establecidos”.¹

Según el RTCA (11.03.39:06) es “el procedimiento para establecer pruebas documentales que demuestren físicamente que un método analítico tiene las características de desempeño que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas. Implica la demostración de la determinación de las fuentes de variabilidad y del error

sistemático y al azar de un procedimiento, no sólo dentro de la calibración sino en el análisis de muestras reales”.²¹

Según la OMS se define como “el establecimiento de pruebas documentales que aportan un alto grado de seguridad de que un proceso planificado se efectuara uniformemente en conformidad con los resultados previstos especificados”.¹⁴

Según la FDA la validación de métodos analíticos, “es el proceso por el cual se demuestra que los procedimientos analíticos son aptos para el uso indicado”.¹

La validación de métodos analíticos es “el proceso de documentar o aprobar que en un método analítico proporciona datos analíticos aceptables para el uso que se propone”.⁵

Al realizarse estudios de laboratorio de acuerdo con ISO 5725-1 y 3534-1, “se deben obtener resultados de prueba, un resultado de una prueba es "el valor de una característica que se obtiene al llevar a cabo un método de prueba específico, demostrándose que debe realizarse una o varias mediciones individuales y que su promedio, u otra función apropiada (tal como la mediana o la desviación estándar), debe informarse como el resultado de la prueba. Así mismo, puede requerir que se apliquen correcciones estándar. Por consiguiente, un resultado de una prueba puede ser un resultado calculado a partir de diversos valores observados y por tanto dicho valor debe ser comparado con los criterios de aceptación”.²³

4.1.2 Tipos de validación³

- **Validación Retrospectiva**

Cuando se trata de un método empleado tradicionalmente por el laboratorio que no esté normalizado, se puede realizar una validación retrospectiva, es decir, en base a los datos experimentales que el laboratorio dispone, para la cual se realizara la recopilación de la mayor cantidad de datos históricos disponibles, para luego realizar un proceso de ordenamiento y selección de los datos recopilados, estos datos pueden ser: curvas de calibración, resultados de ensayos, cartas de control, ensayos de aptitud, etc. A través de

estos, se deberán determinar los parámetros de validación, y evaluar si los resultados obtenidos para los fines son aceptables.

- **Validación Prospectiva**

En caso de ser un método nuevo o uno antiguo del que no se disponga de datos suficientes, se debe realizar este tipo de validación generando a través de análisis de datos experimentales.

- **Revalidación**

La revalidación de un método analítico consiste en repetir de forma total o parcial su validación, ya sea debido a modificaciones en el método, equipos, en la muestra a analizar, etc. para garantizar la obtención de resultados fiables.

4.1.3 Razones que justifican la validación de métodos analíticos ¹

Las razones que justifican la validación de métodos analíticos son las siguientes:

- Demostrar que los métodos son adecuados a los análisis propuestos en las condiciones descritas. La validación es la herramienta que permite obtener las pruebas documentales al respecto.
- Trabajar con métodos que ofrezcan confianza y seguridad en los resultados, lo cual a su vez minimizará el número de fallos y repeticiones permitiendo un importante ahorro de costos.
- Trabajar con métodos validados permite no sólo el conocimiento del método analítico: sino también cumplir con las exigencias legales tanto del registro de especialidades, farmacéuticas como de las Buenas Prácticas de Laboratorio, con el fin de asegurar la calidad y eficacia del producto.
- La validación es también un paso o requisito previo de los procesos de transferencia de métodos analíticos.

4.1.4 Requerimientos iniciales para realizar una validación ¹

Para iniciar la validación es necesario previamente:

- Tener perfectamente caracterizado el analito.
- Trabajar con una formulación definitiva (en caso de especialidad), puesto que cambios en la composición incluso a nivel de excipientes afectarán probablemente al procedimiento analítico.
- Trabajar suficientemente con el método de análisis como para que nuestro conocimiento acerca de éste, nos ofrezca garantías de que la validación puede ser satisfactoria. Sólo cuando el procedimiento está definido en todos sus detalles y se tiene el convencimiento de que las condiciones descritas son idóneas para alcanzar los resultados esperados debe iniciarse la validación. Por ello en el desarrollo previo del método, es recomendable llevar a cabo el estudio de robustez para garantizar la bondad del procedimiento que se quiere validar.

4.1.5 Requisitos para la documentación de una validación ¹

- **Protocolo de validación**

Se trata de un documento que ha de recoger el objetivo, la definición del sistema a validar. La identificación de los parámetros, el diseño del plan experimental y los criterios de aceptación. Debe ser específico para cada producto y método, debiendo ir firmado y fechado por las personas responsables de la validación y aprobación.

- **Realización de la validación y evaluación de resultados analíticos**

Todos los datos primarios deben ser perfectamente auditables. Una vez realizada la parte experimental de la validación, se evaluarán los resultados obtenidos. Si durante la ejecución del protocolo se produce alguna modificación se añadirá como un anexo al mismo explicando el cambio introducido respecto al original y la razón que lo justifica.

- **Informe de validación**

Los informes de validación deberán incluir:

- Referencia al protocolo en el cual se describe el procedimiento para la determinación de cada uno de los parámetros a evaluar.
- Resultados de las determinaciones de cada parámetro incluyendo todos los datos primarios.

- **Certificado de validación**

El certificado de validación o documento formal de aprobación que emite el laboratorio con los resultados obtenidos para cada parámetro, debe ser firmado por las personas responsables. Este certificado puede ser independiente, incluyendo un resumen del protocolo de validación y de los resultados obtenidos, o bien anexarse al final del informe.

- **Archivo**

Los documentos referentes a la validación se archivarán adecuadamente durante todo el tiempo de vida del producto.

4.1.6 Métodos susceptibles a ser validados ¹

Son validables los métodos analíticos clasificados en la siguiente forma:

- Ensayos de identificación.
- Ensayos para la determinación del analito de interés de una materia prima o de una especialidad farmacéutica.
- Ensayos para la determinación de características fármaco-técnicas inherentes (Ejemplo: Test de disolución).
- Ensayos de límite de impurezas y de cuantificación de impurezas.
- Ensayos para la determinación de analitos en fluidos biológicos y en productos naturales.
- Ensayos microbiológicos.

4.1.7 Tipos de métodos analíticos

- **Métodos estándar o normalizados**

Los métodos estándar son aquellos publicados por organizaciones internacionales, regionales o nacionales; por organizaciones técnicas respetables; referencias legales; métodos publicados por la FDA (Food and Drug Administration), y que se ejecutan tal como se describen en la norma.³

Estos métodos incluyen aquellos publicados por:

- United States Pharmacopeia (USP)
- International conference of harmonization (ICH)
- Pharmacopea Británica (BP)
- Farmacopea internacional (FI)

- **Método normalizado con una modificación significativa**

Son métodos normalizados pero con modificaciones significativas realizadas por el laboratorio que aplica el método analítico.

- **Métodos no normalizados**

Corresponde a métodos no desarrollados por el laboratorio o métodos nuevos (ejemplo publicado en revistas científicas), o bien métodos que tradicionalmente se han utilizado en el laboratorio pero que no están normalizados.²

En algunos casos se puede realizar lo que se conoce como validación menor o verificación cuando se trate de:

- Métodos normalizados.
- Métodos normalizados usado fuera de su alcance propuesto.
- Ampliaciones y modificaciones menores de métodos normalizados.

- Cuando se trate de métodos previamente validados que hayan sufrido alguna alteración significativa por lo cual deben volver a evaluarse.

La verificación tiene como objetivo el comprobar que el laboratorio domina el método de ensayo normalizado y lo utiliza correctamente, en caso de tratarse de un método normalizado modificado para la verificación se requiere solo realizar aquellas pruebas que indiquen que aquella variación realizada no afecte el ensayo.⁹

En caso de principios activos de síntesis, los métodos oficiales o de farmacopea, se considerarán validados siempre y cuando se apliquen a principios activos con la misma ruta de síntesis y por tanto el mismo perfil de impurezas que aquellos para los que fuera redactada la monografía.¹

No es recomendable considerar ningún método oficial o de farmacopea totalmente validado para una especialidad, puesto que difícilmente tendrá los mismos componentes ni la misma proporción.¹

4.1.8 Clasificación de los procedimientos analíticos que son objeto de validación²³

Según RTCA 11.03.39:06, las metodologías se clasifican en cuatro categorías para su validación y dependiendo de la categoría los parámetros a evaluarse.

Categoría I: Pruebas cuantitativas del contenido del (los) principio(s) activo(s), constituyen procedimientos químicos o microbiológicos que miden el (los) analito(s) presente(s) en una muestra determinada.

Categoría II: Pruebas para la determinación del contenido de impurezas o de valores límites para el control de impurezas. Pueden ser pruebas cuantitativas o una prueba cualitativa para determinar si la impureza está presente en la muestra por encima o por debajo de un valor límite especificado. Cualquiera de los dos pretende reflejar con exactitud las características

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

de pureza de la muestra. Los parámetros de validación requeridos por una prueba cuantitativa son diferentes a los de una prueba cualitativa de cumplimiento de límite.

Categoría III: Pruebas físico químicas de desempeño. Constituyen procedimientos de ensayo que miden características propias del desempeño del medicamento, por ejemplo; la prueba de disolución. Las características de la validación son diferentes a las de las otras pruebas, aunque las pueden incluir.

Categoría IV: Pruebas de identificación. Aquellas que se realizan para asegurar la identidad de un analito en una muestra. Esto normalmente se realiza por comparación de una propiedad de la muestra, contra la de un estándar de referencia, por ejemplo; espectros, comportamiento cromatográfico, reactividad química y pruebas microcristalinas.

Pruebas microbiológicas: Aquellas que se realizan para asegurar la calidad microbiana del medicamento.

Los parámetros de mérito para cada categoría de prueba se detallan en la tabla 1.

Tabla 1. Parámetros de desempeño

Características de desempeño analítico.	Categoría I	Categoría II		Categoría III	Categoría IV
		Análisis Cuantitativos	Pruebas de Límite		
Exactitud	Sí	Sí	*	*	No
Precisión	Sí	Sí	No	Si	No
Especificidad	Si	Sí	Sí	*	Si
Límite de detección	No	No	Sí	*	No
Límite de Cuantificación	No	Sí	No	*	No
Linealidad	Sí	Sí	No	*	No
Intervalo	Sí	Sí	*	*	No

*Pueden requerirse, dependiendo de la naturaleza del ensayo.

4.2 Características de desempeño analítico

La necesidad de validar un método y el procedimiento que se ha de seguir son temas de decisión profesional, aunque en la actualidad existen procedimientos y lineamientos prescritos que ayudan en la toma de decisiones.⁵

Las organizaciones gubernamentales e internacionales han establecido lineamientos para la correcta validación de métodos, en especial para métodos de presentación reglamentaria.⁵

Entre los cinco parámetros fundamentales de una validación analítica se encuentran: selectividad, linealidad y rango, precisión, exactitud. La robustez es un parámetro perteneciente a las fases de prevalidación, es punto del método que está conectado con la definición de los criterios de idoneidad del sistema la que debe definirse durante las fases de desarrollo del método y aplicarse rutinariamente cada vez que se utilice, puesto que garantiza que el sistema instrumental y el método analítico van a funcionar correctamente en el momento de su uso.⁵

4.2.1 Parámetros de prevalidación

4.2.1.1. Robustez

4.2.1.1.1 Definición

Para que un método sea útil debe proporcionar resultados fiables. Por desgracia, los métodos están sometidos a distintas interferencias químicas y físicas que contribuyen a la incertidumbre del análisis. Cuando un método está relativamente libre de interferencias químicas, puede aplicarse a la determinación de analitos en muestras con una amplia variedad de matrices. Estos métodos se consideran robustos.¹⁶

La guía ICH, Q2A define la robustez de un método analítico como la medida de su capacidad para permanecer inalterado ante pequeñas pero deliberadas variaciones en ciertos parámetros, proporcionando ideas de su fiabilidad o estabilidad durante su empleo en rutina. Es la capacidad que demuestra el procedimiento de análisis para brindar resultados válidos en presencia de pequeños cambios en relación a las condiciones descritas en el método, susceptible de producirse durante su utilización.¹

La robustez de un procedimiento analítico es una medida de su capacidad para no ser afectado por variaciones pequeñas, aunque deliberadas, en los parámetros del procedimiento indicados en la documentación, y provee una indicación de su aptitud durante condiciones normales de uso. La robustez puede determinarse durante la etapa de desarrollo del procedimiento analítico.¹

La robustez (Robustness) no debe confundirse con el término Ruggedness. Este último no se menciona en las guías ICH, pero sí en la Farmacopea USP. Esta define el término Ruggedness como el grado de reproducibilidad de los resultados mediante el análisis de las mismas muestras bajo una variedad de condiciones tales como diferentes laboratorios, diferentes analistas, diferentes instrumentos, lotes de reactivos, días, tiempos, diferentes temperaturas, etc. Es decir, se sigue el método analítico dentro de los parámetros especificados en él, pero introduciendo en las condiciones experimentales las variaciones habituales de laboratorio a laboratorio. Es una idea de la influencia que tienen las variables ambientales y operacionales del método en los resultados, por lo que podría asimilarse al término Reproducibilidad.¹

4.2.1.1.2 Ámbito de aplicación

Tanto la guía ICH como la USP argumentan que la robustez no es considerada, todavía, un requisito para el registro de especialidades ya que se trata de un estudio que surgió con el fin de resolver los problemas que se planteaban en la transferencia de métodos analíticos entre laboratorios. En estas circunstancias era frecuente que algún parámetro del método sufriera una variación que provocaba serias dificultades en la equivalencia entre los resultados de ambos centros de análisis, de modo que con el fin de identificar los factores potencialmente

críticos surgió la necesidad de evaluar las fuentes de variación del método de análisis. Por esta misma razón, las guías ICH recomienda incluir la robustez en una fase apropiada del desarrollo del método y no en la validación propiamente dicha, dado que, si la robustez del método no se comprueba con anterioridad al iniciar la validación, puede suceder que se intente validar un método poco robusto, brindar errores en los resultados y pérdida de tiempo y dinero.¹

Se considera por tanto que antes de fijar los parámetros analíticos y redactar el método a validar, es recomendable hacer un estudio de robustez de forma que una vez fijados los márgenes en los que el método es robusto, se pudieran incluir éstos como parte del método final, dotándolo así de una cierta flexibilidad.¹

4.2.1.1.3 Procedimiento de determinación de la robustez

Para definir los factores de variación se debe de definir previamente los parámetros que se van a medir en cada ensayo. En el caso de un análisis cuantitativo se debe analizar la influencia de cada variable sobre la concentración de analito calculada, si hay presente más de un analito interesará estudiar la influencia de cada factor sobre los parámetros que después definirán el test de idoneidad del método. El estudio de la influencia sobre varios parámetros nunca implica la realización de más ensayos, sino que se puede hacer a partir de los mismos.¹ Los factores a evaluar en cualquier método de análisis pueden ser tantos factores cuantitativos (ej. influencia del valor de pH, del valor de temperatura, porcentaje de componente orgánico, etc.) Como cualitativos (ej. fabricante de un determinado reactivo, etc.).¹

Entre las condiciones analíticas que podrían afectar un método se encuentran:¹

- Analista
- Equipos
- Reactivos
- pH
- Temperatura

- Tiempo de reacción
- Estabilidad de la muestra

Una vez definidos los factores que pueden influenciar en el análisis se ha de establecer el margen de variación.

Normalmente los márgenes de fluctuación de cada factor cuantitativo se distribuyen en proporción adecuada respecto al valor nominal descrito en el método de análisis. Siendo en algunos casos fijar intervalos que sea esperable según el método fluctúe en el proceso, por ejemplo, una transferencia interlaboratorio.¹

Tras establecer los factores a estudiar la forma aparentemente más sencilla de comprobar la influencia de cada uno de ellos sobre el método, se debe de comparar los resultados obtenidos modificando dicho factor, pero manteniendo constantes los demás. No obstante, esto conlleva dos problemas:

- El efecto de modificar más de un factor a la vez puede ser diferente de lo observado al modificarlos de uno en uno.
- Cuando hay bastantes factores esto representa mucho trabajo, tiempo y dinero.

La forma más eficaz de estudiar la robustez es pues efectuar un diseño factorial. De esta forma, a menudo, sin realizar todas las combinaciones posibles, se puede concluir con un número alcanzable y razonable de experimentos y determinar las variables más influyentes en el resultado y conocer su magnitud.¹

4.2.1.1.4 Diseños factoriales fraccionados

Normalmente se utilizan dos tipos de diseños factoriales:

- Diseños factoriales completos y fraccionados
- Diseños de Plackett-Burman y Youden-Steiner

Los más habituales y sencillos son los diseños de Plackett-Burman, con los que a partir de (f+1) experimentos se pueden llegar a evaluar el efecto de f factores, la desventaja es que, en estos diseños, a diferencia de los diseños fraccionados, los efectos de las interacciones entre dos o más factores quedan confundidas con los efectos principales, es decir, no puede evaluarse el efecto de las interacciones entre factores. No obstante, también ha de señalarse que dicho efecto suele ser en la práctica casi siempre despreciable.¹

Por razones de interpretación estadística, el número de factores a evaluar es, conveniente que sea como mínimo de tres y de ocho el número mínimo de experimentos:¹

Diseño factorial completo de ocho experimentos (2³) para evaluar la influencia de tres factores.

Mediante la matriz resultante del análisis factorial para este caso, se puede establecer la influencia de tres factores A, B y C, así como de sus interacciones dos a dos. La interacción de los tres conjuntamente también puede ser tenida en cuenta.¹

Factores				Interacciones			
Nº de ensayos	A	B	C	AB	AC	BC	ABC
1	-	-	-	+	+	+	-
2	+	-	-	-	-	+	+
3	-	+	-	-	+	-	+
4	+	+	-	+	-	-	-
5	-	-	+	+	-	-	+
6	+	-	+	-	+	-	-
7	-	+	+	-	-	+	-
8	+	+	+	+	+	+	+

El signo contenido en las columnas A, B, C es el correspondiente a la desviación diseñada del factor respecto a su valor nominal. La columna Interacción AB es el resultado del producto algebraico de los signos de las columnas A y B, y de la misma forma la de la

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA
POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA
DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

columna ABC es el correspondiente al producto de cada una de las columnas A, B, C. Cada línea representa un experimento a realizar. ¹

Se realizan los ocho ensayos según indica cada línea de la matriz con lo que se obtendrán ocho resultados para los parámetros que nos interese analizar: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7 y R8. ¹

Una vez obtenidos los resultados, el siguiente paso en realizar es la evaluación estadística que evidencie cuál de los factores, o que interacción entre ellos tiene una influencia significativa. ¹

Una forma sencilla de llevarla a cabo sería calcular la influencia de cada factor de la siguiente manera:

Influencia del factor A: $A = 1/4 (-R1 + R2 - R3 + R4 - R5 + R6 - R7 + R8)$

Influencia del factor B: $B = 1/4 (-R1 - R2 + R3 + R4 - R5 - R6 + R7 + R8)$

La influencia sobre el parámetro de la interacción entre el factor A y B será: $AB = 1/4 (+R1 - R2 - R3 + R4 + R5 - R6 - R7 + R8)$. ¹

Luego de calcular los efectos principales y las interacciones entre los diferentes factores, de forma que puede ya intuirse cuáles de ellos puede tener realmente relevancia. En cualquier caso, una manera también sencilla de comprobar la importancia del efecto generado consiste en calcular para cada caso el correspondiente intervalo de confianza: Por ejemplo, para el factor A: ¹

$$A \pm t * \frac{S_{exp}}{\sqrt{n}}$$

Si el intervalo de confianza del efecto de un factor contiene el cero, este efecto puede considerarse como negligible. Si el cero no se encuentra dentro del intervalo el resultado del análisis significa que se haya influenciado por la variación del factor en cuestión.

De esta forma todos aquellos factores cuyo intervalo de confianza excluya el cero deberá ser fijado con gran exactitud en el procedimiento de análisis.¹

Los estudios de robustez de un método de análisis permiten, por una parte, conocer la estabilidad de dicho método ante pequeñas modificaciones de las condiciones descritas en él y por tanto su independencia frente a éstas. Por otra parte, también permiten conocer en muchos casos las condiciones de trabajo Óptimas en cada paso del procedimiento de análisis.¹

Por todo ello, la robustez no debe considerarse como un parámetro de validación en sí mismo, sino como el estudio, que permitirá conocer cuáles son las condiciones óptimas de trabajo para las diferentes variables estudiadas, así como cuáles de ellas son críticas y han de ser más estrechamente controladas. Todo esto se realiza con el fin de validar el mejor de los métodos posibles, siendo óptimo.¹

4.2.1.2 Idoneidad del sistema

4.2.1.2.1 Definición

El test de idoneidad del sistema consiste en un conjunto de ensayos que permiten comprobar en el momento de utilización del método, que el sistema, (analista, reactivos e instrumento) es adecuado para llevar a cabo la determinación para la que se ha establecido y validado dicho método.¹

4.2.1.2.2 Ámbito de aplicación

El test de idoneidad del sistema es susceptible de emplearse en cualquier procedimiento de medida en el que las condiciones analíticas puedan estar sometidas a variación de las condiciones operacionales. Por ejemplo, en procedimientos analíticos volumétricos, se incluye la evaluación del blanco, y una precisión de los resultados obtenidos. Sin embargo, es en las técnicas cromatográficas donde este tipo de pruebas se emplean con mayor asiduidad.¹

4.2.1.2.3 Procedimiento de determinación de la idoneidad

El test de idoneidad del sistema debe encontrarse vinculado de forma directa a las características del método analítico para el que se estableció, ya que debe reflejar su viabilidad en el momento de emplearlo.¹

Los requisitos que debe cumplir el método analítico se establecen desde la primera fase de desarrollo, aunque en esos momentos no es posible concretar la prueba que permitirá comprobarlos. Durante este período será suficiente el registro de la evolución de los distintos parámetros analíticos a lo largo del tiempo y la comprobación de la precisión del sistema realizando medidas repetidas de una misma preparación de muestra.¹

Posteriormente, los resultados del estudio de robustez permitirán adquirir el conocimiento necesario para establecer los factores críticos y el impacto que estos han tenido sobre el comportamiento del método.¹

Los ensayos de idoneidad del sistema que se establezcan vendrán dados por el conocimiento adquirido del método y la viabilidad de su empleo en rutina. Estos ensayos no solo demuestran que el sistema se encuentra en perfectas condiciones para realizar el análisis, sino que también permiten establecer el criterio por el que modificar las condiciones analíticas descritas en el procedimiento con el fin de alcanzar la idoneidad.¹

4.2.1.2.4 Parámetros de evaluación de la idoneidad¹

Los parámetros de evaluación de idoneidad se pueden agrupar en:

- a) Precisión: Se evalúa mediante el cálculo del coeficiente de variación de los resultados obtenidos tras el análisis de una serie de replicados de una muestra. La USP establece como criterio un coeficiente de variación igual o inferior al 2% en la inyección de 5 replicados.¹

La guía de la FDA recomienda un coeficiente de variación inferior al 1% para un mínimo de 5 inyecciones en el caso de principio activo, aceptando valores del 5-15% cuando se trata de impurezas o productos de degradación.

- b) Parámetros cromatográficos: Factor de capacidad, número de platos teóricos, factor de asimetría o de cola, resolución.
- c) Límites de detección o cuantificación: Una prueba de idoneidad del sistema también puede ser útil para confirmar la consecución de un determinado límite de cuantificación o de detección con el fin de comprobar la capacidad de cumplimiento con la función para el cual se ha establecido, por ejemplo, analizar bajos niveles de impurezas.

4.2.2 Parámetros de validación

4.2.2.1 Selectividad

4.2.2.1.1 Definición

Es la capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente a analito de interés, de forma inequívoca, sin interferencias de impurezas, productos de degradación, compuestos relacionados, excipientes u otras sustancias previsibles presentes en la matriz de la muestra.¹

Es el grado en el que el método puede medir el analito de interés en las matrices de la muestra que se analiza sin interferencia de la matriz (incluyendo otros analitos). Los efectos de la matriz pueden ser positivos o negativos. La respuesta analítica del analito en presencia de componentes potenciales de la muestra se compara con la respuesta de la solución que contenga solo el analito.⁵

La selección de una metodología adecuada de medición es la clave. Los métodos, incluso los previamente validados en términos generales, pueden no tener la seguridad de ser válidos para determinada matriz de la muestra.⁵

Otras autoridades internacionales de reconocido prestigio (IUPAC, AOAC-1) han preferido el término "selectividad," reservando "especificidad" para procedimientos que resulten completamente selectivos.¹

Se consideran específicas aquellas técnicas para un solo tipo de analito y selectivas aquellas que permiten el análisis de varios tipos de analitos.¹¹

La presencia de interferencias puede tener distintos efectos en la determinación del analito como: imposibilitar su inequívoca identificación (aparición de falsos positivos). La selectividad de un método analítico se debería determinar antes de iniciar el estudio de cualquier otro parámetro de validación, dado que se debe iniciar el estudio de cualquier otro parámetro de validación, dado que debe conocerse en qué grado la respuesta del método es únicamente proporcionada por el analito, sin interferencia de otras sustancias relacionadas de una u otra forma. La especificidad se sustenta con los resultados de exactitud y linealidad si el método cumple con los criterios de aceptación.¹

4.2.2.1.2 Ámbito de aplicación

Los criterios de selectividad que se debe satisfacer un método pueden diferir dependiendo de la finalidad con que se aplique. El grado de selectividad asociado a un método adquiere mayor relevancia si su finalidad es evaluar la estabilidad del principio activo o de la forma farmacéutica. El método ha de permitir distinguir entre todas las posibles especies químicas existentes o que pueden generarse.¹

A grandes rasgos el estudio de la selectividad variará su planteamiento según el objetivo y la técnica analítica aplicada.¹

4.2.2.1.2.1 Según objetivo del ensayo ¹

a) Identificación

Se debe demostrar que el método es capaz de discriminar sin interferencias entre el analito, sustancias de composición similar y otros productos que puedan estar presentes en la muestra.

b) Ensayos de pureza

Se debe garantizar que el método permite una evaluación de las impurezas y los productos de degradación definidos en estudios previos, sin interferencia de otras sustancias que puedan estar presentes en la muestra

c) Determinación cuantitativa de un compuesto o riqueza de un principio activo

El método debe evitar la interferencia de excipientes, productos de degradación y/o impureza en la respuesta proporcionada por el compuesto o el principio activo objeto de la evaluación analítica.

4.2.2.1.2.2 Según la técnica analítica aplicada ¹

a) Ensayos específicos

Como se ha indicado anteriormente se considera apropiado reservar este término para aquellos métodos analíticos que proporcionen un 100% de selectividad. Este tipo de métodos representaría la situación ideal, aunque en el análisis farmacéutico actual su utilización no es muy común.

b) Ensayos absolutos

El uso de métodos de valoración no específicos se debe combinar con la utilización de otros procedimientos analíticos para demostrar la idoneidad del análisis, como por ejemplo una valoración potenciométrica combinada con un test de impurezas.

c) Ensayos separativos

Son los ensayos de más amplia aplicación en la industria farmacéutica actual, aunque hay que recordar que no están libres de interferencias. Este tipo de análisis proporciona una segunda vía de información que confirma la primera.

Entre las combinaciones posibles se puede citar las siguientes: ¹

- Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) acoplada a un detector de diodos (DAD).
- HPLC / Espectrofotometría de masas (MS).
- HPLC con confirmación por columnas de diferente polaridad.
- Cromatografía de gases (GC) I MS.
- GC / Espectroscopia de infrarrojos con transformada de Fourier (FT-IR)

4.2.2.1.3 Procedimientos de determinación de la selectividad

En el estudio de la selectividad, como norma general, se comparan los resultados del análisis de muestras con y sin analito en presencia o ausencia de impurezas, productos de degradación, sustancias relacionadas y/o excipientes.¹

Se pueden plantear diferentes alternativas para proceder a la demostración documental de la selectividad del método. ¹

4.2.2.1.3.1 Por adición de las interferencias

La primera aproximación sería de aplicación para aquellos analitos para los que se tienen identificadas las posibles interferencias y éstas se encuentran disponibles de forma aislada. En estos casos se puede comprobar la selectividad comparando los resultados del análisis de muestras con y sin analito en presencia o ausencia de dichas interferencias. Se evalúa a que nivel se producen y si es preciso modificar el método o añadir alguna técnica complementaria.¹

La elección de la concentración en la que se realiza el estudio podría ser la teórica de trabajo para el principio activo u otros compuestos de interés (ej. conservantes) y las interferencias a su límite máximo establecido. En caso de que se observen interferencias, su nivel puede evaluarse a partir del análisis de seis replicados y el grado de discrepancia entre las determinaciones en presencia o ausencia de las posibles interferencias, mediante la forma siguiente: ¹

$$\%de\ Discrepancia = \frac{D_i - D_s}{D_s} \times 100$$

Donde:

D_i : respuesta media con interferencia.

D_s : respuesta media sin interferencia

También sería de aplicación una prueba t de Student para comprobar la existencia o no de diferencias significativas entre los dos grupos. En métodos muy precisos dicha prueba puede indicar la existencia de diferencias significativas cuando realmente la influencia de las interferencias es aceptable. En estos casos conviene determinar el intervalo de confianza de la diferencia entre los grupos. ¹

Las determinaciones realizadas sobre la matriz de excipientes muestran un consumo de solución valorante por parte de la matriz. Por este motivo, se desea cuantificar el efecto de la interferencia de la matriz en la determinación del principio activo en la fórmula farmacéutica. Se preparan 6 muestras de un placebo cargado y 6 de principio activo solo. Se valoran por el procedimiento descrito. ¹

4.2.2.1.3.2 Aplicación de técnicas confirmatorias con muestras sometidas a estrés

Otra posible aproximación se puede realizar mediante el estudio de muestras sometidas a estrés para generar los compuestos potencialmente interferentes. Este tipo de estudios adquiere especial importancia para los métodos en que se desea evaluar la estabilidad de un principio activo o forma farmacéutica. Se debe comprobar, a ser posible, la identidad del

analito y que la señal proviene sólo de él. Las condiciones de estrés para lograr una degradación del orden del 10-20% en la mayoría de principios activos son: ¹

Condiciones para la forma farmacéutica: ¹

- Calor (40-70°C)
- Luz
- Humedad relativa (85%)

Condiciones para la materia prima ¹

- Calor (40-100 °C)
- Luz
- Ácido (HCl 0,1 N)
- Base (NaOH 0,1 N)
- Oxidante (H₂O₂ 3%)

4.2.2.2 Linealidad e intervalo

4.2.2.2.1 Definición de Linealidad

La linealidad de un procedimiento analítico es su capacidad para obtener resultados de prueba que sean proporcionales ya sea directamente, o por medio de una transformación matemática bien definida a la concentración de analito en muestras dentro de un intervalo dado. En esta sección, la "linealidad" se refiere a la linealidad de la relación entre la concentración y la medida de valoración. En algunos casos, para lograr la linealidad, puede ser necesario transformar la concentración y/o la medida. ¹

Es la habilidad del procedimiento analítico para obtener resultados de ensayos que sean directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra dentro de un rango dado. ¹²

Un estudio de linealidad verifica que la respuesta sea linealmente proporcional a la concentración del analito en el intervalo de concentración de las soluciones de muestra, el estudio debe de realizarse usando soluciones estándar a cinco niveles de concentración, en el intervalo de 50 a 150% de la concentración de referencia del analito. Cinco niveles de concentración deben de permitir la detección de la curva de calibración. Cada estándar se debe de medir por lo menos tres veces.⁵

Los datos de linealidad se juzgan a menudo con base al coeficiente de determinación (r^2) y la intersección con el eje y de la línea de regresión lineal. Un valor $r^2 > 0.998$ es indicio de ajuste aceptable de los datos de la línea de regresión. La intersección con el eje y debe ser un pequeño porcentaje de la concentración de referencia del analito.⁵

4.2.2.2.2 Definición de intervalo

El intervalo de un procedimiento analítico es la amplitud entre las concentraciones inferior y superior del analito (incluyendo estos niveles) en la cual se puede determinar al analito con un nivel adecuado de precisión, exactitud y linealidad utilizando el procedimiento según se describe por escrito. El intervalo se expresa normalmente en las mismas unidades que los resultados de la prueba (p.ej., porcentaje, partes por millón) obtenidos mediante el procedimiento analítico.²³

Es el intervalo entre la concentración más baja y más alta del analito en la muestra (incluidas estas concentraciones) para las cuales han sido demostrado que el procedimiento analítico tiene un nivel de precisión, exactitud y linealidad apropiado.¹²

4.2.2.2.3 Determinación de linealidad e intervalo

La linealidad debe establecerse en el intervalo completo del procedimiento analítico. Debería establecerse inicialmente mediante examen visual de un gráfico de señales en función de la concentración de analito del contenido. Si parece existir una relación lineal, los resultados de la prueba deberían establecerse mediante métodos estadísticos adecuados (p.ej., mediante el cálculo, de una línea de regresión por el método de los cuadrados mínimos). Los datos

obtenidos a partir de la línea de regresión pueden ser útiles para proporcionar estimaciones matemáticas del grado de linealidad. Se deberían presentar el coeficiente de correlación, la intersección con el eje de ordenadas, la pendiente de la línea de regresión y la suma de los cuadrados residuales.²³

El intervalo del procedimiento. se valida. "verificando que el procedimiento analítico proporciona precisión, exactitud y linealidad aceptables cuando se aplica a muestras que contienen el analito en los extremos del intervalo al igual que dentro del intervalo."²³

La ICH recomienda que, para establecer la linealidad, se utilicen normalmente un mínimo de cinco concentraciones. También recomienda que se consideren los intervalos especificados mínimos que se indican a continuación:²³

- Valoración de un Fármaco (o de un producto terminado): de 80% a 120% de la concentración de prueba.
- Determinación de una Impureza: de 50% a 120% del criterio de aceptación.
- Para Uniformidad del Contenido: un mínimo de 70% al 30% de la concentración de prueba, a no ser que se justifique un intervalo más amplio o más apropiado, basándose en la naturaleza de la forma farmacéutica (p.ej. inhaladores de dosis fija).
- Para Pruebas de Disolución: $\pm 20\%$ por encima del intervalo especificado (p.ej., si los criterios de aceptación de un producto de liberación controlada cubren una región de 30%, después de 1 hora, y hasta 90%, después de 24 horas, el intervalo validado sería de 10% a 110% de la cantidad declarada).

4.2.2.3 Precisión

4.2.2.3.1 Definición

La precisión de un procedimiento analítico es el grado de concordancia entre los resultados de las pruebas individuales cuando se aplica el procedimiento repetidamente a múltiples

muestreos de una muestra homogénea. Se expresa como la desviación estándar o la desviación estándar relativa (coeficiente de variación) de una serie de mediciones.²³

La precisión de un método analítico se obtiene por análisis múltiples de una muestra homogénea. La precisión general del método se puede determinar incluyendo la preparación de la muestra. Tales datos de precisión se obtienen en el laboratorio de una muestra homogénea que han sido preparadas en forma independiente. La precisión interlaboratorio se denomina repetibilidad.⁵

El objetivo del estudio de la precisión es conocer la variabilidad del método de ensayo. Esta variabilidad es debida a errores aleatorios inherentes a todo método de ensayo. Como consecuencia de la existencia de estos errores, los análisis efectuados sobre muestras idénticas, en las mismas circunstancias, no conducen generalmente a resultados idénticos. Los factores susceptibles de influir sobre los resultados de un ensayo no pueden ser siempre controlados (analista, equipo instrumental, reactivos, tiempo, etc.) de aquí la importancia del estudio de la precisión.¹

4.2.2.3.2 Ámbito de aplicación

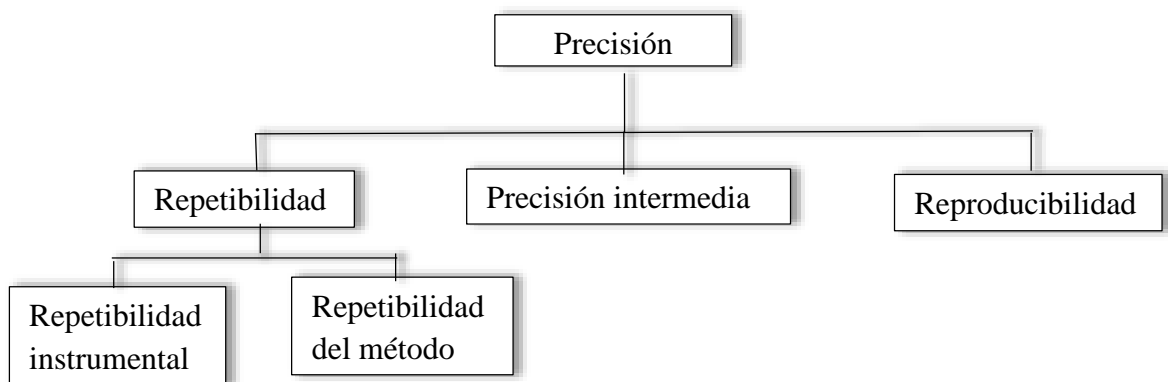
Según la ICH Q2B el estudio de la precisión se debe realizar únicamente para la determinación cuantitativa de principios activos y cuantificación de impurezas. Por lo tanto, la evaluación de la precisión no es necesaria ni en el ensayo de identificación ni en el test límite de impureza.¹

4.2.2.3.3 Determinación

La precisión de un procedimiento analítico se determina mediante el análisis de un número suficiente de alícuotas de una muestra homogénea que permita calcular estadísticamente estimaciones válidas de la desviación estándar o de la desviación estándar relativa (coeficiente de variación). Los análisis en este contexto son análisis independientes de muestras que se han llevado a cabo mediante el procedimiento analítico completo, desde la preparación de las muestras hasta el resultado final de las pruebas.²³

Los documentos de ICH recomiendan que se evalúe la repetibilidad utilizando un mínimo de nueve determinaciones que cubran el intervalo especificado para el procedimiento (es decir, tres concentraciones y tres determinaciones repetidas de cada concentración) o usando un mínimo de seis determinaciones al 100% de la concentración de prueba.²³

4.2.2.3.4 Tipos de precisión¹



a) **Repetibilidad:** Estudia la variabilidad del método efectuando más serie de análisis sobre la misma muestra en las mismas condiciones operativas (por un mismo analista, con los mismos aparatos y reactivos, etc.), en un mismo laboratorio y en un periodo de tiempo corto.

- **Repetibilidad instrumental:** Este parámetro estudia la variabilidad debida únicamente al instrumento, y se determina analizando repetidamente una misma muestra de forma consecutiva de 6 a 10 veces. En el caso que se desee analizar el principio activo de una materia prima o de una especialidad farmacéutica se prepara la muestra a la concentración nominal, y en el caso de analizar impurezas a la concentración del límite especificado.
- **Repetibilidad del método:** El ensayo de repetibilidad del método se efectúa sobre una serie de alícuotas de una muestra homogénea que se analiza

independientemente desde el principio (preparación de muestra) hasta el final (lectura de resultados) por el mismo instrumento y el mismo analista.

- b) Precisión intermedia:** estudia la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra, pero en condiciones operativas diferentes (diferentes analistas, aparatos, días, etc.) y en un mismo laboratorio. Se debe de considerar las circunstancias en la que se pretende desarrollar el método de ensayo.
- c) Reproducibilidad:** estudia la variabilidad del método bajo condiciones operativas diferentes y en distintos laboratorios.

La precisión de un método analítico se expresa generalmente como el coeficiente de variación (CV) de una serie de medidas y se calcula matemáticamente de la siguiente manera:

$$CV(\%) = \frac{s}{\bar{X}} * 100$$

Donde:

s = desviación estándar

\bar{x} = media aritmética de los resultados

4.2.2.4 Exactitud

4.2.2.4.1 Definición

La exactitud de un método es la cercanía del valor obtenido al valor verdadero de la muestra. Tal vez este sea el parámetro más difícil de evaluar. Se debe de considerar el muestreo y el tratamiento de la muestra, además la exactitud del método de medición.⁵

Exactitud de un procedimiento analítico expresa la proximidad entre el valor que es aceptado convencionalmente como valor verdadero o un valor de referencia y el valor experimental encontrado.¹

La exactitud de un procedimiento analítico es la proximidad entre los resultados de la prueba obtenidos mediante ese procedimiento y el valor verdadero. La exactitud de un procedimiento analítico debe establecerse en todo su intervalo.²³

Para el Vocabulario Internacional de Metrología (VIM) y en los documentos de la Organización Internacional de Normalización (ISO), "exactitud" tiene un significado distinto. Para ISO, exactitud combina los conceptos de insesgadez (nombrada mediante el término "veracidad") y precisión.²³

4.2.2.4.2 Determinación

En la valoración de un fármaco la exactitud puede determinarse mediante la aplicación del procedimiento analítico con respecto a un analito de pureza conocida (p.ej., un Estándar de Referencia), o comparando los resultados del procedimiento con los de un segundo procedimiento bien caracterizado, cuya exactitud se haya comprobado o definido.²³

En la valoración de un fármaco en un producto formulado, la exactitud puede determinarse mediante la aplicación del procedimiento analítico a mezclas sintéticas de los componentes del producto farmacéutico al que se hayan añadido cantidades conocidas de analito dentro del intervalo del procedimiento. Si no resulta posible obtener muestras de todos los componentes del producto farmacéutico, se puede aceptar tanto el agregado de cantidades conocidas del analito al producto farmacéutico, como la comparación de los resultados con los de un segundo procedimiento bien caracterizado, cuya exactitud haya sido comprobada o definida.²³

En el análisis cuantitativo de impurezas, la exactitud debe evaluarse en muestras (del fármaco o del producto farmacéutico) a las que se hayan agregado cantidades conocidas de impurezas.

Cuando no sea posible obtener muestras de algunas impurezas o productos de degradación, los resultados deben compararse con los obtenidos mediante un procedimiento independiente. En ausencia de otra información puede resultar necesario calcular la cantidad

de una impureza basándose en la comparación de su respuesta con la del fármaco, pero el cociente entre las respuestas de cantidades iguales de la impureza y del fármaco (factor de respuesta relativa) debe ser utilizado siempre que se lo conozca.²³

La exactitud se calcula como el porcentaje de recuperación de la cantidad valorada con respecto a la cantidad conocida de analito añadida a la muestra, o como la diferencia entre la media de la valoración y el valor verdadero aceptado, considerando los intervalos de confianza.²³

Los documentos de ICH, recomiendan que se evalúe la exactitud utilizando un mínimo de nueve determinaciones sobre un mínimo de tres niveles de concentración cubriendo el intervalo especificado (es decir, tres concentraciones y tres determinaciones repetidas de cada concentración). La evaluación de la exactitud puede efectuarse de varias maneras, incluyendo la evaluación de la recuperación del analito (porcentaje de recuperación) en todo el intervalo de la valoración, o evaluando la linealidad de la relación entre las concentraciones estimadas y las reales. El criterio estadístico de preferencia es que el intervalo de confianza para la pendiente esté comprendido dentro de un intervalo alrededor de 1,0; o alternativamente, que el valor de la pendiente sea cercano a 1,0. En ambos casos, el intervalo o la definición de cercanía deberían especificarse en el protocolo de validación. El criterio de aceptación dependerá de la valoración, de su variabilidad, y del producto.²³

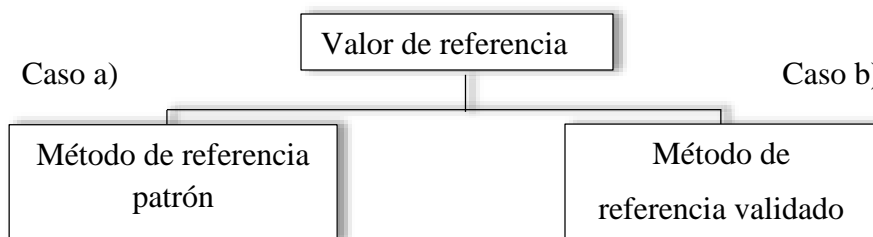
La exactitud de los métodos de propiedades físicas se puede evaluar a través del análisis de materiales de referencia estándar o, alternativamente, se puede considerar la aptitud de las metodologías mencionadas anteriormente para cada caso en particular.²³

No deben confundirse exactitud y precisión. La precisión está relacionada con la dispersión de una serie de mediciones. pero no da ninguna indicación de lo cerca que está del valor verdadero. Se puede tener mediciones muy precisas, pero poco exactas; sin embargo, para que un método sea exacto se requiere un cierto grado de precisión.¹

La exactitud y la precisión determinan el error total del análisis. La exactitud se determina teóricamente utilizando material de referencia certificado (MRC) si es posible, métodos de referencia, estudios de colaboración.¹³

También se acepta la comparación de los resultados con un método de referencia validado del que, ya se ha demostrado su exactitud, entonces el valor verdadero es el que se obtiene con dicho método de referencia y se compara con el valor hallado con el método nuevo que se requiere validar.¹

De la definición de exactitud surge el principal problema: ¿cuál es el valor verdadero del analito en la muestra. Por desgracia el valor verdadero en muchos casos se desconoce, No obstante, cuando se dispone de patrones de referencia certificados, el valor de dicho patrón es el que se acepta como valor verdadero y la exactitud puede evaluarse aplicando el método sobre dicho patrón (caso a.1.) o bien analizando muestras de placebo o de problema a las que se ha añadido una cantidad conocida de dicho patrón (caso a.2. y a.3.). También se acepta la comparación de los resultados con un método de referencia validado del que ya se ha demostrado su exactitud; entonces el valor verdadero es el que se obtiene con dicho método de referencia y se compara con el valor hallado con el método nuevo que se quiere validar.¹



- 1) Principio activo (analito puro).
- 2) Placebo cargado con el analito.
- 3) Muestra problema cargada con el analito.

Lo normal es estimar la exactitud analizando muestras añadidas con tres concentraciones distintas (baja, media y alta) que abarquen la totalidad del rango de trabajo. La concentración de estas adiciones estándar debe ser distinta de la utilizada para preparar las curvas de calibración y debe prepararse con una solución estándar de trabajo distinta. Los criterios de aceptación de la exactitud deben ser similares a los utilizados para medir la precisión.¹³

4.2.2.4.3 Ámbito de aplicación

Según la guía (ICH, Q-A) debe ensayarse la exactitud en métodos de análisis para la valoración en materia prima y en producto acabado y en métodos de análisis de cuantificación de impurezas.¹

4.2.2.4.4 Procedimientos de determinación de la exactitud

La exactitud debe demostrarse en todo el rango especificado para el método analítico. Se recomiendan un mínimo de 9 determinaciones sobre 3 niveles de concentración del analito que cubran el rango especificado, por ejemplo 3 determinaciones por 3 niveles de concentración, que podrían ser la concentración central y las concentraciones en los extremos del rango. En función del tipo de método a validar y de cada caso concreto se deberá tener en cuenta el rango de concentraciones de trabajo: ¹

- a) Riqueza de un principio activo en materia prima o en producto acabado: 80-120%.
- b) Impurezas: desde el 50% del nivel de especificación hasta el 120% de dicho nivel.
- c) Ensayo de disolución: si se trata de un producto de liberación inmediata sería de Q-20% a Q+20%; si se trata de un producto de liberación controlada, sobre cada límite de disolución en cada periodo de tiempo se aplicaría ($\pm 20\%$).

La exactitud se expresará como porcentaje de recuperación en la valoración de una cantidad conocida de analito añadida sobre la muestra o como la diferencia entre la media obtenida y el valor aceptado como verdadero junto a los intervalos de confianza. ¹

$$\text{Porcentaje de recuperación (R)} = \frac{x_m}{\mu} * 100$$

$$\text{Diferencia} = x_m - \mu$$

Donde:

x_m = valor medio hallado

μ = valor aceptado como verdadero

No siempre se obtienen valores de recuperación cercanos al 100 por ciento, ya que esta depende de la matriz de la muestra, de la efectividad del método de preparación y extracción y de la concentración del analito.¹

4.2.2.4.4.1 Riqueza de un principio activo

a) Aplicación del método analítico a una muestra de riqueza conocida

Para evaluar la riqueza de un principio activo o de una materia prima es habitual la utilización de un método absoluto, por ejemplo, una valoración ácido-base. En este caso para demostrar la exactitud del método puede valorarse un patrón de referencia de concentración conocida y se compara el valor hallado con el valor verdadero conocido. Cuando se trata de un principio activo nuevo desarrollado por primera vez, sería posible separar un patrón de referencia y valorar su riqueza mediante una combinación de métodos.¹

b) Comparación con un método de referencia validado

Se comparan los resultados obtenidos con el método analítico que se quiere validar con los obtenidos con un método de referencia. cuya exactitud este bien determinada o definida. Ambos métodos deben ser independientes. Comparación de 2 métodos analíticos a una concentración única de analito. Se realizan 6 determinaciones por método. Un método es el que se quiere evaluar y el otro sería un método oficial o de Farmacopea.

Tratamiento estadístico de comparación de dos medias de series no apareadas (test de F y test de t con la variancia conjunta).¹

4.2.2.4.4.2 Determinación cuantitativa de un analito en un producto acabado

El enfoque es similar al que se plantea para evaluar la exactitud de un método para la riqueza de un principio activo, pero en este caso se trabaja sobre el producto acabado.¹

a) Aplicación del método analítico a una muestra de concentración conocida

La muestra de concentración conocida se prepara a partir de un placebo cargado con cantidades conocidas de analito, o bien, cuando es difícil o imposible obtener un placebo que no contenga el analito en cuestión, se puede usar el método de adición de patrón sobre el problema.¹

a.1 Método del placebo cargado: Se prepara un placebo del problema que contiene todos los ingredientes excepto el analito a determinar. Sobre dicho placebo se añaden cantidades conocidas de un analito patrón a tres niveles de concentración dentro del rango a estudiar. El ensayo de recuperación se realiza como mínimo con 3 replicados para cada nivel. El analito se determina en cada muestra utilizando el mismo método analítico a evaluar y se calcula la recuperación.¹

El problema del método del placebo cargado está en cómo se introduce el analito sobre el placebo. El proceso de adición, por mucho que simule lo más exactamente posible la preparación del producto acabado, sólo se trata de una aproximación ya que en el producto acabado real el analito o principio activo está íntimamente mezclado con los otros ingredientes. Por lo tanto, la eficacia de la recuperación obtenida con el método del placebo cargado puede llegar a ser más elevada de lo que en realidad es. Aun teniendo en cuenta este inconveniente, el método del placebo cargado es una técnica común y aceptada para la determinación de la recuperación y la exactitud de un método.¹

a.2 Método de adición de patrón: Se utiliza esta aproximación cuando no es posible preparar un placebo de la matriz de la muestra que no contenga el analito. Este podría ser el caso de las muestras liofilizadas en los que la presencia o ausencia del analito es significativamente distinta. Se añaden sobre una o varias muestras cantidades conocidas de un analito patrón a tres niveles de concentración dentro del rango a estudiar. Se realizan como mínimo 3 replicados para cada nivel y se analizan las muestras adicionadas y no adicionadas según el método analítico calculando finalmente la recuperación. Este método tiene la ventaja de utilizar muestras reales y no requiere la preparación especial de un placebo cargado. No obstante, también debe hacerse la misma reflexión que para el método del placebo cargado, ya que la adición de un patrón sobre una muestra no es exactamente lo mismo que el producto acabado real.¹

a.3 Comparación con un método de referencia validado: Se comparan los resultados obtenidos con el método analítico que se quiere validar con los obtenidos con un método de referencia, cuya exactitud está bien determinada o definida. Ambos métodos deben ser independientes.¹

4.2.2.4.4.3 Determinación cuantitativa de impurezas

Se aplican los mismos métodos que para principio activo o producto acabado, pero se utilizan muestras (principio activo/ producto) cargada con cantidades conocidas de impurezas. En la determinación de impurezas suele ser más habitual utilizar el método de adición de patrón de la impureza patrón sobre la muestra de principio activo o producto acabado.¹

En los casos en que es imposible obtener muestras con cantidades conocidas de impurezas o productos de degradación, por ejemplo, cuando no se puede obtener la impureza aislada, se considera aceptable comparar los resultados obtenidos con un segundo método independiente.¹

4.3 Fundamentos generales del análisis volumétrico

4.3.1 Definición

Se define como valoración, al procedimiento operativo consistente en hacer reaccionar dos disoluciones: una en la cual se encuentra la sustancia que se desea cuantificar, convenientemente disuelta en un disolvente adecuado y otra de la cual se conoce su concentración exacta. A esta última disolución se le denomina “Disolución patrón valorante” o “disolución valorante” y a la concentración desconocida “Disolución a valorar” o “Disolución valorada”.¹¹

En el análisis volumétrico se denomina valoración a la agregación de una solución de un reactivo de concentración exactamente conocida (El valorante o solución estándar), se añade a un segundo reactivo, la solución de la muestra cuya cantidad o concentración se va a determinar. Se añade el valorante a la muestra hasta que se haya completado exactamente la reacción, es decir, llegando a ser equivalente químicamente a la cantidad de la muestra. Este estado se conoce como punto de equivalencia de la valoración y su estimación experimental, como punto final de la valoración. A partir de la cantidad de valorante empleado para alcanzar el punto final, de su concentración y del conocimiento de estequiometría de la reacción de la valoración, se puede calcular la cantidad de sustancia de la muestra.¹⁰

4.3.2 Requisitos fundamentales

Para que un proceso sea susceptible de ser aplicado en un método volumétrico debe cumplir con un cierto número de exigencias:⁶

- La reacción entre el constituyente buscado y el reactivo debe ser sencilla; la reacción sirve de base a los cálculos.
- La reacción debe ser estequiométrica; los cálculos a efectuar con los datos exigen una reacción definida.

- La reacción debe ser rápida, con objeto de que la valoración pueda realizarse en poco tiempo.
- La reacción debe ser completa en el momento que sea añadido cantidad equivalente (estequiométrica) de las sustancias reaccionantes, lo cual permite que puedan realizarse cálculos.
- Debe disponerse de una disolución patrón como reactivo valorante.
- Debe existir un indicador que señale el punto final de la valoración.
- Deben utilizarse aparatos de medidas exactos (bureta, pipetas, balanzas, etc.)

4.3.3 Clasificación de los métodos volumétricos de análisis

Los métodos de análisis volumétrico se pueden clasificar, según la forma en que se realice la valoración y atendiendo al tipo de reacción química que tiene lugar entre el patrón valorante y la sustancia presente en la disolución a valorar y la que se basa en:¹⁰

a) Según la forma en que se realiza la valoración en:¹¹

a.1 Método de valoración directo

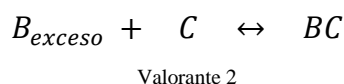
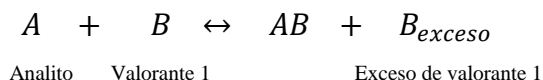
Una valoración directa es aquella en la cual la sustancia que se desea cuantificar reacciona directamente con el patrón valorante. El método de valoración directo se emplea siempre que la reacción entre la sustancia a valorar y el valorante cumpla satisfactoriamente con los requisitos necesarios para que una reacción pueda ser empleada en análisis volumétrico.

a.2 Método de valoración indirecto

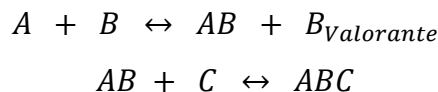
Las valoraciones indirectas encuentran su mayor aplicación en el análisis volumétrico cuando no se dispone de un agente valorante que reacciona directamente con la sustancia que se desea valorar, o cuando la reacción entre estos no cumple los requisitos necesarios para su aplicación volumétrica.

Entonces una valoración indirecta es aquella en la que la sustancia que se valora no reacciona directamente con el patrón valorante. Los métodos de valoración indirectos son:

- **Método de valoración por retroceso:** también conocido como residual o retorno consiste en añadir a la disolución que se valora, un volumen exacto de una disolución patrón, calculado de manera que sea añadido en exceso para que, una vez completada su reacción con el analito, permanezca cierta masa del mismo sin reaccionar. Posteriormente se valora la masa sobrante con una segunda disolución patrón.



- **Método de valoración por sustitución:** este método consiste en añadir un reactivo en exceso (sólido o en disolución) que, al reaccionar cuantitativamente con toda la masa de analito presente en la disolución, da lugar a la formación de un producto que si pueda ser valorado directamente con algún agente valorante. Entonces, a diferencia del método por retroceso, la masa añadida del reactivo o la concentración de su disolución, no tienen que ser exactamente conocidas, pues no van a ser utilizadas en los cálculos.



- **Método de valoración por desplazamiento:** Es un método de valoración indirecto, particularmente empleado en complejometría. Se utiliza cuando no se dispone del indicador adecuado para el ion metálico que interesa valorar, o cuando el metal precipita al pH al que ha de mantenerse la valoración.

En este método indirecto la muestra se trata primero con un exceso aproximado de una disolución del complejo Mg-EDTA o (Zn-EDTA). Si el catión que se analiza (M^{2+}) forma un complejo con el EDTA más estable que el formado por este último con los iones Mg^{2+} o Zn^{2+} , tiene lugar el desplazamiento de los iones Mg^{2+} del complejo por los iones M^{2+} presentes en la disolución según la siguiente reacción:



Entonces se valora el Mg^{2+} liberado con una disolución patrón de EDTA. La cantidad de sustancia de Mg^{2+} libre en la disolución que se valora será igual a la cantidad de sustancia del ion M^{2+} presentes, inicialmente en la misma.¹¹

b) Según su reacción química se clasifican en cuatro grupos

b.1 Valoraciones ácido-base

Es la valoración en la que la reacción entre el analito y el agente valorante es una reacción ácido base. En una valoración ácido-base, el volumen de agente valorante necesario para alcanzar el punto de equivalencia es proporcional a la cantidad absoluta de analito existente en la disolución analítica. Sin embargo, el cambio del pH en el punto de equivalencia y, por tanto, la utilidad de una valoración ácido-base, dependen de la concentración del analito en la disolución que se valora.¹⁰

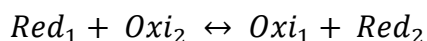
Una curva de calibración ácido base es una representación gráfica del pH en función del volumen de valorante añadido durante una valoración. Estas curvas se pueden calcular y determinar experimentalmente. En los cálculos de las curvas de valoración se utilizan las ecuaciones y métodos ya descritos; ya que en cualquier punto de una valoración es posible describir la muestra como una solución de un ácido, una base, o una mezcla de los dos.¹⁰

b.2 Valoraciones REDOX (Oxido-Reducción)

La volumetría oxidación reducción, también conocida como volumetría redox, se basa en reacciones que llevan implícita una transferencia de electrones entre dos sustancias, una de las cuales se reduce (acepta electrones), mientras que la otra simultáneamente, se oxida (cede electrones). La sustancia que se reduce o acepta electrones se denomina agente oxidante, y la que se oxida o cede electrones, agente reductor.¹²

Los métodos volumétricos basados en procesos de oxidación-reducción son más numerosos y diversos que los basados en cualquier otro tipo de reacción.¹²

En su forma más sencilla, una reacción de oxidación-reducción, se puede escribir:¹²



En la cual las especies que reaccionan están identificadas como 1 y 2, y las abreviaturas Red y Oxi, representan las formas reductoras y oxidantes de tales especies, respectivamente.¹²

El equilibrio de una reacción de oxidación-reducción, está determinado por la facultad que tienen los reaccionantes de donar o de aceptar electrones. Si se considera la mezcla de un oxidante fuerte (Oxi_2) con alta capacidad de aceptar electrones con un reductor fuerte, (Red_1), con alta disposición para cederlos, al alcanzarse finalmente el equilibrio, la formación de los productos de reacción ($Oxi_1 Red_2$) estará ampliamente favorecida. Por supuesto, una reacción menos completa ocurrirá cuando esta capacidad de las sustancias reaccionantes para aceptar o ceder electrones sea menor o no se encuentre tan favorecida.¹²

b.3 Valoraciones de Precipitación

Una de las condiciones indispensables para el análisis volumétrico es que la reacción ocurra de manera cuantitativa, es decir, esencialmente se ha de desarrollar por completo para que se formen los productos de la reacción. Un tipo de reacción que se ajusta a este requerimiento es la combinación de dos especies iónicas para formar una sal muy

insoluble. Entonces, la precipitación de este producto lleva la reacción a su plenitud. Las valoraciones basadas en este tipo de reacción se denominan valoraciones de precipitación. La aproximación teórica a las valoraciones de precipitación se realiza fácilmente considerando la solubilidad del producto de la reacción, para lo cual se ha de tener en cuenta que la reacción de valoración, es, sencillamente el proceso inverso a la disolución de la sal. Estas consideraciones son también aplicables al análisis gravimétrico clásico.¹⁷

b.4 Valoraciones de Formación de Complejos

Uno de los tipos de reacciones químicas que pueden servir como base de una determinación volumétrica es aquella que implica la formación de un complejo o ion complejo soluble pero ligeramente disociado.

Los complejos se forman por medio de la reacción de un ion metálico, catión, con un anión o una molécula neutra. Al ion metálico de complejo se le denomina como central y al grupo unido al átomo central se le denomina ligando. El número de enlaces que puede formar el átomo metálico central es el número de coordinación del metal. La reacción por medio de la cual se forma un complejo se puede considerar como una reacción ácido-base de Lewis en la que el ligando actúa como base donadora de un par de electrones al catión que es el ácido.¹⁶

Este tipo de valoración se explica con mayor detalle en el apartado 4.4 de este documento.

4.3.4 Método de estandarización de soluciones¹¹

- **Método de alícuota**

Conocido como el método de pipeteo, como este método de estandarización consiste en tomar alícuotas iguales (al menos tres) medida exactamente de una disolución patrón valorante preparada preferiblemente a partir de un patrón primario cada una de esas alícuotas se colocan en un erlenmeyer diferente y se procede a realizar las valoraciones.

- **Método de las pesadas individuales**

Este método consiste en valorar disoluciones que se preparan a partir de masas exactas de un reactivo estándar, las porciones pesadas deben de ser similares entre sí pero necesariamente iguales. Estas se trasvasan cuantitativamente y se disuelven en volumen suficiente de disolvente para proceder a efectuar las respectivas valoraciones, una vez colocada en la bureta la disolución problema.

4.3.5 Disolución patrón⁶

Cualquier disolución cuya concentración sea exactamente conocida. Puede prepararse por dos métodos distintos:

- **Método directo**

Se disuelve una cantidad exactamente pesada de soluto de composición definida y conocida, y se lleva a disolución a un volumen conocido a un matraz volumétrico, la concentración se calcula a partir del peso y volumen conocido.

- **Método indirecto**

Gran parte de los compuestos que se utilizan como reactivos valorantes no pueden considerarse como patrones primarios, por lo que sus disoluciones no se preparan por método directos. Las disoluciones se preparan con medidas aproximadas del peso y del volumen y después se normaliza determinando el volumen exacto de disolución necesaria para valorar una cantidad exactamente pesada de un patrón primario.

4.3.6 Ensayo del blanco en un análisis volumétrico

El ensayo en blanco es una determinación paralela, llevada a cabo exactamente en las mismas condiciones, pero sin que se haya incorporado la muestra.

El resultado del ensayo en blanco deberá incluirse en los cálculos correspondiente a la determinación analítica, pero, la forma de hacerlo, dependerá de la forma o método de

valoración que se haya empleado. Así, cuando se emplea el método de valoración directo y hay alguna sustancia interferente en disolución que se valora, la cantidad de sustancia de equivalente (moles de equivalentes) del agente valorante total añadida será igual a la suma de la cantidad de sustancia de equivalentes de analito y de la interferencia presente en la disolución del ensayo.¹¹

Con los resultados de la determinación de ensayo en blanco se puede realizar la corrección oportuna del resultado del análisis de la muestra.¹¹

4.3.7 Titre

El titre es conocido como título, constituye un recurso muy útil, en el análisis volumétrico, para calcular fácilmente la concentración de un analito en una muestra. El titre representa la masa del analito (expresada en miligramos o gramos) capaz de reaccionar con 1 mL de un patrón valorante dado, a una determinada concentración.¹¹

El título se calcula para una disolución patrón que se utiliza en el análisis de rutina de un analito, en un amplio número de muestra. El valor calculado se coloca en la etiqueta del frasco que contiene la disolución patrón de manera que, su valor pueda ser utilizado siempre que se requiera. El titre se da como dato en todas las técnicas volumétricas descritas por la Farmacopea para el control de la calidad de las materias primas y productos farmacéuticos. En tales descripciones se especifican que masa del fármaco (o cualquiera otra sustancia de uso farmacéutico) pueden ser valoradas con un mL de un valorante dado a una concentración dada.¹¹

Es necesario conocer:

- Cómo se calcula.
- Cómo se utiliza.
- Cómo debe procederse cuando la disolución patrón preparada no tiene exactamente la concentración para la cual se da el dato o sea calculado el titre.

4.3.8 Punto de equivalencia y punto final

Es común agregar indicadores a la disolución del analito para producir un cambio físico observable (punto final) en el punto de equivalencia o curva de él. Los cambios de gran magnitud en la concentración relativa del analito o del valorante ocurren en la región del punto de equivalencia. Estos cambios de concentración hacen que se modifique el aspecto del indicador. Entre los cambios típicos de indicadores se incluye la aparición o desaparición de un color, cambio de color o turbidez.²³

El punto de equivalencia de la valoración es un concepto teórico; en la práctica solo se puede apreciar una aproximación de este punto a la que se le denomina punto final de la valoración. La detección del punto final de la valoración se realiza con ayuda de los indicadores, los cuales son aquellas sustancias que provocan un cambio físico visible (variación de color, precipitado u otras señales visibles al ojo humano). Este cambio físico apreciable es el que indica que debe de tenerse la adición de la disolución patrón valorante, es decir, que debe darse por concluida la valoración.¹¹

Se debe hacer todo lo posible para asegurar la diferencia de volumen o masa entre el punto de equivalencia y el punto final. Tales diferencias existen como consecuencias de las limitaciones en los cambios físicos y en nuestra capacidad para observarlas.²³

La diferencia entre el punto final y el punto de equivalencia es el error de valoración, que prácticamente es inevitable. Escogiendo una propiedad física cuyo cambio sea fácilmente observable (como el cambio de color del indicador o el pH), Es posible conseguir que el punto final este muy próximo al punto de equivalencia. Normalmente es posible estimar el error de la valoración con una valoración de blanco, que consiste en realizar el mismo procedimiento, pero sin el analito.⁸

El error de valoración tiene 3 causas fundamentales:

- Error químico: debido a la diferencia entre punto final y punto de equivalencia.

- Error visual: es una medida de la dispersión causada por la limitada capacidad del ojo para recordar o comparar colores.
- El error del indicador: debido al consumo de valorante por el propio indicador.

La causa del error químico es la que mayor incidencia tiene en el error de valoración. Muchas veces es posible calcular teóricamente el error de valoración o, en su defecto evaluarlo experimentalmente. El cambio físico producido por los indicadores debe tener lugar en la cercanía del punto de equivalencia para afectar al mínimo la exactitud y precisión del análisis.¹¹

Se debe tener en cuenta que en algunas valoraciones no es posible emplear indicadores para la determinación del punto final, aun cuando teóricamente se conozca que el cambio físico ocurre muy cerca del punto de equivalencia. Tal es la situación que se presenta con las valoraciones de disoluciones intensamente coloreadas o turbias, en las que la observación del cambio de color se hace difícil de apreciar. En tales casos se debe recurrir a métodos instrumentales de detección del punto final.¹¹

Los principales requisitos de una reacción para que sirva de base a una valoración, son que tenga una constante de equilibrio grande y que transcurran rápidamente. Cada nuevo incremento de valorante debe consumirse completamente y de manera rápida por el analito hasta su total agotamiento.⁷

4.4 Valoraciones complejométricas

4.4.1 Fundamentos generales

La volumetría de formación de complejos también conocida como complejométrica se basa en la formación de un complejo soluble mediante la reacción de la especie que se valora (generalmente un ion metálico) con un agente complejante. Así, la aplicación fundamental

de este tipo de volumetría está dirigida al análisis cuantitativo de iones metálicos presentes en diferentes tipos de muestras.¹¹

La mayoría de los iones metálicos reaccionan con donadores de pares de electrones formando complejos o compuestos de coordinación. La especie donadora, llamada ligando, debe tener disponible al menos un par de electrones no compartidos para formar el enlace. El agua, el amoníaco y los iones de halogenuros son los ligandos inorgánicos más comunes. Un ligando es un ion o una molécula que forma un enlace covalente con un catión o un átomo metálico neutro al ceder y compartir con ellos un par de electrones. El número de coordinación del catión es el número de enlaces covalentes que tiende a formar con los donadores de electrones.²²

Todos estos complejos están constituidos por un catión central al que están enlazados una o más moléculas. (Se excluye el agua como una de estas moléculas, porque en solución acuosa probablemente cada ion metálico exista como “acuocomplejo”) la molécula que se enlaza con el ion central es el ligando, y el número máximo de estos grupos que pueden unirse al ion es su número de coordinación. Los ligandos que se unen a ion central por un solo punto se llaman monodentados (o unidentados).¹⁰

Muchas reacciones dan como producto, iones complejos o moléculas complejas; sin embargo, pocas pueden usarse en análisis volumétricos debido a la inestabilidad que presentan la mayoría de compuestos de coordinación que se forman en ellas, por tal motivo para que una reacción de formación de complejos pueda usarse en volumetría, a de satisfacer los siguientes requisitos:¹¹

- Debe de dar lugar a la formación de compuesto definido.
- Debe ser cuantitativa, es decir, no debe ocurrir reacciones secundarias.
- El complejo formado debe ser estable.
- Debe ocurrir de forma rápida.
- Debe ser posible la determinación del punto final de la valoración.

4.4.2 El Ácido Etilendiaminotetracético (EDTA)

Existen muchos ligandos que poseen más de un grupo capaz de unirse al ion metálico, tales ligandos son polidentados. Un complejo formado entre un ion metálico y dos o más grupos de un ligando polidentado es, evidentemente un compuesto en forma de anillo, a este tipo de complejo se le conoce a menudo como quelato. Los ligandos que forman quelatos son agentes quelantes o quelones. Los grupos más efectivos para formar complejos en un ligando son los grupos amino y carboxilato. De estos agentes que forman complejos el más utilizado es el EDTA.¹¹

El EDTA es un sólido blanco, poco soluble en agua y soluble en disoluciones básicas, de ahí que el ácido libre H_4Y sea raramente empleado para las valoraciones complejométricas. Su sal disódica (Na_2H_2Y) es realmente el agente complejante más utilizado para propósitos analíticos ya que además de ser soluble y no dar disoluciones fuertemente alcalinas, se puede obtener como un producto de alta pureza en su forma dihidratada.¹²

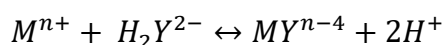
El EDTA posee seis grupos: dos aminos, y cuatro carboxilatos, capaces de formar complejos con los iones metálicos. Forma quelatos con casi todos los iones metálicos y esta reacción es la base de un método analítico general para estos iones por valoración con una solución estándar de EDTA. Tales valoraciones se conocen como valoraciones complejométrica, quelatométrica o quelométrica.¹⁰

El análisis de los complejos con EDTA ha demostrado que la razón metal-ligando es 1:1 y que la especie que actúa como ligando es el EDTA. La efectividad de este se debe a la formación de anillos de cinco miembros, cada uno de los cuales contiene el ion metálico central. El ácido etilendiaminotetracético es tetrabásico y se representa a menudo por el símbolo H_4Y .¹⁰

4.4.3 Factores que afectan la estabilidad de los complejos metal-EDTA¹¹

- **Concentración hidrogeniónica o pH del medio**

Al disolver la sal disódica del EDTA en agua la especie predominante del EDTA será H_2Y^{2-} el pH de la solución tendrá un valor de 5 aproximadamente. A ese valor de pH la formación de un complejo entre el H_2Y^{2-} y un ion metálico M^{n+} se puede representar de la manera siguiente

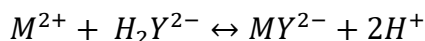


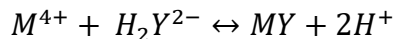
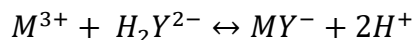
En la reacción se producen iones hidrógenos, como la misma es reversible el complejo se disocia en mayor grado a medida que aumenta la acidez del medio.

El protón H^+ compite con el ion metálico en la formación del complejo H_2Y^{2-} y, por esta razón, es necesario efectuar las valoraciones con el EDTA entre ciertos límites de pH dependiendo de la estabilidad del complejo. Valores de pH muy bajos solo podrán ser valorados iones metálicos que formen complejos muy estables, debido a que se favorece el desplazamiento del equilibrio hacia la disociación de estos. Por tanto, a mayor constante de estabilidad, los complejos podrán resistir valores de pH más ácidos. Es por esto que es necesario utilizar disoluciones reguladoras o buffers, de manera que el pH se atenga en el intervalo de valores que favorece la reacción de formación de complejos de interés.

- **Carga del Cation**

La carga del catión influye en la estabilidad del complejo formado puesto que, a mayor carga de catión, el complejo formado tendrá una menor carga neta y se hará más estable a un mayor rango de acidez.





Según estas reacciones existe una relación entre la carga del catión y el pH del medio.

Así puede plantearse que:

- Complejos de metales divalente con EDTA (MY^{2-}) son estables a pH ligeramente ácidos o básicos.
- Complejos de metales trivalentes con EDTA (MY^-) son estables a valores de pH superiores a 2.
- Complejos de metales tetravalente con EDTA MY son estables a valores de pH superiores a 1.

4.4.4 Métodos de valoración complejométrica con EDTA

Debido al amplio intervalo de estabilidad de los diversos complejos metal-indicador y metal-EDTA, a la influencia del pH sobre la ionización del EDTA y a la regulación de las concentraciones de los iones metálicos mediante distintos agentes enmascarante son posibles bastantes métodos:¹⁰

- **Valoración directa:** se añade un indicador del ion metálico a la disolución a valorar tamponada a un pH adecuado y se valora con EDTA hasta viraje.
- **Valoración por retroceso:** los metales que forman complejos EDTA con lentitud o precipitan al pH que exige la valoración o no reacciona con los indicadores se determina por adición de una cantidad medida en exceso de EDTA patrón, valorando luego por retroceso el exceso de EDTA con disolución patrón de Mg^{2+} o Zn^{+2} hasta la aparición del complejo coloreado metal-indicador.
- **Desplazamiento del ión metálico:** si una disolución de un ion metálico que forma con EDTA un complejo más estable que el de Mg^{2+} o Zn^{+2} se trata con una disolución

del último, tiene lugar una sustitución y los iones Mg^{2+} o Zn^{2+} pueden valorarse después con EDTA patrón.

- **Valoración de ión hidrógeno liberado:** la reacción del EDTA con dos iones metálicos libera dos iones hidrógenos por cada ion metálico reaccionante. El ion hidrógeno puede valorarse con hidróxido sódico, proporcionándonos de forma indirecta la cantidad de catión.
- **Determinación de aniones:** algunos aniones que forman sales insolubles o complejos estables con los cationes pueden determinarse por adición de una cantidad medida de disolución patrón del catión en exceso, valorando luego el catión sin reaccionar con EDTA.

4.4.5 Indicadores de metales

Como indicador en la complexometría se utilizan los llamados indicadores de metales que permiten determinar visualmente el punto final de la titulación. Estos indicadores son colorantes orgánicos, que forman con los iones de metal compuestos coloreados complejos, menos estables que el complejo metal con el complejo EDTA.⁶

Forman complejos con los iones metálicos y presentan distinto color las formas complejas y las no complejadas; tales compuestos se conocen como indicadores metalocrómicos, utilizados para señalar el punto final de una valoración con EDTA, basándose en la siguiente reacción:¹⁰



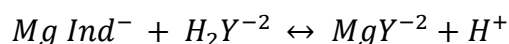
Donde I es la forma no complejada del indicador. La constante de estabilidad para el complejo metal-indicador ha de ser más pequeña que la del complejo Metal-EDTA, por otro lado, el complejo metal-indicador debe ser lo suficientemente estable para que no esté presente I antes del punto final. Durante la valoración EDTA Y reacciona con M para formar

el complejo MY. Cuando se alcanza el punto de equivalencia se ha consumido todo el M libre en la reacción con el Y, y la adición de más Y, desplaza a I de su complejo con M (MI). Puesto que I libre tiene distinto color del I en su forma compleja, cambia el color.¹⁰

Todos los indicadores metalocrómicos también son indicadores ácido-base. Por esta razón es importante controlar el pH en una valoración para que esté presente la especie protónica que se desea del indicador. Un indicador de amplio uso es el negro de eriocromo T.¹⁰

El eriocromo negro T se emplea bien como solución, bien (debido a la inestabilidad de la solución) en forma sólida.⁶

El negro de eriocromo T es un indicador típico. Contiene tres protones ionizables, de modo que se puede representar mediante H_3In . Este indicador puede utilizarse para la titulación de Mg^{+2} con EDTA. Se añade una cantidad pequeña de indicador a la solución de la muestra y se forma un complejo rojo con parte del Mg^{+2} , el color del indicador sin acomplejar es azul. Tan pronto como se ha titulado todo el Mg^{+2} libre, el EDTA desplaza al indicador del magnesio, y produce un cambio en el color de rojo a azul:⁵



Esto ocurrirá sobre un intervalo de Mg, y el cambio será más nítido si el indicador se mantiene tan diluido como sea posible con la condición de que siga dando un buen color. Por supuesto, el complejo metal-indicador debe ser menos estable que el complejo metal-EDTA, o de otra manera del EDTA no desplazará al indicador metal. Por otro lado, no debe ser demasiado débil o el EDTA comenzará reemplazando al indicador al principio de la titulación, dando por resultado un punto final difuso. En general, el complejo metal-indicador debe ser 10 a 100 veces menos estable que el complejo metal-titulante.⁵

En las valoraciones complejométricas se presenta ocasionalmente la dificultad experimental de que el agua destilada u otros reactivos contienen trazas de iones metálicos capaces de formar complejos con EDTA del metal traza, evidentemente la forma sin complejar del

indicador no puede generarse en el punto de equivalencia y, por tanto, no cambia el color. Este fenómeno se conoce como bloqueo del indicador. La presencia de cobre en el agua destilada es una fuente frecuente de interferencia, que se evita separando los cationes trazas por un método de cambio iónico.¹⁰

El método analítico más sencillo que emplea EDTA es la valoración directa de un ion metálico, mediante un indicador visual para señalar el punto final. Entre los cationes susceptibles de determinar por valoración directa con EDTA están: el aluminio (III), calcio, magnesio, cinc, cadmio, cobre (II), níquel, cobalto, plomo (II), bario, manganeso, mercurio y muchos otros.¹⁰

También puede determinarse el punto final de las valoraciones EDTA por valoración potenciométrica, utilizando un electrodo de mercurio-mercurio-EDTA o un electrodo inerte (platino) que indique la modificación del potencial redox, causada por la estabilización preferente con EDTA de uno de los estados de oxidación del metal; por la validación conductométrica, por la valoración amperométrica y por valoración cronopotenciométrica. La cantidad de ion metálico puede determinarse, además, por valoración del ion hidrogeno liberado con una base utilizando indicadores ácido-base ordinario. Los colores de muchos complejos metal-EDTA son más intensos que los colores de los correspondientes autocomplejos; en estos casos es posible la detección espectrofotométrica del punto final.⁷

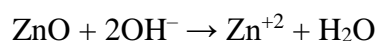
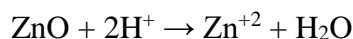
4.5 Dureza del agua

El termino dureza se refiere a la concentración total de iones alcalinotérreos que hay en el agua. Como la concentración de Ca^{+2} y Mg^{+2} , es mucho mayor que la de muchos iones alcalinotérreos, la dureza prácticamente es igual a la $[\text{Ca}^{+2}] + [\text{Mg}^{+2}]$. La dureza se expresa por lo general por el número equivalente de miligramos de CaCO_3 por litro. Así $[\text{Ca}^{+2}] + [\text{Mg}^{+2}] = 1 \text{ mM}$; diremos que la dureza es 100 mg de CaCO_3 por litro = 1 mM de CaCO_3 . Un agua de dureza inferior a 60 mg de CaCO_3 por litro se considera blanda. Si la dureza es superior a 270 mg/L el agua se considera dura.⁸

La valoración con EDTA en medio amoniacal tamponado da la concentración total de Ca^{+2} y Mg^{+2} . Puesto que tanto el calcio como el magnesio forman fuertes complejos con el EDTA, el resultado se expresa en forma de la suma de estos dos metales. La determinación se efectúa añadiendo un regulador amoniacal de pH 10 y unas gotas de NET a la muestra del agua por analizar, procediendo a titular con EDTA valorado hasta cambie de color de rojo a azul.⁵

4.6 Generalidades del Óxido de Zinc

El óxido de zinc es un sólido de color blanco sin aroma y de sabor amargo. El óxido de zinc tiene dos estructuras posibles: hexagonal y cúbico, pero los cristales hexagonales son los más comunes. El compuesto posee un peso molecular de 81,38 g/mol y una densidad de 5,606 g/ml. Su punto de fusión es de 1975 °C, donde comienza a descomponerse. Es un óxido anfótero que puede disolverse en ácidos o álcali a través de las reacciones:²⁴



El óxido de zinc es insoluble en agua (0,0004 g por cada 100 mL de agua a 17°C). La poca solubilidad que tiene produce soluciones acuosas que son neutras en pH. Reacciona violentamente con los polvos de aluminio y magnesio causando peligro de incendio y explosión.²⁴

4.6.1 Reactividad y peligros.

El óxido de zinc es un compuesto estable que no es inflamable y no muestra incompatibilidad con otros compuestos químicos, pero cuando se calienta, emite humos tóxicos. El compuesto no es tóxico ni peligroso al ingerir ni al contacto con la piel o con los ojos, sin embargo, el compuesto representa un peligro por inhalación.²⁴

Una concentración nociva de partículas en el aire se puede alcanzar rápidamente, especialmente para las partículas de óxido de zinc. La inhalación de humos puede causar fiebre de humo metálico con los siguientes síntomas: ²⁴

- dolor de garganta
- dolor de cabeza
- fiebre o temperatura corporal elevada
- náusea
- vómito
- debilidad
- resfriado
- dolor muscular.

La sustancia como humo es irritante para las vías respiratorias. Los efectos pueden retrasarse. Los síntomas de la fiebre del humo metálico no se manifiestan hasta pasadas unas horas. ²⁴

4.6.2 Usos

El óxido de zinc es un producto muy usado de manera tópica en dermatología para el cuidado de la piel. Es el principal componente de los protectores solares debido a sus propiedades reflectivas. El óxido de zinc es uno de los ingredientes más seguros para proteger la piel de los efectos nocivos de los rayos ultravioleta (UV). Los rayos UV penetran la piel y dañan el tejido, acelerando el proceso de envejecimiento y secando la piel. Estos rayos también aumentan el riesgo de cáncer de piel. Los protectores solares que contienen óxido de zinc filtran los rayos UV, evitando que penetren en la piel y causen daño celular. Se puede utilizar para curar heridas, reducir la sensibilidad asociada con quemaduras solares y suavizar la piel agrietada. ²⁴

Las personas que son deficientes de zinc suelen experimentar ciclos de cicatrización de heridas más lentos. Cuando el óxido de zinc se aplica al área de la herida, proporciona al cuerpo el zinc extra que necesita para reparar las células de la piel. El óxido de zinc ayuda a mantener el área de la herida húmeda y limpia. ²⁴

Las lociones y cremas que contienen óxido de zinc son astringentes eficaces de la piel. Se puede aplicar óxido de zinc para evitar que los excesos de aceite se formen en la superficie.²⁴ A veces se utiliza como un tratamiento para el acné se cree que reduce la aparición de manchas y reducir la irritación de la piel y la inflamación, reduciendo el número y la gravedad de los brotes de acné.²⁴

El ungüento de zinc puede funcionar mejor para esta condición común de la piel cuando se usa en combinación el antibiótico tópico eritromicina.²⁴

Por sus propiedades antibacterianas y desodorantes, los médicos suelen tratar el sarpullido del pañal con una pomada de óxido de zinc. Generalmente se aplica en cada cambio de pañal para una eficacia óptima.²⁴

4.7 Pastas¹⁵

Son preparaciones farmacéuticas y semisólidas de consistencia blanda y compuesta en gran porcentaje de polvos absorbentes, los cuales son dispersados en uno o varios componentes de naturaleza líquida o semisólida.

- **Pastas grasas:** Formada por una fase grasa generalmente compuesta por excipientes tipo vaselina, aceite, lanolina, etc., sobre la cual se dispersan polvos.
- **Pasta acuosa:** También se le conoce como lociones de agitación se trata de lociones acuosas que incorporan como excipientes habituales glicerina, sorbitol, polioles, polietilenglicoles, de bajo peso molecular y otras sustancias líquidas hidromisibles a las cuales se les incorpora un alto porcentajes de polvos inertes.
- **Pasta al agua:** Es una pasta acuosa, está basada en la suspensión de polvo de zinc, talco en glicerina y agua. Son las formas sólidas de las suspensiones debido a un alto porcentaje de polvo en su preparación. Cumple función secante, astringente no graso.

V. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1 Tipo de estudio

Nuestro estudio es Cuantitativo de tipo “Experimental” ya que realizamos procedimientos basados en la medición; bajo condiciones altamente controladas, medidas y observadas, obteniendo resultados representativos del estudio a través de cada una de las variables.

5.2 Tipo de validación

La validación realizada, es de tipo “Prospectiva”, debido a que los resultados de cada uno de los parámetros de la validación realizados de acuerdo a la Categoría I (Pruebas cuantitativas del contenido del principio activo constituyen procedimientos químicos o microbiológicos que miden los analitos presentes en una muestra determinadas.), a la cual pertenece nuestro método analítico según RTCA 13.03.39:06 fueron generados a través de análisis de datos experimentales.

5.3 Área de estudio

El presente estudio fue realizado en el área de volumetría del Laboratorio de Control de Calidad de Medicamentos (LCCM) de la facultad de Ciencia Químicas que se encuentra ubicado en el Complejo Docente de la Salud, Campus Médico de la UNAN-León.

5.4 Población y muestra de estudio

- Lote X del producto Pasta al Agua producidos por el laboratorio Mauricio Díaz Müller de la UNAN-León.
- Lote 001 y 002 de placebo de Pasta al Agua.

5.5 Alcance de la validación

Valoración (Cuantificación) de Óxido de Zinc en Pasta al Agua producida por el Laboratorio Mauricio Díaz Müller por volumetría directa de formación de complejos.

5.6 Variables

- Idoneidad.
- Robustez.
- Selectividad.
- Linealidad.
- Precisión.
- Exactitud

5.7 Tipos de variable

Las variables de nuestro estudio son variables cuantitativas continuas ya que pueden adquirir cualquier valor en un intervalo establecido.

5.8 Método de recolección de la información

Para la recolección de la información, tanto para conformar el marco teórico como el diseño metodológico, consultamos una serie de bibliografía que se mencionan con más detalle en la sección correspondiente y que nos proporcionaron la base necesaria para analizar cada una de las variables estudiadas. Los datos de cada una de las variables de estudio se obtuvieron por medio de los experimentos realizados.

5.9 Plan de análisis

La estrategia de análisis de los datos de cada una de las variables, se realizó mediante el análisis univariado (evaluando las características de cada variable de manera independiente), haciendo uso de datos estadísticos como: medida de tendencia central, dispersión, regresión lineal, test de Student. El procesamiento de los datos obtenidos en cada parámetro se realizó a través del programa Microsoft Excel 2016, en donde se crearon las tablas y gráficos necesarios para presentar los resultados y realizar el análisis de los mismos.

5.10 Procedimientos de calificación de áreas y de equipos

Antes y durante el proceso de validación del método analítico, se procedió a realizar la verificación de los equipos utilizados y verificación de las condiciones adecuadas de las áreas de trabajo en el Laboratorio de Control de Calidad de Medicamentos. A continuación, se detallan:

5.10.1 Verificación de la balanza

La verificación de la balanza se realizó periódicamente durante el estudio de validación, bajo un procedimiento establecido en el laboratorio de Control de Calidad de Medicamentos (LCCM. INT-26) en el cual se calcula el promedio y la desviación estándar de los resultados obtenidos y estos deben de estar dentro de las especificaciones establecidas. Los resultados se muestran en el Anexo 1.

Especificación:

Promedio: 49,9997 g - 50,0003 g

Desviación: 0,000 – 0,003

5.10.2 Comprobación del electrodo del pH-metro

La Comprobación del electrodo del pH-metro se realizó periódicamente siguiendo un procedimiento descrito en el Laboratorio de Control de Calidad de Medicamento (LCCM-RT-38).

5.10.3 Control de Humedad y Temperatura ambiental

Se llevó un registro diario tanto de la temperatura y humedad durante todo el periodo de validación. Los resultados se muestran en el Anexo 2.

Especificación:

Temperatura: 20°C- 30°C

Humedad relativa: < 80%

5.11 Reactivos utilizados

NOMBRE	GRADO	DESCRIPCIÓN	FÓRMULA QUÍMICA
Ácido Clorhídrico	Reactivo	Líquido fumante, límpido, incoloro. Miscible con agua. Concentración: 12,1 N. Densidad: 1,90 g/L Marca: Merck	HCl
Ácido Sulfúrico	Reactivo	Líquido higroscópico incoloro, aceitoso e inodoro. Solubilidad en agua: miscible. PM: 98,08 g/mol. Concentración: 12,1 N. Densidad 1,84 g/cm. Pureza: 96% Marca: Scharlau	H ₂ SO ₄
Agua	Destilada	Líquido límpido, incoloro y blanda.	H ₂ O
Anaranjado de Metilo	Indicador	Polvo sólido, de color naranja e inodoro. PM: 452 g/mol. Solubilidad: 5,2 g/l en agua (20 °C), 0,8 g/l en alcohol Marca: Merck	C ₁₄ H ₁₄ N ₃ NaO ₃ S
Azul de Hidroxinaftol	Indicador	Polvo azul-violeta PM: 620.463 g/mol Solubilidad en agua: 340 g/L (20°C) Marca: Merck	C ₂₀ H ₁₁ N ₂ Na ₃ O ₁₁ S ₃

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINC EN PASTA AL AGUA FABRICADA
 POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA
 DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

Biftalato de potasio	Reactivo	Cristales blancos e inodoros. pH: 4 (50 g/l). Solubilidad: 80 g/l en agua a 20°C. Marca: Merck	$C_8H_5KO_4$
Carbonato de Calcio	Patrón de referencia	Polvo color blanco PM: 100,09 g/mol. Pureza: 100% Marca: Merck	$CaCO_3$
Cloruro de amonio	Reactivo	Gránulos finos de color blanco. PM: 53,49 g/mol Marca: Merck	NH_4Cl
EDTA	Reactivo	Polvo cristalino, blanco. Solubilidad: Soluble en agua, prácticamente insoluble en etanol al 96%. PM: 372,24 g/mol. Marca: Merck	$C_{10}H_{14}N_2NA_2O_8 \cdot 2H_2O$
Fenolftaleína	Indicador	Polvo blanco. PM: 318,33g/mol. Solubilidad: insoluble en agua y soluble en alcohol. Marca: Merck	$C_{20}H_{14}O_4$
Hidróxido de amonio	Reactivo	Líquido límpido, incoloro muy caustico. Miscible con agua y con etanol al 96%. Pureza: 28,59%. Concentración: 14,8 N. Densidad: 0,9010 g/mol. PM: 17,85 g/mol. Marca: Fisher Scientific	NH_4OH

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINC EN PASTA AL AGUA FABRICADA
 POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA
 DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

Hidróxido de sodio	Reactivo	Perlas casi blancas cristalinas PM: 39,997 g/mol Solubilidad: 111 g/100 mL (Agua a 20 °C) / 13.89 g/100 mL (alcohol etílico a 20 °C) Marca: Merck	NaOH
Negro de eriocromo T	Indicador	Polvo de color oscuro/negro PM: 461,381g/mol. Marca: Fisher Scientific	C ₂₀ H ₁₂ N ₃ NaO ₇ S
Óxido de Zinc	Estándar	Polvo fino de color blanco e inodoro. PM: 81,38 g/mol Solubilidad (20°C): Soluble en ácidos, soluciones de amonio, carbonato de amonio y álcalis. Ligeramente soluble en alcohol y agua. Pureza determinada: 100,01%	ZnO

5.12 Materiales utilizados

NOMBRE	DESCRIPCIÓN
Agitador magnético	Marca: SYBRON Modelo: Thermolyne type 7200 stir-light. Serie N°: 275
Balanza analítica	Marca: A&D -- Modelo: GH-120 Serie N°: 13506973 Capacidad: Máxima: 120 g; Mínima: 0,0001g Desviación: 0,1mg Operación ambiental: T°: 5-40 °C HR%: < 85%

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA
 POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA
 DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

Balón	Balón Kimax. Clase A Capacidad: 1000 ± 0,30 mL.
Balón	Marca: Pyrex, Clase A Capacidad: 25 ± 0,03 mL, 100 ± 0,08mL
Beacker	Marca Kimax, Clase A Capacidad: 100 mL ± 5%, 250 mL ± 5% , 500 mL ± 5%.
Bureta	Bureta de 50 mL Marca Kimble TD. Clase A
Campana extractora de gases	Marca: Labconco
Cápsula de porcelana	Marca: COORS- USA Utilizada para pesar y secar la pasta.
Cocina	Marca: Fisher Scientific Modelo: Isotemp
Desecador	-
Destilador	Marca: Fiestreem Modelo: Bransleand
Erlenmeyer	Marca Pyrex Capacidad: 250 mL ± 5%
Espátula	Material: Acero Inoxidable Utilizada para pesar reactivos y patrones.
Horno	Marca: Fisher Scientific Modelo: Isotemp Oven
Magneto	Magneto Agitador
Masas	Utilizadas para verificación de balanzas Marca: Troemner Serie N°: 28643 Clase: WTNA

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

Mufla	Marca: BLUE Modelo: Eurotherem
Papel de aluminio	Marca link Para pesar reactivos
Pera de succión	Marca Fisherbrand
pH metro	Marca: METTLER TOLEDO Serie N°: 1229135195
Pipetas volumétricas	Pipeta de 5 mL, 10 mL. Marca: Kimax-51. Kimble USA. Clase: A
Pipetas serológicas	Pipetas de 2 mL Marca: Kimax Clase A
Probeta	Probeta de 25 mL, 50 mL y 100 mL Marca Pyrex USA.
Soporte	Marca: Fisher
Termómetro	Marca: Fisher
Termo hidrómetro	Marca: THOMAS SCIENTIFIC
Ultrasonic Clear	Marca: Bracsonic Modelo: B3-R

5.13. Muestras utilizadas

NOMBRE	DESCRIPCIÓN
Pasta al Agua	Semisólido, homogéneo, untuoso al tacto, sin partículas extrañas, de color blanco. Insoluble en agua y alcohol, soluble en soluciones diluidas de ácidos. Concentración determinada: 25,78 %
Placebo Lote 001	Semisólido, homogéneo, untuoso al tacto, sin partículas extrañas, casi blanco.

Placebo Lote 002	Semisólido, homogéneo, untuoso al tacto, sin partículas extrañas, casi blanco.
------------------	--

5.14 Preparación de reactivos

5.14.1 Ácido Clorhídrico 3 N

Diluir 24,8 mL de ácido clorhídrico concentrado en un balón aforado de 100 mL que contenga previamente 50 mL de agua destilada; aforar con el mismo solvente y agitar.

5.14.2 Ácido Sulfúrico 0,1 N

Agregar 500 mL de agua destilada en un balón de 1000 mL, adicionar lentamente 2,8 mL de ácido sulfúrico concentrado y aforar con agua destilada.

Normalizar la solución aplicando el siguiente procedimiento:

- Coloque en un erlenmeyer una alícuota de 10 mL de solución de ácido sulfúrico concentrado y agregar 40 mL agua destilada.
- Añada al erlenmeyer 2 gotas de fenolftaleína.
- Colocar en una bureta previamente curada NaOH 0,1 N y añadir con agitación constante la solución básica.
- En el momento del cambio de color suspender la adición de base y medir la cantidad de NaOH usada en la solución.
- Repetir 5 veces el procedimiento.
- Calcular la Normalidad del Ácido Sulfúrico 0,1 N.

$$Na = \frac{Vb * Nb}{Va}$$

Donde:

Na: Normalidad del Ácido (H₂SO₄).

Va: Volumen del Ácido (H₂SO₄).

Nb: Normalidad de la Base (NaOH 0,1 N)

Vb: Volumen de la Base (NaOH 0,1 N)

5.14.3 Ácido Sulfúrico 1,9 N

Agregar 50 mL de agua destilada a un balón de 100 mL, adicionar lentamente 5,2 mL de ácido sulfúrico concentrado y aforar con agua destilada.

5.14.4 Ácido Sulfúrico 2 N

Agregar 500 mL de agua destilada en un balón de 1000 mL, adicionar lentamente 55,72 mL de ácido sulfúrico concentrado y aforar con agua destilada.

5.14.5 Ácido Sulfúrico 2,1 N

Agregar 50 mL de agua destilada a un balón de 100 mL, adicionar lentamente 5,2 mL de ácido sulfúrico concentrado y aforar con agua destilada.

5.14.6 Anaranjado de Metilo

En un balón de 25 mL, disolver 25 mg de anaranjado con agua destilada hasta el aforo.

5.14.7 Buffer de Cloruro de Amonio-Amoniaco

- En un beaker de 500 mL, disolver 67,5 g de cloruro de amonio en 300 mL de agua destilada, transferir la solución a un balón de 1000 mL.
- Mezclar la solución con 570 mL de hidróxido de amonio y aforar con agua destilada.
- Verificar que el pH de la solución esté en $\text{pH } 10,0 \pm 0,2$

5.14.8 Fenolftaleína

En un balón de 25 mL, disolver 0,25 g de fenolftaleína con agua destilada hasta el aforo.

5.14.9 Hidróxido de Sodio 0,1 N

En un balón de 1000 mL, disolver 4 g de hidróxido de sodio con agua destilada y completar con el mismo solvente hasta volumen.

Normalizar la solución de hidróxido de sodio aplicando el siguiente procedimiento:

- Pesar con exactitud 200 mg de biftalato de potasio, previamente secado a 120° C durante 2 horas, y disolver en un Erlenmeyer con 75 mL de agua destilada.
- Agregar 3 gotas de fenolftaleína y valorar con la solución de hidróxido de sodio hasta obtener un color rosado permanente.
- Realizar el procedimiento 5 veces.
- Calcular la normalidad del Hidróxido de sodio con la siguiente fórmula:

$$N = \frac{g \text{ de biftalato de potasio}}{0,20422 \times \text{mL NaOH}}$$

Donde:

g de Biftalato de potasio: Cantidad pesada en gramos de Biftalato de potasio.

0,20422: Constante.

mL NaOH: mililitros consumidos de hidróxido de sodio en la valoración.

5.14.10 Hidróxido de Sodio 1 N

Pesar 4 g de NaOH transferir a un balón de 100 mL, disolver en 30 mL de agua y aforar a volumen. Agitar.

5.14.11 EDTA 0,04 M

- Pesar 29,76 g de EDTA y llevarlos a un balón de 2000 mL.
- Disolver poco a poco con agua destilada y aforar, agitando vigorosamente con ayuda de un agitador magnético.
- Estandarizar la solución de EDTA aplicando el procedimiento descrito en el apartado 5.14.12.1

5.14.12 EDTA 0,05 M

- Pesar 18,6 g de EDTA y llevarlos a un balón de 1000 mL.
- Disolver poco a poco con agua destilada y aforar, agitando vigorosamente con ayuda de un agitador magnético.

5.14.12.1 Estandarización de EDTA 0,05 M

- Pesar exactamente 0,2 g de carbonato de calcio y transferir a un Erlenmeyer de 250 mL, añadir 10 mL de agua y agitar, formándose una pasta color blanco.
- Cubrir el Erlenmeyer con papel aluminio y disolver la pasta con 2 mL de HCl 3 N.
- Añadir 90 mL de agua destilada lavando las paredes de recipiente, mezclar utilizando un agitador magnético.
- Añadir 30 mL de EDTA, adicionar 15 mL de NaOH 1 N y una pizca de azul de Hidroxinaftol.
- Continuar la titulación con EDTA hasta completo viraje de color rojo vino a azul.
- Realizar el procedimiento 5 veces.
- Calcular la molaridad obtenida con la siguiente fórmula:

$$M = \frac{(g \text{ CaCO}_3)(1000)}{(100,09 \times \text{mL EDTA})}$$

Donde:

g CaCO₃: Cantidad pesada en gramos de Carbonato de Calcio.

1000: Constante.

100, 09: Constante.

mL EDTA: mililitros consumido de EDTA.

5.14.13 EDTA 0,06 M

- Pesar 44,64 g de EDTA y llevarlos a un balón de 2000 mL.
- Disolver poco a poco con agua destilada y aforar, agitando vigorosamente con ayuda de un agitador magnético.

- Estandarizar la solución de EDTA aplicando el procedimiento descrito en el apartado 5.14.12.1

5.15 Determinación de la precisión (repetibilidad) de la estandarización del EDTA (0,05 M)

Preparar 3 niveles de concentración para la estandarización del EDTA: 80 %, 100 % y 120 % de la concentración nominal del patrón primario (0,2 g de Carbonato de Calcio).

Nivel 1 (80 %): Pesar 160 mg de CaCO_3 y continuar con el procedimiento de estandarización descrito en el apartado 5.14.12.1. Realizar por triplicado.

Nivel 2 (100 %): Proceder como se indica en el procedimiento de estandarización descrito en el apartado 5.14.12.1. Realizar por triplicado.

Nivel 3 (120 %): Pesar 240 mg de CaCO_3 y continuar con el procedimiento de estandarización descrito en el apartado 5.14.12.1. Realizar por triplicado.

Realizar el procesamiento estadístico de los resultados determinando:

- Coeficiente de variación global de las respuestas obtenidas.
- Intervalos de confianza individual de cada nivel de concentración.
- Intervalo de confianza de los valores promedios.

Criterios de aceptación

PARÁMETRO ESTADÍSTICO	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
Coeficiente de variación global	< 2,0 %
Intervalo de confianza resultados individuales	Los resultados individuales deben estar dentro del nivel de confianza calculado.
Intervalo de confianza resultados promedios	Los resultados promedios deben estar dentro del nivel de confianza calculado

Formulario:

- **Coefficiente de variación:**

$$CV = \frac{s}{\bar{X}} \times 100$$

Donde:

s: Desviación estándar

\bar{X} : Media

- **Intervalos de Confianza:**

Individuales: $\bar{X} \pm t * s$

Promedios: $\bar{X} \pm t * \frac{s}{\sqrt{n}}$

Donde:

\bar{X} : Media de una serie de resultados obtenidos un mismo nivel de concentración.

t: Valor de la t de Student de tablas para n-1 grados de libertad y $\alpha=0,05$

(t Student = 4, 303)

n: Número de datos

s: Desviación estándar

5.16 Estabilidad de la solución de EDTA (0,05M)

- Almacenar la solución de EDTA preparada a una temperatura de $25 \pm 5^\circ \text{C}$ (durante los días del estudio de validación).
- Realizar el procedimiento de estandarización como se indica en el apartado 5.14.12.1 día de por medio durante el estudio de validación.
- Calcular el % Recuperado tomando como referencia la molaridad obtenida en la estandarización en el primer día de la estandarización.

Criterio de aceptación

El EDTA es estable si durante el tiempo de estudio, bajo las condiciones adecuadas de almacenamiento, se obtiene un porcentaje de recobro entre 99,0 – 101,0 %:

PARÁMETRO ESTADÍSTICO	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
% Recuperado	99,0% - 101,0%.

% Recuperado

$$\% R = \frac{M \text{ encontrada de EDTA}}{M \text{ teórica de EDTA}} \times 100$$

5.17 Determinación de la dureza del agua destilada

- Tomar una muestra de agua destilada de 100 mL en un Erlenmeyer de 250 mL.
- Adicionar 5 mL de solución buffer Cloruro de Amonio-Amoniaco.
- Adicionar una pisco de indicador NET y agitar.
- Valorar con EDTA 0,05 M (previamente estandarizado) hasta viraje de color rojizo a azul.
- Realizar el procedimiento 5 veces.
- 1 mM de Ca^{+2} y Mg^{+2} equivale a 100 mg/L de Carbonato de Calcio = 1 mM de $CaCO_3$
- Calcular la dureza con las siguientes fórmulas:

$$mM \text{ } Ca^{+2} \text{ y } Mg^{+2} = \frac{V \times M \times 1000}{mL \text{ de muestra}}$$

$$mg \text{ } CaCO_3 = \frac{mM \text{ } Ca^{+2} \text{ y } Mg^{+2} \times 100 \text{ mg}}{1 \text{ mM } CaCO_3}$$

Donde:

V: mililitros consumido de EDTA en la valoración.

M: Molaridad del EDTA.

1000: Constante.

mL de muestra: mililitros de agua destilada sometida a análisis.

Criterio de aceptación

PARÁMETRO ESTADÍSTICO	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
mg/L CaCO ₃	< 60,0 mg/L

5.18 Procedimiento para la determinación de la pureza del estándar de Óxido de Cinc

- Pesar en una cápsula de porcelana 150 mg de estándar de óxido de cinc e incinerar a $600 \pm 20^\circ \text{C}$ por 1 hora. Se obtendrá un residuo de color amarillo. Enfriar.
- En un Erlenmeyer de 250 mL, disolver el estándar recién incinerado y 250 mg de cloruro de amonio en 50 mL de ácido sulfúrico 0,1 N (previamente estandarizado) con la ayuda de calor suave.
- Cuando la disolución sea completa, agregar 3 gotas de indicador anaranjado de metilo.
- Valorar el exceso de ácido sulfúrico con hidróxido de sodio 0,1 N (previamente estandarizado). Cada mL de ácido sulfúrico 0,1 N equivale a 4,069 mg de ZnO.
- Repetir el procedimiento 5 veces.
- Determinar la pureza (% Recuperado) del estándar con las siguientes fórmulas:

$$mg_{ZnO} = [V_A \times N_A] - [V_B \times N_B] \times 40,69$$

Donde:

$mg_{(ZnO)}$: mg encontrados de óxido de zinc en la muestra.

V_A : Volumen de ácido sulfúrico añadido.

N_A : Normalidad del ácido sulfúrico.

V_B : Volumen de hidróxido de sodio consumido en la valoración.

N_B : Normalidad del hidróxido de sodio.

40,69: mili equivalentes gramo de óxido de cinc.

$$\% R = \frac{mg \text{ de ZnO encontrados}}{mg \text{ de ZnO teóricos}} \times 100$$

Criterio de aceptación

PARÁMETRO ESTADÍSTICO	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
% Recuperado	99,0% - 100,5%

5.19 Procedimiento de valoración del placebo de Pasta al Agua

- Pesar exactamente 450 mg de placebo en un crisol de porcelana.
- Humedecer la muestra con 0,5 mL de H₂SO₄ concentrado, calentar hasta su completa carbonización. Luego agregar 0,5 mL de H₂SO₄ concentrado hasta que no se generen humos blancos.
- Incinerar el residuo a una temperatura de 600 ± 20°C por una hora. Enfriar.
- Añadir al residuo 10 mL de ácido sulfúrico 2 N.
- Transferir la mezcla a un vaso de precipitados y enjuagar el crisol con pequeñas porciones de agua destilada hasta que la mezcla y los enjuagues combinados alcancen los 50 mL.
- Agregar 15 mL de solución amortiguadora de cloruro de amonio-amoniaco y 1 pizca de negro de eriocromo T.
- Valorar con EDTA 0,05 M (previamente estandarizado) hasta que la solución se torne azul.
- Realizar el procedimiento 6 veces.
- Calcular el promedio del volumen consumido de EDTA.

5.20 Procedimiento para la valoración de óxido de cinc en Pasta al Agua

- Pesar exactamente 600 mg de pasta en un crisol de porcelana.
- Humedecer la muestra con 0,5 mL de H₂SO₄ concentrado, calentar hasta su completa carbonización. Luego agregar 0,5 mL de H₂SO₄ concentrado hasta que no se generen humos blancos.
- Incinerar el residuo a una temperatura de 600 ± 20°C por una hora. Enfriar.
- Añadir al residuo 10 mL de ácido sulfúrico 2 N.

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

- Transferir la mezcla a un vaso de precipitados y enjuagar el crisol con pequeñas porciones de agua destilada hasta que la mezcla y los enjuagues combinados alcancen los 50 mL.
- Agregar 15 mL de solución amortiguadora de cloruro de amonio-amoniaco y 1 pizca de negro de eriocromo T.
- Valorar con EDTA 0,05 M (previamente estandarizado) hasta que la solución se torne azul.
- Realizar el procedimiento 6 veces.
- Calcular el % de ZnO encontrado en la muestra haciendo uso de la siguiente ecuación:

$$\% R = \frac{\left[V_{EDTA} - \left(19 \times \frac{0,05018}{M_{EDTA}} \right) \right] \times PM \times M_{EDTA}}{W_{ZnO}} \times 100$$

Donde:

% R: Porcentaje encontrado de ZnO en la muestra

V_{EDTA} : mililitros de EDTA consumidos en la valoración.

19: Constante que equivale al volumen en mililitros de EDTA consumido en la valoración del placebo.

0,05018: Constante que equivale a la Molaridad del EDTA utilizado en la valoración del placebo.

M_{EDTA} : Molaridad del EDTA utilizado en la valoración.

W_{ZnO} : mg pesados de pasta (600 mg).

Criterios de aceptación

PARÁMETRO ESTADÍSTICO	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
% Recuperado	24,0% - 26,0%

5.21 Procedimiento para determinar la Robustez del método

Evaluar la robustez del método analítico mediante el diseño factorial completo de ocho experimentos (2^3) realizando pequeños cambios en tres factores:

FACTOR A: Concentración de H_2SO_4 (Condición original 2 N; Cambio: 1,9 N y 2,1 N).

FACTOR B: mL de buffer cloruro de amonio-Amoniaco (Condición original: 15 mL; Cambio: 10 mL y 20 mL).

FACTOR C: Concentración del EDTA (Condición original 0,05 M; Cambio: 0,04 M y 0,06 M).

FACTORES	(-)	(+)
Concentración de H_2SO_4 (A)	1,9 N	2,1 N
mL de buffer cloruro de amonio-Amoniaco (B)	10 mL	20 mL
Concentración EDTA (C)	0,04 M	0,06 M

La matriz utilizada para el análisis factorial de los tres factores, así como sus interacciones es la siguiente:

Nº de experimento	A	B	C	AB	AC	BC	ABC
1	-	-	-	+	+	+	-
2	+	-	-	-	-	+	+
3	-	+	-	-	+	-	+
4	+	+	-	+	-	-	-
5	-	-	+	+	-	-	+
6	+	-	+	-	+	-	-
7	-	+	+	-	-	+	-
8	+	+	+	+	+	+	+

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

Sustituyendo los valores (-) y (+) en la matriz, se obtiene la siguiente tabla donde se muestran los 8 experimentos a realizar:

N° de experimento	Factor A	Factor B	Factor C
1	1,9 N	10 mL	0,04 M
2	2,1 N	10 mL	0,04 M
3	1,9 N	20 mL	0,04 M
4	2,1 N	20 mL	0,04 M
5	1,9 N	10 mL	0,06 M
6	2,1 N	10 mL	0,06 M
7	1,9 N	20 mL	0,06 M
8	2,1 N	20 mL	0,06 M

5.21.1 Preparación de las muestras a ensayar

- Para cada experimento pesar exactamente 600 mg de pasta en un crisol de porcelana, humedecer la muestra con 0,5 mL de H₂SO₄.
- Calentar hasta su completa carbonización. Luego agregar 0,5 mL de H₂SO₄ hasta que no se generen humos blancos.
- Incinerar el residuo a una temperatura de 600 ± 20°C por una hora. Enfriar.
- Añadir al residuo 10 mL de ácido sulfúrico (concentración utilizada en el experimento).
- Transferir la mezcla a un vaso de precipitados y enjuagar el crisol con pequeñas porciones de agua destilada hasta que la mezcla y los enjuagues combinados alcancen los 50 mL.
- Agregar el volumen indicado en el experimento de solución amortiguadora de cloruro de amonio-amoniaco y 1 pizca de negro de eriocromo T.
- Valorar con la solución de EDTA de concentración indicada en el experimento (previamente estandarizado) hasta que la solución se torne azul.
- Realizar cada experimento por triplicado.
- Calcular el % de ZnO encontrado en la muestra haciendo uso de la siguiente ecuación:

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA
POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA
DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

$$\% R = \frac{\left[V_{EDTA} - \left(19 \times \frac{0,05018}{M_{EDTA}} \right) \right] \times PM \times M_{EDTA}}{mg_{ZnO}} \times 100$$

Donde:

%R: Porcentaje encontrado de ZnO en la muestra

V_{EDTA}: mililitros de EDTA consumidos en la valoración.

19: Constante que equivale al volumen en mililitros de EDTA consumido en la valoración del placebo (blanco).

0,05018: Constante que equivale a la Molaridad del EDTA utilizado en la valoración del placebo.

M_{EDTA}: Molaridad del EDTA utilizado en la valoración.

mg_{ZnO}: 150 mg equivalente de ZnO contenidos en los 600 mg de pasta.

Al realizar los ocho experimentos, se obtendrán ocho resultados para contenido en principio activo: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, y R8.

Realizar la evaluación estadística que evidencie cuál de los factores, o que interacciones entre ellos tienen una influencia significativa utilizando la siguiente fórmula:

Influencia del factor A: $A = 1/4 (- R1 + R2 - R3 + R4 - R5 + R6 - R7 + R8)$

Influencia del factor B: $B = 1/4 (- R1 - R2 + R3 + R4 - R5 - R6 + R7 + R8)$

Influencia del factor C: $C = 1/4 (- R1 - R2 - R3 - R4 + R5 + R6 + R7 + R8)$

Influencia de las interacciones del factor AB: $AB = 1/4 (+ R1 - R2 - R3 + R4 + R5 - R6 - R7 + R8)$

Influencia de las interacciones del factor AC: $1/4 (+ R1 - R2 + R3 - R4 - R5 + R6 - R7 + R8)$

Influencia de las interacciones del factor BC: $1/4 (+ R1 + R2 - R3 - R4 - R5 - R6 + R7 + R8)$

Influencia de las interacciones del factor ABC: $1/4 (- R1 + R2 + R3 - R4 + R5 - R6 - R7 + R8)$

Calcular:

- Promedio de las influencias.
- Desviación estándar de las influencias
- Dos veces la desviación estándar (2s).
- Realizar un gráfico de las influencias de los factores.

Criterio de aceptación

Si el efecto es mayor a dos veces la desviación estándar agrupada, los efectos son significativos.

5.22 Procedimientos para determinar la idoneidad del sistema

Determinar la precisión de los resultados obtenidos por medio de la evaluación del blanco y la evaluación del estándar.

5.22.1 Preparación del blanco

- Valorar 5 soluciones placebo como se indica en el apartado 5.19.
- Calcular el coeficiente de variación de los volúmenes de EDTA consumido.

5.22.2 Preparación de solución estándar

- Pesar el equivalente a 150 mg de estándar de óxido de cinc en un crisol de porcelana.
- Incinerar el residuo a una temperatura de $600 \pm 20^{\circ}\text{C}$ por una hora. Enfriar.
- Añadir al residuo 10 mL de ácido sulfúrico 2 N.
- Transferir la mezcla a un vaso de precipitados y enjuagar el crisol con pequeñas porciones de agua destilada hasta que la mezcla y los enjuagues combinados alcancen los 50 mL.
- Agregar 15 mL de solución amortiguadora de cloruro de amonio-amoniaco y 1 pizca de negro de eriocromo T.
- Valorar con EDTA 0,05 M (previamente estandarizado) hasta que la solución se torne azul.

- Realizar el procedimiento 5 veces.
- Calcular el coeficiente de variación de los volúmenes de EDTA consumido.

Formulario:

$$CV = \frac{s}{\bar{X}} \times 100$$

Donde:

CV: Coeficiente de variación.

s: Desviación estándar

X: Media de los volúmenes consumidos de EDTA.

Criterio de aceptación

PARÁMETRO ESTADÍSTICO	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
Coeficiente de variación	< 1,0 %

5.23 Procedimientos para determinar los parámetros de validación.

5.23.1 Selectividad (por adición de interferencias)

Evaluar la selectividad del método comparando los resultados del análisis de muestras con y sin analito en presencia de interferencias (matriz).

5.23.1.1 Preparación de la solución estándar

- Preparar soluciones estándar como se indica en el apartado 5.22.2
- Repetir el procedimiento 6 veces.

5.23.1.2 Preparación del Placebo cargado

- Pesar exactamente 450 mg de placebo y el equivalente a 150 mg de Óxido de Zinc en un crisol de porcelana por separado.

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

- Humedecer el placebo con 0,5 mL de H₂SO₄ concentrado, calentar hasta su completa carbonización. Luego agregar 0,5 mL de H₂SO₄ concentrado hasta que no se generen humos blancos.
- Incinerar el residuo de placebo y el estándar a una temperatura de 600 ± 20°C por una hora. Enfriar.
- Mezclar los residuos y añadir 10 mL de ácido sulfúrico 2 N.
- Transferir la mezcla a un vaso de precipitados y enjuagar los crisoles con pequeñas porciones de agua destilada hasta que la mezcla y los enjuagues combinados alcancen los 50 mL.
- Agregar 15 mL de solución amortiguadora de cloruro de amonio-amoniaco y 1 pizca de negro de eriocromo T.
- Valorar con EDTA 0,05 M (previamente estandarizado) hasta que la solución se torne azul.
- Repetir el procedimiento 6 veces

Determinar:

- Volumen de EDTA consumido por el estándar y el placebo cargado.
- Diferencia entre las medias de los volúmenes promedios gastados del placebo cargado con la del estándar.
- Porcentaje de discrepancia.
- Intervalos de confianza.

Formulario:

- **% Discrepancia:**

$$\% \text{ Discrepancia} = \frac{VPC - VE}{VE} \times 100$$

Donde:

VPC: Volumen promedio de EDTA consumido de la solución placebo cargado.

VE: Volumen promedio de EDTA consumido de la solución estándar.

- **Intervalos de confianza al 95% para intervalos de medias:**

$$IC95\% = D \pm t * EE$$

Donde:

D: Diferencia entre medias.

EE: Error estándar combinado.

t: Estadístico t Student $(n_1 + n_2 - 2)_{0,025} = 2.2281$

- **Diferencia entre medias:**

$$D = \bar{X}_{placebo\ cargado} - \bar{X}_{principio\ activo\ solo}$$

- **Error estándar combinado:**

$$EE = \sqrt{\frac{(S_{placebo\ cargado})^2 + (S_{principio\ activo\ solo})^2}{n}}$$

Donde:

s: Desviación estándar.

n: Número de determinaciones.

- **Desviación estándar:**

$$s = \sqrt{\frac{\sum(X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

Donde:

s: Desviación estándar.

X_i: Valores individuales.

\bar{X} : Valor promedio.

n: Número de datos.

5.23.2 Linealidad e intervalo

5.23.2.1 Linealidad del sistema: Preparar soluciones estándares a 5 niveles de concentraciones 80%, 90%, 100%, 110%, 120% de la concentración nominal y analizar por triplicado cada nivel para un total de 15 determinaciones. (n=15)

5.23.2.1.1 Preparación de las soluciones estándar a diferentes niveles de concentración

Soluciones al 80 %: Pesar 120 mg de estándar de óxido de zinc equivalente a 120 mg de ZnO y continuar como se indica en el apartado 5.22.2. Realizar por triplicado.

Soluciones al 90 %: Pesar 135 mg de estándar de óxido de zinc y continuar como se indica en el apartado 5.22.2. Realizar por triplicado.

Soluciones al 100 %: Pesar 150 mg de estándar de óxido de zinc y continuar como se indica en el apartado 5.22.2 Realizar por triplicado.

Soluciones al 110 %: Pesar 165 mg de estándar de óxido de zinc y continuar como se indica en el apartado 5.22.2 Realizar por triplicado.

Soluciones al 120 %: Pesar 180 mg de estándar de óxido de zinc y continuar como se indica en el apartado 5.22.2 Realizar por triplicado.

Determinar:

- Coeficiente de variación de los factores respuesta.
- Coeficiente de correlación y de determinación.
- Intervalo de confianza para la pendiente e intercepto.

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

- Prueba T para la pendiente e intercepto.
- Análisis de varianza ANOVA.
- Test de Cochran.
- Gráfico residual.
- Pruebas F.

Criterios de aceptación:

PARÁMETROS ESTADÍSTICOS	CRITERIOS DE ACEPTACIÓN
Coeficiente de variación	$< 2,0 \%$
Coeficiente de correlación	$\geq 0,998$
Coeficiente de determinación	$\geq 0,995$
Intervalo de confianza para el intercepto	El valor debe incluir el valor de cero.
Intervalo de confianza para la pendiente	El intervalo no debe incluir el valor de cero.
Análisis de varianza ANOVA	$F_{1\text{exp}} > F_{1\text{tabla}} (4,667)$ $F_{2\text{exp}} < F_{2\text{tabla}} (3,708)$
Test de Cochran	$G_{\text{exp}} < G_{\text{tabla}} (0,68)$
Prueba T para la pendiente	$T_{\text{exp}} > T_{\text{tabla}} (2,16)$
Prueba T para el intercepto	$T_{\text{exp}} < T_{\text{tabla}} (2,16)$
Gráfico residuales	La distribución de los puntos debe ser aleatoria y no debe reflejar ninguna tendencia.
Prueba F	$F_{1\text{exp}} > F_{1\text{tabla}}$

5.23.2.2 Linealidad del método: Para la determinación experimental de la linealidad del método trabajar con el producto terminado de Pasta al agua. Preparar soluciones independientes a 5 niveles de concentración y analizar por triplicado cada nivel para un total de 15 determinaciones (n=15). Las concentraciones se encuentran dentro del intervalo establecidos de 80-120% de la concentración prevista de trabajo.

5.23.2.2.1 Preparación de las muestras a diferentes niveles de concentración

Soluciones al 80 %: Pesar 480 mg de pasta equivalente a 120 mg de ZnO y transferir a un Erlenmeyer y continuar con el procedimiento descrito en el apartado 5.20. Realizar por triplicado.

Soluciones al 90 %: Pesar 540 mg de pasta equivalente a 135 mg de ZnO y transferir a un Erlenmeyer y continuar con el procedimiento descrito en el apartado 5.20. Realizar por triplicado.

Soluciones al 100 %: Pesar 600 mg de pasta equivalente a 150 mg de ZnO y transferir a un Erlenmeyer y continuar con el procedimiento descrito en el apartado 5.20. Realizar por triplicado.

Soluciones al 110 %: Pesar 660 mg de pasta equivalente a 165 mg de ZnO y transferir a un Erlenmeyer y continuar con el procedimiento descrito en el apartado 5.20. Realizar por triplicado.

Soluciones al 120 %: Pesar 720 mg de pasta equivalente a 180 mg de ZnO y transferir a un Erlenmeyer y continuar con el procedimiento descrito en el apartado 5.20. Realizar por triplicado.

Determinar:

- Coeficiente de variación de los factores respuesta.
- Coeficiente de correlación y de determinación.
- Intervalo de confianza para la pendiente e intercepto.
- Prueba T para la pendiente e intercepto.
- Análisis de varianza ANOVA.
- Test de Cochran.
- Gráfico residual.

- Pruebas F.

Criterios de aceptación

PARÁMETROS ESTADÍSTICOS	CRITERIOS DE ACEPTACIÓN
Coeficiente de variación	< 3,0 %
Coeficiente de correlación	≥ 0,998
Coeficiente de determinación	≥ 0,995
Intervalo de confianza para el intercepto	El valor debe incluir el valor de cero.
Intervalo de confianza para la pendiente	El intervalo no debe incluir el valor de cero.
Análisis de varianza ANOVA	F _{1exp} > F _{1tabla} (4,667) F _{2exp} < F _{2tabla} (3,708)
Test de Cochran	G _{exp} < G _{tabla} (0,68)
Prueba T para la pendiente	T _{exp} > T _{tabla} (2,16)
Prueba T para el intercepto	T _{exp} < T _{tabla} (2,16)
Grafico residuales	La distribución de los puntos debe ser aleatoria y no debe reflejar ninguna tendencia.
Prueba F	F _{1exp} > F _{1tabla}

Formulario:

- **Coeficiente de variación:**

$$CV = \frac{s}{\bar{X}} \times 100$$

Donde:

CV: Coeficiente de variación.

s: Desviación estándar

X: Media de los factores respuestas.

- **Ecuaciones para la recta**

Ecuación de la recta:

$$y = bx + a$$

Valor estimado para Xi:

$$\hat{y}_i = bx_i + a$$

Valor residual (y = grupos):

$$e_i = \hat{y}_i - y_i$$

Termino independiente:

$$a = \bar{y} - b\bar{x} = \frac{\sum y - b \sum x}{n}$$

Pendiente:

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

Coefficiente de correlación:

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

Coefficiente de determinación:

$$r^2 = \frac{SC_{REG}}{SC_T}$$

Varianza residual:

$$S_{y^*x}^2 = \frac{\sum (y - \bar{y})^2 - \frac{[\sum (x - \bar{x})(y - \bar{y})]^2}{\sum (x - \bar{x})^2}}{n - 2}$$

Varianza de la pendiente:

$$S_b^2 = \frac{S_{y+x}^2}{\sum x^2 \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

Varianza del termino independiente:

$$S_a^2 = S_b^2 * \frac{\sum x^2}{n}$$

• ANOVA

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianza	Estadístico F
Regresión	$SC_{REG} = \sum n_i (\hat{y}_i - \bar{y})^2$	1	V_{REG}	$F_1 = \frac{V_{REG}}{V_{RES}}$
Falta de ajuste	$SC_{RES} = \sum n_i (\hat{y}_i - \bar{y})^2$	k-2	V_{FA}	$F_2 = \frac{V_{FA}}{V_{EXP}}$
Error experimental	$SCE = \sum (y_i - \hat{y}_i)^2$	$\sum n_i - k$	V_{EXP}	
Total	$SC_T = \sum (y_i - \bar{y})^2$	$\sum n_i - 1$		

Donde:

\bar{X} : Media de x

\bar{y} : Media de y

SC_{REG} : Suma de cuadrados debido a la regresión.

V_{REG} : Varianza de regresión.

SC_{RES}: Variación residual debida al error experimental dentro de los grupos más la variación debido a la falta de ajuste.

V_{RES}: Varianza residual.

SC_{EXP}: Cálculo del error experimental (suma de cuadrados debido a las réplicas de las series.)

V_{EXP}: Varianza de error experimental.

SC_T: Suma de cuadrados totales.

- **Test de G Cochran:**

$$G_{EXP} = \frac{s^2_{m\acute{a}xima}}{\sum s_i^2}$$

$$G_{tabla} = (k = 5, n = 3, \alpha = 0,05,) = 0,68$$

- **Test de proporcionalidad:**

$$t_{exp} = \frac{[a]}{s_a}$$

s_a se obtiene a partir del cálculo de la varianza residual s²

5.23.3 Precisión

La precisión, se evalúa por medio de la repetibilidad del sistema, repetibilidad del método y de la precisión intermedia del método.

5.23.3.1 Repetibilidad del sistema

Preparar 10 soluciones estándares como se indica en el apartado 5.22.2 y realizar procedimiento por un mismo analista, un mismo instrumento y en el mismo día.

Determinar:

Coefficiente de variación de los volúmenes de EDTA consumido haciendo uso de la siguiente ecuación:

$$CV = \frac{s}{\bar{X}} \times 100$$

Donde:

CV: Coeficiente de variación.

s: Desviación estándar

\bar{X} : Media de factores respuestas (volúmenes de EDTA consumido).

Criterio de aceptación

PARÁMETRO ESTADÍSTICO	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
Coeficiente de variación	< 1,0 %

5.23.3.2 Repetibilidad del método:

Analizar por triplicado soluciones muestras (producto terminado de Pasta al agua) y soluciones placebo a 3 niveles de concentración diferentes (80 %, 100 % y 120 %), realizado por un mismo analista, un mismo instrumento y en el mismo día.

5.23.3.2.1 Soluciones muestras (producto terminado):

Nivel 1: 80 %

- Pesar exactamente 480 mg de pasta en un crisol de porcelana y continuar con el procedimiento descrito en el apartado 5.20.
- Repetir el procedimiento 3 veces

Nivel 2: 100 %

- Realizar el procedimiento como se indica en el apartado 5.20
- Repetir el procedimiento 3 veces.

Nivel 3: 120 %

- Pesar exactamente 720 mg de pasta en un crisol de porcelana y continuar con el procedimiento descrito en el apartado 5.20
- Repetir el procedimiento 3 veces.

5.23.3.2.2 Soluciones placebo:

Nivel 1: 80 %

- Pesar exactamente 360 mg de placebo en un crisol de porcelana y continuar con el procedimiento descrito en el apartado 5.19.
- Repetir el procedimiento 3 veces.

Nivel 2: 100 %

- Realizar el procedimiento como se indica en el apartado 5.19.
- Repetir el procedimiento 3 veces.

Nivel 3: 120 %

- Pesar exactamente 540 mg de placebo en un crisol de porcelana y continuar con el procedimiento descrito en el apartado 5.19.

Determinar:

- Volumen consumido de EDTA por el placebo y la muestra de Pasta al Agua en cada nivel de concentración.
- mg de óxido de cinc presente en la muestra por cada nivel de concentración.
- Coeficiente de variación de la concentración (mg) e intervalos de confianza de los valores individuales por cada nivel de concentración.
- Coeficiente de variación de la concentración (mg) promedio e intervalo de confianza del promedio por cada nivel de concentración.

Criterios de aceptación

PARÁMETROS ESTADÍSTICOS	CRITERIOS DE ACEPTACIÓN
Coeficiente de variación	$\leq 2,0 \%$
Intervalo de confianza resultados individuales	El resultado individual debe estar dentro del intervalo de confianza calculado.

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

Intervalos de confianza resultados promedios	El resultado promedio debe estar dentro del intervalo de confianza calculado.
--	---

Formulario:

• **mg ZnO:**

$$mg_{ZnO} = (V_{muestra} - V_{placebo}) * T * f$$

Donde:

V_{muestra}: mililitros de EDTA consumido de la solución muestra (Pasta al Agua).

V_{placebo}: mililitros de EDTA consumido de la solución placebo (Pasta al Agua).

T: titre (cada mL EDTA 0,05 M equivale a 4,069 mg de ZnO).

f: factor de corrección.

• **Factor de corrección:**

$$f = \frac{M_{EDTA_{real}}}{M_{EDTA_{teórica}}}$$

• **Coefficiente de variación:**

$$CV = \frac{s}{\bar{X}} * 100$$

Donde:

CV: Coeficiente de variación

s: Desviación Estándar

\bar{X} : Media de factores respuestas.

• **Intervalos de confianza:**

Individuales: $\bar{X} \pm t * s$

Promedios: $\bar{X} \pm t * \frac{s}{\sqrt{n}}$

Donde:

\bar{X} : Media de una serie de resultados obtenidos un mismo nivel de concentración.

t: Valor de la t de Student de tablas para n-1 grados de libertad y $\alpha= 0,05$ (t=4,403)

n: Número de análisis

s: Desviación estándar

5.23.3.3 Precisión intermedia del método

Para evaluar la precisión intermedia del método realizar una serie de análisis sobre la misma muestra (producto terminado de Pasta al Agua) a la concentración nominal en diferentes condiciones de operación (3 días diferentes y 3 analistas).

Cada analista debe de realizar por triplicado el procedimiento descrito en el apartado 5.20, por tres días consecutivos, para un total de 27 réplicas.

Determinar:

- Porcentaje recuperado de óxido de cinc presente en la muestra (cada una de las réplicas).
- Coeficiente de variación del porcentaje de recuperación por día y analista.
- Coeficiente de variación global por día y coeficiente de variación global.

Criterios de aceptación

PARÁMETROS ESTADÍSTICOS	CRITERIOS DE ACEPTACIÓN
Coeficiente de variación por día y analista	$\leq 2,0 \%$
Coeficiente de variación global por día	$\leq 2,0 \%$
Coeficiente de variación global	$\leq 3,0 \%$

Formulario:

- **Porcentaje de recuperación:**

$$\% R = \frac{\left[V_{EDTA} - \left(19 \times \frac{0,05018}{M_{EDTA}} \right) \right] \times PM \times M_{EDTA}}{mg \text{ ZnO}} \times 100$$

Donde:

%R: Porcentaje encontrado de ZnO en la muestra

V_{EDTA}: mililitros de EDTA consumidos en la valoración.

19: Constante que equivale al volumen en mililitros de EDTA consumido en la valoración del placebo (blanco).

0,05018: Constante que equivale a la Molaridad del EDTA utilizado en la valoración del placebo.

M_{EDTA}: Molaridad del EDTA utilizado en la valoración.

mg_{ZnO}: 150 mg equivalente de ZnO contenidos en los 600 mg de pasta.

• **Coefficiente de variación:**

$$CV = \frac{s}{\bar{X}} \times 100$$

Donde:

s: Desviación Estándar

\bar{X} : Media de factores respuestas.

5.23.4 Exactitud

La exactitud se determina a través del método Placebo cargado. Se preparan soluciones placebo cargado a tres niveles de concentración 80 %, 100 % y 120 % de la concentración nominal, cada una de las soluciones se analizan por triplicado.

5.23.4.1 Preparación de la solución placebo cargado al 80 %

- Pesar exactamente 360 mg de placebo y el equivalente a 120 mg de Óxido de Zinc en un crisol de porcelana por separado.
- Humedecer el placebo con 0,5 mL de H₂SO₄ concentrado, calentar hasta su completa carbonización. Luego agregar 0,5 mL de H₂SO₄ concentrado hasta que no se generen humos blancos.

- Incinerar el residuo de placebo y el estándar a una temperatura de $600 \pm 20^{\circ}\text{C}$ por una hora. Enfriar.
- Mezclar los residuos y añadir 10 mL de ácido sulfúrico 2 N.
- Transferir la mezcla a un vaso de precipitados y enjuagar los crisoles con pequeñas porciones de agua destilada hasta que la mezcla y los enjuagues combinados alcancen los 50 mL.
- Agregar 15 mL de solución amortiguadora de cloruro de amonio-amoniaco y 1 pizca de negro de eriocromo T.
- Valorar con EDTA 0,05 M (previamente estandarizado) hasta que la solución se torne azul.
- Repetir el procedimiento 3 veces.

5.23.4.2 Preparación de la solución placebo cargado al 100 %

- Preparar como se indica en el apartado 5.23.1.2
- Repetir el procedimiento 3 veces.

5.23.4.3 Preparación de la solución placebo cargado al 120 %

- Pesar exactamente 540 mg de placebo y el equivalente a 180 mg de Óxido de Zinc en un crisol de porcelana por separado.
- Humedecer el placebo con 0,5 mL de H_2SO_4 concentrado, calentar hasta su completa carbonización. Luego agregar 0,5 mL de H_2SO_4 concentrado hasta que no se generen humos blancos.
- Incinerar el residuo de placebo y el estándar a una temperatura de $600 \pm 20^{\circ}\text{C}$ por una hora. Enfriar.
- Mezclar los residuos y añadir 10 mL de ácido sulfúrico 2 N.
- Transferir la mezcla a un vaso de precipitados y enjuagar los crisoles con pequeñas porciones de agua destilada hasta que la mezcla y los enjuagues combinados alcancen los 50 mL.

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

- Agregar 15 mL de solución amortiguadora de cloruro de amonio-amoniaco y 1 pizca de negro de eriocromo T.
- Valorar con EDTA 0,05 M (previamente estandarizado) hasta que la solución se torne azul.
- Repetir el procedimiento 3 veces.

Determinar:

- Porcentaje de recuperación de ZnO presente en la muestra en cada nivel de concentración en base al 100 % de concentración.
- Porcentaje de recuperación promedio de los 3 niveles de concentración.
- Coeficiente de variación de los % de recuperación.
- Test de student y Test Cochran.

Criterios de aceptación

PARÁMETROS ESTADÍSTICOS	CRITERIOS DE ACEPTACION
Porcentaje de recuperación promedio	100,0 ± 2,0 %
Coeficiente de variación	< 2,0 %
Test Cochran	$G_{exp} < G_{tabla} (0,87)$
Test Student	$t_{exp} < t_{tabla} (2,30)$

Formulario:

- **Porcentaje de recuperación:**

$$\%R = \frac{(V_{muestra} - V_{placebo}) * T * f}{W_{ZnO}} \times 100$$

Donde:

V_{muestra}: mililitros de EDTA consumido de la solución muestra (Pasta al Agua).

V_{placebo}: mililitros de EDTA consumido de la solución placebo (Pasta al Agua).

T: titre (cada mL EDTA 0,05 M equivale a 4,069 mg de ZnO).

f: factor de corrección.

W_{ZnO} : mg de óxido de cinc presente teóricamente en la muestra.

Nota: Tomar como referencia los volúmenes de EDTA consumido por el placebo en los ensayos realizados en el parámetro de repetibilidad del método por cada nivel de concentración.

- **Factor de corrección:**

$$f = \frac{M EDTA_{real}}{M EDTA_{teórica}}$$

- **Coefficiente de variación:**

$$CV = \frac{s}{\bar{X}} \times 100$$

Donde:

s: Desviación Estándar

\bar{X} : Media de factores respuestas.

- **Test de Cochran:**

$$G_{exp} = \frac{s^2_{máximo}}{\sum s_i^2}$$

$$G_{tabla} = (\alpha = 0,05, k = 3, n = 3) = 0,8709$$

- **Test de Student:**

$$t_{experimental} = \frac{|100 - \bar{X}| * \sqrt{n}}{CV}$$

VI. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

6.1 Estandarización del EDTA 0,04 M; 0,05 M y 0,06 M

En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos de la estandarización de EDTA realizando el procedimiento descrito en el apartado 5.14.12.1:

Tabla N°1: Resultados de la estandarización del EDTA

Réplica	CaCO ₃ (g)	Volumen gastado de EDTA (mL) 0,04 M	Molaridad	Volumen gastado de EDTA (mL) 0,05 M	Molaridad	Volumen gastado de EDTA (mL) 0,06 M	Molaridad
1	0,2	49,2	0,0406	39,7	0,05033	32,8	0,06092
2	0,2	49,3	0,04053	39,9	0,05008	32,9	0,06073
3	0,2	49,5	0,04036	39,9	0,05008	32,9	0,06073
4	0,2	49,4	0,04044	39,8	0,05021	32,8	0,06092
5	0,2	49,5	0,04036	39,7	0,05033	32,7	0,06110
		Media	0,04046	Media	0,05018	Media	0,06088

Análisis de los resultados:

La molaridad obtenida en la estandarización de EDTA fue de 0,04046 M, 0,05018 M, 0,06088 M; siendo próximo a los valores esperados de 0,04 M, 0,05 M y 0,06 M respectivamente.

6.2 Precisión de la estandarización de EDTA 0,05 M

Para conocer la variabilidad de los resultados en el método de estandarización del EDTA, se realizó el estudio de la precisión mediante la repetibilidad a tres niveles de concentración (80 %, 100 % y 120 %), cada uno por triplicados como se indica en el apartado 5.15. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINC EN PASTA AL AGUA FABRICADA
 POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA
 DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

Tabla N°2: Resultados de la repetibilidad de la estandarización del EDTA 0,05 M

Nivel de Concentración	Número de repeticiones	Concentración obtenida (M)	Intervalo de confianza Individual		Intervalo de confianza promedio	
			Superior	Inferior	Superior	Inferior
80%	1	0,04964	0,05013	0,04936	0,04997	0,04953
	2	0,04980				
	3	0,04980				
Media		0,04975				
s		8,92887E-05				
CV		0,18 %				
100%	1	0,05033	0,05056	0,04993	0,05043	0,05007
	2	0,05021				
	3	0,05021				
Media		0,05025				
s		7,30138E-05				
CV		0,15 %				
120%	1	0,05016	0,05046	0,04994	0,05035	0,05005
	2	0,05027				
	3	0,05016				
Media		0,05020				
s		6,07175E-05				
CV		0,12 %				
Media Global		0,05007				
s Global		1,43317E-05				
CV Global		0,03 %				

Análisis de los resultados:

No hay variabilidad significativa en los resultados obtenidos en el método de estandarización de EDTA a diferentes niveles de concentración en las condiciones establecidas, verificando mediante la obtención del coeficiente de variación cuyo resultado obtenido es de 0,03 % cumpliendo con el criterio de aceptación ya que el valor es menor al 2,0 %. Además, las concentraciones obtenidas individuales y promedio del EDTA están dentro de los intervalos de confianza individual e intervalo de confianza global para cada nivel de concentración evaluado. Por tanto, el método de estandarización del EDTA es preciso al realizar el ensayo en los diferentes niveles de concentración.

6.3 Estabilidad del EDTA 0,05 M

Para verificar la estabilidad de la solución de EDTA utilizada, se realizó el procedimiento de estandarización día de por medio durante el estudio de la validación. Realizando cada procedimiento por triplicado como se indica en el apartado 5.16. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla N°3: Resultados de la estabilidad del EDTA 0,05 M.

Estabilidad del EDTA (0,05M)			
Tiempo (día)	N° de repeticiones	Concentración Molar obtenida	% Recobro
Día 1	1	0,0505	100,64
	2	0,0499	99,44
	3	0,0502	100,04
	Media	0,0502	100,04
Día 2	1	0,05033	100,30
	2	0,0502	100,04
	3	0,0502	100,04
	Media	0,05024	100,13

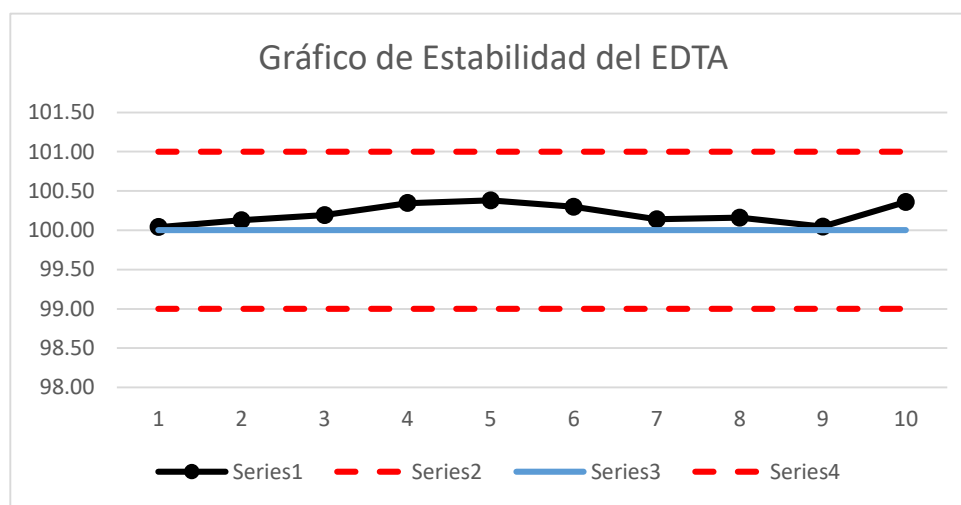
“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA
 POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA
 DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

Día 3	1	0,05008	99,80
	2	0,05017	99,98
	3	0,05058	100,80
	Media	0,05028	100,19
Día 4	1	0,05033	100,30
	2	0,05048	100,60
	3	0,05025	100,14
	Media	0,05035	100,35
Día 5	1	0,05033	100,30
	2	0,05058	100,80
	3	0,0502	100,04
	Media	0,05037	100,38
Día 6	1	0,05033	100,30
	2	0,05041	100,46
	3	0,05025	100,14
	Media	0,05033	100,30
Día 7	1	0,04995	99,54
	2	0,0503	100,24
	3	0,0505	100,64
	Media	0,05025	100,14
Día 8	1	0,05025	100,14
	2	0,05033	100,30
	3	0,0502	100,04
	Media	0,05026	100,16
Día 9	1	0,05008	99,80
	2	0,0502	100,04
	3	0,05033	100,30
	Media	0,05020	100,05

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

Día 10	1	0,05023	100,10
	2	0,05051	100,66
	3	0,05034	100,32
	Media	0,05036	100,36

Gráfico N°1: Estabilidad del EDTA 0,05 M.



Análisis de los resultados:

En el gráfico N°1 se muestra que la solución de EDTA preparada para la valoración de óxido de cinc en Pasta al Agua, se mantuvo estable durante el estudio de la validación en las condiciones de almacenamiento establecidas ($25 \pm 5^{\circ}\text{C}$, en recipiente tapado), ya que durante este tiempo; el porcentaje recuperado de EDTA se mantuvo dentro del criterio de aceptación establecido que es de 99,0 % al 101,0 %.

6.4 Determinación de la dureza del agua

Para determinar la dureza del agua destilada que se utilizó en la preparación de soluciones y reactivos, se realizó el procedimiento indicado en el apartado 5.17. El procedimiento se llevó a cabo con el objetivo de verificar que no haya metales presentes en el agua como son el Calcio y Magnesio que puedan interferir en la realización de cada uno de los parámetros de la validación. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Tala N°4: Resultados de la dureza del agua

N° de réplica	Volumen de EDTA consumido
1	0,0 mL
2	0,0 mL
3	0,0 mL
4	0,0 mL
5	0,0 mL

Análisis de los resultados:

En la determinación de la dureza del agua destilada no hubo consumo de EDTA, ya que al momento de adicionar el indicador (NET) en la valoración, inmediatamente se obtuvo un color azul, lo que indica que el indicador no formó complejos con metales y que estaba en su forma libre. Por lo que se puede concluir que hay 0 mg de CaCO₃ en el agua destilada, lo que indica que no hubo presencia de metales Ca⁺² y Mg⁺²; cumpliendo de esta manera con el criterio de aceptación (CaCO₃ < 60,0 mg/L) para que el agua sea utilizada. Por tanto, se procede a su uso ya que el agua no posee metales que interfieran en dicho estudio. El agua destilada utilizada durante la validación del método analítico es blanda.

6.5 Pureza del estándar Óxido de Cinc.

Para determinar la pureza del estándar óxido de cinc, se realizó una serie de 5 análisis, como se indica en el apartado 5.18, los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla N° 5: Resultados de la pureza del estándar de ZnO

N° de replica	Normalidad del NaOH	Normalidad del H ₂ SO ₄	Volumen de H ₂ SO ₄ (mL)	Volumen consumido de NaOH (mL)	Cantidad encontrada (mg)	%R
1	0,098732	0,098732	50,0	12,6	150,25	100,17
2			50,0	12,7	149,85	99,90
3			50,0	12,7	149,85	99,90
4			50,0	12,6	150,25	100,17
5			50,0	12,7	149,85	99,90
Media					100,01	

Análisis de los resultados:

La pureza obtenida de óxido de cinc es de 100,01 % el cual se encuentra dentro del criterio de aceptación establecido: 99,0 – 100,5%.

6.6 Valoración del placebo de Pasta al Agua (Blanco)

Para determinar la cantidad de volumen de EDTA que consume el placebo se procedió a realizar el procedimiento descrito en el apartado 5.19, los resultados se muestran a continuación:

Tabla N°6: Resultados de la valoración del placebo

N° de replica	Cantidad pesada de Placebo (mg)	Volumen de EDTA consumido (mL)
1	450,0	19,0
2	450,0	18,9
3	450,0	19,0
4	450,0	18,9
5	450,0	19,2
	Promedio	19,0

Análisis de los resultados:

El volumen promedio consumido de EDTA por el placebo es de 19,0 mL. Este volumen se utilizó en nuestro modelo matemático para corregir el volumen de EDTA consumido en la valoración de óxido de cinc en la Pasta al Agua. Este resultado es considerado como el valor del volumen consumido por el blanco en las volumetrías.

6.7 Valoración (cuantificación) de óxido de cinc en Pasta al Agua

Se realizó la valoración de óxido de cinc en pasta al agua como se indica en el apartado 5.20, los resultados se muestran a continuación:

Tabla N°7: Cuantificación de óxido de cinc en Pasta al Agua

N° de replica	Concentración de EDTA (M)	mg de Pasta utilizados	mL consumido de EDTA por la Pasta	mL de EDTA promedio consumido por el Placebo (mL)	mg encontrados de ZnO	%R
1	0,05018	600,0	56,5	19,0	153,14	25,52
2	0,05018	600,0	57,0	19,0	155,18	25,86
3	0,05018	600,0	56,9	19,0	154,77	25,80
4	0,05018	600,0	57,1	19,0	155,59	25,93
5	0,05018	600,0	56,9	19,0	154,77	25,80
					Media	25,78

Análisis de los resultados:

El porcentaje de recuperado promedio obtenido de óxido de cinc en la Pasta al Agua es de 25,78 % encontrándose dentro de los intervalos establecidos 24,0 % a 26,0 % indicando que la pasta contiene la correcta cantidad de óxido de cinc para ser utilizada en nuestro estudio.

6.8 Robustez

Para determinar si el método analítico tenía capacidad para permanecer inalterado ante pequeñas variaciones, se realizó el ensayo de robustez aplicando el diseño factorial (2^3), en donde se procedió a realizar ocho experimentos, evaluando la influencia de tres factores (concentración del H_2SO_4 , mililitros de solución buffer cloruro amonio-amoniaco y concentración del EDTA). Para llevar a cabo este procedimiento se aplicó lo indicado en el apartado 5.21, obteniendo los siguientes resultados:

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA
 POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA
 DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

Tabla N°8: Volúmenes promedios de EDTA consumidos en los experimentos y % promedio recuperado

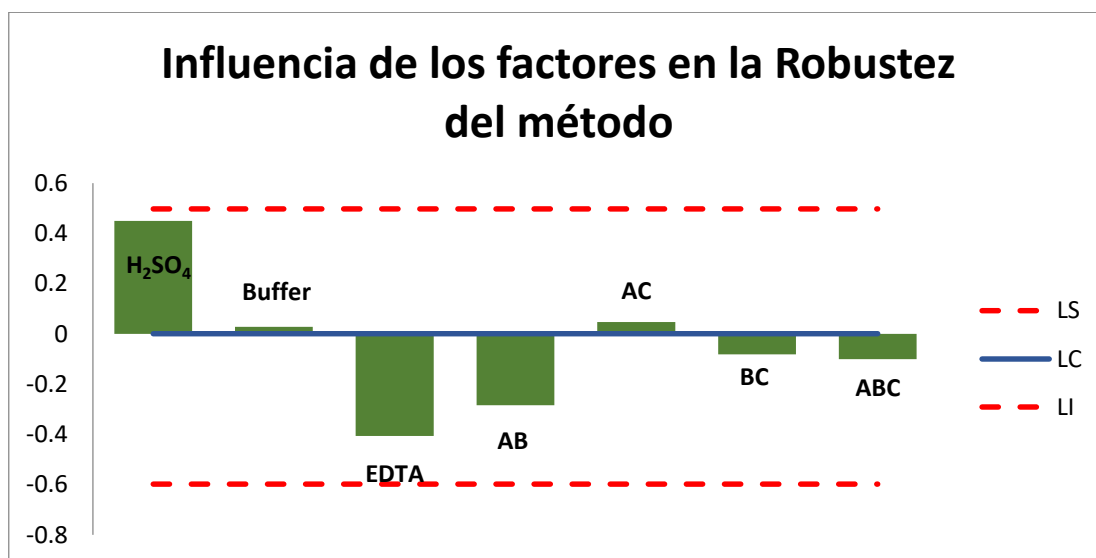
Ensayo N°	A Concentración de H ₂ SO ₄ (N)	B (mL buffer)	C Concentración de EDTA (M)	Volumen de EDTA (mL)	Promedio volumen EDTA (mL)	% R
1	1,9	10,0	0,04046	69,9	70,1	102,22
				70,2		
				70,3		
2	2,1	10,0	0,04046	70,5	70,4	102,81
				70,4		
				70,3		
3	1,9	20,0	0,04046	70,2	70,3	102,52
				70,5		
				70,1		
4	2,1	20,0	0,04046	70,4	70,4	102,73
				70,4		
				70,3		
5	1,9	10,0	0,06088	46,5	46,5	101,75
				46,4		
				46,5		
6	2,1	10,0	0,06088	46,8	46,7	102,63
				46,7		
				46,7		
7	1,9	20,0	0,06088	46,6	46,6	102,08
				46,5		
				46,6		
8	2,1	20,0	0,06088	46,7	46,6	102,19
				46,5		
				46,6		

Tabla N° 9: Resultados de la influencia de los factores y sus interacciones

Ensayo N°	R	A	B	C	AB	AC	BC	ABC
1	102,22	-102,22	-102,22	-102,22	102,22	102,22	102,22	-102,22
2	102,81	102,81	-102,81	-102,81	-102,81	-102,81	102,81	102,81
3	102,52	-102,52	102,52	-102,52	-102,52	102,52	-102,52	102,52
4	102,73	102,73	102,73	-102,73	102,73	-102,73	-102,73	-102,73
5	101,75	-101,75	-101,75	101,75	101,75	-101,75	-101,75	101,75
6	102,63	102,63	-102,63	102,63	-102,63	102,63	-102,63	-102,63
7	102,08	-102,08	102,08	102,08	-102,08	-102,08	102,08	-102,08
8	102,19	102,19	102,19	102,19	102,19	102,19	102,19	102,19
s		0,4489	0,0273	-0,4069	-0,2841	0,0465	-0,0824	-0,1012

Promedio Influencias	-0,0503
Desviación estándar promedio	0,2739
2s	0,5477

Gráfico N°2: Influencia de los factores y sus interacciones en la robustez



Análisis de los resultados:

Al evaluar la influencia de tres factores (concentración de H₂SO₄, mL buffer, concentración de EDTA), mediante el diseño factorial de ocho experimentos (2³) en el ensayo de Robustez, se obtuvo que éstos no superan el límite superior e inferior a dos veces la desviación estándar, tal como se muestra en el gráfico N°2. Esto indica que el método de valoración de óxido de cinc aplicando la técnica de volumetría directa de formación de complejos, tiene la capacidad de permanecer inalterado ante pequeñas y deliberadas variaciones que pueden producirse durante su utilización y proporciona resultados válidos en presencia de estos cambios. Por tanto, el método es robusto en las condiciones establecidas en la técnica analítica.

6.9 Idoneidad del sistema

El procedimiento de la idoneidad del sistema se llevó a cabo como se indica en el apartado 5.22. Los resultados se muestran en siguiente tabla:

Tabla N°10: Idoneidad del sistema

No de réplica	Volumen EDTA consumido (mL) por el placebo	Volumen EDTA consumido (mL) por el estándar
1	19,0	36,6
2	18,9	36,7
3	19,0	36,7
4	18,9	36,6
5	19,2	36,7
Media	19,0	36,6
s	0,1225	0,0547
CV	0,64 %	0,15 %

Análisis de los resultados:

El coeficiente de variación (CV) obtenido del volumen consumido de EDTA por el blanco y por estándar en 5 repeticiones fueron de 0,64 % y 0,15 % respectivamente; los cuales cumplen con el criterio de aceptación (CV < 1,0 %), lo que indica que el sistema (analista,

reactivos e instrumento) es idóneo para llevar a cabo la valoración de óxido de cinc en las condiciones que se han establecido y para validar el método analítico.

6.10 Selectividad

Para determinar la capacidad del método analítico para cuantificar el principio activo de forma inequívoca, en presencia de otras sustancias químicas, se realizó el procedimiento de determinación de la selectividad por adición de interferencia; en donde se comparó los resultados obtenidos del análisis de seis muestras de principio activo solo con el análisis de seis muestras matriz + principio activo (placebo cargado). Se realizó el procedimiento como se indica en el apartado 5.23.1 obteniendo los siguientes resultados:

Tabla N° 11: Resultados (% de discrepancia) de la selectividad

N° de Réplica	Volumen de EDTA consumido por el placebo cargado (mL)	Volumen de EDTA consumido por principio activo solo (mL)
1	55,9	36,6
2	56,6	36,7
3	56,1	36,6
4	55,6	36,7
5	56,1	36,7
6	55,4	36,7
Media	55,95	36,7
s	0,4230	0,05163
% de Discrepancia	52,59	

Tabla N° 12: Resultados de los intervalos de confianza calculados

Diferencia entre medias	19,28 mL
Error estándar combinado	0,4236
Estadístico t de Student (t tabla)	2,2281
Intervalo de confianza (mL)	
Superior	20,22
Inferior	18,33

Análisis de los resultados:

Se observa un sesgo positivo de 52,59 %. Este valor nos indica que el placebo cargado consume 52,59 % más de EDTA que el estándar. Consideramos que este volumen está relacionado a la presencia de interferencias en nuestra matriz (excipientes como el Talco simple-silicato magnésico hidratado que lleva la formulación de la Pasta al Agua).

El aumento en el volumen consumido de solución valorante para la determinación del principio activo en presencia de la matriz de excipientes se sitúa entre 18,33 mL y 20,22 mL. El sesgo máximo posible, con una confianza del 95 % es de 20,22 mL,

El método de valoración de óxido de cinc el Pasta al Agua aplicando la técnica de volumetría directa de formación de complejos no es completamente selectivo, sin embargo, el método puede ser utilizado si se realiza una corrección del volumen real consumido de EDTA por el óxido de cinc presente en nuestra muestra. Por lo que proponemos aplicar la siguiente ecuación para el cálculo del % Recuperado:

$$\% R = \frac{\left[V_{EDTA} - \left(19 \times \frac{0,05018}{M_{EDTA}} \right) \right] \times PM \times M_{EDTA}}{mg_{ZnO}} \times 100$$

Donde:

%R: Porcentaje encontrado de ZnO en la muestra

V_{EDTA} : mililitros de EDTA consumidos en la valoración.

19: Constante que equivale al volumen en mililitros de EDTA consumido en la valoración del placebo.

0,05018: Constante que equivale a la Molaridad del EDTA utilizado en la valoración del placebo.

M_{EDTA} : Molaridad del EDTA utilizado en la valoración.

W_{ZnO} : mg pesados de pasta (600 mg).

6.11 Linealidad e Intervalo

6.11.1 Linealidad del Sistema

La linealidad del sistema se realizó siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 5.23.2.1 utilizando concentraciones del 80 %, 90 %, 100 %, 110 % y 120 % de la concentración nominal. Los resultados obtenidos se muestran a continuación:

Tabla N° 13: Resultados factor respuesta en Linealidad del sistema

Linealidad del Sistema						
Nivel	X	Y	XY	X ²	Y ²	f (Y/X)
1 (80 %)	120,0	28,9	3468	14400	835,21	0,24083
	120,0	29,2	3504	14400	852,64	0,24333
	120,0	29,3	3516	14400	858,49	0,24417
2 (90 %)	135,0	32,7	4414,5	18225	1069,29	0,24222
	135,0	33,0	4455	18225	1089	0,24444
	135,0	33,0	4455	18225	1089	0,24444
3 (100 %)	150,0	36,6	5490	22500	1339,56	0,24400
	150,0	36,7	5505	22500	1346,89	0,24467
	150,0	36,7	5505	22500	1346,89	0,24467
4 (110 %)	165,0	39,7	6550,5	27225	1576,09	0,24061
	165,0	40,0	6600	27225	1600	0,24242
	165,0	40,0	6600	27225	1600	0,24242
5 (120 %)	180,0	43,7	7866	32400	1909,69	0,24278
	180,0	43,8	7884	32400	1918,44	0,24333
	180,0	44,0	7920	32400	1936	0,24444
Promedio						0,24325
s						0,001341
CV						0,55 %

X: mg adicionados de ZnO

Y: mL de EDTA consumido

Gráfico N° 3: Curva de regresión lineal

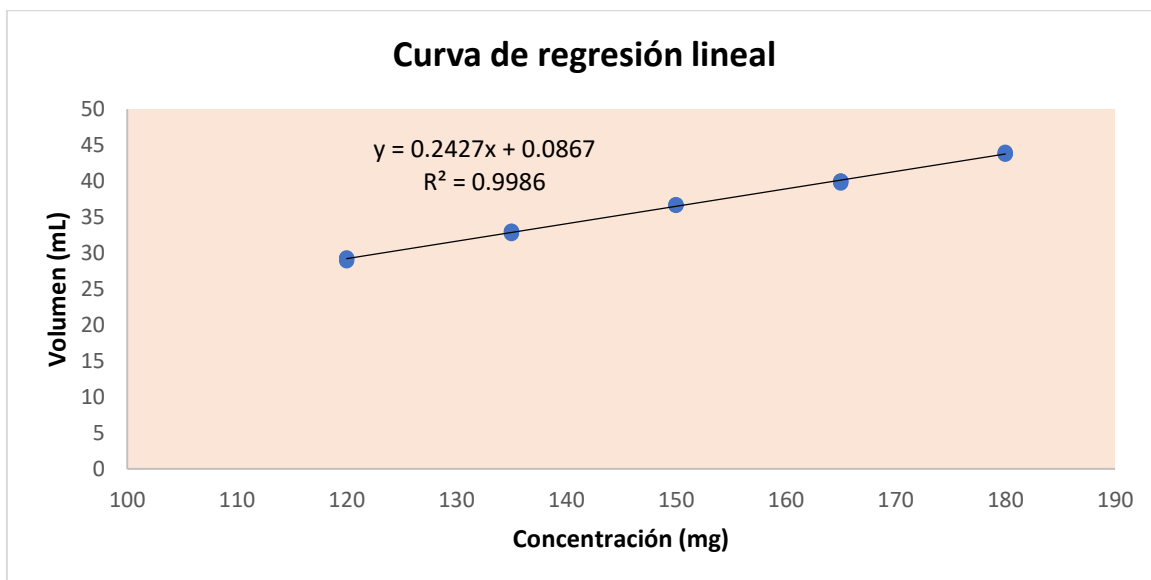


Tabla N° 14: Resultados del análisis de regresión lineal del sistema

Estadísticas de la regresión	
Coefficiente de correlación múltiple	0,9993
Coefficiente de determinación R²	0,9986
R² ajustado	0,9985
Error típico	0,2055
Observaciones	15

Tabla N° 15: Resultados prueba F.

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F (calculado)	Valor crítico de F
Regresión	1	397,48	397,48	9406,57	5,57588 E-20
Residuos	13	0,5493	0,04225		
Total	14	398,03			

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA
 POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA
 DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

Tabla N° 16: Resultados de los intervalos de confianza y prueba t para la pendiente e intercepto

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Límite Inferior 95%	Límite Superior 95%
Intercepción	0,08666	0,3790	0,2286	0,8227	-0,7322	0,9055
Pendiente	0,2426	0,0025	96,98	5,57588 E-20	0,2372	0,2480

Tabla N° 17: Resultados análisis de residuales

Observación	Pronóstico para Y	Residuos	Promedio
1	29,21	-0,31	-0,08
2	29,21	-0,01	
3	29,21	0,09	
4	32,85	-0,15	0,05
5	32,85	0,15	
6	32,85	0,15	
7	36,49	0,11	0,18
8	36,49	0,21	
9	36,49	0,21	
10	40,13	-0,43	-0,23
11	40,13	-0,13	
12	40,13	-0,13	
13	43,77	-0,07	0,06
14	43,77	0,03	
15	43,77	0,23	

Gráfico N°4: Análisis de los residuales

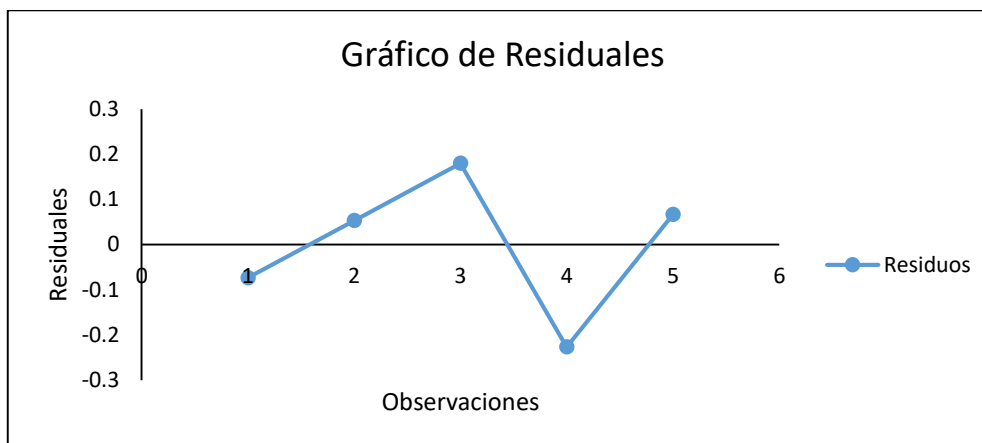


Tabla N° 18: Datos para el cálculo del análisis de varianza (ANOVA)

X (mg ZnO)	Y (ml EDTA)	Promedio Y	(Promedio Y - Y) ²	Y ²	X ²	YX
120,0	28,9	29,1	0,04	835,21	14400	3468
120,0	29,2		0,01	852,64	14400	3504
120,0	29,3		0,04	858,49	14400	3516
135,0	32,7	32,9	0,04	1069,29	18225	4414.5
135,0	33,0		0,01	1089,0	18225	4455
135,0	33,0		0,01	1089,0	18225	4455
150,0	36,6	36,7	0,01	1339,56	22500	5490
150,0	36,7		0	1346,89	22500	5505
150,0	36,7		0	1346,89	22500	5505
165,0	39,7	39,9	0,04	1576,09	27225	6550.5
165,0	40,0		0,01	1600,0	27225	6600
165,0	40,0		0,01	1600,0	27225	6600
180,0	43,7	43,8	0,01	1909,69	32400	7866
180,0	43,8		0	1918,44	32400	7884
180,0	44,0		0,04	1936,0	32400	7920
Media	36,49					

Tabla N° 19: Resumen de ANOVA

Fuente	GL	SC	Variancia	F exp	F tabla
Regresión	1	397,4880	397,48800	F ₁ = 9406,57	4,667
Residuales	13	0,5493	0,04226		
Falta de ajuste	3	0,2793	0,09311	F ₂ = 3,448	3,708
Error experimental	10	0,2700	0,02700		
Total	14	398,0373	28,43124		

Tabla N° 20: Resultados del test de Cochran

Especificaciones	G experimental < G tabla
G tabla	0,68
G Experimental	0,45

Análisis de resultado:

Al realizar la curva de regresión lineal (gráfico N°3) se obtuvo una representación gráfica lineal para el rango de concentración estudiado 80 % - 120 % (120 mg - 180 mg de ZnO), y una ecuación de la recta $y = 0,2427x + 0,0867$; con un coeficiente de correlación (r) de 0,9993 y un coeficiente de determinación (r²) de 0,9986 que cumplen con los criterios de aceptación ($r \geq 0,998$ y $r^2 \geq 0,995$), indicando que existe correlación lineal entre la concentración y el volumen de EDTA consumido .

Para la verificación de la linealidad se realizó el cálculo de coeficiente de variación de los factores respuesta y una prueba de t de Student para la pendiente, obteniendo un CV de 0,55 % menor a 2 % cumpliendo con el criterio establecido; y una pendiente significativamente distinta de cero para un grado de significación $\alpha = 0,05$ ($b = 0,2426$), cumpliendo la pendiente con el test de Student ya que $t_{exp} > t_{tabla}$ ($t_{exp} = 96,98$ y $t_{tabla} = 2,16$). Asimismo, se obtuvo que la pendiente se encuentra dentro de los intervalos de confianza calculados que no incluyen el valor de cero (0,2372 a 0,2480).

Para la verificación de la proporcionalidad se realizó una prueba de t Student para la variable independiente (intercepto) obteniendo un intercepto estadísticamente igual a cero para un grado de significación $\alpha = 0,05$ ($a = 0,0867$), cumpliendo el intercepto con el test de Student ya que $t_{exp} < t_{tabla}$ ($t_{exp} = 0,2286$ y $t_{tabla} = 2,16$). Asimismo, se obtuvo que el intercepto se encuentra dentro de los intervalos de confianza calculados que incluyen el valor de cero (-0,7322 a 0,9055).

Mediante el gráfico de residuales (Gráfico N°4) se demuestra la validez del modelo ya que la distribución de los puntos es aleatoria y no refleja ninguna tendencia.

La validez del modelo se verificó mediante el análisis de varianza (ANOVA) obteniendo homogeneidad en las varianzas con un G_{exp} de $0,45 < G_{tabla}$ (0,68) y una normalidad en los residuales ya que F_1 y F_2 calculados cumplen con los criterios de aceptación siendo $F_1_{exp} > F_1_{tabla}$ ($F_1_{exp} = 9406,57 > F_1_{tabla} = 4,667$) y $F_2_{exp} < F_2_{tabla}$ ($F_2_{exp} = 3,448 < F_2_{tabla} = 3,708$).

Por tanto, a través de este parámetro se demuestra que el método es capaz de proporcionar resultados (volumen de EDTA consumido) directamente proporcionales a la concentración del analito (ZnO) en la muestra dentro del rango establecido (80-120 % de la concentración nominal).

6.11.2 Linealidad del método

La linealidad del método se realizó siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 5.23.2.2 utilizando concentraciones del 80 %, 90 %, 100 %, 110 % y 120 % de la concentración nominal. Los resultados obtenidos se muestran a continuación:

Tabla N° 21: Resultados factor respuesta en Linealidad del método

Linealidad del Método						
Nivel	X	Y	XY	X ²	Y ²	f (y/x)
1 (80%)	120,0	44,9	5388	14400	2016,01	0,37417
	120,0	44,8	5376	14400	2007,04	0,37333
	120,0	44,9	5388	14400	2016,01	0,37417
2 (90%)	135,0	50,3	6790.5	18225	2530,09	0,37259
	135,0	50,6	6831	18225	2560,36	0,37481
	135,0	50,4	6804	18225	2540,16	0,37333
3 (100%)	150,0	56,3	8445	22500	3169,69	0,37533
	150,0	56,5	8475	22500	3192,25	0,37667
	150,0	56,3	8445	22500	3169,69	0,37533
4 (110%)	165,0	61,8	10197	27225	3819,24	0,37455
	165,0	61,5	10147.5	27225	3782,25	0,37273
	165,0	61,7	10180.5	27225	3806,89	0,37394
5 (120%)	180,0	67,5	12150	32400	4556,25	0,37500
	180,0	67,4	12132	32400	4542,76	0,37444
	180,0	67,7	12186	32400	4583,29	0,37611
Promedio						0,374433895
s						0,001165186
CV						0,31%

X: mg adicionados de ZnO

Y: mL de EDTA consumido

Gráfico N°5: Curva de regresión lineal.

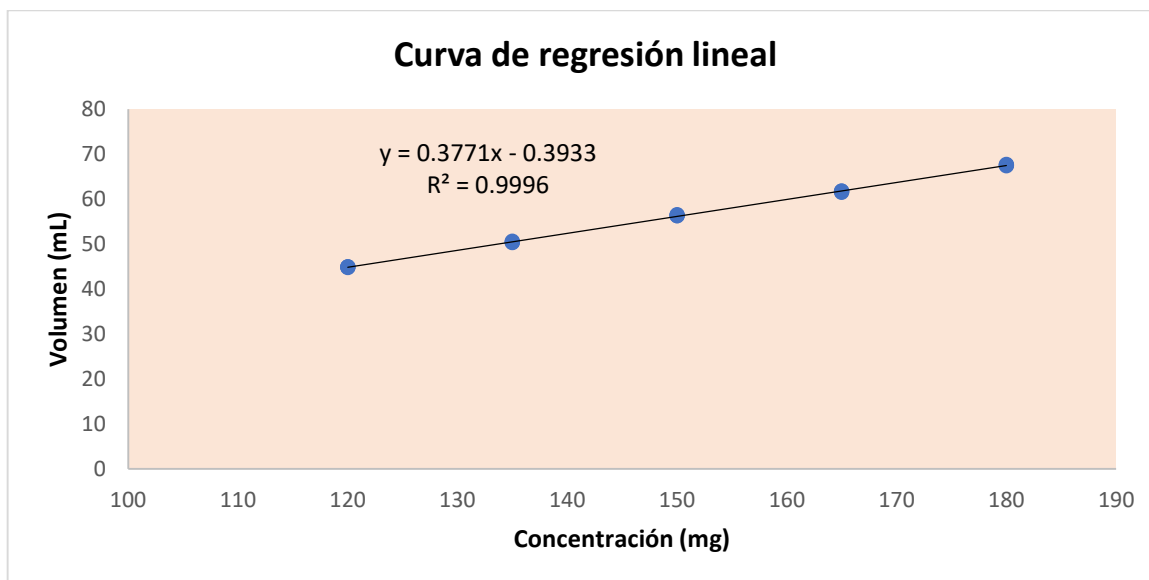


Tabla N° 22: Resultados del análisis de regresión lineal del método

Estadísticas de la regresión	
Coefficiente de correlación múltiple	0,999795362
Coefficiente de determinación R²	0,999590765
R² ajustado	0,999559286
Error típico	0,173869978
Observaciones	15

Tabla N° 23: Resultados prueba F

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F (calculado)	Valor crítico de F
Regresión	1	959,93	959,9363	31753,6191	2,06311E-23
Residuos	13	0,39	0,0302		
Total	14	960,3293			

Tabla N° 24: Resultados de los intervalos de confianza y prueba t para la pendiente e intercepto

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%
Intercepción	-0.3933	0.3206	-1.2268	0.2416	-1.085985	0.2992
Pendiente	0.3771	0.0021	178.1954	2.06311E-23	0.372517	0.3816

Tabla N° 25: Resultado de Análisis residuales

Observación	Pronóstico para Y (mL)	Residuos	Promedio
1	44,86	0,04	0,01
2	44,86	-0,06	
3	44,86	0,04	
4	50,52	-0,22	-0,08
5	50,52	0,08	
6	50,52	-0,12	
7	56,17	0,13	0,19
8	56,17	0,33	
9	56,17	0,13	
10	61,83	-0,03	-0,16
11	61,83	-0,33	
12	61,83	-0,13	
13	67,49	0,01	0,05
14	67,49	-0,09	
15	67,49	0,21	

Gráfico N°6: Análisis de los residuos (linealidad del método)



Tabla N° 26: Cálculo para el análisis de varianza (ANOVA).

X (mg ZnO)	Y (ml EDTA)	Promedio Y	(Promedio Y-Y)2	Y ²	X ²	YX
120,0	44,9	44,9	0,0	2016,01	14400	5388
120,0	44,8		0,01	2007,04	14400	5376
120,0	44,9		0,0	2016,01	14400	5388
135,0	50,3	50,4	0,01	2530,09	18225	6790,5
135,0	50,6		0,04	2560,36	18225	6831
135,0	50,4		0,0	2540,16	18225	6804
150,0	56,3	56,4	0,01	3169,69	22500	8445
150,0	56,5		0,01	3192,25	22500	8475
150,0	56,3		0,01	3169,69	22500	8445
165,0	61,8	61,7	0,01	3819,24	27225	10197
165,0	61,5		0,04	3782,25	27225	10147,5
165,0	61,7		0,0	3806,89	27225	10180,5
180,0	67,5	67,5	0,0	4556,25	32400	12150
180,0	67,4		0,01	4542,76	32400	12132
180,0	67,7		0,04	4583,29	32400	12186
Media	56,2					

Tabla N° 27: Resumen de ANOVA

Fuente	GL	SC	Variancia	F exp	F tabla
Regresión	1	959,9363	959,93633	F ₁ = 31753,62	4,667
Residuales	13	0,3930	0,03023		
Falta de ajuste	3	0,2030	0,06767	F ₂ = 3,561	3,708
Error experimental	10	0,1900	0,01900		
total	14	960,3293	68,59495		

Tabla N° 28: test de Cochran

G de Cochran	
Especificaciones	G experimental < G tabla
G tabla	0,68
G Experimental	0,35

Análisis de resultado:

Al realizar la curva de regresión lineal (gráfico N°5) se obtuvo una representación gráfica lineal para el rango de concentración estudiado 80% - 120 % (120 mg - 180 mg de ZnO), y una ecuación de la recta $y = 0,3771x - 0,3933$; con un coeficiente de correlación (r) de 0,999 y un coeficiente de determinación (r²) de 0,999 que cumplen con los criterios de aceptación ($r \geq 0,998$ y $r^2 \geq 0,995$), indicando que existe correlación lineal entre la concentración y el volumen de EDTA consumido .

Para la verificación de la linealidad se realizó el cálculo de coeficiente de variación de los factores respuesta y una prueba de t de Student para la pendiente, obteniendo un CV de 0,31 % menor al 3 % cumpliendo con el criterio establecido; y una pendiente significativamente distinta de cero para un grado de significación $\alpha = 0,05$ ($b = 0,3771$), cumpliendo la pendiente con el test de Student ya que $t_{exp} > t_{tabla}$ ($t_{exp} = 178,1954$ y $t_{tabla} = 2,16$). Asimismo, se

obtuvo que la pendiente se encuentra dentro de los intervalos de confianza calculados que no incluyen el valor de cero (0,372517 a 0,3816).

Para la verificación de la proporcionalidad se realizó una prueba de t Student para la variable independiente (intercepto) obteniendo un intercepto estadísticamente igual a cero para un grado de significación $\alpha = 0,05$ ($a = -0,3933$), cumpliendo el intercepto con el test de Student ya que $t_{exp} < t_{tabla}$ ($t_{exp} = -1,2268$ y $t_{tabla} = 2,16$). Asimismo, se obtuvo que el intercepto se encuentra dentro de los intervalos de confianza calculados que incluyen el valor de cero (-1,085985 a 0,2992).

Mediante el gráfico de residuales (Gráfico N°6) se demuestra la validez del modelo ya que la distribución de los puntos es aleatoria y no refleja ninguna tendencia.

La validez del modelo se verificó mediante el análisis de varianza (ANOVA) obteniendo homogeneidad en las varianzas con un $G_{exp} 0,35 < G_{tabla} 0,68$ y una normalidad en los residuales ya que F_1 y F_2 calculados cumplen con los criterios de aceptación siendo $F_1 exp > F_1 tabla$ ($F_1 exp = 31753,62 > F_1 tabla = 4,667$) y $F_2 exp < F_2 tabla$ ($F_2 exp = 3,561 < F_2 tabla = 3,708$).

Por tanto, a través de este parámetro se demuestra que el método es capaz de brindar resultados (volumen de EDTA consumido) directamente proporcionales a la concentración del analito (ZnO) presente en la muestra dentro del rango establecido (80-120 % de la concentración nominal).

6.12 Precisión.

Se evaluó la precisión del método de valoración de óxido de cinc en Pasta al Agua mediante la repetibilidad del sistema, repetibilidad del método y precisión intermedia del método según el procedimiento descrito en el apartado 5.23.3

6.12.1 Repetibilidad del sistema.

Para el estudio de la repetibilidad del sistema se prepararon diez soluciones estándar de óxido de cinc a la concentración nominal (150 mg), se llevó a cabo el procedimiento descrito en el apartado 5.23.3.1. Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla:

Tabla N° 30: Resultados del volumen consumido de EDTA en la repetibilidad del sistema

Réplica	Volumen EDTA consumido (mL)
1	36,6
2	36,6
3	36,7
4	36,7
5	36,7
6	36,6
7	36,6
8	36,7
9	36,7
10	36,7
Media	36,66
s	0,05163
CV	0,14 %

Análisis de los resultados:

Se determinó el coeficiente de variación global de los resultados siendo de 0,14 % cumpliendo con el criterio de aceptación el cual es $CV < 1,0 \%$, esto indica que no hay variabilidad significativa de los resultados proporcionados por el instrumento.

6.12.2 Repetibilidad del método.

Para evaluar la repetibilidad del método se analizaron por triplicado soluciones muestras (producto terminado de Pasta al agua) y soluciones placebo a 3 niveles de concentración diferentes (80 %, 100 % y 120 %), realizado por un mismo analista, un mismo instrumento y en el mismo día. El procedimiento se llevó a cabo como se indica en el apartado 5.23.3.2.

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA
 POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA
 DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

Tabla N° 31: Resultados repetibilidad del método

Nive l	concentració n	Réplic a	mL EDTA consumid o por el placebo	mL EDTA consumid o por la muestra	Molarida d EDTA	mg ZnO encontrados
1	80 % (120,0 mg)	1	15,3	44,2	0,05018	118,02
		2		44,8	0,05018	120,47
		3		44,9	0,05018	120,88
Promedio						119,79
s						1,5460
CV						1,29 %
2	100 % (150,0 mg)		19,0	56,9	0,05018	154,77
				56,8	0,05018	154,36
				56,6	0,05018	153,55
Promedio						154,23
s						0,6237
CV						0,40 %
3	120 % (180,0mg)		23,3	67,50	0,05018	180,50
				67,60	0,05018	180,91
				67,40	0,05018	180,09
Promedio						180,50
s						0,41
CV						0,23 %

Tabla N° 32: Intervalos de confianza obtenidos

Intervalos de Confianza Individuales							
Superior	126,44		Superior	156,91		Superior	182,25
Inferior	113,13		Inferior	151,54		Inferior	178,74
Intervalos de Confianza Promedio							
Superior	123,63		Superior	155,77		Superior	181,51
Inferior	115,95		Inferior	152,68		Inferior	179,48
CV Global							0,64%
T-student gl (n-1)							4,303

Análisis de resultado:

El coeficiente de variación calculado para cada nivel de concentración es $\leq 2,0$ % dichos valores son 1,29 %, 0,4 %, 0,23 % indicando así, que no hay variabilidad significativa a causa del método para la obtención de resultados.

Los intervalos de confianza individual y global están dentro de los intervalos calculados, por lo cual el método es preciso al repetir el ensayo bajo las mismas condiciones operativas realizadas por un analista, equipo y día.

6.12.3 Precisión intermedia del método.

Para la evaluación de la precisión intermedia del método, se estudió la influencia de dos factores: día y analista. Cada analista preparo soluciones muestras como se menciona en el apartado 5.23.3.3, los resultados fueron los siguientes:

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA
 POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA
 DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

Tabla N° 33: Resultados Precisión intermedia del método

Analista	Dia 1			Dia 2			Dia 3		
	Volumen (mL)	Volumen Real (mL)	% R	Volumen (mL)	Volumen Real (mL)	%R	Volumen (mL)	Volumen Real (mL)	% R
Analista 1	56,3	37,3	101,18	56,9	37,9	102,81	56,4	37,4	101,45
	57	38,0	103,08	57,1	38,1	103,35	57	38	103,08
	57,1	38,1	103,35	57,1	38,1	103,35	56,8	37,8	102,91
		Media	102,54		Media	103,17		Media	102,48
		s	1,18		s	0,31		s	0,89
		CV	1,15		CV	0,30		CV	0,87
Analista 2	56,9	37,9	102,81	57	38	103,08	57	38	103,08
	57,1	38,1	103,35	56,5	37,5	101,73	56,44	37,4	101,56
	56,6	37,6	102	57,1	38,1	103,35	57,1	38,1	103,72
		Media	102,72		Media	102,72		Media	102,79
		s	0,68		s	0,87		s	1,11
		CV	0,66		CV	0,85		CV	1,08
Analista 3	54,9	35,9	97,38	55,2	36,2	98,20	55,8	36,8	99,83
	54,7	35,7	96,84	56,4	37,4	101,45	56	37	100,37
	54,3	35,3	95,76	55,6	36,6	99,28	56	37	100,37
		Media	96,66		Media	99,65		Media	100,19
		s	0,83		s	1,66		s	0,31
		CV	0,86		CV	1,66		CV	0,31
CV por dia		0,89			0,94			0,75	
CV global	0,86								

Análisis de los resultados:

Se efectuó una serie de análisis sobre la misma muestra a la concentración nominal pero en las diferentes condiciones operativas (diferentes días, analistas) se calculó el coeficiente de variación por día y analista también el coeficiente de variación global, obteniéndose valores inferiores al 2,0 % y para el CV global (0,86 %), dicho valor menor al 3,0 % lo que indica que los resultados del método no varían significativamente al cambiar las condiciones operativas propuestas.

6.13 Exactitud

Para el estudio de exactitud, se realizó por el método de placebo cargado, se prepararon soluciones a tres niveles de concentración 80 %, 100 %, 120 % de la concentración nominal, cada una analizado por triplicado, tal como se menciona en el acápite 5.23.4, los resultados obtenidos se muestran a continuación:

Tabla N° 34: Resultados porcentaje recuperado de ZnO

Nivel de concentración	Concentración teórica (mg)	Concentración encontrada (mg)	% Recuperado
80% Nivel 1	120,0	120,1	100,05
	120,0	119,2	99,37
	120,0	118,4	98,69
100% Nivel 2	150,0	151,8	101,18
	150,0	149,7	99,82
	150,0	151,0	100,64
110% nivel 3	180,0	179,8	99,90
	180,0	179,0	99,44
	180,0	179,4	99,67
		Media	99,86
		s	0,7263
		CV	0,73 %

Tabla N° 35: Resultados del test de student y Cochran para la exactitud

% Recuperado	Media	s^2	s^2 máx
100,05	99,37	0,4632	0,4694
99,37			
98,69			
101,18	100,55	0,4694	
99,82			
100,64			
99,90	99,67	0,0514	
99,44			
99,67			
G Cochran			
G tab	0,8709		
G exp	0,4769		
t Student			
t tabla	2,306		
t exp	0,5656		

Análisis de los resultados:

La recuperación es satisfactoria 99,86 % cumple con el criterio el cual indica que se debe de encontrar dentro del rango $100,0 \pm 2,0$ %. Se determinó el porcentaje del coeficiente de variación del 0,73 % menor al 2 %, revelando que no existe variabilidad en los resultados obtenidos. Se calculó el valor de G experimental 0,4769, siendo este menor al G de la tabla 0,8709, significa que las variancias de las tres concentraciones utilizadas son equivalentes, es decir que el factor de concentración no influye en la variabilidad de los resultados, por lo tanto, el método analítico empleado es exacto para el fin propuesto.

Al aplicar t- Student para demostrar la exactitud del método analítico se obtuvo la t experimental 0,5656 menor a la t de la tabla 2,306 esto indica que no existe diferencia significativa entre la recuperación media por lo que la exactitud es correcta.

VII. CONCLUSIÓN

Las condiciones establecidas en el método de valoración de óxido de cinc por la técnica propuesta fueron las adecuadas para llevar a cabo la validación, puesto que se cumple con criterio establecido para el test de idoneidad.

El método respondió satisfactoriamente a cada uno de los ensayos en la determinación de la robustez, demostrando ser un método robusto al realizar pequeñas modificaciones a las condiciones descritas.

Los resultados de los parámetros evaluados en la validación, indican que el método de valoración de óxido de cinc en Pasta al Agua fabricada por el laboratorio Mauricio Díaz Müller, aplicando la técnica de volumetría directa de formación de complejos, es apta para el fin propuesto, ya que cumplen con los criterios de aceptación establecidos para cada uno de los parámetros descritos en el RTCA 11.03.39:06 para la categoría I: precisión, exactitud, selectividad, linealidad e intervalo.

Queda evidenciado documentalmente que el método de valoración de óxido de cinc propuesto, conduce, con un alto grado de seguridad, a la obtención de resultados precisos y exactos, dentro de las especificaciones y los atributos de calidad previamente establecidos, por lo que el Laboratorio Mauricio Díaz Müller, puede utilizar nuestros resultados para elaborar el informe de la validación requerida para la renovación del Registro Sanitario del producto Pasta al Agua.

VIII. RECOMENDACIONES

- En la aplicación del método propuesto para la valoración de óxido de cinc en la Pasta al Agua, pesar exactamente los 600 mg de pasta, ya que se tiene que garantizar que vayan contenidos los 450 mg correspondientes al placebo, puesto que el placebo consume un volumen significativo de EDTA y en nuestro estudio queda demostrado que el método es válido para condiciones establecidas y pueda ser aplicado el modelo matemático.
- Verificar los resultados de selectividad aplicando la técnica de espectroscopia de absorción atómica, ya que esta técnica sería más selectiva para la determinación del óxido de cinc y no habría interferencias de otros metales presentes en la formulación.
- Revisar formulación del producto Pasta al agua y eliminar excipientes (Talco simple) que interfieren en el momento de la valoración de óxido de cinc.

IX. BIBLIOGRAFÍA

1. Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI). (2001). Validación de Métodos Analíticos. Validación de Métodos de Análisis en materias primas y especialidades farmacéuticas. Barcelona: AEFI.
2. Báez, E.M, Chávez, U.S y Díaz, M.V. (2012). Validación de un método volumétrico para la cuantificación de yodopovidona en solución al 10% aplicado a un estudio de estabilidad. Monografía para optar al título de químico farmacéutico no publicada. UNAN, León, Nicaragua.
3. Duffau B., Rojas F., Guerrero I., Roa L., Rodríguez L., Soto M., Aguilera M., Sandoval S. (2010). Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición. Santiago: Santiago.
4. F. Burriel Martí, F. Lucena Conde, S. arribas Jimeno, J. Hernández Méndez. (2001). Química Analítica Cualitativa. Madrid España: Paraninfo.
5. Gary, D. Cristian. (23 de febrero 2009). Química Analítica. México: Mexicana.
6. Gilbert, H., Ayres. (10 de junio del 2014). Análisis Químico Cuantitativa. Universidad de Texas Austin: Castillo S.A.
7. Harris C. Daniel (2007), Análisis químico cuantitativo (3° Edición). Editorial Reverte.

8. H. A. Flasehka, A. J. Barnard, Jr. P. E. Sturrock. Química Analítica Cuantitativa, Vol. 1. Introducción a los principios. Editorial Continental, México, España- Argentina, Chile.
9. ISO/IEC 17025:2005 General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories, ISO Geneva.
10. K. A. Connors. Curso de análisis farmacéutico. Editorial Reverté. S.a. valoraciones complejométricas. Pp87-100
11. Marchante Castellano, P., & et-all. Análisis químico farmacéutico Métodos Clásicos Cuantitativos. Habana-Cuba: Universidad de la Habana.
12. Miller, J.N., y Miller, J.C. (2002). Estadística y Quimiometría para Química Analítica (4ª Ed.). la calidad de las medidas analíticas. Páginas 100-101. España: Pearson Prentice Hall.
13. Oficina de las Naciones Unidas contra las Drogas y el Delito (UNODC). (2010). Directrices para la valoración de métodos analíticos y calibración del equipo utilizado para el análisis de drogas ilícitas y materiales del equipo utilizado para el análisis de drogas ilícitas y materiales incautados y especímenes biológicos. New York.
14. Organización Mundial de la Salud. (1998). Guía de la OMS sobre los requisitos de las prácticas adecuadas de fabricación (PAF). Segunda parte: Validación.
15. Quintanilla Vargas, Sehtman A. Donatti L. (2007) Pastas y soluciones. Argentina, Buenos Aires. Disponible en http://www.atdermae.com/pdfs/atd_30_04_06.pdf

16. R. A. Day Jr., A. L. Underwood. Química Analítica Cuantitativa. (5ª Ed.) Editorial continental, Mexico, Argentina, Brasil, Colombia, Costa Rica, Chile, España, Guatemala, Perú, Puerto Rico, Venezuela.
17. Rayo K., Rivera T. (2014). Validación del método analítico de cuantificación de ibuprofeno en tabletas de 600 mg por cromatografía líquida de alta resolución. Monografía para optar al título de Licenciado Químico-Farmacéutico. UNAN- León, Nicaragua.
18. Reglamento Técnico Centroamericano. Productos farmacéuticos. Medicamentos de uso humano. Buenas Prácticas de Manufactura. (RTCA. 11.03.42:07)
19. Reglamento de la Ley 292. Ley de Medicamentos y Farmacias.
20. Reglamento Técnico Centroamericano. Productos Farmacéuticos. Medicamentos de uso humano. Requisitos de Registro Sanitario. (RTCA. 11.03.59:11)
21. Reglamento Técnico Centroamericano. Productos farmacéuticos. Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos. (RTCA. 11.03.39:06).
22. Skoog, West M., Holler S., Crouch R., (2001) Fundamentos de Química Analítica, Séptima Edición. Mexico: Internacional Thomson Editores S.A.
23. United States Pharmacopeial (Farmacopea de los Estados Unidos). USP39/NF34.
24. Zamora, R. (2013). Generalidades Óxido de Zinc. Recuperado de: <https://www.lifeder.com/oxido-de-zinc/>

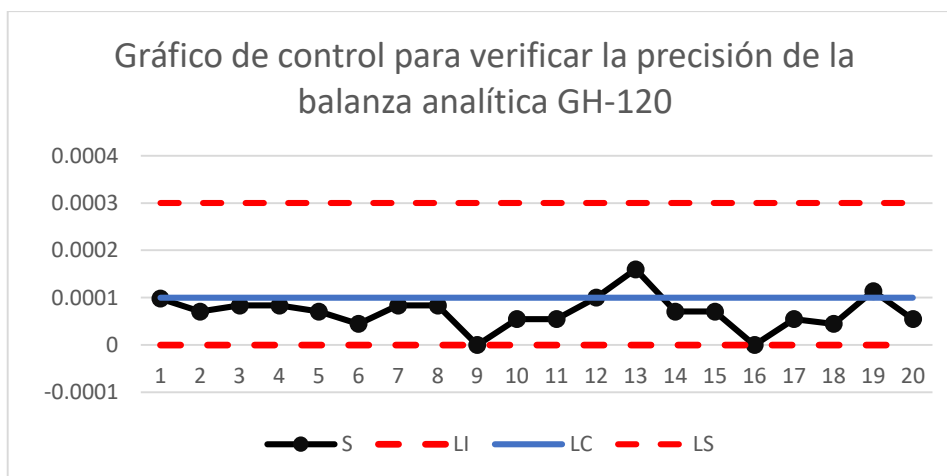
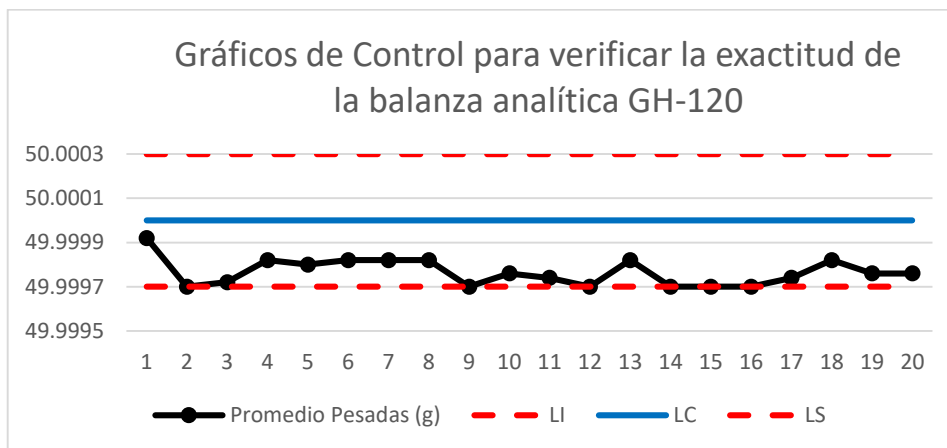
X. ANEXOS

Anexo 1. Carta de Gráfico de Control para la medición de Exactitud y Precisión de la Balanza.

Carta de Control para la verificación de la Exactitud y Precisión de la balanza analítica GH-120							
Fecha	Peso (g)	Fecha	Peso (g)	Fecha	Peso (g)	Fecha	Peso (g)
Día 1	49.9998	Día 6	49.9998	Día 11	49.9998	Día 16	49.9997
	50.0001		49.9999		49.9998		49.9997
	49.9999		49.9998		49.9997		49.9997
	49.9999		49.9998		49.9997		49.9997
	49.9999		49.9998		49.9997		49.9997
Promedio	49.99992	Promedio	49.99982	Promedio	49.99974	Promedio	49.9997
s	9.79796E-05	s	4.47214E-05	s	5.47723E-05	s	0
CV	0.000195959	CV	8.9443E-05	CV	0.000109545	CV	0
Día 2	49.9998	Día 7	49.9999	Día 12	49.9997	Día 17	49.9997
	49.9996		49.9997		49.9996		49.9998
	49.9997		49.9998		49.9998		49.9997
	49.9997		49.9998		49.9998		49.9997
	49.9997		49.9999		49.9996		49.9998
Promedio	49.9997	Promedio	49.99982	Promedio	49.9997	Promedio	49.99974
s	7.07107E-05	s	8.3666E-05	s	1E-04	s	5.47723E-05
CV	0.000141422	CV	0.000167333	CV	0.000200001	CV	0.000109545
Día 3	49.9998	Día 8	49.9997	Día 13	49.9996	Día 18	49.9998
	49.9998		49.9999		49.9998		49.9999
	49.9997		49.9999		50		49.9998
	49.9997		49.9998		50		49.9998
	49.9996		49.9998		49.9997		49.9998
Promedio	49.99972	Promedio	49.99982	Promedio	49.99982	Promedio	49.99982
s	8.3666E-05	s	8.3666E-05	s	0.00016	s	4.47214E-05
CV	0.000167333	CV	0.000167333	CV	0.000320001	CV	8.9443E-05
Día 4	49.9999	Día 9	49.9997	Día 14	49.9997	Día 19	49.9999
	49.9997		49.9997		49.9996		49.9996
	49.9998		49.9997		49.9998		49.9998
	49.9998		49.9997		49.9997		49.9998
	49.9999		49.9997		49.9997		49.9997

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA
 POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA
 DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

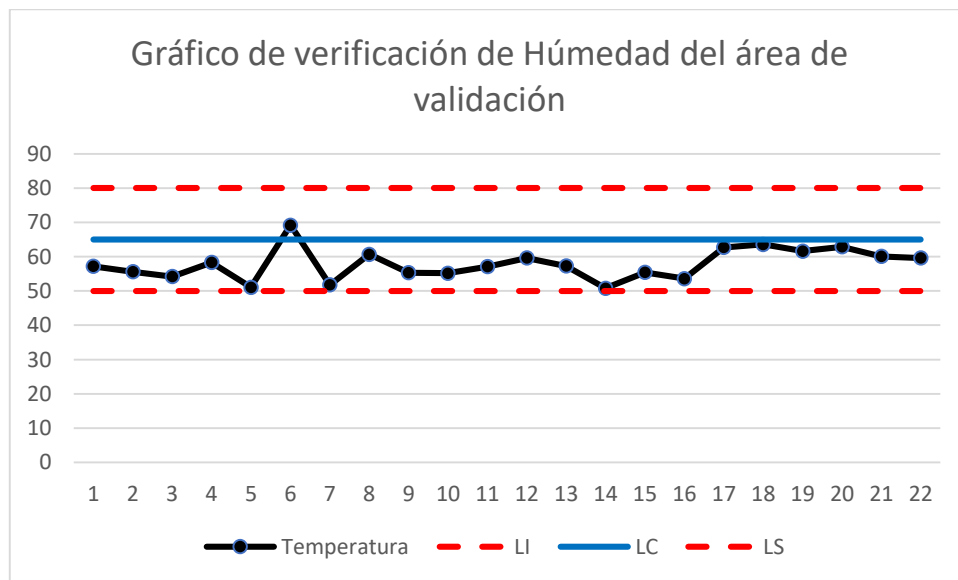
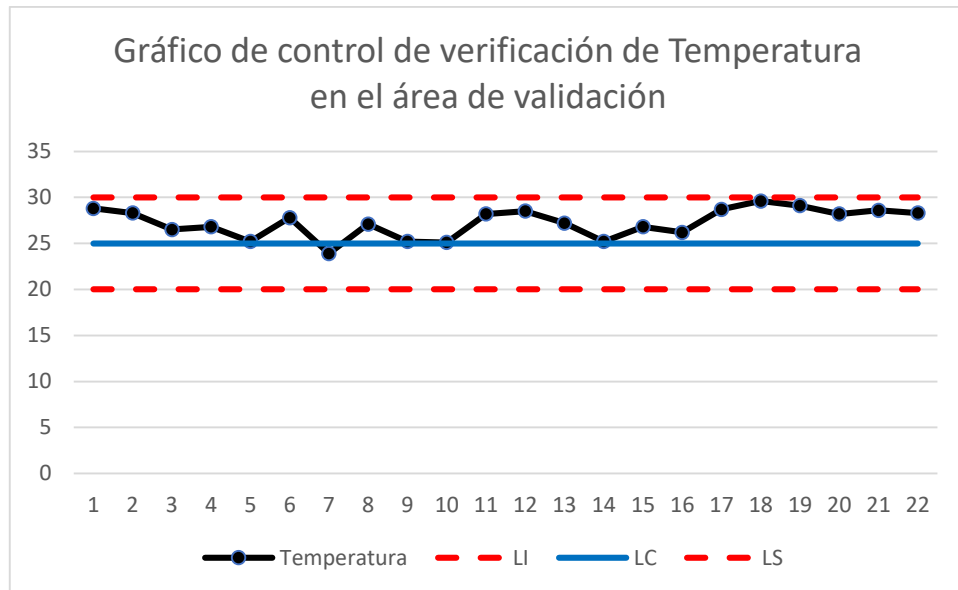
Promedio	49.99982	Promedio	49.9997	Promedio	49.9997	Promedio	49.99976
s	8.3666E-05	s	0	s	7.07107E-05	s	0.000114018
CV	0.000167333	CV	0	CV	0.000141422	CV	0.000228036
Día 5	49.9998	Día 10	49.9997	Día 15	49.9996	Día 20	49.9997
	49.9999		49.9997		49.9998		49.9997
	49.9997		49.9998		49.9997		49.9998
	49.9998		49.9998		49.9997		49.9998
	49.9998		49.9998		49.9997		49.9998
Promedio	49.9998	Promedio	49.99976	Promedio	49.9997	Promedio	49.99976
s	7.07107E-05	s	5.47723E-05	s	7.07107E-05	s	5.47723E-05
CV	0.000141422	CV	0.000109545	CV	0.000141422	CV	0.000109545
S_{GLOBAL}	6.99018E-05						
CV_{GLOBAL}	0.000139804						



Anexo 2. Registro de Temperatura y Humedad durante la validación

Registro de Temperatura y Humedad durante la validación		
Fecha	Temperatura (°C)	Humedad relativa (%)
Día 1	28.8	57.2
Día 2	28.3	55.6
Día 3	26.5	54.2
Día 4	26.8	58.3
Día 5	25.2	51.1
Día 6	27.8	69.2
Día 7	23.9	46.9
Día 8	27.1	60.7
Día 9	25.2	55.3
Día 10	25.1	55.2
Día 11	28.2	57.1
Día 12	28.5	59.69
Día 13	27.2	57.3
Día 14	25.2	50.8
Día 15	26.8	55.4
Día 16	26.2	45.6
Día 17	28.7	48.4
Día 18	29.6	63.6
Día 19	29.1	61.6
Día 20	28.2	62.9
Día 21	28.6	60.1
Día 22	28.3	59.6

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”



“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA
 POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA
 DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

Anexo 3. Nivel de significación del Test de Cochran ($\alpha=0.05$)

v	k (nº de grupos)												
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	30
1	0.9985	0.9669	0.9065	0.8412	0.7808	0.7271	0.6798	0.6385	0.6020	0.5410	0.4709	0.3894	0.2929
2	0.9750	0.8709	0.7679	0.6838	0.6161	0.5612	0.5157	0.4775	0.4450	0.3924	0.3346	0.2705	0.1980
3	0.9392	0.7977	0.6841	0.5981	0.5321	0.4800	0.4377	0.4027	0.3733	0.3264	0.2758	0.2205	0.1593
4	0.9057	0.7457	0.6287	0.5441	0.4803	0.4307	0.3910	0.3584	0.3311	0.2880	0.2419	0.1921	0.1377
5	0.8772	0.7071	0.5895	0.5065	0.4447	0.3974	0.3595	0.3286	0.3029	0.2624	0.2195	0.1735	0.1237
6	0.8534	0.6771	0.5598	0.4783	0.4184	0.3726	0.3362	0.3067	0.2823	0.2439	0.2034	0.1602	0.1137
7	0.8332	0.6530	0.5365	0.4564	0.3980	0.3535	0.3185	0.2901	0.2666	0.2299	0.1911	0.1501	0.1061
8	0.8159	0.6333	0.5175	0.4387	0.3817	0.3384	0.3043	0.2768	0.2541	0.2187	0.1815	0.1422	0.1002
9	0.8010	0.6167	0.5017	0.4241	0.3682	0.3259	0.2926	0.2659	0.2439	0.2098	0.1736	0.1357	0.0958
10	0.7880	0.6025	0.4884	0.4118	0.3568	0.3154	0.2829	0.2568	0.2353	0.2020	0.1671	0.1303	0.0921
16	0.7341	0.5466	0.4366	0.3645	0.3135	0.2756	0.2462	0.2226	0.2032	0.1737	0.1429	0.1108	0.0771
36	0.6602	0.4748	0.3720	0.3066	0.2612	0.2278	0.2022	0.1820	0.1655	0.1403	0.1144	0.0879	0.0604
144	0.5813	0.4031	0.3093	0.2513	0.2119	0.1833	0.1616	0.1446	0.1308	0.1100	0.0889	0.0675	0.0457
∞	0.5000	0.3333	0.2500	0.2000	0.1667	0.1429	0.1250	0.1111	0.1000	0.0833	0.0667	0.0500	0.0333

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA
 POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA
 DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

Anexo 4. Distribución de t- Student. Área de una cola ($\alpha=0.05$)

v	α							
	0.50	0.20	0.10	0.05	0.02	0.01	0.002	0.001
1	1.000	3.078	6.314	12.706	31.821	63.656	318.289	636.578
2	0.816	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925	22.328	31.600
3	0.765	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841	10.214	12.924
4	0.741	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604	7.173	8.510
5	0.727	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032	5.894	6.869
6	0.718	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707	5.208	5.959
7	0.711	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499	4.785	5.408
8	0.706	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355	4.501	5.041
9	0.703	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250	4.297	4.781
10	0.700	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169	4.144	4.587
11	0.697	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106	4.025	4.437
12	0.695	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055	3.930	4.318
13	0.694	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012	3.852	4.221
14	0.692	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977	3.787	4.140
15	0.691	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947	3.733	4.073
16	0.690	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921	3.686	4.015
17	0.689	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898	3.646	3.965
18	0.688	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878	3.610	3.922
19	0.688	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861	3.579	3.883
20	0.687	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845	3.552	3.850
21	0.686	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831	3.527	3.819
22	0.686	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819	3.505	3.792
23	0.685	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807	3.485	3.768
24	0.685	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797	3.467	3.745
25	0.684	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787	3.450	3.725
26	0.684	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779	3.435	3.707
27	0.684	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771	3.421	3.689
28	0.683	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763	3.408	3.674
29	0.683	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756	3.396	3.660
30	0.683	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750	3.385	3.646
40	0.681	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704	3.307	3.551
50	0.679	1.299	1.676	2.009	2.403	2.678	3.261	3.496
60	0.678	1.296	1.671	2.000	2.390	2.660	3.232	3.460

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA
 POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA
 DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

Anexo 5. Tabla de distribución de F. valores que dejan un área de cola ($\alpha=0.05$) en función de los grados de libertad de la distribución

v_2	v_1														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	20	30	40	50	100
1	161.446	199.499	215.707	224.583	230.160	233.988	236.767	238.884	240.543	241.882	248.016	250.096	251.144	251.774	253.043
2	18.513	19.000	19.164	19.247	19.296	19.329	19.353	19.371	19.385	19.396	19.446	19.463	19.471	19.476	19.486
3	10.128	9.552	9.277	9.117	9.013	8.941	8.887	8.845	8.812	8.785	8.660	8.617	8.594	8.581	8.554
4	7.709	6.944	6.591	6.388	6.256	6.163	6.094	6.041	5.999	5.964	5.803	5.746	5.717	5.699	5.664
5	6.608	5.786	5.409	5.192	5.050	4.950	4.876	4.818	4.772	4.735	4.558	4.496	4.464	4.444	4.405
6	5.987	5.143	4.757	4.534	4.387	4.284	4.207	4.147	4.099	4.060	3.874	3.808	3.774	3.754	3.712
7	5.591	4.737	4.347	4.120	3.972	3.866	3.787	3.726	3.677	3.637	3.445	3.376	3.340	3.319	3.275
8	5.318	4.459	4.066	3.838	3.688	3.581	3.500	3.438	3.388	3.347	3.150	3.079	3.043	3.020	2.975
9	5.117	4.256	3.863	3.633	3.482	3.374	3.293	3.230	3.179	3.137	2.936	2.864	2.826	2.803	2.756
10	4.965	4.103	3.708	3.478	3.326	3.217	3.135	3.072	3.020	2.978	2.774	2.700	2.661	2.637	2.588
20	4.351	3.493	3.098	2.866	2.711	2.599	2.514	2.447	2.393	2.348	2.124	2.039	1.994	1.966	1.907
30	4.171	3.316	2.922	2.690	2.534	2.421	2.334	2.266	2.211	2.165	1.932	1.841	1.792	1.761	1.695
40	4.085	3.232	2.839	2.606	2.449	2.336	2.249	2.180	2.124	2.077	1.839	1.744	1.693	1.660	1.589
50	4.034	3.183	2.790	2.557	2.400	2.286	2.199	2.130	2.073	2.026	1.784	1.687	1.634	1.599	1.525
100	3.936	3.087	2.696	2.463	2.305	2.191	2.103	2.032	1.975	1.927	1.676	1.573	1.515	1.477	1.392

“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

Anexo 6. Equipos y Materiales utilizados.



“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

Anexo 7. Coloración obtenida en el punto final de la estandarización de EDTA 0.05 M con Carbonato de Calcio.



Anexo N° 8. Carbonización y preparación de las muestras a analizar.



“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

Anexo N°9. Valoración de Pasta al Agua



“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE VALORACIÓN DE ÓXIDO DE CINCO EN PASTA AL AGUA FABRICADA POR EL LABORATORIO MAURICIO DÍAZ MÜLLER, APLICANDO LA TÉCNICA DE VOLUMETRÍA DIRECTA DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS, SEPTIEMBRE 2017- SEPTIEMBRE 2018.”

Anexo N°10. Analistas

