

Validación de un método de determinación de Na, K, Cd, Pb y Hg por Espectrometría de Absorción Atómica en policosanol y extracto purificado de cera de caña

Ana Cecilia Rodríguez Rodríguez, Bárbara Luna Saucedo, Liliana Martín Chávez, Javier Mosquera Sierra y Mercedes Zaldívar Subirat.

*Laboratorio de Absorción Atómica, Departamento de Aseguramiento de la Calidad, Dirección de Producción, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Avenida 25 y 158, Playa, Apartado Postal 6414, Ciudad de La Habana, Cuba.

Recibido: 28 de octubre de 2003. Aceptado: 9 de septiembre de 2004.

Palabras clave: validación de técnicas analíticas, espectrometría de absorción atómica, principios activos.

Key words: validation of analytical methodology, atomic absorption spectrometry, active pharmaceutical ingredients.

RESUMEN. Se desarrolló y validó una metodología analítica para la determinación por espectrometría de absorción atómica de los contenidos de Na, K, Cd, Pb y Hg en policosanol y extracto purificado de cera de caña. Los criterios de validación fueron los siguientes: linealidad, proporcionalidad, exactitud, especificidad y precisión en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad. Para el Cd, Pb y Hg, se calcularon los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) en dos espectrómetros de absorción atómica. Los criterios de aceptación en todos los casos fueron tomados de la Sección Catalana de Normas de Buena Fabricación y Control de Calidad, excepto para los límites de detección y cuantificación, donde se exige que la suma de metales pesados debe ser menor de 10 ppm, especificación de calidad del producto que aparece en el registro sanitario del medicamento. En el estudio de linealidad se encontraron coeficientes de variación de los factores de respuesta inferiores al 5 % y valores aceptables para la varianza del error experimental total y la desviación estándar de la pendiente, lo que denota una buena linealidad. En cuanto a la proporcionalidad, se comprobó que el sistema no presenta sesgo. Para los dos productos y los cinco elementos analizados la recuperación se situó entre el 97 y 103 %, lo que indicó una adecuada recuperación-exactitud del método. En cuanto a la especificidad, se verificó que en ningún caso hay interferencia de la matriz en la determinación de Na y K. Los coeficientes de variación fueron menores del 5 %, lo que indicó una precisión adecuada del método analítico. Igual resultado se obtuvo para el caso de la reproducibilidad. Se calcularon los LD y LC en los dos espectrómetros, obteniéndose los mejores valores en el GBC 932^{plus}. La validación de esta metodología forma parte de las buenas prácticas de laboratorio en el control de calidad, imprescindible para el otorgamiento de la licencia nacional e internacional y la comercialización de principios activos en la red nacional y en el extranjero.

ABSTRACT. An analytical methodology for the determination of Na, K, Cd, Pb and Hg by atomic absorption spectrometry in policosanol and purified extract of cane wax was developed and validated. The validation criteria were the following: linearity, proportionality, specificity, accuracy and precision in repeatability and reproducibility conditions. The limits of detection (LD) and the limits of quantification (LQ) were calculated in cases of Cd, Pb and Hg in two spectrometers of atomic absorption. In all cases the acceptance criteria were the same of the Catalan Section of Norms of Good Manufacture and Control of Quality, except in the cases of the LD and and LQ which noticed according to the demands of the pharmacopoeia for the control of heavy metals in similar products. In the linearity study the coefficients of variation of the response factors were inferior to 5 % and acceptable values for the variance of the total experimental error and the standard deviation of the slope, what denotes a good linearity. By the proportionality test was demonstrated that the system had not bias. For the two products and the five analysed elements the recovery was located between the 97 and 103 %, as indication of satisfactory recovery-accuracy of the method. For the specificity it was verified that in any case there is not interference of the matrix in the determination of Na and K.

The coefficients of variation were lower than 5 % what indicated an appropriate precision of the analytic method and equal result was obtained for the case of the reproducibility. The LD and LC were calculated in the two spectrometers, and in the GBC it was obtained the best values. The validation of this methodology is part of the good quality control laboratory practices, indispensable for the fulfilment of the demands of the national and international license and the commercialization of active pharmaceutical ingredients in the national level and abroad.

INTRODUCCION

En la selección y desarrollo de un método analítico deben perfilarse cuatro pasos básicos: (1) generación de datos, (2) revisión de la literatura, (3) desarrollo del método (perfeccionar las condiciones experimentales) y (4) validación del método antes de usarlo rutinariamente.¹ Una vez que el método analítico se ha desarrollado, se valida antes o durante su empleo.² Los laboratorios que pretenden alcanzar una elevada calidad en su trabajo, deben demostrar que sus resultados de medición tienen la adecuada exactitud y precisión. El control de calidad ha sido establecido para alcanzar esta meta y la mayoría de estas prácticas se describen en la literatura y(o) en normas sobre aseguramiento de la calidad. La aplicabilidad de un método analítico dado tiene que asegurarse sobre la base de un buen diseño y un cuidadoso es-

tudio de validación del método.¹ La validación no implica que el método está libre de errores, sólo confirma que es conveniente para un propósito determinado y debe quedar claramente expresado en el Manual de Calidad, de forma tal que cualquier analista pueda utilizarlo sin dificultad. Los métodos y procedimientos utilizados tienen que ser validados a través del examen y el aporte de evidencias objetivas que demuestren que satisfacen los requisitos particulares para los cuales están destinados.² En algunos casos es necesario utilizar métodos que no han sido normalizados y estos deben ser validados apropiadamente antes de ser utilizados. Por tanto, se deben desarrollar procedimientos con una información precisa de su alcance, identificación, descripción del objeto, criterios a validar, patrones de referencia, condiciones ambientales, criterios y/o requisitos para la aceptación o rechazo. La validación del método establece que sus características son adecuadas para el uso pensado, y asegura la calidad y fiabilidad del método.³

En la industria farmacéutica, la validación de un método analítico es indispensable para el registro de cada producto.⁴ Muchos de los principios, procedimientos y requisitos de la validación son comunes a la mayoría de métodos analíticos. La validación se realiza a través de un conjunto de experimentos, bajo las condiciones específicas del método, el mismo tipo de matriz y empleando muestras dopadas. Esto trae consigo la evaluación de varios indicadores como exactitud, precisión (reproducibilidad), linealidad, sensibilidad, límites de detección y cuantificación, recobrado y especificidad (selectividad).¹ Las definiciones y los procedimientos para el cálculo de estos indicadores están adecuadamente descritos en muchas publicaciones relacionadas con el análisis biomédico y farmacéutico.⁵⁻¹⁴ Para productos industriales (drogas), los regulaciones exigen la identificación de impurezas a concentraciones de 0,1 % para la mayoría de los compuestos.^{15,16} Debe tenerse en cuenta qué técnica permite esto en cuanto a límites de detección y selectividad. Para cuantificar una sustancia a un nivel del 0,1 %, la técnica elegida debe tener un límite de determinación de por lo menos 0,05 %.¹

El policosanol y el extracto purificado de cera de caña de azúcar son principios activos cuyos componentes principales son una mezcla de al-

coholes alifáticos superiores aislada de esa planta y utilizada en la preparación de las formas farmacéuticas Ateromixol® y Vasoactol®. El primero es un medicamento que se emplea como terapia hipocolesterolemizante en pacientes con hiperlipoproteinemia primaria tipo IIa o IIb. El segundo es un suplemento alimenticio para completar la dieta diaria de personas en situaciones de especial esfuerzo y desgaste físico tales como individuos de mediana y avanzada edad y/o deportistas.

La validación de una metodología analítica para la determinación de Na, K, Cd, Pb y Hg por espectrometría de absorción atómica (EAA) en muestras de policosanol y extracto purificado de cera de caña resulta novedoso debido a que no existen referencias en cuanto al procedimiento a seguir para la preparación y determinación de esos metales en los productos mencionados.

El objetivo de este trabajo fue el desarrollo y validación del método analítico para la determinación de los contenidos de Na, K, Cd, Pb y Hg por espectrometría de absorción atómica de llama en muestras de policosanol y extracto purificado de cera de caña.

MATERIALES Y METODOS

Equipos

La pesada de las muestras se realizó en balanza analítica Mettler con precisión de $\pm 0,0001$ g. Para la digestión de las muestras, se utilizaron baños de arena modelo RECISPLAC, marca Selecta, de fabricación española. En el caso del mercurio, se empleó un sistema cerrado (bombas de digestión ácida marca Paar). En las determinaciones por absorción atómica, se utilizaron dos espectrómetros, el UNICAM Solar 919 de fabricación inglesa y el GBC 932_{plus} fabricado en Australia.

Reactivos

Para la digestión de las muestras se utilizó ácido nítrico y una mezcla compuesta por los ácidos nítrico, sulfúrico y perclórico de calidad puros para análisis (Merck) y en relación 10:4:1.

Las disoluciones patrones que se utilizaron en la preparación de las curvas de calibración se obtuvieron a partir de disoluciones de referencia de 1 000 ppm de Na, K, Cd, y Pb, las que se prepararon a partir de la pesada y disolución de reacti-

vos espectralmente puros (Specpure). En todos los casos, se enrasó con agua destilada.

La cristalería utilizada fue sometida al procedimiento de limpieza siguiente: lavado con detergente y agua corriente, con disolución de ácido nítrico (1+1), luego con agua corriente, enjuague con disolución de ácido clorhídrico (1+1) y por último, enjuague con agua corriente y agua destilada.

Digestión de las muestras para la determinación de Na, K, Cd y Pb

Se pesaron 500 mg de policosanol y extracto purificado de cera de caña con precisión de $\pm 0,0001$ g y se colocaron en un matraz de 100 mL, se añadieron 2 mL de HNO₃ concentrado, se tapó con un embudo y luego, se colocó en el baño de arena entre 100 y 150 °C hasta formación de una sustancia sólida oscura. Se retiró el matraz del baño de arena, se dejó refrescar para añadir 2 mL más de ácido nítrico y se colocó nuevamente en el baño para continuar la digestión. Esto se repitió hasta que desapareció la sustancia sólida oscura. En este momento, se adicionaron 2 mL de mezcla ácida y se aumentó la temperatura entre 250 y 300 °C, hasta que la disolución se volvió totalmente transparente y se formaron cristales de sales húmedas sin llevar a sequedad.

Ensayo en blanco. Se repitió el procedimiento anterior a partir de la adición de los primeros 2 mL de ácido nítrico. Por cada muestra a digerir se prepararon tres réplicas.

Digestión de las muestras para la determinación de Hg

Se pesaron 100 mg con precisión de $\pm 0,0001$ g en papel de pesada, y se trasvasó a la tasa de teflón de la bomba de digestión Paar. Se añadieron 3 mL de ácido nítrico concentrado, se colocó en la bomba de digestión, la cual se selló convenientemente y se colocó en la estufa a 90 °C durante 2 h. Transcurrido este tiempo, se retiró la bomba de la estufa y se esperó que alcanzara la temperatura ambiente.

Ensayo en blanco. Se repitió el procedimiento a partir de la adición de los 3 mL de ácido nítrico. Por cada muestra a digerir se prepararon tres réplicas.

Dilución de las muestras digeridas

Para determinar el contenido de Na, Cd y Pb, se trasvasó cuantitativamente el contenido de los matraces, incluyendo los blancos, a vo-

lumétricos de 25 mL y se enrasó con agua destilada.

Para determinar el contenido de K, se tomó del volumétrico de 25 mL, una alícuota de 1 mL, se trasvasó a otro volumétrico de 25 mL y se enrasó con agua destilada.

Para determinar el contenido de Hg se trasvasó cuantitativamente el contenido de la tasa de teflón, incluyendo los blancos, a volumétricos de 10 mL y se enrasó con agua destilada.

Estudio de linealidad y proporcionalidad¹⁷

Como criterios para una buena linealidad del sistema se consideraron los siguientes:

- Coeficiente de variación de los factores de respuesta (CV_r) menor del 5 %.
- Prueba de linealidad de la pendiente b. A mayor pendiente mayor sensibilidad y a menor varianza de la pendiente S_b^2 mejor linealidad. Si t_{exp} es mayor que t_{tab} indica una elevada probabilidad de que b sea diferente de cero.

A partir de disoluciones patrones de 100 ppm de Na y K, se prepararon disoluciones por triplicado para cada elemento, en concentraciones de 1; 1,5; 2; 3 y 4 ppm y se midieron las absorbancias en el espectrómetro GBC 932^{plus}. Mediante un programa de cómputo (Qbrecta) que emplea el método de los mínimos cuadrados, se obtuvieron las expresiones de las rectas de calibración $y = b x + a$. Se calcularon los factores de respuesta f , ($\bar{f}$), las desviaciones estándar de f (DE_f) y los coeficientes de variación (CV_f) para los dos elementos. Posteriormente, se realizó la prueba de linealidad de la pendiente, para lo cual, se calculó la varianza del error experimental total o varianza residual $S^2_{y,x}$, la varianza de la pendiente S_b^2 y la desviación estándar o error estándar de la pendiente S_b . Se determinaron los límites de confianza $b \pm S_b$, los valores de t_{exp} (módulo de b dividido por S_b) y los valores de t_{tab} para n-2 grados de libertad y 95 % de confianza ($P = 0,05$).

Para el estudio de proporcionalidad, se obtuvo el valor de a, intercepción con el eje de las ordenadas u ordenada en el origen, el cual indica el error sistemático del método. En el caso ideal debe ser cero.

Se calculó la varianza del término independiente S_a^2 , la desviación estándar S_a y se obtuvieron los límites de confianza $a \pm t S_a$, para n-2

grados de libertad y $P = 0,05$. Si en estos límites se incluye el cero, se cumple la condición de proporcionalidad y el método analítico no presenta sesgo.

Determinación del límite de detección y cuantificación

Existen varios procedimientos para el cálculo de estos límites.^{17,18} El método empleado es el análisis repetido del blanco de la muestra, donde el número de réplicas debe ser mayor o igual a 10. Se calcula el valor promedio de las absorbancias $\bar{y}_{bl}$ y la desviación estándar S_{bl} de las respuestas obtenidas y a partir de estos valores, existen diferentes expresiones que varían en función de si se realiza o no corrección de lectura frente al blanco. En el caso de métodos espectroscópicos debe realizarse la corrección de la lectura frente al blanco. Las expresiones para el cálculo aparecen en la Norma Catalana de Validación de Métodos Analíticos.¹⁹

Las curvas de calibración se prepararon en el intervalo siguiente: Cd (0,2; 0,3; 0,4; 0,6; 0,8), Pb (0,5; 1; 2; 3 y 4) y Hg (0,1; 0,2; 0,3; y 0,4) ppm y se midieron las absorbancias de estas disoluciones en los dos espectrómetros de absorción atómica. Luego, se prepararon 10 blancos y se procesaron como se explica en el epígrafe de digestión de las muestras y se calcularon los límites de detección y cuantificación para los tres elementos.

Estudio de exactitud

Para determinar la exactitud, se utilizó el método de adición de patrón debido a que no se dispone de una muestra de referencia en ninguno de los dos principios activos. Como criterio de aceptación, se consideró una recuperación satisfactoria entre 97 y 103 %. Como la adición de analito se realizó desde el inicio de la digestión de la muestra, se evaluó la recuperación y exactitud del método.

Se pesaron cuatro réplicas de 0,500 0 g de cada producto y a dos de ellas, se le añadieron cantidades conocidas de los analitos. Se codificaron como Muestras 1, 1', 2 y 2'.

Muestras 1 y 1': Sin adición de analitos.

Muestras 2 y 2': Se realizaron las adiciones siguientes: 1 ppm de K^+ , 1 ppm de Na^+ , 2 ppm de Pb^{2+} , 0,3 ppm Cd^{2+} y 0,3 ppm de Hg^{2+} .

Se procesaron todas las muestras según se explicó en el acápite anterior. Se trabajó con las mismas

concentraciones de las curvas de calibración empleadas en los dos estudios anteriores. Se obtuvo la concentración promedio de las muestras con adición y sin adición de patrón y se sustituyeron estos valores en la expresión para el cálculo del porcentaje de recuperación.¹⁷

Estudio de especificidad

El criterio de aceptación utilizado¹⁷ para el estudio de la especificidad fue el siguiente:

Si una recta es $y = b x + a$ y la otra $y = b' x + a'$, los valores b' y a' son aceptables si están comprendidos dentro de los límites de confianza de b ($b \pm t S_b$) y a ($a \pm t S_a$) con $t_{(p=0,05; n-2)}$.

Se prepararon dos curvas de calibración, una sin adición de muestra y en el mismo intervalo de concentraciones que las utilizadas en el estudio de linealidad, y otra en el mismo intervalo de concentraciones, pero a la que se le adicionó, a cada disolución patrón, 1 mL de la muestra ya digerida. Se midieron las absorbancias de estas disoluciones en un solo espectrómetro, se obtuvieron las curvas de calibración y se compararon las pendientes y los interceptos. La no existencia de diferencias significativas permitió demostrar la especificidad del método.

Determinación de la precisión en condiciones de repetibilidad

El criterio de aceptación para una buena repetibilidad fue: CV_r (coeficiente de variación de la repetibilidad) menor del 5 %.

Se pesaron seis réplicas de 0,500 0 g de cada producto y cada una se digirió de forma similar como se describió con anterioridad. Se trabajaron con curvas de los dos elementos en el mismo intervalo de concentraciones ya descrito. Se midieron a continuación, las absorbancias de las muestras en el espectrómetro de absorción atómica por el mismo analista bajo las mismas condiciones y el mismo día. Se calculó el valor medio de las seis réplicas ($\bar{x}$), la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV_r).

Determinación de la precisión en condiciones de reproducibilidad

El criterio de aceptación en este caso fue el mismo que para la repetibilidad.

Tres analistas pesaron por duplicado 0,500 0 g de cada producto y siguieron el procedimiento descrito antes hasta la etapa de determinación, la que se realizó en los dos

espectrómetros. Con las curvas de calibración de estudios anteriores de los dos elementos, en el mismo intervalo de concentraciones se midieron las absorbancias de las muestras durante cuatro días diferentes. Cada analista calculó el valor medio de las concentraciones de las réplicas ($\bar{x}$) durante los cuatro días y el resultado final se expresó como el promedio de las concentraciones obtenidas $\pm$ DE. La reproducibilidad global se determinó por el coeficiente de variación (CV_R).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio de la linealidad

Los resultados de este estudio se resumen a continuación.

Se pudo apreciar (Tabla 1) que para los dos elementos analizados los coeficientes de variación de los factores de respuesta son inferiores a 5 % y se obtienen valores aceptables para la varianza del error experimental total y la desviación estándar de la pendiente. En todos los casos, los valores elevados de t_{exp} indican una gran probabilidad de que b sea distinta de cero, lo que denota una buena linealidad. En cuanto a la proporcionalidad, se observa que los intervalos de confianza del término independiente incluyen al cero, por lo que se puede decir que el sistema no presenta sesgo.

Determinación del límite de detección y cuantificación

El límite de detección se utiliza únicamente en ensayos límite, análisis de trazas y contaminantes. Este es el caso de los metales Cd, Pb y Hg en las muestras analizadas. Una

de las especificaciones de calidad del policosanol y el extracto purificado de cera de caña, es que la suma de metales pesados debe ser inferior a 10 ppm. Esta determinación es laboriosa y sólo se efectúa cuando el nivel inferior del intervalo del método analítico se acerca a los límites de detección y cuantificación, como es el caso de las impurezas. Si las concentraciones a determinar son elevadas en comparación con las trazas, como es el caso del Na y K, se sustituye este estudio por la determinación de la precisión y la exactitud.

Los valores de LD y LC se obtuvieron para los tres elementos en ambos espectrómetros de absorción atómica.

Se aprecia que los resultados difieren mucho en ambos espectrómetros para los tres elementos, siendo el equipo GBC donde se obtienen mejores LD y LC (Tabla 2). Este hecho puede explicarse teniendo en cuenta que en este equipo el procesamiento de las señales es a través de un programa que permite la integración de tres réplicas de la medición sobre el pico, así como una óptica de doble rayo, lo que permite obtener un nivel medio de ruido menor. En el Solar 919 no se cuenta con estas facilidades.

En ambos espectrómetros y para los tres elementos los LD y LC están muy por debajo de las exigencias de la farmacopea en cuanto contenidos de metales pesados en principios activos y productos similares, por lo que la técnica resulta adecuada para el control de metales pesados como parte de las buenas prácticas de laboratorio.

Estudio de exactitud

Este estudio se realizó para los cinco elementos y los dos productos estudiados.

En los dos productos y para todos los elementos analizados, se observó que la recuperación se situó entre el 97 y 103 %, para una adecuada recuperación-exactitud del método (Tabla 3).

Estudio de especificidad

Cuando se dispone de dos rectas de calibración surge la necesidad de demostrar que son estadísticamente idénticas y existen varias pruebas estadísticas para estos fines.¹⁹ Los resultados de la comparación de las pendientes se muestran a continuación (Tabla 4).

En todos los casos, los valores de b' y a' estuvieron comprendidos en los intervalos de confianza de las curvas sin adición de muestra, por lo que puede plantearse que no hay interferencia de la matriz de la muestra en la determinación de estos elementos en los dos productos analizados y se cumplen los criterios de aceptación.

Determinación de la precisión en condiciones de repetibilidad

Como se puede observar, en los dos principios activos se obtuvieron coeficientes de variación menores del 5 %, lo que indica una precisión adecuada del método analítico (Tabla 5).

Determinación de la precisión en condiciones de reproducibilidad

De la tabla 6 se aprecia que para los dos elementos analizados y en

Tabla 1. Resultados del estudio de linealidad y proporcionalidad.

Elemento	Expresión de la recta y coeficiente de correlación	Factores de respuesta promedio, $\bar{f}$, DE y CV	Varianzas residual y de la pendiente e IC de b	Varianza del intercepto, DE e IC de a
Na	$Y = 0,09 X - 0,000\ 4$ $R = 0,999\ 7$	$\bar{f} = 0,09$ $DE = 0,000\ 9$ $CV_f = 1,1\%$	$S_b = 0,015$	$S_a = 0,3$ IC de a $a \pm S_a \cdot t$ $- 0,000\ 4 \pm 0,636$
			IC de b	
			$b \pm S_b \cdot t$	
			$0,090 \pm 0,008$	
K	$Y = 0,052 X - 0,003$ $R = 0,998\ 0$	$\bar{f} = 0,05$ $DE = 0,001;$ $CV_f = 2,7\%$	$t_{exp} = 23,80;$	$S_a = 0,002\ 3$ IC de a $a \pm S_a \cdot t$ $- 0,003 \pm 0,005$
			$t_{tab} = 2,160$	
			$S_b = 0,000\ 9$	
			IC de b	
			$b \pm S_b$	
			$0,052 \pm 0,002$	
			$t_{exp} = 54,92;$	
			$t_{tab} = 2,160$	

IC Intervalo de confianza.

Tabla 2. Límites de detección (LD) y cuantificación (LC) para cadmio, plomo y mercurio.

	Cd		Pb		Hg	
			(ppm)			
Equipo	Solar 919	GBC 932 plus	Solar 919	GBC 932 plus	Solar 919	GBC 932 plus
Recta de calibración	$Y = 0,07 x$	$Y = 0,137 x$	$Y = 0,005 x$	$Y = 0,038$	$Y = 0,075 x + 0,001$	$Y = 0,097 x$
f	0,07	0,137	0,005	0,03	0,075	0,097
DE_f	0,002	0,004	0,0002	0,002	0,0009	0,006
CV_f (%)	3,1	3,4	3,9	4,2	1,2	4,9
$\bar{x}_{bl}$	0,000 6	0,000 7	0,000 5	0,000 6	0,000 8	0,004 7
S_{bl}	0,000 49	0,000 46	0,000 48	0,000 49	0,000 4	0,000 2
LD	0,02	0,01	0,28	0,04	0,01	0,006
LC	0,07	0,03	0,96	0,13	0,05	0,02

Tabla 3. Resultados del estudio de exactitud.

Elemento	Policosanól			Extracto purificado de cera de caña		
	Concentración (ppm)		Recuperación (%)	Concentración (ppm)		Recuperación (%)
	Antes de la adición	Después de la adición		Antes de la adición	Después de la adición	
Na	2,06	3,07	101	1,45	2,47	102
K	1,11	2,12	100	3,79	2,77	102
Cd	0	0,31	103	0	0,31	103
Pb	0	1,99	97,5	0	2,00	100
Hg	0	0,30	100	0	0,29	97

Tabla 4. Resultados del estudio de especificidad.

Elemento	Curva sin adición de muestra Intervalos de confianza	Curva con adición de 1 mL de policosanól	Curva con adición de 1 mL de EPCC
Na	Pendiente (b) $8,15 \pm 0,86$ intercepto (a) $-0,13 \pm 2,19$	$b' = 8,67$ $a' = -0,70$	$b' = 8,18$ $a' = 0,63$
K	Pendiente (b) $6,23 \pm 0,02$ intercepto (a) $1,09 \pm 0,06$	$b' = 6,24$ $a' = 1,07$	$b' = 6,23$ $a' = 1,13$

Tabla 5. Resultados de la evaluación de la precisión en condiciones de repetibilidad.

Producto	Na	K
Policosanól	$\bar{x} = 2,40$ ppm DE = 0,05 CV = 2,0 %	$\bar{x} = 5,20$ ppm DE = 0,06 CV = 1,0 %
EPCC	$\bar{x} = 1,80$ ppm DE = 0,10 CV = 4,1 %	$\bar{x} = 2,90$ ppm DE = 0,11 CV = 4,0 %

EPCC Extracto purificado de cera de caña.

CONCLUSIONES

En el estudio realizado se incluyó, dentro del estudio de linealidad, la proporcionalidad entre concentración de analito y la respuesta instrumental y quedó demostrada la capacidad del método para obtener resultados linealmente proporcionales a la concentración de analito en la muestra, dentro del intervalo de concentraciones utilizado. Se obtuvieron recobrados satisfactorios al aplicar el método de adición de patrón, por lo que se comprobó que el método presenta una buena exactitud. Los coeficientes de variación obtenidos en el estudio de precisión

ambos productos los coeficientes de variación de la reproducibilidad (CV_R) son inferiores al 5 %, por lo

que se puede plantear que el método presenta una buena reproducibilidad.

Tabla 6. Resultados de la evaluación de la precisión en condiciones de reproducibilidad.

Policosanol							
Na				K			
Equipo	Analista	$\bar{x} \pm DE$ (ppm)	CV (%)	Equipo	Analista	$\bar{x} \pm DE$ (ppm)	CV (%)
Solar 919	1	1,50 $\pm$ 0,02	1,6	Solar 919	1	1,15 $\pm$ 0,02	1,9
	2	1,49 $\pm$ 0,06	4,1		2	1,17 $\pm$ 0,008	0,7
	3	1,55 $\pm$ 0,04	2,7		3	1,14 $\pm$ 0,02	1,7
GBC 932 plus	1	1,60 $\pm$ 0,01	0,9	GBC 932 plus	1	1,13 $\pm$ 0,01	0,9
	2	1,56 $\pm$ 0,005	0,3		2	1,10 $\pm$ 0,03	2,9
	3	1,58 $\pm$ 0,02	1,4		3	1,12 $\pm$ 0,01	1,5
$\bar{x}_{global}$	1,56			$\bar{x}_{global}$	1,14		
DE	0,04			DE	0,03		
CV _R	2,30			CV _R	2,70		

EPCC							
Na				K			
Equipo	Analista	$\bar{x} \pm DE$ (ppm)	CV (%)	Equipo	Analista	$\bar{x} \pm DE$ (ppm)	CV (%)
Solar 919	1	1,44 $\pm$ 0,02	1,2	Solar 919	1	2,88 $\pm$ 0,05	1,6
	2	1,47 $\pm$ 0,03	2,0		2	2,89 $\pm$ 0,05	1,7
	3	1,47 $\pm$ 0,03	2,2		3	2,77 $\pm$ 0,02	0,7
GBC 932 plus	1	1,46 $\pm$ 0,01	0,9	GBC 932 plus	1	2,67 $\pm$ 0,04	1,6
	2	1,45 $\pm$ 0,01	0,9		2	2,66 $\pm$ 0,07	2,8
	3	1,47 $\pm$ 0,00	0		3	2,65 $\pm$ 0,04	1,5
$\bar{x}_{global}$	1,46			$\bar{x}_{global}$	2,76		
DE	0,03			DE	0,12		
CV _R	2,00			CV _R	4,20		

indican una repetibilidad y reproducibilidad satisfactorias. Se demostró además que es posible la medición exacta y específica de estos analitos sin interferencias de la matriz de la muestra.

Los límites de detección y cuantificación calculados para los elementos trazas (Cd, Pb y Hg), satisfacen las especificaciones de calidad de ambos productos.

Después de analizar el cumplimiento de todos los criterios de aceptación, para cada uno de los parámetros estudiados, se concluye que la determinación de Na, K, Cd, Pb y Hg en ambos productos por espectrometría de absorción atómica de llama, puede tener la condición de validada.

AGRADECIMIENTOS

Al laboratorio de la Agrupación "Autopista" por facilitar las mues-

tras de policosanol y extracto purificado de cera de caña para el análisis y a todos los que de una forma u otra contribuyeron a su obtención.

BIBLIOGRAFIA

- Mehta C.A. Quality management in drug analysis. *Analyst*, 122, 84R, 1997.
- Byrialsen K., Kristiasen J., Christensen J.M. Trends in quality assurance of metal determination in clinical chemistry. *Analyst*, 123, 7-12, 1998.
- Alvarez M. Acreditación de laboratorios analíticos Curso de postgrado. Ciudad de La Habana, 19-20, 1997.
- Clarke G.S., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 12, 643, 1994.
- Carr G.P., and Wahlich, J.C., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 8, 613, 1990.
- Edwardson P.A.D., Bhaskar G., and Fairbrother J.E., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 8, 929, 1990.
- Green J.M., *Anal. Chem.*, 68, 305A, 1996.
- Wilson T.D., *J. Pharm., Biomed. Anal.*, 8, 389, 1990.
- Jenke D.R., *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 19, 719, 1996.
- Jenke D.R., *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 19, 737, 1996.
- Jenke D.R., *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 19, 1873, 1996.
- Mehta A.C., *J. Clin. Pharm. Ther.*, 14, 465, 1989.
- Molnar I., *LC-GC Int.*, 9, 800, 1996.
- Molnar I., *LC-GC Int.*, 10, 32, 1997.
- Berridge J.C., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 14, 7, 1995.
- International Conference on Harmonisation (ICH): Note for Guidance on Impurities in New Drug Substances, Commission of the European Communities, (Brussels), 1995.
- Castro M., Gascón S., Pujol M., Sans J.M. y Vicente L., Validación de métodos analíticos, A.E.F.I., Sec. Catalana, Comisión de Normas de Buena Fabricación y Control de Calidad, España, 1989.
- IUPAC. *Appl. Spectrosc.*, 31, 348, 1977.