

Validación del método analítico para tabletas de dicloroisocianurato de sodio para desinfección de agua potable

Validation of the analytical method for sodium dichloroisocyanurate aimed at drinking water disinfection

MSc. Luis Octavio Martínez Álvarez, Lic. Pedro Alejo Cisneros,
MSc. Reynaldo García Pereira, Lic. Doraily Campos Valdez

Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: en Cuba se han desarrollado las primeras tabletas efervescentes de 3,5 mg dicloroisocianurato de sodio, como ingrediente activo no terapéutico, el cual libera una determinada cantidad de cloro al disolverse en un litro de agua, capaz de inducir a una adecuada desinfección del agua potable y lista para ingerir después de transcurrido 30 min.

Objetivo: desarrollar y validar un método analítico yodométrico, aplicable al control de la calidad de las tabletas efervescentes de 3,5 mg de dicloroisocianurato de sodio.

Métodos: para la cuantificación del contenido de cloro activo libre en las tabletas efervescentes, se empleó como técnica un método potenciométrico, utilizando electrodos de platino y solución valorada de tiosulfato de sodio 0,1 N. El método desarrollado fue validado según los parámetros exigidos para la categoría I, que incluye las técnicas destinadas a cuantificar principios activos en las formas terminadas. Adicionalmente se realizaron otras pruebas para evaluar la influencia del analista y el día en los resultados analíticos.

Resultados: los parámetros evaluados en la validación del método se encontraron dentro de los límites establecidos. El método resultó ser específico, lineal, exacto y preciso en el rango de concentraciones estudiadas.

Conclusiones: los resultados permiten que el método pueda emplearse de manera confiable y segura.

Palabras clave: cloro libre, tabletas efervescentes, dicloroisocianurato de sodio.

ABSTRACT

Introduction: Cuba has developed the first effervescent 3.5 mg sodium dichloroisocyanurate tablets as a non-therapeutic active principle. This ingredient releases certain amount of chlorine when dissolved into a litre of water and it can cause adequate disinfection of drinking water ready to be taken after 30 min.

Objective: developing and validating an analytical iodometric method applicable to the quality control of effervescent 3.5 mg sodium dichloroisocyanurate tablets.

Methods: quantitation of the free active chlorine content in effervescent tablets by using a potentiometric method based on the platinum electrodes and the titrated 0.1 N sodium thiosulphate solution. The developed method was validated as per the category I parameters including the techniques for quantitation of the active principles in the finished forms. Additionally, other tests were conducted to evaluate the influence of the analyst and of the day on the analytical results.

Results: the evaluated parameters in the validation of the method were within the set limits. The method was specific, linear, exact and precise in the range of studied concentrations.

Conclusions: the results proved that this method can be used in a safe reliable way.

Key words: free chlorine, effervescent tablets, sodium dichloroisocyanurate.

INTRODUCCIÓN

El agua es algo vital para todo ser viviente en nuestro planeta. Esta puede o no estar contaminada por una serie de microorganismos que pueden provocar distintas afecciones a la salud del hombre. Entre las enfermedades^{1,2} transmitidas por el agua, el grupo de las enfermedades diarreicas es la causa principal de mortalidad y morbilidad infantil en los países en desarrollo. Por tal motivo se hace imprescindible la desinfección del agua potable, por lo que existen métodos de tratamientos, como: calor (hervir el agua), desinfección mediante la luz, uso del ozono, uso de la plata, solución con yodo, de permanganato de potasio, de hipoclorito de sodio o de calcio, tabletas de cloros y otros, los cuales poseen ventajas y desventajas. Entre algunas de sus desventajas podemos citar por ejemplo: el hervir el agua no proporciona protección contra la recontaminación, por lo que es necesario tener mucho cuidado con su uso, manipulación y almacenamiento después de hervida, además del método de transferencia de calor utilizado se hace muy costoso. La desinfección con ozono presenta como desventaja el no tener poder residual para enfrentar una recontaminación posterior al tratamiento y por lo general, los costos de capital y de operación de un sistema de ozonización son altos, por lo que no es un sistema muy utilizado en países en vías de desarrollo. La desinfección con plata, método muy antiguo, tiene la limitante que emplea grandes volúmenes de agua, por lo que la hace muy costosa, pues en general la plata es un elemento caro. En este proceso existe una acción residual del producto, pero es muy difícil de precisar su duración. Sin embargo, las tabletas cloradas efervescentes que, al disolverse en el agua producen una dosis determinada de cloro disponible, hacen de ellas una técnica precisa, conveniente y económica de desinfección local (viviendas, escuelas, hospitales, alimentos, utensilios agua para la agricultura, etc.), siendo el ingrediente activo no terapéutico. El dicloroisocianurato de sodio, aproximadamente

el 42 % está disponible como cloro, además es un compuesto muy estable en el tiempo por lo que puede almacenarse prolongadamente.²

En Cuba se han desarrollado las primeras tabletas efervescentes de 3,5 mg dicloroisocianurato de sodio, como ingrediente activo no terapéutico, el cual libera una determinada cantidad de cloro al disolverse en un litro de agua, capaz de inducir a una adecuada desinfección del agua potable, lista para ingerir después de transcurrido 30 min.

En la literatura consultada no se informa el método de cuantificación del contenido de dicloroisocianurato de sodio en las tabletas para la desinfección del agua potable, por tal motivo y teniendo cuenta la norma europea^{3,4} para la valoración de la materia prima de la misma sustancia, se procedió a desarrollar y validar⁵⁻⁷ un método analítico para la determinación del contenido de cloro activo en las tabletas efervescentes de 3,5 mg para un litro de agua potable elaboradas en el Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM), objetivo este del presente trabajo.

MÉTODOS

Se empleó como técnica para la cuantificación del contenido de cloro activo libre en las tabletas efervescentes de 3,5 mg de dicloroisocianurato un método potenciométrico,^{7,8} empleando electrodos de platino y solución valorada de tiosulfato de sodio 0,1 N. El equipo utilizado fue el titrómetro automático DL 55 Mettler Toledo

El procedimiento del método fue el siguiente: se determinó el peso promedio de 15 tabletas y se pesó una cantidad equivalente a 68 mg del ingrediente activo. Se transfirió a un balón de fondo redondo que contenía 100 mL de agua destilada y se agitó hasta completa disolución, se adicionaron 3 g de yoduro de potasio y 3 mL de ácido sulfúrico concentrado. Inmediatamente se tapó el frasco, se agitó hasta disolver y se protegió de la luz por 20 min y tapado. Se colocó el frasco con la solución a valorar en el equipo y se valoró con solución 0,1 N de tiosulfato de sodio, empleando electrodos de platino hasta que cambio significativo de potencial. Todos los reactivos empleados fueron de calidad analítica

VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

El método desarrollado fue validado según los parámetros exigidos para la categoría I⁸, que incluye las técnicas destinadas a cuantificar principios activos en las formas terminadas. Los parámetros analizados fueron:

Linealidad del sistema: se realizó mediante el análisis de cinco concentraciones de cada analito por triplicado en un rango de 50-150 % de la cantidad teórica declarada como 100 %. En ambos casos se construyó una curva de calibración de respuesta analítica (Y) vs. concentración teórica (X). Los resultados se procesaron estadísticamente mediante el programa STATGRAPHICS versión 5.1 (opción regresión lineal múltiple) y se determinó: r (coeficiente de correlación lineal), r² (coeficiente de determinación), a (intercepto) y b (pendiente), para el 99 % de confianza.

Linealidad y exactitud del método: se analizaron por triplicado placebos cargados con cantidades equivalentes al 80, 100 y 120 % con respecto a la cantidad teórica declarada. Con los resultados obtenidos se construyeron curvas de calibración (mililitros consumidos *vs.* concentración) y de recuperación (cantidad recuperada *vs.* cantidad añadida), procesadas por regresión lineal de igual forma a la descrita con anterioridad (linealidad del sistema). Adicionalmente se evaluó el porcentaje de recobro (R).

Además, se realizó la prueba G de Cochran para determinar si el factor concentración tiene alguna influencia en los resultados.

Por último, se aplicó la prueba t de Student para demostrar que no existen diferencias significativas entre el valor medio de recobro obtenido y el 100 %.

Precisión: incluyó la evaluación de la repetibilidad, la precisión intermedia y la reproducibilidad.

- Repetibilidad: se analizaron por sextuplicado las mismas muestras (equivalentes al 100 %) con la participación del mismo analista en el mismo día y laboratorio. Se calculó el coeficiente de variación (CV).

- Precisión intermedia: participaron dos analistas, en dos días diferentes, en el mismo laboratorio que analizaron muestras homogéneas equivalentes al 100 % por triplicado en cada caso. Se calculó el CV total.

Adicionalmente se realizaron otras pruebas para evaluar la influencia del analista y el día en los resultados analíticos, estas fueron:

- Prueba de significación de Fischer (F): se utilizó para determinar si existían diferencias significativas entre los resultados de los analistas que emplearon el mismo método.

- Prueba t de Student: se utilizó para comprobar si los valores obtenidos entre los analistas, que emplearon igual método, y los dos días en que realizaron los análisis eran homogéneos. para el nivel de significación $\alpha = 0,05$ y los grados de libertad seleccionados $f = (n_1 + n_2) - 2$.

Especificidad: se realizó el análisis propuesto para el método en cuestión, en presencia del placebo correspondiente, realizando el análisis por triplicado. Se cargó dicho placebo con el 100 % de analito y se valoró, calculándose el 100 % de recobro (R).

RESULTADOS

En las tablas 1, 2 y 3 se resumen los resultados obtenidos en la validación del método desarrollado. El cumplimiento de los criterios de aceptación establecidos para cada parámetro, avala la adecuada linealidad, exactitud, precisión y especificidad del método.

Tabla 1. Parámetros de la linealidad del sistema y linealidad y exactitud del método

Parámetros	Resultados	Criterios de aceptación
Linealidad del sistema		
Ecuación de la recta	$y = 0,258x + 0,507$	$Y = bX + a$
Coefficiente de regresión lineal	$r = 1,0$	$r \geq 1,0$
Coefficiente de determinación	$r^2 = 1,0$	$r^2 \geq 1,0$
Significación del intercepto	$t_{exp} = 1,475$ $t_{tab} = 2,16$	$t_{exp} < t_{tab}, n = 13$
Pendiente	$b = 0,258$ $t = 39,528$ $p = 0,0000$	$b = 0$ t alta $p \leq 0,005$
CV _f	1,8	CV _f < 5,0 %
Linealidad del método		
Ecuación de la recta	$y = 0,268x - 0,213$	$Y = bX + a$
Coefficiente de regresión lineal	$r = 1,0$	$r \geq 1,0$
Coefficiente de determinación	$r^2 = 1,0$	$r^2 \geq 1,0$
Significación del intercepto	$t_{exp} = 0,646$ $t_{tab} = 2,36$	$t_{exp} < t_{tab}, n = 7$
Pendiente	$b = 0,268$ $t = 232,095$ $p = 0,003$	$b = 0$ t alta $p \leq 0,005$
CV _f	1,6	CV _f < 5,0 %
Exactitud del método		
Ecuación de la recta	$y = 0,02x - 0,0068$	$Y = bX + a$
Coefficiente de regresión lineal	$r = 1,0$	$r \geq 1,0$
Coefficiente de determinación	$r^2 = 1,0$	$r^2 \geq 1,0$
Significación del intercepto	$t_{exp} = -1,34$ $t_{tab} = 2,36$	$t_{exp} < t_{tab}, n = 7$
Pendiente	$b = 0,02$ $t = 109,45$ $p = 0,0000$	$b = 0$ t alta $p \leq 0,005$
CV _f	1,5	CV _f < 5,0 %
Ř	98,8 %	Ř = 97,0-103,0 %
CV %	0,7 %	CV ≤ 3,0 %
Prueba de la t de Student	$t_{exp} = 0,330$ $t_{tab} = 12,710$	$t_{exp} < t_{tab}$
Prueba de Cochran	$G_{exp} = 0,3229$ $G_{tab} = 0,8709$	$G_{exp} < G_{tab}$

Tabla 2. Parámetros evaluados como parte de la precisión del método analítico

Parámetros	Resultados	Criterios de aceptación
Repetibilidad		
CV	0,5 %	CV < 3,0 %
Precisión intermedia		
CV	0,4 %	CV < 3,0 %
Fischer (F) y Student (t) entre días	$F_{exp} = 1,54$; $t_{exp} = 2,16$ $F_{tab} = 5,05$; $t_{tab} = 2,23$	$F_{exp} < F_{tab}$ $t_{exp} < t_{tab}$
Fischer (F) y Student (t) entre analistas	$F_{exp} = 1,31$; $t_{exp} = 1,27$ $F_{tab} = 5,05$; $t_{tab} = 2,23$	$F_{exp} < F_{tab}$ $t_{exp} < t_{tab}$

Tabla 3. Parámetro de especificidad para ambos métodos analíticos

Réplicas	Resultados %	
	Placebo A	Placebo A más analito 100 %
1	0,30	99,09
2	0,30	99,08
3	0,30	98,7

El cumplimiento de las exigencias internacionales para la validación de técnicas analíticas garantiza que el procedimiento desarrollado fue lineal, preciso y exacto para la estimación de este importante parámetro en la cuantificación de dicloroisocianurato de sodio en las tabletas en el rango analizado de 2,8 mg/tab a 4,2 mg/tab.

DISCUSIÓN

Los sistemas y los métodos fueron suficientemente lineales, según se demostró a partir de los valores obtenidos para r y r^2 muy próximos a la unidad, por lo que existió una elevada correlación lineal entre la respuesta analítica y la concentración de analito en los rangos analizados (de 2,8-4,2 mg/tab). El valor del intercepto (a) con el eje de las ordenadas diferente de cero desde el punto de vista estadístico, indica un error sistemático del método. El valor obtenido de los CV de los factores de respuesta, permite demostrar que existe variabilidad en la relación respuesta y concentración para cada nivel evaluado. El intervalo de confianza del intercepto incluye al cero, lo que permite excluir la significación del error del intercepto.⁵⁻⁷

El cumplimiento de todos los parámetros asociados a la regresión lineal avaló la elevada correlación entre respuesta y concentración para el ensayo de linealidad del sistema, del método y la exactitud (tabla 1).

Adicionalmente se comprobó que se alcanzaron elevados porcentajes de recobro que no difieren significativamente del 100 % y con CV inferiores al 3 % establecido como límite. Como la $G_{exp} < G_{tab}$, las varianzas de los tres niveles de concentración evaluados fueron equivalentes, no influyó el factor concentración en la variabilidad de la respuesta medida. De este modo se puede afirmar que el método fue exacto y

no se afectó por errores sistemáticos de forma significativa, por lo que se pueden obtener valores experimentales muy próximos al valor verdadero.

Para la repetibilidad del método, se estimó el CV el cual fue inferior al límite establecido de 3,0 % (tabla 2); por lo que el método cumplió con los criterios de aceptación vigentes y fueron suficientemente repetibles. Es decir, se obtuvieron resultados similares al realizar análisis repetidos a la concentración equivalente al 100 % por el mismo analista en el mismo laboratorio.

La precisión intermedia también fue evaluada, dando resultados acordes a lo estipulado. Se obtuvieron valores de CV por debajo del 3,0 % establecido como límite, estimados a partir de las mediciones de consumo de valorante (mL) respectivamente.

Los valores que se obtienen en los estudios de precisión intermedia, de las pruebas de Fischer y t de Student, demuestran que no existen diferencias significativas entre las precisiones alcanzadas por los analistas en diferentes días para un 95 % de confianza, ya que el valor de F_{cal} fue menor que la F_{tab} ; estos resultados permiten establecer que las precisiones son similares (tabla 2). Al realizar las pruebas de la t de Student, el valor calculado resultó menor que el tabulado, para un 95 % de confianza, lo cual demuestra que no existen diferencias significativas entre las medias alcanzadas, con un nivel de significación de un 5 %.

La especificidad para control de calidad se comprobó en primer lugar frente al placebo, el cual dio valores muy bajos de porcentaje, corroborando la ausencia de interferencia de los restantes componentes de la matriz (tabla 3). Se comprobó la adecuada recuperación del analito correspondiente al valorar por triplicado el placebo cargado con el 100 % de analito, confirmando la ausencia de interferencias analíticas.⁵⁻⁷

El método analítico desarrollado y validado para el control de la calidad de las tabletas efervescentes de 3,5 mg de dicloroisocianurato de sodio para un litro de agua potable, resultó específico, lineal, exacto y preciso en el rango de concentraciones estudiadas, por lo que puede emplearse de manera confiable y segura

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Guías técnicas sobre saneamiento, agua y salud. Guía técnica No. 11. Ginebra: OMS; 2009.
2. Skinner B. Chlorinating small water supplies. Water, Engineering and Development Center, Loughborough University, UK, 2001.
3. International Standard. Water quality. Determination of free chlorine and total chlorine. Part 3: Iodometric titration method for the determination of total chlorine. 1990. [cited 2012 Nov 4]. Available from: <http://www.saiglobal.com/pdftemp/previews/osh/iso/ipdf0040/t014108e.pdf>
4. NMX-AA-108-SCFI-2001. Calidad del agua —determinación de cloro libre y cloro total— método de prueba. México, 2001.

5. Regulación 41/07. Validación de métodos analíticos. Centro Estatal para el Control de Medicamentos (CECMED). Ministerio de Salud Pública. La Habana, 2007. Disponible en: http://www.cecmmed.sld.cu/Pages/Reg_EvalEL.htm
6. Fernández A. Validación de técnicas analíticas. La Habana: Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos; 1995.
7. Castro M. Validación de Métodos Analíticos. España: Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria; 1989. p. 19-43.
8. Morris Quevedo HJ, Almarales Arceo A, Romero Viamonte K y Vidal Colás M. Validación de un método potenciométrico para la determinación de nitrógeno amínico en hidrolizados proteicos de microalgas. Rev Cubana Farm. 2002; 36(1):56-61.
9. Peralta G, Rodríguez M, Hernández NB, Álvarez MS. Determinación de la pureza del 3-amino-3-metiltio-(5-fenil-[1.3.4]oxodiazol-2-il)-acrilato de etilo. Rev Cubana Quím. 2001;13(3).

Recibido: 19 de diciembre de 2013.

Aprobado: 20 de enero de 2014.

Luis Octavio Martínez Álvarez. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). Ave. 26 No. 1605 e/ Boyeros y Puentes Grandes, Plaza de la Revolución, La Habana. Cuba. Correo electrónico: luis.martinez@cidem.sld.cu