

Originales

- » **Efectos de un programa de Atención Farmacéutica para pacientes con esclerosis múltiple sobre la adherencia al tratamiento inmunomodulador.**

Sánchez Casanueva T, Tenías Burillo JM, Martínez Martínez F, Valenzuela Gámez JC, Navarro Maestre E, Calleja Hernández MA.

- » **Estudios microbiológicos y toxicológicos de *Mitracarpus megapotamicus***

Toribio MS, Pombar AS, Oriani SD, Toso RE, Fernández JG.

- » **Estabilidad de la quitosana derivada de quitina de langosta *Panulirus argus*, materia prima.**

De la Paz N, Pérez D, Fernández M, García C, López O, Nogueira A.

Revisiones

- » **La calidad de los medicamentos fabricados industrialmente en España entre 1944 y 1992. Revisión de los requerimientos de calidad establecidos en la legislación oficial durante este período.**

Buhigas Cardó MR, Suñé Negre JM, Bel Prieto E.

Originales Breves

- » **Evaluación de la biosimilitud y comparabilidad de medicamentos biosimilares**

Calvo Hernández B, Zúñiga Hernando L, Gómez López-Tello P.

Artículos Especiales

- » **Ionic liquids based active pharmaceutical ingredients**

Sekhon BS.

Estabilidad de la quitosana derivada de quitina de langosta *Panulirus argus*, materia prima.

Nilia de la Paz¹, Dania Pérez², Mirna Fernández², Caridad García¹, Orestes López¹, Antonio Nogueira¹.

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

2. Instituto de Farmacia y Alimentos. La Habana (Cuba).

Original Paper Artículo Original

Correspondence/Correspondencia:

Dra. Mirna Fernández Cervera
Dpto. Tecnología y Control de los
Medicamentos.
Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL).
Universidad de la Habana.
Calle 23 No. 21425 e/ 214 y 222,
La Habana. Cuba.
Telf.: 271-4075, 271-9534
E-mail: mimafc@ifal.uh.cu; mimafc@yahoo.com

Competing interest / Conflicto de intereses:
Not declared

Fundings / Financiación:
Not declared

Received: 20.04.2013
Accepted: 04.09.2013

RESUMEN

Objetivo: Estudiar la estabilidad de la quitosana derivada de langosta, materia prima, para lo cual se desarrolló y validó un método potenciométrico para la determinación del grado de desacetilación del biopolímero.

Materiales y Métodos: Se evaluaron los parámetros de linealidad, sensibilidad, robustez, exactitud, precisión y especificidad de un método potenciométrico. Se realizaron los estudios de estabilidad a tres lotes de quitosana elaborados a escala piloto, bajo condiciones aceleradas, por seis meses, y de vida de estante durante dos años. Se determinaron las características organolépticas, grado de desacetilación, pérdida por desecación y el conteo microbiológico al inicio y final del estudio.

Resultados y Discusión: Se demostró que el procedimiento desarrollado fue lineal en el rango de 1,25 a 3,75 mg/mL, con un límite de detección de 1 µg/mL y 3 µg/mL como límite de cuantificación, específico, preciso, exacto y robusto, por lo que puede ser empleado en el control de calidad y estudio de estabilidad del polímero. La quitosana, materia prima, mantuvo los parámetros que determinan su calidad, tanto en su etapa inicial como transcurridos seis meses en condiciones aceleradas (40 ± 2 °C, HR = 75 ± 5 %) y a los veinticuatro meses a temperatura ambiente (30 ± 2 °C, HR = 70 ± 5 %).

Conclusión: Se demostró que la quitosana, almacenada a temperatura ambiente y en lugares secos, en bolsas dobles de polietileno y sacos de papel multicapas, conserva durante veinticuatro meses sus características físicas, químicas y microbiológicas.

PALABRAS CLAVES: Grado de desacetilación, Potenciometría, Quitosana, Validación de métodos analíticos, Estabilidad.

ABSTRACT

Aim: To study the stability of chitosan derived from lobster, raw material for which was developed and validated a potentiometric method for determining the degree of deacetylation of biopolymer.

Materials and Methods: We evaluated the parameters of linearity, sensitivity, robustness, accuracy, precision and specificity of a potentiometric method. Were performed stability studies with three pilot scale batches of chitosan under accelerated conditions, for six months, and shelf life during two years. Organoleptic characteristics, degree of deacetylation, loss of drying and microbiological analysis, at the beginning and end of the study, were determined. **Results and Discussion:** It was shown that the developed method was linear in the range of 1.25 to 3.75 mg / mL, with a detection limit of 1 mg / mL and 3 mg / mL as the limit of quantification, specific, accurate, precise and robust, so that it can be used in quality control and stability of polymer. Chitosan raw material, kept the parameters that determine its quality, in its initial stage as well as after six months under accelerated conditions (40 ± 2 °C, RH = 75 ± 5 %) and twenty-four months at room temperature (30 ± 2 °C, RH = 70 ± 5 %).

Conclusion: It was shown that chitosan, stored at room temperature in a dry place, in double polyethylene bags and multilayer paper bags conserved for twenty four months their physical, chemical and microbiological properties.

KEY WORDS: Degree of deacetylation, Potentiometric method, Chitosan, Validation of Analytical methods, Stability.

INTRODUCCIÓN

La quitosana es un polisacárido que está presente de manera natural en las paredes celulares de algunos hongos en pequeñas concentraciones. Su principal forma de obtención es a partir de la quitina, mediante la hidrólisis, en medio alcalino muy concentrado, usualmente hidróxido de sodio o de potasio, a altas temperaturas, ocurriendo la desacetilación. La quitosana constituye el derivado más importante de la quitina y presenta propiedades significativamente diferentes a ella¹⁻³.

Al igual que la quitina, la quitosana no se presenta como una molécula única, sus moléculas pueden variar en los valores de masa molecular y grado de desacetilación (GD) promedio o grupos aminos libres, lo cual determina la calidad de estos polímeros. Estas son las dos propiedades físico-químicas más significativas de la quitosana pues influyen notablemente en sus aplicaciones^{4,5}.

El GD de la quitosana influye no solamente sobre el resto de sus propiedades físico-químicas, sino también en su biodegradabilidad, hinchamiento en agua, actividad inmunológica, bioactividad y biocompatibilidad. Por lo que es importante tenerlo en cuenta al seleccionarla para cada aplicación⁶.

La presencia de grupos aminos a lo largo de la cadena de la quitosana permite la disolución de esta macromolécula en disoluciones de ácidos diluidos, por medio de la protonación de esos grupos. Al adquirir carga positiva la amina, la quitosana aumenta su capacidad hidrofílica y se solubiliza en soluciones ácidas diluidas formando sales. Así por ejemplo, es soluble en ácidos clorhídrico, bromhídrico, iodhídrico, nítrico, perclórico, acético, glutámico y láctico^{7,8}.

Para determinar el grado de desacetilación de la quitosana, se han desarrollado diversas técnicas⁹, sin embargo muchos de los métodos reportados no son accesibles para análisis de rutina debido al costo de equipos y/o facilidades que se requieren para algunos de ellos. La potenciometría constituye uno de los métodos más simple, rápido y de bajo costo, requiriendo equipamiento y reactivos fácilmente disponibles en cualquier laboratorio⁵.

Los procedimientos para la determinación del GD de la quitosana mediante el método potenciométrico han sido descritos por Broussignac, 1968¹⁰; Muzzarelli, 1977¹¹; Xuan y cols., 2003¹²; Parada y cols., 2004¹³ y Hernández y cols., 2009¹⁴. Muestras nacionales de quitosana también han sido analizadas por métodos potenciométricos^{5,15,16}.

Teniendo en cuenta la diversidad de fuentes de obtención de quitosana, materia prima, y el hecho de no existir

métodos de referencia descritos en farmacopeas hace necesario disponer de métodos validados confiables para la determinación del GD de la quitosana.

La validación es el proceso establecido para la obtención de pruebas convenientemente documentadas y demostrativas de que un proceso de fabricación o método de análisis es lo suficientemente fiable para producir el resultado previsto dentro de intervalos definidos^{17,18}.

Al validar un procedimiento se logra un alto grado de confianza y seguridad del proceso productivo o del método analítico, así como también en la calidad de los resultados. Además permite un conocimiento profundo de sus características de funcionamiento, disminuyendo el número de fallas y repeticiones con el consiguiente ahorro de los costos asociados¹⁹.

La estabilidad de los productos farmacéuticos depende de factores ambientales, tales como temperatura, humedad y luz; y de factores relacionados con el producto entre los que sobresalen las propiedades físico-químicas del principio activo y de los excipientes, la forma farmacéutica y su composición, los procesos de fabricación y la naturaleza y propiedades del envase utilizado. El estudio de estabilidad consiste en una serie de ensayos que permiten obtener información para establecer el período de validez de un producto en su envase original y en las condiciones de almacenamiento especificadas²⁰.

En el presente estudio se evaluó la estabilidad química, física y microbiológica de la materia prima de quitosana, derivada de quitina de langosta, empleándose una técnica potenciométrica desarrollada y validada para determinar el GD de este biopolímero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Productos químicos y reactivos

Quitina obtenida a partir de carapachos de langosta y muestras de quitosana de tres lotes pilotos (L-10001, L-11001, L-11002) obtenidos por desacetilación termoalcalina heterogénea²¹, suministradas por la Planta de Producción de Productos Naturales y Sintéticos del Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM), Cuba. El resto de los reactivos y soluciones fueron de calidad analítica (Merck, Alemania).

Técnica potenciométrica aplicada

Se pesaron 0,1 g de muestra y se disolvieron en 20 mL de una disolución de ácido clorhídrico 0,3 mol/L (Merck, Alemania), se añadió 20 mL de agua destilada. Se tituló con solución de hidróxido de sodio 0,3 mol/L (Merck, Alemania) previamente valorada con biftalato

de potasio como patrón primario. La valoración se llevó a cabo inmediatamente en un titrimetro (Mettler Toledo, Suiza) midiendo el cambio de potencial cada 2 mL de base añadida. La adición se realizó de forma lenta y con agitación continua para homogenizar la solución y evitar errores debidos a la posible precipitación del biopolímero. La curva obtenida presentó dos puntos de inflexión, la diferencia entre ellos se corresponde a la cantidad de ácido requerido para protonar los grupos amino de la quitosana. La concentración de éstos se determinó utilizando la siguiente expresión:

$$\%NH_2 = \frac{16,1(y-x)}{m} \cdot f$$

y: Punto de inflexión mayor (mL); x: Punto de inflexión menor (mL); f: Molaridad de la solución de NaOH (mol/L); m: masa de la muestra (g)

Validación del método potenciométrico

El método potenciométrico descrito se validó según los parámetros exigidos por la USP 33, 2010²².

Linealidad

Se analizaron cinco concentraciones de quitosana por triplicado, en un rango de 50 - 150 % de la cantidad teórica declarada, equivalentes a 1,25; 2,00; 2,50; 3,00 y 3,75 mg/mL, respectivamente. Se construyó una curva de calibración de concentración experimental expresada como [y - x] (diferencia entre los puntos de inflexión) vs concentración teórica (%). Los resultados se procesaron estadísticamente a través de MINITAB Release 14 Statistical Software, determinando r (coeficiente de correlación lineal), r² (coeficiente de determinación), CV_f (coeficiente de variación de los factores de respuesta), a (intercepto) y b (pendiente), para un 95 % de confianza.

Límites de detección y cuantificación

Los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) fueron calculados utilizando la expresión: k x S.D/b, donde k = 3 para el LOD y 10 para el LOQ²³, S.D es la desviación estándar del intercepto (o blanco) y b la pendiente de la curva de calibración.

Exactitud

El estudio de exactitud se realizó comparando los resultados que se obtuvieron en los análisis de muestras de quitosana por el presente método, y los obtenidos por el método desarrollado y validado por Hidalgo y cols., en el 2008⁵. Se realizó la comparación estadística de los mismos empleando la prueba de Fisher y el test t de Student. Se determinaron además los coeficientes de variación (CV) de ambos métodos.

Robustez

La robustez del método desarrollado fue evaluada realizando variaciones en algunas condiciones del proceso: concentración del valorante y la disolución valorada, tiempo de valoración, así como la influencia de diferentes proveedores de los reactivos.

Precisión

Repetibilidad

Para la repetibilidad se evaluaron seis muestras con la concentración equivalente al 100 %. Se calculó el CV y se comparó con el criterio establecido ($\leq 2,0$ %) ²². Las determinaciones las realizó el mismo analista en las mismas condiciones de trabajo.

Precisión intermedia

Participaron dos analistas, en dos días diferentes, en el mismo laboratorio. Se analizaron seis réplicas, en cada caso, de muestras equivalentes al 100 % de sólido. Se calculó el CV total. La prueba de Fisher se utilizó para determinar si existían diferencias significativas entre los resultados de los analistas que emplearon el mismo método y entre los días en que se realizaron los análisis.

La prueba t de Student se utilizó para comprobar si los valores medios obtenidos entre los analistas, que emplearon igual método, y los dos días en que se realizaron los análisis eran homogéneos, para un nivel de confianza del 95 %.

Especificidad

Se analizaron dos muestras mediante la técnica potenciométrica descrita, con el objetivo de evaluar las posibles interferencias de los componentes de la matriz. Una muestra estaba compuesta por HCl y agua destilada (blanco), y la otra contenía quitina, material de partida para la obtención de quitosana. Se registró en cada caso la curva potenciométrica correspondiente y se comparó con la curva obtenida al valorar una muestra de quitosana equivalente al 100 % (2,50 mg/mL).

Simultáneamente, se realizó la determinación del contenido de N-acetilglucosamina por espectrofotometría, con el objetivo de determinar el producto de degradación en las muestras. Para ello se disolvió la quitosana en un medio ácido y se completó a volumen con una mezcla de agua:metanol (50:50), aplicando baño ultrasónico (Ultrasonic SAKURA mod. US-5E, Japón), hasta lograr disolución total. La N-acetilglucosamina (Scharlau, España), sustancia de referencia, se preparó a las concentraciones de 1, 5, 15 y 35 µg/mL para construir la curva de calibración. Se midió la absorbancia desde 200 hasta 205 nm en un espectrofotómetro (Rayleigh mod. UV-1601, China), como la primera derivada de la curva.

Tabla 1. Resumen del procesamiento estadístico de los resultados de la validación.

Parámetro	Resultados	Criterio de aceptación
Linealidad	$Y = 0,012 X - 0,004$ $r = 0,999$ $r^2 = 0,999$ $Sb_{rel} = 1,66 \%$ $CV_{rel} = 1,14 \%$	$Y = b X + a$ $r \geq 0,999$ $r^2 \geq 0,98$ $Sb_{rel} \leq 2 \%$ $CV_{rel} \leq 5 \%$
Exactitud	$F_{exp} = 1,08$ $F_{tab(5;5;0,05)} = 5,05$ $t_{exp} = 0,25$ $t_{tab(10;0,05)} = 2,22$	Prueba de Fisher $F_{exp} \leq F_{tab}$ Prueba t Student $t_{exp} \leq t_{tab}$
Repetibilidad	CV = 1,38 %	CV ≤ 2,0 %
Precisión intermedia	Analistas $F_{exp} = 1,22$ $F_{tab(5;5;0,05)} = 5,05$ $t_{exp} = 0,32$ $t_{tab(10;0,05)} = 2,22$ $CV_{total} = 1,39 \%$	Días $F_{exp} = 1,21$ $F_{tab(5;5;0,05)} = 5,05$ $t_{exp} = 0,12$ $t_{tab(10;0,05)} = 2,22$
	$F_{exp} \leq F_{tab}$ $t_{exp} \leq t_{tab}$ $CV_{total} \leq 3,0 \%$	

Tabla 2. Resumen del procesamiento estadístico de los resultados de la validación.

Variable	Condiciones	GD (%) ± D.S (n = 5)	t - Student
Concentración de valorante	NaOH 0,1 mol/L	71,98 ± 0,01	$t_{exp} = 1,21$
Concentración de disolución valorada	HCl 0,1 mol/L	71,87 ± 0,02	$t_{exp} = 0,98$
Tiempo de valoración	15 min. después de preparada la muestra	71,82 ± 0,01	$t_{exp} = 1,09$
Proveedor de reactivo	Uni-Chem, China	71,89 ± 0,02	$t_{exp} = 1,24$
Método desarrollado		71,77 ± 0,01	$t_{tab} = 2,23$

Estudio de estabilidad

Se emplearon tres lotes de quitosana obtenidos a nivel piloto L-10001, L-11001, L-11002 envasados en bolsas dobles de polietileno y sacos de papel multicapas. Los estudios de estabilidad se realizaron bajo condiciones aceleradas por 6 meses (40 ± 2 °C y humedad relativa 75 ± 5 %) y de vida de estante durante veinticuatro meses (30 ± 2 °C y humedad relativa 70 ± 5 %), según lo establecido en la Regulación 23 del CECMED, 2000²⁰. Para evaluar la estabilidad físico-química se determinaron las características organolépticas a través de los órganos de los sentidos: la forma, color y olor de las partículas, además el GD y pérdida por desecación como parámetros de calidad del biopolímero²⁴. También, se efectuó el conteo microbiológico al inicio y final del estudio, para la evaluación de la pureza microbiológica de la quitosana obtenida, según lo descrito en la USP 33, 2010 para medicamentos no estériles²².

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Validación del método potenciométrico

Los resultados del estudio de linealidad (Tabla 1), probaron que el método cumplía con los parámetros establecidos. El

coeficiente de correlación de la recta de regresión fue mayor que 0,999, los factores respuestas fueron semejantes entre sí y el coeficiente de variación de éstos menor que el 5 %. Al aplicarse la prueba de proporcionalidad, la desviación estándar de la pendiente resultó inferior al límite ($S_{Brel} < 2,0$ %). El conjunto de estos resultados permitió afirmar que el método fue lineal en el rango estudiado, con una elevada proporcionalidad entre la respuesta y la concentración del analito.

Los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) fueron 1 µg/mL y 3 µg/mL, respectivamente. Estos se comprobaron experimentalmente obteniendo buenos resultados.

La exactitud fue demostrada por comparación de los resultados del GD obtenidos con el método propuesto (GD = 70,27 %; CV = 1,38), y aplicando el método validado y reportado por Hidalgo y cols., 2008⁵ (GD = 70,41 %; CV = 1,43). Los valores de F y t experimentales fueron, respectivamente, menores que los tabulados (Tabla 1), por lo que el método es exacto, con una certeza del 95 %. Además, los coeficientes de variación en ambos casos están por debajo del límite establecido (CV < 2,0 %) ²².

Los resultados de la Tabla 2 demuestran que no existieron efectos considerables sobre la respuesta estudiada (GD) ante los cambios introducidos, al no existir diferencias significativas entre los valores promedios del GD registrados al realizar las variaciones en las condiciones de trabajo, con respecto al método desarrollado. Los valores de t-Student obtenidos para cada una de las variables resultaron inferiores al valor de t tabulado (2,23), para un 95 % de confianza. Por lo que el método analítico desarrollado puede considerarse robusto.

En el estudio de la repetibilidad realizado a una misma muestra, por el mismo analista, el mismo día, se alcanzó un coeficiente de variación de 1,38 %, inferior al límite establecido (Tabla 1)²². Los valores obtenidos de las pruebas de Fisher y t de Student en la evaluación de la precisión intermedia fueron también satisfactorios (Tabla 1), demostrando que no existen diferencias significativas entre las dispersiones ni las medias alcanzadas por los analistas en diferentes días. Además, se obtuvo un CV total acorde con el criterio de aceptación: $CV_T \leq 3,0 \%$ ²², de manera que errores aleatorios no repercutieron significativamente en el método desarrollado. El conjunto de estos resultados permite asegurar la precisión del método en estudio.

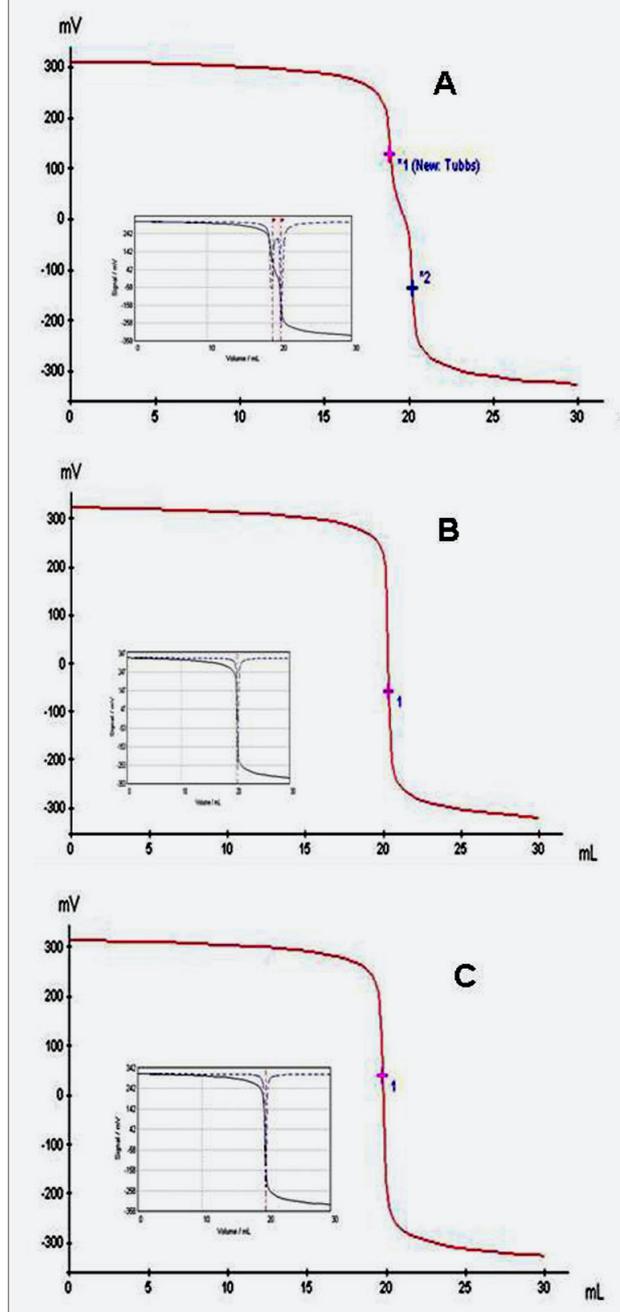
Se comprobó que el método es específico para la quitosana, al registrar las curvas potenciométricas en ausencia de analito (Figura 1). Como se muestra, no se observó señal evidente (dos puntos de inflexión) por el método desarrollado ni para el blanco (Figura 1 B) ni para la quitina (Figura 1 C).

Los resultados obtenidos en la determinación del producto de degradación, evidenciaron valores de absorbancia inferiores al 1 %, demostrándose la no existencia del mismo en las muestras analizadas.

El cumplimiento de las exigencias internacionales para la validación de técnicas analíticas garantiza que el procedimiento desarrollado, sea lineal en el rango de 1,25 a 3,75 mg/mL con un límite de detección de 1 µg/mL y 3 µg/mL como límite de cuantificación, específico, preciso, robusto y exacto para la determinación de grupos aminos libres en la quitosana.

Los resultados del GD obtenidos con el método desarrollado fueron satisfactorios. El mismo resulta ventajoso ya que no requiere de un indicador visual, y las curvas potenciométricas reflejan adecuadamente los dos puntos de inflexión (Figura 1 A), cuya diferencia se corresponde con el volumen consumido de agente valorante por los grupos aminos libres de la quitosana. Además, se requiere menos tratamiento previo de la muestra a analizar, respecto

Figura 1. Curvas potenciométricas para la especificidad del método. A: Quitosana, B: Blanco, C: Quitina.



al reportado por Hidalgo y cols, 2008⁵, en el cual se necesita 1 hora de agitación previa con calentamiento.

Estudio de estabilidad

Los resultados de las determinaciones realizadas durante el estudio de estabilidad de cada lote se resumen en las Tablas 3, 4 y 5, respectivamente.

Como se observa el producto mantuvo los parámetros que determinan su calidad, tanto en su etapa inicial como transcurridos seis meses en condiciones aceleradas (40 ± 2

Tabla 3. Resultados del estudio de estabilidad Lote L-10001.

Ensayo	Inicio	Acelerado		Vida de estante					
		3 meses	6 meses	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses	18 meses	24 meses
Características organolépticas	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Grado de desacetilación (%)	77,71	76,92	76,32	77,63	77,22	76,61	76,90	75,84	75,02
Pérdida por desecación (%)	9,10	6,22	7,64	8,12	9,30	9,12	9,21	9,40	9,51
Conteo microbiano (UFC/g)	CB*: 40 CH < 10	-	-	-	-	-	-	-	CB*: 42 CH < 10

R: Responde: Partículas irregulares en forma de escamas, color beige claro a oscuro y olor característico¹⁶; CB: Conteo de bacterias, *Bacilo Gram-positivo género *Bacillus* sp; CH: Conteo de hongos.

Tabla 4. Resultados del estudio de estabilidad Lote L-10001.

Ensayo	Inicio	Acelerado		Vida de estante					
		3 meses	6 meses	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses	18 meses	24 meses
Características organolépticas	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Grado de desacetilación (%)	79,83	78,79	78,28	79,63	79,19	79,10	79,4	77,0	76,61
Pérdida por desecación (%)	8,82	7,22	7,10	8,92	9,04	9,23	9,43	9,51	9,50
Conteo microbiano (UFC/g)	CB*: 23 CH < 10	-	-	-	-	-	-	-	CB*: 22 CH < 10

R: Responde: Partículas irregulares en forma de escamas, color beige claro a oscuro y olor característico¹⁶; CB: Conteo de bacterias, *Bacilo Gram-positivo género *Bacillus* sp; CH: Conteo de hongos.

Tabla 5. Resultados del estudio de estabilidad Lote L-11002.

Ensayo	Inicio	Acelerado		Vida de estante					
		3 meses	6 meses	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses	18 meses	24 meses
Características organolépticas	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Grado de desacetilación (%)	88,21	87,61	86,98	87,84	87,69	87,59	87,52	85,93	85,28
Pérdida por desecación (%)	9,22	8,21	7,76	9,22	9,40	9,33	9,51	9,61	9,70
Conteo microbiano (UFC/g)	CB*: 23 CH < 10	-	-	-	-	-	-	-	CB*: 24 CH < 10

R: Responde: Partículas irregulares en forma de escamas, color beige claro a oscuro y olor característico¹⁶; CB: Conteo de bacterias, *Bacilo Gram-positivo género *Bacillus* sp; CH: Conteo de hongos.

°C y humedad relativa 75 ± 5 %) y a los veinticuatro meses a temperatura ambiente (30 ± 2 °C y humedad relativa 70 ± 5 %). Además, no se observaron cambios en los aspectos organolépticos: partículas irregulares en forma de escamas, color beige claro a oscuro y olor característico¹⁶. Los valores obtenidos para la pérdida por desecación fueron inferiores al 10 %, límite establecido para el empleo de la quitosana en la industria farmacéutica²⁴. El grado de desacetilación durante el tiempo de almacenamiento estudiado, no mostró para ninguno de los lotes una disminución superior al 5 % respecto al valor inicial, por lo que se demuestra la reproducibilidad entre los lotes, así como el mantenimiento de la calidad del biopolímero. Los resultados del conteo microbiológico indicaron la calidad

microbiológica del producto según lo descrito en la USP 33, 2010 para medicamentos no estériles²².

Se demostró que la quitosana obtenida mediante el proceso tecnológico diseñado²¹, almacenada en bolsas dobles de polietileno y sacos de papel multicapas, a 30 ± 2 °C y en lugares secos, conserva durante veinticuatro meses sus características físicas, químicas y microbiológicas.

CONCLUSIÓN

Se demostró que la quitosana, derivada de quitina de langosta, conserva su calidad durante veinticuatro meses almacenada a temperatura ambiente y en el envase propuesto. Además, se comprobó que la calidad entre

los lotes es reproducible, por lo que se demuestra la factibilidad del proceso de producción del biopolímero. El método propuesto resultó válido para determinar el GD en muestras de quitosana, materia prima.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kurita K. Chemical modifications of chitin and chitosan. Plenum: New York; 1986.
2. Roberts GAF. Structure of chitin and chitosan. Macmillan Press: New York; 1992.
3. Agulló E, Mato R, Peniche C, Tapia C, Heras A, Pastor de Abram A. Generalidades. Programa CYTED, CIAD y Pontificia Universidad Católica del Perú, Perú; 2004.
4. Argüelles W, Heras A, Acosta N, Galed G, Gallardo A, Miralles B, et al. Caracterización de quitina y quitosano. Programa CYTED, CIAD y Pontificia Universidad Católica del Perú, Perú; 2004.
5. Hidalgo C, Suárez Y, Fernández M. Validación de una técnica potenciométrica para determinar el grado de desacetilación de la quitosana. *Ars Pharm.* 2008;49:245-57.
6. Chatelet C, Damour O, Domard A. Influence of the degree of acetylation on some biological properties of chitosan films. *Biomaterials* 2001;22(3):261-8.
7. Ravi Kumar MNV. A review of chitin and chitosan applications. *React Funct Polym.* 2000;46:1-27.
8. García T, Roca JM. Industrialización de los crustáceos para la obtención de quitosano en ungüento con efecto cicatrizante. *Ind Data.* 2008;11:24-32.
9. Kasaaí MR. Various methods for determination of the degree of N-acetylation of chitin and chitosan: a review. *J Agric Food Chem.* 2009;57:1667-76.
10. Broussignac P. Chitosan: a natural polymer not well known by the industry. *Chem Ind Genie Chim.* 1968;99(9):1241-7.
11. Muzzarelli RAA. Chitin. Pergamon Press: Oxford; 1977.
12. Xuan J, Lirong Ch, Wei Z. A new linear potentiometric titration method for the determination of deacetylation degree of chitosan. *Carbohydr Polym.* 2003;54:457-63.
13. Parada LG, Crespín GD, Miranda R, Katime I. Caracterización de quitosano por viscosimetría capilar y valoración potenciométrica. *Rev Iberoam Polím.* 2004;5(1):1-16.
14. Hernández H, Águila E, Flores O, Viveros EL, Ramos E. Obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón. *Superficies y Vacío.* 2009;22(3):57-60.
15. Nieto OM. Quitina. Su estudio y utilización como fármaco acelerador de la cicatrización. Tesis Doctoral. Universidad de la Habana: Cuba; 1993.
16. Hidalgo C, Fernández M, Nieto OM, Paneque AA, Fernández G, Llópiz JC. Estudio de quitosanos cubanos derivados de la quitina de la langosta. *Rev Iberoam Polím.* 2009;10:1-17.
17. Shap J. Quality in manufacture of medicines and other healthcare products. Pharmaceutical Press: London; 2000.
18. Regulación No. 41. CECMED. Validación de Métodos Analíticos. MINSAP: Cuba; 2007.
19. ICH Q2A. Text on Validation of Analytical Procedures; 1995.
20. Regulación No. 23 CECMED. Requerimientos de los estudios de estabilidad para el registro de productos farmacéuticos nuevos y conocidos. MINSAP: Cuba; 2000.
21. De la Paz N, Fernández M, López OD, Nogueira A, García CM, Pérez D, et al. Optimización del proceso de obtención de quitosana derivada de quitina de langosta. *Rev Iberoam Polím.* 2012;13(3):103-16.
22. United State Pharmacopeia (USP 33). United States Pharmacopoeia XXXIII and National Formulary 28st; 2010.
23. Beltagi AM, Abdallah OM, Ghoneim MM. Development of a voltammetric procedure for assay of the antihistamine drug hydroxyzine at a glassy carbon electrode: Quantification and pharmacokinetic studies. *Talanta.* 2008;74:851-9.
24. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. Chitosan. Pharmaceutical Press: Italy; 2009.