



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

"CUAUTITLAN"

**"Estudio de los Parametros Cromatográficos en la
Determinación de Trazas de Solventes en Tabletas
con Recubrimiento de Película".**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO

P R E S E N T A :

VIRGINIA ANGELICA ROBINSON FUENTES

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. JOSE LUIS JURADO BAIZAVAL



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	Página	
II	INTRODUCCION	1
	1. Recubrimiento de Película	1
	1.1 Materias Primas	1
	1.1.1 Polímeros	2
	1.1.2 Solventes	2
	1.2 Técnicas de Aplicación	3
	1.2.1 Aplicación por Cucharón	4
	1.2.2 Aplicación por Aspersión	4
	2. Aspectos Estadísticos	6
	2.1 Límites de Detección Cualitativa y De- terminación Cuantitativa	9
	2.2 Límites de Decisión y Detección median te Curvas de Calibración	12
III	OBJETIVOS	15
III	PARTE EXPERIMENTAL	16
	1. Desarrollo	17
	1.1 Elección de la Fase Estacionaria	17
	1.2 Elección de Temperatura	19
	1.3 Elección de Flujo	19
	1.4 Elección de Volumen de Inyección	19
	1.5 Cuantificación	19
	1.5.1 Análisis Ilustrativo de dos mues tras	20
IV	RESULTADOS Y DISCUSION	21
	1. Elección de Temperatura	22
	2. Elección de Flujo	26
	3. Elección de Volumen de Inyección	31
	4. Cuantificación	35
	5. Análisis Ilustrativo de Dos Muestras	66

	Página
V CONCLUSIONES	72
VI ANEXOS	74
1. Equipo, Material y Reactivos	75
2. Abreviaturas Empleadas	76
3. Glosario [*]	77
VII BIBLIOGRAFIA	81

I INTRODUCCION

1. RECUBRIMIENTO DE PELICULA

Este proceso involucra la implantación de una membrana delgada pero uniforme de un polímero farmacéuticamente aceptado sobre la superficie de tabletas, cápsulas o gránulos.

El recubrimiento de película se usa para proteger al medicamento de interacciones con el medio ambiente que pudieran afectar su estabilidad así como para enmascarar caracteres organolépticos que pudieran causar el rechazo del paciente. También se utiliza para retardar la liberación del fármaco, es decir, lograr una forma de dosificación controlada [1,3,4]. Este recubrimiento se comenzó a desarrollar a principios de los años cincuenta en sustitución del recubrimiento de azúcar debido a las desventajas presentadas por éste en cuanto tiempo y costo.

Además de presentar ventajas en el aumento de eficiencia de procesos, en el aspecto económico, en el tiempo de proceso y en la mano de obra, la introducción del proceso de propició por la mayor flexibilidad de requerir mano de obra menos calificada.

1.1 Materias Primas

La materia prima de mayor importancia en este proceso es el polímero formador de la película, cuyo requisito principal es tener la capacidad de formar una película coherente y uniforme sobre la superficie del material, por lo que se requiere también de un sistema de solventes adecuado que favorezca la formación de la pe-

lícula "in situ". Otras materias primas que se utilizan comunmente son los plastificantes, que modifican las propiedades de los polímeros, y colorantes que se utilizan para dar una mejor presentación al producto terminado.

1.1.1 Polímeros

El grupo de polímeros farmacéuticamente aceptados -- son los éteres de celulosa como la hidroxipropil celulosa, metilhidroxietil celulosa, carboximetil celulosa, - hidroxipropilmetil celulosa, etc.; siendo ésta última la más utilizada.

Existen otros materiales que también son capaces de formar películas como la polivinilpirrolidona, polietilenglicoles, ácido metacrílico, etc.

1.1.2 Solventes

Existen varios factores a considerar cuando se quiere seleccionar un solvente o mezcla de solventes. El primero es la capacidad de formar una disolución verdadera con el polímero de elección, siendo ésta cuando se produce una extensión máxima en la cadena del polímero, para obtener películas con mayor fuerza cohesiva y con esto obtener mejores propiedades mecánicas [19]. Otra función del solvente es asegurar la implantación controlada del polímero sobre la superficie del material. Si se obtiene una buena película, continua y adherente, la volatilidad del solvente se convierte en un factor importante.

Una vez que se han resuelto los factores inherentes a la formulación, se debe poner atención a los posibles cambios en las proporciones de los solventes que puedan

ocurrir durante el proceso de aplicación. Esto puede no ser problema si todos los componentes de la mezcla, o al menos el componente más volátil son buenos disolventes - para el polímero. Sin embargo, si alguno de los componentes o el más volátil no es buen disolvente, el balance - polímero-solvente cambia termodinámicamente conforme -- avanza la evaporación. El polímero puede precipitarse an tes de que se forme una película uniforme y cohesiva, o bien el grado de solubilidad del polímero puede ser insufi ciente para asegurar que se obtengan las propiedades - óptimas de la película. En tal caso es convenien te utilizar una mezcla de solventes de punto de ebullición constan te, o una mezcla azeotrópica cuya composición no cambie durante la evaporación.

Los solventes y mezclas de solventes más utilizados se enlistan a continuación:

- Cloruro de Metileno / Etanol
- Cloruro de Metileno / Metanol
- Cloruro de Metileno / Isopropanol
- Acetona
- Cloruro de Metileno / Acetona / Etanol
- Etanol / Agua
- Etanol / Isopropanol / Agua

Actualmente existen otros factores que restringen la e-- lección del solvente, principalmente en el aspecto de tox icidad y contaminación ambiental y ésto deberá tomarse- en cuenta para poder elegir el sistema adecuado.

1.2. Técnicas de Aplicación

La elección de la técnica de aplicación es otro factor -

importante ya que debe asegurar la formación de la película sobre el material. Como en todo proceso, se debe tener un control cuidadoso para asegurar que el polímero alcance la superficie del material en un estado óptimo de solvatación permitiendo así la formación de películas continuas. Las técnicas de aplicación existentes, son las siguientes:

1.2.1 Aplicación por Cucharón

Se realiza en bombos convencionales equipado con placas deflectoras para asegurar un mezclado adecuado de las tabletas. El sistema de secado debe tener la capacidad suficiente para proveer un secado adecuado y favorecer la salida de los vapores del solvente del bombo. Si se cuenta con un bombo de velocidad regulable, se permite un secado mas uniforme y previene los rozamientos debidos de las tabletas.

1.2.2 Aplicación por Aspersión

En la actualidad es el procedimiento más utilizado y aunque existen muchas técnicas de aspersión, éstas dependen de las características del equipo, de la formulación, de las variables del proceso y sus interacciones [1,3,4,5], y no se mencionarán aquí cada una de ellas.

Debido al riesgo potencial que representa el utilizar solventes orgánicos, el equipo utilizado debe tener la capacidad de evitar que salgan a la atmósfera los vapores, con el fin de prevenir riesgos de incendio e intoxicación de los operarios.

Una vez concluido el proceso de recubrimiento, el pro--

ducto se somete a un proceso de postsecado. Este debe -- ser adecuado para eliminar cualquier residuo de solvente ya que pueden ser nocivos a la salud así como afectar la estabilidad del medicamento.

Se ha observado que la cantidad de residuos de solventes en las tabletas así como en el material de recubrimiento depende del solvente usado (punto de ebullición), del -- dispositivo de recubrimiento, la técnica de aspersión, -- la porosidad del núcleo y de las condiciones del proceso de secado subsecuente [7].

Se espera que el proceso de secado elimine todo el sol-- vato orgánico del producto terminado, pero hay poca in-- formación acerca de los residuos que pueden encontrarse en las tabletas con recubrimiento de película [6,7].

Aún cuando la técnica de recubrimiento de película tiene más de veinte años de haberse desarrollado, no es sino hasta recientemente que se comenzó a estudiar la forma de determinar los residuos de solventes [6]. Tales resi-- duos sólo pueden ser determinados por un método analíti-- co que sea suficientemente sensible, preciso y que ade-- más sea reproducible. Aunque existen varios métodos ana-- líticos que puedan reunir éstos requisitos, aquí se eli-- gió la Cromatografía en Fase Gaseosa porque es un método ampliamente difundido y por lo mismo, su costo es relati-- vamente bajo, además de que presenta ventajas importan-- tes como son: utilización de muestras pequeñas, la posi-- bilidad de identificar y cuantificar, obtención de mejo-- res separaciones, el error del método es mínimo y el -- tiempo de análisis es relativamente corto, comparado con

las cromatografías clásicas [22-27]. También hay que recordar que es el método más usado en el análisis y separación de mezclas de solventes.

En el presente estudio se pretenden fijar los límites de detección con bases estadísticas para los residuos de los solventes orgánicos utilizados en el proceso de recubrimiento de película, utilizando la Cromatografía en Fase Gaseosa como método de análisis con el fin de proveer mayor información sobre un tema tan poco estudiado y cuya importancia no debe despreciarse debido a las implicaciones toxicológicas y de estabilidad del medicamento que se pudieran tener, así como proporcionar, para el control de calidad en este tipo de productos, una herramienta útil.

2. ASPECTOS ESTADISTICOS

Cuando se hace uso de un método instrumental cuya respuesta a un determinado análisis se dá mediante un amplificador y registrador, como es el caso de la Cromatografía en Fase Gaseosa, es necesario contar con un método estadístico apropiado que permita evaluar los datos analíticos obtenidos [20]. Dicho método deberá ser capaz de distinguir si la observación que se esta realizando es causada por la presencia de la muestra o debida al ruido del aparato, y de esta manera reconocer la cantidad mínima posible de detectar. Es decir, contar con un método estadístico capaz de fijar límites de decisión o críticos, límites de detección y límites de determinación [8,9 10].

El desarrollo de una expresión de límite de detección es importante en el trabajo teórico y experimental ya que permite el cálculo directo de la sensibilidad del análisis.

sia que puede esperarse y es un criterio en la selección de las condiciones óptimas experimentales [12-16,18].

Estadísticamente pueden establecerse estos parámetros bajo el criterio de las llamadas pruebas de hipótesis, que parten de la suposición de que los resultados que se obtienen para una muestra analizada siguen una distribución normal.

Existen varias definiciones de estos parámetros, que en la mayoría de los casos corresponden a los criterios que los autores resaltan más de acuerdo al método trabajado por ellos [8-18].

De manera general pueden definirse de la siguiente manera:

LIMITE DE DECISION. Es el valor crítico entre detectar (aceptar) y no detectar (rechazar) el valor obtenido en una determinación analítica dada.

LIMITE DE DETECCION. El conjunto de determinaciones analíticas se subdivide en dos subconjuntos diferenciados por el límite de decisión, el subconjunto de mediciones detectadas y el de mediciones no detectadas. Por tanto, el límite de detección es la concentración de especies en un análisis que pueden ser detectados con un nivel de confianza especificado.

Respecto al límite de detección se deben considerar dos aspectos fundamentales. El primero de ellos se refiere a la toma de decisión binaria (cualitativa) "a posteriori" que sugiere el establecimiento de un límite superior al subconjunto de mediciones no detectadas así como el establecimiento de un intervalo de confianza (un límite superior y uno inferior) al subconjunto de mediciones detectadas. El segundo aspecto se relaciona con una estimación "a priori" de las capacidades de detección del pro-

ceso de medición utilizado.

Al tomar una decisión cualitativa, se corre el riesgo - de cometer uno de dos tipos de error:

La probabilidad de cometer el error tipo I es α ; y es decidir que la sustancia esta presente cuando no lo está; y β es la probabilidad de cometer el error de tipo II que consiste en tomar la decisión de que la sustancia esta ausente cuando no lo está.

La probabilidad α de cometer el error tipo I, especifica la significancia de las señales medidas; en tanto -- que β , la probabilidad de cometer el error de tipo II, es un parámetro representativo de la potencia de la prueba, que es la probabilidad de no cometer el error - de tipo II ($1 - \beta$).

Tanto α como β dependen del límite crítico; sin embargo no es posible minimizar α y β con el establecimiento del límite crítico pues estos son requisitos que se encuentran en contraposición ya que para hacer decrecer α , se establece un cierto valor para el límite crítico que obliga un aumento de β . En la práctica primero se elige α (5%,o algunas veces 1%), luego se determina el límite crítico y por último se determina β . Si ésta es muy grande, es decir la potencia ($1 - \beta$) es pequeña, se debe repetir la prueba, escogiendo una muestra mas grande (figura I.1).

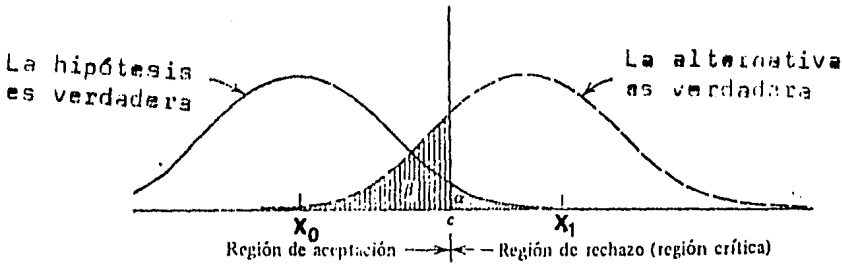


Fig. I.1 Ilustración de los errores tipo I y II al probar una hipótesis $X=X_0$ contra una alternativa $X=X_1$ ($> X_0$).

2.1 Límite de Detección Cualitativa y Determinación Cuantitativa [8].

El límite crítico o de decisión involucra el aspecto "a posteriori" de la detección ya que se basa en la medición de las señales observadas. Dicho límite puede obtenerse con el máximo valor para α , junto con la desviación estándar σ_0 , cuando la media de la señal, μ , es cero y cuya expresión matemática es:

$$L_c = K_\alpha \sigma_0 \quad \dots(1)$$

donde: L_c es el límite crítico
 K_α es la abscisa de la distribución normal estandarizada correspondiente al nivel de probabilidad $(1 - \alpha)$.

Una vez que se ha definido L_c , se establece un límite de detección "a priori", utilizando para ello el nivel aceptable para β y la desviación estándar σ_D , cuando

la media de la señal μ , es igual al límite de detección:

$$L_D = L_C + K_\beta \sigma_D \quad \dots(2)$$

donde: L_D es el límite de detección

K_β es la abscisa de la distribución normal estandarizada correspondiente al nivel de probabilidad $(1 - \beta)$.

Los límites determinados por las ecuaciones (1) y (2) , corresponden al análisis cualitativo; y aún cuando se tenga una decisión binaria, basada en L_C , no es satisfactoria para un análisis cuantitativo, ya que un límite superior de un intervalo de confianza ancho no es suficiente para asegurar una buena aproximación al valor real. Es por lo que surge la definición de LIMITE DE DETERMINACION, para el cual la desviación estándar σ , - debe ser una pequeña fracción del valor verdadero. Su expresión matemática es la siguiente:

$$L_Q = K_Q \sigma_Q \quad \dots(3)$$

donde: L_Q es el valor real de la señal neta con una desviación estándar σ_Q

$1/K_Q$ es la desviación estándar relativa requerida, que generalmente es del -- 10%.

En suma, los niveles L_C , L_D y L_Q están determinados por el error del proceso de medición, los riesgos α y β , y la máxima desviación estándar relativa aceptable para el análisis cuantitativo. L_C se utiliza para probar un

resultado experimental, mientras que L_D y L_Q se refieren a la capacidad de medición del proceso mismo.

La relación entre los tres niveles y su significado en análisis químico aparece en la figura I.2.

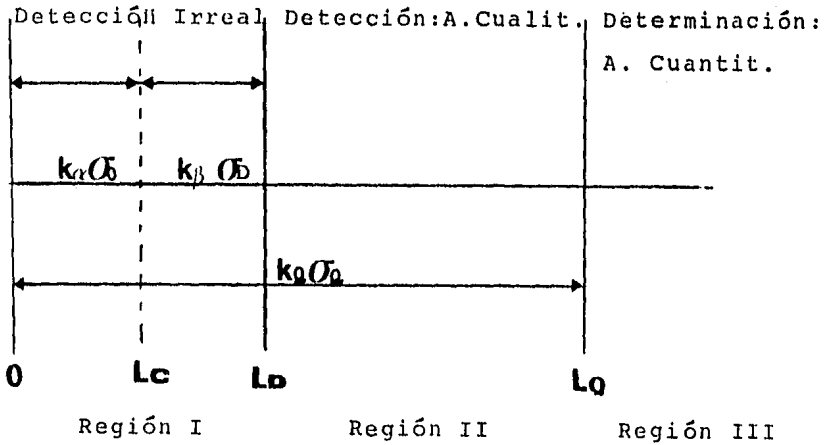


Fig. I.2 Las tres principales regiones analíticas

Para el caso particular, para el cual el valor de σ sea aproximadamente igual al valor de σ_0 y se considere casi constante: $K_\alpha = K_\beta = K$, por lo que la ecuación (1) puede escribirse como:

$$L_C = K \sigma_0 \quad \dots(4)$$

y

$$L_D = L_C + K \sigma_D = K(\sigma_0 + \sigma_D) \quad \dots(5)$$

asumiendo que σ es aproximadamente constante:

$$L_C = K \sigma \quad \dots(6)$$

y

$$L_D = 2 K \sigma = 2 L_C \quad \dots(7)$$

siendo el límite de detección el doble que el de decisión.

Suponiendo que la desviación estándar relativa requerida es aproximadamente del 10%, $K_Q = 10$, se tiene que:

$$L_Q = K_Q \sigma_Q = 10\sigma \quad \dots(8)$$

2.2 Límites de Decisión y Detección mediante Curvas de Calibración Lineal.

Otro método estadístico desarrollado con el propósito de establecer límites de decisión y detección, que consiste en la elaboración de curvas de calibración lineales, fué desarrollado por Hubaux y Vos [10].

En la mayoría de los métodos analíticos, se construye una línea recta, recta de regresión, midiendo las señales de respuesta de un cierto número de estándares, pasando a través de los puntos más representativos. Esta recta sólo es un estimado de la verdadera curva de calibración. Cuando se realiza la medición de un nuevo estándar, su señal caerá en la vecindad de dicha curva. El hecho de que el punto no caiga exactamente en la curva se debe a dos razones: la curva de calibración dibujada solo es un estimado por lo que no coincide exactamente con la curva de calibración real; y para un contenido dado, la respuesta correspondiente no tiene un valor fijo porque esta distribuida al azar alrededor de un valor medio, y esta distribución no se conoce exactamente [17]. Por tanto, se dibujan bandas de confianza a cada lado de la recta de regresión con un nivel de confianza elegido "a priori", denotado como $1 - \alpha - \beta$, teniendo α y β valores pequeños prefijados. Con ésto, al rea-

lizar una serie de mediciones, el $1 - \alpha - \beta$ de las veces estaremos en lo cierto, α % de los puntos caerán arriba del límite superior y β % de las veces caerán bajo el límite inferior. La amplitud de las bandas de confianza depende de la dispersión de las señales para un contenido dado, del conocimiento que se tiene de la dispersión y del grado de incertidumbre acerca de la verdadera posición de la curva de calibración.

Si se realiza la medición de una señal igual a Y_c (figura 1.3) el límite de contenido más bajo es cero. Las señales iguales o menores a Y_c tienen una probabilidad insignificante debida a una muestra con una concentración nula y por tanto no puede distinguirse si tales señales indican realmente la presencia del elemento buscado.

Y_c es por tanto, la señal más pequeña medible y corresponde al límite crítico, mas bien Y_c es un estimado de L_c . Antes de hacer cualquier medición, puede establecerse que el contenido más bajo que puede ser distinguido de cero es X_D , la abscisa correspondiente a Y_c en la banda de confianza inferior. Si se hace la medición de algún contenido menor a X_D , se corre un riesgo mayor -- que para obtener una señal más baja que Y_c .

Es necesario remarcar que Y_c y X_D no tienen valores fijos. Para un método dado y un número de estándares, van a variar debido primeramente a que α y β pueden escogerse de acuerdo al riesgo que se esta dispuesto a correr y segundo, si se hace una segunda serie de estándares idéntica a la primera se obtendrán valores que difieren al azar de las primeras señales. La línea de regresión y las bandas de confianza que se dibujen no coincidirán exactamente con las primeras y Y_c y X_D serán un poco diferentes. En otras palabras Y_c y X_D son variables al

azar y estimadas unicamente, siendo ésto una situación normal cuando el azar es parte de fenómeno.

En suma, se tienen dos límites de sensibilidad: un nivel de señal Y_C y uno de contenido X_D . Haciendo la aclaración que de la misma curva de calibración es posible conocer el valor en cantidad para Y_C , es decir X_C ; y el valor en señal para X_D , o sea Y_D .

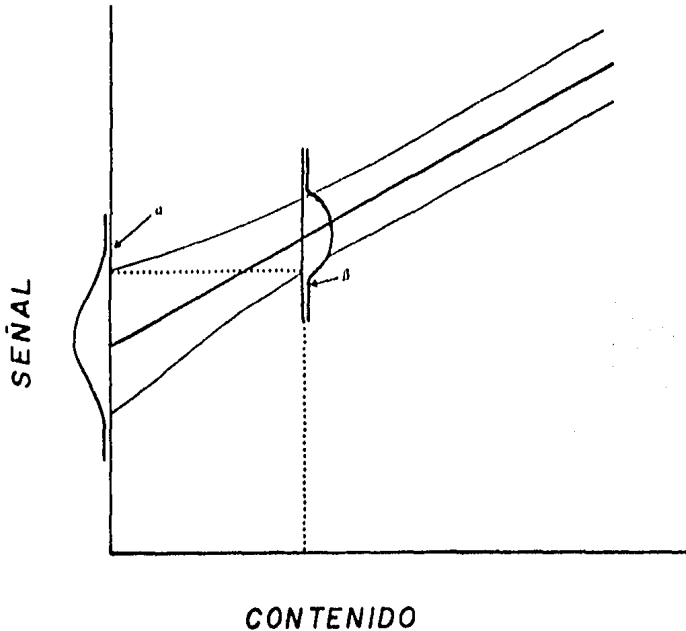


Fig.I.3 Curva de Calibración Lineal con sus bandas de confianza. Y_C es el límite de decisión y X_D - el límite de detección.

II OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL.

-Establecer las bases para el análisis por Cromatografía en Fase Gaseosa de trazas de solventes en tabletas con recubrimiento de película.

OBJETIVOS PARTICULARES.

- a) Establecer las condiciones óptimas de análisis: flujo, temperatura y volumen de inyección.
- b) Determinar los límites de detección y críticos de los solventes más utilizados en el proceso de recubrimiento de película.
- c) Ejemplificar la aplicación del método en la detección de trazas de solventes en producto terminado.

III PARTE EXPERIMENTAL

El trabajo experimental consistió en el estudio de las condiciones cromatográficas para analizar trazas de solventes en tabletas con recubrimiento de película--tomando como punto de partida las posibles mezclas de solventes y cada uno de ellos en forma individual, que se usan en este proceso.

Antes de comenzar el estudio, cada una de las columnas--fué estabilizada a una temperatura cercana a la máxima de trabajo, con un flujo bajo por aproximadamente 40 h y al inicio de cada día de trabajo, se estabilizaron --por lo menos 30 minutos en las mismas condiciones.

1. DESARROLLO.

Puesto que se querían determinar los límites críticos y de detección, había que obtener las condiciones óptimas de operación para el análisis de Metanol, Etanol, Isopropanol, Diclorometano y Acetona, por ser los solventes más usados en este proceso ya sea en forma individual o como mezcla.

1.1 Elección de la Fase Estacionaria

Primeramente se tuvo que elegir la fase estacionaria que pudiera efectuar la separación de los compuestos ya mencionados. Las más recomendadas por la bibliografía para el análisis de solventes similares y sus mezclas son Porapak Q, Porapak R y Carbowax 1540 [22,23,24]. Las columnas que se tenían disponibles son de las siguientes características:

- Porapak Q de 80 - 100 mesh empacada en columna de 2 m de longitud.
- Porapak R de 100 - 120 mesh empacada en columna de 3 m de longitud.
- Carbowax 1540 al 17 % sobre CHROM WHP de 80 - 100 mesh empacada en columna de 5 m.

Se inyectaron al cromatógrafo 2 μ l de una solución de los solventes de interés (1 % v/v en tetracloruro de carbono) en las columnas mencionadas y se obtuvieron los resultados de la tabla III.1.1.1, encontrándose que Porapak R presente mayor eficiencia y una mejor separación entre Diclorometano y Acetona, por lo que se decidió descartar la columna empacada con Porapak Q y trabajar con la primera y Carbowax 1540. Esta última fase estacionaria favorece la adecuada separación de Diclorometano y Acetona pues tiene una mayor polaridad, y por lo tanto -

se modifica la afinidad de los componentes por ésta, y difiere consecuentemente el orden de elución.

Solvente	N			t_{Rc}^- / t_{Rs}		
	PQ	PR	C1540	PQ	PR	C1540
Metanol	357	526	1775	0.13	0.12	1.34
Etanol	557	605	3919	0.25	0.23	1.55
Diclorometano	425	691	1678	0.39	0.34	1.26
Acetona	522	751	1284	0.39	0.36	0.68
Isopropanol	516	714	3503	0.86	0.40	1.64

Tabla III.1.1.1

Resultados obtenidos en la selección de la fase estacionaria. El factor de separación está definido entre el compuesto y el solvente. Condiciones para Porapak Q y R temperatura de la columna 160°C; temperatura del inyector y detector 190°C y 45 ml de N₂/min de flujo. Condiciones para Carbowax 1540: temperatura de columna 60°C, temperatura del inyector y detector 90°C y 45 ml de N₂/min de flujo.

De la tabla III.1.1.1 se puede observar que los compuestos que tienen pobre resolución en una de estas fases la mejoran al ser analizadas en la otra. Tal es el caso de Acetona y Diclorometano en Carbowax 1540 y Diclorometano-Metanol, Etanol-Isopropanol en Porapak R. El uso de ambas fases estacionarias hace posible el análisis de cualquier tipo de mezcla de estos solventes que pudiera presentarse en una formulación dada, por lo que el estudio subsecuente se limitará a Porapak R y Carbowax 1540.

1.2 Elección de Temperatura.

Se hicieron 3 inyecciones de 2 μ l de una mezcla de -- los solventes estudiados a diferentes temperaturas en ca da una de las fases estacionarias tomando en cuenta la temperatura máxima de trabajo de las mismas (140°C para C1540 y 250°C para PR) y utilizando un flujo de 45 ml de N₂/min.:

Carbowax 1540: 45,50,60,80°C

Porapak R: 140,160,170,180°C

Los datos obtenidos se muestran en la sección IV.1

1.3 Elección de Flujo.

Se hicieron inyecciones de 2 μ l de una mezcla de los solventes estudiados, variando el flujo desde 10 hasta - 65 ml/min en intervalos constantes de 5 unidades, a una temperatura de 160°C. Los resultados se muestran en la sección IV.2.

1.4 Elección del Volúmen de Inyección.

Habiendo estabilizado el aparato a un flujo de 45 ml/min y con una temperatura de columna de 160°C se realizaron inyecciones de 2,4,6 y 10 μ l, que es el volúmen máximo del dispositivo de inyección. Los resultados obtenidos aparecen en la sección IV.3.

1.5 Cuantificación.

Con las condiciones establecidas de flujo y temperatura, se elaboraron gráficos de la señal (area y altura) - en función de la concentración en partes por millón, para lo cual se prepararon soluciones de los compuestos de interés en Tetracloruro de Carbono* (para PR) y Cloroformo* (para C1540). Las concentraciones de éstas se encon-

traban entre 8 y 140 ppm. Se inyectaron 2 μ l de cada una de estas soluciones, determinándose con ello los límites de detección, los límites críticos y la linealidad en el intervalo de interés.

- * El uso de distintos disolventes para cada fase estacionaria se debe a que se prefirió que fueran los compuestos más retenidos con el fin de evitar que a bajas concentraciones, el coleo de éste enmascara a los demás picos.

1.5.1 Análisis Ilustrativo de Dos Muestras.

Como un ejemplo de la aplicación del método en la cuantificación de trazas de solventes en tabletas con recubrimiento de película, se analizaron 2 lotes de grageas de ácido acetilsalicílico con capa entérica (que además del recubrimiento de película contiene uno de azúcar), que fueron tratadas de la siguiente manera:

a) Se tomaron 5 grageas por lote, se les desprendió la capa de azúcar y se sumergieron en 15 ml de solvente. Se sometieron por 15 min. a un baño de ultrasonido para remover los solventes buscados. El solvente fué centrifugado por 5 min. a 3500 rpm y del sobrenadante se inyectaron al cromatógrafo 2 μ l.

b) Se preparó otra muestra bajo las mismas condiciones con fragmentos de la capa de azúcar y del núcleo de la gragea.

IV RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados presentados en este capítulo, corresponden al promedio de varias determinaciones. Los datos de las secciones 1,2,3 y 5 son el promedio de tres determinaciones; los de la sección 4, el de seis determinaciones.

Las rectas de la sección 4 fueron obtenidas por regresión lineal mediante el método de mínimos cuadrados y sus bandas de confianza, utilizando la desviación estándar por punto.

1. ELECCION DE TEMPERATURA.

Los resultados obtenidos de los experimentos descritos en la sección III.1.2, se muestran en las tablas IV.1.1 y IV.1.2; los cromatogramas representativos se muestran en la figura IV.1.1

La temperatura óptima del horno es aquella que ofrece la mínima resolución aceptable ($R \geq 1.5$) en un tiempo de análisis relativamente corto.

Las temperaturas mayores a 180°C, para Porapak R, y 80°C para Carbowax 1540, no fueron consideradas por no ofrecer una resolución satisfactoria entre los compuestos estudiados.

Solventes	T°C			
	140	160	170	180
Metanol-Etanol	7.28	5.4	4.72	3.84
Etanol-Diclorometano	3.32	3.23	2.83	2.43
Diclorometano-Acetona	1.07	0.9	0	0
Acetona-Isopropanol	2.05	1.34	0.95	0

Tabla IV.1.1

Resolución entre los compuestos en función de la temperatura, en Porapak R.

En la tabla IV.1.1 puede observarse que a 170 y 180°C -- hay una resolución pobre de los compuestos más retenidos y que se mejora sensiblemente con la disminución de temperatura pero sin que se logre obtener la resolución adecuada entre Diclorometano y Acetona.

En la tabla IV.1.2 es posible observar que los compuestos más retenidos tienen una resolución pobre a la tempe

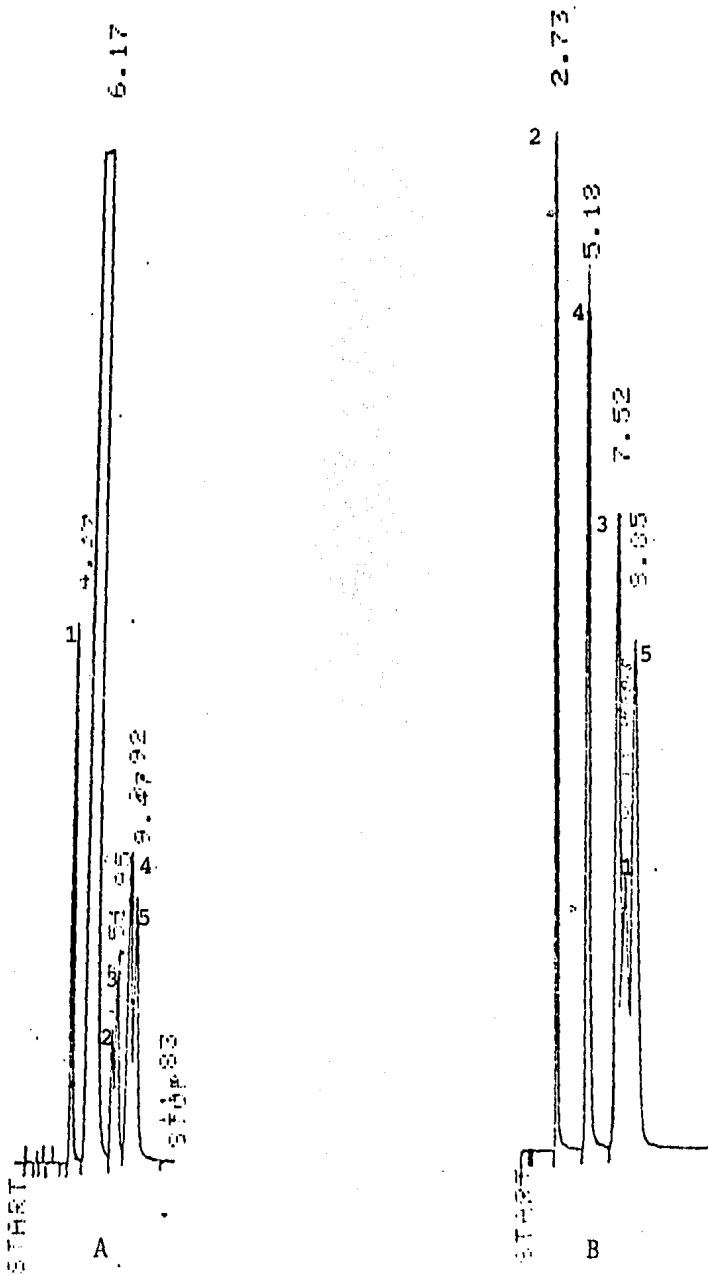


Figura IV.1.1

Cromatogramas de la mezcla de solventes en Carbowax 1540 (A) y Porapak R (B). Temperatura de la columna 60°C para la primera y 160°C para la segunda, con un flujo de 45 ml de N_2 /min. Los picos son debidos a 1-Acetona, 2-Metanol, 3-Diclorometano, 4-Etanol y 5-Isopropanol. .

ratura de 80°C y en este caso tampoco se logra la adecuada resolución entre Diclorometano-Metanol y Etanol-Isopropanol.

Solventes	T°C			
	45	50	60	80
Acetona-Diclorometano	12.24	9.47	6.24	3.33
Diclorometano-Metanol	1.08	0.98	0.63	0
Metanol-Etanol	4.1	2.08	1.17	1.05
Etanol-Isopropanol	1.05	0.77	0.67	0

Tabla IV.1.2

Resolución entre los compuestos en función de la temperatura, en Carbowax 1540.

En ambos casos la disminución de temperatura no logró una adecuada separación de los compuestos estudiados, ocasionando valores de resolución muy grandes para los compuestos menos retenidos, teniendo, consecuentemente, tiempos de análisis muy prolongados. Para el análisis de cualquier posible mezcla de solventes que pueda presentarse en una formulación, se puede contar con condiciones específicas para cada una de ellas como puede observarse en la tabla IV.1.3. Esto hace que se puedan obtener las condiciones para tener los menores tiempos de análisis, así como poder usar cualquiera de las fases estacionarias ya que es posible que en una muestra estén presentes compuestos con los mismos tiempos de retención de los solventes buscados, y al cambiar la fase se pueden separar y/o asegurarse de que el pico es debido al

compuesto de interés.

Mezcla	Intervalo de T°C de trabajo	
	Porapak R	Carbowax 1540
Diclorometano/Etanol	160-180	50-60
Diclorometano/Metanol	160-180	-----
Diclorometano/Isopropanol	160	50-60
Acetona	160-180	50-80
Diclorometano/Acetona/Etanol	-----	50-60
Etanol/Agua	160-180	50-80
Etanol/Isopropanol/Agua	160-180	-----

Tabla IV.1.3

Condiciones específicas de temperatura para cada una de las mezclas de solventes más comunes, en las dos fases-estacionarias estudiadas.

Como el área de los picos no es función de la -- temperatura, se eligieron 60°C para Carbowax 1540 y 160°C para Porapak R como temperaturas de trabajo.

2. ELECCION DEL FLUJO.

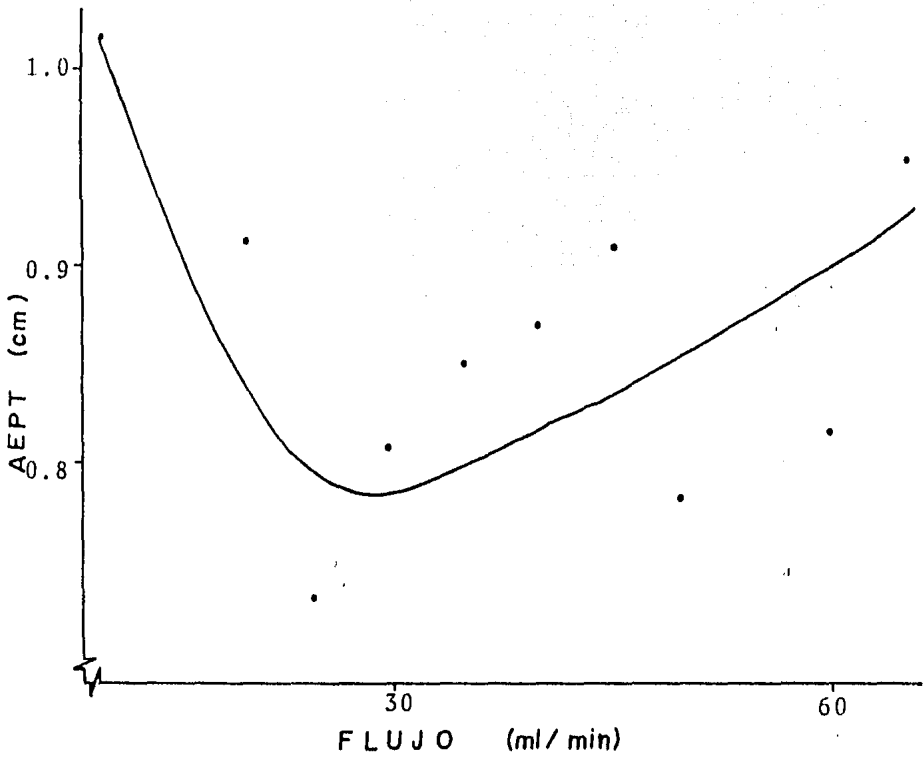
El flujo es un parámetro que afecta directamente la eficiencia de la columna y consecuentemente la separación de los componentes de la muestra, por lo que es necesario escoger el flujo óptimo de trabajo.

En las gráficas IV.2.1, IV.2.2, y IV.2.3 se muestra la variación de la eficiencia de la columna en AEPT en función del flujo. Solo aparecen tres compuestos en una fase estacionaria como una forma de ejemplificar el trabajo que se siguió para elegir el flujo que fuera adecuado para la mezcla de solventes, teniendo como referencia un compuesto poco retenido (Metanol), uno medianamente retenido (Etanol) y otro más retenido (Acetona). Las gráficas mencionadas muestran gran dispersión de los puntos, sin embargo, las curvas fueron trazadas procurando seguir la tendencia de los puntos obtenidos.

En estas gráficas puede observarse que los flujos de máxima eficiencia, cuando se tiene el menor valor de AEPT se encuentran aproximadamente en 20 (Acetona), 25 (Etanol) y 30 ml/min (Metanol). Los tiempos de análisis producidos son de aproximadamente 30 min.

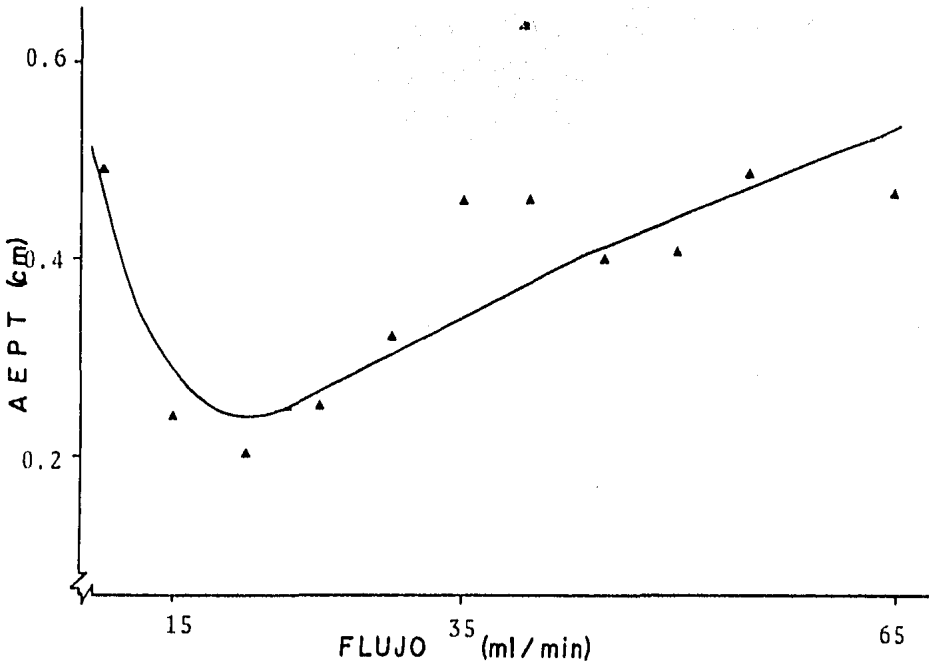
Por otro lado, no se considera que sea conveniente trabajar en flujos menores de 30 ml/min pues se corre el riesgo de que la eficiencia disminuya considerablemente para los compuestos pocos retenidos. En las gráficas se puede observar que la variación de la eficiencia en flujos bajos es grande comparada con la ofrecida en flujos altos. Estas consideraciones condujeron a la elección de un flujo de 45 ml/min, pues el decremento en la eficiencia no es grande y cercano al valor de dispersión misma de los puntos en las gráficas; además el tiempo de análisis se reduce en un 25%.

No obstante, cabe mencionar que para algún análisis en particular, por ejemplo la separación de Diclorometano/ Metanol que puede realizarse hasta una temperatura de -180°C y el tiempo de análisis es más corto, se puede usar un flujo de 30 ml/min.



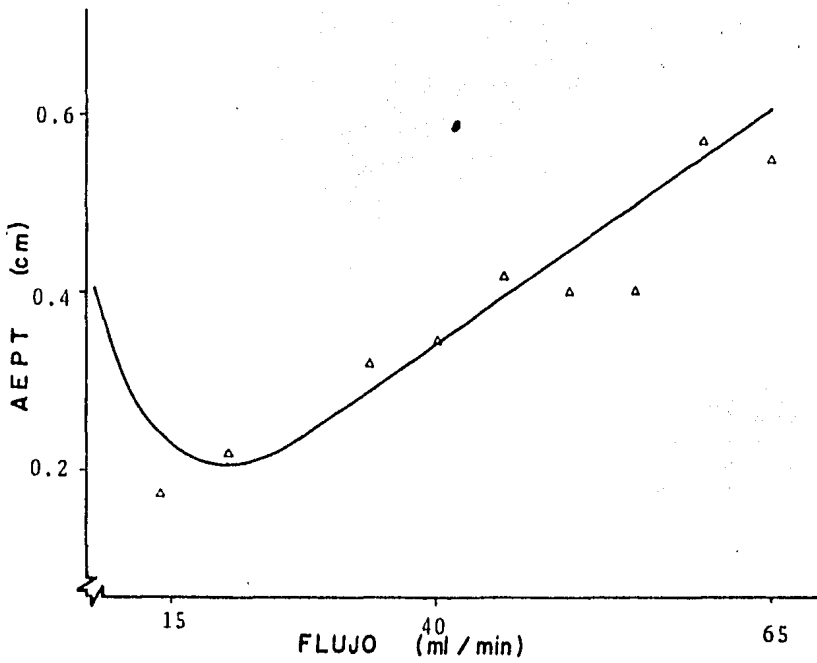
Gráfica IV.2.1

AEPT en función del flujo para Metanol en PR. Temperatura de la columna 160°C.



Gráfica IV.2.2

AEPT en función del flujo para Etanol en PR. Temperatura de la columna 160°C.



Gráfica IV.2.3

AEPT en función del flujo para Acetona en PR. Temperatura de la columna 160°C.

3. ELECCION DEL VOLUMEN DE INYECCION.

Otro factor de importancia es el volumen de inyección principalmente en casos como éste, en el que se desean encontrar compuestos a nivel de trazas. Por tanto, es conveniente conocer cuál puede ser el máximo volumen que se puede inyectar sin afectar la eficiencia de la columna y que la cantidad de compuesto presente en tal volumen produzca una señal que pueda ser distinguida de la línea base; es decir, hacer posible, en algunos casos, la detección de trazas aumentando el volumen de inyección.

Tanto en la tabla IV.3.1 como en la IV.3.2 se puede observar que los volúmenes inyectados no produjeron una disminución considerable de la eficiencia como tampoco ocasionaron un cambio muy notable en la asimetría, por lo que puede decirse que hasta 10 μ l se tiene un volumen adecuado de inyección.

μ l inyectados	Metanol	Etanol	Acetona
2	0.67	1.3	1.0
4	0.67	1.3	1.0
6	0.625	1.3	1.0
8	0.67	1.2	1.5
10	0.625	1.5	1.2

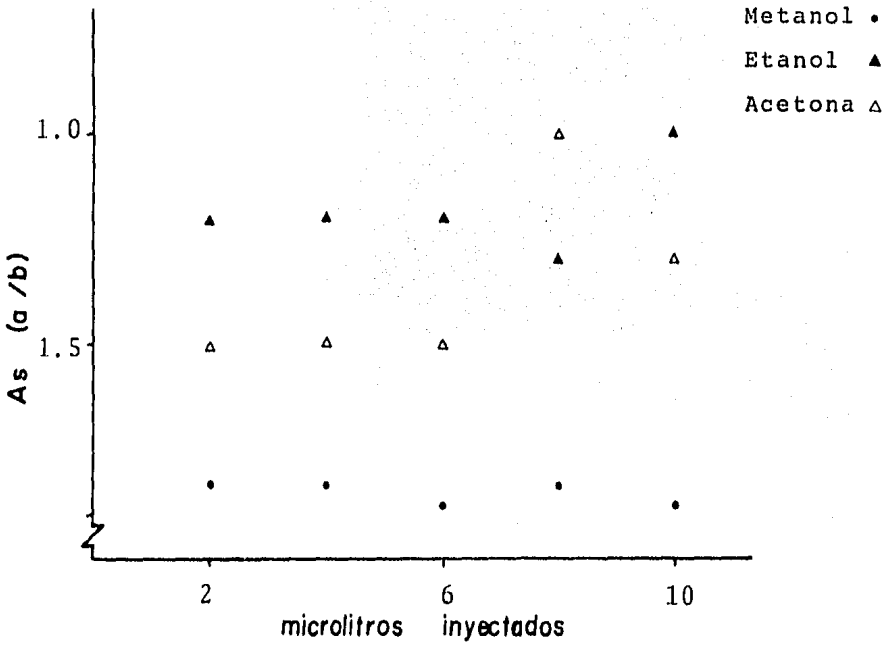
Tabla IV.3.1

Asimetría del Metanol, Etanol y Acetona en función del volumen inyectado, en Porapak R con 160°C de temperatura de columna y 45 ml/min de flujo.

μ l inyectados	AEPT (cm)		
	Metanol	Etanol	Acetona
2	0.202	0.222	0.350
4	0.364	0.307	0.355
6	0.372	0.331	0.300
8	0.382	0.421	0.374
10	0.391	0.376	0.321

Tabla IV.3.2

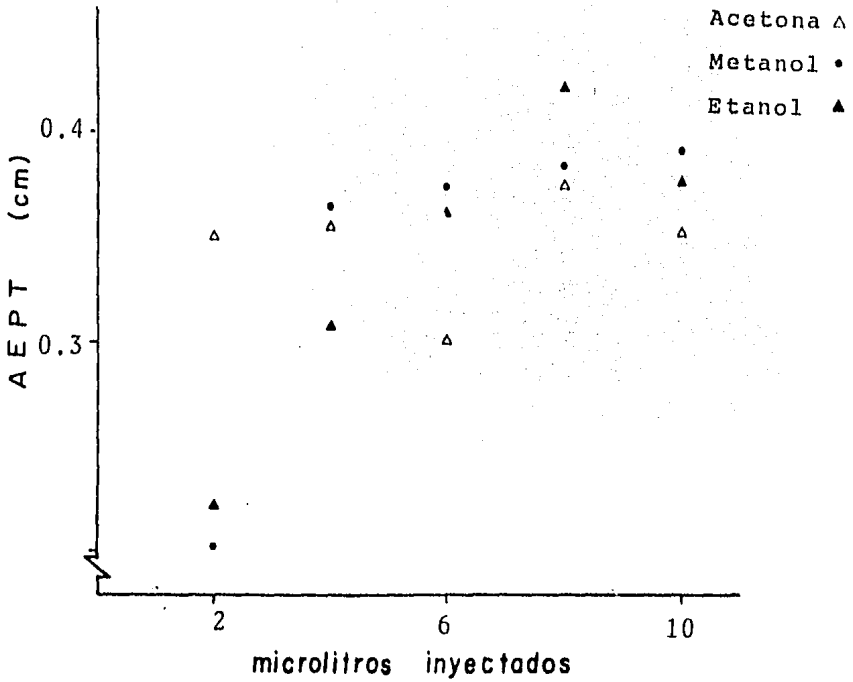
Eficiencia de la columna en AEPT para Metanol, Etanol y Acetona en función del volumen inyectado, en Porapak R con 160°C de temperatura -- de la columna y 45 ml/min de flujo.



Gráfica IV.3.1

Asimetría en función del volumen inyectado para Metanol, Etanol y Acetona en PR. Temperatura de la columna 160°C y 45 ml/min de flujo.





Gráfica IV.3.2

AEPT en función del volumen inyectado para Metanol, Etanol y Acetona en PR. Temperatura de la columna 160°C y 45 ml/min de flujo.

4. CUANTIFICACION.

La importancia del establecimiento de límites críticos, de detección y de determinación radica en que es posible conocer la sensibilidad del análisis que puede esperarse, además de poder ser utilizados como criterios en la selección de condiciones óptimas experimentales. Los métodos utilizados por los distintos autores incluyen los criterios que son de mayor importancia para ellos, siendo esta la causa de su ligera variación aunque en esencia son los mismos. Los métodos utilizados en éste estudio son los propuestos por Hubaux y Currie. Del primero se siguieron dos modalidades, que son la medición de la señal en área y altura de picos, siendo equivalentes ambos métodos pues consideran los mismos parámetros estadísticos. Ya que la altura también es función de la concentración, se tomó como medida de la señal para equiparar los resultados obtenidos con estas mediciones a los obtenidos por el método de Currie.

Los resultados obtenidos de límites críticos, de detección y de determinación en base a los experimentos descritos en la sección III.3.2, tanto en señal como en contenido se muestran en las tablas IV.4.1-4. En las gráficas, mediante las cuales, se obtuvieron dichos límites, se observa que para todos los casos, la variación de la señal en función de la concentración muestra coeficientes de variación muy cercanos a la unidad. Por lo tanto, se tiene que hay una buena linealidad en el intervalo de concentraciones trabajado.

Los resultados que aparecen en la tabla IV.4.5 corresponden a la comparación de los métodos mediante los datos obtenidos en altura; y en la tabla IV.4.6 aparecen los datos de L_D en contenido obtenidos por ambos métodos y

Solvente	Señal		Contenido	
	Lc	Ld	Lc	Ld
Acetona	33000	62617	4.7	9.2
Isopropanol	30000	56724	6.5	13.5
Metanol	2000	8339	2.2	4.0
Diclorometano	14000	23610	5.5	11.5
Etanol	21000	38504	3.6	7.5

Tabla IV.4.1

Valores de L_c y L_d obtenidos mediante el método propuesto por Hubaux, en C1540. La señal está dada en unidades de área y el contenido en ppm.

Solvente	Señal		Contenido	
	Lc	Ld	Lc	Ld
Acetona	48000	87250	5.9	11.9
Isopropanol	30000	52259	9.1	16.5
Metanol	6000	16833	2.9	6.5
Diclorometano	10800	17020	3.4	6.8
Etanol	19800	35551	3.5	7.0

Tabla IV.4.2

Valores de L_c y L_d obtenidos mediante el método propuesto por Hubaux, en PR. La señal está dada en unidades de área y el contenido en ppm.

Solventes	Señal			Contenido		
	L _C	L _D	L _Q	L _C	L _D	L _Q
Acetona	264	529	804	6.48	11.0	15.7
Isopropanol	147	294	446	5.8	14.8	24.1
Metanol	0.38	0.76	1.15	2.5	3.0	5.3
Diclorometano	149	298	456	7.7	15.3	41.4
Etanol	66.6	133	333	4.2	7.5	17.3

Tabla IV.4.3

Valores de L_C, L_D y L_Q obtenidos por el método propuesto por Currie ($\alpha=5\%$, CV=10%), en C1540. La señal está dada en cm de altura y el contenido en ppm.

Solventes	Señal		Contenido	
	L _C	L _D	L _C	L _D
Acetona	264	603	6.5	12.25
Isopropanol	142	233	5.5	11.05
Metanol	0.14	1.7	2.15	4.25
Diclorometano	160	178	9.05	17.0
Etanol	80	164	4.8	9.0

Tabla IV.4.4

Valores de L_C y L_D obtenidos mediante el método propuesto por Hubaux en C1540. La señal está dada en cm de altura y el contenido en ppm.

Solventes	Señal				Contenido			
	L _{Cc}	L _{Ch}	L _{Dc}	L _{Dh}	L _{Cc}	L _{Ch}	L _{Dc}	L _{Dh}
Acetona	264	264	529	603	6.48	6.5	11.0	12.25
Isopropanol	147	142	294	233	5.8	5.5	14.8	11.05
Metanol	.38	.14	.76	1.7	2.5	2.1	3.0	4.2
Diclorometano	149	160	298	178	7.7	9.05	15.3	17.0
Etanol	67	80	133	164	4.2	4.8	7.5	9.0

Tabla IV.4.5

Valores de L_C y L_D obtenidos mediante los métodos propuestos por Hubaux y Currie en C1540. La señal está dada en cm de altura y el contenido en ppm. c=Currie, h=Hubaux.

Solventes	Método de Hubaux		Método de Currie
	Areas	Alturas	Alturas
Acetona	9.2	12.25	11.0
Isopropanol	13.5	11.05	14.8
Metanol	4.0	4.25	3.0
Diclorometano	11.5	17.0	15.3
Etanol	7.5	9.0	7.5

Tabla IV.4.6

Valores de L_D , en ppm obtenidos mediante los métodos propuestos por Hubaux y Currie en C1540.

en las dos modalidades del método de Hubaux.

Los resultados de las tablas antes mencionadas se compararon mediante pruebas de hipótesis (tabla IV.4.7), encontrándose lo siguiente:

- Los datos encontrados en la medición por áreas en las dos fases estacionarias, Porapak R y Carbowax 1540, presentan diferencias no significativas (5*); razón por la cual aquí sólo se presenta la comparación mediante alturas con el método de Currie en la fase estacionaria -- Carbowax 1540.

- La comparación de los resultados obtenidos por las dos modalidades del método de Hubaux, alturas y áreas, mostraron que no hay diferencias significativas entre ellas (1**).

- Las diferencias encontradas en la comparación de -- los métodos de Currie y Hubaux habiendo hecho la medición de la señal en alturas fueron no significativas --- (3***).

- La media de los resultados obtenidos por las dos modalidades del método de Hubaux se compararon con los resultados del método de Currie encontrándose diferencias no significativas (4****) por lo que ambos métodos son equivalentes pues ofrecen resultados equiparables.

* ver comparación No. 5 de la Tabla IV.4.7

** Idem comparación No. 1

*** Idem comparación No. 3

**** Idem comparación No. 4

Comparación	t_c	resultado
1) LDh' vs LDh''	-0.61	ns
2) LDh' vs LDc	-1.44	ns
3) LDh'' vs LDc	0.37	ns
4) LDh vs LDc	-0.65	ns
5) LPR vs L.C1540	-0.44	ns

Tabla IV.4.7

Resultados de la comparación por pruebas de hipótesis de los métodos y sus modalidades. $t_c = \pm 2.35$, $nc=95\%$ y $r=4$. H= método de Hubaux; H' y H'' son el mismo método cuando la medición de la señal se realizó en áreas y alturas, respectivamente. C= método de Currie.

Por lo tanto, de acuerdo con los resultados arrojados mediante las pruebas de hipótesis, es conveniente que si se cuenta con un integrador, trabajar con áreas ya que representa una gran facilidad el sólo tomar los valores registrados en la carta, ocasionando con esto una disminución en el tiempo de análisis y en el posible error de medición por parte del operario.

De acuerdo con la ecuación (7), $L_D = 2K\sigma = 2L_C$, planteada por el método de Currie, se tiene que el límite de detección es el doble del valor del límite crítico, bajo las consideraciones hechas ($\alpha = \beta$). Si se observan las tablas IV.4.1, IV.4.2 y IV.4.4, los valores de L_D , se encontrará que por el método de Hubaux estos valores también son aproximadamente el doble de los valores para L_C .

L_Q solo está definido por el método de Currie ya que en él considera que, aún cuando se tenga un intervalo de confianza ancho, no es suficiente para asegurar una buena aproximación al valor real. Este límite lo considera como parte de un análisis cuantitativo y los límites de decisión y detección como parte de uno cualitativo. Por lo que para que en una determinación se obtenga una buena precisión se debe fijar una desviación estándar relativa pequeña.

Por el contrario Hubaux considera que cuando se tiene una señal que es mayor o igual a X_D (L_D), con un nivel de significancia adecuado puede conocerse el intervalo en el que puede encontrarse el valor del desconocido y considerarlo además de detectado, cuantificado.

Los valores de L_Q obtenidos (tabla IV.4.3) con una desviación estándar relativa del 10 % son algo grandes teniendo en cuenta que se están buscando trazas de compues

tos.

Probablemente puedan obtenerse límites con valores menores si se utilizan condiciones de operación más controladas, es decir, que las fuentes de error sean minimizadas como: estabilizar la columna durante un tiempo prolongado cada vez que se vaya a utilizar, asegurar la limpieza del detector, contar con un dispositivo de inyección automático para disminuir los errores debidos al operador; pero carecería de utilidad práctica pues incrementaría considerablemente el costo del análisis.

En un trabajo previo [6] se habían establecido límites de detección para Metanol (9.5 ppm) y Diclorometano (-- 10.1 ppm). En este trabajo se quiso ampliar la información proporcionando además de los límites de detección de los solventes más usados en el proceso de interés, -- sus límites sus límites críticos y los de determinación. Los resultados obtenidos en este trabajo para límites de detección fueron menores para el caso de Metanol y ligeramente superiores en el del Diclorometano.

Habiéndose demostrado que no hay diferencias significativas en los resultados obtenidos por los métodos empleados y a manera de resumen, en la tabla 4.8 se muestran los límites encontrados para cada solvente, en contenido.

Solvente	LC	LD	LQ
Acetona	5.9 ± 2.0	11 ± 4.5	15.7
Isopropanol	6.7 ± 5.6	13 ± 5.6	24.1
Metanol	2.4 ± 0.8	3.7 ± 1.9	5.3
Diclorometano	6.4 ± 5.8	14.6 ± 8.2	41.4
Etanol	4.0 ± 1.4	8.0 ± 2.5	17.3

Tabla IV.4.8

Promedios de los valores de L_C , L_D y L_Q , en contenido (ppm) encontrados por los distintos métodos.

ppm	Area
7.88	53060
15.76	107533
31.52	205250
47.28	310667
63.63	438450
78.8	510860

Tabla IV.4.9

Area del pico en función de la con
centración de Acetona, en C1540.

ppm	Area
13.76	59740
27.54	113357
55.09	209600
82.63	316550
110.18	445600
137.72	528800

Tabla IV.4.10

Area del pico en función de la con
centración de Isopropanol, en C1540.

ppm	Area
7.9	19313
15.83	49885
31.66	107433
47.49	157400
63.32	214505
79.15	266900

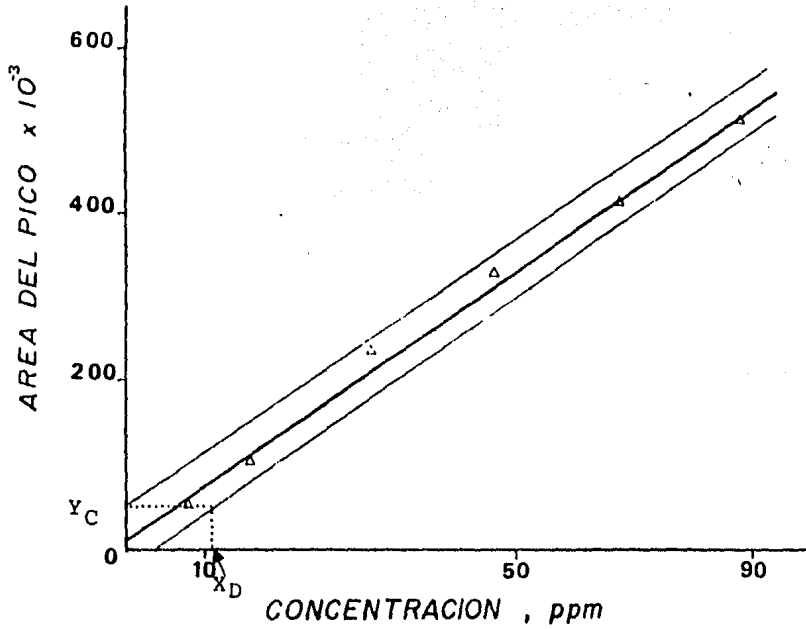
Tabla IV.4. 11

Area del pico en función de la con
centración de Metanol, en C1540.

ppm	Area
13.25	25894
26.51	51169
53.02	87444
79.53	134700
106.04	171340
132.55	222200

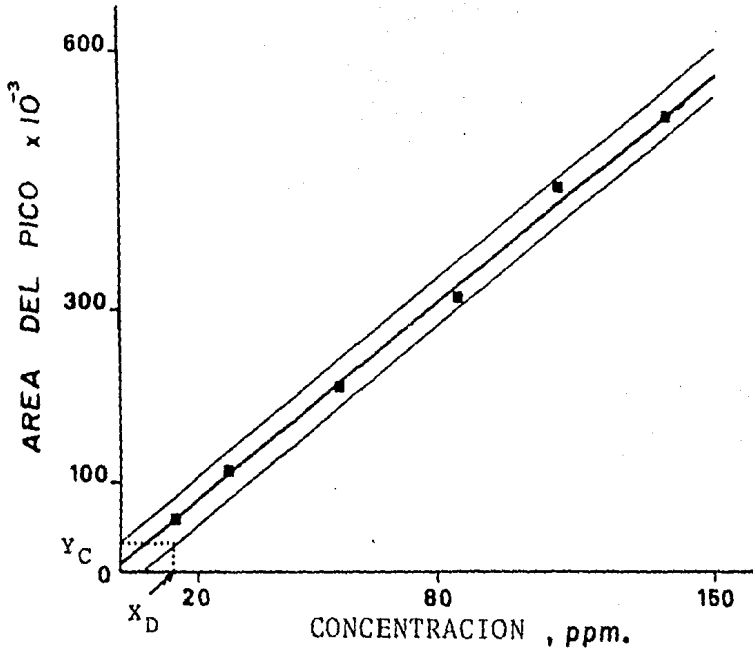
Tabla IV.4. 12

Area del pico en función de la con
centración de Diclorometano, en -
C1540.



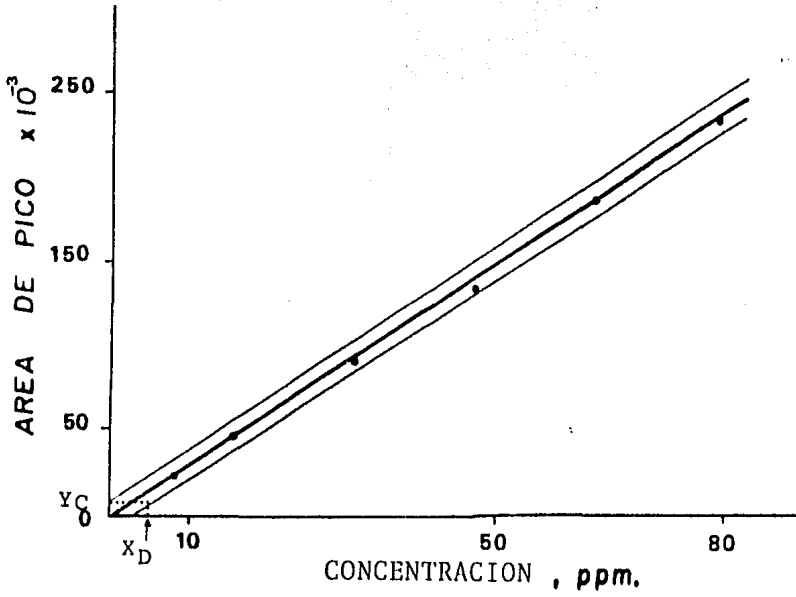
Gráfica IV.4.1

Área del pico en función de la concentración de Acetona en C1540. Las bandas de confianza se construyeron con $nc=95\%$ y $\nu=4$. Y_c =límite crítico y X_D = límite de detección.



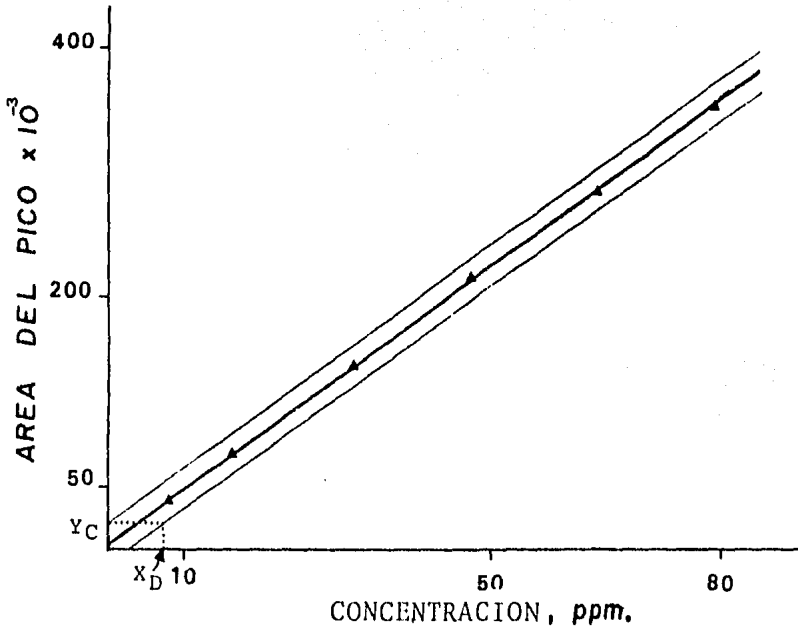
Gráfica IV.4.2

Area del pico en función de la concentración de Isopropanol en C1540. Las bandas de confianza se construyeron con un $nc=95\%$ y $v=4$. Y_c =límite crítico y X_D = límite de detección.



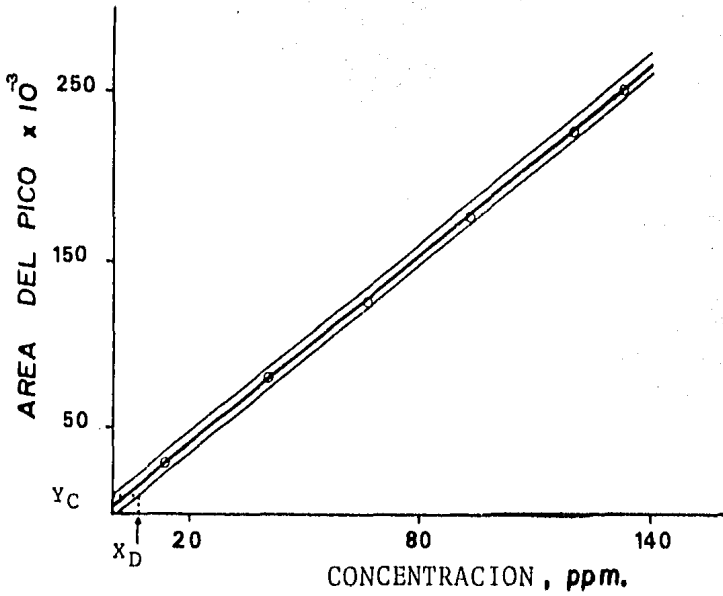
Gráfica IV.4. 3

Area del pico en función de la concentración de Metanol en C1540. Las bandas de confianza se construyeron con un $nc=95\%$ y $n=4$. Y_c =límite crítico y X_D =límite de detección.



Gráfica IV.4.5

Area del pico en función de la concentración de Etanol en C1540. Las bandas de confianza fueron construidas con un $nc=95\%$ y $r=4$. Y_c = límite crítico y X_D = límite de detección.



Gráfica IV.4.4

Area del pico en función de la concentración de Diclorometano en C1540. Las bandas de confianza se construyeron con un $nc=95\%$ y $\nu=4$. Y_c =límite crítico y X_D =límite de detección.

ppm	Area
7.89	37202
15.70	80229
31.56	143500
47.34	227780
63.12	282333
78.9	364567

Tabla IV.4. 13

Area del pico en función de la con
centración de Etanol, en C1540.

ppm	Area
7.88	51169
15.76	103045
31.52	236933
47.28	328760
63.04	412180
78.8	515225

Tabla IV.4. 14

Area del pico en función de la con
centración de Acetona, en PR.

ppm	Area
13.77	41397
27.54	82794
55.09	165588
82.63	272026
110.18	331175
137.72	413969

Tabla IV.4. 15

Area del pico en función de la con
centración de Isopropanol, en PR.

ppm	Area
7.91	21069
15.83	44862
31.66	92419
47.49	139975
63.32	187532
79.15	235088

Tabla IV.4. 16

Area del pico en función de la con
centración de Metanol, en PR.

ppm	Area
13.25	28320
39.76	81080
66.27	124500
92.78	175490
119.29	225600
132.55	250700

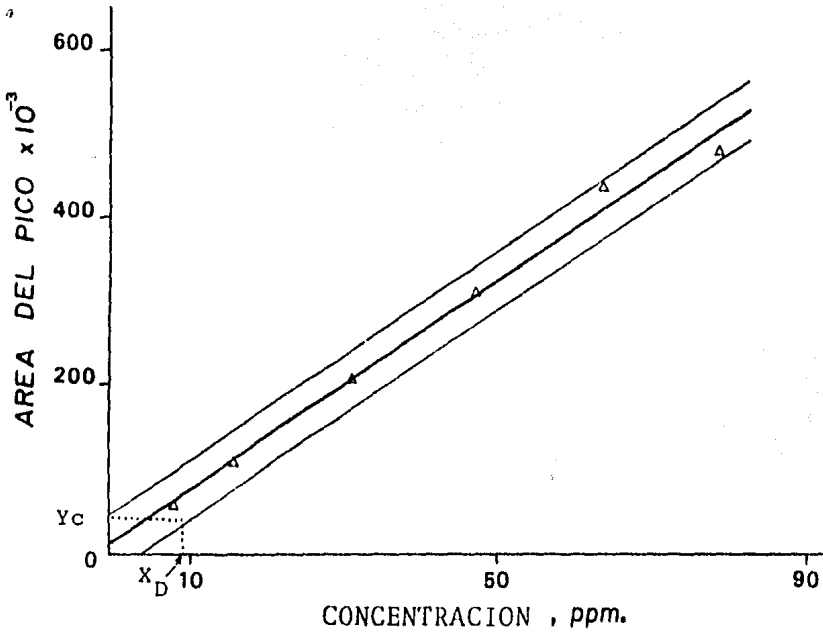
Tabla IV.4. 17

Area del pico en función de la con
centración de Diclorometano, en PR.

ppm	Area
7.89	39595
15.78	74553
31.56	145069
47.34	215385
63.12	285701
78.9	356017

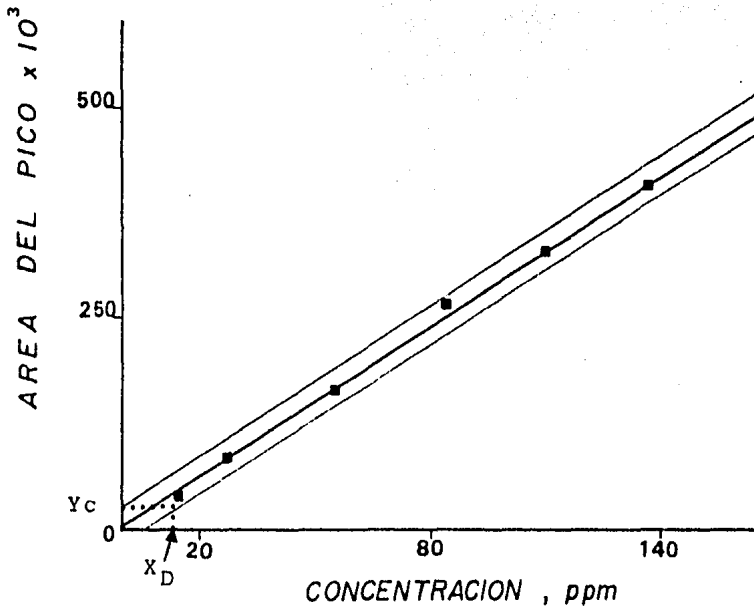
Tabla IV.4. 18

Area del pico en función de la con
centración de Etanol, en PR.



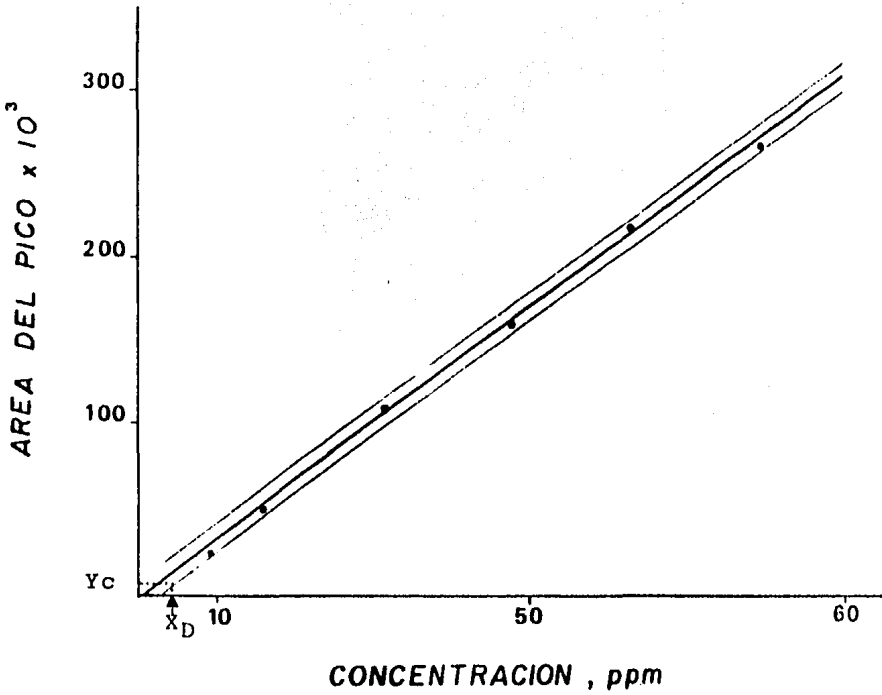
Gráfica IV.4.6

Área del pico en función de la concentración de Acetona en PR. Las bandas de confianza se construyeron con un $nc=95\%$ y $\nu=4$. Y_c =límite-crítico y X_D = límite de detección.



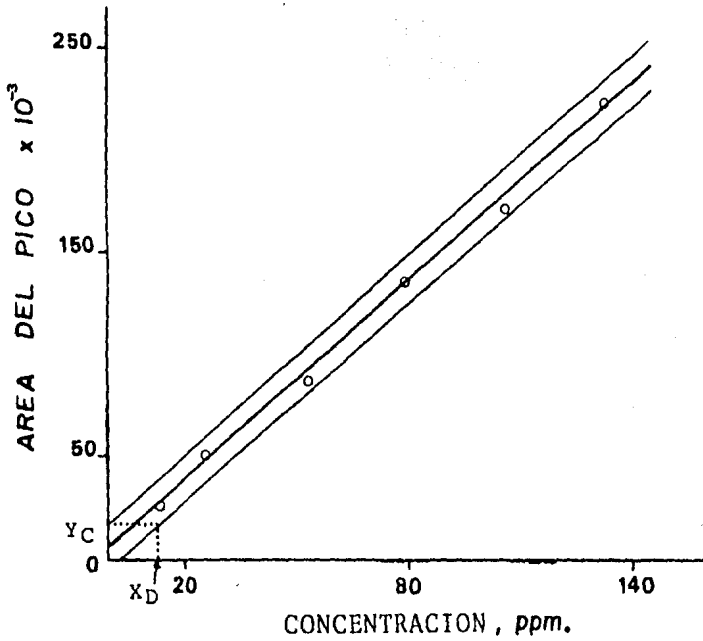
Gráfica IV.4.7

Area del pico en función de la concentración de Isopropanol en PR. Las bandas de confianza se construyeron con un $nc=95\%$ y $v=4$. Y_c =límite crítico y X_D = límite de detección.



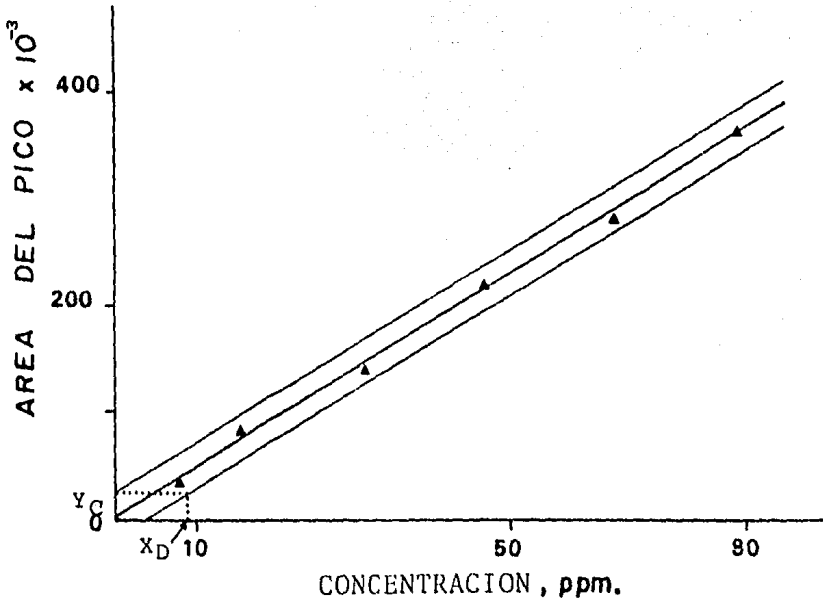
Gráfica IV.4.8

Área del pico en función de la concentración de Metanol en PR. Las bandas de confianza se construyeron con un $nc=95\%$ y $\nu=4$. Y_c =límite crítico y X_D = límite de detección.



Gráfica IV.4.9

Área del pico en función de la concentración de Diclorometano en PR. Las bandas de confianza se construyeron con un $nc=95\%$ y $v=4$. Y_C =límite crítico y X_D = límite de detección.



Gráfica IV. 4. 10

Area del pico en función de la concentración de Etanol en PR. Las bandas de confianza se construyeron con un $nc=95\%$ y $v=4$. Y_C = límite crítico y X_D = límite de detección.

ppm	Altura
7.88	422
15.76	806
31.52	1638
47.28	2726
63.63	3418
78.8	4646

Tabla IV.4. 19

Altura del pico en cm en función de la concentración de Acetona , en C1540.

ppm	Altura
13.76	269
27.54	525
55.09	947
82.63	1357
110.18	1894
137.72	2291

Tabla IV.4. 20

Altura del pico en cm en función de la concentración de Isopropanol. en C1540.

ppm	Altura
7.9	5.23
15.83	9.99
31.66	21.3
47.49	33.8
63.32	45.9
79.15	57.6

Tabla IV.4. 21

Altura del pico en cm en función de la concentración de Metanol , en C1540.

ppm	Altura
13.25	141
26.51	294
53.02	499
79.53	781
106.04	1071
132.55	1306

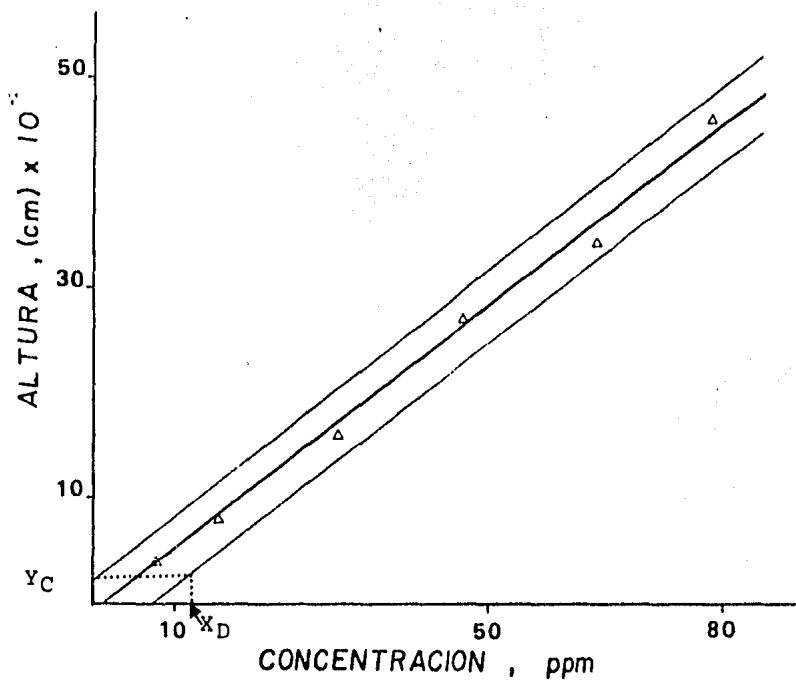
Tabla IV.4. 22

Altura del pico en cm en función de la concentración de Diclorometano, en C1540.

ppm	Altura
7.89	143
15.7	288
31.56	672
47.34	896
63.12	1248
78.9	1600

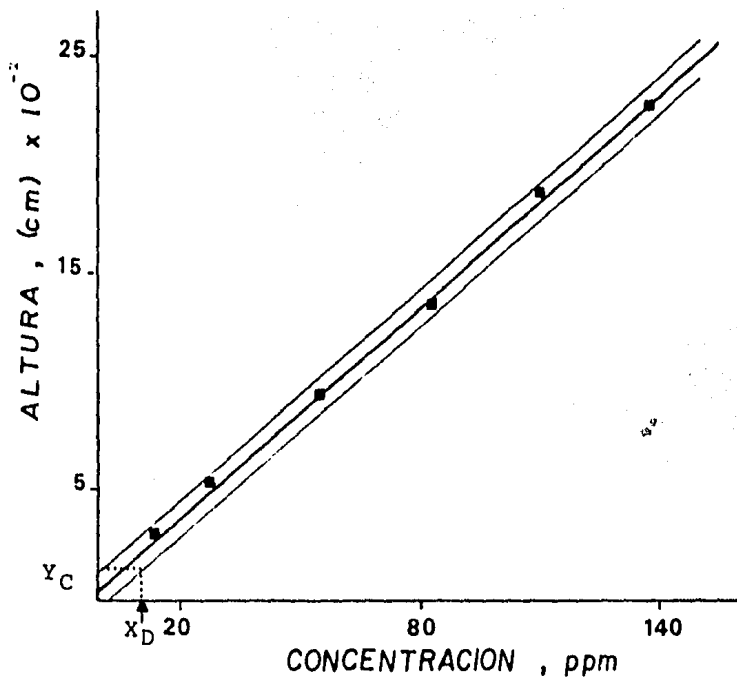
Tabla IV.4.23

Altura del pico en cm en función de la concentración de Etanol, en C1540.



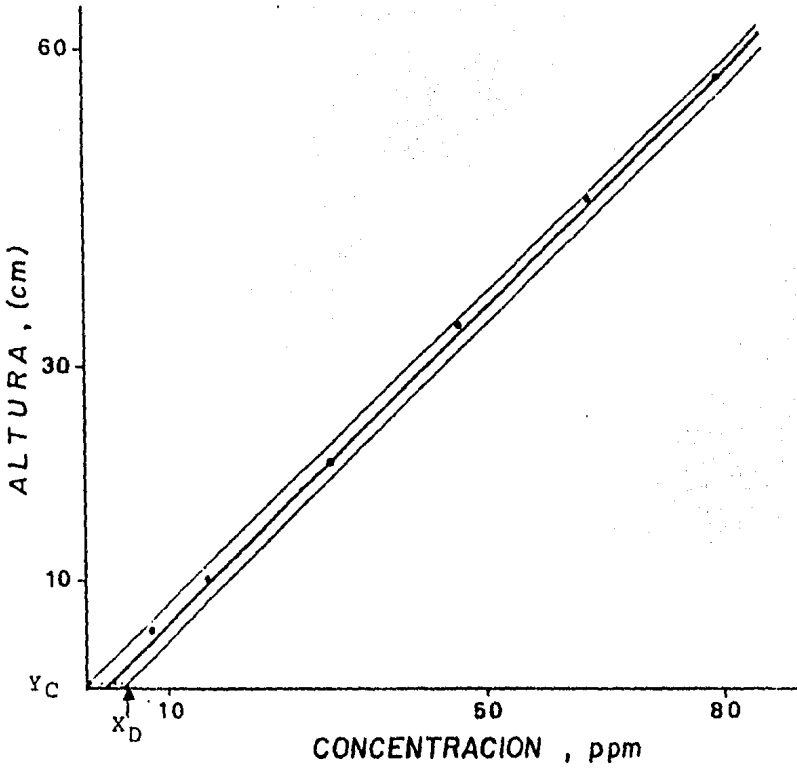
Gráfica IV.4.11

Altura del pico en función de la concentración de Acetona en C1540. Las bandas de confianza - se construyeron con un $nc=95\%$ y $n=4$. Y_c =límite crítico y X_D = límite de detección.



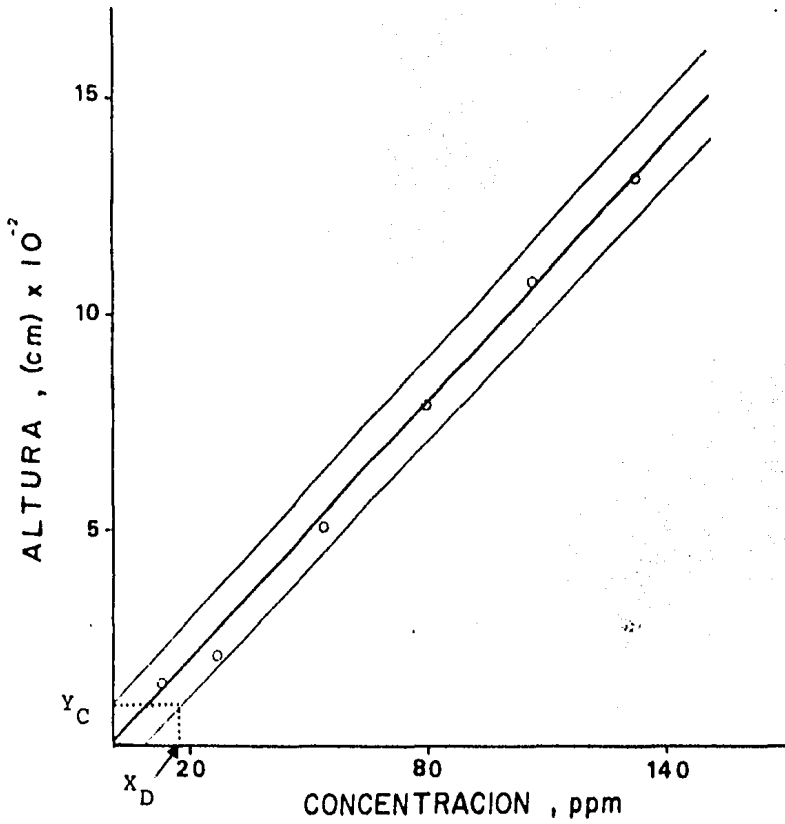
Gráfica IV.4.12

Altura del pico en función de la concentración de Isopropanol en C1540. Las bandas de confianza se construyeron con un $nc=95\%$ y $\nu=4$. Y_c =límite crítico y X_D =límite de detección.



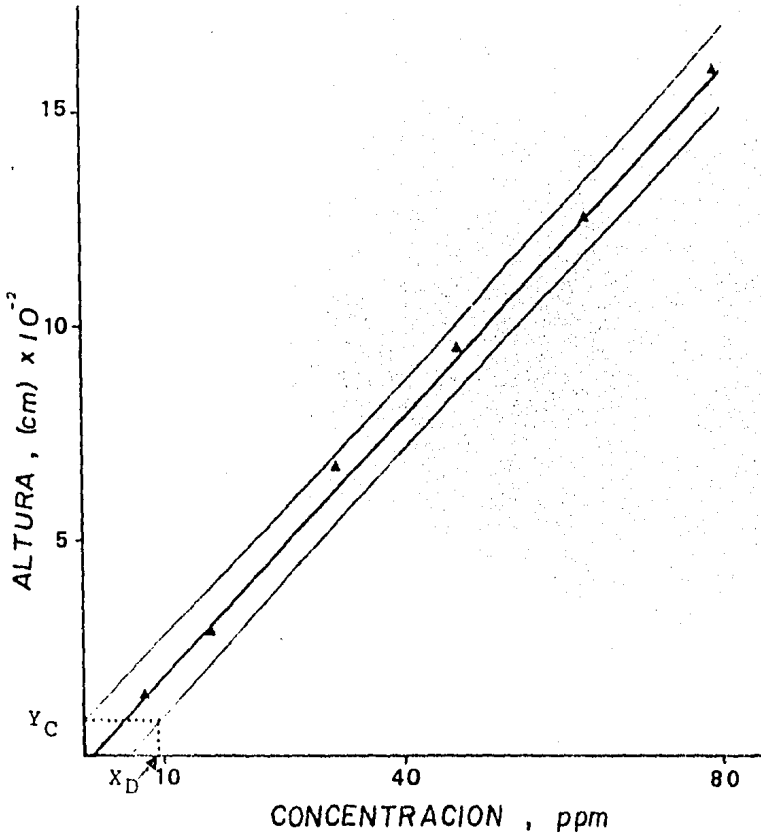
Gráfica IV.4.13

Altura del pico en función de la concentración de Metanol en C1540. Las bandas de confianza - se construyeron con un $nc=95\%$ y $r=4$. Y_c =límite crítico y X_D =límite de detección.



Gráfica IV.4.14

Altura del pico en función de la concentración de Diclorometano en C1540. Las bandas de confianza se construyeron con un $nc=95\%$ y $\nu=4$. Y_c = límite crítico y X_D = límite de detección.



Gráfica IV.4.15

Altura del pico en función de la concentración de Etanol en C1540. Las bandas de confianza se construyeron con un $nc=95\%$ y $r=4$. Y_c =límite crítico y X_D = límite de detección.

5. ANALISIS ILUSTRATIVO DE DOS MUESTRAS.

La identificación cromatográfica puede realizarse utilizando los datos de retención. Bajo condiciones de presión y temperatura constantes, el tiempo de retención va a ser característico de un compuesto dado y para una fase estacionaria dada, por lo que puede usarse para identificar al compuesto. Tal identificación se basa en la comparación del tiempo de retención del compuesto desconocido con el obtenido de un componente conocido bajo idénticas condiciones.

Siguiendo este criterio se realizó la identificación de los picos encontrados en los cromatogramas resultantes -- del análisis de las muestras. Como para ambos lotes se obtuvo un pico con el mismo tiempo de retención, en lo subsecuente solo se hará mención del tratamiento seguido para una muestra.

La figura IV.5.1 muestra los cromatogramas correspondientes a las soluciones a) y b) que fueron preparadas como se menciona en la sección III.4 usando la columna empacada con Porapak R. El tiempo de retención registrado para el pico que aparece en el cromatograma (7.30 min) resultó ser muy cercano al registrado cuando se inyectó acetona -- (7.38 min). Como la identificación por simple comparación de tiempos de retención se debe hacer exactamente en las mismas condiciones (misma temperatura, presión y columna) es conveniente hacerla usando un compuesto de referencia (en este caso se adicionó propanol) y calculando los -- factores de separación, los cuales presentan una ligera -- variación con pequeñas variaciones aleatorias de temperatura y presión.

Los valores mostrados en la tabla IV.5.1 indican que el factor es practicamente el mismo. Como existe la posibili

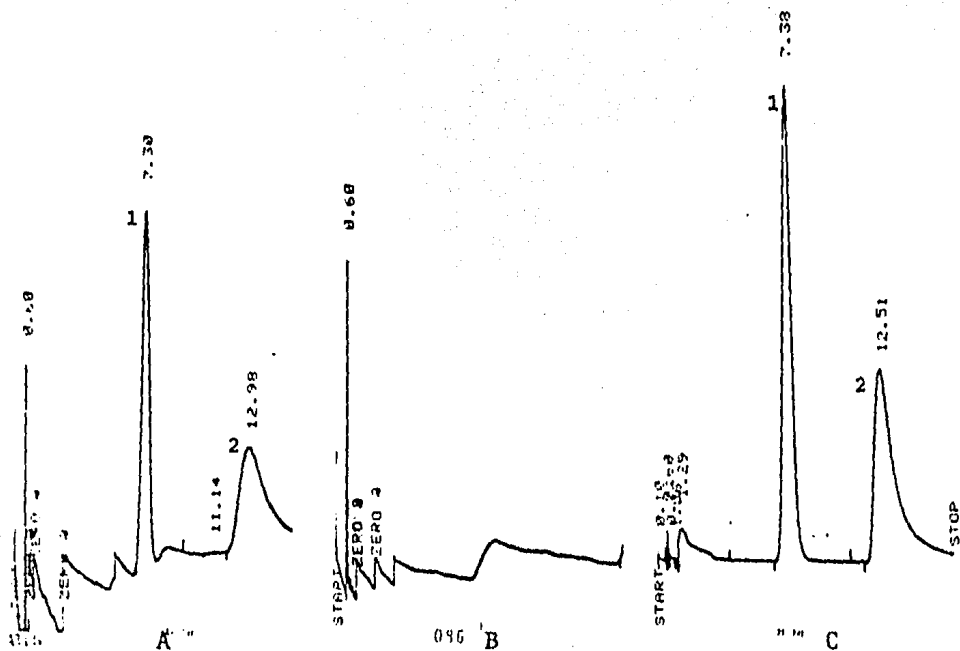


Figura IV.5.1

Cromatogramas correspondientes a las soluciones a) (A) y b) (B) de acuerdo a la sección III.1.5.1. C corresponde a la solución estándar, en Porapak R. Temperatura de la columna 160°C y 45 ml de N₂/min de flujo. Los picos son debidos a 1-Acetona y 2-Propanol. Los demás picos no fueron identificados.

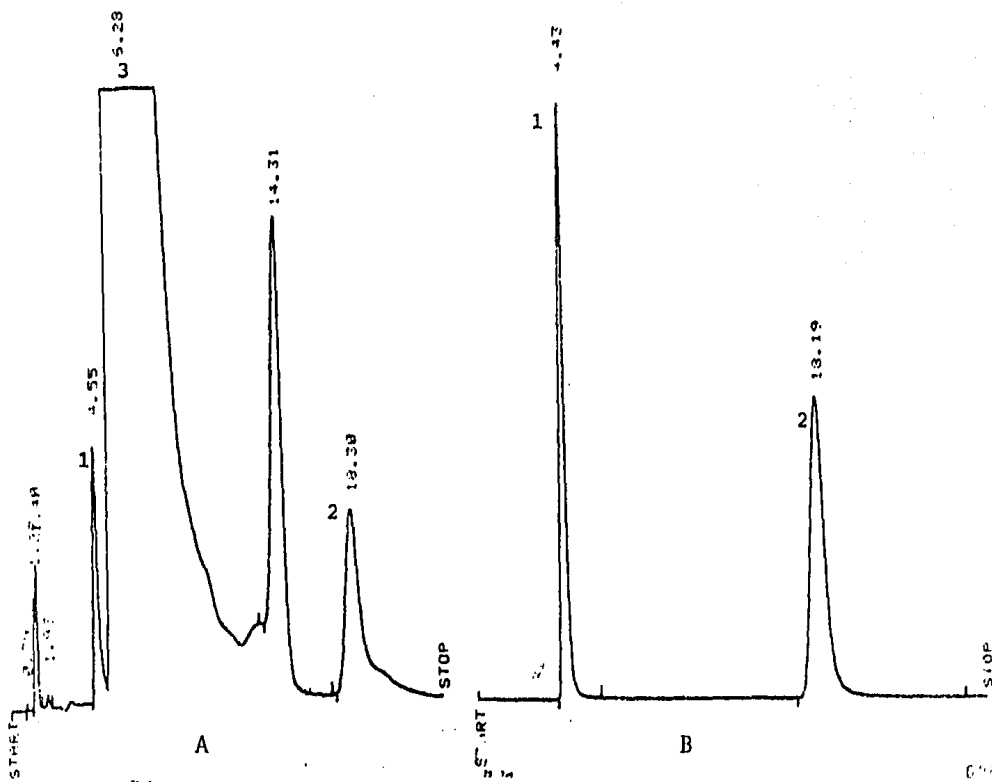


Figura IV.5.2

Cromatogramas de la muestra (A) y el estándar (B) en Carbowax 1540. Temperatura de la columna 160°C y 45 ml de N_2 /min de flujo. Los picos son debidos a 1-Acetona, 2-Propanol y 3-Tetracloruro de Carbono (no aparece en el estándar). Los demás picos no fueron identificados.

dad de que para las condiciones establecidas, exista un compuesto con el mismo tiempo de retención y por lo tanto con el mismo factor de separación, es conveniente hacer variar alguno de los parámetros que se habían fijado como constantes; en este caso se varió la fase estacionaria pues si se considera un compuesto cuyo comportamiento en Porapak R sea muy parecido al de Acetona, al analizarlo al analizarlo en otra fase estacionaria no necesariamente debe tener el mismo valor de coeficiente de reparto. La otra fase estacionaria fué Carbowax 1540 y sus cromatogramas se muestran en la figura IV.5.2.

Fase Estacionaria	$\phi_{a/b}$	
	Muestra	Estándar
Porapak R	1.8	1.7
Carbowax 1540	4.1	4.0

Tabla IV.5.1

Factores de separación entre el desconocido-propanol y acetona-propanol en las fases estacionarias estudiadas.

Los resultados mostrados en las tablas IV.5.1 y IV.5.2 indican que el pico encontrado en la muestra es debido a Acetona.

Fué posible conocer que se encontraban trazas de Acetona en la muestra, sin embargo no fué posible conocer en que cantidad se encuentra, con la confiabilidad estadística marcada, ya que las señales encontradas, en alturas y á-

reas muestran bastante variabilidad y sus valores están por debajo de los encontrados para L_c de la sección -- IV.4. No obstante, se puede decir que se encuentran en una concentración de aproximadamente 2.8 ppm, pero hay que recordar que ese dato no es confiable desde el punto de vista estadístico.

Fase Estacionaria	t_R desconocido	t_R estándar
Porapak R	7.32	7.38
Carbowax 1540	4.5	4.43

Tabla IV.5.2

Tiempos de retención promedio encontrados para el desconocido y la acetona en las fases estacionarias estudiadas.

Fase Estacionaria	t_R desconocido	t_R estándar
Porapak R	30338+3262	124+17.5
Carbowax 1540	17764+7169	122+52.9

Tabla IV.5.3

Señales promedio encontradas en area y altura, en los cromatogramas de la muestra, en las dos fases estacionarias estudiadas. El límite superior se fijó con $nc=95\%$ y $v=4..$

El análisis de las grageas de ácido acetilsalicílico con capa entérica es un ejemplo de la utilidad práctica que tiene este método. El uso de las dos fases estacionarias

hizo más confiable la identificación del componente presente en las grageas, aunque no fué posible cuantificarlo de manera confiable. Sin embargo, se puede deducir - que:

a) Después del proceso de recubrimiento de película - quedan atrapados residuos de solventes.

b) Es posible determinar la presencia de residuos en producto terminado con tiempo de almacenaje, aunque es preferible aplicar el método como control del proceso para obtener una buena calidad del producto y consecuentemente contenidos contenidos, lo más bajos posibles, de -- los solventes usados.

c) En este ejemplo de aplicación se encontró que la acetona no pudo ser cuantificada con confiabilidad. En el caso de que fuera necesario, por razones toxicológicas o de contaminación (es decir si se tienen que cuantificar confiablemente cantidades menores a los límites -- críticos establecidos) se requiere buscar un método de detección más sensible (espectrometría de masas acoplada a Cromatografía en Fase Gaseosa, por ejemplo) o bien realizar algún cambio químico a la sustancia de interés para que proporciones una señal más importante.

V CONCLUSIONES

- En el presente trabajo se proporciona un conjunto de datos, referentes a las condiciones de operación (temperatura, flujo, volumen de inyección, óptimos) que pueden ser de gran utilidad para el establecimiento de técnicas de análisis de trazas de solventes y se pueden aplicar tanto a recubrimiento de película para tabletas - como a cualquier muestra que contenga a éstos en cantidades detectables de acuerdo a los límites aquí establecidos. Las condiciones específicas de cada técnica se pueden establecer de acuerdo al tipo de mezcla de solventes de que se trate.

- Los datos obtenidos en este trabajo muestran que la señal de los solventes en función de la concentración -- presentan un comportamiento lineal en los intervalos de concentraciones aquí presentados. Aún cuando este comportamiento es lineal, hay que recordar que se puede obtener menor dispersión de los puntos y por lo tanto mejores rectas si se trabaja con un inyector automático y un integrador para disminuir lo más posible el error en la medición de la señal. Si esta se realiza en áreas se facilita la obtención de L_C y L_D .

- Se establecieron los límites críticos, de detección y de determinación con bases estadísticas de acuerdo a los métodos propuestos por Currie y Hubaux de los solventes más utilizados en el proceso de recubrimiento de película para tabletas para un detector de ionización de flama del cromatógrafo Hewlett Packard modelo 5840A.

- Debido a la importancia que, en algunos casos, pue-

de tener desde el punto de vista toxicológico la presencia de trazas de compuestos en productos farmacéuticos , así como el contar con métodos suficientemente sensibles se cree que es conveniente establecer los límites, como los aquí obtenidos, para cualquier trabajo instrumental. Los métodos estadísticos utilizados en el presente trabajo son equivalentes y su aplicación así como su obtención es muy sencilla.

- Con este trabajo se establecen las bases para el inicio de investigaciones posteriores sobre el contenido de trazas de solventes en películas de recubrimiento para tabletas que pueden ser de utilidad en el control de calidad y en el control de proceso; así como en otros constituyentes de la forma farmacéutica (como pueden ser el núcleo, o bien la capa de azúcar).

VI ANEXOS

1. EQUIPO, MATERIALES Y REACTIVOS

1. EQUIPO.

- Cromatógrafo de Gases Hewlett Packard modelo -- 5840A equipado con:
 - a) Detector de ionización de flama.
 - b) Terminal para Cromatógrafo de Gases Hewlett - Packard modelo 5840A.
 - c) Columnas de acero inoxidable enrolladas de de 0.3 cm de diámetro interno.
 - d) Jeringa Hewlett Packard de 10 μ l.
 - e) Tanques comerciales de hidrógeno, aire y nitrógeno de 99% de pureza (Distribuidora INFRA).
- Baño de Ultrasonido BRANSON modelo B-12
- Microcomputadora Casio FX-750P.

2. MATERIALES Y REACTIVOS.

- Material de vidrio marcas IVA y PYREX.
- Acetona, Metanol, Etanol, Isopropanol y Diclorometano grado reactivo (marca Merck).
- Tetracloruro de Carbono grado reactivo (marca T.- J. Baker)*.
- Cloroformo grado reactivo (marca Técnica Química)*.

* Marcas de reactivos utilizadas por contener cantidades no detectables de los compuestos de interés.

2. ABREVIATURAS USADAS

t_R	tiempo de retención
N	número de platos teóricos
AEPT	altura equivalente a un plato teórico
Rs	resolución
As	asimetría
$\alpha_{b/a}$	factor de separación, siendo b el compuesto más retenido
μ l	microlitros
ppm	partes por millón
PR	Porapak R
PQ	Porapak Q
C1540	Carbowax 1540
ns	no significativo
nc	nivel de confianza
ν	grados de libertad
σ	desviación estándar
μ	media
t_c	valor encontrado de la abscisa de la distribución de Student con un nivel de probabilidad $1 - \alpha$ y ν grados de libertad
t_t	valor de tablas de la abscisa de la distribución t de Student con un nivel de probabilidad $1 - \alpha$ y ν grados de libertad
L_C	límite crítico
L_D	límite de detección
L_Q	límite de determinación
X_D	límite de detección expresado en contenido
Y_C	límite crítico expresado en señal
X_C	límite crítico expresado en contenido
Y_D	límite de detección expresado en señal
CV	coeficiente de variación o desviación estándar relativa.

3. GLOSARIO

AEPT

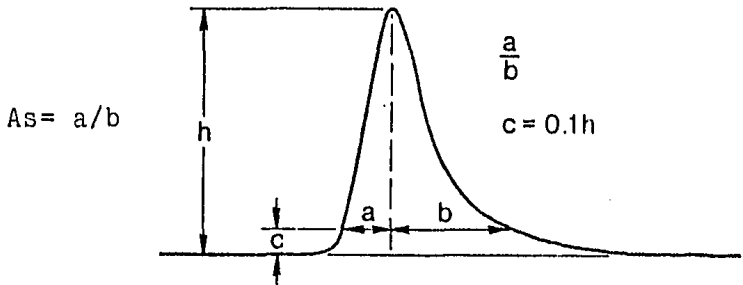
Altura equivalente a un plato teórico y se calcula de la fórmula:

$$AEPT = \frac{L}{N}$$

donde L es la longitud de la columna cromatográfica y N el número de platos teóricos.

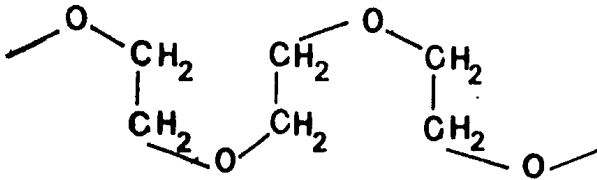
Asimetría

Llamado también factor de coe. En condiciones cromatográficas ideales (las consideradas en el estudio teórico de la cromatografía) un pico debería ser totalmente simétrico; la desviación de esta idealidad se mide por el factor de asimetría, que está definido:

Carbowax 1540

Polímero del etilenglicol; la cifra que le sigue indica su peso molecular promedio. Está constituido por cadenas de tipo sinuoso, por lo que su estructura es más compacta, menos higroscópica y soluble en agua. Por ser una fase estacionaria polar es más eficaz en la separación de

alcoholes, aminas y otros compuestos nitrogenados. Es estable hasta 140°C.



Cromatografía en Fase Gaseosa

Llamada también Cromatografía de Gases. En este tipo de cromatografía los componentes de una muestra vaporizada son fraccionados como consecuencia de la partición (cromatografía gas-líquido) o de la adsorción (cromatografía gas-sólido) entre una fase gaseosa móvil y una fase estacionaria mantenida en una columna. Las muestras fraccionadas pueden ser analizadas cualitativa y cuantitativamente. Es un proceso rápido, que generalmente requiere de 5 a 30 minutos, y se ha adecuado para el uso de muestras de la escala de miligramos. Se aplica principalmente a sustancias que tienen presiones de vapor apreciables a temperaturas menores de 300°C.

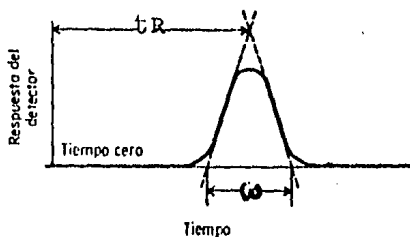
Chromosorb W

Es un soporte de tierra de diatomeas calcinada. Es similar en propiedades y comportamiento a Celita 545. Es de color blanco y frágil. Su superficie es relativamente no adsorbente y se usa en la separación de compuestos polares.

Eficiencia de la Columna

La eficiencia de una columna se mide por su número de platos teóricos (N). El concepto de plato teórico se tomó del proceso de destilación donde, históricamen--

te, las primeras columnas eficientes se componían de platos discretos. N puede estimarse del ancho de un pico -- (banda de elución) y del tiempo de retención.



$$N = 16 \left(\frac{t_R}{w} \right)^2$$

Estabilización de la Columna

O acondicionamiento, consiste en calentar la columna con flujo de gas vector a una temperatura suficiente para eliminar las impurezas volátiles.

Factor de Separación

Razón de los tiempos de retención del pico de un componente conocido que es introducido como patrón y que indica la separación existente entre ambos componentes. Su valor tiene que ser mayor o menor que uno, según sea definido, para que haya separación.

$$\alpha_{a/b} = \frac{t'_{Ra}}{t'_{Rb}} \quad \text{ó} \quad \alpha_{b/a} = \frac{t'_{Rb}}{t'_{Ra}}$$

algunos autores utilizan los tiempos de retención no corregidos:

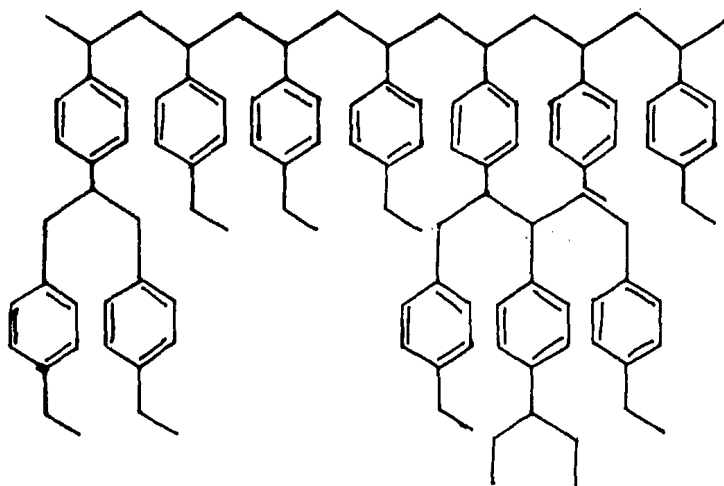
$$\phi_{a/b} = \frac{t_{Ra}}{t_{Rb}} \quad \text{ó} \quad \phi_{b/a} = \frac{t_{Rb}}{t_{Ra}}$$

Porapak R

Es un polímero poroso compuesto de etinilbenceno, entrecruzado con divinilbenceno para formar una estructura u-

niforme de distinto tamaño de poro. El polímero poroso - cumple con dos funciones, da fase líquida y de soporte - sólido. Aparentemente la molécula de soluto se reparte - directamente de la fase gaseosa al polímero amorfo.

Es moderadamente polar y está modificada con monómeros - específicos. Es estable hasta 250°C. Se recomienda en la separación de ésteres, glicoles, compuestos sulfurados , alcoholes, compuestos nitrogenados, gases, etc.



Resolución

Es un parámetro que indica la extensión de la separación de los picos y se define:

$$R_s = \frac{2(t_{R_a} - t_{R_b})}{\omega_a + \omega_b}$$

Tiempo de Retención

Es el tiempo requerido para que el máximo de la señal -- del pico de algún compuesto llegue al detector en una columna cromatográfica.

VII BIBLIOGRAFIA

1. ROBINSON, M. "Sustained Action Dosage Forms" cap. 14 de "The Theory and Practice of Industrial Pharmacy", (Lachman, Lieberman y Kaning), Lea & Febiger, Phil., U.S.A. 1970.
2. PORTES, C.S.; BRUNO, H.C. & JACKSON, J.G. "Pan Coating of Tablets and Granules", cap. 2, vol. 3 de "Pharmaceutical Dosage Forms" (Lieberman & Lachman); Marcel Dekker, Inc. N.Y., U.S.A. 1978.
3. ROBINSON, M. "Coating of Pharmaceutical Dosage Forms", cap. 90 de "Remington's Pharmaceutical Sciences" (Anderson, Bendush, Chase, et al) Mack Publishing Co. Easton, Pen., U.S.A. 1975.
4. ARANCIBIA, A. "Formas Farmacéuticas de Acción Prolongada" cap. 61 de "Farmacotécnica Teórica y Práctica", Tomo VII, (Helman, José) CECSA, México, D.F. 1982.
5. OLIVERO, J.J. "Recubrimiento de Comprimidos y Formas Polológicas Relacionadas". cap. 48 de "Farmacotécnica Teórica y Práctica", Tomo VI (Helman, José) CECSA, México D.F. 1982.
6. WINKEL, D.R. & HENDRICK, J.A. "Detection Limits for a GC Determination of Methanol and Methylene Chloride residues on Film-Coated Tablets" J.Pharm.Sci. 73, 115 - (1984).
7. PATT, L. & HARTMANN, V. "Lösungsmittelreste in Filmdra-

- gées und Isolierten Filmüberzügen" Pharm. Ind. 38, 902 (1976).
8. CURRIE, L.A. "Limits for Qualitative Detection and Quantitative Determination" Anal. Chem. 40, 290 (1969).
 9. PARSONS, M.L. "The Definition of Detection Limits" J. of Chem. Educ. 46, 290 (1969).
 10. HUBAUX, A. & VOS, G. "Detection and Decision Limits for Linear Calibration Curves" Anal. Chem. 42, 849 (1970).
 11. WINEFORDNER, J.D. & VICKERS, T.J. "Calculation of The Limits of Detectability in Atomic Emission Flame Spectrometry" Anal. Chem. 36, 1943 (1964).
 12. ST. JOHN, P.A., MCCARTHY, M.J. & WINEFORDNER, J.D. "A Statistical Method for Evaluation of Limiting Detectable Sample Concentrations" Anal. Chem. 39, 1945 (1967).
 13. WING, J. & WAHLGREN, M.A. "Detection Sensitivities in Nuclear Activation with an Isotopic Fast Neutron Source" Anal. Chem. 39, 85 (1967).
 14. MANDEL, J. & LINNIG, F. "Statistical Methods in Chemistry" Anal. Chem. 28, 770 (1956).
 15. STIEHLER, R.D. & MANDEL, J. "Evaluation of Analytical Methods by the Sensitivity Criterion" Anal. Chem. 29 (4), 17A (1957).
 16. WINEFORDNER, J.D. & VEILLON, C. "The Influence of Elec

- trometernoise on Limit of Detectability in Atomic Absorption and Atomic Emission Flame Spectrometry" Anal. Chem. 39, 416 (1965).
17. MANDEL, J. & LINNIG, F. "Which Measure of Precision?, The Evaluation of the Precision of Analytical Methods Involving Linear Calibration Curves" Anal. Chem. 36 (13), 25A (1964).
 18. WINEFORDNER, J.D. & VICKERS, T.J. "Calculation of -- the Limit of Detectability in Atomic Absorption Flame Spectrometry" Anal. Chem. 36, 1947 (1964).
 19. BANKER, G.S. "Film Coating Theory and Practice" J. Pharm: Sci. 55, 81 (1966)!
 20. KREYZIG, E. "Introducción a la Estadística Matemática, Principios y Métodos", Ed. LIMUSA, México, D.F.- 1979.
 21. HURLEY, D., AGUILAR, A., GARIBAY, J., BOURGES, J. y LANDEROS, J. "Curso de Estadística" CINVESTAV-SEP - 1980.
 22. TRANCHANT, J. "Manual Práctico de Cromatografía en Fase Gaseosa", Ed. Toray-Masson, Barcelona, España. 1972.
 23. Mc NAIR, H.M. & BONELLI, E.J. "Basic Gas Chromatography" Edit. por VARIAN, Berkeley, Ca. U.S.A. 5a. ed. 1969.

24. SKOOG, D.A. & WEST, D.M. "Cromatografía Gás-Líquido" - cap. 24 de "Análisis Instrumental", Ed. Interamericana México, D.F. 1983.
25. GUERASIMOV, Y.A. y COLS. "Cromatografía Gaseosa" suplemento del "Curso de Química Física" Tomo I, Ed. MIR--- Moscú, Trad. al español, URSS 1977.
26. CONNORS, K.A. "Cromatografía Líquida" Cap. 17 del "Curso de Análisis Farmacéutico", Ed. Reverté, Barcelona, España. 1980.
27. MANN, C.K., VICKERS, T.J. & GULICK, W.M. "Chomatogra--phy" cap. 22 de "Instrumental Analysis", Harper & Row Publishers, NY, U.S.A. 1974.