

26
2oj.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES

ZARAGOZA

INFLUENCIA DE PARAMETROS FISICOQUIMICOS SOBRE
EL PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA EN
MICROCAPSULAS DE LIBERACION CONTROLADA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTAN
GUTIERREZ SANCHEZ CATALINA
Y
PACHECO PEREZ ERNESTO ISAAC

ASESOR
MARCO TULIO MORALES DELGADO

1 9 9 2



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.

I N D I C E

INTRODUCCION	
I. FUNDAMENTACION DEL TEMA	1
A. Microcapsulas de liberación controlada	
1. DEFINICION	1
2. COMPOSICION	1
a. Características generales del nucleo	1
b. Características generales del agente impregnante .	2
c. Características generales del agente de recubri-	
miento	2
3. MICROENCAPSULACION.	4
a. Definición	4
b. Método de recubrimiento en bombo	4
4. GENERALIDADES SOBRE LIBERACION	5
B. Cafeína	
1. PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS	6
2. PROPIEDADES FARMACOLOGICAS	7
a. Absorción	7
b. Mecanismos de acción	8
c. Distribución	9
d. Metabolismo y eliminación	9
e. Toxicidad	10
C. Generalidades sobre disolución	
1. DEFINICION	10
2. TEORIAS DE DISOLUCION	11
3. FACTORES FISICOQUIMICOS INVOLUCRADOS EN LA	
DISOLUCION.....	25
a. Influencia del volumen de medio de disolución	25
b. Influencia de la velocidad de agitación	25
c. Influencia del pH	27
d. Influencia de la fuerza iónica	28
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	29
III. OBJETIVO	31
IV. HIPOTESIS	32
V. MATERIAL Y METODO	33

A. Materiales	33
B. Material de impregnación	33
C. Material de recubrimiento	33
D. Equipo de fabricación	33
E. Equipo para valoración de microcápsulas	34
F. Método para fabricación de microcápsulas de cafeína de liberación controlada	34
1. SOLUCION DE IMPREGNACION	34
2. PROCEDIMIENTO DE IMPREGNACION	35
3. SECADO DE LAS MICROESFERAS IMPREGNADAS	35
4. PREPARACION DE LA SOLUCION DE RECUBRIMIENTO	35
5. PROCEDIMIENTO DE RECUBRIMIENTO	36
G. Método de valoración del contenido de cafeína en microcápsulas	36
1. FORMULA	36
2. PREPARACION DE LA MUESTRA	37
3. SOLUCION DE REFERENCIA	37
H. Método de valoración de la cantidad de cafeína liberada por las microcápsulas	37
1. APARATO	37
2. TUBOS DE LIBERACION	38
3. PREPARACION DE SOLUCIONES	39
a. Jugo gástrico simulado sin enzimas	39
b. Jugo intestinal simulado sin enzimas	40
c. Soluciones de extracción.....	40
4. PROCEDIMIENTO	40
VI. RESULTADOS	43
VII. DISCUSION DE RESULTADOS	75
VIII. CONCLUSIONES	87
BIBLIOGRAFIA	90
REFERENCIAS	91
APENDICE	93

INTRODUCCION

Los medicamentos de liberación controlada, constituyen una de las más interesantes aportaciones de la industria farmacéutica. La gran aceptación de estos medicamentos, se debe a las ventajas que presentan:

- a. Mantienen el efecto terapéutico por periodos mas largos de tiempo.
- b. Reducen el número y frecuencia de administración.
- c. Disminuyen los efectos secundarios.
- d. Proporciona comodidad al paciente.

Una de las técnicas más empleadas para la manufactura de medicamentos de liberación controlada es la microencapsulación, que tiene por objeto el proteger algunos materiales, separarlos o facilitar su almacenamiento y manipulación, así mismo para controlar la velocidad de liberación del fármaco, misma que se ve influenciada dos factores: Los tecnológicos (tiempo de secado, presencia de baffles, inclinación del bombo, etc.) y de formulación (tipo, solubilidad, grosor, permeabilidad de la película de recubrimiento, etc.), además de ciertos parámetros físico-químicos, los cuales pueden afectar el perfil de liberación del principio activo dosificado en microcápsulas.

Hasta la fecha no existe un método que pueda ser empleado para todos los medicamentos de liberación controlada, de ahí la importancia de realizar un estudio de estos parámetros. Por lo

anterior, en el presente trabajo, empleando el método de liberación de las botellas rotatorias, se evaluaron cuatro variables; pH, fuerza iónica, volumen de medio y velocidad de agitación a tres niveles cada una, para conocer su efecto sobre el perfil de liberación, teniendo como variable de respuesta, porcentaje de eficiencia de disolución.

La parte experimental se realizó siguiendo una matriz de tratamientos propuesta. Para cada uno de los tratamientos se obtuvo una gráfica de porcentaje liberado acumulado vs tiempo, de donde se obtuvieron los porcentajes de eficiencia de disolución y con lo cual se evaluaron las variables, mediante factoriales 2^3 , al reconocerse la imposibilidad de emplear un modelo factorial 3^4 .

I. FUNDAMENTACION DEL TEMA

A. Microcápsulas de liberación controlada

1. DEFINICION

Es un microgránulo que libera inicialmente una cantidad suficiente de principio activo biodisponible para alcanzar la respuesta farmacológica deseada, tan rápidamente como lo permitan las propiedades del fármaco, además de liberar otras dosis simples en un determinado momento después de la administración (2).

2. COMPOSICION

a. Características generales del núcleo

El núcleo puede ser solo un soporte de algún material inerte como almidón o sacarosa, o contener una porción específica del propio fármaco. Cuando el material del núcleo es sólido, puede seleccionarse el tamaño de partícula o darle la forma adecuada.

Uno de los métodos mas antiguos y mas empleados para la manufactura de particulas esféricas, que son empleadas como núcleos para microesferas, es la aglomeración en bombo; este proceso sigue los principios del recubrimiento con azúcar, y puede, hacerse por mezclado, rotación o empleando la técnica del lecho fluidizado (3).

b. Características generales del agente impregnante

Los agentes impregnantes son sustancias que producen soluciones cohesivas, que se emplean para unir partículas sobre el núcleo, generalmente del fármaco con el lubricante, cuando se emplea el método de recubrimiento en bombo. Los materiales mas frecuentemente usados como impregnantes son: almidones, gretetina, sacarosa, gomas naturales y sintéticas, polivinilpirrolidona, goma laca y algunos derivados de celulosa.

En el presente trabajo se utilizó la polivinilpirrolidona ver figura 1.

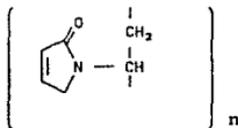


FIGURA 1. Fórmula molecular condensada de polivinilpirrolidona.

La polivinilpirrolidona es un sólido amarillo parecido a la albúmina. Es una mezcla de polímeros esenciales lineales de 1-vinil-2-pirrolidona de cadenas de diferentes longitudes y pesos moleculares. Es higroscópica y pueda absorber grandes cantidades de agua. Soluble en alcohol, cloroformo, isopropanol y en agua formando una solución coloidal; insoluble en acetona y éter (4).

c. Características generales del agente de recubrimiento

La resina acrílica eudragit L es un polimerizado aniónico

del ácido metacrílico y metacrilato de metilo es insoluble en ácidos y agua pura ver figura 2. Se solubiliza en medios que van desde el neutro hasta débilmente alcalinos, por formación de sales con los álcalis, dando lugar a recubrimientos resistentes a los jugos gástricos y solubles en el jugo intestinal (5).

Aplicado en capas delgadas, los recubrimientos pueden ser utilizados para la preparación de cubiertas resistentes a los agentes ambientales, para aislar núcleos higroscópicos y para enmascarar medicamentos con mal sabor u olor. De esta forma se consigue un ligero retraso en la desintegración, en el agua o jugos gástricos, alcanzándose un mayor retraso en la disolución de la sustancia activa en el intestino.

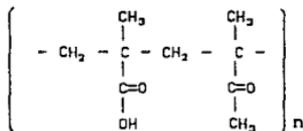


FIGURA 2. Fórmula molecular condensada de eudragit L

El peso molecular medio del eudragit L es de 135,000.

Su principal aplicación es el recubrimiento de medicamentos resistentes a los jugos gástricos y solubles en el jugo intestinal (4).

3. MICROENCAPSULACION

a. Definición

Es la aplicación de una cubierta delgada sobre pequeñas partículas de sólido, gotas de líquido o de dispersiones, con el objeto de proteger algunos materiales, separarlos o facilitar su almacenamiento y manipulación, así mismo, como medio de control de la velocidad de liberación de un fármaco (2).

b. Método de recubrimiento en bombo

Se emplea para preparar microgránulos de acción sostenida y también para proteger algunas sustancias alterables ya sea por la humedad o la luz.

El método se lleva a cabo primeramente por la preparación del núcleo, lo cual se puede conseguir mediante dos procesos. El primero consiste en usar como base, partículas inertes, como por ejemplo gránulos de azúcar, depositando sobre ellos, en capas sucesivas, el fármaco en solución. El segundo consiste en producir un gránulo que contenga el principio activo, éste se prepara con excipientes de uso común, como por ejemplo lactosa, almidón, u otras sustancias.

Obtenidos los núcleos de tamaño apropiado, se recubren aplicando capas de solución del material de recubrimiento o bien, adicionando en forma de atomización, mientras que los núcleos giran en el interior del bombo. Al igual que en el proceso de cobertura, las capas de recubrimiento se alteran con la aplicación

de aire frío o caliente que evapora el disolvente.

De esta manera, sobre los núcleos se deposita el material de recubrimiento en forma de película fina (2).

4. GENERALIDADES SOBRE LIBERACION

La liberación es el proceso mediante el cual, un fármaco pasa através de la película de recubrimiento de la forma farmacéutica, hacia el medio de disolución; facilitado por el gradiente de concentración, las características fisicoquímicas del fármaco y las propias del medio de disolución; así como la porosidad y permeabilidad de la capa de recubrimiento.

La liberación se efectúa como consecuencia del contacto del sólido con los líquidos del medio.

En el caso de formas farmacéuticas orales éstas deben ser humedecidas rápidamente por los jugos gastrointestinales siendo este paso determinante para la liberación del fármaco dadas las características de la película de recubrimiento.

El mecanismo de liberación se efectúa siguiendo tres etapas principales: 1) Un volumen de líquido, difunde dentro de la microsfera. 2) Se disuelve el fármaco, formando una solución saturada del mismo. 3) El fármaco difunde através de la película de recubrimiento hacia el medio de disolución siguiendo la ley de difusión de Fick (6).

B. Cafeína

1. PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS

Es una Xantina que se encuentra en forma natural en el té, café, cocoa y bebidas de cola (preparadas con nueces de cola). Se le conoce como 3,7-Dihidro-1,3,7-trimetil-1H-purina-2,6 diona; 1,3,7-trimetilxantina; 1,3,7-trimetil-2,6-dioxo purina; Guaranina; Metil teobromina.

Su fórmula desarrollada se representa en la figura 3.

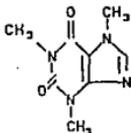


FIGURA 3 Fórmula molecular desarrollada de cafeína.

Se presenta como agujas incoloras brillantes o prismas hexagonales, inodoras y de sabor amargo; su punto de fusión es de 238°C. Sublima a 178°C.

La densidad como d_4^{18} es de 1.23.

Su K_b a 19°C es $0.7 \cdot 10^{-14}$ su K_a a 25°C es menor de $1 \cdot 10^{-14}$; el pK_a es de 0.8. El pH de una solución de cafeína al 1 % es de 6.9.

Un gramo de cafeína se disuelve en:

46.0 ml de agua
5.5 ml de agua a 80°C
1.5 ml de agua hirviendo
66.0 ml de alcohol
22.0 ml de alcohol a 60°C
50.0 ml de acetona
5.5 ml de cloroformo
530.0 ml de éter
100.0 ml de benceno
22.0 ml de benceno hirviendo

Muy soluble en pirrol, tetrahidrofurano; soluble en acetato de etilo; ligeramente en éter de petróleo.

La solubilidad se incrementa en el agua con la presencia de ácidos orgánicos, benzoatos alcalinos, cinnamatos, citratos o salicilatos.

La cafeína es eflorescente al aire.(7)

2. PROPIEDADES FARMACOLOGICAS

a. Absorción

La cafeína se absorbe bien y en periodos cortos de tiempo de cualquier forma farmacéutica, de manera que puede ser administrada por cualquier vía sin que se presenten mayores problemas; aunque preferentemente se utiliza la vía oral, pues su absorción está influenciada por el pH del tracto gastrointestinal y dadas sus características de base débil, se

absorbe mas rápidamente que en el caso de administración rectal, donde el pH del medio tiende a la neutralidad, y la absorción disminuye (8).

b. Mecanismo de acción

La cafeína tiene diversos efectos sobre el organismo en general. Es un estimulante del sistema nervioso central actuando inicialmente sobre la corteza cerebral, bulbo y médula espinal, estos efectos se atribuyen a la capacidad que tiene el fármaco para inhibir la fosfato diesterasa, la cual inactiva el AMPcíclico.

En las dosis usuales, aumenta el estado de alerta y disminuye la sensación de fatiga, aumentando la actividad motora.

Sobre el sistema cardiovascular, la cafeína, incrementa el gasto cardiaco, y al antagonizar la acción de compuestos adenilicos, evita la bradicardia y el bloqueo de la conducción auriculoventricular. Por esta misma propiedad, se emplea como estimulante en casos de intoxicación aguda por etanol (4).

En el músculo estriado, la cafeína provoca la liberación de Ca^{+2} del reticulo sarcoplásmico que provoca la relajación del mismo y del músculo liso. Reduce el ritmo y la capacidad de acumulación del Ca^{+2} en reticulo sarcoplásmico y las mitocondrias. Todo lo anterior debido al desacoplamiento de la actividad de ATP... Produce además broncodilatación.

Por acción sobre el hipotálamo, (centro termorregulador del organismo), la cafeína produce a dosis elevadas hipertermia.

La cafeína tiene efecto inhibitorio sobre la agregación de plaquetas, por un mecanismo todavía desconocido.

La ingestión de cafeína produce un estímulo local en el píloro, que ocasiona secreción de jugo gástrico rico en ácido y pobre en pepsina.

Posee acción diurética inhibiendo la resorción tubular de sodio y cloruro, aumentando la eliminación de potasio.

Aumenta el número de glomérulos en acción; eleva la presión de filtración, dilatando más las arteriolas aferentes que las eferentes.

Aumenta el flujo sanguíneo total del riñón (9).

c. Distribución

La cafeína se distribuye ampliamente en el organismo y se une en un 60% a proteínas plasmáticas. El volumen de distribución $V_d = 0.5 \text{ l/Kg}$. Se encuentran concentraciones terapéuticas en sangre una hora después de la administración oral. La Cafeína puede encontrarse en líquido cefalorraquídeo, saliva e incluso, pasa a través de la leche materna aunque en dosis muy pequeñas (9).

d. Metabolismo y Eliminación

La cafeína se metaboliza en el hígado por dimetilación y oxidación parcial. El tiempo de vida media es de 5 horas. El fármaco se inactiva casi totalmente en el hígado y se elimina

principalmente por orina siguiendo una cinética de dos compartimentos (10). La eliminación se retarda en pacientes que presentan padecimientos hepáticos y renales.

e. Toxicidad

La cafeína produce dependencia psíquica y en casos extremos, física, la abstinencia produce irritabilidad y somnolencia.

Se le atribuyen acciones teratológicas ya que induce mutaciones cromosómicas debido a la inhibición de procesos de reparación de DNA.

A dosis de 600 mg/día en animales de laboratorio induce aborto o nacimiento prematuro.

La dosis letal media para humanos es: $DL_{50} = 100$ mg/Kg y para ratas es: $DL_{50} = 200$ mg/Kg (9).

C. Generalidades sobre Disolución

1. DEFINICION

Es la velocidad con la cual un soluto cambia de un estado, que puede ser cristalino, polvo o líquido a otro estado en forma de dispersión molecular en el solvente.

La disolución puede considerarse como el proceso inverso a la cristalización, ambas son tipos específicos de reacciones heterogéneas. Estas reacciones pueden ser clasificadas de acuerdo a tres tipos generales:

- La velocidad de reacción o interacción en la interfase, es mayor que la velocidad de los reaccionantes yendo hacia la interfase o los productos de la interfase hacia la solución. Debido a esto, la velocidad del proceso estará determinada por el transporte convectivo o la difusión de las moléculas del fármaco de la interfase hacia la solución.

- La velocidad de reacción en la interfase es menor que el proceso de transporte, de esta manera, la liberación y acumulación de moléculas del fármaco en la solución, será el proceso de velocidad limitante.

- Los dos procesos tienen velocidades del mismo orden de magnitud, de manera que la velocidad final será función de ambos procesos (11).

2. TEORIAS DE DISOLUCION

El proceso de disolución ha sido investigado, através de los modelos físicos así como cuantitativamente, esto último en base a la ley de Difusión de Fick.

•LEY DE DIFUSION DE FICK

La cantidad de soluto, (dW), que difunde a una temperatura constante, através de una superficie, A, a un tiempo, dt, cuando la concentración cambia en una proporción dC, en una distancia dx que esta en ángulo recto con el plano A, está representada por la expresión:

$$\frac{dW}{dt} = D A \frac{dC}{dx}$$

En donde, el coeficiente de difusión D , es la cantidad de soluto que atraviesa 1 cm^2 de superficie en unidad de tiempo, si el cambio de concentración por cm^3 en dirección perpendicular a la superficie es la unidad. Esta ley propone que el único movimiento involucrado en la difusión se debe a la agitación molecular (6).

•TEORIA DE NOYES Y WHITNEY

Este equipo de investigadores estudiaron cuantitativamente el proceso de disolución. Utilizaron en su estudio, cilindros de ácido benzóico y de cloruro de plomo, rotandolos a velocidad uniforme en agua y analizaron la solución a diferentes niveles, manteniendo el área superficial constante. De estos estudios (12) derivaron la siguiente ecuación:

$$\frac{dc}{dt} = k (C_s - C)$$

Donde k = cte con dimensiones: 1/tiempo

$$k = \frac{1}{t} \ln \left(\frac{C_s}{C_s - C} \right)$$

C_s = Solubilidad del compuesto en el equilibrio a la temperatura del experimento

C = Concentración del compuesto a tiempo = t .

Noyes y Whitney consideran el fenómeno de disolución como un

caso simple de difusión, donde el sólido se encuentra rodeado por una película de solución saturada delgada e indefinida, desde la cual se lleva a cabo el proceso de difusión hacia el resto del solvente (12).

•TEORIA DE NERST Y BRUNNER

Estos investigadores, hacen un análisis profundo del modelo de difusión en película o capa fina, cuando se trata de un sólido policristalino en un solvente puro y tratan de obtener el valor del espesor de la capa límite, ver figura 4.

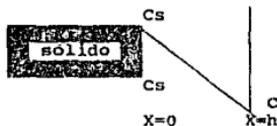


FIGURA 4. Representación del modelo de difusión en película

En este modelo se supone que alrededor del soluto existe una película de líquido de espesor h , en la cual, la velocidad tiene una dirección X , perpendicular a la superficie y prácticamente nula. A una distancia $X > h$ existe una agitación rápida y no hay un gradiente de concentración. A $X=0$ (interfase sólido-líquido) se presenta el estado de equilibrio. En estas condiciones, el movimiento del soluto y por lo tanto, la velocidad de disolución, estarán determinados por el movimiento Browniano de las moléculas

en la película de difusión (6).

•TEORIA DE DAVION

Esta teoría, representa el modelo para el caso en que el diámetro promedio de la fase sólida es ≥ 1 mm, tiene una velocidad baja o moderada ($\approx 5\%$), la disolución se lleve a cabo sin desintegración, sin reacción química con el solvente y bajo condiciones de agitación media o fuerte representada por medio de la siguiente ecuación:

$$\frac{dW}{dt} = \frac{DS}{h} (C_s - C)$$

Donde:

$\frac{dW}{dt}$ = Velocidad de disolución

S = Area superficial

D = Coeficiente de difusión molecular del soluto

h = Espesor de la película de difusión

Esta ecuación explica la variación de la constante k, debido a la intensidad de la agitación, ya que mientras mas fuerte sea esta, será mas delgada la capa de difusión y por lo tanto mayor la velocidad de disolución (11).

•WILDERMAN Y ZDANOVSKI

Zdanovski después de experimentar la disolución de sales inorgánicas, generalizó que cuando la superficie o el fenómeno interfacial son los factores que determinan la velocidad de

disolución, esta se representa por la ecuación: (11)

$$\frac{dW}{dt} = \alpha S (C_s - C)$$

Cuando el proceso está determinado por la difusión, la velocidad de disolución está representada por:

$$\frac{dW}{dt} = \frac{DS}{h} (C_y - C_x)$$

Y para el caso general, la ecuación es:

$$\frac{dW}{dt} = \frac{\alpha D}{D + \alpha h} S (C_s - C_x)$$

Donde:

- α = Constante de velocidad para el proceso interfacial
- C_x = Concentración en la solución
- C_y = Concentración en la capa de difusión en su unión con el sólido

Wagner (13) define la velocidad de disolución intrínseca de acuerdo a la siguiente expresión:

$$G = \frac{1}{S} \cdot \frac{dW}{dt}$$

W = Cantidad de soluto disuelto al tiempo t

Este parámetro fue determinado en compuestos puros, bajo condiciones en las que el medio de disolución se encuentre con un valor de saturación menor al 10% durante la prueba, es decir, $C_s \gg C$, (condiciones Sink), durante un procedimiento estandarizado donde la geometría del sistema se mantiene fija y teniendo un

área de superficie constante del sólido que se está disolviendo.

Tomando en cuenta y comparando las ecuaciones anteriores se llega a la siguiente expresión:

$$\frac{W}{S} = G \cdot t$$

Esta ecuación indica que graficando la cantidad disuelta W , dividida entre el área superficial S , (que es constante durante el experimento), contra el tiempo se obtiene la velocidad de disolución intrínseca G , que será la pendiente de la recta.

Bajo condiciones estáticas se aplica la siguiente ecuación propuesta por Wagner para describir la velocidad promedio de disolución por unidad de área de una superficie rectangular suspendida verticalmente en un medio de disolución.

$$R'_{\eta} = 0.726 \text{ DCs} \left(\frac{g}{HD_{\eta}} \cdot \frac{\Delta\rho'}{\rho_s} \right)^{1/4}$$

R'_{η} = Velocidad promedio de disolución por unidad de área

H = Altura del plano rectangular

η = Viscosidad de la película de difusión

$\Delta\rho'$ = Diferencia de densidad entre la película de difusión y la solución

g = Constante gravitacional

ρ_s = Densidad del medio de disolución

Esta ecuación fue verificada determinando la pérdida de peso de capas delgadas de cloruro de sodio suspendidas verticalmente por medio de un alambre de plata en agua (14) concluyéndose que

bajo estas condiciones, la difusión y la convección natural, debida a la diferencia de densidad entre la solución saturada y solvente puro, son los factores que determinan la velocidad de disolución.

•LEVICH

Considerando el método del disco rotatorio, diseñado por Wood y colaboradores (15), el cual consta de un disco de superficie plana, sostenido en una matriz donde se inserta el compuesto en estudio; esta matriz está sujeta a una barra de agitación constante, con una velocidad angular conocida. Levich supone que en este método existe un flujo laminar y el proceso estará controlado por la difusión, y obtiene la siguiente ecuación:

$$J = 0.62 D^{2/3} \nu^{-1/6} \omega^{1/2} C_s$$

Donde:

- J = Velocidad de disolución
- D = Coeficiente de difusión
- ν = Viscosidad cinemática
- ω = Velocidad angular
- C_s = Solubilidad del compuesto en el medio de disolución

•GREGORY Y RIDDIFORD

Reevaluaron la integral de la ecuación de Levich utilizando términos de orden mayor; obtuvieron la siguiente ecuación: (11)

$$J = 1.61 \left(\frac{D}{\nu} \right)^{1/9} \sqrt{\frac{\nu}{\omega} \left[1 + 0.35 \left(\frac{D}{\nu} \right)^{0.36} \right]} \text{ Cs}$$

Gibaldi y colaboradores (16) trabajaron experimentalmente con estas ecuaciones para conocer la velocidad de disolución intrínseca de varios compuestos y sobre sus resultados concluyeron "La hidrodinamia asociada al disco rotatorio es tal que el modelo de difusión en película "per se" no es aplicable y deben entonces utilizarse las ecuaciones de Levich, o las de Gregory y Riddford o las de Cooperr y Kingery.

•BASAILLON Y TAWASHI

Estos investigadores, desarrollaron un método en el cual también se mantiene constante la superficie, conocido como método de "Mezclador turbina" en el cual, la celda de disolución tiene un movimiento tridimensional alrededor de su eje y por este método determinan la dependencia de la velocidad de disolución, de la velocidad de flujo y de la energía de activación y obtienen valores que pueden compararse teóricamente con la teoría de flujo laminar y la de flujo turbulento de Danckwerts (11).

•TEORIA DE LA RAIZ CUBICA

Hixson y Crowell (11) llevaron acabo extensos estudios sobre la teoría de disolución de sólidos y derivaron la ley de la raíz cúbica, en la cual, la velocidad de disolución de un sólido on un líquido, está expresada como una función del área

superficial y de la concentración. Ellos afirmaron que la ley de Noyes-Whitney en su forma original, sin ninguna suposición acertada del mecanismo por el cual el proceso se lleva a cabo, ha sido en general soportada por estudios experimentales.

De acuerdo con la ecuación de Noyes-Whitney, se establece:

$$\frac{dW}{dt} = -k_2 S (C_s - C)$$

Donde k_2 = Constante con dimensiones de longitud y tiempo.

Considerando que $W_0 - W$ es el peso del cristal que ha sido disuelto en un tiempo t , W_s es el peso del soluto necesario para saturar el líquido, δ es la densidad del cristal y $\frac{W_0 - W}{V} = C$; si $C=0$ cuando $t=0$ y $C_s = \frac{W_s}{V}$, substituyendo en la ecuación anterior, se tiene:

$$V \left(\frac{dW}{dt} \right) = -k_2 S (W_s - W_0 + W)$$

Suponiendo que no existe cambio en la forma del cristal disuelto en la disolución, la superficie variará $2/3$ partes con respecto al volumen de polvo $S \propto V^{2/3}$ (para una esfera, $S = 4.85 V^{2/3}$) y debido a que $V = \frac{W}{\delta}$ entonces, $S = k_s W^{2/3}$ donde k_s incluye densidad (δ) y una constante relacionada al volumen y a la forma del cristal, siempre y cuando la forma cristalina permanezca constante. (Para una esfera, $k_s = 4.85/\delta^{2/3}$).

Si se supone que $k_1 = k_s + k_2$ y $g = W_s - W_0$ y substituyendo

el valor de S en la ecuación anterior se tiene:

$$V \left(\frac{dW}{dt} \right) = - K_1 W^{2/3} (g \cdot W)$$

Rearreglando e integrando se obtiene:

$$V \int \frac{dW}{g W^{2/3} + W^{5/3}} = K_1 \int dt + C'$$

Donde C' es la constante de integración

Si $g^{1/3} = a$, $W_0^{1/3} = b$ y $W^{1/3} = x$ y conociendo que cuando $t=0$ $W = W_0$ y $C = 0$, se obtiene la ecuación para el caso general en que el peso inicial del cristal es mayor o menor pero no igual a la cantidad necesaria para conseguir la saturación ($W_0 \neq W_s$).

$$K_1 t = \frac{V}{a^2} \left[\sqrt{3} \tan^{-1} \frac{2\sqrt{3} (ab - x)}{3a^2 + (2b-a)(2x-a)} + 1.1513 \log \frac{(a+b)^2 (a^2 - ax + x^2)}{(a+x)^2 (a^2 - ab + b^2)} \right]$$

Puede observarse en esta ecuación que existe una relación entre el tiempo t y la raíz cúbica del peso del soluto ($W^{1/3} = x$). Los demás valores son constantes o son valores conocidos de W, de tal manera que se puede simplificar la ecuación, simplemente ajustando las condiciones experimentales como se especifica en dos casos especiales:

Caso especial número 1

Cuando el peso inicial del cristal W_0 es igual a la cantidad necesaria para la saturación W_s , o $g = a = 0$.

De esta manera se obtiene:

$$K_1 t = V (W^{-2/3} - W_0^{-2/3})$$

Donde $K_2 = 2/3 K_1$

Caso especial número 2

Cuando se mantiene esencialmente constante el gradiente de concentración ($C_s - C$), haciendo el medio de disolución lo suficientemente diluido, se obtiene:

$$K_4 t = W_0^{1/3} - W^{1/3}$$

donde $K_4 = 1/3 K_3$

La derivación de la ley de la raíz cúbica, se basa en las siguientes consideraciones:

- El proceso de disolución se lleva a cabo en forma normal con respecto a la superficie del sólido y el efecto de la agitación contra cualquier parte de la superficie es esencialmente el mismo.

- La forma cristalina es predominantemente esférica a lo largo del proceso de disolución.

- No es necesario postular ninguna forma geométrica definida para la partícula que se está disolviendo y no es necesario hacer otra medición que no sea el peso.

- Diferencias en la velocidad de disolución de las diferentes caras del cristal son insignificantes puesto que todas las caras participan para proporcionar una velocidad promedio.

- La agitación en los alrededores de la partícula es tan intensa que el líquido no se estanca en esta región, por lo que no existe una velocidad de agitación lenta. La ley no es aplicable cuando no hay agitación.

- La partícula, permanece intacta durante todo el proceso de disolución.

- MODELO DE LA BARRERA INTERFACIAL

Este modelo explica el caso cuando la velocidad de disolución depende de la velocidad de reacción artificial, el cual fue desarrollado por Higuchi (16).

De acuerdo a este modelo y debido a la alta energía libre de activación necesaria para el transporte entre las dos fases, la difusión a través de la interfase es mucho mas lenta que a través de la película, como resultado de esto, no puede llegarse a un estado de equilibrio en la interfase sólido - solución ($X=0$) y por lo tanto esta consideración debe incluirse en el modelo, ver figura No.5.

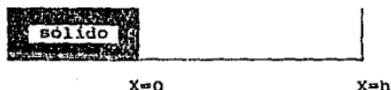


FIGURA 5. Representación del modelo de la barrera interfacial.

Cuando la barrera interfacial es importante, es mas difícil derivar la relación para G en términos físicamente significantes.

Primero debe ser considerada la verdadera área superficial ya que las diferentes caras de un cristal, deben tener diferentes barreras interfaciales. Sin embargo, para este caso se tiene la

siguiente ecuación:

$$G = K_i (C_s - C)$$

Donde:

G = Velocidad de disolución por unidad de área

K_i = Constante de velocidad de transporte interfacial efectiva, en la cual deberán considerarse factores tales como el área superficial real, mas que el área externa geométrica

Si se combinan el concepto de la barrera interfacial con el de la película de difusión se tiene un modelo de doble barrera con la siguiente ecuación:

$$G = \frac{D (C_s - C)}{n \left(1 + \frac{D}{n k_i} \right)}$$

MODELO DE DANCKWERTS

Este modelo, supone que el solvente se dirige hacia la superficie del sólido en forma de paquetes macroscópicos, los cuales alcanzan la interfase sólido-líquido debido a una difusión turbulenta al azar, estos elementos son reemplazados continuamente por paquetes nuevos de solvente y el proceso de transporte de superficie puede relacionarse directamente con la velocidad de disolución, ver figura 6.

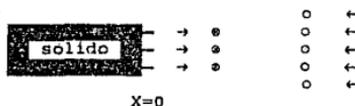


FIGURA 6 Representación del modelo de Danckwerts.

Danckwerts elaboró éste modelo para la disolución de un gas en un líquido, Johnson y Huang demostraron la aplicabilidad en la disolución de superficies planas en un líquido turbulento, después de estudiar diferentes sistemas sólido-líquido.

Bajo las condiciones de un solo componente, una fase de dimensiones macroscópicas con baja o moderada solubilidad y cuando la disolución se efectúa sin desintegración, sin reacción química y bajo condiciones de agitación media-elevada, la disolución intrínseca estará representada por:

$$G = p^{1/2} D^{1/2} (C_s - C)$$

Donde: p = Velocidad promedio de producción de paquetes frescos

Cuando se combinan los mecanismos de la barrera interfacial y el de Danckwerts, se obtiene la siguiente ecuación para la velocidad de disolución intrínseca:

$$G = \frac{p^{1/2} D^{1/2} (C_s - C)}{1 + \frac{p^{1/2} D^{1/2}}{K_i}}$$

3. FACTORES FISICOQUIMICOS INVOLUCRADOS EN LA DISOLUCION

a. Influencia del volumen de medio de Disolución

La influencia que puede ejercer la cantidad de medio sobre la velocidad de disolución de un fármaco, está basada casi en su totalidad en las propiedades físicas y químicas del fármaco, ya que si este es poco soluble habrá poca o nula influencia al aumentar o disminuir la cantidad de medio de disolución.

Otras consideraciones son: Si se rebasan las condiciones Sink (cantidad de fármaco disuelto mayor que el 10% de la concentración de saturación), aumenta la velocidad de saturación y por lo tanto disminuye la velocidad de disolución.

Así mismo, al disminuir el volumen de disolución, disminuye la interacción medio de disolución-forma farmacéutica, lo que trae como consecuencia una disminución en la cantidad de soluto disuelto. Por otro lado, si se aumenta la cantidad de medio de disolución, siempre se tendrá al fármaco a dilución infinita, por tanto puede esperarse que no habrá efecto sobre la velocidad de disolución del fármaco (11).

b. Influencia de la Velocidad de Agitación

Hamlin y colaboradores (17) demostraron que al aumentar la agitación, se perdía la sensibilidad para distinguir la velocidad de disolución y recomendaron el uso de bajas intensidades de agitación en los experimentos, Levy y Procknall (18) demostraron

que lo anterior se debía a las propiedades intrínsecas del fármaco, mas que al sistema de disolución.

Wurster y Taylor (16) observaron la siguiente relación:

$$K = A (N)^B$$

Donde:

K = Constante de velocidad intrínseca

N = Velocidad de agitación

A y B = Constantes

Si la disolución esta controlada por la difusión, el valor de B deberá ser igual a uno o muy cercano a uno, esto está de acuerdo con la teoría de la capa de Nernst- Brunner, la cual establece que la capa h es inversamente proporcional a la velocidad de agitación. Si el proceso está controlado por la velocidad de reacción interfacial, $B \rightarrow 0$, ya que la velocidad de agitación no afectaría a la disolución. Si ambos procesos tienen influencia en la velocidad, B variará entre cero y uno. Si se emplea un amplio rango de agitación, es decir, si el movimiento del fluido cambia de laminar a turbulento, disminuirá la distancia de la interfase y por lo tanto también afectará el valor del exponente B dependiendo del tipo de agitación usada.

Carner y Hoffman encontraron que aún en casos de convección libre, existe turbulencia en la interfase.

Fue Levich quien afirmó que la variación en la relación velocidad de agitación-velocidad de disolución se debe al grado de turbulencia del solvente cerca de la interfase. En casos de convección forzada, él cree que es debida, al menos en parte, a

características diferentes de la superficie de la substancia que está disolviendo.

C. Influencia del pH

La solubilidad de un electrolito débil varía normalmente en función del pH, por lo tanto deberan esperarse diferencias en la velocidad de disolución de un ácido o una base débiles cuando cambia el pH del medio de disolución.

Nelson realizando estudios con teofilina, al graficar la velocidad inicial de disolución por unidad de área $K C_s$, contra $1 + K_a / [H^+]$, obtuvo una línea recta llegando a las ecuaciones siguientes:

$$\frac{dc}{dt} = kC_0 \left(1 + \frac{K_a}{[H^+]} \right) \quad \text{Para un ácido débil}$$

y

$$\frac{dc}{dt} = kC_0 \left(1 + \frac{[H^+]}{K_a} \right) \quad \text{Para una base débil}$$

Donde se considera a:

$\frac{dc}{dt}$ = Velocidad de disolución

k = Constante de difusión

C_0 = Solubilidad intrínseca del ácido no ionizado

K_a = Constante de disociación

$[H^+]$ = pH de la solución saturada en la capa de difusión

Las ecuaciones anteriores indican que la velocidad de disolución de los ácidos aumenta al aumentar el pH (disminuye $[H^+]$) y para las bases débiles, la disolución disminuye al aumentar el pH (11).

d. Influencia de la Fuerza Iónica

Cuando se incluyen compuestos neutros iónicos ($NaCl$, $NaSO_4$), u orgánicos no iónicos (dextrosa), en el medio de disolución, la velocidad de disolución, de un ácido débil, llega a ser independiente del carácter básico del medio dentro de ciertos valores y es una función lineal del producto de la concentración de la base y su coeficiente de difusión.

De estos experimentos, es aparente que para una base débil que se disuelve en un medio ácido, la velocidad de disolución será independiente de la fuerza del ácido arriba de ciertos valores.

De esta manera, la velocidad de disolución, es una función lineal del producto de la concentración del ácido y del coeficiente de difusión de éste (6).

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La finalidad que se persigue con los medicamentos de liberación controlada, es lograr que la absorción del fármaco, se produzca a la misma velocidad a la que éste es eliminado, para mantener constante su concentración plasmática, una vez que se han alcanzado los niveles terapéuticos. De esta manera, es necesario realizar controles "in vivo", los cuales, tienen mayor significado, ya que se mide directamente en el organismo la respuesta terapéutica del medicamento luego de la administración.

Es importante hacer notar que estos estudios son necesarios pero demasiado costosos, razón por la cual, en la industria farmacéutica preferentemente se realizan los controles "in vitro", los cuales, permiten conocer la cantidad de fármaco liberado por la forma farmacéutica en la unidad de tiempo, en condiciones experimentales que se aproximan a las condiciones fisiológicas. Estas determinaciones, solo son tomadas como modelos indicativos del comportamiento del medicamento en el tracto gastrointestinal, donde la disolución o liberación del principio activo, desde la forma farmacéutica, es influenciado por factores fisiológicos y ambientales.

Debido a la gran variedad de procedimientos empleados en la manufactura de medicamentos de liberación controlada, no ha sido posible establecer un método para evaluar la liberación "in vitro" del fármaco, que sea universal y aplicable a todos los casos, ya que existen, diversos métodos de evaluación tales

como: Canasta rotatoria, Paletas, Botellas rotatorias, Flujo a través de celdas, etc.

La FEUM 5a. Edición 1988 cita como método oficial una prueba para la determinación de la liberación "in vitro" de formas farmacéuticas orales de liberación controlada, utilizando el equipo de botellas rotatorias, mismo que es empleado en la industria farmacéutica nacional, con el cual se cuenta en los laboratorios "Zaragoza" de nuestra escuela y que ha sido empleado en algunos proyectos de tesis (4), (20), (21).

Durante la realización del citado método, existe modificación de algunas variables por especificaciones de la monografía o por errores experimentales tales como: falta de ajuste al pH deseado, exceso de iones en el medio de disolución, cantidad errónea de medio, modificaciones en la temperatura del baño, variaciones en la velocidad de agitación, etc. que modifican la liberación del fármaco. Es esta la razón por la que en este trabajo se plantea un estudio de la influencia de los siguientes parámetros fisicoquímicos: pH, fuerza iónica, velocidad de agitación y volumen de medio de disolución sobre el perfil de liberación de cafeína, dosificada en microcápsulas con recubrimiento de película fina a base de resina acrílica, a concentración constante, usando el porcentaje de eficiencia de disolución como variable de respuesta.

III. OBJETIVO

Estudiar la influencia de pH, fuerza iónica, velocidad de agitación y volumen de medio de disolución en el perfil de liberación de Cafeína de microcápsulas de liberación controlada, utilizando el método de las botellas rotatorias. Teniendo como variable de respuesta el porcentaje de eficiencia de disolución.

Determinar la variabilidad que puede presentar el método de liberación propuesto por la FEUM 5a.edición 1988 para formas farmacéuticas de liberación controlada, cuando existe cambio de las condiciones experimentales. tales como: Aumento del 0.5% y 1% en la concentración de sales. Variar en $\pm 0.5\%$ el pH de cada uno de los medios de disolución utilizados para la prueba; ± 10 rpm de velocidad de agitación especificada y ± 40 ml de medio de disolución.

IV HIPOTESIS

A. Las propiedades de la película de eudragit L, permiten que sea soluble en jugos digestivos a pH neutro-alcalino, por esto, la liberación de cafeína en microcápsulas de liberación controlada, se llevará a cabo mas rápidamente, al ser mas alcalino el pH durante la determinación.

B. Debido a que la concentración de electrolitos tiende a saturar el medio de disolución, el perfil de liberación de microcápsulas de cafeína, se verá afectado al aumentar la concentración de electrolitos.

C. Considerando que la velocidad de saturación del medio, tiene influencia sobre el perfil de liberación de cafeína en microcápsulas y a su vez, están determinados por el volumen de disolución, al variar éste, se verá modificado el perfil de liberación.

D. La velocidad de agitación, afecta la liberación del principio activo de los medicamentos sólidos, ya que al aumentar, se producen agregados de partículas y al disminuir, se reduce la interacción forma farmacéutica-medio de disolución. De manera que: al aumentar o disminuir la velocidad de agitación en el método de las botellas rotatorias, los perfiles de liberación de las microcápsulas de cafeína se verán modificados.

V. MATERIAL Y METODOA. Materiales

Acido clorhidrico J T Baker*
Agua destilada
Cloruro de sodio J T Baker*
Fosfato monobásico de potasio J T Baker*
Hidróxido de sodio J T Baker*
Microesferas inertes malla 24

B. Material de Impregnación

Cafeína†
Etanol USP
Polivinilpirrolidona NF
Talco†

C. Material de recubrimiento

Acetona J T Baker*
Eudragit L, Röhm Pharma GmbH Helm de México, S A†
Isopropanol J T Baker*

D. Equipo de fabricación

Bombo grageador, de acero inoxidable Erweka de 1kg de capacidad
Horno para secado Riossa HS
Malla de acero inoxidable número 120 W S Tyler
Mezclador de corazas gemelas para 1 kg Erweka
Vasos de acero inoxidable de 1 litro

* MATERIALES GRADO REACTIVO ANALITICO.

† MATERIALES GRADO FARMACEUTICO.

E. Equipo para valoración del principio activo de las microcapsulas

Agitador magnético Magnestir 1250
Anillos de fierro numero 6
Balanza analítica Mettler H35AR capacidad de 160 g
Balanza granataria para 2 Kg Ohaus
Barra magnética de 1 pulgada
Celdas de cuarzo para espectrofotómetro
Charolas de acero inoxidable
Embudos de vidrio para filtración rápida de 9 cm de diametro
Equipo de liberación controlada NF XIV
Espátula de acero inoxidable de 10 cm
Matraces volumétricos de 10, 25, 100, 200 y 1000 ml
Papel filtro de poro fino
Parrilla de calentamiento Mettler
Pipetas volumétricas de 1 ml
Piseta de polietileno A/D de 500 ml
Portatermómetro
Potenciómetro Beckman 25
Probeta de 100 ml de vidrio
Soportes universales
Termómetro de -10° a 150°C
Vasos de precipitados de 50, 100, 150, 250 y 500 ml

F. Metodo de fabricación de Microcápsulas de Cafeína de Liberación Controlada

1. SOLUCION DE IMPREGNACION

Solución al 20% P/V de Polivinilpirrolidona. Pesar 200g de Polivinilpirrolidona y disolverlos en Etanol, aforar a 1 litro

con el mismo disolvente.

2. PROCEDIMIENTO DE IMPREGNACION

Pesar 240g de Cafeina y 24g de Talco, previamente tamizados por malla 120, colocarlos en un mezclador de corazas gemelas para 1 Kg, mezclar durante 5 minutos a 40 rpm.

Pesar aproximadamente 136g de microesferas inertes y colocarlas en un bombo grageador a 45 rpm, con un ángulo de inclinación de 45°.

Adicionar, mediante chorro fino, la solución de impregnación hasta humedecer las microesferas; espolvorear con una espátula la mezcla de cafeína-Talco, hasta saturar el líquido de impregnación, mover manualmente las microesferas, hasta que éstas, giren libremente en el bombo, dejar secar durante 10 minutos al medio ambiente sin dejar de girar el bombo. Repetir el procedimiento hasta agotar la mezcla de polvos.

3. SECADO DE LAS MICROESFERAS IMPREGNADAS

El lote de microesferas impregnadas se colocan en una charola de acero inoxidable de 30 por 40 cm y se introducen en el horno de secado a 45 C por dos horas.

4. PREPARACION DE LA SOLUCION DE RECUBRIMIENTO

La solución de recubrimiento de eudragit L, se prepara disolviendo la laca seca en el disolvente (isopropanol, acetona),

agregar 1.25 % de ftalato de dibutilo como plastificante. Agitar a temperatura ambiente y aforar a la cantidad deseada. Se conserva en recipientes bien cerrados.

5. PROCEDIMIENTO DE RECUBRIMIENTO

Colocar las microesferas impregnadas en el bombo, girar éste y humedecerlas con la solución de recubrimiento, agregada con un vaso de precipitados en chorro fino, sobre la incidencia de la cascada, originada por las microesferas en movimiento (esto permite distribuir perfectamente la solución), con agitación manual rápida, entre cada aplicación, para que las microesferas pierdan adhesividad y rueden libremente dentro del bombo.

El procedimiento anterior, se repite hasta que las microcápsulas hayan alcanzado un 5% de aumento en peso de laca seca.

Después de lo cual, se realiza el método de liberación para de esta manera determinar el número de capas necesarias para lograr la liberación deseada.

G. Método de valoración del contenido de cafeína en microcápsulas

1. FORMULA

Cada 100g de microcápsulas contiene:

Cafeína.....	30 g
Excipiente cbp.....	100 g

2. PREPARACION DE LA MUESTRA

Pulverizar 5 gramos de microcápsulas y pesar con exactitud una cantidad de polvo equivalente a 100 mg de cafeína. Disolver en 70 ml de una solución 0.1 N de ácido clorhídrico contenidos en un matraz erlenmeyer de 125 ml. Calentar a 85°C y agitar durante 40 minutos. Se deja enfriar.

Vertir a un matraz volumetrico de 100 ml, llevar a volumen con solución 0.1 N de ácido clorhídrico, filtrar, desechando los primeros 20 ml.

Transferir 1 ml del filtrado a un matraz volumétrico de 100 ml, llevar al aforo con solución 0.1 N de ácido clorhídrico. La concentración final es de 10 µg/ml.

3. SOLUCION DE REFERENCIA

Preparar una solución de cafeína a una concentración de 10 µg/ml utilizando solución 0.1 N de ácido clorhídrico como disolvente.

Determinar las absorbancias de ambas soluciones en el espectrofotómetro, a una longitud de onda de 272 nm, usando como blanco solución 0.1 N de ácido clorhídrico.

H. Método de valoración de la cantidad de cafeína liberada por las microcápsulas

1. APARATO

Consta de un baño de agua formado por dos caras de vidrio

transparente de 48 cm de largo, 30 cm de alto y 2 mm de espesor; dos caras de madera de 28 cm de largo, 30 cm de alto y 1.3 cm de espesor; con un fondo de madera de 48 cm de largo, 28 cm de ancho y 1.3 cm de espesor. Un termoregulador y un calefactor, que permite mantener la temperatura del baño a 37°C a lo largo de la prueba de disolución.

Tiene un eje longitudinal de acero inoxidable con 24 soportes del mismo material, donde se colocan los tubos donde se lleva acabo la prueba. La distancia entre el eje longitudinal y los tubos es de 35 mm y esta acoplado a un motor eléctrico que le proporciona la velocidad de rotación (4).

2. TUBOS DE LIBERACION

Se emplearon tubos cilíndricos de cristal de tres diferentes capacidades:

-Capacidad de 30 ml, diámetro externo de 2.5 cm, diámetro interno de 2.2 cm, longitud de 9.3 cm, grosor de 0.3 cm, para ser utilizado con 20 ml de medio de disolución.

-Capacidad de 90 ml, diámetro externo de 3.44 cm, diámetro interno de 3 cm, longitud de 12.8 cm, grosor de 0.4 cm, para ser utilizado con 60 ml de medio de disolución.

-Capacidad de 150 ml, diámetro externo de 4.1 cm, diámetro interno de 3.7 cm, longitud 17.5 cm, grosor de 0.4 cm, para ser utilizado con 100 ml de medio de disolución.

Todos los tubos cuentan con un tapón de hule que entra a presión y para seguridad se sujeta además con una liga de hule a

un anillo de material acrílico que se encuentra en el exterior y recarga en el labio exterior del tubo, ver figura 7.

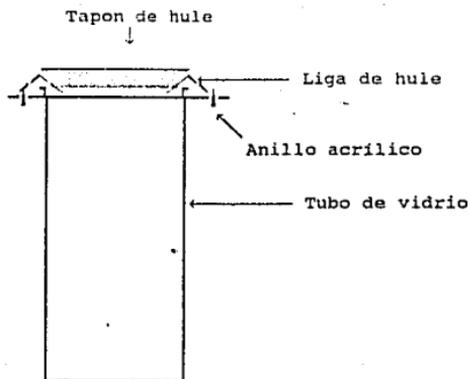


Figura 7. Esquema de un tubo de liberación

3. PREPARACION DE SOLUCIONES

a. Jugo gástrico simulado sin enzimas

Disolver 2 g de Cloruro de sodio en 200 ml de agua destilada, agregar 7 ml de Acido clorhídrico concentrado, diluir con agua destilada hasta aproximadamente 900 ml.

Ajustar el pH de la solución anterior a 1.2 con una solución 0.1 N de Acido clorhídrico. Llevar a volumen de 1000 ml con agua destilada.

b. Jugo intestinal simulado sin enzimas

Disolver 6.8 g de Fosfato de potasio monobásico en 500 ml de agua destilada, agregar 190 ml de una solución 0.2 N de Hidróxido de sodio, diluir con agua destilada hasta aproximadamente 900 ml, ajustar el pH a 7.5 con una solución 0.2 N de Hidróxido de sodio y llevar a 1000 ml con agua destilada.

c. Soluciones de extracción

Las soluciones de extracción se preparan mediante la mezcla de los jugos anteriormente citados de acuerdo a las proporciones representadas en la tabla I.

pH	J. gástrico (ml)	J. intestinal (ml)
0.7-1.2-1.7	100.0	00.0
2.0-2.5-3.0	46.0	54.0
4.0-4.5-5.0	39.0	61.0
6.5-7.0-7.5	17.5	82.5

TABLA I. Proporciones indicadas de jugo gástrico e intestinal.

Ajustar estas soluciones al pH deseado, empleando solución 0.1 N de ácido clorhídrico ó solución 0.2 N de Hidróxido de sodio.

4. PROCEDIMIENTO

Colocar 2 g de microesferas en un tubo de liberación, agregar

la cantidad de solución de extracción (20, 60 o 100 ml) y la cantidad de electrolitos (0.0%, 0.5% o 1.0%) de acuerdo a las condiciones a que va a ser sometida la muestra.

Cerrar el tubo y colocarlo en el soporte del aparato de liberación, de ser necesario asegurar mediante una liga de hule al propio soporte. Dejar rotar a la velocidad seleccionada (30, 40 o 50 rpm) por el espacio de tiempo adecuado.

Las microesferas deberán estar sujetas a movimiento continuo durante ciertos periodos de tiempo en los jugos arriba indicados. La secuencia y duración de los periodos de rotación en los distintos jugos digestivos se indica en la tabla II.

pH	Tiempo (hrs)
0.7-1.2-1.7	1.0
2.0-2.5-3.0	1.0
4.0-4.5-5.0	1.5
6.5-7.0-7.5	1.5

TABLA II. Periodos de tiempo indicados para cada pH.

Al finalizar cada periodo de rotación, extraer el tubo del aparato de liberación, separar cuantitativamente la solución por filtración, a través de un embudo de vidrio que tiene adaptado un tamiz de malla número 40 cuya función es retener las microesferas que aún no se han desintegrado (deben pasar a través del tamiz todas las partículas en suspensión). Lavar las microesferas con

tres porciones de 5 ml de agua destilada y reunir los líquidos de lavado para analizar el contenido de fármaco liberado. Colocar las microesferas lavadas, cuantitativamente en otro tubo de liberación, agregar la siguiente solución de extracción, junto con la cantidad de electrolitos correspondiente y regresar al aparato de liberación donde permanecerá por el siguiente período de tiempo. Las soluciones separadas, que contienen al fármaco liberado se valoran de la siguiente manera:

Diluir la solución muestra con solución 0.1 N de ácido clorhídrico hasta obtener una concentración de aproximadamente 10 $\mu\text{g/ml}$. Determinar la absorbancia de ésta solución y la de una solución de referencia en un espectrofotómetro, a una longitud de onda de 272 nm, empleando como blanco solución 0.1 N de ácido clorhídrico.

VI. RESULTADOS

Durante el proceso de fabricación la distribución del tamaño de partícula de las microcápsulas de liberación controlada fue la indicada en la tabla III.

Número de malla	% Retenido
18	2.0
20	8.5
24	69.0
> 24	20.5

TABLA III. Porcentaje retenido de acuerdo al número de malla.

Para poder determinar la concentración de cafeína presente en las microesferas de liberación controlada, se realizó una valoración del principio activo, obteniéndose los resultados indicados en la tabla IV.

Muestra	Peso en mg	Absorbancia	mg/g Cafeína
Estandar	100.00	0.505	
1	330.00	0.509	305.43
2	330.00	0.498	298.82

TABLA IV. Contenido de cafeína por gramo. de microcápsulas

Mediante la siguiente fórmula se calculo la cantidad de cafeína en mg/g:

$$\text{mg/g de Cafeína} = \frac{(\text{Abs Mtra}) (\text{P stand}) (\text{Pot stand})}{(\text{Abs stand}) (\text{P Mtra})} \times 0.01$$

Donde:

Abs Mtra = Absorbancia de la Muestra

Abs stand = Absorbancia del estándar

P Mtra = Peso en mg de la muestra

P stand = Peso en mg del estándar

Pot stand = Potencia del estándar en por ciento

0.01 = Factor de dilución

Sustituyendose con los datos de la tabla y tomando la media de las dos muestras se obtiene que cada gramo de microcápsulas de cafeína contiene 302.12 mg.

La evaluación inicial de las microcápsulas, consistió en un ajuste del número de capas del material de recubrimiento, para obtener un perfil de liberación que tuviera una cinética de liberación de orden cero, lo cual se llevó a cabo evaluando el perfil de liberación después de la aplicación de cierto número de capas, como se ilustra en las gráficas I y II que se encuentran mas adelante, las cuales muestran que con 60 capas de material de recubrimiento se obtuvo un perfil de orden cero.

Parte de las actividades experimentales, fue el cálculo de el coeficiente de variación (CV) que presenta el método de valoración de la cantidad de cafeína liberada por las microcápsulas, para conocer la variabilidad del mismo.

La realización consistió en efectuar el método de liberación siete veces, en días y horas diferentes de modo que éste fuera afectado por el mayor número de variables aleatorias y así al obtener los resultados experimentales, que se encuentran en la

matriz de tratamientos, poder diferenciar los que tienen efecto y los que son causa de la variación del método.

El cálculo del coeficiente de variación (13) se llevó a cabo con los resultados mostrados en la tabla V.

Numero de muestra	% Eficiencia de disolución
1	61.3080
2	58.1707
3	58.3964
4	59.0599
5	62.0631
6	57.5350
7	57.4280

TABLA V. Resultados obtenidos de la realización de siete veces el método de liberación.

FORMULAS:

$$L = \bar{X} \pm \frac{S}{\sqrt{n}} (t_{0.05, n-1})$$

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} \cdot 100$$

$$n = 7$$

$$t_{0.05, 6} = 3.7074$$

$$\bar{X} = 59.137$$

$$S = 1.8371$$

$$\text{Límite superior (L)} = 61.7115$$

$$\text{Límite inferior (L)} = 56.5631$$

$$\text{Coeficiente de Variación} = 3.11\%$$

En la siguiente fase de la parte experimental se evaluó el efecto de las variables: pH, Velocidad de agitación, Volumen de

medio de disolución, Fuerza iónica y sus interacciones, utilizando un modelo factorial 3^4 donde la variable de respuesta fue el porcentaje de eficiencia de disolución y la matriz de tratamientos mostrada en la tabla VI.

Fuerza iónica		pH									
		Bajo (-0.5)			Normal			Alto (+0.5)			
		0.0%	0.5%	1.0%	0.0%	0.5%	1.0%	0.0%	0.5%	1.0%	
V E L O C I D A D E D I O A G I T A C I O N	B a j o	20 ml	57.20	54.72	56.15	51.24	48.43	46.02	48.13	47.17	47.62
		60 ml	56.95	54.38	55.38	51.06	48.54	44.11	47.96	49.84	48.81
	30 ml	60 ml	65.13	55.98	55.09	59.46	51.50	50.03	61.27	50.91	52.59
		100 ml	64.41	54.18	54.06	57.66	50.32	51.20	61.26	54.48	55.66
	r p m	100 ml	65.99	66.35	64.57	62.48	56.25	55.32	60.76	55.59	56.08
		60 ml	64.70	66.09	65.12	62.58	53.36	56.73	62.11	56.33	56.35
D E D I O A G I T A C I O N	M e d i o	20 ml	41.35	48.40	46.94	49.72	48.17	46.95	32.90	50.05	42.32
		60 ml	40.40	48.54	46.63	45.66	47.19	46.43	33.07	51.40	43.01
	40 ml	60 ml	62.22	56.38	60.45	57.54	62.43	60.08	57.82	62.25	62.99
		100 ml	62.22	60.13	60.26	57.43	61.54	59.04	56.46	59.95	60.50
	r p m	100 ml	60.42	57.11	56.23	58.62	64.33	56.57	38.08	58.06	58.09
		60 ml	62.96	58.06	56.47	57.71	62.46	55.57	34.93	57.97	58.10
A l t o	20 ml	60 ml	60.91	52.06	54.35	49.53	51.23	50.29	47.76	53.12	64.24
		100 ml	63.24	53.21	52.13	45.12	52.31	55.54	45.45	52.59	51.87
	60 ml	60 ml	64.13	62.43	61.13	57.33	54.82	53.62	58.79	57.01	57.32
		100 ml	63.39	61.88	63.99	59.54	55.95	53.13	60.01	58.05	56.57
	r p m	100 ml	61.68	59.39	62.92	62.17	65.27	61.64	56.77	67.47	63.35
		60 ml	61.97	59.46	63.97	62.31	61.81	62.83	57.79	67.51	65.90

Volumen de medio

TABLA VI. Matriz de tratamientos.

Las gráficas % ED vs t, del No.I a III representan el

cinturon de confianza con las cuales se determino el coeficiente de variación, y del 1 a 81 representan el perfil de liberación de cada uno de los tratamientos realizados indicados en la tabla No. VII y donde:

V = Volumen de medio de disolución (ml)

Ve = Velocidad de agitación (rpm)

FI = Fuerza iónica (%)

pH B = Nivel bajo de la variable pH

pH N = Nivel normal de la variable pH

pH A = Nivel alto de la variable pH

NO. DE GRAFICA	EFECTO QUE REPRESENTA
32	No existe efecto
31, 33.	V
41, 50	FI
5, 59	pH
35, 29	Ve
40, 42, 49, 51	V - FI
2, 8, 56, 62	Ve - pH
28, 30, 34, 36	V - Ve
4, 6, 58, 60	V - pH
14, 23, 68, 77	FI - pH
38, 47, 44, 53	FI - Ve
37, 39, 43, 45, 46, 48, 52, 54	V - Ve - FI
11, 17, 20, 26, 65, 71, 74, 80	pH - Ve - FI
13, 15, 22, 24, 67, 69, 76, 78	pH - V - FI
1, 3, 7, 9, 55, 57, 61, 63	pH - V - Ve
10, 12, 16, 18, 19, 21, 25, 27 64, 66, 70, 72, 73, 75, 79, 81	pH - V - Ve - FI

TABLA VII. Relación del tipo de efecto con respecto al número de gráfica

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

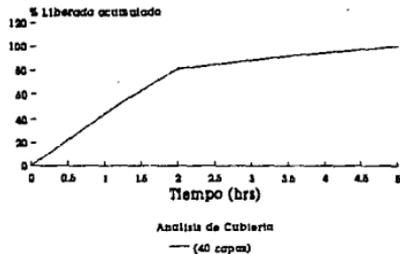


Gráfico I

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

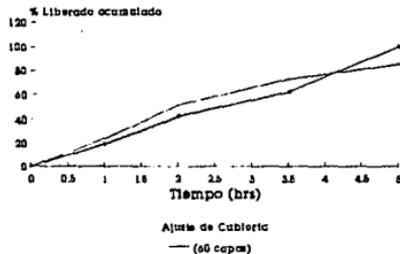


Gráfico II

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

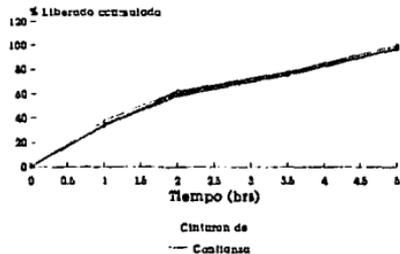


Gráfico III

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

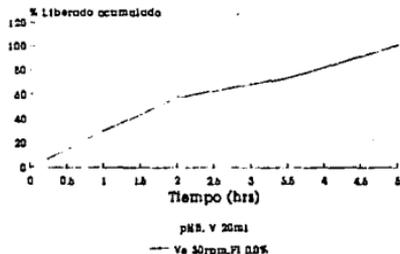


Gráfico IV

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

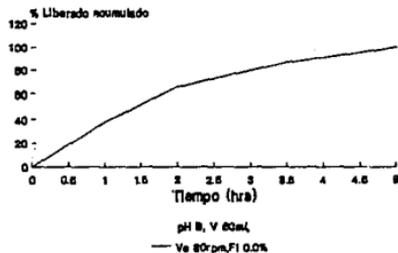


Gráfico No. 2

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

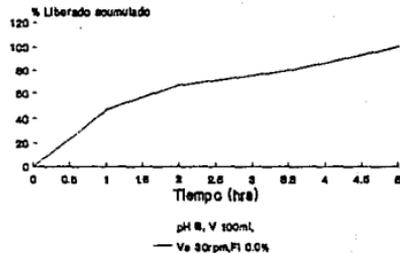


Gráfico No. 3

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

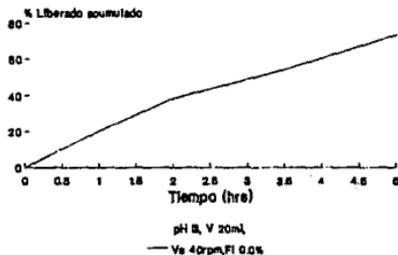


Gráfico No. 4

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

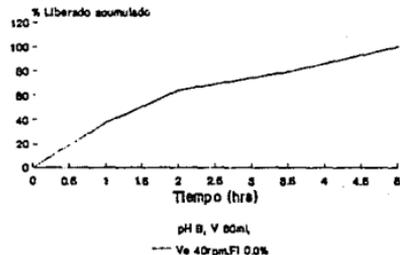


Gráfico No. 5

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

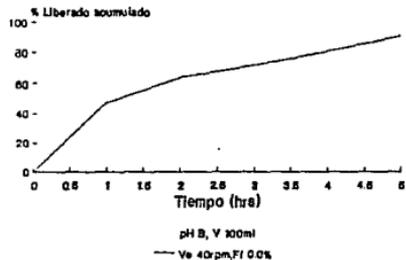


Gráfico No. 6

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

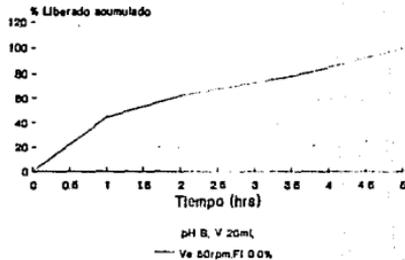


Gráfico No. 7

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

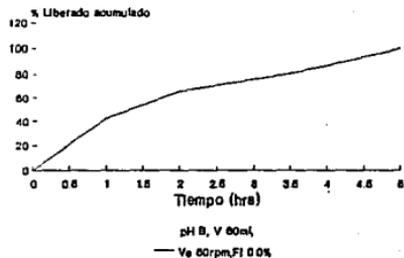


Gráfico No. 8

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

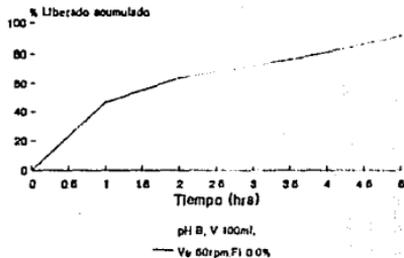


Gráfico No. 9

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

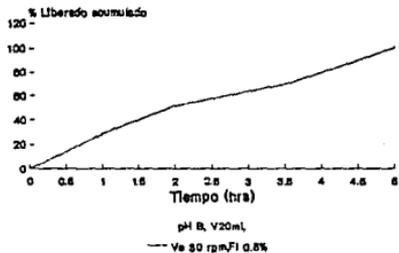


Gráfico No. 10

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

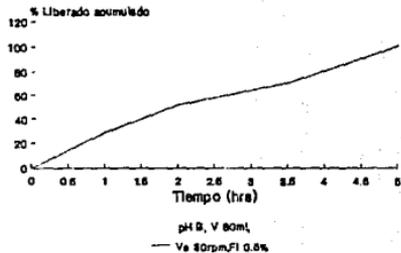


Gráfico No. 11

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

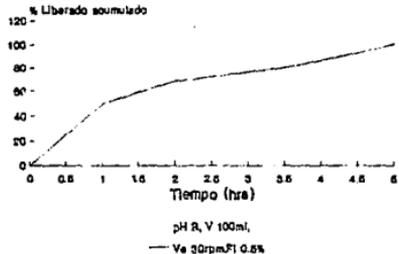


Gráfico No. 12

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

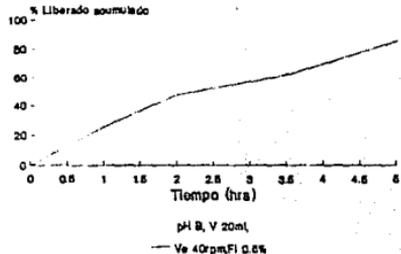


Gráfico No. 13

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

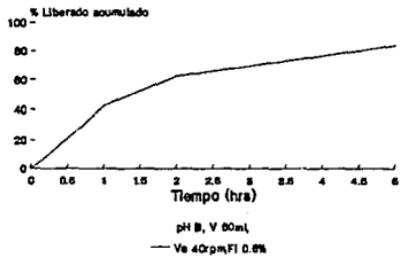


Gráfico No. 14

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

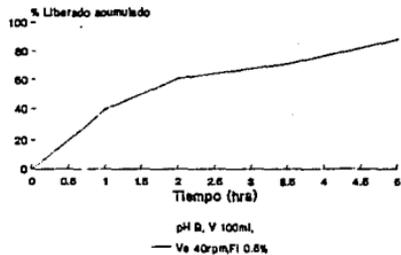


Gráfico No. 15

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

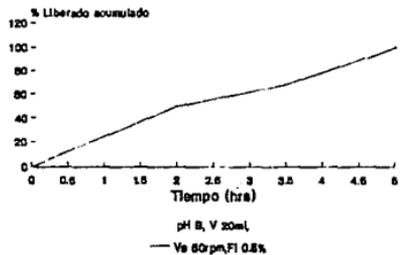


Gráfico No. 16

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

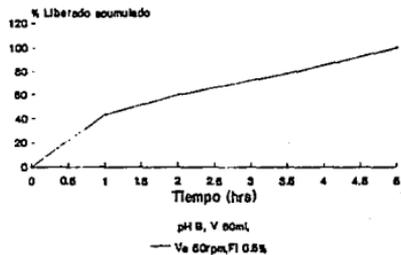
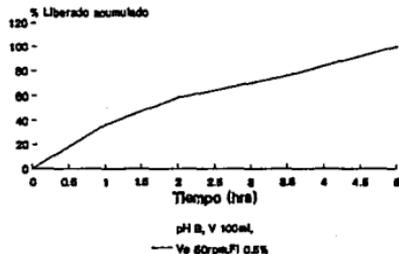


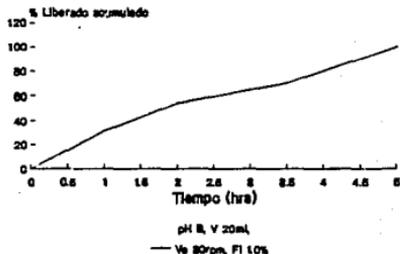
Gráfico No. 17

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA



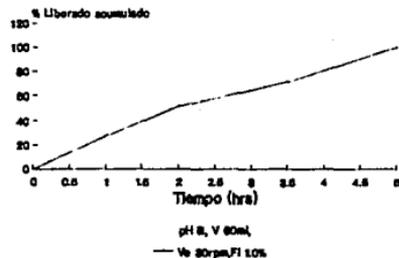
Graña No. 18

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA



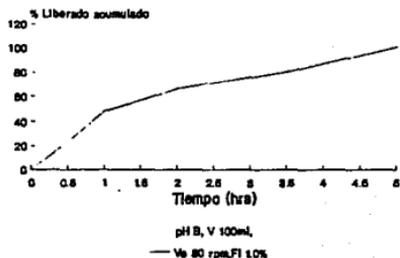
Graña No. 19

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA



Graña No. 20

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA



Graña No. 21

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

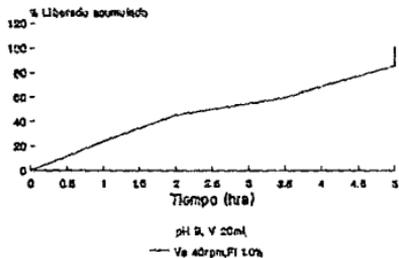


Gráfico No. 22

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

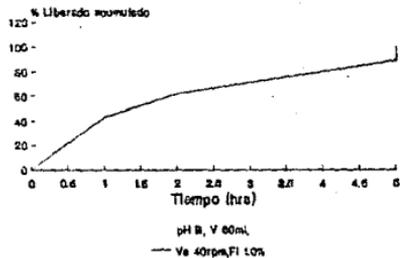


Gráfico No. 23

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

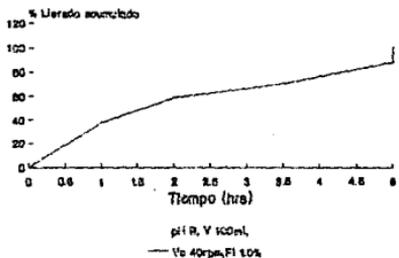


Gráfico No. 24

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

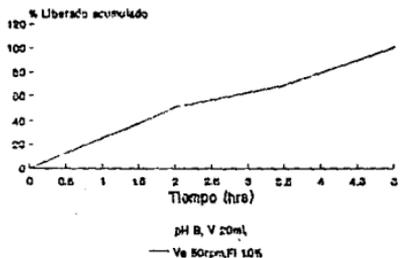


Gráfico No. 25

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

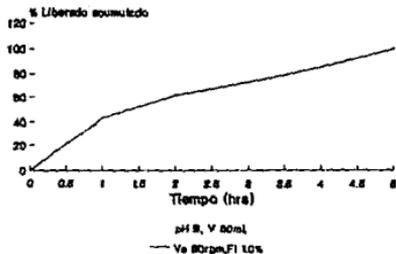


Gráfico No. 26

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

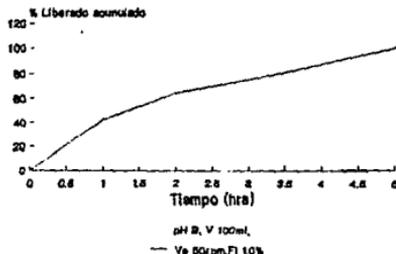


Gráfico No.27

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

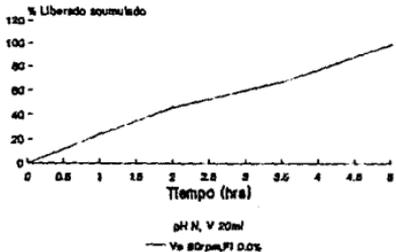


Gráfico No. 28

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

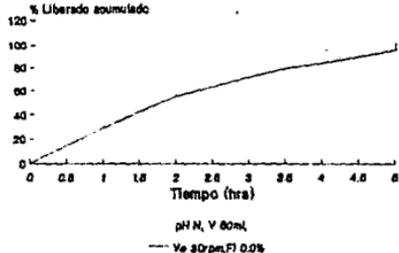


Gráfico No. 29

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

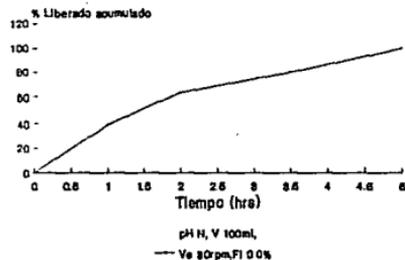


Gráfico No. 30

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

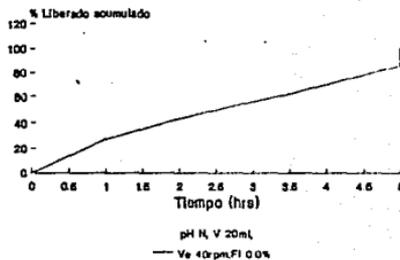


Gráfico No. 31

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

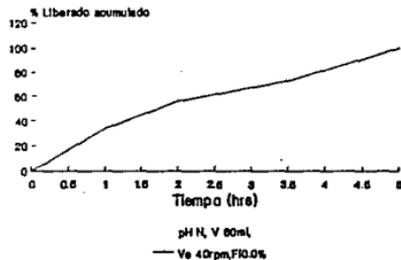


Gráfico No. 32

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

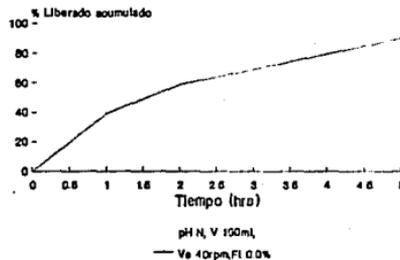


Gráfico No. 33

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

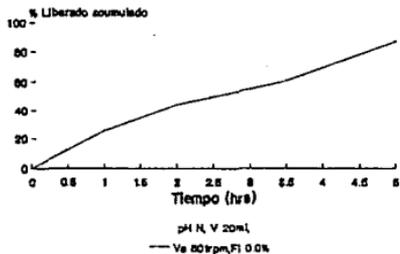


Gráfico No. 34

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

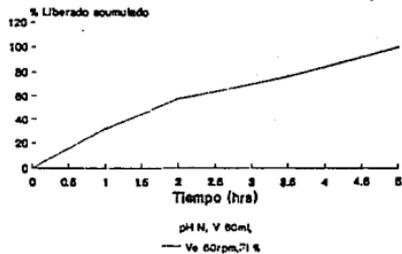


Gráfico No. 35

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

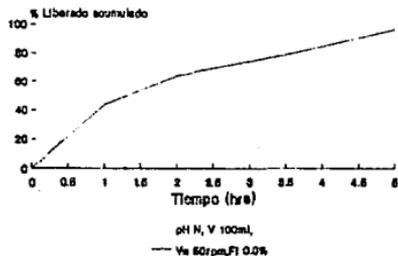


Gráfico No. 36

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

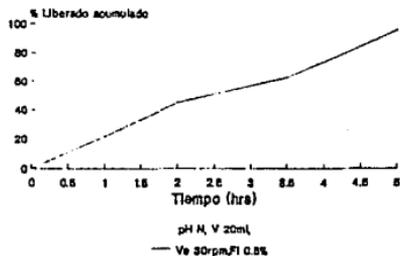


Gráfico No. 37

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

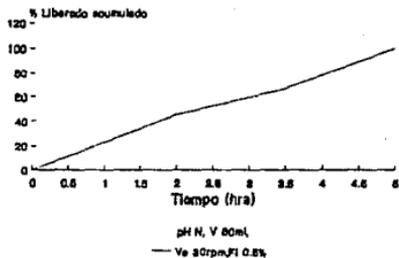


Gráfico No. 28

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

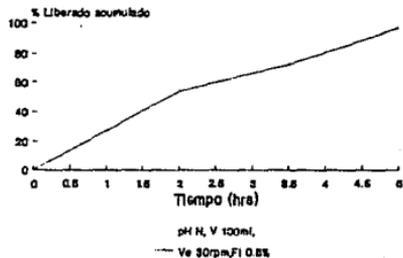


Gráfico No. 29

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

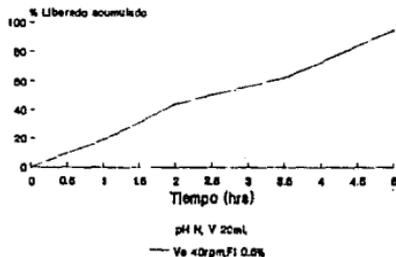


Gráfico No. 40

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

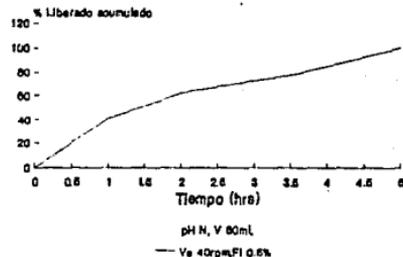
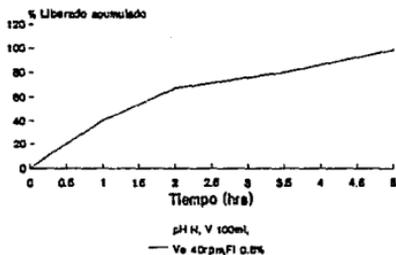


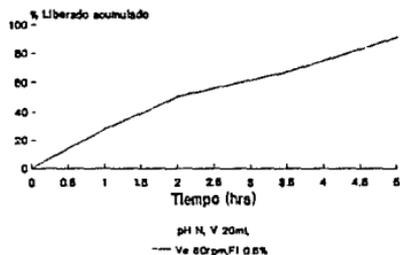
Gráfico No. 41

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA



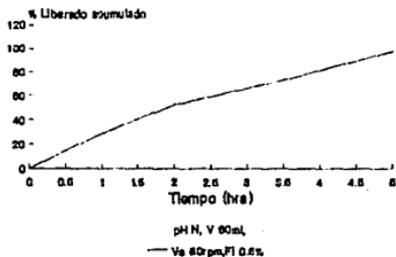
Orsifon No. 42

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA



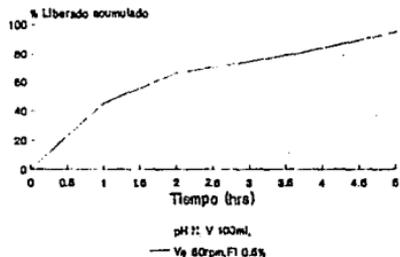
Orsifon No. 43

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA



Orsifon No. 44

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA



Orsifon No. 46

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

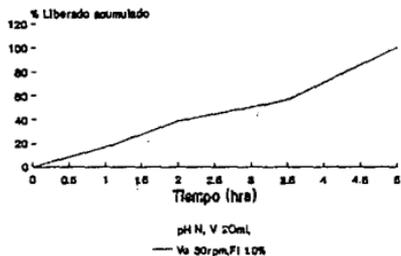


Gráfico No. 46

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

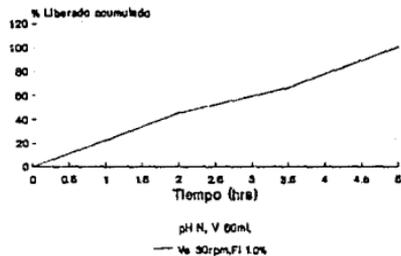


Gráfico No. 47

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

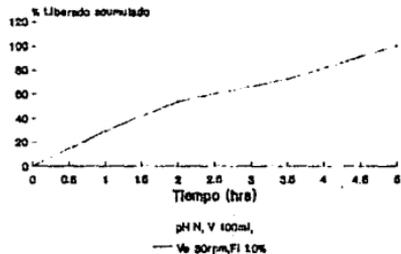


Gráfico No. 48

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

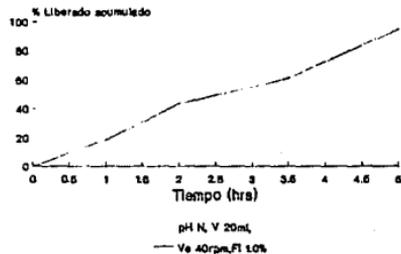


Gráfico No. 49

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

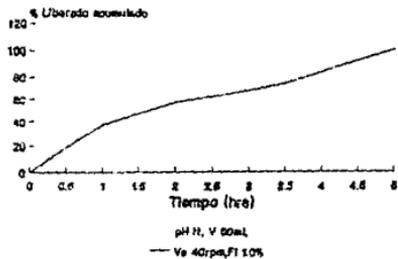


Gráfico No. 80

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

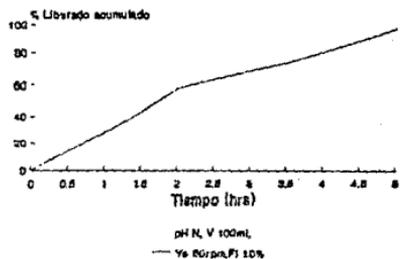


Gráfico No. 81

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

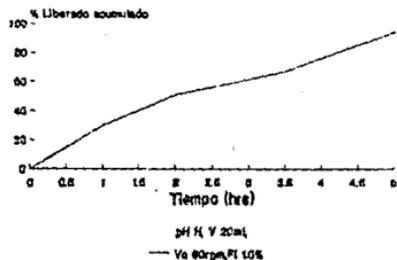


Gráfico No. 82

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

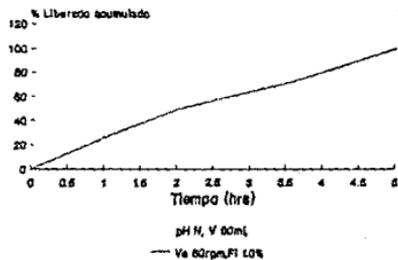


Gráfico No. 83

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

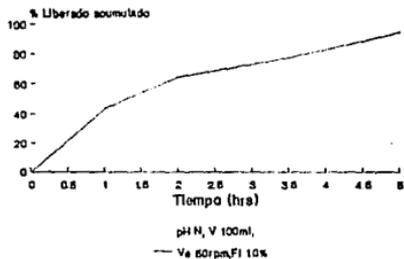


Gráfico No. 54

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

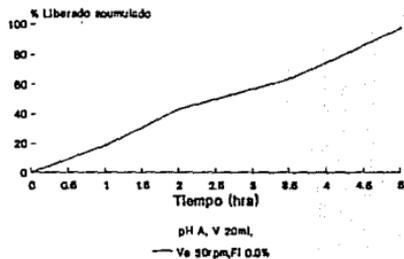


Gráfico No. 55

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

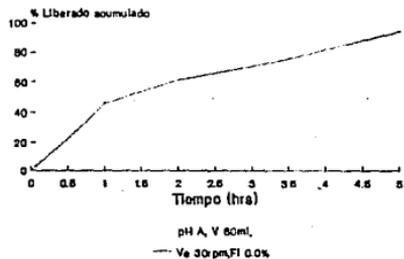


Gráfico No. 56

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

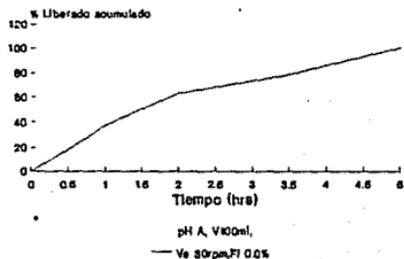


Gráfico No. 57

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

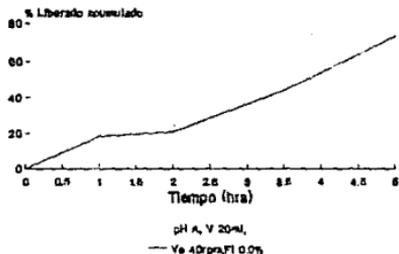


Gráfico No. 68

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

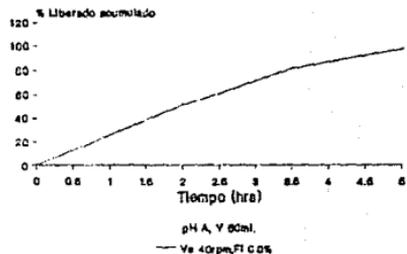


Gráfico No. 69

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

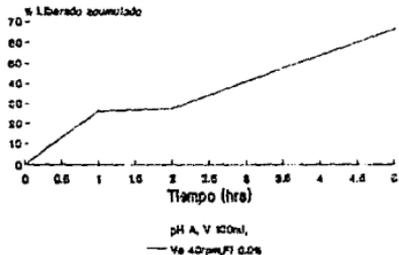


Gráfico No. 67

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

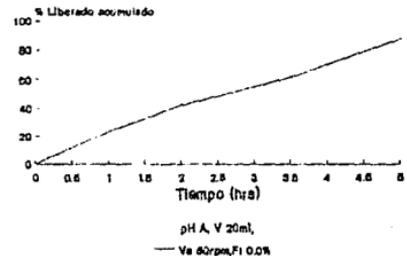


Gráfico No. 61

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

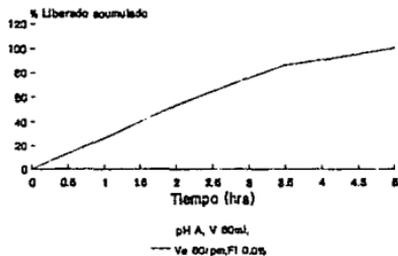


Gráfico No. 82

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

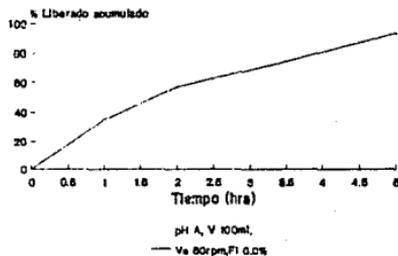


Gráfico No. 83

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

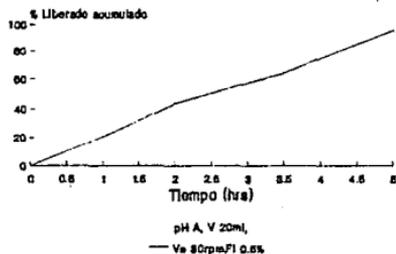


Gráfico No. 84

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

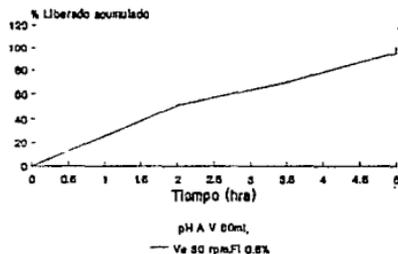


Gráfico No. 85

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

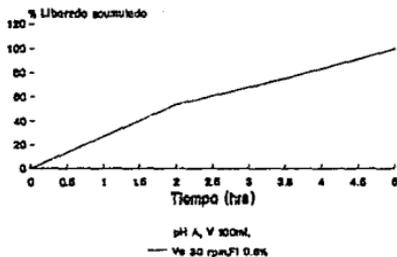


Gráfico No. 66

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

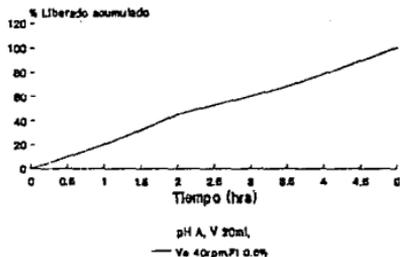


Gráfico No. 67

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

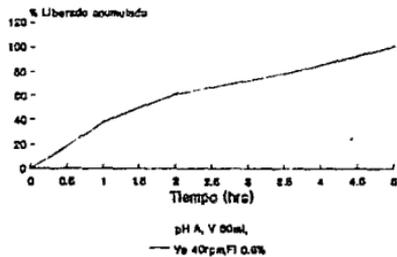


Gráfico No. 68

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

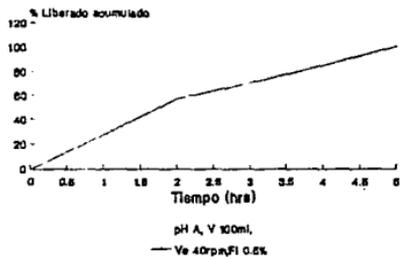


Gráfico No. 69

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

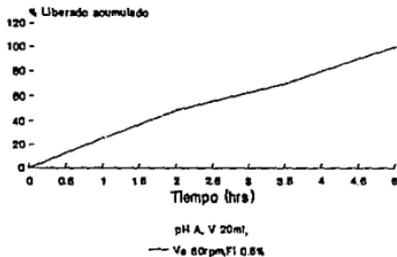


Gráfico No. 70

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

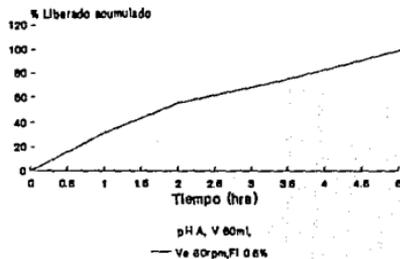


Gráfico No. 71

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

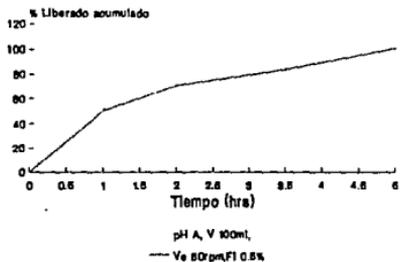


Gráfico No. 72

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

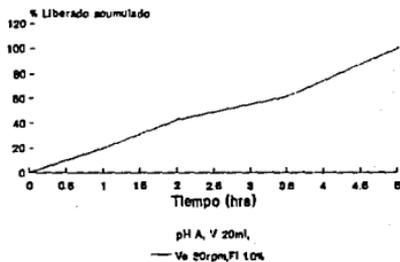


Gráfico No. 73

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

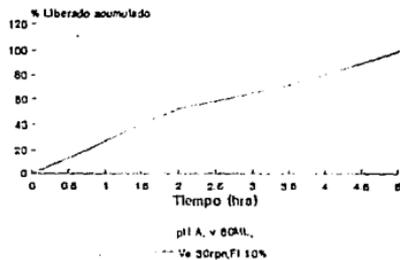


Gráfico No. 74

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

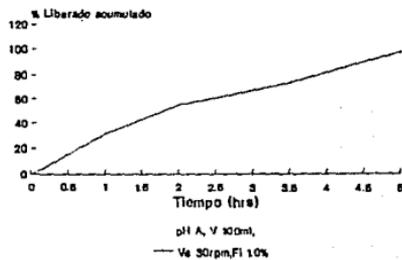


Gráfico No. 75

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

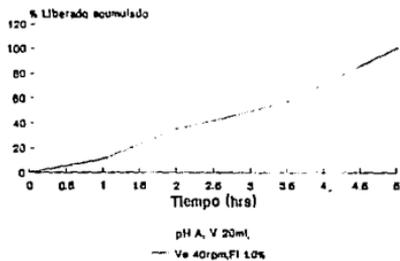


Gráfico No. 76

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

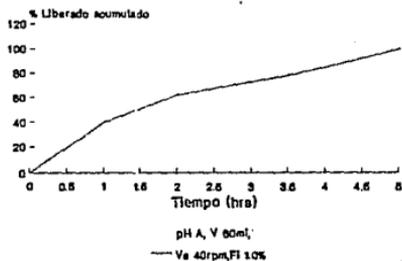


Gráfico No. 77

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

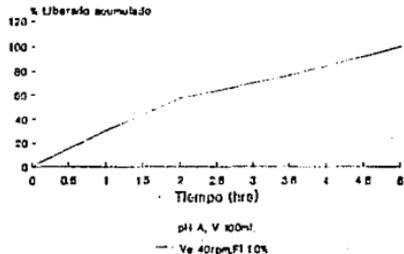


Gráfico No. 78

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

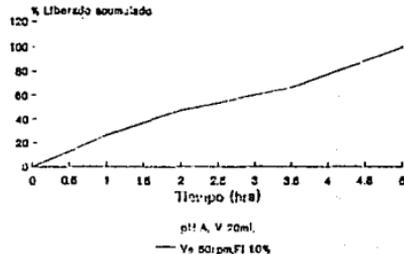


Gráfico No. 79

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

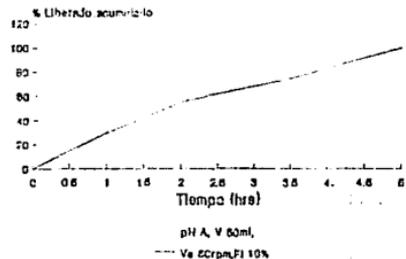


Gráfico No. 80

PERFIL DE LIBERACION DE CAFEINA

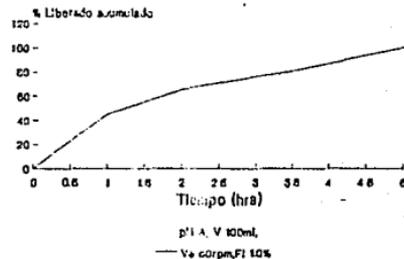


Gráfico No. 81

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA 3 cont.					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	Ftab
A D	1	29.437	29.437	11.788	3.973
A B	1	64.180	64.180	25.702	3.973
A B	1	0.014	0.014	0.006	3.973
A C	1	6.287	6.287	2.518	3.973
A C	1	269.770	269.770	108.035	3.973
A D	1	15.339	15.339	6.143	3.073
A D	1	54.193	54.193	21.703	3.973
B C	1	160.247	160.247	64.174	3.973
B C	1	192.293	192.293	77.008	3.973
B D	1	21.360	21.360	8.554	3.973
B D	1	128.608	128.608	51.503	3.973
B C	1	31.013	31.013	12.420	3.973
B C	1	207.082	207.082	82.930	3.973
B D	1	0.003	0.003	0.001	3.973
B D	1	71.938	71.938	28.809	3.973
C D	1	0.107	0.107	0.043	3.973
C D	1	2.691	2.691	1.078	3.973
C D	1	18.898	18.898	7.568	3.973
C D	1	614.561	614.561	246.113	3.973
A B C	1	53.943	53.943	21.603	3.973
A B C	1	4.314	4.314	1.728	3.973
A B C	1	36.211	36.211	14.502	3.973
A B C	1	70.226	70.226	28.123	3.973

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA 3 cont.						
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	Ftab	
A B C	1	3.047	3.047	1.220	3.973	
A B C	1	50.599	50.599	20.263	3.973	
A B C	1	24.056	24.056	9.634	3.973	
A B C	1	5.039	5.039	2.018	3.973	
A B D	1	0.297	0.297	0.119	3.973	
A B D	1	8.141	8.141	3.260	3.973	
A B D	1	0.288	0.288	0.115	3.973	
A B D	1	36.886	36.886	14.771	3.973	
A B D	1	15.736	15.736	6.302	3.973	
A B D	1	22.074	22.074	8.840	3.973	
A B D	1	26.976	26.976	10.803	3.973	
A B D	1	0.095	0.095	0.038	3.973	
A C D	1	18.277	18.277	7.319	3.973	
A C D	1	15.275	15.275	6.116	3.973	
A C D	1	0.583	0.583	0.234	3.973	
A C D	1	86.154	86.154	34.502	3.973	
A C D	1	14.579	14.579	5.838	3.973	
A C D	1	26.374	26.374	10.562	3.973	
A C D	1	15.786	15.786	6.322	3.973	
A C D	1	1.444	1.444	0.578	3.973	
B C D	1	2.305	2.305	0.932	3.973	
B C D	1	16.860	16.860	6.752	3.973	
B C D	1	0.230	0.230	0.092	3.973	

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA 3 cont.					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	Ftab
B C D	1	0.026	0.026	0.010	3.973
B C D	1	14.469	14.469	5.794	3.973
B C D	1	6.250	6.250	2.503	3.973
B C D	1	7.601	7.601	3.004	3.973
B C D	1	2.126	2.126	0.852	3.973
A B C D	1	7.736	7.736	3.098	3.973
A B C D	1	18.008	18.008	7.212	3.973
A B C D	1	19.032	19.032	7.622	3.973
A B C D	1	190.362	190.362	76.234	3.973
A B C D	1	61.299	61.299	24.549	3.973
A B C D	1	1.387	1.387	0.555	3.973
A B C D	1	21.765	21.765	8.716	3.973
A B C D	1	3.392	3.392	1.359	3.973
A B C D	1	62.059	62.059	24.853	3.973
A B C D	1	18.020	18.020	7.216	3.973
A B C D	1	0.078	0.078	0.031	3.973
A B C D	1	1.036	1.036	0.415	3.973
A B C D	1	12.692	12.692	5.083	3.973
A B C D	1	13.791	13.791	5.523	3.973
A B C D	1	5.636	5.636	2.257	3.973
A B C D	1	3.945	3.945	1.580	3.973
E R R O R	81	202.262	2.497	----	----

VII. DISCUSION DE RESULTADOS

De los resultados obtenidos, el efecto del volumen de medio de disolución puede apreciarse en las gráficas % liberado acumulado vs tiempo, número 31 y 33. En la primera de ellas, existe un porcentaje de eficiencia de disolución (%ED) de 47.65 y el perfil en general se observa por debajo del perfil a condiciones normales (NF XIV) de la gráfica 32 con una diferencia del 10%, además al ser el volumen pequeño, no alcanza a solubilizarse el 100% de la cafeína presente en las microcápsulas.

Por otro lado en la gráfica 33 puede observarse un comportamiento similar al del experimento a condiciones normales aunque durante las primeras horas, los valores de porcentaje liberado acumulado son mas altos.

El efecto del factor pH sobre la variable de respuesta se aprecia en las gráficas 5, 32 y 59, cuyos valores de %ED son: 62.22, 57.48 y 57.14% respectivamente, puede observarse que hay un aumento en los valores de %ED al disminuir el pH, esto puede ser debido a que la cafeína es más soluble a pH ácido, y durante la primera hora se detecta una cantidad superior de activo liberado, el cual modifica el perfil de liberación.

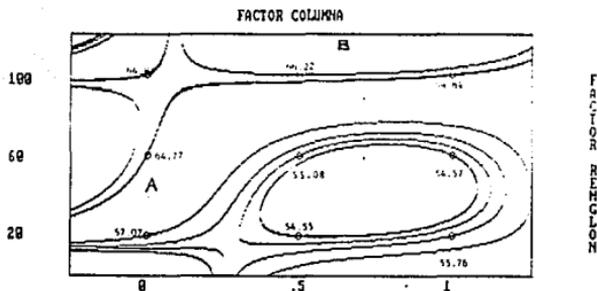
Por otra parte, cuando los valores de pH aumentan, el perfil tiene un %ED similar al de las condiciones normales, excepto durante las dos primeras horas ya que existe menor cantidad de cafeína liberada lo que confirma el carácter básico de la misma, y por efecto del pH neutro del medio de disolución presente en la

última porción del perfil, la película de recubrimiento se disuelve y libera a la cafeína

La influencia que la fuerza iónica ejerce sobre el perfil de liberación de microcápsulas, se observa en las gráficas 41 y 50; en la primera de ellas con un valor de $t_{ED} = 61.985$ muestra un perfil por arriba del normal, que puede ser resultado de una efecto favorable de la concentración de electrolitos. La gráfica 50 con un $t_{ED} = 59.56$ muestra un comportamiento semejante pero con una diferencia menor con respecto a las condiciones normales.

La velocidad de agitación tiene poco efecto sobre la variable de respuesta, esto pueda deberse principalmente por que a cualquier velocidad se observo turbulencia en los frascos del aparato de disolución, y aunque fue diferente en cada caso, no fue significativo como lo muestran las gráficas 29, 32 y 35 con t_{ED} de 58.48, 57.48 y 58.43 respectivamente.

Debido a la imposibilidad de representar gráficamente cuatro variables, los resultados obtenidos fueron evaluados mediante un análisis factorial 2^3 manteniendo fijas dos variables en cada caso y estudiando las restantes variables en sus tres niveles, obteniendose las tablas de análisis de varianza que se reportan en el apéndice 1, con las cuales se obtuvieron las siguientes gráficas de contorno:

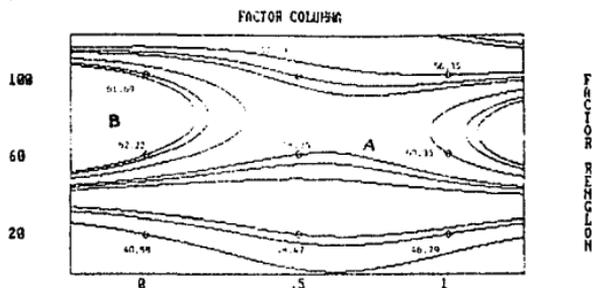


GRAFICA 82. Gráfica de contorno fuerza iónica vs volumen de medio a pH bajo y velocidad de agitación baja.

Para la interacción fuerza iónica-volumen de medio a pH bajo y velocidad de agitación baja, se observó que existe una eficiencia de disolución mayor a un volumen de 100 ml y una fuerza iónica de 0.5%. Y de acuerdo a la gráfica 82, se observa que a mayor volumen de disolución, el %ED es mayor, de manera independiente con respecto de la fuerza iónica. Siguiendo con la gráfica, el valor de %ED de las condiciones normales se localiza en la región A, los incrementos se registran hacia la zona de B.

La ecuación que describe el comportamiento de las variables en unidades codificadas es la siguiente:

$$Y = 59.75 - 1.92X_1 + 4.75X_2 + 0.33X_1X_2 + 1.7X_1^2 + 2.41X_2^2 - 1.62X_1^2X_2 + 4.77X_1X_2^2 - 4.34X_1^2X_2^2 .$$

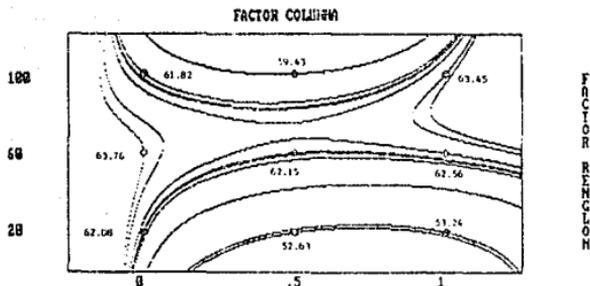


GRAFICA 83. Gráfica de contorno fuerza iónica vs
volumen de medio A pH bajo y velocidad
de agitación media.

Estudiando la interacción anterior pero a pH bajo y velocidad de agitación media, se observa que el valor máximo de ξ_{ED} se encuentra a volumen de 60 ml y una F.I. 0%. En la Gráfica 83, los valores de ξ_{ED} más grandes se localizan en la zona media de las curvas B y el valor que se aproxima a las condiciones normales está en la zona A.

La ecuación que describe este fenómeno en unidades codificadas es la siguiente:

$$Y = 54.73 - 0.22X_1 + 6.58X_2 - 2.81X_1X_2 - 0.056X_1^2 - 8.32X_2^2 + 3.04X_1^2X_2 + 1.07X_1X_2^2 - 4.64X_1^2X_2^2$$

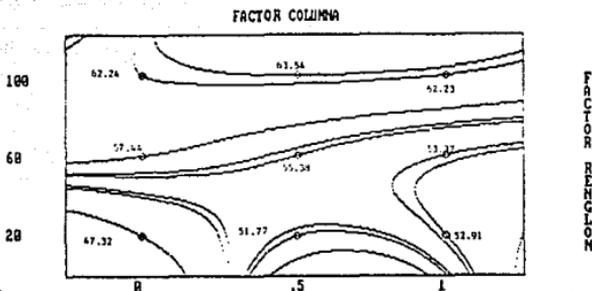


GRAFICA 84. Gráfica de contorno fuerza iónica
volumen de medio a pH bajo y velocidad
de agitación alta.

Acondiciones de pH bajo y velocidad de agitación alta, la interacción volumen de medio-fuerza iónica representada en la gráfica 84, muestra que el valor más grande de % de eficiencia de disolución se encuentra a un volumen de 60 ml y una fuerza iónica de 0%, notándose que a 60 ml y con cualquier valor de fuerza iónica el % de eficiencia de disolución se encuentra por arriba de los valores a condiciones normales.

La ecuación que describe este fenómeno en unidades codificadas es la siguiente:

$$Y = 60.12 - 1.4X_1 + 2.79X_2 + 2.61X_1X_2 + 3.08X_1^2 - 4.05X_2^2 - 0.91X_1^2X_2 - 1.2X_1X_2^2 + 3.11X_1^2X_2^2 .$$

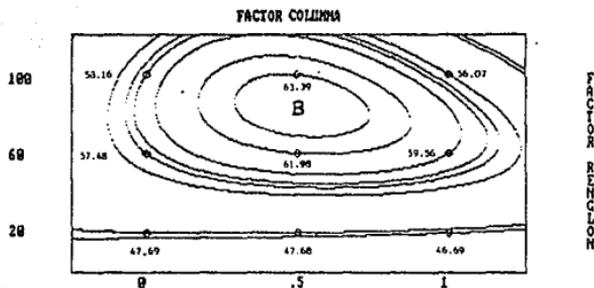


GRAFICA 85. Gráfica de contorno fuerza iónica vs volumen de medio a pH normal y velocidad de agitación baja.

Quando la fase experimental se realizó a condiciones fijas de pH normal y velocidad de agitación baja, la interacción volumen de medio-fuerza iónica, como lo muestra la gráfica 85, tiene un máximo de % ED a volumen = 100 ml, F I = 0.5% y el incremento en % ED es conforme aumenta el volumen de medio de disolución e independientemente de la cantidad de electrolitos presente.

La ecuación que describe este fenómeno en unidades codificadas es la siguiente:

$$Y = 53.13 - 3.42X_1 + 4.78X_2 - 0.10X_1X_2 + 2.59X_1^2 + 2.42X_2^2X_2$$

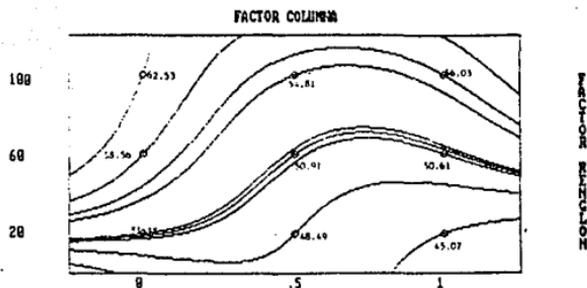


GRAFICA 86. Gráfica de contorno fuerza iónica vs volumen de medio a pH normal y velocidad de agitación media.

Bajo las condiciones experimentales fijas de pH normal-velocidad de agitación media, existe un % de eficiencia de disolución mayor a un volumen de 100 ml y un fuerza iónica de 0.5%, observando en la gráfica 86 una zona (B) de un % de eficiencia disolución mayor entre 60 y 100 ml con una fuerza iónica de 0.5% .

La ecuación que describe este fenómeno en unidades codificadas es la siguiente:

$$Y = 55.41 - 0.17X_1 + 5.93X_2 - 0.27X_1X_2 - 3.41X_1^2 - 6.39X_2^2 - 2.89X_1^2X_2 - 1.81X_1X_2^2 .$$

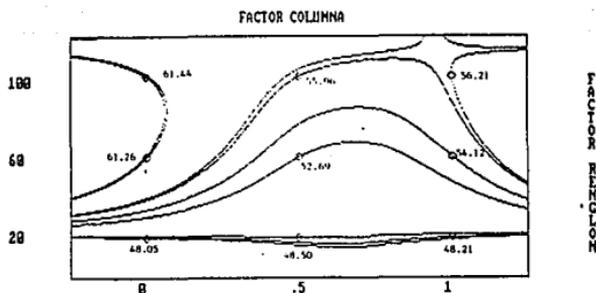


GRAFICA 87. Gráfica de contorno fuerza iónica vs volumen de medio a pH normal y velocidad de agitación alta.

Como se observa en la gráfica 87 a condiciones de pH normal y velocidad de agitación alta el % ED mayor está a un volumen de 100ml y fuerza iónica de 0%, observándose que el incremento de % de eficiencia de disolución es entre 60 y 100 ml a fuerza iónica de 0% .

La ecuación que describe este fenómeno es la siguiente:

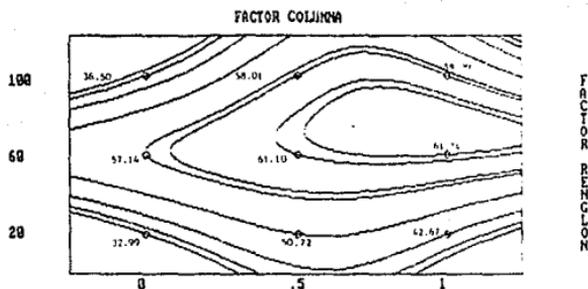
$$Y = 56.25 + 0.25X_1 + 6.0X_2 - 1.4X_1X_2 + 1.27X_2^2 + 3.43X_1X_2^2 .$$



GRAFICA 88. Gráfica de contorno de fuerza iónica vs volumen de medio a pH alto Velocidad de agitación baja.

Para la interacción volumen de medio-fuerza iónica a pH alto y velocidad de agitación baja, como se observa en la gráfica 88, se tiene el % ED mayor a un volumen de 100 ml y fuerza iónica de 0%, notándose el incremento de % ED entre 60 y 100 ml a fuerza iónica de 0%. La expresión matemática que representa este fenómeno en unidades codificadas es:

$$Y = 54.05 - 2.03X_1 + 4.8X_2 + 1.35X_1X_2 + 2.5X_1^2 - 2.97X_2^2 + 1.62X_1^2X_2 + 2.31X_1X_2^2 - 3.75X_1^2X_2^2.$$

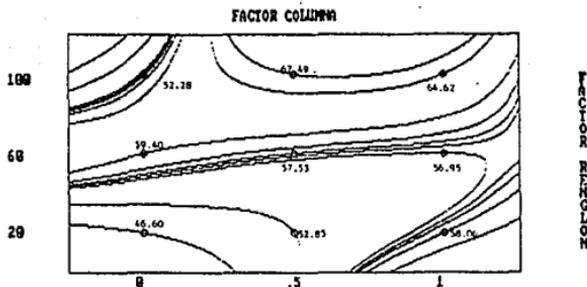


GRAFICA 89. Gráfica de contorno fuerza iónica vs volumen de medio a pH alto y velocidad de agitación media.

Siguiendo con el estudio de la interacción volumen de medio-fuerza iónica, a condiciones fijas de pH alto y velocidad de agitación media, como lo muestra la gráfica 89, el valor mas elevado de % ED se localiza a volumen de medio de 60 ml y fuerza iónica de 1%. Además es posible apreciar una zona de % ED mayores cuando el volumen es de 60 ml y la fuerza iónica tiene valores de 0.5 y 1.0%.

La expresión matemática en unidades codificadas, que predice el comportamiento de las variables es:

$$Y = 51.00 + 5.98X_1 + 4.37X_2 + 2.98X_1X_2 - 8.42X_1^2 - 13.5X_2^2 + 1.09X_1^2X_2 + 5.52X_1X_2^2 - 10.15X_1^2X_2^2$$



GRAFICA 90. Gráfica de contorno fuerza iónica vs volumen de medio a pH alto y velocidad de agitación alta.

Teniendo condiciones de pH alto y velocidad de agitación alta, la interacción volumen de medio- fuerza iónica, muestra un % ED mayor a un volumen de 100 ml y una fuerza iónica de 0.5%, observando el incremento de % ED entre 0.0 y 1.0% de fuerza iónica a volumen de 100 ml, como se observa en la gráfica 90 en la zona B. La ecuación que predice el % ED bajo estas condiciones es:

$$Y = 57.86 + 2.72X_1 + 5.31X_2 - 1.03X_1X_2 - 0.14X_2^2 + 5.92X_1X_2^2$$

Las ecuaciones anteriores se obtienen de la ecuación general:

$$Y = \alpha_0 + \alpha_1UC_{L1} + \alpha_2UC_{L2} + \alpha_{12}UC_{L1}UC_{L2} + \alpha_{11}UC_{C1} + \alpha_{12}UC_{C2} + \alpha_{112}UC_{C1}UC_{L2} + \alpha_{122}UC_{L1}UC_{C2} + \alpha_{1122}UC_{C1}UC_{C2}$$

Donde Y = % ED y las unidades codificadas (UC) se obtienen

de la siguiente ecuación:

$$UC_L = \frac{X_i - \bar{X}}{|A|}$$

$$UC_C = (UC_L)^2 - 2/3$$

Donde:

UC_L = Unidades codificadas lineales

UC_C = Unidades codificadas cuadráticas

X_i = Valor numérico de la variable independiente

\bar{X} = Valor numérico medio de la variable independiente

$|A|$ = Valor absoluto de la amplitud del intervalo

VIII. CONCLUSIONES

Del estudio efectuado con el modelo factorial 3^4 , para poder determinar como influyen los parámetros fisicoquímicos: fuerza iónica, pH, velocidad de agitación y volumen de medio de disolución, sobre la variable de respuesta, porcentaje de eficiencia de disolución, puede concluirse que todas las variables tienen un efecto considerable, por lo cual se cumplen las hipótesis planteadas en este trabajo.

Para el volumen de medio de disolución pudo comprobarse que al modificar éste, se afecta la liberación del principio activo; ya que al disminuir el volumen de solución de extracción, disminuye la interacción: medio de disolución-forma farmacéutica; además, se pueden rebazar las condiciones "Sink" y llegar a un nivel de saturación, donde el fármaco, ya no es disuelto en su totalidad afectando a la variable de respuesta (V R). Por otro lado, el caso opuesto ocurre al aumentar el volumen de solución de extracción, en este caso, se detectó una mayor capacidad para disolver el activo y hubo condiciones de dilución infinita, por lo tanto, hubo menos efecto, tal y como se esperaba.

En el caso de la velocidad de agitación, se observó poco efecto sobre los perfiles de liberación corroborando las afirmaciones de Levich, en el sentido de que la relación entre la velocidad de agitación velocidad de disolución, se debe a la turbulencia presente en el medio de disolución y dadas las características del equipo empleado en el estudio, se observó

durante la agitación la presencia de flujos turbulentos en el interior de los tubos de liberación, lo que favorece en todo momento el aumento en la cantidad de activo liberado.

El pH, afectó claramente los perfiles de disolución; en la primera parte del perfil, dado el carácter básico de la cafeína, se presentó una gran afinidad del medio ácido por la base y esto favoreció la liberación del activo; la última parte del perfil, se ve afectada dado que la cubierta de recubrimiento, es soluble a pH neutro-alcalino y en este momento, se efectúa la liberación total del fármaco, esto corrobora la afirmación hecha por Nelson de que la disolución de sustancias básicas se ve favorecida por la presencia de ácidos en el medio de disolución.

La cantidad de electrolitos presente en el medio de disolución, como variable única, mostró muy poco efecto sobre la V R, debido a que las condiciones a las que fueron sometidas las muestras, no fueron extremas (0.5 y 1.0%), y los efectos no fueron detectables por encontrarse dentro del cinturón de confianza del método, es decir dentro del error experimental del mismo.

Para el caso de dobles interacciones de las variables estudiadas, se observó que la fuerza iónica interactuando con la velocidad de agitación, tienen efecto sobre la VR por ciento de ED tanto de manera independiente como en interacción, y el efecto se ve mas marcado mientras las variables que se fijan (volumen de medio-pH) se alejan de las condiciones establecidas en FEUM 5a.edición 1988: Cuando la fuerza iónica interactúa con el volumen de medio, también existe efecto sobre la VR y este

disminuye cuando las variables constantes (velocidad de agitación-pH) se aproximan a las condiciones normales (FEUM 5a edición 1988). El efecto de la interacción fuerza iónica-pH a volumen y velocidad constante, es similar a los casos anteriores solo que existe mayor efecto de la fuerza iónica que de pH.

Cuando el pH interactúa con el volumen de medio, estos factores tienen efecto sobre la variable de respuesta y este efecto es más grande cuando las variables que se mantienen constantes se alejan de las condiciones normales. Así mismo, cuando se presentan las interacciones del pH con la velocidad de agitación, los valores de porcentaje de ED, se incrementan notablemente y más aún cuando la fuerza iónica (variable constante) se modifica con respecto a las condiciones normales.

Por otro lado, cuando las variables que se modifican son volumen de medio y velocidad de agitación, la VR se ve modificada; este efecto es mayor cuando las variables constantes (pH-fuerza iónica) son diferentes a los de lo establecido en FEUM 5a edición 1988, un punto importante es que cuando todas las condiciones son normales, hay efecto de ambas variables en forma independiente más no de su interacción.

Por todo lo anterior los objetivos antes planteados se cumplieron; ya que se pudo estudiar la influencia de cuatro variables, así como la variabilidad del método de liberación, mediante el cálculo del coeficiente de variación.

BIBLIOGRAFIA

1. Aiache, J.M., Devissaguet, J., Guyot H., BIOFARMACIA, segunda edición, Editorial El Manual Moderno, México 1983.
2. Alpar H.O., and Walters V., "The prolongation of the in vitro dissolution of a soluble drug by microencapsulation with ethyl cellulose", Journal Pharmaceutical and Pharmacology 11 May 419-422 (1984).
3. Arancibia A., "Estudio: diseño y formulación de preparados de Acción sostenida", El farmaco XVII (4) 181-204 (1972).
4. Cabello C.D., Efecto de sustancias impregnantes en la velocidad de liberación de cafeína en microesferas. Licenciatura UNAM ENEP Zaragoza, México 1988.
5. Eudragit L, Datos técnicos (folleto) Rhohm Pharma GMBH.
6. Hanson W.A., HANDBOOK OF DISSOLUTION TESTING, Pharmaceutical Technology Publications, Oregon, Usa 1982.
7. Hoffman A., "Direct measurements on individual microcapsule dissolution as a tool for determination of release mechanism" Journal Pharmaceutical and Pharmacology 18 March 764-766 (1986).
8. Morales D.M.T., Estudio del efecto de la concentración de sustancias de recubrimiento sobre la velocidad de liberación de fármacos en microesferas. Licenciatura UNAM ENEP Zaragoza, México 1985.
9. Nedich RL. and Kildsig D.), "Mechanism of Dissolution I: Mahematical Interprelation of Concentration Gradients Developed during Dissolution of a solid" Journal of Pharmaceutical Sciences 61 (2) 214-218 (1972).
10. Román F y Garzón A, "Disolución (Revisión Bibliográfica) Revista de la Sociedad Química de México 25 (3) 447-452.
11. USP XVIII NF XIV. American Pharmaceutical Association.

REFERENCIAS

1. Arancia, A. "Estudio, diseño y formulación de preparados farmacéuticos de acción sostenida", IL IL Farmaco 27 (4) 181-204 (1972).
2. Helman, J., FARMACOTECNIA TEORIA Y PRACTICA, Cia. editorial Continental, México 1982.
3. Thiel, W.J. y Sberna, F.J. "Fluidized bed film coating of an interactive powder mixture to produce microcapsulated 2-5 μ m particles" Journal of Pharmacy and Pharmacology 38 166-171 (1986).
4. Cabello, C.D., Efecto de sustancias de impregnación en la velocidad de liberación de cafeína en microesferas, Licenciatura UNAM ENEP Zaragoza, México 1988.
5. Röhm Pharma GMBH WEITERSTADT "Eudragit L Hoja de datos Info L-4/s" Helm de México S A 1984.
6. Wurster and Taylor, P.W., "Disolution Rates", Journal of Pharmaceutical Science 54 (2) 169-175 (1965).
7. Merck, S., THE MERCK INDEX, Merck & Co. Inc., Ninth Edition, Rahway N.J. USA 1976.
8. Guyton, A.C. TEXTBOOK OF MEDICAL PHYSIOLOGY 15 th Edition W. B. Saunders Co. Philadelphia 1976.
9. Bowman, W.C. y Rand, M.J. FARMACOLOGIA BASES BIOQUIMICAS Y PATOLOGICAS APLICACIONES CLINICAS 2ª Edición Editorial Interamericana México D.F. 1985.pag.
10. Litter M. FARMACOLOGIA EXPERIMENTAL Y CLINICA 7ª Edición Editorial el Ateneo Argentina 1986 pag. 400.
11. Román, F. y Garzón, A., "Disolución (Revisión Bibliográfica)", Revista de la Sociedad Química de México 25 (3) 447-452

(1981)

12. Noyes, A. A., Whitney, W.R. "The Rate of Solution of Solid Substances in their own Solution" Journal of American Chemical Society 19 930-924 (1987).
13. Wagner C. J. Biopharmaceuticals and Relevant Pharmacokinetics 1st Edition 1971. Drug Intelligence Publications. Ch. 16 p.p. 104-122.
14. Wagner, C.J., "The Dissolution Rate of Sodium Chloride with Diffusion and Natural Convection as Rate-Determining Factors", Journal of Physical Chemistry 53 1030-1033 (1949).
15. Wood, J.H., Syarto, J. E. and Lettman, H. "Improved Holder for Intrinsic Dissolution Rate Studies" Journal of Pharmaceutical Sciences 54 (7) 1068-1071 (1965).
16. Higuchi, W.I. "Diffusional Models Useful in Biopharmaceutics" Journal of Pharmaceutical Sciences 56 (7) 315-324 (1967).
17. Hamlin, W.E., Nelson, E., Ballard, B.E. and Wagner, J.G., "Loss of Sensivity in Distinguishing Real Differences in Dissolution Rates Due to Increasing Intensity of Agitation" Journal of Pharmaceutical Sciences 51 (5) 432-435 (1962).
18. Levy, G. and Procknal, J. A., "Dissolution Rate Studies on Methylprednisolone Polymorphs", Journal of Pharmaceutical Sciences 53 (6) 656-658 (1964).
19. Wayne, W.D., BIOESTADISTICA, Ed. Linusa, Mexico 1985 pag. 13.
20. Morales, D.M.T., Estudio del efecto de la concentración de sustancias de recubrimiento sobre la velocidad de liberación de fármacos en microesferas. Licenciatura UNAM ENEP Zaragoza, México 1985.
21. Pérez, M.M.A. y Soto, V.R. Utilización de modelos matemáticos en el desarrollo de microesferas de liberación controlada. Licenciatura UNAM ENEP Zaragoza, México 1988.

A P E N D I C E

Fuerza iónica = 0%; Volumen de medio = 20ml

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA A 1					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
REGRESION	8	1137.535	1137.535	53.514	0
ERROR DE REGRESION	9	23.914	2.657	----	----
pH lineal	1	349.801	349.801	131.647	$2.16 \cdot 10^{-5}$
VELOCIDAD lineal	1	0.024	0.024	0.009	0.9994001
pH 1 - VELOCIDAD 1	1	20.746	20.746	7.808	$2.01 \cdot 10^{-2}$
pH ²	1	2.415	2.415	0.909	0.633309
VELOCIDAD ²	1	531.640	531.640	200.082	$1.07 \cdot 10^{-5}$
pH ² - VELOCIDAD 1	1	20.946	20.946	7.883	$1.95 \cdot 10^{-2}$
pH 1 - VELOCIDAD ²	1	12.686	12.686	4.774	$5.47 \cdot 10^{-2}$
pH ² - VELOCIDAD ²	1	199.277	119.277	74.998	$6.70 \cdot 10^{-5}$
ERROR	9	23.910	2.657	---	----

Fuerza iónica = 0; Volumen de medio = 60ml

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA A 2					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
REGRESION	8	132.930	16.616	11.791	0
ERROR DE REGRESION	9	12.684	1.409	---	-----
pH lineal	1	55.858	55.858	39.635	$3.06 \cdot 10^{-4}$
VELOCIDAD lineal	1	5.347	5.347	3.794	0.0809829
pH 1 - VELOCIDAD 1	1	0.365	0.365	0.259	0.6280043
pH ²	1	51.782	51.782	36.744	$3.71 \cdot 10^{-4}$

Fuerza iónica = 0; Volumen de medio = 60ml

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA A 2					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
VELOCIDAD ²	1	14.707	14.707	10.436	1.01*10 ⁻²
pH ² - VELOCIDAD 1	1	0.066	0.066	0.047	0.913955
pH 1 - VELOCIDAD ²	1	0.881	0.881	0.625	0.5454003
pH ² - VELOCIDAD ²	1	3.921	3.921	2.783	0.1272806
ERROR	9	12.691	1.410	---	-----

Fuerza iónica = 0 Volumen de medio = 100ml

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA A 3					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
REGRESION	8	1171.598	146.449	130.128	0
ERROR DE REGRESION	9	10.130	1.125	---	-----
pH lineal	1	336.142	336.142	325.334	5.40*10 ⁻⁶
VELOCIDAD lineal	1	18.585	18.585	16.514	3.12*10 ⁻³
pH 1 - VELOCIDAD 1	1	0.642	0.642	0.571	0.5252496
pH ²	1	55.168	55.168	49.019	1.80*10 ⁻⁴
VELOCIDAD ²	1	366.531	366.531	325.680	5.39*10 ⁻⁶
pH ² - VELOCIDAD 1	1	7.270	7.270	6.460	3.04*10 ⁻²
pH 1 - VELOCIDAD ²	1	299.973	299.973	266.540	7.03*10 ⁻⁶
pH ² - VELOCIDAD ²	1	57.293	57.293	50.908	1.64*10 ⁻⁴
ERROR	9	10.128	1.125	---	-----

Fuerza iónica = 0.5% Volumen de medio = 20ml

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA A 4					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
REGRESION	8	135.981	16.998	23.663	0
ERROR DE REGRESION	9	6.465	0.718	---	-----
pH lineal	1	4.258	4.258	5.928	$3.62 \cdot 10^{-2}$
VELOCIDAD lineal	1	29.047	29.047	40.438	$2.90 \cdot 10^{-4}$
pH 1 - VELOCIDAD 1	1	19.609	19.609	27.299	$8.11 \cdot 10^{-4}$
pH ²	1	2.389	2.389	3.326	0.991258
VELOCIDAD ²	1	38.709	38.709	53.889	$1.43 \cdot 10^{-4}$
pH ² - VELOCIDAD 1	1	21.510	21.510	29.945	$6.34 \cdot 10^{-4}$
pH 1 - VELOCIDAD ²	1	17.811	17.811	24.795	$1.04 \cdot 10^{-3}$
pH ² - VELOCIDAD ²	1	2.638	2.638	3.672	$8.52 \cdot 10^{-2}$
ERROR	9	6.473	0.719	---	-----

Fuerza iónica = 0.5% Volumen de medio 60ml

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA A 5					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
REGRESION	8	263.024	32.878	14.680	0
ERROR DE REGRESION	9	20.156	2.240	---	-----
pH lineal	1	5.780	2.511	2.581	0.1403372
VELOCIDAD lineal	1	89.446	89.446	39.939	$3.00 \cdot 10^{-4}$
pH 1 - VELOCIDAD 1	1	2.511	5.511	1.121	0.3183937
pH ²	1	11.674	11.674	5.212	$4.65 \cdot 10^{-2}$

Fuerza iónica = 0.5% Volumen de medio 60ml

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA A 5					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
VELOCIDAD ²	1	92.955	92.955	41.506	2.72*10 ⁻²
pH ² - VELOCIDAD 1	1	1.456	1.456	0.650	0.5541916
pH 1 - VELOCIDAD ²	1	26.916	26.916	12.018	7.14*10 ⁻³
pH ² - VELOCIDAD ²	1	32.286	32.286	14.416	4.46*10 ⁻³
ERROR	9	20.149	2.239	---	-----

Fuerza iónica 0.5% Volumen de medio 100ml

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA A 6					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
REGRESION	8	335.258	41.907	29.709	0
ERROR DE REGRESION	9	12.695	1.410	---	-----
pH lineal	1	1.043	1.043	0.739	0.5835977
VELOCIDAD lineal	1	60.494	60.494	42.886	2.50*10 ⁻⁴
pH 1 - VELOCIDAD 1	1	167.866	167.866	119.004	2.61*10 ⁻⁵
pH ²	1	0.161	0.161	0.114	0.7647236
VELOCIDAD ²	1	9.932	9.932	7.040	2.53*10 ⁻²
pH ² - VELOCIDAD 1	1	27.056	27.056	19.180	2.09*10 ⁻³
pH 1 - VELOCIDAD ²	1	1.558	1.558	1.104	0.3220012
pH ² - VELOCIDAD ²	1	67.152	67.152	47.606	1.93*10 ⁻⁴
ERROR	9	12.673	1.406	---	-----

Fuerza iónica = 1½ Volumen de medio = 20ml

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA A 7					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
REGRESION	8	439.332	54.917	5.149	0
ERROR DE REGRESION	9	95.996	10.666	---	-----
pH lineal	1	15.648	15.648	1.467	0.2560995
VELOCIDAD lineal	1	76.654	76.654	7.187	$2.42 \cdot 10^{-2}$
pH 1 - VELOCIDAD 1	1	76.453	76.453	7.168	$2.43 \cdot 10^{-2}$
pH ²	1	26.343	26.343	2.470	0.1482589
VELOCIDAD ²	1	186.527	186.527	17.488	$2.67 \cdot 10^{-3}$
pH ² - VELOCIDAD 1	1	11.694	11.694	1.096	0.3236734
pH 1 - VELOCIDAD ²	1	5.046	5.046	0.473	0.5144211
pH ² - VELOCIDAD ²	1	40.965	40.965	3.841	$7.94 \cdot 10^{-2}$
ERROR	9	95.995	10.666	---	-----

Fuerza iónica = 1½ Volumen de medio = 60 ml

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA A 8					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
REGRESION	8	254.512	31.814	19.763	0
ERROR DE REGRESION	9	14.488	1.610	---	-----
pH lineal	1	7.293	7.293	4.530	$6.01 \cdot 10^{-2}$
VELOCIDAD lineal	1	130.152	130.152	80.850	$5.69 \cdot 10^{-5}$
pH 1 - VELOCIDAD 1	1	13.308	13.308	8.267	$1.77 \cdot 10^{-2}$
pH ²	1	13.081	13.081	8.126	$1.84 \cdot 10^{-2}$

Fuerza iónica = 1% Volumen de medio = 60 ml

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA A 8					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
VELOCIDAD ²	1	69.100	69.100	42.924	2.50*10 ⁻⁴
pH ² - VELOCIDAD 1	1	8.343	8.343	5.182	4.70*10 ⁻²
pH 1 - VELOCIDAD ²	1	13.033	13.033	8.096	1.85*10 ⁻²
pH ² - VELOCIDAD ²	1	0.200	0.200	0.124	0.7505886
ERROR	9	14.484	1.609	---	-----

Fuerza iónica = 1% Volumen de medio = 100ml

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA A 9					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
REGRESION	8	247.515	30.904	44.525	0
ERROR DE REGRESION	9	6.254	0.695	---	-----
pH lineal	1	10.874	10.874	15.648	3.6*10 ⁻³
VELOCIDAD lineal	1	58.310	58.310	83.913	5.26*10 ⁻⁵
pH 1 - VELOCIDAD 1	1	48.084	48.084	69.197	8.01*10 ⁻⁵
pH ²	1	24.656	24.656	35.483	4.06*10 ⁻⁴
VELOCIDAD ²	1	77.211	77.211	111.115	2.97*10 ⁻⁵
pH ² - VELOCIDAD 1	1	4.865	4.865	7.001	2.56*10 ⁻²
pH 1 - VELOCIDAD ²	1	19.949	19.949	28.709	7.09*10 ⁻⁴
pH ² - VELOCIDAD ²	1	3.568	3.568	5.135	0.0479071
ERROR	9	6.243	0.694	---	-----

pH Bajo Velocidad de agitación = 40rpm

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA B 1					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
REGRESION	8	907.215	113.402	90.533	0
ERROR DE REGRESION	9	11.273	1.253	---	-----
FI lineal	1	0.562	0.562	44.835	0.5254154
VOLUMEN lineal	1	519.899	519.899	415.055	4.03*10 ⁻⁶
FI 1 - VOLUMEN 1	1	63.332	63.332	50.560	1.67*10 ⁻⁴
FI ²	1	0.013	0.013	0.010	0.9991061
VOLUMEN ²	1	276.624	276.624	220.839	9.20*10 ⁻⁶
FI ² - VOLUMEN 1	1	24.589	24.589	19.631	1.96*10 ⁻³
FI 1 - VOLUMEN ²	1	3.080	3.080	2.458	0.1490927
FI ² - VOLUMEN ²	1	19.118	19.118	15.262	3.84*10 ⁻³
ERROR	9	11.269	1.252	---	-----

pH Bajo Velocidad de agitación = 30 rpm

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA B 2					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
REGRESION	8	435.289	54.430	160.516	0
ERROR DE REGRESION	9	2.051	0.339	---	-----
FI lineal	1	44.168	44.168	130.298	2.20*10 ⁻⁵
VOLUMEN lineal	1	271.111	271.111	799.795	2.11*10 ⁻⁶
FI 1 - VOLUMEN 1	1	0.856	0.856	2.525	0.1442074
FI ²	1	11.510	11.510	33.956	4.56*10 ⁻⁴

pH Bajo Velocidad de agitación = 30 rpm

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA B 2					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
VOLUMEN ²	1	23.200	23.200	68.442	8.21*10 ⁻⁵
FI ² - VOLUMEN 1	1	7.038	7.038	20.764	1.69*10 ⁻³
FI 1 - VOLUMEN ²	1	60.646	60.646	178.909	1.28*10 ⁻⁵
FI ² - VOLUMEN ²	1	16.761	16.761	49.446	1.76*10 ⁻⁴
ERROR	9	3.037	0.337	---	-----

pH Normal Velocidad de agitación = 30rpm'

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA B 3					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
REGRESION	8	461.473	57.684	52.058	0
ERROR DE REGRESION	9	9.973	1.108	---	-----
FI lineal	1	140.494	140.494	126.791	2.32*10 ⁻⁵
VOLUMEN lineal	1	273.741	273.741	247.043	7.82*10 ⁻⁵
FI 1 - VOLUMEN 1	1	8.75*10 ⁻²	8.75*10 ⁻²	0.079	7.82*10 ⁻⁶
FI ²	1	26.819	26.819	24.203	0.8285647
VOLUMEN ²	1	0.488	0.488	0.440	1.11*10 ⁻³
FI ² - VOLUMEN 1	1	15.667	15.667	14.139	0.5291685
FI 1 - VOLUMEN ²	1	1.822	1.822	1.644	4.70*10 ⁻³
FI ² - VOLUMEN ²	1	2.358	2.358	2.128	0.2306497
ERROR	9	9.974	1.108	---	-----

pH Bajo Velocidad de agitacion = 50 rpm

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA B 4					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
REGRESION	8	289.918	36.240	29.725	0
ERROR DE REGRESION	9	10.973	1.219	---	-----
FI lineal	1	23.559	23.559	19.324	$2.05 \cdot 10^{-3}$
VOLUMEN lineal	1	93.454	93.445	76.653	$6.39 \cdot 10^{-3}$
FI 1 - VOLUMEN 1	1	54.706	54.706	44.871	$2.24 \cdot 10^{-4}$
FI ²	1	37.937	37.937	31.117	$5.73 \cdot 10^{-4}$
VOLUMEN ²	1	65.588	65.588	53.797	$1.43 \cdot 10^{-4}$
FI ² - VOLUMEN 1	1	2.195	2.195	1.800	0.2110646
FI 1 - VOLUMEN ²	1	3.870	3.870	3.175	0.1060861
FI ² - VOLUMEN ²	1	8.608	8.608	7.061	$2.51 \cdot 10^{-2}$
ERROR	9	10.986	1.220	---	-----

pH Normal Velocidad de agitaci3n = 40rpm

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA B 5					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
REGRESION	8	663.977	82.997	59.777	0
ERROR DE REGRESION	9	12.496	1.388	---	-----
FI lineal	1	0.345	0.345	0.249	0.6349359
VOLUMEN lineal	1	421.908	421.908	303.869	$5.89 \cdot 10^{-6}$
FI 1 - VOLUMEN 1	1	0.592	0.592	0.426	0.5355977
FI ²	1	46.503	46.503	33.493	$4.73 \cdot 10^{-4}$

pH Normal Velocidad de agitación = 40rpm

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA B 5					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
VOLUMEN ²	1	163.541	163.541	117,787	2.66*10 ⁻⁵
FI ² - VOLUMEN 1	1	22.338	22.338	16.088	3.34*10 ⁻³
FI 1 - VOLUMEN ²	1	8.744	8.744	6.297	3.20*10 ⁻²
FI ² - VOLUMEN ²	1	0.006	0.006	0.005	0.9999644
ERROR	9	12.500	1.389	---	-----

pH Normal Velocidad de agitación = 50rpm

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA B 6					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
REGRESION	8	492.438	61.555	13.716	0
-ERROR DE REGRESION	9	40.391	4.488	---	-----
FI lineal	1	0.772	0.772	0.172	0.6963205
VOLUMEN lineal	1	432.265	432.265	96.319	3.95*10 ⁻⁵
FI 1 - VOLUMEN 1	1	15.652	15.652	3.488	9.23*10 ⁻²
FI ²	1	3.838	3.838	0.855	0.6182973
VOLUMEN ²	1	6.487	6.487	1.446	0.2594499
FI ² - VOLUMEN 1	1	0.080	0.080	0.178	0.9923104
FI 1 - VOLUMEN ²	1	31.346	31.346	6.985	2.57*10 ⁻²
FI ² - VOLUMEN ²	1	1.998	1.998	0.445	0.5268424
ERROR	9	40.397	4.489	---	-----

pH Alto Velocidad de agitación = 30rpm

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA B 7					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
REGRESION	8	435.289	54.411	29.456	0
ERROR DE REGRESION	9	16.625	1.847	---	-----
FI lineal	1	49.601	49.601	26.852	$8.47 \cdot 10^{-4}$
VOLUMEN lineal	1	277.335	277.335	150.136	$1.71 \cdot 10^{-5}$
FI 1 - VOLUMEN 1	1	14.547	14.547	7.875	$1.97 \cdot 10^{-2}$
FI ²	1	24.938	24.938	13.500	$5.30 \cdot 10^{-3}$
VOLUMEN ²	1	35.167	35.167	19.038	$2.13 \cdot 10^{-3}$
FI ² - VOLUMEN 1	1	6.981	6.981	3.780	$8.14 \cdot 10^{-2}$
FI 1 - VOLUMEN ²	1	14.214	14.214	7.695	$2.08 \cdot 10^{-2}$
FI ² - VOLUMEN ²	1	12.508	12.508	6.771	$2.75 \cdot 10^{-2}$
ERROR	9	16.617	1.846	---	-----

pH Alto Velocidad de agitación = 40rpm

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA B 8					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
REGRESION	8	1917.535	239.692	168.420	0
ERROR DE REGRESION	9	12.809	1.423	---	-----
FI lineal	1	429.029	429.029	301.459	$5.96 \cdot 10^{-6}$
VOLUMEN lineal	1	229.338	229.338	161.145	$1.51 \cdot 10^{-5}$
FI 1 - VOLUMEN 1	1	70.870	70.870	49.797	$1.73 \cdot 10^{-4}$
FI ²	1	283.889	283.889	199.475	$1.07 \cdot 10^{-5}$

pH Alto Velocidad de agitación = 40rpm

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA B 8					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
VOLUMEN ²	1	728.568	728.568	511.931	3.20*10 ⁻⁶
FI ² - VOLUMEN 1	1	3.166	3.166	2.295	0.1679448
FI 1 - VOLUMEN ²	1	81.126	81.126	57.003	1.25*10 ⁻⁴
FI ² - VOLUMEN ²	1	91.551	91.551	64.328	9.46*10 ⁻⁵
ERROR	9	12.810	1.423	---	-----

pH Alto Velocidad de agitación = 50rpm

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA B 9					
FUENTE DE VARIACION	G L	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	Fcal	P(F<Fcal)
REGRESION	8	587.836	73.480	7.812	0
ERROR DE REGRESION	9	84.656	9.406	---	-----
FI lineal	1	89.086	89.086	9.471	1.28*10 ⁻²
VOLUMEN lineal	1	338.757	338.757	36.014	3.91*10 ⁻⁴
FI 1 - VOLUMEN 1	1	8.444	8.444	0.898	0.6301992
FI ²	1	18.273	18.273	1.943	0.1951083
VOLUMEN ²	1	7.93*10 ⁻²	7.93*10 ⁻²	8*10 ⁻²	0.9995561
FI ² - VOLUMEN 1	1	24.122	24.122	2.544	0.1414581
FI 1 - VOLUMEN ²	1	93.587	93.587	9.950	1.14*10 ⁻²
FI ² - VOLUMEN ²	1	15.491	15.491	1.647	0.2303205
ERROR	9	84.658	9.406	---	-----