

34



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

7ey

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

ADAPTABILIDAD DEL METODO IV USP 23 PARA LA DETERMINACION DE IMPUREZAS VOLATILES ORGANICAS POR CROMATOGRAFIA DE GASES EN EXCIPIENTES DE USO FARMACEUTICO

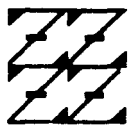
FALLA DE ORIGEN

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO PRESENTA:

NORMA ELENA HERNANDEZ MARTINEZ

UNAM FES ZARAGOZA



LO HEMOS HECHO DE NUESTRO VOLUNTARIO

MEXICO. D.F.

1995



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A G R A D E C I M I E N T O S

A DIBOS. Por haberme iluminado mi camino con un rayo de luz y esperanza y por haberme dado esta gran familia.

A MIS PADRES. Con especial cariño y respeto, por haberme brindado una vida de esfuerzos, sacrificios y dedicación; quiero darles las gracias por haberme dado esta oportunidad.

A MIS HERMANAS. JESSA, SUSANA Y ERICA,
por su apoyo, cariño y comprensión.

Con mucho cariño a Victor Pablo. Te agradezco tu apoyo y paciencia que siempre me has tenido.

A mis Profesores. Por su tiempo, dedicación y enseñanza.

AL CENTRO A.J. DE ESTUDIOS TECNOLÓGICOS
POR HABERME DADO LA OPORTUNIDAD DE
REALIZAR ESTE TRABAJO

A Rosy. Por tu apoyo, cariño y amistad y sobre todo
por tu enseñanza, gracias.

A Chelis, Juan Angeles, Jere y Chava. Por haberme
brindado esta oportunidad, gracias.

A todas aquellas personas y amigos que de alguna forma
contribuyeron a mi formación profesional. Con cariño y
especial admiración

NOEMIA

A CENTRO A.F. DE ESTUDIOS TECNOLÓGICOS
por haberme dado la oportunidad de realizar este
trabajo.

A Rosy. Por tu apoyo, cariño y amistad y sobre todo
por tu enseñanza, gracias.

A Chelis, Juan Angeles, Jere y Chava. Por haberme
brindado esta oportunidad, gracias.

A todas aquellas personas y amigos que de alguna forma contribuyeron
a mi formación profesional. Con cariño y especial admiración

NOEMIA

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCION	1
CAPITULO I. FUNDAMENTACION DEL TEMA	
I. ANTECEDENTES	1
I.1 Impurezas Volátiles Orgánicas	1
I.1.1 Definición de Impurezas Volátiles Orgánicas	1
I.1.2 Tipo de Impurezas citadas en la USP	1
I.2 Métodos Oficiales de Análisis para la determinación de Impurezas Volátiles Orgánicas	4
I.3 Materias Primas usadas en la determinación de Impureza Volátiles Orgánicas	9
I.4 Propiedades de los Disolventes y Materias Primas Utilizadas	10
I.4.1 Seguridad	10
I.4.2 Cloroformo	10
I.4.3 Dioxano	12
I.4.4 Cloruro de Metileno	13
I.4.5 Tricloroetileno	14
I.4.6 Benceno	15
I.4.7 Estearato de Calcio	16
I.4.8 Primogel	17
I.4.9 Polietilenglicol 8000	18
I.4.10 Dioxido de Titanio	19
I.5 Fundamento de la Cromatografía	20
I.5.1 Fundamentos de la Cromatografía	20
I.5.2 Terminos Empleados en Cromatografía	21
I.5.2.1 Cromatograma	21
I.5.2.2 Tiempo de Retención	22

1.5.2.3	Tiempo Muerto	22
1.5.2.4	Tiempo de Retención Relativo	22
1.5.2.5	Factor de Capacidad	23
1.5.2.6	Retención Relativa	23
1.5.2.7	Ecuación de Resolución	25
1.5.2.8	Eficiencia de la Columna	26
1.5.2.9	Número de Platos Teóricos	30
1.6	Componentes de un Cromatógrafo de Gases	30
1.6.1	Automuestreador de Vapor Confinado	31
1.6.2	Gas Portador	31
1.6.3	Puerto de Inyección	31
1.6.4	Horno con Termostato	32
1.6.5	Columna	33
1.6.6	Detector	34
1.6.7	Métodos de Cuantificación	35
1.6.7.1	Estandarización Interna	36
1.6.7.2	Estandarización Externa	36
1.7	Parámetros de Validación empleados para evaluar la Adaptabilidad del Método IV USP 23 para la determinación de Impurezas Volátiles Orgánicas	36

CAPITULO II.

II.1	P planteamiento del Problema	38
II.2	Objetivo General	40
II.2.1	Objetivos Particulares	40
II.3	Hipotesis	41

CAPITULO III. DESARROLLO EXPERIMENTAL

III.	Parte Experimental	44
III.1	Equipo	44
III.2	Material	44
III.3	Reactivos y Soluciones	45
III.3.1	Reactivos	45
III.3.2	Disoluciones	45
III.4	Descripción del Método	46
III.4.1	Preparación de La Muestra	46
III.4.2	Disolución de Referencia	46
III.4.3	Disolución Blanco	47
III.5	Condiciones de Operación del Sistema	47
III.5.1	Condiciones en el Automuestreador de Vapor Confinado	48
III.5.2	Condiciones Cromatograficas	49
III.5.2.1	Temperatura de la Columna	49
III.5.2.2	Detector	49
III.5.2.3	Inyector	49

III.5.2.4	Parámetros de Integración	49
III.5.4	Disoluciones Utilizadas Para la Adaptación y Verificación del Método IV USP 23	50
III.5.4.1	Disolución Blanco	50
III.5.4.2	Disolución Blanco de las Muestras	50
III.5.4.3	Disolución para la evaluación de la Especificidad	50
III.5.4.4	Disoluciones para la Evaluación del Sistema	51
III.5.4.5	Soluciones para la Curva de Calibración	51
III.5.4.6	Soluciones para la evaluación de la Precisión y Exactitud del Método	52
III.6.	Calculos	52
III.7	Especificaciones	52

CAPITULO IV. DISCUSION Y ANALISIS DE RESULTADOS

IV.1	Especificidad	55
IV.2	Precisión del Sistema	58
IV.3	Precisión y Exactitud del Método	60
IV.4	Pruebas para aumentar el recobro de los analitos	76

CONCLUSIONES	81
SUGERENCIAS	83
APENDICES	84
BIBLIOGRAFIA	89

INTRODUCCION

INTRODUCCION

En los procesos de síntesis y purificación de las materias primas usadas en la Industria farmacéutica se utiliza un gran número de disolventes orgánicos, algunos de ellos de alta toxicidad tales como : Benceno, 1,4 Dioxano, Cloruro de Metileno y Cloroformo, aún cuando se encuentran a niveles de concentración del orden de partes por millón (ppm), razón por la cual es necesario tener un control estricto sobre la cantidad presente de estas sustancias en las materias primas y en los productos terminados, ya que existen normas oficiales en la Industria Farmacéutica que establecen que todas las materias primas y productos de uso farmacéutico, deben cumplir con una serie de especificaciones con las cuales se garantice su potencia, pureza, estabilidad y la inocuidad ante el consumidor.

Las impurezas volátiles orgánicas son aquellos residuos de disolventes empleados en la síntesis y/o purificación de las sustancias utilizadas en la Industria Farmacéutica.

La técnica de elección para analizar este tipo de sustancias, es la cromatografía de gases con columnas capilares, ideal para analizar compuestos volátiles, con gran selectividad, sensibilidad y sencillez, que nos proporcionan resultados reproducibles y confiables a los niveles de concentración que nos interesa.

En el año de 1988 se introdujo por vez primera en la Farmacopea de los Estados Unidos Americanos y en la Legislación Farmacéutica de este mismo país, el control del contenido de las impurezas orgánicas volátiles <467>, como parte del control de las Materias primas que se utilizan en la fabricación de medicamentos.

Por esta razón surge la necesidad de demostrar la confiabilidad del método IV de la Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP 23), y establecer el sistema cromatográfico con la calidad requerida para la determinación de Impurezas Volátiles Orgánicas tales como: Benceno, Dioxano, Cloruro de Metileno, Tricloroetileno y

Cloroformo y su cuantificación en materias primas tales como: Dióxido de Titanio, Polietilenglicol 8000, Estearato de Calcio y Primogel.

Una vez adaptado el método IV USP 23 <467> en cromatografía de gases se comprobó su confiabilidad analítica a través de algunos parámetros de validación tales como : Precisión y Exactitud del Sistema , Especificidad, Precisión y Exactitud del método.

CAPITULO I

CAPITULO I

FUNDAMENTACION DEL TEMA

I. ANTECEDENTES

I.1 Impurezas Volátiles Orgánicas

I. 1.1 Definición de Impurezas Volátiles Orgánicas

Las impurezas volátiles orgánicas son aquellos residuos de disolventes empleados en la síntesis y la purificación de las sustancias utilizadas en la Industria Farmacéutica (1).

En el año de 1988 se introdujo por vez primera en la Farmacopea de los Estados Unidos Americanos y en la Legislación Farmacéutica de este mismo país, el control del contenido de las impurezas orgánicas volátiles <467>, como parte del control de las Materias primas que se utilizan en la fabricación de medicamentos. Así mismo existen en la Industria Farmacéutica de los Estados Unidos de América normas oficiales que establecen que todas las materias primas y excipientes de uso farmacéutico, deben cumplir con una serie de especificaciones con las cuales se garantiza la inocuidad ante el consumidor, potencia, pureza, etc. En los Estados Unidos Mexicanos aun no se ha establecido como prueba oficial la determinación de Impurezas Volátiles Orgánicas.

I. 1. 2 Tipo de Impurezas citadas en la USP

De acuerdo con esta información se consideran los siguientes tipos de impurezas (2):

1. Sustancias Extrañas : Se introducen por contaminación o adulteración y no son consecuencia de la síntesis, preparación y/o degradación del producto.
2. Impurezas Tóxicas : Estas impurezas tienen actividad tóxica, inclusive a concentraciones pequeñas (ppm) requieren identificación y cuantificación individual

estas impurezas son inherentes a la síntesis, purificación y/o degradación del compuesto.

3. **Compuestos Concomitantes :** Son característicos de muchas sustancias de uso farmacéutico; los isómeros ópticos y geométricos se consideran dentro de las impurezas concomitantes.
4. **Impurezas Significativas:** Son algunas de las sustancias relacionadas al proceso y/o productos de degradación, son la clave del proceso de síntesis, por lo cual requieren identificación y cuantificación individual y una sustancia patrón de referencia.
5. **Impurezas Ordinarias:** Estas son especies inocuas en virtud de que no presentan actividad biológica indeseable en las cantidades a las que se encuentran presentes.

Cualquier impureza ya sea inorgánica, orgánica, bioquímica, isomérica, polimérica o microbiológica puede clasificarse dentro de los cinco tipos de impurezas ya mencionadas

Las Impurezas Volátiles Orgánicas (IVOs) pertenecen al tipo de impurezas tóxicas; por lo que deben ser controladas a límites permisibles. En los Estados Unidos, donde se origina la normatividad, el proceso mediante el cual se fijan los límites permitidos de una impureza presente en una sustancia de uso farmacéutico es sumamente complejo, en el cual se toman en cuenta los siguientes factores (3) :

1. La toxicología de las sustancias farmacéuticas.
2. Ruta de administración (oral, tópica o parenteral).
3. Dosis administrada diariamente (frecuencia y cantidad).
4. Población a la que se le suministra.
5. La farmacología de la impureza.
6. La procedencia de la sustancia (sintética, producto natural o biotecnológico).
7. El costo del análisis.

Así mismo este proceso es evolutivo y se realiza en las siguientes etapas :

Selección de los disolventes orgánicos volátiles que se usan para la fabricación de productos farmacéuticos:

Una vez que se ha nominado un disolvente, un grupo de expertos en toxicología, determina si las características de las sustancias, sugieren que el disolvente en cuestión puede producir carcinogenicidad y/o efectos crónicos o tóxicos irreversibles en humanos.

Para disolventes carcinogénicos : Los límites residuales se establecen por el International Agency for Research on Cancer (IARC) o el National Toxicology Program (NTP).

Para efectos crónicos : Los límites residuales se establecen por la IARC, pero no se restringen a efectos neurotóxicos y/o reproductivos.

Para efectos irreversibles : Al igual que en los anteriores, los límites residuales son establecidos por la IARC o NTP, excepto que éste no presenta límites teratogénicos.

Establecimiento de los límites residuales de aceptación :

El límite residual debe proteger al ser humano contra los efectos adversos de los disolventes volátiles orgánicos, presentes en la forma farmacéutica; tomando en cuenta la cantidad y el tiempo de exposición a éstos.

a). **Recolección y evaluación de datos:** Se valúan los siguiente datos de los Disolventes Volátiles Orgánicos: propiedades físicas y químicas, uso e incidencia, farmacología, biodisposición (absorción, distribución, metabolismo y eliminación), toxicología y efectos en el ser humano.

b), Establecimiento del límite residual: Se evalúan los datos para diferentes vías de administración (oral, parenteral, inhalación y tópica). Así mismo, también se identifica el final de cada ruta durante la administración del fármaco.

Una vez establecido el límite, el grupo de expertos en toxicología elabora un documento en donde se detallan los resultados de la evaluación de los disolventes volátiles orgánicos.

1.2 Métodos Oficiales de Análisis para la determinación de Impurezas Orgánicas Volátiles.

La USP propone seis métodos de análisis para determinar impurezas orgánicas volátiles en materias primas, los cuales se describen a continuación (4):

MÉTODO I: Este método se emplea para determinar residuos en materias primas altamente solubles en agua y se utiliza un cromatógrafo de gases con temperatura programada, equipado con una columna capilar, y un detector de ionización a la llama.

Disolución de Referencia: Preparar una disolución, en agua libre de orgánicos volátiles o del disolvente especificado en la monografía, que contenga en cada mililitro 1.0 ug de cloroformo, y 2.0 ug de benceno, 1,4 dioxano, cloruro de metileno y tricloroetileno.

Disolución de Prueba: Disolver en agua libre de compuestos orgánicos o el disolvente especificado en la monografía una cantidad de la forma farmacéutica química, de tal manera que la disolución final de una concentración de 20 mg de la forma farmacéutica química por ml.

Sistema Cromatográfico:

El cromatógrafo de Gases esta equipado con:

- Detector de ionización de Llama.
- Columna analítica de sílice fundida de 30 m x 0.53 mm DI, empacada con 5 µm entrecruzadas con 5% de fenilmetilsilicon de fase estacionaria y una guarda columna de sílice fundida de 5m x 0.53 DI, desactivada con fenilmetilsiloxano.

- El gas acarreador es Helio con una velocidad lineal de 35 cm por segundo. (NOTA: cuando se utiliza la purga del detector se recomienda utilizar nitrógeno).
- La Temperatura en el Puerto de Inyección y el Detector se mantiene a 70° C y 280° C, respectivamente.
- La Temperatura de la columna se programa de acuerdo a las siguientes etapas: 35° C durante 5 minutos se incrementa a 175° C con una rampa de calentamiento de 8° C por minuto, seguido de un incremento hasta 260° C con una rampa de 35° C por minuto y mantener ésta temperatura durante 16 minutos.
- Inyectar la disolución de referencia, y reportar la respuesta de los picos bajo el siguiente procedimiento: en el cromatograma con todos los componentes de la disolución de referencia la resolución (R), entre 2 componentes cualesquiera no debe ser menor de 1.0 y la desviación estándar relativa de la respuesta de los picos individuales por replica de inyecciones no debe ser mayor al 15%.

Procedimiento : Inyectar por separado volúmenes iguales (1 µl) de la disolución de referencia y la disolución de prueba en el cromatógrafo. Medir la respuesta de todas las señales presentes en el cromatograma de la solución de prueba. Identificarlos basándose en el tiempo de retención de cualquiera de las señales presentes en el cromatograma de la disolución referencia y calcular la cantidad de impurezas orgánicas volátiles detectadas.

A menos que se especifique otra cosa en la monografía individual, la cantidad de cada impureza orgánica volátil presente en la forma farmacéutica química no debe exceder los límites citados en la tabla No. 1

TABLA No. 1
Impurezas Orgánicas Volátiles Controladas por la U.S.P.

Impurezas Orgánicas Volátiles	Límite (ppm)
Benceno	100
Cloroformo	50
1,4 Dioxano	100
Cloruro de Metileno	500
Tricloroetileno	100

MÉTODO II : Este método se emplea para determinar residuos en materias primas poco solubles en agua y se utiliza la técnica de muestreo en fase vapor, en donde las impurezas orgánicas volátiles son atrapadas sobre un absorbente (Trampa) y la purga del gas es venteadada. Las impurezas orgánicas volátiles son desorbidas de la trampa por calentamiento de la misma y acarreadas al cromatógrafo de gases por un flujo rápido de la trampa con el gas acarreador.

Disolución de Referencia: Preparar la disolución de referencia como se indica directamente en el método I.

Disolución de Prueba : Preparar la disolución de prueba como se indica directamente en el método I.

Aparato de Purga y Trampa : Consiste en tres secciones separadas: Purga de la muestra, la trampa y el desorbente. La purga de la muestra está diseñada para aceptar 5 ml de muestra con una columna de agua la cual no debe ser más pequeña de 3 cm de profundidad. Entre el equipo, la columna y la trampa deben tener un volumen total no mayor de 15 ml. La purga se pasa continuamente por la columna de agua, como burbujas finamente divididas con un diámetro mayor de 3 mm del origen. La purga del gas está colocada al menos a 5 mm de la base de la columna de agua.

La trampa debe tener una longitud de al menos 25 cm y un diámetro interno no menor a 2.67 mm.

La trampa debe tener la longitud mínima indicada y estar empacada, el absorbente se encuentra en el siguiente orden a la entrada de la trampa: 7.7 cm de 2,6 - polímero de óxido de difenileno, 7.7 cm de sílica gel, y 7.7 cm de carbón. El desorbente es capaz de calentarse rápidamente en la trampa a 250°C. La trampa no debe calentarse a más de 250°C.

Las condiciones iniciales de la trampa son: la temperatura del horno es de 225°C, con una velocidad del gas inerte de no más de 20 ml por minuto. Cada que se utiliza la trampa esta debe ser acondicionada durante 15 minutos a 225°C.

Sistema Cromatógráfico: El equipo de purga y trampa se conecta al cromatógrafo de gases el cual está equipado con :

- Un detector de ionización a la llama .

- Columna de vidrio de 2.44 m x 2mm de DI la cual contiene 1% de fase de Polietilenglicol sobre carbón grafitizado con una área de superficie de 100 m²/g .
- Gas acarreador helio a un flujo de 40 ml/minuto.
- La temperatura de la columna es programada acorde a las siguientes etapas: 45°C durante 3 minutos, se incrementa a 220 °C con una rampa de 8°C por minuto y se mantiene a esta temperatura durante 15 minutos.

Procedimiento : Ajustar la purga de gas de nitrógeno a un flujo de 40 ml/minuto. Por separado introducir 5 ml de la disolución de referencia y la disolución de prueba en el sistema de purga y trampa y purgar durante 10 minutos a temperatura ambiente, en seguida conectar la trampa al cromatógrafo de gases. Ajustar el aparato de modo que desorba, e iniciar con la rampa de calentamiento en la columna. Ya introducida la trampa de las impurezas orgánicas volátiles en el cromatógrafo, rápidamente calentar la trampa a 180°C durante 4 minutos, posteriormente pasarle a la trampa un flujo de nitrógeno de 40 ml/min.

Recoger el cromatograma y medir la respuesta de las señales cromatográficas. El sistema debe ser adecuado para resolver todos los componentes de la solución de referencia : La resolución (R) entre cualesquiera dos componentes no debe ser menor de 1.5, y la desviación estándar relativa de la respuesta de los picos individuales no más del 10%.

La identificación se basa en el tiempo de retención de cada señal cromatográfica presente en el cromatograma de la solución de prueba. Calcular la cantidad de impurezas orgánicas volátiles presentes en el material.

A menos que se especifique otra cosa en la monografía, la cantidad de cada impureza orgánica volátil presente en la forma farmacéutica química no debe exceder los límites especificados en la tabla 1 a menos que se especifiquen otros en la monografía individual.

MÉTODO III. Igual que el método II solo que se adapta un selector de masas como detector, para poder determinar que tipo de iones están presentes en la muestra, así como también su concentración.

Disolución de Referencia de Prueba y Aparato de Purga y Trampa :Se prepara como se indica en el método II.

Condiciones Cromatográficas : Son las mismas que en el método II excepto que al cromatógrafo se le adapta un selector de masas en vez de un detector de ionización de llama.

El cromatógrafo de Gases se encuentra en interface con un espectrómetro de masas, las conexiones deben ser de vidrio, el cual debe desactivarse por silanización con dimetilclorosilano.

Para la adquisición continua y almacenamiento de datos se requiere de un sistema computarizado en interface con el espectrómetro de masas.

La computadora cuenta con un software el cual permite escrutar los datos.

MÉTODO IV. El procedimiento es el mismo que el descrito en el método II, excepto en el sistema de inyección ya que se toma 1 ml de la fase vapor (equipo de vapor confinado).

MÉTODO V. Se trabaja igual que en el método I, excepto que se tienen condiciones cromatográficas diferentes.

Disolución de Referencia y de Prueba : Proceder como se indica en el Método I.

Sistema Cromatográfico :

- Cromatógrafo de gases.
- Detector de ionización a la Llama.
- Columna analítica de 30 m de longitud * 0.53 mm d.i, 3.0 µm de espesor de película de 6% de cianopropilfenil 94% de dimetilpolisiloxano y una guarda columna de 5 m * 0.53 mm de sílica desactivada con fenilmetilsiloxano.
- Gas acarreador helio con una velocidad lineal de 35 cm/seg.
- La temperatura en el puerto de inyección y el detector se mantienen a 140°C y 260°C respectivamente.
- La temperatura en la columna se programa de acuerdo a las siguientes etapas: calentar a 40°C durante 20 minutos, incrementar rápidamente a 240°C y mantener esta temperatura durante 20 minutos.

El sistema debe ser adecuado para resolver todos los componentes de la disolución de referencia : La resolución (R) entre cualquiera dos componentes no debe ser menor de 3.0, y la desviación estándar relativa de las señales individuales no más del 15%.

Procedimiento: Proceder como se indica en el Método I, el volumen de inyección debe ser de 1 µl.

METODO VI. Se utiliza para determinar impurezas volátiles orgánicas en tabletas recubiertas.

Disolución de Referencia y Disolución de Prueba: Proceder como se indica en el Método I.
Condiciones Cromatográficas: Se emplea un cromatografo de gases con un detector de ionización de llama. El sistema cromatográfico se especifica en la monografía individual conforme a la tabla que se muestra en la descripción de los métodos para determinar impurezas orgánicas volátiles que propone la U.S.P. en su capítulo "Organic Volatile Impurities <467>".

Procedimiento: Proceder como se indica en el método I, el volumen de inyección es de 1 µl.

I.3 Materias primas usadas en la determinación de IVO's por el método IV USP 23.

Las materias primas seleccionadas en este trabajo para la determinación de impurezas Orgánicas Volátiles son: Polietilenglicol 8000, Estearato de calcio, Primogel y Dioxido de Titanio; debido a que estas son empleadas en la industria farmacéutica para la fabricación de medicamentos para consumo humano.

El método de análisis empleado para determinar Impurezas Volátiles Orgánicas para las materias primas anteriormente mencionadas es el método IV USP 23 <467> el cual emplea columnas capilares y un automuestreador de vapor confinado.

1.4 PROPIEDADES DE LOS DISOLVENTES Y MATERIAS PRIMAS UTILIZADAS

1.4.1 SEGURIDAD

La toxicidad y/o carcinogenicidad de cada uno de los disolventes usados en éste método ya se ha determinado, por lo cual deben tratarse como sustancias potencialmente dañinas para la salud. Deben ser manipuladas , bajo una campana de extracción .

Deben evitarse en la medida posible, trabajar con volúmenes grandes y es recomendable tomar alícuotas a partir de los frascos contenedores en viales de 25 ml, los cuales deberán quedar perfectamente sellados.

1.4.2 CLOROFORMO (5)

Nombre Común : Cloroformo

Nombre sistemático : Triclorometano

Formula Empírica : CHCl_3

Formula Estructural :

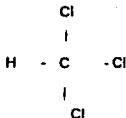


Figura No. 1

Descripción : Líquido no inflamable, pesado, muy volátil, de sabor dulce de olor característico. El cloroformo reacciona fuertemente con acetona, en presencia de hidróxido de potasio o hidróxido de calcio. Es un reactivo explosivo en presencia de fluorina, metales (aluminio, magnesio, sodio, litio y potasio), sodio-metanol, hidróxido de sodio-metanol, metóxido de sodio, nitrometanos y alcalis de aluminio.

Propiedades Fisicoquímicas :

Peso Molecular : 119.39

Forma Física : Líquido Incoloro

Punto de Fusión : - 63.5 ° C

Punto Ebullición : 61 - 62°C

Punto de Inflamación : -----

Gravedad Específica : 1.49845 (20°C)

Densidad de Vapor (aire = 1) : 4.12

Presión de Vapor : 100 mmHg (10.4°C)

Solubilidad : Un mililitro se disuelve en 200 ml de agua a 25°C. Miscible con alcohol, benceno, eter, eter de petróleo, tetracloruro de carbono, disulfuro de carbono y aceites.

Toxicidad : La inhalación de Cloroformo en grandes concentraciones (1000 ppm) puede producir vértigo, náuseas, y dolor de cabeza, a concentraciones mayores de 1000 ppm también puede producir daños en el hígado y riñón.

Inhalación por vapor : La propiedad anestésica del cloroformo causa : adormecimiento, mareos, náuseas, a dosis de 10,000 - 15,000 p.p.m. causa anestesia en humanos, una dosis de 15,000 18,000 p.p.m. puede ser fatal causando parálisis respiratoria o paro cardíaco. Con ingestión de alcohol aumenta su potencia de toxicidad de la fase vapor.

Contacto con los ojos: El vapor y líquido irrita los ojos, produciendo en algunos casos conjuntivitis.

Contacto con la piel: El líquido puede causar afecciones en la piel y quemaduras químicas.

Usoa : Anestésico intermediario químico, especialmente en la síntesis de fluorocarbonos 22, propelente usado en la industria farmacéutica como disolvente.

1.4.3 1,4 DIOXANO (5)

Nombre Común : 1,4 Dioxano

Nombre Sistemático: 1,4 - dioxaciclohexano

Sinónimos : p-Dioxano, 1,4 - Dióxido de Dietileno.

Formula Empírica : C₄H₈O₂

Formula Estructural :



Figura No.2

Descripción : Líquido Flammable, olor agradable, vapor dañino.

Propiedades Fisicoquímicas :

Peso Molecular : 88.10 g/mol

Forma Física : Líquido incoloro

Punto de Fusión : 11.8 °C

Punto Ebullición : 101.3 °C

Punto de Inflamación : 11°C

Gravedad Específica : 1.03 (20°C/4°C)

Densidad de Vapor (aire = 1) : 3

Presión de Vapor : 37 mmHg (25°C)

Solubilidad : Miscible en todas proporciones con agua, acetona, alcohol y muchos disolventes orgánicos.

Toxicidad : Es altamente tóxico puede causar depresión en el sistema nervioso central, necrosis en el hígado y riñones, así como también puede causar irritación en las membranas mucosas y pulmones.

Contacto con los ojos : El vapor y líquido irrita los ojos.

Contacto con la piel: La exposición prolongada en la piel produce: sed y grietas en la piel. El dioxano se absorbe directamente en la piel en cantidades tóxicas. Provoca incoordinación, narcosis, eritema; así como también puede provocar daños en el hígado y riñón.

Usos : El 1,4 Dioxano se utiliza en la industria farmacéutica como un disolvente.

I.4.4 CLORURO DE METILENO (5)

Nombre Común : Diclorometano

Nombre Sistemático : Diclorometano

Sinónimos : Cloruro de Metileno, Biclouro de Metileno

Formula Empírica : CH₂Cl₂

Formula Estructural :

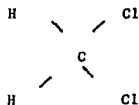


Figura No. 3

Descripción : Líquido incoloro, vapor no flamable y al mezclarse con el aire no es explosivo.

Propiedades Fisicoquímicas :

Peso Molecular : 84.94 g/mol

Forma Física : Líquido incoloro

Punto de Fusión : - 95 °C

Punto Ebullición : 39.75 °C

Punto de Inflamación: No tiene

Gravedad Específica : 1.3255 (20°C/4°C)

Densidad de Vapor (aire = 1) : 2.93

Presión de Vapor : 380 mmHg (22°C)

Solubilidad : Soluble en 50 partes de agua, miscible con alcohol, éter y Dimetil Formamida.

Toxicidad : La principal ruta de Intoxicación es por inhalación, en donde una alta concentración induce: narcosis, anestesia y fatiga.

Contacto por Inhalación del Vapor : El principal efecto tóxico es sobre el sistema nervioso central, actúa como narcótico a bajas concentraciones (p.p.m.), causa irritación, debilidad y náuseas; a altas concentraciones (500 p.p.m) causa problemas respiratorios, primeramente bronquitis y edema pulmonar, vómito y cambios en la sangre.

Contacto con los Ojos: El vapor y líquido causan irritación en los ojos.

Contacto con la Piel : Puede provocar quemaduras y desarrollar dermatitis.

Uso: Es utilizado como un anestésico, disolvente para grasas, aceites; utilizado también como adhesivo en procesamiento de plásticos.

Precaución: El dicloro metano es esencialmente no flamable, a excepción cuando se mezcla con oxígeno enriquecido con aire o bien a elevadas temperaturas y presiones. Se descompone al contacto con el calor, produce fosfénos los cuales son altamente tóxicos. Es altamente reactivo en presencia de agentes oxidantes (oxígeno líquido, tetroxido de dinitrógeno, pentóxido, ácido nítrico concentrado, litio, sodio, potasio y aluminio caliente).

1.4.5 TRICLOROETILENO. (5)

Nombre Común: Tricloroetileno

Nombre Sistemático: 1,1,2 - Tricloroetano.

Sinónimos: Tricloroetil, Trieleno, Tricloran, Alglen, Trimar, Westresol

Formula Empírica: C₂HCl₃

Fórmula Estructural :

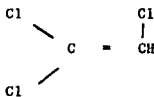


Figura No. 4

Descripción: Líquido no flamable, líquido móvil, olor semejante al cloroformo.

Propiedades Físicoquímicas:

Peso Molecular : 131.40 g/mol

Forma Física: Líquido

Punto de Fusión : - 84.8°C

Punto de Ebullición : 86.7°C

Punto de Inflamación: 12 °F (-11°C)

Gravedad Específica : 1.4649 (20°C/4°C)

Densidad de Vapor (aire = 1) : 4.53

Presión de Vapor : 19.9 mmHg (0°C); 57.8 mmHg (20°C)

Solubilidad : Prácticamente insoluble en agua, miscible con éter alcohol, cloroformo.

Toxicidad : En humanos, la exposición del tricloroetileno afecta principalmente al sistema nervioso central, los síntomas comunes son, dolor de cabeza, vértigo, náuseas, fatiga. La exposición de 2 horas a 1000 ppm causa efectos adversos

Contacto por inhalación del Vapor : Causa principalmente daños al sistema nervioso central. La exposición en humanos (5000 p.p.m.) en unos pocos minutos causa narcosis y muerte; una exposición prolongada de 200 p.p.m. causa debilitamiento, vértigo, pérdida de memoria, depresión y falta de coordinación. Repetidas exposiciones causan anemia, problemas digestivos y respiratorias

Contacto con los ojos : El vapor y líquido causan irritación en los ojos, y posible inflamación, conjuntivitis y daño en la cornea.

Contacto con la piel : Causa irritación, grietas en la piel y dermatitis.

Uso : Principalmente utilizado como un limpiador de la superficie de los metales, buen disolvente, también utilizado en el procedimiento de extracción de disolventes, como un intermediario químico, anestésico obstétrico.

1.4.6 BENCENO. (6)

Nombre Común: Benceno

Nombre Sistemático: Benceno

Sinónimos : Ciclohexatrieno, Benzol

Fórmula Empírica: C₆H₆

Fórmula Estructural :



Figura No. 6

Descripción: Líquido claro, sin color, altamente inflamable, olor característico.

Propiedades Físicoquímicas :

Peso Molecular : 78.11 g/mol

Forma Física: Líquido sin color

Punto de Fusión : 6°C

Punto de Ebullición : 80.1°C

Punto de Inflamación : 12 °F (-11°C)

Gravedad Específica : 0.8787 (20°C/4°C)

Densidad de Vapor (aire = 1) : 2.8

Presión de Vapor : 95 mmHg (20°C)

Solubilidad : Miscible con alcohol, cloroformo, éter, disulfuro de carbono, tetracloruro de carbono, ácido acético glacial, acetona, aceites.

Toxicidad : En humanos, la exposición por inhalación leve de benceno puede producir un cuadro de delirio leve, caracterizado por excitación, euforia e impaciencia, a una exposición significativamente alta (1000 ppm), los síntomas son progresivos se presenta depresión, adormecimiento, estupor e inconsciencia leve.

La exposición por inhalación crónica 25 - 50 ppm de benceno puede producir cambios en el cuadro sanguíneo incluyendo macrocitos, decrecimiento en la cuenta de glóbulos rojos, disminución de plaquetas, concentración de hemoglobina y leucocitos. Cualquiera de estos efectos hematológicos pueden ser vistos en cualquier individuo. La exposición continua de concentraciones altas (probablemente más de 100 ppm) puede resultar engañoso en un cuadro sanguíneo severo el cual incluye Leucopenia o anemia aplástica leve con síntomas de dolor de cabeza, vértigo, bajo apetito, nerviosismo, irritabilidad, hemorragia y hematuria.

Contacto por inhalación del vapor : En estudios realizados en ratas, el benceno presenta baja toxicidad, a una cantidad de 400 p.p.m. produce narcosis y a una cantidad de 10,000 p.p.m. causa la muerte en cuestión de horas.

Contacto con los ojos: El vapor y líquido causan irritación en los ojos.

Contacto con la piel: Causa eritema, resequedad en la piel e infecciones secundarias. En cantidades pequeñas el benceno se absorbe rápidamente en la piel, posiblemente cause efectos tóxicos por inhalación del vapor.

El benceno es un líquido inflamable, el vapor en contacto con el aire puede producir explosiones. Este reacciona fuertemente con agentes oxidantes, perclorato de plata, peróxido de sodio y potasio, oxígeno líquido, trióxido de cromo, ácido crómico, ácido nítrico y ozono.

I.4.7 ESTEARATO DE CALCIO. (6)

Nombre Común : Estearato de Calcio

Sinónimos : Sales de calcio ácido octadecanólico, sales de calcio ácidosstearico.

Fórmula Empírica: C₃₆H₇₀CaO₄

Fórmula Estructural: [CH₃ (CH₂)₁₆ COO]₂ Ca

Descripción: Polvo fino voluminoso blanco o blanco amarillento, olor característico.

Propiedades Fisicoquímicas:

Peso Molecular: 607 g/mol

Punto de Fusión: 149°C - 155°C.

Densidad Aparente: 28 lbs/ft³

Area de Superficie Específica: 5.76 - 7.44 m².

Solubilidad: Insoluble en agua, alcohol, éter, cetonas y otros disolventes comunes.

Toxicidad: Causa irritación gástrica, el cálculo por sí mismo no tiene significativamente toxicidad.

Usos: El Estearato de calcio tiene propiedades como lubricante, antiadherente, emulsificante, agente

estabilizante, agente suspensor, Tiene propiedades pobres como agente deslizante.

1.4.8 PRIMOGEL. MATERIA PRIMA (6)

Nombre Común: Almidón de sodio glicolato

Sinónimos: Almidón carboximetil sodio; explotab; almidón carboximetil éter sal de sodio.

Fórmula Empírica:

Fórmula Estructural:

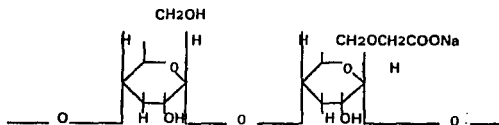


Figura No. 6

Descripción: Polvo blanco, insípido, inodoro, al microscopio se observan gránulos esféricos de 30 a 100 um de diámetro

Propiedades Fisicoquímicas:

Peso Molecular: -----

Punto de Fusión: ----

Area de Superficie Especifica: m². ----

Solubilidad: A 2% w/v, este se dispersa en agua fría y es insoluble en disolventes orgánicos.

Toxicidad: ----

Usos: Se utiliza como agente desintegrante.

1.4.9 POLIETILENGLICOL 8000. (6)

Nombre Común: Polietilenglicol

Sinónimos: Macrogol, polióxetilenglicol.

Fórmula Empírica: CH₂ (CH₂OCH₂)_n CH₂OH

n = Número de grupos oxetilenos

Fórmula Estructural: CH₂ (CH₂OCH₂)_n CH₂OH

n = 158 - 204

Descripción: Es un sólido blanco, su olor es graso y dulce.

Propiedades Fisicoquímicas:

Peso Molecular: 7000 - 9000

Punto de Fusión: 60 - 63 ° C.

Densidad Aparente: 1.15 - 1.21 g/ml

Area de Superficie Especifica: 55 mN / m (solución acuosa al 10%)

Solubilidad: Todos los grados son solubles en agua y miscibles en todas las proporciones con otros PEGs. Disoluciones acuosas de alto peso molecular pueden formar gales. PEGs líquidos son solubles en alcoholes, glicoles, acetona, glicerol y benceno. Los PEGs sólidos son solubles en metanol, etanol, acetona y cloruro de metileno. Son ligeramente solubles en otros hidrocarburos alifáticos, pero insolubles en parafinas líquidas, grasas y aceites fijos.

Toxicidad: La toxicidad es baja; PEG esta permitido como un aditivo para alimentar animales. Ld50 para PEG 8000 es de 50 g/Kg. (rata, oral). La concentración máxima recomendada de PEG en soluciones parenterales es aproximadamente 30%. Se han observado efectos hemolíticos a grandes concentraciones de 40%. La irritación de la piel es baja, pero los PEGs pueden causar efectos de comezón local cuando se use como bases de supositorios por su hipertonicidad.

Uso: Es utilizado como agente gelatinizante, como base para supositorios, agente suspensor, solvente, solubilizante, lubricante, plastificante en películas.

1.4.10 DIOXIDO DE TITANIO. (6)

Nombre Común: Dióxido de Titanio

Sinónimos: Unitano, Broquita.

Fórmula Empírica: TiO₂

Fórmula Estructural: TiO₂

Descripción: Polvo blanco, sin olor, insípido.

Propiedades Fisicoquímicas:

Peso Molecular: 79.90 g/mol.

Punto de Fusión: 1855 °C

Densidad Aparente: 4.23 g/ml

Solubilidad: Insoluble en agua, ácido clorhídrico, ácido nítrico o ácido sulfúrico diluido. Soluble en ácido sulfúrico concentrado y ácido fluorhídrico. Puede ser soluble por fusión con bisulfito de sodio y hidróxidos alcalinos.

Toxicidad: A concentraciones altas del polvo, puede causar irritación en el tracto respiratorio.

Usos: El Dioxido de titanio se utiliza para darle color blanco a la película de tabletas recubiertas, con azúcar y cápsulas de gelatina dura, en laca se utiliza como un opacante que extiende el color.

El Dioxido de titanio absorbe al U.V. -- de 290 - 700 nm.

I.5 FUNDAMENTO DE LA CROMATOGRAFIA

I.5.1 Fundamentos de la Cromatografía

La cromatografía es la separación física de dos o más compuestos; que se basa en la migración diferencial entre dos fases; una estacionaria la cual puede ser un sólido o una película delgada que recubre el sólido y la otra móvil la cual consiste en un gas o un líquido.

La cromatografía de gases se puede clasificar en : Cromatografía Líquido - Gas (CLG) y Cromatografía Gas - Sólido (CGS).

Los líquidos orgánicos de alto punto de ebullición constituyen la fase estacionaria en la CLG. La fase líquida se extiende como una película delgada sobre un sólido inerte llamado soporte sólido. La base para la separación es la partición de la muestra dentro o fuera de ésta. Si se puede encontrar una fase líquida que tenga solubilidad selectiva para dos compuestos, entonces estos dos pueden separarse mediante cromatografía de gases.

Las principales ventajas que presenta la cromatografía de gases son:

a). **Alta resolución.** Las columnas en especial las capilares pueden generar miles de platos teóricos en unos cuantos minutos.

b). **Velocidad.** El análisis se realiza en unos cuantos minutos, muchas separaciones útiles se completan en 10 minutos.

c). **Sensibilidad.** Una de las razones principales por las que se usa ampliamente la CG es su alta sensibilidad . El detector de conductividad térmica puede fácilmente cuantificar en el orden de los microgramos. El detector de ionización de llama fácilmente cuantifica nanogramos (10^{-9} g) y, los detectores más selectivos como el de captura de electrones y el detector fotométrico de llama alcanzan los picogramos (10^{-12} g). Debido a ésta sensibilidad, la cromatografía de gases es una técnica preferida para el análisis de trazas. Otra ventaja es la pequeña cantidad de muestra requerida para el análisis.

d). **Confiabilidad de los Resultados.** Este método permite obtener muy buenos resultados cuantitativos; sin embargo, la exactitud es función de muchos factores.

Principales limitaciones de la Cromatografía de Gases:

a). Sólo pueden manipularse muestras volátiles . Es difícil analizar compuestos de elevada polaridad y/o alto peso molecular.

b). La cromatografía de gases es una buena técnica cuantitativa, pero una técnica cualitativa deficiente ya que para identificar la muestra se comperan los tiempos de retención de patrones y muestras conocidas.

c). La CG funciona bien con microgramos y miligramos de muestra, pero es muy difícil manipular cantidades de un gramo o mayores, ya que la columna puede obstruirse.

1.5.2 TÉRMINOS EMPLEADOS EN CROMATOGRAFIA

En la cromatografía la fase móvil puede ser un gas o un disolvente o eluyente cuya función es transportar las moléculas de la muestra a través de la columna sin interactuar con está.

1.5.2.1 Cromatograma : El Cromatograma es el registro gráfico de los componentes de una muestra

1.5.2.2 Tiempo de retención : El Tiempo de retención t_r es el tiempo que transcurre desde el punto de inyección al máximo de la señal cromatografica , este valor siempre será igual en la misma columna y bajo las mismas, condiciones de trabajo (ver figura No. 1).

1.5.2.3 Tiempo Muerto : El Tiempo Muerto (t_m), es el tiempo transcurrido desde la inyección hasta lograr una señal cromatografica inerte como la del aire. Es una medida del tiempo que cada componente permanece en la fase gaseosa (ver figura No.1).

1.5.2.4 Tiempo de retención relativo: El tiempo de retención relativo (t'_r), es el tiempo que un componente permanece en la fase estacionaria. Se mide desde t_m hasta al máximo de la señal del compuesto de interés . (ver figura No. 1).

El tiempo de retención es simplemente la suma del tiempo gastado entre las dos fases; t_m , el tiempo en la fase móvil y t'_r es el tiempo gastado en la fase estacionaria:

$$t_r = t_m + t'_r \quad (1)$$

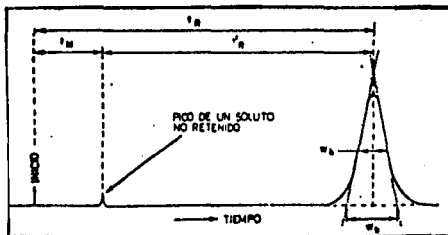


Figura 7. Se muestra un cromatograma típico, en donde t_r es el tiempo de retención, t_m es el tiempo muerto (t_m) y t'_r es el tiempo de retención corregido ó relativo.

El tiempo de retención ésta en función de los siguientes parámetros : gas acarreador, temperatura, largo de la columna y la Interacción muestra - fase estacionaria.

El tiempo de retención puede cambiar a volumen de retención al multiplicar el tiempo por el caudal de la fase móvil.

Vol. de retención = flujo ml/min x Tiempo de retención

1.5.2.5 FACTOR DE CAPACIDAD : El factor de capacidad es el coeficiente de reparto común a todos los procesos de distribución :

$$k = \frac{\text{conc. de la muestra en la fase estacionaria}}{\text{conc. de la muestra en la fase móvil}} \quad (2)$$

donde

K es una constante termodinámica que depende de la presión, el tiempo y la relación de fases.

El factor de capacidad (k) puede relacionarse con el coeficiente de reparto K mediante la ecuación:

$$K = kB \quad (3)$$

donde B es la relación de fase:

$$B = \frac{\text{Volumen de la fase móvil}}{\text{Volumen de la fase estacionaria}} \quad (4)$$

$$K = \frac{\text{concentración de la muestra en la fase estacionaria}}{\text{concentración de la muestra en la fase móvil}} \quad (5)$$

También mide la solubilidad de la fase estacionaria. Depende de la temperatura y al aumentar ésta generalmente disminuye K y reduce la solubilidad y el tiempo que permanece el-compuesto en la fase líquida.

1.5.2.6 RETENCIÓN RELATIVA : La retención relativa es la relación del tiempo que dos señales permanecen en la fase estacionaria, es decir la relación de t_r , es también proporcional a los coeficientes de reparto.

$$= \frac{tr'(2)}{tr'(1)} = \frac{K(2)}{K(1)} = \frac{k(2)}{k(1)} \quad (6)$$

Suele denominarse a la retención relativa la eficiencia del disolvente, ya que mide la selectividad de la fase estacionaria respecto a los dos líquidos (ver figura 2)

$$= \frac{tr'(B)}{tr'(A)} = \frac{tr(B) - t_0}{tr(A) - t_0} \quad (7)$$

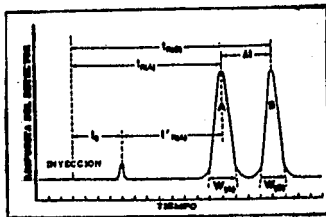


Figura 8. Cromatograma que muestra las variables para el cálculo de la selectividad.

En cromatografía la selectividad puede aumentarse con :

- a). El cambio de la fase móvil
- b). Cambio de la fase estacionaria, el cambio de la columna, variar el tamaño de partícula.
- c). Temperatura.- Puede cambiarse la selectividad aumentando o disminuyendo la temperatura.
Al controlar la temperatura correctamente se mejora la reproducibilidad de una separación.

1.5.2.7 ECUACIÓN DE RESOLUCIÓN : La resolución es una medida de la capacidad que tiene una columna para separar dos señales y es definida como la distancia que hay entre el centro de cada señal dividida entre el promedio de las anchuras de las mismas .

Tanto la selectividad como la eficiencia N y el factor de capacidad K están estrechamente ligadas a la resolución al utilizar la siguiente fórmula:

$$R = \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{K'}{1 + K'} \right) \sqrt{N} \quad (8)$$

El valor de N es determinado principalmente por los varios procesos dinámicos que se realizan durante la separación , y α y K son propiedades termodinámica o de equilibrio del sistema cromatografico. Es posible variar N por cambios en la longitud de la columna, cambios en la velocidad de flujo del gas, diferente tamaño de partícula de la fase estacionaria, así también podemos variar α y K, al modificar la fase móvil y estacionaria o bien variando la temperatura y la presión (ver Figura 9).

1.5.2.7 ECUACIÓN DE RESOLUCIÓN : La resolución es una medida de la capacidad que tiene una columna para separar dos señales y es definida como la distancia que hay entre el centro de cada señal dividida entre el promedio de las anchuras de las mismas .

Tanto la selectividad como la eficiencia N y el factor de capacidad K están estrechamente ligadas a la resolución al utilizar la siguiente fórmula:

$$R = \left(\frac{1}{4} \sqrt{N} \right) (\alpha - 1/\alpha) (K' / 1 + K') \quad (8)$$

El valor de N es determinado principalmente por los varios procesos dinámicos que se realizan durante la separación , y α y K son propiedades termodinámica o de equilibrio del sistema cromatografico. Es posible variar N por cambios en la longitud de la columna, cambios en la velocidad de flujo del gas, diferente tamaño de partícula de la fase estacionaria, así también podemos variar α y K, al modificar la fase móvil y estacionaria o bien variando la temperatura y la presión (ver Figura 9).

Gráficamente se observan los cambios provocados por α , K y N . (Ver figura 9).

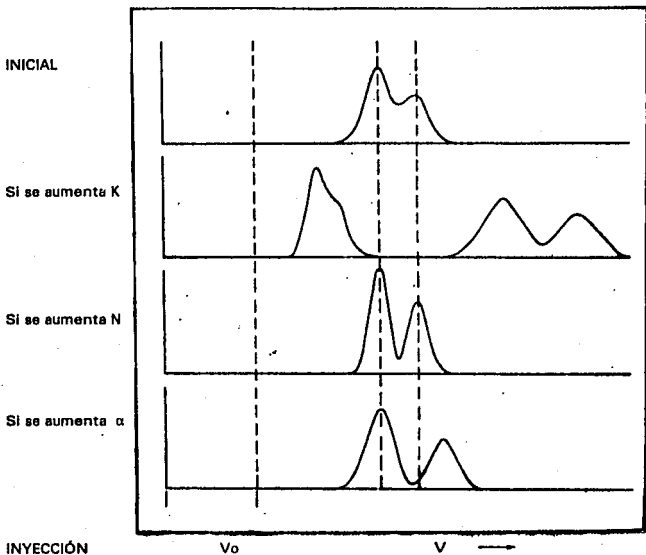


Figura 9. Cromatogramas observados al modificar α , k y N

1.5.2.8 EFICIENCIA DE LA COLUMNA

Al introducir una muestra en la columna esta se presenta como un estrecho perfil de concentración (T_0), a medida que la muestra se reparte entre la fase estacionaria y móvil y es arrastrada por la última a través de la columna se extiende en una concentración de perfil normal (T_1). Mientras más tiempo permanezca la banda en la columna más se ensancha, volviéndose mas corto y más ancho pero sin perder su forma (T_2). A la

capacidad de una columna de proporcionar bandas altas y delgadas se le llama alta eficiencia de la columna y se mide calculando el número de platos teóricos.

Los platos teóricos es un concepto que simboliza las etapas de partición que sufren las moléculas de la muestra al pasar a lo largo de la columna.

H.E.P.T. es la longitud de columna necesaria para generar un plato teórico.

$$\text{H.E.P.T.} = \frac{l}{n} \quad (9)$$

l = Longitud de la columna en cm o m.

n = Número de platos teóricos.

El diagrama de Van Deemter demuestra una ecuación de tres términos y cada uno de ellos describe un efecto físico que relaciona los parámetros operacionales de la columna con su eficiencia. (Ver figura 7).

$$H = A + B/\mu + C\mu \quad (10)$$

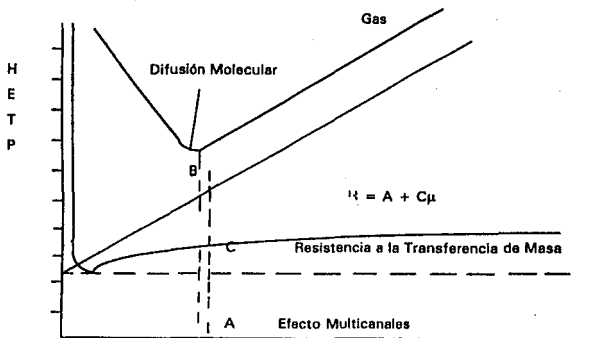


Figura 7. Gráfica de Van Deemter que muestra la velocidad óptima de la fase móvil y la eficiencia de la columna en cromatografía de gases y líquidos.

Para columnas capilares el término A no existe ya que estas no contienen material de empaque. Por lo tanto la ecuación (10) se reduce a la siguiente :

$$H = B/\mu + C \quad (11)$$

La ecuación de Van Deemter muestra la velocidad óptima de la fase móvil y la eficiencia de la

columna en cromatografía de gases y líquidos.

A = Efecto de caminos multicanales.

B = Difusión molecular.

C = Resistencia a la transferencia de masa.

μ = Velocidad lineal media del gas.

A = EFECTOS MULTICANALES.

En cualquier columna empacada habrá una serie de caminos de diversas longitudes que atraviesan la columna. Como ya se mencionó anteriormente este efecto no existe en columnas capilares.

El efecto multicanales describe el ensanchamiento de la señal debido al patrón de flujo de la fase móvil en la columna. A medida que el gas portador y la muestra se desplazan a través de la columna, se distribuyen éstos entre los diferentes caminos, puesto que la longitud de los caminos es diferente. Las moléculas de la muestra se mueven a distinta velocidad, ocasionando el ensanchamiento del pico y reducen la eficiencia de la columna. El ensanchamiento depende del tamaño de las partículas del relleno, regularidad del relleno.

Este efecto se mejora usando partículas pequeñas de tamaño uniforme y columnas de diámetro pequeño, evitar fragmentaciones que produce el mal empaque y el golpeo mecánico de la columna.

B = DIFUSIÓN MOLECULAR.

Este término describe la difusión que tiene lugar en la fase móvil gaseosa cuando el soluto molecular migra desde las zonas de alta concentración hasta las zonas de menor

concentración, provocando una dispersión que hace que disminuya la eficiencia de la columna. La cantidad de difusión es inversamente proporcional a la velocidad lineal media del gas, ya que un flujo rápido significa un tiempo de difusión más breve. El procedimiento para disminuir el término B incluye; caudales mas rápidos (menor tiempo para la difusión); gas portador mas denso (nitrógeno o argón) y presión elevada dentro de la columna para inhibir la difusión.

Las moléculas de la muestra deben transferirse de la fase móvil a la fase estacionaria, penetrar en esta última y difundirse para así volver a la fase móvil y salir de la columna.

C = RESISTENCIA A LA TRANSFERENCIA DE MASAS

La resistencia a la transferencia de masa incluye varios términos los cuales son:

- a). Espesor de la película líquida. Una película uniforme de poco espesor facilitará la transferencia de masa y evitará el efecto de dispersión de la señal. El límite del espesor de la película está determinado por el área de superficie del soporte sólido y la actividad adsorbente del mismo.
- b). Difusibilidad en la fase líquida. Sería útil lograr una alta difusibilidad para que las moléculas de la muestra pudieran moverse rápidamente. Con un líquido de baja viscosidad, temperatura elevada en la columna y una muestra compuesta de moléculas de pequeño tamaño aumentará la difusibilidad.
- c). Factor de capacidad. Este término presenta un máximo para $K = 1$ un tiempo de retención que sea el doble del aire. Comúnmente K tendrá un valor de 10 o mayor, y mientras mayor sea K menor será el término C que se produzca.

Es difícil predecir el efecto del aumento de la temperatura de la columna. Al aumentar la temperatura el término B (difusión en la fase gaseosa); disminuirá el término C por incrementarse la difusibilidad en la fase líquida, pero inversamente aumentará el término de C, por disminuir K.

μ = VELOCIDAD LINEAL MEDIA DEL GAS (ec. 12)

La velocidad media del gas puede determinarse a partir de :

$$\mu = \frac{l}{t_0} \quad (12)$$

l (longitud de la columna en cm)

t_0

1.5.2.9 NUMERO DE PLATOS TEÓRICOS

La eficiencia de la columna se mide por la altura equivalente de platos teóricos (H), éstos miden el ensanchamiento de la banda del soluto de la muestra a medida que pasa a través de la columna. Los platos teóricos se calculan directamente del cromatograma.

Existen varios factores que afectan el número de platos teóricos, tales como : el tiempo de retención, la longitud de la columna, el soluto de la muestra, el caudal, tamaño de la muestra y la técnica de inyección.

1.6 COMPONENTES DE UN CROMATOGRÁFO DE GASES

Las partes básicas de un equipo para el análisis de la fase vapor son (23).

(Ver figura No. 9) :

- 1). Automuestreador de Vapor Confinado.
- 2). Reservóreo del Gas portador.
- 3). Puerto de Inyección (entrada de la muestra).
- 4). Horno con Termostato (Cromatografo).
- 5). Columna.
- 6). Detector.
- 7). Integrador.

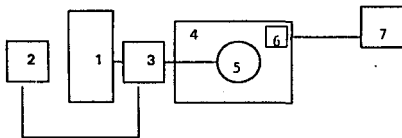


Figura 9. Componentes de un Cromatógrafo

1.6.1 Automuestreador de Vapor Confinado :

Este sistema opera con un sistema de una válvula y un rizo en el cual se transfiere la muestra de vapor al cromatógrafo de gases. La muestra contenida en un vial se calienta a una temperatura determinada, la cual se mantiene constante durante un lapso dado llamado tiempo de equilibrio, una vez transcurrido este tiempo, se inyecta gas portador en el interior del vial, a una determinada presión (presión de presurización); para que en la siguiente etapa se llene el rizo automáticamente con la fase vapor y finalmente ésta se transfiere al puerto de inyección del cromatógrafo a través de la línea de transferencia del automuestreador de vapor confinado. Al finalizar este proceso el rizo y la aguja del automuestreador se les hace pasar un flujo continuo del gas portador para evitar así que queden residuos de la muestra anterior (21).

1.6.2 Gas Portador.

El propósito principal del gas portador es transportar los componentes volátiles de la muestra a través de la columna. El gas deberá ser inerte y no reaccionar ni con la muestra ni con la fase estacionaria. La selección del gas portador puede influir tanto en la separación como en la veracidad del análisis.

El propósito secundario es el de obtener una matriz adecuada para que el detector responda a adecuadamente a la muestra. En el caso del detector de conductividad térmica, el helio producirá una sensibilidad siete veces mayor que la del nitrógeno. En algunos detectores de tipo de ionización se especifica el gas portador mediante la respuesta del mecanismo del detector.

1.6.3 Puerto de Inyección (entrada de la muestra)

El inyector de la muestra deberá permitir la introducción de una amplia variedad de muestras, incluyendo gases y líquidos. (15).

El inyector sin división de flujo es empleado para el análisis de residuos de sustancias, cuando no es fácil implementar sus requerimientos se presentan algunas desventajas, en este se pueden generar señales anchas si los solutos de la muestra no son concentrados antes de entrar a la columna , aquí el flujo de purga se dirige de modo que este no

alcance el inserto (el cual consiste de un tubo de borosilicato de aproximadamente 2 - 4 mm d.i y 5 - 10 cm de longitud), del inyector en el momento de la inyección; terminada la inyección se deja el tiempo necesario para que el disolvente y los componentes de la muestra se reconcentren en la cabeza de la columna para así después se dirija nuevamente el flujo de purga a través del inserto para después ser eliminado (24).

El inyector con división de flujo es empleado para el análisis de sustancias complejas, pero puede adaptarse mediante una relación de división de flujo para así poder analizar trazas. El fundamento de operación es el siguiente : el flujo total de gas portador previamente calentado se divide en dos flujos, uno que pasa por debajo del septa del puerto de inyección para realizarle una purga (2 - 5 ml/min) y el otro más grande, que entra a la cámara de vaporización o inserto en donde la muestra es vaporizada, posteriormente, cerca de la entrada de la columna este flujo de gas portador-muestra vaporizada sufre otra división en dos flujos, el más pequeño entra a la columna y el restante es eliminado a la atmósfera (21). Las desventajas de este inyector son : restricción del análisis de solutos termolábiles, pérdida de solutos de baja volatilidad y consumo de grandes cantidades de gas portador.

1.6.4 Horno con Termostato

La columna lleva un termostato para que la separación pueda efectuarse a una temperatura reproducible. Además es necesario para mantener la columna dentro de un amplio intervalo de temperaturas, hasta 350°C. El control de la temperatura de la columna es uno de los procedimientos más fáciles y eficaces para promover la separación.

La temperatura de la columna deberá ser suficientemente alta para que el análisis se efectúe en un plazo razonable y suficientemente baja para lograr la separación deseada. Según una aproximación sencilla hecha por Giddings, el tiempo de retención se duplica por cada 30°C que disminuye la temperatura de la columna. En la mayoría de las muestras, cuando la temperatura es más baja mejor es la separación.

1.6.5 Columna.

En la columna se lleva a cabo la separación de los componentes de la muestra, el cual es el objetivo primario de la CG. Escoger la columna apropiada es la decisión más importante y más difícil en una buena técnica para cromatografía de gases.

Las columnas tubulares abiertas (columnas capilares), se introdujeron en 1957 por M.J.E. Golay. Estas columnas mostraron un dramático incremento en el poder de separación sobre las columnas empacadas convencionales (15).

Las columnas capilares presentan mayor eficiencia, son más inertes, más rápidas en comparación con las columnas empacadas, así mismo estas presentan desventajas una de las principales es que tienen una baja capacidad de carga.

En la Tabla No. 2 se mencionan algunas diferencias básicas entre columnas capilares y empacadas (15):

Tabla No. 2

Especificaciones	Columnas Empacadas	Columnas Capilares
Longitud (metros)	1.5 - 6	5 - 100
Diámetro interno (milímetros)	2 - 4	0.2 - 0.7
Permeabilidad específica (10) cm ²	1 - 10	10 - 100
Flujo (ml/min)	10 - 60	0.5 - 15
Presión (psi)	10 - 40	3 - 40
Platos (2m, 50m)	5000	150,000
Platos efectivos por metro	2,500 (2 mm d.i.)	3000 (0.25 d.i.)
Capacidad	10 ug/señal	50 ng/señal
Espesor de película líquida	1 - 10	0.05 - 1.0

Las columnas capilares las podemos clasificar en (15, 25,) :

1. Columnas capilares : En donde la fase estacionaria se impregna a la pared interior de un tubo previamente lavado con un medio fuertemente básico o ácido.
2. Columnas Capilares con soporte (Pora Plot) : La fase estacionaria impregna un soporte inerte finamente dividido (tierras silíceas o alumina).
3. Columnas Capilares de pared recubierta : La fase estacionaria impregna en la pared interior de un tubo ya sea de gran calibre o megaboro (0.50 - 0.75 mm de d.i.) o de pequeño calibre (0.20 - 0.35 mm de d.i.).

Las características deseables de una fase estacionaria son : Estabilidad química, Estabilidad Térmica , larga vida útil y selectividad.

Existen columna de enlaces cruzados para así evitar que la fase estacionaria se desprenda con los cambios de temperatura empleados en algunos análisis.

1.6.8 **Detector.**

El detector es un dispositivo que mide la concentración de cada uno de los componentes de la muestra y genera una señal eléctrica proporcional a dicha concentración.

Las características más importantes de un Detector son:

- a). **Sensibilidad.** Denota la cantidad de señal generada para determinada concentración de una muestra. El detector sensible genera una señal eléctrica grande para un de determinado tamaño de muestra. La sensibilidad también puede medirse como la pendiente de la gráfica de la respuesta del detector en función de la concentración de la muestra.
- b). **Ruido.** Se refiere a la respuesta del detector de corta duración y al azar determinada por las propiedades eléctricas, la temperatura o la sensibilidad al caudal. El ruido determina cómo detectar una muestra pequeña. Por lo general se define como cantidad mínima detectable (c.m.d.) aquella muestra lo suficientemente grande para generar una señal dos veces mayor que su nivel de ruido. Obsérvese que tanto la sensibilidad como el ruido determinan la c.m.d.
- c). **Respuesta universal.** Significa que el detector genera una respuesta para todos los componentes de la muestra, exceptuando el gas portador. Esta es una característica deseable y es muy útil disponer de un detector sensible con respuesta universal.

- d). **Respuesta selectiva.** Significa que el detector sólo responde a determinados tipos de compuestos; por ejemplo, el detector fotométrico de llama sólo responde a compuestos que contienen átomos de S ó P. Esto también es útil en determinadas aplicaciones restringidas, es decir, el caso de contaminantes del aire que contengan azufre.
- e). **Recorrido lineal.** Es la región sobre la cual la señal del detector es directamente proporcional a la concentración de la muestra.

Uno de los detectores más utilizados es el detector de ionización de llama (DIL).

El funcionamiento de los detectores de ionización se base en el principio de que la conductividad eléctrica de un gas es directamente proporcional a la concentración de las partículas cargadas dentro del gas.

El gas portador fluye desde la columna hasta la llama, la cual ioniza algunas de las moléculas orgánicas presentes en la corriente gaseosa. La presencia de partículas cargadas (iones positivos, iones negativos y electrones) en el espacio entre los electrodos origina una corriente que fluye en éste y a través de una resistencia que los mide, La disminución de potencial resultante se amplifica por un electrómetro y se alimenta a un registrador (ver figura 10).

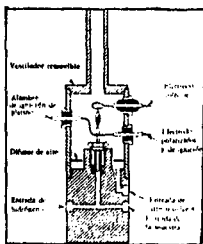


Figura No. 10 Detector de Ionización de Llama

1.6.7 Métodos de Cuantificación

La respuesta de los cromatogramas puede medirse por áreas o por alturas. Los métodos de cuantificación por referencia interna e externa son usado en cromatografía de gases.

1.6.7.1 Estandarización Interna : También es denominado calibración relativa o indirecta. En este método se adiciona a la muestra desconocida una cantidad exactamente conocida de patrón interno, esta mezcla se inyecta en el cromatografo. Se miden las relaciones de áreas y a partir de la gráfica de calibración se leen las relaciones de peso de la substancia desconocida con respecto al patrón interno.

Este método de calibración tiene la ventaja de que no es necesario medir exactamente las cantidades inyectadas ni conocer la respuesta del detector, ya que ningún cambio en la respuesta alterará la relación de áreas. La principal desventaja del método es la de encontrar un estándar o patrón que no interfiera con algún componente de la muestra.

El estándar interno debe tener los requisitos siguientes :

- a). Debe separarse bien de las otras señales y tener un tiempo de retención cercano al de la substancia de interés.
- b). Debe tener una concentración aproximada a la de la substancia de interés.
- c). Debe tener una similitud estructural con la substancia de interés, así mismo debe ser altamente pura y no reaccionar con los componentes de la fase estacionaria.
- d). Debe ser estable térmicamente y de volatilidad similar a la sustancia de interés.

1.6.7.2 Estandarización Externa : Consiste en trazar una curva de concentración contra respuesta de la substancia de interés pura , de esta curva se interpola la respuesta del analito de la muestra problema.

1.7 . PARÁMETROS DE VALIDACIÓN EMPLEADOS PARA EVALUAR LA ADAPTABILIDAD DEL METODO IV USP 23 PARA LA DETERMINACIÓN DE IVO 'S

La validación de métodos analíticos es parte fundamental del desarrollo de una nueva formulación y de la técnica de análisis de control de calidad de una forma farmacéutica, ya que es durante ésta secuencia de pruebas y análisis, en donde el químico se da cuenta si el método que esta siendo evaluado sistemáticamente, cumple con los propósitos para los cuales fue diseñado (23).

La validación de un método analítico se define como el proceso por el cual queda establecido, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisfaca los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas.

La USP 23 en el apartado de métodos compendiales indica que para métodos farmacéuticos y NF no necesariamente tienen que cumplir con todos los criterios de validación.

Los parámetros a evaluar para la determinación de impurezas orgánicas volátiles del METODO IV U.S.P. son:

1). Especificidad. Es la habilidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia de interés, y no a otros componentes de la muestra.

El método IV U.S.P para la determinación de IVOs es específico para los disolventes utilizados en la síntesis y/o purificación de materias primas y excipientes, los cuales se citan en el Pharmacopeal Forum: Vol. 18, No.1, Enero - Febrero 1992, página 2968.

2). Precisión. Es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes preparaciones de una muestra homogénea del producto (se expresa usualmente en términos de la desviación estándar o coeficiente de variación).

3). Exactitud. La exactitud de un método analítico es la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Se expresa como el % de recobro obtenido del análisis de muestras a las que se les ha adicionado cantidades conocidas de la sustancia (placebos cargados).

Las formulas empleadas se muestran en el Apéndice No. 1 y No. 2.

Se puede establecer que un método analítico es un procedimiento operativo sistemático, que emplea en la mayoría de los casos técnicas de análisis instrumental, con el objeto de determinar correctamente a un analito en una muestra. Si el método responde de manera correcta al analito, se dice que es exacto; por el contrario si el método responde de manera incorrecta, se dice que el método es inexacto.

CAPITULO II

CAPITULO II

II.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Durante los procesos de síntesis y/o purificación es necesario utilizar disolventes que son de alta toxicidad para el humano; de los cuales siempre quedan residuos en las substancias que posteriormente se usarán como materias primas en la Industria Farmacéutica, por lo cual es necesario controlar el contenido de estos, sin embargo la determinación de los residuos de los disolventes es muy reciente, ya que por primera vez en el año de 1988 la Farmacopea de los Estados Unidos de América incluyó la prueba para la determinación de IVO's < 467 > dentro de las especificaciones como parte del control de las materias primas.

Los disolventes incluidos por la farmacopea de los Estados Unidos de América son : Benceno, 1,4 Dioxano, Cloruro de Metileno, Tricloroetileno y Cloroformo, en virtud de que se ha demostrado que son disolventes carcinogénicos que pueden producir alteraciones irreversibles en el ser humano.

En el presente trabajo se plantea adaptar y aplicar el funcionamiento del método IV U.S.P. 23 para la cuantificación de IVO's, por cromatografía de gases empleando columnas capilares y un automuestreador de vapor confinado en las siguientes materias primas; Polietilenglicol 8000, Primogel, Dióxido de Titanio y Estearato de Calcio.

Este método es relativamente nuevo y ha sufrido cambios drásticos en el corto tiempo que lleva realizándose.

Es importante controlar los niveles de concentración presentes en cada una de las materias primas, sobre todo cuando los disolventes residuales son de elevada toxicidad, tales como: Benceno, 1,4 Dioxano, Cloroformo y Tricloroetileno (estos poseen un alto grado de carcinogenicidad), ya que estas serán utilizadas para la fabricación de medicamentos los cuales serán administrados a humanos.

Una vez establecido el método se comprobara su confiabilidad analítica a través de algunos parametros de validación tales como : Precisión y Exactitud del Sistema , Especificidad y Precisión y exactitud del método.

II.2 OBJETIVO GENERAL

Adaptar el Método IV USP 23 de la Farmacopea de los Estados Unidos de América, por cromatografía de gases para la determinación de Impurezas Volátiles Orgánicas tales como : Benceno, Cloroformo, 1,4 Dioxano, Cloruro de Metileno y Tricloroetileno, utilizados en la síntesis y purificación de las siguientes materias primas : Primogel, Dioxido de Titanio, Polietilenglicol 8000 y Estearato de Calcio empleados para propósitos farmacéuticos.

II.2.1 OBJETIVOS PARTICULARES

1. Realizar una revisión bibliográfica sobre disolventes residuales utilizados en la síntesis y purificación de los siguientes excipientes : Primogel, Dioxido de Titanio, Estearato de Calcio y Polietilenglicol 8000.
2. Adaptar el método IV recomendado por la USP 23, para la cuantificación de impurezas Volátiles Orgánicas en los excipientes anteriormente mencionados.
3. Verificar el desarrollo de la técnica analítica y del sistema cromatográfico, al evaluar la especificidad, precisión y exactitud del método USP 23, para las materias primas anteriormente mencionadas.

II.3 HIPOTESIS

Una vez establecido el sistema cromatográfico con la calidad requerida por la técnica, del Método IV de la Farmacopea de los Estados Unidos de América, para la determinación de Impurezas Volátiles Orgánicas tales como : Benceno, Dioxano, Cloruro de Metileno, Tricloroetileno y Cloroformo será posible cuantificarlas en las siguientes materias primas: Dioxido de Titanio, Polietilenglicol 8000, Estearato de Calcio y Primogel.

CAPITULO III

CAPITULO III

DESARROLLO EXPERIMENTAL

Las materias primas seleccionadas en este trabajo para la determinación de Impurezas Orgánicas Volátiles son: Polietilenglicol 8000, Estearato de calcio, Primogel y Dioxido de Titanio; debido a que éstas se emplean en la industria farmacéutica para la fabricación de medicamentos para uso en humano.

El método de análisis U.S.P. empleado para determinar Impurezas Volátiles Orgánicas para las materias primas anteriormente mencionadas es el método IV el cuál emplea columnas capilares y un automuestreador de vapor confinado.

MÉTODO IV. El procedimiento es el mismo que el descrito en el método II, excepto el volúmen de inyección ya que se toma 1 ml de la fase vapor.

DISOLUCION DE REFERENCIA : Preparar como se indica en el Método I. Transferir una alícuota de 5 ml de la disolución en un vial para vapor confinado, el cual contiene 1g de sulfato de sodio y sellar herméticamente y calentar a 80°C durante 60 minutos.

DISOLUCION DE PRUEBA : Preparar como se indica en el Método I. Cuando la sustancia es insoluble en agua, se observa una suspensión en lugar de una solución clara. En un vial apropiado transferir 5 ml de la disolución, el cual contiene 1g de sulfato de sodio y sellar herméticamente, calentar a 80°C durante 60 minutos.

SISTEMA CROMATOGRAFICO Y PROCEDIMIENTO : Proceder como se indica en el Método V excepto en el modo de inyección , ya que se emplea una jeringa ajustada al cromatógrafo, 1 ml de vapor confinado.

El principio de este análisis se basa sobre el hecho de alcanzar el equilibrio entre la fase líquida y la fase vapor a una temperatura y presión dada (20). La prediaposición de un material para ir a la fase gaseosa se le conoce como coeficiente de partición, K, donde Cc es la concentración del analito en la fase condensada (la muestra) y Cg es la concentración del analito en la fase gaseosa (la del vapor confinado). El coeficiente de partición K esta relacionado con el grado de solubilidad del analito en la muestra (21){ver figura No. 11}.

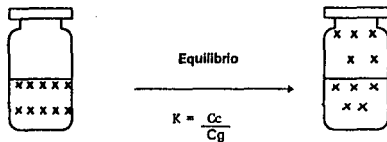


Figura No. 11

Al reducir los valores de K se podría incrementar la sensibilidad del análisis de vapor confinado. Las siguientes operaciones pueden ser usadas para disminuir K :

1. Adición de una sal (sulfato de sodio, cloruro de sodio, etc.), en una proporción del 10 al 20% , para así desplazar el equilibrio del soluto hacia la fase vapor.
2. Adición de un disolvente orgánico (miscible en agua), este desplaza el equilibrio del soluto a la fase vapor, si la solubilidad del soluto es menor en el agua.
3. Aumento de la Temperatura, con la cual se desplaza el equilibrio del soluto a la fase vapor ya al aumentar la temperatura aumenta la concentración de esta fase.

Los métodos de análisis de vapor confinado dependiendo de las condiciones de las fases de equilibración se clasifican en (22) :

1. Métodos Estáticos : Cuando el equilibrio entre la fase gaseosa y la condensada se encuentran en un sistema cerrado.

2. Métodos Dinámicos : Cuando el contacto entre las fases ocurre en un sistema abierto; en el cual el gas se hace pasar por una capa líquida o una fase sólida granulada.

III. PARTE EXPERIMENTAL

III.1 EQUIPO UTILIZADO

- Agitador mecánico tipo vortex.
- Estufa con vacío. Equipar
- Columna analítica de sílice fundida de 30 m de longitud * 0.53 mm de diámetro interno y con un espesor de película de 3.0 μm , de 6% de Cianopropilfenil 94% de dimetilsilicone (dimetilpolisiloxano) químicamente unida.
- Precolumna de sílice fundida de 5 m de longitud * 0.53 mm de diámetro interno y con un espesor de película de 1.5 μm y de 5% de fenilmetilsilicona químicamente unida.
- Cromatógrafo de Gases Programable con las siguientes características: Hewlett - Packard 5890 Serie II, equipado con detector de ionización de llama (DIL), inyector con y sin divisor de flujo y medidor electrónico de presión.
- Automuestreador para vapor confinado Hewlett - Packard modelo 19395 A.
- Computadora Hewlett - Packard Vectra 486/66U.
- Impresora Hewlett - Packard Desk - Jet 500.

III.2 MATERIAL

- 2 jeringas con válvula de paso y sello de teflón (pressure lock) de 1 ml de capacidad.
- 1 jeringa con válvula de paso y sello de teflón de 250 μl de capacidad.
- 2 jeringa con válvulas de paso y sello de teflón de 2 ml de capacidad.
- Tapones de hule natural del No. 13 y 25
- Mortero de Agata
- Conectores de vidrio para columnas capilares de 0.53 mm de entrada a 0.53 mm de salida de diámetro interno.
- Viales de 10 ml de capacidad para el automuestreador de vapor confinado.
- Septas de silicón con recubierta de teflón; de 20mm de diámetro.
- Sellos de aluminio de 20 mm de diámetro.

- Engargoladora para viales de 10 ml.
- Desengargoladora para viales de 10 ml.

III.3 REACTIVOS Y SOLUCIONES

III.3.1 REACTIVOS (VER TABLA No.3)

TABLA No.3

REACTIVO	GRADO	MARCA
1,4 Dioxano	HPLC	Mallinckrodt
Cloroformo	HPLC-GC	Baxter
Tricloroetileno	Espectro	Aldrich
Benceno	HPLC	Aldrich
Cloruro de metileno	HPLC-GC	Baxter
Metanol	HPLC	Mallinckrodt
Sulfato de Sodio	REACTIVO ANALITICO	Merck
Agua purificada	HPLC	Obtenida del Milli-Q
Helio (gas acarreador)	ALTA PUREZA	Linde

III.3.2.1 DISOLUCIONES

AGUA LIBRE DE ORGANICOS VOLATILES.

El día previo al análisis hervir durante 10 minutos agua HPLC, tapar y permitir que se enfríe a temperatura ambiente. A partir de este punto cada vez que se haga mención de agua, será la que se preparo en este punto.

DISOLUCION DE METANOL/ AGUA (9:1) .

Transferir a un frasco con tapón esmerilado 180 ml de metanol y 20 ml de agua libre de orgánicos volátiles, tapar y homogeneizar. Preparar esta mezcla un día anterior al análisis y almacenar a 20° C (± 1° C).

- Engargoladora para viales de 10 ml.
- Desengargoladora para viales de 10 ml.

III.3 REACTIVOS Y SOLUCIONES

III.3.1 REACTIVOS (VER TABLA No.3)

TABLA No.3

REACTIVO	GRADO	MARCA
1,4 Dioxeno	HPLC	Mallinckrodt
Cloroformo	HPLC-GC	Baxter
Tricloroetileno	Espectro	Aldrich
Benceno	HPLC	Aldrich
Cloruro de metileno	HPLC-GC	Baxter
Metanol	HPLC	Mallinckrodt
Sulfato de Sodio	REACTIVO ANALITICO	Merck
Agua purificada	HPLC	Obtenida del Milli-Q
Helio (gas scarreador)	ALTA PUREZA	Linde

III.3.2.1 DISOLUCIONES

AGUA LIBRE DE ORGANICOS VOLATILES.

El día prevlo al análisis hervir durante 10 minutos agua HPLC, tapar y permitir que se enfrie a temperatura ambiente. A partir de este punto cada vez que se haga mención de agua, será la que se preparo en este punto.

DISOLUCION DE METANOL/ AGUA (9:1) .

Transferir a un frasco con tapón esmerilado 180 ml de metanol y 20 ml de agua libre de orgánicos volátiles, tapar y homogeneizar. Preparar esta mezcla un día anterior al análisis y almacenar a 20° C (± 1°C).

III.4 DESCRIPCION DEL MÉTODO

III.4.1 PREPARACION DE LA MUESTRA (1)

En un vial de 10 mL para vapor confinado pesar $1.0g \pm 0.01g$ de sulfato de sodio y con exactitud alrededor de 100 mg de la materia prima a analizar y transferir con pipeta volumétrica una alícuota de 5.0 ml la disolución de metanol/agua preparada en el punto III.3.2; e inmediatamente sellar el vial herméticamente y agitar suavemente en vortex, mantener las muestras a temperatura ambiente hasta el momento del análisis.

II.4.2 DISOLUCION DE REFERENCIA (1)

DISOLUCION A: En un matraz volumétrico de 100-ml transferir aproximadamente 60 ml de la solución metanol/agua (9:1), tapar con un tapón de hule natural recubierto de teflón, y con las jeringas de sello de teflón con válvula de paso transferir, volúmenes equivalentes a 400 mg (0.60 ml, 0.40 ml, y 0.27 ml) de Benceno, 1,4 Dioxano, y Tricloroetileno respectivamente, y 200 mg (0.14 ml) de Cloroformo y 2000 mg (1.53 ml) de Cloruro de Metileno en el matraz. Por diferencia de peso entre la jeringa vacía y llena, determinar exactamente la cantidad adicionada de cada uno de los disolventes al matraz. Agitar suavemente para homogeneizar y llevar a volumen con la disolución de metanol/agua (9:1).

DISOLUCION B : Transferir una alícuota de 5.0 ml de la solución A a un matraz volumétrico de 200ml que contiene aproximadamente 150ml de agua libre de orgánicos volátiles y llevar a volúmen con agua.

DISOLUCION C : En un matraz volumetrico de 200 ml transferir aproximadamente 150 ml de agua y una alícuota de 4.0 ml de disolución B, llevar a volúmen con agua y homogeneizar.

DISOLUCION D : Pesar $1.0g (\pm 0.01g)$ de sulfato de sodio en un vial de 10 ml para vapor confinado y transferir una alícuota de 5.0 ml de la solución C, sellar

herméticamente y agitar suavemente con vortex justo hasta disolución. Mantener los viales a temperatura ambiente.

III.4.3 DISOLUCION BLANCO

DISOLUCION E : Transferir una alícuota de 3.0 ml de la solución metanol/agua (9:1) a un matraz volumétrico de 200-ml, llevar a volumen con agua libre de orgánicos volátiles y homogeneizar.

DISOLUCION F : Transferir una alícuota de 5.0 ml de la solución E a un matraz volumétrico de 200 ml y llevar a volúmen con agua libre de orgánicos volátiles y homogeneizar.

DISOLUCION G : Pesar 1.0 g (± 0.01 g) de sulfato de sodio en un vial de 10 ml para vapor confinado y transferir una alícuota 5.0 ml de la solución F, sellar herméticamente y agitar con vortex justo hasta disolución. Mantener los viales a temperatura ambiente hasta el momento del análisis.

III.5 CONDICIONES DE OPERACION DEL SISTEMA

El sistema consta de un automuestreador de la fase vapor (en el cual los parámetros de operación a optimizar fueron: presión de vaporización, tiempo de presurización, tiempo de venteo, tiempo de inyección, temperatura del baño, temperatura de las válvulas y del serpentín, estas condiciones no se especifican en el método farmacopeico), cromatógrafo de gases, temperatura de la columna, detector, inyector y parámetros de integración. Estas condiciones de operación que a continuación se presentan son las más adecuadas para el método y materias primas estudiadas en este trabajo.

III.5.1 CONDICIONES EN EL AUTOMUESTREDOR DE VAPOR CONFINADO (Ver TABLA No.4)

TABLA No. 4

Tecla a presionar o Tecla	Lectura en el Display	Tecla a presionar	Función Activada
	: 01	Inicia Programa	Inicio Programa
2	: 03		Inicia Presurización
12	: 15	Presurizar	Finaliza presurización
2	: 17	Presurizar	Inicia Venteo
10	: 27	Vent / Fill loop	Finaliza Venteo
2	: 29	Ven / Fill loop	Inicia Inyección
30	: 59	Inyectar	Inicia Purga
2	1:01	Presurizar	Inicia Venteo
420	8:01	Vent / Fill loop	Finaliza Venteo
2	8:03	Vent / Fill loop	Finaliza Purga
2	8:05	Presurizar	Finaliza Inyección
2	8:07	Inyectar	Finaliza Programa
		Finaliza Programa	
<p>TEMPERATURA DEL BAÑO : 80°C TEMPERATURA DE LAS VALVULAS : 85°C. TIEMPO DE MUESTREO : 20 minutos. PRESION DEL GAS ACARREADOR : 1.2 Bar. PRESION AUXILIAR : 1.0 Bar. CONTROL REMOTO: APAGADO</p>			

III.5.2 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS

III.5.2.1 TEMPERATURA DE LA COLUMNA.

1. Temperatura : 40°C durante 19.40 minutos.
2. Temperatura Final: 40°C.
3. Gas acarreador : Helio
4. Velocidad Lineal : 35 ml/min
5. Presión en la cabeza de la columna : 4.0 psi

III.5.2.2 DETECTOR

Ionización a la llama.

Temperatura: 260°C.

Flujo del Gas auxiliar: 20 ml/min.

III.5.2.3 INYECTOR

Inserto de vidrio empacado con división de flujo HP.

Purga de la válvula "OFF" tiempo 0.0 minutos.

Purga de la válvula "ON" tiempo 0.5 minutos.

Temperatura 140°C

Flujo Total 40 ml/min

Flujo en la purga del septum 4.0 ml/min

Flujo total + Flujo Headspace 51 ml/min

III.5.2.4 PARAMETROS DE INTEGRACION

Atenuación: 2^2

Nivel del Ruido: 1

Ancho del Pico: 0.20

Area de rechazo: 0

Integración OF: 0 minutos

Integración ON: 3 minutos.

Ancho de la señal : 0.3

III.5.4 DISOLUCIONES UTILIZADAS PARA LA ADAPTABILIDAD Y VERIFICACION DEL METODO IV USP 23.

III.5.4.1 DISOLUCION BLANCO

Preparar de la forma ya descrita en el punto III.4.3

III.5.4.2 DISOLUCION BLANCO DE LAS MUESTRAS

Se pesó 1.0 g (± 0.01 g) de Na_2SO_4 y 100 mg de la materia prima a ser analizada (Dioxido de Titanio, Polietilenglicol 8000, Primogel o Estearato de Calcio) en un vial de 10 ml para vapor confinado y se transfirió una alícuota de 5 ml de la solución F, (punto III.4.3), se selló herméticamente y se agitó suavemente con vortex. Los viales se mantuvieron a temperatura ambiente hasta el momento del análisis.

III.5.4.3 DISOLUCION PARA LA EVALUACION DE LA ESPECIFICIDAD

Se preparó una disolución en un vial de 10 ml para vapor confinado el cuál contiene los 26 disolventes a una concentración aproximada de 100 ppm.

En un matraz volumétrico de 100 ml al cual previamente se le adicionó 60 ml de mezcla MeOH - Agua (9:1), se cerró con un tapón de hule recubierto de teflón, se transfirieron con ayuda de jeringas con sello de teflón y válvulas de paso, volúmenes equivalentes a 400 mg (0.4 ml) de cada uno de los 26 disolventes. Se agitó suavemente para homogeneizar y se llevo a volumen con la solución de metanol/agua (9:1) (Solución 1).

A un matraz volumétrico de 200 ml que contenía alrededor de 150 ml de agua libre de orgánicos volátiles, se transfirieron con pipeta volumétrica 5 ml de la solución 1, se llevó a volumen con agua y se homogeneizó (Solución 2).

En un matraz volumétrico de 200-ml, se transfirieron 150 ml de agua , y una alícuota de 4.0 ml de la solución 2, se agitó suavemente y se llevó a volumen con agua (Solución 3).

En un vial de 10 ml para vapor confinado se pesó 1.0 g (± 0.01 g) de sulfato de sodio y transfirió una alícuota de 5 ml de la solución 3, se selló herméticamente y se agitó suavemente con vortex . Se inyectó en el cromatógrafo de gases a las condiciones descritas en el punto III.5.1 y III.5.2.

III.5.4.4 DISOLUCION PARA LA EVALUACION DEL SISTEMA

Se preparó tal y como esta descrito en el punto III.4.2

III.5.4.5 DISOLUCIONES PARA LA CURVA DE CALIBRACION

A). En un matraz volumétrico de 100 ml al cuál previamente se le adicionó 80 ml de mezcla MeOH - Agua (9:1), cerrado con un tapón de hule recubierto de teflón se transfirieron con ayuda de jeringas con sello de teflón y válvulas de paso volúmenes equivalentes a 400 mg (0.5 ml, 0.4 ml, 0.27 ml) de Benceno, 1,4 Dioxano y Tricloroetileno respectivamente y 200 mg (0.14 ml) de Cloroformo y 2000 mg (1.53 ml) de Cloruro de Metileno. Por diferencia de peso entre la jeringa vacía y llena, se determinó exactamente la cantidad adicionada de cada uno de los disolventes en el matraz . Se agitó suavemente para homogeneizar y se llevó a volumen con la solución de metanol/agua (9:1). (Solución 1).

B). En un matraz volumétrico de 200 ml se transfirieron 150 ml de agua, y con una pipeta volumétrica una alícuota 5.0 ml de la solución 1 con pipeta volumétrica, se llevó a volumen con agua y se homogeneizó (Solución 2).

C). En tres matraces volumétricos de 200 ml, previamente identificados, como 75, 100 y 125 % cada uno de los cuales contenían 150 ml de agua , se transfirieron alícuotas de 3, 4 y 5 ml respectivamente de la solución 2, con pipetas volumétricas se agitaron suavemente en vortex y se llevaron a volumen con agua para así obtener concentraciones correspondientes a 1.6, 2.0 y 2.4 µg/ml respectivamente.

D). En viales de 10 ml para vapor confinado que previamente se identificaron como 75, 100 y 125 % se pesó 1.0 g (± 0.01)g de sulfato de sodio y se transfirieron alícuotas de 5 ml con pipetas volumétricas, de acuerdo a la identificación respectiva de las soluciones preparadas según el parrafo anterior. Se prepararon 5 viales de cada nivel. Se inyectaron en el cromatógrafo de gases a las condiciones descritas en el punto III.5.1 y III.5.2.

III.5.6 DISOLUCIONES PARA LA PRECISION Y EXACTITUD DEL MÉTODO

Se pesó aproximadamente y con exactitud 100 mg de la materia prima a ser analizada (Dioxido de Titanio, Polietilenglicol 8000, Primogel o Estearato de Calcio) en un vial de 10 ml para vapor confinado, se transfirieron 5 ml de las soluciones preparadas en el punto III.5.4.3. El vial se selló herméticamente y se agitó suavemente en vortex, las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente durante el análisis.

Se Inyectó cada una de las soluciones anteriormente preparadas en las condiciones descritas en el punto III.5.1 y III.5.2, cada muestra se preparó por quintuplicado.

III.6 CALCULOS

Determinar la concentración de Benceno, Cloruro de metileno, Tricloroetileno, 1,4 Dioxano y Cloroformo en la disolución problema, en partes por millón, como se indica en el apendice No.1 .

III.7 ESPECIFICACIONES

La resolución entre cualesquiera dos componentes de la solución de referencia debe ser al menos de 3.0 y el coeficiente de variación no debe ser mayor de 15% (1).

La cantidad en partes por millon (ppm) de Benceno, Cloruro de Metileno, Tricloroetileno, 1,4 Dioxano y Cloroformo no debe ser mayor de 100, 500, 100, 100 y 50 ppm respectivamente (1).

CAPITULO IV

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

IV.1 ESPECIFICIDAD

La especificidad se obtuvo al preparar una solución en un vial de 10 mL para vapor confinado el cual contenía 26 disolventes a una concentración aproximada de 100 ppm.

Esta prueba se realiza con la finalidad de establecer la resolución que tienen las cinco impurezas volátiles orgánicas respecto a otro tipo de disolventes empelados en la síntesis y/o purificación de materias primas y excipientes utilizados en la industria farmacéutica, como consecuencia se determinaría una cantidad menor o mayor de la que realmente esta presente, lo que en ocasiones llevaría a aceptar una materia prima que en realidad no cumple con las especificaciones.

Los resultados se muestran en la Tabla No.5 y Figura No.12 , que son semejantes a los reportados en las referencias 2 y 3, en las cuáles podemos apreciar que la resolución se encuentra muy comprometida entre las siguientes parejas de disolventes: Isobutanol y Benceno, Tetrahidrofurano y Cloroformo y Tricloroetileno y n-Butanol, lo cual significa que cualquier cambio mínimo en los tiempos de retención de las señales de la muestra con respecto a los de la solución de Referencia deberá tomarse con mucho cuidado, ya que la cuantificación podría ser errónea al confundir los disolventes de interés.

TABLA No.5

Especificidad: Resolución de los disolventes comúnmente usados en la industria farmacéutica (2,3) bajo las condiciones de análisis recomendadas por la U.S.P. 23

DISOLVENTE	TIEMPO DE RETENCIÓN (minutos)	ÁNCORA A LA BASE (Fuerzas)	RESOLUCIÓN
Metanol	2.629	0.1598	
Etanol	3.453	0.1700	3.2323
Eter etílico	3.647	0.1581	2.9684
Acetona	3.994	0.1815	2.1715
Isopropanol	4.223	0.1836	1.3272
Acetonitrilo	4.392	0.1870	0.9120
Cloruro de Metileno	4.750	0.1785	1.9590
n - Hexano	5.941	0.2057	8.1994
Isopropiléter	6.386	0.1500	2.6583
n - Propanol	8.398	0.1500	0.9000
Nitroclorona	7.594	0.2533	5.9410
Acetato de Etilo	7.919	0.2414	1.3138
Tetrahidrofurano	8.463	0.2890	1.9193
Cloroformo	8.463	0.2890	0.8744
Ciclohexano	9.513	0.3162	3.0370
iso - Butanol	10.811	0.3332	3.1280
Benceno	10.811	0.3332	0.2071
n - Heptano	12.559	0.3400	5.2347
Triclorometileno	14.194	0.5748	3.4332
n - Butanol	14.194	0.5748	0.4194
1,4 Dioxano	16.216	0.4284	4.0796
Tolueno	21.855	0.1921	17.531
Alcohol Isomérico	23.293	0.2380	7.6166
Dimetilformamida	23.725	0.0680	2.6235
Xileno	23.836	0.0833	1.4673
Dimetilsulfóxido	25.000		

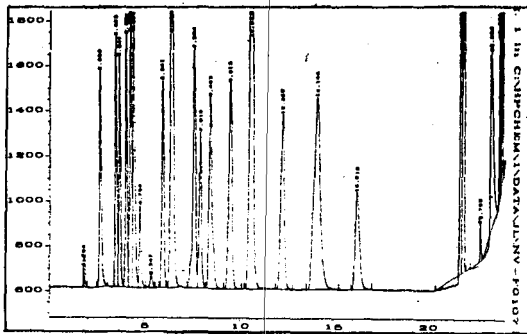


FIGURA No.12

Especificidad: Resolución de los disolventes comúnmente usados en la industria farmacéutica (2,3) bajo las condiciones de análisis .

En cuanto a la resolución de la mezcla de los cinco disolventes esta cumple con los requisitos establecidos por la U.S.P. 23 (1), ya que la resolución es no menor a 3 entre cada uno de los disolventes de interes, los resultados se encuentran en la Tabla No. 6 y Figura No.13.

TABLA No. 6

Especificidad: Resolución de los cinco disolventes, para la prueba de orgánicos volátiles.

DISOLVENTE	TIEMPO DE RETENCIÓN (minutos)	ÁREA A LA VEZ (arbitrarias)	RESOLUCIÓN
Cloruro de Metileno	4.750	0.1785	—
Cloroformo	8.483	0.2890	15.73
Benceno	10.611	0.3332	6.75
Tricloroetileno	14.194	0.5746	7.49
1,4 Dioxano	18.216	0.4284	4.56

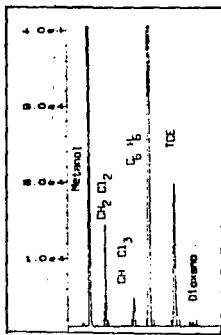


FIGURA No. 13

Cromátograma típico de la solución de Referencia de los cinco disolventes. El orden de elución es el siguiente: Cloruro de Metileno (4.75 min), Cloroformo (8.483 min), Benceno (10.611 min), Tricloroetileno (14.194 min) y 1,4 Dioxano (18.216 min).

IV.2 PRECISION DEL SISTEMA

La precisión del sistema se obtuvo al evaluar el coeficiente de variación global del factor de respuesta de 3 preparaciones independientes de la disolución de referencia preparada durante 4 días consecutivos (tabla No.7). De esta tabla podemos concluir que el coeficiente de variación global se encuentra dentro del intervalo de 15 % establecido por la USP y que el único disolvente que se encuentra en el límite es cloruro de metileno. Así mismo se realizó un análisis de variancia para cada uno de los disolventes de la solución de referencia ver tabla No. 8, (los cálculos realizados se encuentran en el anexo No. 2), para ver la interacción que existe entre las preparaciones por día (F1) y las preparaciones realizadas entre cada día (F2), en donde podemos apreciar; que para todos los casos F1 calculada es menor que F1 teórica y que F2 calculada es mayor que F2 teórica por lo que se infiere que; existen diferencias del factor de respuesta para las diferentes preparaciones en cada día y no existen diferencias significativas en el factor de respuesta durante los diferentes días, esto sucede para los 5 disolventes en estudio (Benceno, Dioxano, Cloruro de Metileno, Tricloroetileno y Cloroformo). Se asume que lo indicado anteriormente se debió principalmente a los cambios de temperatura en el área de trabajo, ya que en el transcurso del día la temperatura sufría cambios significativos de hasta 15°C durante el tiempo de análisis. Por esta razón se infiere que la temperatura de análisis es un factor que debe de controlarse.

TABLA No.7

Precisión del Sistema : Coeficiente de variación global para cada disolvente. Cada dato que aparece en la tabla es un promedio de seis inyecciones; en cada uno de los 4 días .

COEFICIENTE DE VARIACION GLOBAL						
Día	Réplica	Benceno	Cloruro de Metileno	Tricloroetileno	Cloroformo	Dioxano
1	1	5.88	9.90	4.83	5.18	2.68
	2	5.41	4.91	5.70	5.32	2.17
	3	4.05	6.16	3.43	5.27	3.88
2	1	3.81	1.71	3.29	5.38	5.88
	2	9.58	11.2	9.57	10.01	11.31
	3	4.13	4.15	2.93	5.44	5.05
3	1	8.17	8.43	7.93	8.32	8.70
	2	1.37	1.27	1.19	1.41	1.02
	3	3.89	3.35	3.87	3.94	1.58
4	1	6.29	5.50	5.98	6.54	5.81
	2	1.88	3.77	1.92	1.55	1.81
	3	1.85	2.48	1.79	2.29	0.72
Coeficiente de Variación global		11.03	15.02	12.51	11.02	11.77

TABLA No.8

Análisis de Variancia para : Benceno, Dioxano, Cloruro de Metileno, Tricloroetileno y Cloroformo

ANÁLISIS DE VARIANZA			
B E N C E N O			
Entre Grupos	17	1.065 E-14	6.266 E-18
Dentro de los Grupos	23	5.637 E-13	2.407 E-14
Desviación	391	2.601 E-13	8.216 E-13
Total	71	8.216 E-13	
F1 calculada : 0.9798		F1 Teórica = 1.72	
F2 calculada : 37.64		F2 Teórica = 1.62	
1,4 D I O X A N O			
Entre Grupos	17	1.846 E-10	1.086 E-11
Dentro de los Grupos	28	2.169 E-08	9.432 E-10
Desviación	391	5.576 E-09	1.426 E-11
Total	71	2.759 E-08	
F1 calculada : 0.7616		F1 Teórica = 1.72	
F2 calculada : 86.14		F2 Teórica = 1.62	
C L O R U R O D E M E T I L E N O			
Entre Grupos	17	5.948 E-14	3.499 E-16
Dentro de los Grupos	28	9.969 E-11	4.33 E-12
Desviación	391	2.773 E-11	7.093 E-14
Total	71	1.284 E-10	
F1 calculada : 0.0493		F1 Teórica = 1.72	
F2 calculada : 61.05		F2 Teórica = 1.62	
T R I C L O R O E T I L E N O			
Entre Grupos	17	2.948 E-13	1.734 E-14
Dentro de los Grupos	28	1.775 E-11	7.717 E-13
Desviación	391	4.988 E-12	1.378 E-14
Total	71	2.324 E-11	
F1 calculada : 1.3691		F1 Teórica = 1.72	
F2 calculada : 60.49		F2 Teórica = 1.62	
C L O R O F O R M O			
Entre Grupos	17	3.087 E-12	1.816 E-18
Dentro de los Grupos	28	9.869 E-11	4.334 E-12
Desviación	391	5.494 E-12	1.405 E-18
Total	71	1.698 E-10	
F1 calculada : 1.2926		F1 Teórica = 1.72	
F2 calculada : 30.85		F2 Teórica = 1.62	

IV.3 PRECISION Y EXACTITUD DEL METODO (7,8)

La precisión y la exactitud del método se obtuvieron al evaluar los recobros de placebos adicionados al 75, 100 y 125 % con cada uno de los disolventes.

Debido a que la técnica de cuantificación utilizada para las materias primas estudiadas en este trabajo es por patron externo, la evaluación de los recobros se realizó de dos formas :

1. Utilizando una curva de calibración a los mismos niveles de concentración que los placebos adicionados.
2. Utilizando el nivel que corresponde a la concentración del 100 %.

Los resultados se encuentran resumidos de la siguiente forma :

- Dioxido de Titanio de la tabla 9 a la 13
- Polietilenglicol 8000 de la tabla 14 a la 18
- Estearato de Calcio de la tabla 19 a la 23
- Primogel de la tabla 24 a la 28
- De la tabla 29 a la 32 se presentan algunas pruebas realizadas para aumentar el recobro para las impurezas organicas volátiles bajo estudio.

PRECISION Y EXACTITUD PARA DIOXIDO DE TITANIO :

Los resultados obtenidos para los analitos (benceno, cloruro de metileno, dioxano, tricloroetileno y cloroformo), se muestran en las tablas 9 a la 13 respectivamente, de las cuales se puede concluir que :

a). Los recobros calculados con la curva de calibración y con un solo punto no difieren en más del 3% por lo cual se considera que apesar de utilizar un método de cuantificación por patrón externo, no es necesario trazar la curva de calibración cada vez que se realice un analisis, es decir es suficiente con inyectar por quintuplicado la solución de referencia al 100 %.

b). Los recobros para cloruro de metileno, tricloroetileno cloroformo y benceno son relativamente bajos, esto se debe principalmente al efecto de la matriz, para evitar este y aumentar la exactitud del método (tal como se muestra en las tablas de la 9 a la 13 en el renglón del 100% con MP, para los cinco analitos), es conveniente adicionar a la solución patrón de referencia materia prima de dióxido de titanio que previamente se ha demostrado que no presenta señales que interfieran con las señales de interes.

Para obtener la materia prima libre de señales interferentes se pulverizo en un mortero de agata, se soco en la estufa y se permitio que esta se enfriara a temperatura ambiente, y se verificó que efectivamente se encontraba libre de señales interferentes.

Por consiguiente la disolución de referencia se preparo de la siguiente manera : se pesaron 100 mg de dióxido de titanio en el vial para vapor confinado del punto III.5.4.5 del inciso D, antes de adicionar el sulfato de sodio y se prosiguió como se indico en este punto.

TABLA No. 9

PRECISION Y EXACTITUD PARA BENCENO							
Curva de Calibración				Interpolación de los datos en la ec. de regresión			
Concent.	75 %	100 %	125 %	Concent.	75 %	100 %	125 %
RESPUESTA EN AREAS	1079311 1121018 1075252 1097706	1448757 1428178 1489034 1425552 1409819	1761818 1784185 1784327 1789819 1754330	RESPUESTA EN AREAS	1077773 1028610 1035287	1365983 1408063 1307387	1774808 1891898 1712423 1606476 1701941
X	1093321.75	1435628	1770832	X	1047223.3	1360477.7	1897469
D.E.	20889.66	22649.80	17370.20	D.E.	268868.69	50563.29	60285.36
C.V.	1.91	1.58	0.98	C.V.	2.65	3.72	3.55
Coeficiente de correlación Ecuación de Regresión				Conc. Interpol.			
$r^2 = 1.0000$				Conc. Nominal			
$Y = 667168.9 X + 78240.42$				% C C :			
				% SIN MP :			
				DIFERENCIA :			
				% CON MP :			
				1.452			
				1.523			
				95.35			
				97.26			
				1.913			
				102.6			
				1.922			
				2.031			
				94.83			
				94.77			
				0.136			
				100.0			
				2.427			
				2.538			
				95.60			
				94.59			
				1.007			
				99.82			
% CC : Por ciento cuantificado con la Curva de Calibración % SIN MP : Por ciento cuantificado sin materia prima (MP) DIFERENCIA : Es la diferencia obtenida entre %CC - % SIN MP % CON MP : Porcentaje cuantificado con materia prima							

TABLA No. 10

PRECISION Y EXACTITUD PARA CLORURO DE METILENO							
Curva de Calibración				Interpolación de los datos en la ec. de regresión			
Concent.	75 %	100 %	125 %	Concent.	75 %	100 %	125 %
RESPUESTA EN AREAS	129763 132837 128608 132343	174018 1711484 175688 167072 168247	214463 218280 211735 216669 218753	RESPUESTA EN AREAS	131051 127081 123607	170113 173056 160662	213780 206024 204130 202629 212713
X	130387.75	171301.8	215176	X	127236.33	167943.67	207835.2
D.E.	2867.66	3869.90	2375.09	D.E.	3725.46	6475.52	5106.33
C.V.	2.19	2.14	1.10	C.V.	2.93	3.88	2.46
Coeficiente de correlación Ecuación de Regresión				Conc. Interpol.			
$r^2 = 0.9996$				Conc. Nominal			
$Y = 84031.96 X + 2712.02$				% (R C C).			
				% SIN MP :			
				DIFERENCIA :			
				% CON MP :			
				1.482			
				1.513			
				97.91			
				99.03			
				1.124			
				101.0			
				1.9653			
				2.0180			
				97.44			
				96.04			
				0.801			
				100.0			
				2.441			
				2.522			
				98.77			
				97.06			
				0.292			
				99.00			
% CC : Por ciento cuantificado con la Curva de Calibración % SIN MP : Por ciento cuantificado sin materia prima (MP) DIFERENCIA : Es la diferencia obtenida entre %CC - % SIN MP % CON MP : Porcentaje cuantificado con materia prima							

TABLA No. 11

PRECISION Y EXACTITUD PARA DIOXANO							
Curva de Calibración				Interpolación de los datos en la ec. de regresión			
Concent.	75 %	100 %	125 %	Concent.	75 %	100 %	125 %
RESPUESTA EN AREAS	8738	8434	10850	RESPUESTA EN AREAS			10652
	8528	8621	10950				10411
	8241	8984	10420		8555	9051	10529
	8856	8378	10601		8333	8491	10276
		8615	10830		8671	8584	10582
X	8890.75	8806.4	10690.20	X	6488.33	8708.87	10490
D.E.	269.75	237.04	210.73	D.E.	133.03	300.09	148.55
C.V.	4.09	2.75	1.97	C.V.	2.05	3.45	1.42
Coeficiente de correlación Ecuación de Regresión				Conc. Interpol.			
$r^2 = 0.9999$ $Y = 4043.847 X + 430.22$				1.497 2.047 2.488			
				Conc. Nominal 1.520 2.027 2.534			
				% (R C C) 98.49 100.9 98.16			
				% SIN MP : 100.5 101.2 97.81			
				DIFERENCIA : 2.019 0.218 0.698			
				% CON MP : 99.31 100.0 99.82			
% CC : Por ciento cuantificado con la Curva de Calibración % SIN MP : Por ciento cuantificado sin materia prima (MP) DIFERENCIA : Es la diferencia obtenida entre %CC - % SIN MP % CON MP : Porcentaje cuantificado con materia prima							

TABLA No. 12

PRECISION Y EXACTITUD PARA TRICLOROETILENO							
Curva de Calibración				Interpolación de los datos en la ec. de regresión			
Concent.	75 %	100 %	125 %	Concent.	75 %	100 %	125 %
RESPUESTA EN AREAS	317576	317576	380856	RESPUESTA EN AREAS			389465
	238137	314897	388531				364723
	247769	323266	391621		236165	294997	374112
	237996	314842	380918		223758	309989	343233
	240330	308148	378415		228012	283687	365818
X	241055.50	315739.80	384033.40	X	229311.67	294891	367270.2
D.E.	45.94.98	8459.36	6704.67	D.E.	6304.78	11151.38	16450.03
C.V.	1.91	1.73	1.49	C.V.	2.75	3.78	4.48
Coeficiente de correlación Ecuación de Regresión				Conc. Interpol.			
$r^2 = 0.9993$ $Y = 153013.9 X + 1565.31$				1.488 1.917 2.390			
				Conc. Nominal 1.524 2.032 2.540			
				% (R C C) 97.64 94.32 94.07			
				% SIN MP : 98.84 93.40 93.06			
				DIFERENCIA : 0.804 0.919 1.015			
				% CON MP : 103.7 100.0 99.83			
% CC : Por ciento cuantificado con la Curva de Calibración % SIN MP : Por ciento cuantificado sin materia prima (MP) DIFERENCIA : Es la diferencia obtenida entre %CC - % SIN MP % CON MP : Porcentaje cuantificado con materia prima							

TABLA No. 13

PRECISION Y EXACTITUD PARA CLOROFORMO							
Curva de Calibración				Interpolación de los datos en la ec. de regresión			
Concent.	75 %	100 %	125 %	Concent.	75 %	100 %	125 %
RESPUESTA		64058	65996	RESPUESTA			60584
EN	40512	53338	67223	EN			63478
AREAS	41810	54823	68347	AREAS	40587	61918	63305
	39798	52546	66238		38928	63156	61218
	41159	52480	65717		35817	49057	64181
X	40769.50	53449	66304.20	X	39369.67	61376.33	63767.2
D.E.	788.98	1003.18	667.93	D.E.	1048.29	2102.11	1924.19
C.V.	1.94	1.88	0.86	C.V.	2.66	4.09	3.02
Coficiente de correlación	Ecuación de Regresión			Conc. Interpol.	0.734	0.973	1.219
r ² = 1.0000	Y = 50289.91 X + 2438.17			Conc. Nominal	0.761	1.015	1.269
				% (R C C)	96.42	95.83	96.07
				% SIN MP :	98.21	96.12	95.44
				DIFERENCIA :	1.789	0.295	0.628
				% CON MP :	102.2	100.0	99.28
% CC : Porcentaje cuantificado con la Curva de Calibración % SIN MP : Porcentaje cuantificado sin materia prima (MP) DIFERENCIA : Es la diferencia obtenida entre %CC - % SIN MP % CON MP : Porcentaje cuantificado con materia prima							

PRECISION Y EXACTITUD PARA POLIETILENGLICOL 8000 :

Los resultados obtenidos para los analitos (benceno, cloruro de metileno, dioxano, tricloroetileno y cloroformo); se muestran en las tablas 14 a la 18 respectivamente, de las cuales se puede concluir que :

- Los recobros calculados con la curva de calibración y con un solo punto difieren en más del 3% por lo tanto es recomendable trazar la curva de calibración.
- Los recobros para los cinco analitos bajo estudio son relativamente bajos, esto se debe principalmente el efecto de la matriz, para evitar este y aumentar la exactitud del método (tal como se muestra en las tablas de la 14 a la 18 en el renglón del % por ciento cuantificado con MP, para los cinco analitos), es conveniente adicionar a la solución patrón de referencia materia prima de polietilenglicol 8000 que previamente se ha demostrado que no presenta señales que interfieran con las señales de interes.

Para obtener la materia prima libre de señales interferentes se pulverizo en un mortero de agata, se seco en la estufa y se permitio que esta se enfriara a temperatura ambiente, y se verificó que efectivamente se encontraba libre de señales interferentes, siguiendo en método descrito.

c). Al obtener el porcentaje cuantificado de cada analito con la adición de la materia prima a la disolución de referencia (de la tabla 14 a la 18 , renglón del % cuantificado con MP), se observa que se tienen recobros cercanos al 100%, por lo tanto se considera que no es necesario preparar toda la curva de calibración, ya que es suficiente con inyectar por quintuplicado la disolución de referencia al 100%. Por consiguiente esta se preparo de la siguiente manera : se pesaron 100 mg de polietilenglicol 8000, en el vial para vapor confinado del punto III.5.4.5 del inciso D, antes de adicionar el sulfato de sodio y se prosiguió como se indica en este punto.

TABLA No. 14

PRECISION Y EXACTITUD PARA BENCENO							
Curva de Calibración				Interpolación de los datos en la ec. de regresión			
Concent.	75 %	100 %	125 %	Concent.	75 %	100 %	125 %
RESPUESTA				RESPUESTA			
EN	1063385	1360140	1749029	EN	738938	1008116	1334348
AREAS	1075926	1404854	1902227	AREAS	811993	988442	1315950
	1091167	1486234	1840818		862160	1012121	1306637
	1131040	1473364	1485663		813420	1078891	1262330
					788137	1149823	1301282
X	1090374.60	1423928	1739776	X	800629.60	1046870.8	1304103
D.E.	29397.18	53835.05	169378.7	D.E.	42310.57	67067.49	26526.04
C.V.	2.70	3.78	9.16	C.V.	6.29	6.41	2.03
Coficiente de correlación	Ecusión de Regresión			Conc. Interpol.	1.063	1.4485	1.860
r ² = 0.9998	Y = 6403434 X + 119226.37			Conc. Nominal	1.521	2.0280	2.538
				% (R C C)	69.94	71.42	72.98
				% SIN MP :	74.96	73.52	73.27
				DIFERENCIA :	5.018	2.097	0.285
				% CON MP :	101.0	100.0	99.96
% CC : Por ciento cuantificado con la Curva de Calibración							
% SIN MP : Por ciento cuantificado sin materia prima (MP)							
DIFERENCIA : Es la diferencia obtenida entre %CC - % SIN MP							
% CON MP : Prcntaje cuantificado con materia prima							

TABLA No. 15

PRECISION Y EXACTITUD PARA DIOXANO							
Curva de Calibración				Interpolación de los datos en la ec. de regresión			
Concent.	75 %	100 %	125 %	Concent.	75 %	100 %	125 %
RESPUESTA		8837	10863	RESPUESTA	6318	7908	9829
EN	6482	8763	10825	EN	5972	7908	9909
AREAS	6800	8813	11048	AREAS	6120	7894	9960
	6809	8769	10669		5821	7968	10061
	6458	8722	10791		5863	8073	9829
X	6632.25	8778.8	10838.8	X	5818.20	7949.80	9876.60
D.E.	83.52	45.89	136.77	D.E.	304.12	74.85	169.85
C.V.	1.28	0.52	1.26	C.V.	5.23	0.94	1.82
Coeficiente de correlación Ecuación de Regresión				Conc. Interpol.			
$r^2 = 0.9994$				Conc. Nominal			
$Y = 4230.403 X + 103.52$				% (R C C).			
				% SIN MP :			
				DIFERENCIA :			
				% CON MP :			
				1.351			
				1.855			
				2.310			
				2.548			
				88.46			
				91.10			
				90.50			
				0.876			
				0.540			
				97.58			
				100.0			
				99.38			

% CC : Porcentaje cuantificado con la Curva de Calibración
 % SIN MP : Porcentaje cuantificado sin materia prima (MP)
 DIFERENCIA : Es la diferencia obtenida entre %CC - % SIN MP
 % CON MP : Porcentaje cuantificado con materia prima

TABLA No. 16

PRECISION Y EXACTITUD PARA CLORURO DE METILENO							
Curva de Calibración				Interpolación de los datos en la ec. de regresión			
Concent.	75 %	100 %	125 %	Concent.	75 %	100 %	125 %
RESPUESTA		168996	212548	RESPUESTA	82409	116417	154504
EN	129528	171983	209434	EN	93139	115421	167315
AREAS	131656	176128	224095	AREAS	101653	118969	161389
	132159	174047	218221		90810	123773	148657
	131930	169762	176413		89851	130398	147829
X	131318.25	171983.2	207741.8	X	91578.40	120995.8	151998.80
D.E.	1211.08	2868.04	18349.13	D.E.	6918.88	8169.804	4280.00
C.V.	0.92	1.54	8.83	C.V.	7.56	5.10	2.80
Coeficiente de correlación Ecuación de Regresión				Conc. Interpol.			
$r^2 = 0.9986$				Conc. Nominal			
$Y = 76251.98 X + 17500.85$				% (R C C).			
				% SIN MP :			
				DIFERENCIA :			
				% CON MP :			
				0.971			
				1.357			
				1.764			
				2.506			
				84.82			
				67.71			
				70.40			
				71.00			
				70.35			
				70.70			
				6.377			
				2.642			
				0.308			
				100.8			
				100.0			
				100.0			

% CC : Porcentaje cuantificado con la Curva de Calibración
 % SIN MP : Porcentaje cuantificado sin materia prima (MP)
 DIFERENCIA : Es la diferencia obtenida entre %CC - % SIN MP
 % CON MP : Porcentaje cuantificado con materia prima

TABLA No. 17

PRECISION Y EXACTITUD PARA TRICLOROETILENO							
Curva de Calibración				Interpolación de los datos en la ec. de regresión			
Concent.	75 %	100 %	125 %	Concent.	75 %	100 %	125 %
RESPUESTA		291646	377731	RESPUESTA	172736	229998	304288
EN	232030	303448	373594	EN	188414	225048	300876
AREAS	234583	326311	415470	AREAS	198464	230682	298846
	238443	322799	404480		189658	248661	291460
	251660	299760	321869		181970	264564	297828
X	239151.50	308792.6	378828.80	X	185847.80	239790	297996.80
D.E.	8876.86	15080.43	36564.57	D.E.	8965.08	16497.73	7386.22
C.V.	3.63	4.88	9.65	C.V.	4.82	6.88	2.48
Coeficiente de correlación Ecuación de Regresión				Conc. Interpol.			
$r^2 = 1.0000$ $Y = 138671.9 X + 29569.70$				1.127 1.5180 1.936			
				Conc. Nominal 1.511 2.0145 2.618			
				% (R C C) 74.59 75.25 76.87			
				% SIN MP : 80.25 77.65 77.20			
				DIFERENCIA : 6.657 2.402 0.332			
				% CON MP : 103.3 100.0 99.92			
% CC : Por ciento cuantificado con la Curva de Calibración % SIN MP : Por ciento cuantificado sin materia prima (MP) DIFERENCIA : Es la diferencia obtenida entre %CC - % SIN MP % CON MP : Porcentaje cuantificado con materia prima							

TABLA No. 18

PRECISION Y EXACTITUD PARA CLOROFORMO							
Curva de Calibración				Interpolación de los datos en la ec. de regresión			
Concent.	75 %	100 %	125 %	Concent.	75 %	100 %	125 %
RESPUESTA		50738	64940	RESPUESTA	26494	35147	47174
EN	39588	52513	64142	EN	28533	34725	46561
AREAS	40192	54663	70028	AREAS	30448	36580	46097
	40440	54226	67722		28230	37807	44394
	41484	51784	64077		27376	40285	45226
X	40426	52782.8	64181.8	X	28016.00	36784.80	45950.40
D.E.	790.90	1845.61	8111.35	D.E.	1802.71	2300.19	1160.55
C.V.	1.96	3.12	9.52	C.V.	6.43	6.26	2.50
Coeficiente de correlación Ecuación de Regresión				Conc. Interpol.			
$r^2 = 0.9995$ $Y = 47298.76 X + 4951.93$				0.487 0.672 0.887			
				Conc. Nominal 0.753 1.004 1.256			
				% (R C C) 84.73 88.96 89.03			
				% SIN MP : 70.77 89.65 89.64			
				DIFERENCIA : 6.04 2.695 0.611			
				% CON MP : 101.6 100.0 99.98			
% CC : Por ciento cuantificado con la Curva de Calibración % SIN MP : Por ciento cuantificado sin materia prima (MP) DIFERENCIA : Es la diferencia obtenida entre %CC - % SIN MP % CON MP : Porcentaje cuantificado con materia prima							

PRECISION Y EXACTITUD PARA ESTEARATO DE CALCIO :

Los resultados obtenidos para los analitos (benceno, cloruro de metileno, dioxano, tricloroetileno y cloroformo), se muestran en las tablas 19 a la 23 respectivamente, de los cuales se puede concluir que :

- a). Los recobros calculados con la curva de calibración y con un solo punto difieren en más del 3% (fijado como límite) , por lo cual se considera necesario trazar la curva de calibración cada vez que se realice un análisis.

- b). Los recobros para los analitos bajo estudio son relativamente bajos, esto se debe principalmente al efecto de la matriz, para evitar este y aumentar la exactitud del método (tal como se muestra en las tablas de la 19 a la 23 en el renglón del % por ciento cuantificado con MP, para los cinco analitos), es conveniente adicionar a las disoluciones para la curva de calibración del punto III.5.4.5 materia prima de estearato de calcio que previamente se ha demostrado que no presenta señales que interfieran con las de interes.

Para obtener la materia prima libre de señales interferentes se pulverizo en un mortero de ágata, se seco en la estufa y se permitio que esta se enfriara a temperatura ambiente, y se verificó que efectivamente se encontraba libre de señales interferentes, siguiendo en método descrito.

- c). Por consiguiente las disoluciones de la curva de calibración se prepararon de la siguiente manera : Se pesaron 100 mg de estearato de calcio en el vial de vapor confinado del punto III.5.4.5 del inciso D, antes de adicionar el sulfato de sodio y se prosigulo como se indicaba en este punto.

TABLA No. 19

PRECISION Y EXACTITUD PARA BENCENO							
Curva de Calibración				Interpolación de los datos en la ec. de regresión			
Concent.	75 %	100 %	125 %	Concent.	75 %	100 %	125 %
RESPUESTA	1074331	1302637	1652828	RESPUESTA	977323	1232660	1399420
EN	1059744	1321746	1688327	EN	1013699	1232285	1613846
AREAS	1110009	1346542	1628014	AREAS	1004233	1246179	1644679
	1124413	1324761	1648063		1039685	1250291	1652201
	1108486	1380493	1663627		1005978	1232636	1467589
X	1095396.4	1336240	1664771	X	1008179.6	1238850.2	1493307
D.E.	27118.46	29706.92	219101.34	D.E.	22329.05	8691.8675	64906.52
C.V.	2.48	2.22	1.32	C.V.	2.21	0.70	4.34
Coeficiente de correlación Ecuación de Regresión				Conc.	1.395	1.802	2.263
$r^2 = 0.9933$	$Y = 552469.1 X + 243052.63$			Interpol.	1.519	2.025	2.631
				Conc.	91.18	89.01	89.40
				Nominal	100.7	92.78	87.47
				% (R C C)	9.486	3.771	0.066
				% SIN MP :	108.5	100.0	94.43
				DIFERENCIA :			
				% CON MP :			
<p>% RCC : Porcentaje cuantificado con la Curva de Calibración % SIN MP : Porcentaje cuantificado sin materia prima (MP) DIFERENCIA : Es la diferencia obtenida entre %CC - % SIN MP % CON MP : Porcentaje cuantificado con materia prima</p>							

TABLA No. 20

PRECISION Y EXACTITUD PARA DIOXANO								
Curva de Calibración				Interpolación de los datos en la ec. de regresión				
Concent.	75 %	100 %	125 %	Concent.	75 %	100 %	125 %	
RESPUESTA	8269	8190	10231	RESPUESTA	8114	8008		10170
EN	8198	8175	10108	EN	5939	8175		10064
AREAS	8082	8243	10050	AREAS	5868	8068		10072
	8168	8187	10132		6113	8126		10081
	8082	8218	10089		6118	8106		9972
X	8155.80	8202.8	10122	X	8030.00	8096.80		10067.8
D.E.	86.13	27.54	87.92	D.E.	119.23	62.78		70.18
C.V.	1.38	0.34	0.87	C.V.	1.98	0.78		0.70
Coeficiente de correlación Ecuación de Regresión				Conc. Interpol. Conc. Nominal % (R C C) % SIN MP : DIFERENCIA : % CON MP :				
$r^2 = 0.9997$ $Y = 3859.11 X + 227.73$				1.504 2.039 2.569 1.542 2.058 2.589 97.53 99.20 99.24 98.02 98.71 98.19 0.489 0.491 1.048 99.30 100.0 99.47				
% RCC : Por ciento cuantificado con la Curva de Calibración % SIN MP : Por ciento cuantificado sin materia prima (MP) DIFERENCIA : Es la diferencia obtenida entre %CC - % SIN MP % CON MP : Porcentaje cuantificado con materia prima								

TABLA No. 21

PRECISION Y EXACTITUD PARA CLORURO DE METILENO								
Curva de Calibración				Interpolación de los datos en la ec. de regresión				
Concent.	75 %	100 %	125 %	Concent.	75 %	100 %	125 %	
RESPUESTA	129618	164610	203229	RESPUESTA	107618	139038		183038
EN	127613	183506	203680	EN	110861	142101		170327
AREAS	130033	185666	197966	AREAS	108972	140866		178966
	130884	161257	196438		113737	141085		182050
	127680	164399	198218		111414	142738		184573
X	129145.80	163887.6	199903.80	X	110500.00	141165.60		171790.2
D.E.	1487.19	1659.20	3316.80	D.E.	2381.33	14.11.59		84.79.48
C.V.	1.15	1.01	1.66	C.V.	2.16	1.00		4.94
Coeficiente de correlación Ecuación de Regresión				Conc. Interpol. Conc. Nominal % (R C C) % SIN MP : DIFERENCIA : % CON MP :				
$r^2 = 0.9999$ $Y = 69970.83 X + 22766.40$				1.253 1.692 2.129 1.617 2.023 2.628 82.63 83.64 84.23 89.90 86.14 83.96 7.268 2.492 0.369 104.4 100.0 97.36				
% RCC : Por ciento cuantificado con la Curva de Calibración % SIN MP : Por ciento cuantificado sin materia prima (MP) DIFERENCIA : Es la diferencia obtenida entre %CC - % SIN MP % CON MP : Porcentaje cuantificado con materia prima								

TABLA No. 22

PRECISION Y EXACTITUD PARA TRICLOROETILENO							
Curva de Calibración				Interpolación de los datos en la ec. de regresión			
Concent.	75 %	100 %	125 %	Concent.	75 %	100 %	125 %
RESPUESTA	233649	280122	359919	RESPUESTA	212968	268497	309606
EN	230885	286796	369816	EN	222302	269468	332073
AREAS	245528	293604	358284	AREAS	221008	273953	337186
	250308	290911	362999		229398	273837	337135
	245612	303609	368090		220231	268573	316699
X	241192.40	291008.4	363375.60	X	221180.80	270685.8	324720
D.E.	8446.71	8685.91	4599.76	D.E.	6856.85	2948.50	16922.72
C.V.	3.50	2.98	1.27	C.V.	2.65	1.09	4.90
Coficiente de correlación Ecuación de Regresión				Conc. Interpol.			
$r^2 = 0.9888$				1.384			
$Y = 120645 X + 54159.07$				1.795			
				2.243			
				Conc. Nominal			
				1.619			
				2.026			
				2.532			
				% (R C C)			
				91.13			
				86.86			
				% SIN MP :			
				101.3			
				93.00			
				89.27			
				DIFERENCIA :			
				10.21			
				4.410			
				0.692			
				% CON MP :			
				108.0			
				100.0			
				95.98			

% RCC : Por ciento cuantificado con la Curva de Calibración
 % SIN MP : Por ciento cuantificado sin materia prima (MP)
 DIFERENCIA : Es la diferencia obtenida entre %CC - % SIN MP
 % CON MP : Porcentaje cuantificado con materia prima

TABLA No. 23

PRECISION Y EXACTITUD PARA CLOROFORMO							
Curva de Calibración				Interpolación de los datos en la ec. de regresión			
Concent.	75 %	100 %	125 %	Concent.	75 %	100 %	125 %
RESPUESTA	40181	49192	61710	RESPUESTA	36240	44427	51064
EN	39598	49349	62611	EN	36711	44814	54819
AREAS	41011	50257	60865	AREAS	36227	45100	66451
	41475	49314	60618		37517	45200	56920
	40761	51122	61323		36495	44978	52585
X	40504.60	49954.8	61385.4	X	36438.00	44903.40	54328.4
D.E.	732.45	835.01	824.60	D.E.	824.89	302.84	2499.27
C.V.	1.80	1.67	1.34	C.V.	2.26	0.67	4.60
Coficiente de correlación Ecuación de Regresión				Conc. Interpol.			
$r^2 = 0.9980$				0.662			
$Y = 41354.83 X + 9053.33$				0.754			
				1.005			
				1.256			
				% (R C C)			
				87.85			
				86.26			
				87.15			
				% SIN MP :			
				97.45			
				90.07			
				87.19			
				DIFERENCIA :			
				9.598			
				3.811			
				0.031			
				% CON MP :			
				108.2			
				100.0			
				96.79			

% RCC : Por ciento cuantificado con la Curva de Calibración
 % SIN MP : Por ciento cuantificado sin materia prima (MP)
 DIFERENCIA : Es la diferencia obtenida entre %CC - % SIN MP
 % CON MP : Porcentaje cuantificado con materia prima

PRECISION Y EXACTITUD PARA PROMOGEL :

Los resultados obtenidos para los analitos (benceno, cloruro de metileno, dioxano, tricloroetileno y cloroformo), se muestran en las tablas 24 a la 28 respectivamente, de los cuales se puede concluir que :

- a). Los recobros calculados con la curva de calibración y con un solo punto difieren en más del 3% (fijado como límite) , por lo cual se considera necesario trazar la curva de calibración cada vez que se realice un análisis.

- b). Los recobros para los analitos bajo estudio son relativamente bajos, esto se debe principalmente al efecto de la matriz, para evitar este y aumentar la exactitud del método (tal como se muestra en las tablas de la 24a la 28 en el renglón del % por ciento cuantificado con MP, para los cinco analitos), es conveniente adicionar a las disoluciones para la curva de calibración del punto III.5.4.5 materia prima de primogel que previamente se ha demostrado que no presenta señales que interfieran con las de interés.

Para obtener la materia prima libre de señales interferentes se pulverizo en un mortero de agate, se seco en la estufa y se permitio que esta se enfriara a temperatura ambiente, y se verificó que efectivamente se encontraba libre de señales interferentes, siguiendo en método descrito.

- c). Por consiguiente las disoluciones de la curva de calibración se prepararon de la siguiente manera : Se pesaron 100 mg de primogel en el vial de vapor confinado del punto III.5.4.5 del inciso D, antes de adicionar el sulfato de sodio y se prosiguo como se indicaba en este punto.

TABLA No. 24

PRECISION Y EXACTITUD PARA BENCENO							
Curva de Calibración				Interpolación de los datos en la ec. de regresión			
Concent.	75 %	100 %	125 %	Concent.	75 %	100 %	125 %
RESPUESTA	1017798	1278348	1556327	RESPUESTA	973613	999334	1662790
EN	997480	1285989	1649448	EN	102805	1216288	1614735
AREAS	1037930	1310558	1675987	AREAS	1062147	1282416	1687620
	1052901	1389128	1628560		989036	1201916	1643664
	1070351	1333980	1646406		1017584	1227141	1671193
X	1035292	1313596	1631926	X	1014117.0	1185418.8	1626001
D.E.	28644.18	33646.88	45266.15	D.E.	35633.89	108399.25	63273.46
C.V.	2.77	2.58	2.78	C.V.	3.42	9.14	3.26
Coeficiente de correlación Ecuación de Regresión				Conc. Interpol.			
$r^2 = 0.9985$ $Y = 590726.3 X + 133670.20$				Conc. Nominal			
				% (R C C).			
				% SIN MP :			
				DIFERENCIA :			
				% CON MP :			
				1.490			
				1.515			
				2.020			
				88.38			
				88.10			
				100.7			
				102.9			
				90.24			
				96.83			
				4.566			
				2.102			
				1.086			
				114.0			
				100.0			
				110.41			

% RCC : Porcentaje cuantificado con la Curva de Calibración
 % SIN MP : Porcentaje cuantificado sin materia prima (MP)
 DIFERENCIA : Es la diferencia obtenida entre %CC - % SIN MP
 % CON MP : Porcentaje cuantificado con materia prima

TABLA No. 25

PRECISION Y EXACTITUD PARA DIOXANO							
Curva de Calibración				Interpolación de los datos en la ec. de regresión			
Concent.	75 %	100 %	125 %	Concent.	75 %	100 %	125 %
RESPUESTA	6139	8426	10240	RESPUESTA	6167	8058	10674
EN	6168	8721	40313	EN	6067	5163	11310
AREAS	8074	9308	9928	AREAS	6210	5278	10299
	6288	8199	9921		5946	8343	10648
	6205	8304	10149		5925	7860	10028
X	61.74.80	8391.8	10110.2	X	6067.00	8140	10632.8
D.E.	79.40	200.90	179.23	D.E.	128.74	190.99	518.29
C.V.	1.29	2.39	1.77	C.V.	2.09	2.35	4.86
Coeficiente de correlación Ecuación de Regresión				Conc. Interpol.			
$r^2 = 0.9947$ $Y = 3684.896 X + 354.73$				Conc. Nominal			
				% (R C C).			
				% SIN MP :			
				DIFERENCIA :			
				% CON MP :			
				1.470			
				1.519			
				2.026			
				98.77			
				98.92			
				104.5			
				96.39			
				97.00			
				101.4			
				0.377			
				1.912			
				3.102			
				99.38			
				100.0			
				109.49			

% RCC : Porcentaje cuantificado con la Curva de Calibración
 % SIN MP : Porcentaje cuantificado sin materia prima (MP)
 DIFERENCIA : Es la diferencia obtenida entre %CC - % SIN MP
 % CON MP : Porcentaje cuantificado con materia prima

TABLA No. 26

PRECISION Y EXACTITUD PARA CLORURO DE METILENO							
Curva de Calibración				Interpolación de los datos en la ec. de regresión			
Concent.	75 %	100 %	125 %	Concent.	75 %	100 %	125 %
RESPUESTA	131562	166544	203895	RESPUESTA	125916	130174	207381
EN	128156	164912	208423	EN	128333	157830	204280
AREAS	128926	163878	208015	AREAS	130171	164958	206010
	128941	169931	200482		119984	154074	205882
	131607	167430	202821		124422	154670	205946
X	129838.40	166539	203883.2	X	126766.60	152321.2	205887.8
D.E.	1625.35	2346.68	2464.40	D.E.	3913.28	13121.20	1099.89
C.V.	1.25	1.41	1.21	C.V.	3.11	8.81	0.63
Coficiente de correlación Ecuación de Regresión				Conc. Interpol.			
$r^2 = 1.0000$ $Y = 72878.74 X + 18653.93$				Conc. Nominal	1.469	1.634	2.569
				% (R C C)	1.524	2.032	2.540
				% SIN MP :	98.43	90.26	101.1
				DIFERENCIA :	100.7	91.46	98.97
				% CON MP :	4.269	1.210	2.17
				% CON MP :	110.1	100.0	108.3

% RCC : Por ciento cuantificado con la Curva de Calibración
 % SIN MP : Por ciento cuantificado sin materia prima (MP)
 DIFERENCIA : Es la diferencia obtenida entre %CC - % SIN MP
 % CON MP : Porcentaje cuantificado con materia prima

TABLA No. 27

PRECISION Y EXACTITUD PARA TRICLOROETILENO							
Curva de Calibración				Interpolación de los datos en la ec. de regresión			
Concent.	75 %	100 %	125 %	Concent.	75 %	100 %	125 %
RESPUESTA	218420	272901	331849	RESPUESTA	208856	211288	326672
EN	215916	276673	357818	EN	224393	259062	348640
AREAS	228115	284869	365304	AREAS	234966	274202	364503
	232736	285740	365403		218438	256836	370160
	235959	288364	359860		224101	263782	364430
X	226429	281729.4	354046.8	X	222150.80	252630	354881
D.E.	8560.26	8597.45	12935.62	D.E.	9534.11	24237.79	17891.18
C.V.	3.76	2.34	3.65	C.V.	4.29	9.59	4.99
Coficiente de correlación Ecuación de Regresión				Conc. Interpol.			
$r^2 = 0.9941$ $Y = 125422.9 X + 32166.13$				Conc. Nominal	1.515	1.759	2.673
				% (R C C)	1.526	2.035	2.544
				% SIN MP :	99.25	88.45	101.2
				DIFERENCIA :	105.1	89.74	100.8
				% CON MP :	5.880	3.290	0.380
				% CON MP :	117.2	100.0	112.3

% RCC : Por ciento cuantificado con la Curva de Calibración
 % SIN MP : Por ciento cuantificado sin materia prima (MP)
 DIFERENCIA : Es la diferencia obtenida entre %CC - % SIN MP
 % CON MP : Porcentaje cuantificado con materia prima

TABLA No. 28

PRECISION Y EXACTITUD PARA CLOROFORMO							
Curva de Calibración				Interpolación de los datos en la ec. de regresión			
Concent.	75 %	100 %	125 %	Concent.	75 %	100 %	125 %
RESPUESTA	38584	49071	59928	RESPUESTA	37219	38164	59422
EM	37840	49231	62268	EM	38652	46303	60681
AREAS	38799	49560	63126	AREAS	39252	49175	62374
	38133	51340	61145		36403	45426	62374
	39926	50678	61861		37714	46142	62189
X	38850.4	60015.6	61684.6	X	37848.00	48046	61426
D.E.	786.19	1026.68	1206.66	D.E.	1131.29	4107.12	1334.58
C.V.	1.87	2.05	1.96	C.V.	2.99	9.12	2.17
Coeficiente de correlación Ecuación de Regresión				Conc. Interpol.			
$r^2 = 0.9998$ $Y = 45562.06 X + 4546.80$				0.731			
				Conc. Nominal			
				0.761			
				% (R C C)			
				97.30			
				% SIN MP :			
				100.9			
				DIFERENCIA :			
				3.690			
				0.310			
				% CON MP :			
				112.0			
				100.0			
				109.10			
% RCC : Porcentaje cuantificado con la Curva de Calibración % SIN MP : Porcentaje cuantificado sin materia prima (MP) DIFERENCIA : Es la diferencia obtenida entre %CC - % SIN MP % CON MP : Porcentaje cuantificado con materia prima							

IV. 4 PRUEBAS PARA AUMENTAR EL RECOBRO DE LOS ANALITOS.

Para tratar de incrementar el recobro para el cloruro de metileno, tricloroetileno, cloroformo, dioxano y benceno se realizaron las siguientes pruebas (3) :

- Variación de la concentración de sal (sulfato de sodio).
- Variación de la temperatura.
- Adición de disolventes.
- Adición de agentes tensoactivos (en el caso del estearato de calcio).

Como se puede apreciar, los porcentos de recobro de analitos obtenidos para Dioxido de Titanio, Polietilenglicol 8000, Estearato de Calcio y Primogel (Tablas de la 29 a la 32 respectivamente) no se mejoraron al modificar la concentración del sulfato de sodio a 1.2g , 85°C y 2.5g, 90°C; si no al contrario en algunos casos se disminuyó, esto se debe principalmente al aumento de la tensión superficial de la solución, ya que los analitos quedan ocluidos en este. De igual manera sucedió al adicionar los disolventes de dimetilacetamida y dimetilformamida.

Para el estearato de calcio se probaron dos agentes tensoactivos como son: el Tween 80 y Laurilsulfato de sodio (tabla No. 31), con ambos se observó que no se presentaron cambios favorables en el por ciento de recobro, si no que al contrario disminuyo; además se observó que las partículas del polietilenglicol se disgregaron eficientemente, sin embargo la suspensión se torno viscosa, por lo que se infiere que los analitos bajo estudio quedaron ocluidos en esta suspensión .

Por lo tanto, los recobros relativamente bajos de los disolventes, se deben a que quedan adsorbidos en la materia prima; y como consecuencia se determinaría una cantidad menor de la que realmente esta presente y en ocasiones provocaría aceptar una materia prima que en realidad esta fuera de especificaciones.

TABLA No. 29

MATERIA PRIMA : DIOXIDO DE TITANIO				
CONDICIONES DE PRUEBA				
BENCENO				
	Temp. 90°C	Temp. 85°C	TEMPERATURA 80°C	
	1.2 g de Na2SO4	2.5 g Na2SO4	DIMETILFORMAMI.	DIMETILACETAMI.
X	1336971.40	1144680.20	1239257	805297.5
D.E	141384.04	132062.31	13923.64	29485.66
CV	10.57	11.54	1.12	3.66
Conc.Interp.	1.8909	1.4230	2.0262	1.3362
% Recup.	92.80	69.85	102.37	66.53
DIOXANO				
X	14324.20	28191.4	8116.5	6186.5
D.E	533.69	1183.39	19.09	2044.2467
CV	3.73	4.20	0.24	3.30
Conc.Interp.	2.0064	1.5817	1.6017	1.2208
% Recup.	99.20	78.65	78.80	60.07
CLORURO DE METILENO				
X	173512	141261.80	154377.0	101476
D.E	15730.95	15097.11	1974.24	9534.63
CV	9.07	10.69	1.28	9.40
Conc.Interp.	1.8867	1.4375	2.0906	1.3742
% Recup.	93.63	71.55	104.12	68.43
TRICLOROETILENO				
X	276572.4	226618.8	269322.5	176145.5
D.E	30778.56	24106.97	6161.02	5782.01
CV	11.13	10.64	2.29	3.28
Conc.Interp.	1.8474	1.3820	2.0907	1.2672
% Recup.	92.39	68.79	95.17	62.35
CLOROFORMO				
X	50701.40	46583.2	48381	31067.5
D.E	5248.69	5822.96	107.4802	1546.44
CV	10.35	12.50	0.22	4.98
Conc.Interp.	0.9433	0.7150	1.0815	0.6945
% Recup.	92.66	69.68	104.60	67.17

TABLA No. 30

MATERIA PRIMA : POLIETILENGLICOL 8000				
CONDICIONES DE PRUEBA				
BENCENO				
	Temp. 90°C	Temp. 85°C	TEMPERATURA 80°C	
	1.2 g de Na2SO4	2.5 g Na2SO4	DIMETILFORMAMIDA	DIMETILACETAMIDA
X	1050030	1118359.8	880791	865419
D.E	80872.44	128272.89	74581.58	5744.54
CV	7.70	11.29	8.47	0.66
Conc.Interp.	1.4851	1.3902	1.4084	1.3838
% Recup.	72.88	68.25	69.48	68.27
DIOXANO				
X	12698	25136	7618	7842
D.E	384.97	3446.97	534.57	12.75.62
CV	3.03	13.71	7.02	14.29
Conc.Interp.	1.7783	1.4103	1.9393	1.9963
% Recup.	87.93	70.12	94.41	97.19
CLORURO DE METILENO				
X	128001.40	131340.5	102171	102173.5
D.E	9350.47	17955.71	8746.91	89.80
CV	7.30	13.67	8.58	0.09
Conc.Interp.	1.3918	1.3365	1.3371	1.3372
% Recup.	69.07	66.53	66.66	66.66
TRICLOROETILENO				
X	229205	236141.25	207027	196834.5
D.E	18057.17	20598.48	21278.26	1147.63
CV	7.88	8.72	10.28	0.58
Conc.Interp.	1.5310	1.4401	1.5197	1.4448
% Recup.	76.57	71.68	75.83	72.10
CLOROFORMO				
X	37637.8	40885.75	31840.50	31400.50
D.E	2788.10	4459.26	2529.32	328.80
CV	7.42	10.91	7.94	1.05
Conc.Interp.	0.6984	0.6275	0.6809	0.6715
% Recup.	68.60	61.16	66.79	65.87

TABLA No. 31

MATERIA PRIMA : ESTEARATO DE CALCIO						
CONDICIONES DE PRUEBA						
BENCENO						
	Temp. 80°C	Temp. 85°C	Temp. 90°C	Temp. 85°C	TEMPERATURA 80°C	
	175 mg Tween	Laurilsulfato de Sodio	1.2g Na2SO4	2.5g Na2SO4	DIMETILFO RMAMIDA	DIMETILACE TAMIDA
X	701850.5	737709	1175084	1210902	1130875	1228449.50
D.E	15493.42	49926.53	88044.36	75720.04	202.23	20079.71
CV	2.21	6.77	7.49	6.25	0.02	1.63
Conc.Interp.	1.8447	0.9171	1.6820	1.5053	1.8083	1.9843
% Recup.	90.51	45.02	81.37	73.90	89.21	96.91
DIOXANO						
X	11095.50	27383.60	13665	31038.80	7888.5	7535
D.E	597.50	1723.84	483.64	1197.24	391.03	336.58
CV	5.39	6.30	3.39	3.86	4.96	4.47
Conc.Interp.	1.9098	1.5364	1.9141	1.7415	2.0071	1.9181
% Recup.	95.22	76.40	94.64	86.60	97.77	93.38
CLORURO DE METILENO						
X	113987.5	131517.2	140710.40	159215.6	131353	132218
D.E	2779.64	10577.042	8154.38	8960.564	4956.82	7512.30
CV	2.44	8.04	5.80	5.63	3.77	5.68
Conc.Interp.	1.9514	1.3383	1.5300	1.6202	1.7191	1.7303
% Recup.	97.10	66.62	75.93	80.65	85.70	86.28
TRICLOROETILENO						
X	131496.5	109713.6	237194.20	220243.6	243633.00	277517
D.E	1987.87	8116.006	19466.56	14512.78	3044.80	13026.32
CV	1.51	7.40	8.21	6.59	1.25	4.69
Conc.Interp.	1.7508	0.669092	1.5843	1.3432	1.7883	2.0371
% Recup.	86.39	33.30	79.24	66.88	89.24	101.65
CLOROFORMO						
X	26707.00	35467	43738.6	50777.8	41493.5	43876.5
D.E	223.45	2784.60	3051.60	3116.47	630.03	1617.15
CV	0.84	7.85	6.98	6.14	1.52	3.69
Conc.Interp.	0.9612	0.5443	0.8137	0.779336	0.8874	0.9383
% Recup.	94.10	53.06	79.93	75.96	87.04	92.04

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

TABLA No. 32

MATERIA PRIMA : PRIMIGEL CONDICIONES DE PRUEBA				
BENCENO				
	TEMPERATURA 90°C		TEMPERATURA 80°C	
	1.2 g de Na ₂ SO ₄	2.5 g Na ₂ SO ₄	DIMETILFORMAMID.	DIMETILACETAMID A
X	1197238	1218482	938748	940717.00
D.E	108352.53	105316.60	14511.25	42311.87
CV	9.05	8.64	1.55	4.50
Conc.Interp.	1.6933	1.5147	1.5576	1.5690
% Recup.	83.11	74.36	77.55	77.71
DIOXANO				
X	13934	28490	7861.00	7842.50
D.E	543.76	973.18	120.21	150.61
CV	3.90	3.42	1.53	1.92
Conc.Interp.	1.9518	1.5985	1.5513	1.5476
% Recup.	96.50	79.50	76.32	76.14
CLORURO DE METILENO				
X	161929.25	149243.80	116397.5	119254.5
D.E	11550.14	12611.88	361.33	5118.76
CV	7.13	8.45	0.31	4.29
Conc.Interp.	1.7608	1.5187	1.5763	1.6150
% Recup.	87.38	75.60	78.50	80.43
TRICLOROETILENO				
X	240076.25	242036.30	210159.5	211919.50
D.E	24263.47	19524.19	9335.93	19120.87
CV	10.11	8.07	4.44	9.02
Conc.Interp.	1.6036	1.4761	1.5119	1.5246
% Recup.	80.20	73.47	74.26	74.88
CLOROFORMO				
X	46063.25	49137.75	35398.6	36117.5
D.E	3970.41	5663.19	147.78	1728.88
CV	6.62	11.52	0.42	4.79
Conc.Interp.	0.8570	0.7542	0.7913	0.8074
% Recup.	84.18	73.51	76.53	78.08

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. A través del estudio realizado se demostró que el método IV USP 23, para la determinación de Impurezas Volátiles Orgánicas es capaz de obtener resultados confiables con la especificidad, precisión y exactitud requeridos. Ya que el análisis de la fase de vapor confinado por cromatografía de gases y empleando columnas capilares, permite cuantificar de manera satisfactoria al Benceno, Dioxano, Cloruro de Metileno, Tricloroetileno y Cloroformo en Dioxido de Titanio, Polietilenglicol 8000, Estearato de Calcio y Primogel.

2. El sistema demostró ser preciso con coeficientes de variación de 11.03, 15.02, 12.51, 11.02 y 11.77, para Benceno, Cloruro de Metileno, Tricloroetileno y Dioxano, respectivamente. Todos son menores al 15%, de acuerdo a lo establecido por la USP 23, excepto el cloruro de metileno que es el que se encuentra en el límite establecido.

3. El sistema es lineal, preciso y exacto en el intervalo de 75 a 125 partes por millón para Benceno, Dioxano, Cloruro de Metileno, Tricloroetileno y Dioxano.

4. Una vez establecido el sistema cromatográfico con la calidad requerida por la técnica, del Método IV de la Farmacopea de los Estados Unidos de América, para la determinación de Impurezas Volátiles Orgánicas tales como : Benceno, Dioxano, Cloruro

de Metileno, Tricloroetileno y Cloroformo fue posible cuantificarlas en Dioxido de Titanio, Polietilenglicol 8000, Estearato de Calcio y Primogel (en placebos adicionados)..

5. Al evaluar la especificidad, precisión y exactitud del método fue posible verificar el desempeño de la técnica analítica para las materias primas bajo estudio.

6. Se considera indispensable evitar cambios bruscos de temperatura al preparar, manipular e inyectar las muestras al sistema cromatográfico, ya que es un parámetro crítico para el desarrollo del método.

SUGERENCIAS

SUGERENCIAS

Las sugerencias realizadas a proyecto son :

- 1). Probar con otro tipo de disolventes aparte de los indicados en este trabajo, para tratar de aumentar así, los porcentos de recobro de las materias primas bajo estudio.
- 2). Variar la concentración de la Sal (Sulfato de sodio).
- 3). Probar con otro tipo de sal, diferente al sulfato de sodio.

APENDICES

APENDICE No. 1

Cálculo del Factor Respuesta :

Calcular el factor de respuesta de las señales de Benceno, Cloruro de Metileno, Tricloroetileno, 1,4 Dioxano y Cloroformo de las siguientes inyecciones de la Solución de Referencia:

$$Fr = \frac{Pstd \cdot FDr \cdot 1000}{Am}$$

donde:

Fr = Factor respuesta de Benceno, Cloruro de Metileno, Tricloroetileno, 1,4 Dioxano ó Cloroformo en la Solución de Referencia.

Pstd = Peso del estándar en miligramos(mg) de Benceno, Cloruro de Metileno, Tricloroetileno, 1,4 Dioxano ó Cloroformo.

Am = Area de Benceno, Cloruro de Metileno, Tricloroetileno, 1,4 Dioxano ó Cloroformo en la Solución de Referencia.

FDr = Factor de dilución de la Solución de Referencia

$$FDr = \frac{\text{Referencia} \cdot 5 \text{ mL} \cdot 4 \text{ mL}}{100 \text{ mL} \cdot 200 \text{ mL} \cdot 200 \text{ mL}} = 5 \cdot 10^{-6}$$

Cálculo del Coeficiente de variación :

Calcular el Coeficiente de Variación de los factores de respuesta de las señales individuales de las seis inyecciones de la Solución de Referencia como sigue:

$$C.V. = \frac{S}{X} \cdot 100$$

donde:

C.V. = Coeficiente de Variación del factor respuesta de las seis inyecciones.

S = Desviación estándar del factor respuesta de las seis inyecciones.

X = Media del factor respuesta de las seis inyecciones.

Determinar las partes por millón de Benceno, Cloruro de Metileno, Tricloroetileno, 1,4 Dioxano y Cloroformo en la Solución Problema utilizando la siguiente relación:

$$ppm = \frac{A_m \cdot P_{std} \cdot F_{Dm} \cdot F_{Dr} \cdot 1\,000\,000}{A_r \cdot P_m}$$

donde:

A_m = Area promedio de Benceno, Cloruro de Metileno, Tricloroetileno, 1,4 Dioxano ó Cloroformo en las cinco inyecciones de la solución problema.

A_r = Area promedio de Benceno, Cloruro de Metileno, Tricloroetileno, 1,4 Dioxano ó Cloroformo en las 5 inyecciones de la Solución de Referencia.

P_{std} = Peso del estándar en miligramos (mg) de Benceno, Cloruro de Metileno, Tricloroetileno, 1,4 Dioxano y Cloroformo.

F_{Dr} = Factor de dilución de la Solución de Referencia.

FDm = Factor de dilución de la Solución Problema.

$$\frac{\text{Muestra}}{5} = \frac{\text{Muestra}}{\text{FDm}} ; \text{FDm} = 5$$

Pm = Peso de la muestra de la materia prima en miligramos (Dioxido de Titanio).

ESPECIFICACIONES

La cantidad en partes por millón (ppm) de Benceno, Cloruro de Metileno, Tricloroetileno, 1,4 Dioxano y Cloroformo en cualquiera de las materias primas no debe ser mayor a 100, 500, 100, 100 y 50 ppm respectivamente.

A P E N D I C E N o . 2

CALCULOS PARA EL ANÁLISIS DE VARIANCA :

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio
Entre renglones (Efecto A)	r-1	q1	S ² 1 = q1/(r-1)
Entre columnas (Efecto B)	p-1	q2	S ² 2 = q2/(p-1)
Desviaciones	(r-1)(p-1)	q3	S ² 3 = Q3/(r-1)(p-1)
Total	n-1	q	

$$q_1 = p \sum_{i=1}^r (X_i - \bar{X})^2$$

p = Número de valores por renglón.

$$q_2 = r \sum_{k=1}^p (X_k - \bar{X})^2$$

r = Número de valores por columna.

$$q_1 = p \sum_{i=1}^r \sum_{k=1}^p (X_{ik} - X_i - X_k + \bar{X})^2$$

$$X_i = 1/p \sum_{k=1}^p X_{ik} = \text{Suma de valores del } i\text{ésimo renglón}$$

No. de valores por renglón

$$X_i = 1/r \sum_{i=1}^r X_{ik} = \text{Suma de valores en la } k\text{ésima columna}$$

No. de valores por columna

$$X = p \sum_{i=1}^r \sum_{k=1}^p X_{ik}$$

$$q = \sum_{i=1}^r \sum_{k=1}^p (X_{ik} - X_i)^2$$

$$F_1 = S^2_1 / S^2_3$$

$$F_1 = S^2_2 / S^2_3$$

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. **Thirty-seven monographs will be added to the official compendia via the first supplement to USP XXII and to NF XVII, Pharmacopoeial Forum 1989 (July - Aug), 5256 - 5259 pp.**
2. **Proposed Automated Headspace Method for Organic Volatile Impurities <467> and Other Residual Solvents, Pharmacopoeial Forum 1992 (Jan-Feb), 2964 - 2972pp.**
3. **Committee on Rational Specifications for Impurities in Bulk Drug Substances - Pharmaceutical Manufacturers Association, Pharmacopoeial Forum 1989 (Nov - Dec), 5749 - 5759 pp.**
4. **Organic Volatile Impurities, U.S.P 23. Chemical Tests < 467 >, 3718 - 3721 pp.**
5. **Chemical Safety Data Sheets. Solvents Royal Society of Chemistry, Vol. Y 1989, 14 - 17, 45 - 48, 83 - 85, 119 - 121, 315 - 317 pp.**
6. **Handbook of Pharmaceutical Excipients, American Pharmaceutical Association 327 - 330, 36 - 38, 275 - 278, 209 - 213 pp.**
7. **Introducción a la Cromatografía. Abbot, David, 3a. ed. México. Ed. Limusa 1983. 157 pp.**
8. **Application of the PMA Procedure for Setting Residue Limits for Organic Volatile Solvents in Pharmaceuticals, Bergren S. Michel et al. Pharmacopoeial Forum 1991; (May - June): 1963 - 1968 pp.**
9. **Marsul, F., et al, Gas Chromatography method for solvent residues in drug raw materials, J. Pharmaceutical Science. 1984, (73) 1664 - 1666 pp.**

10. **Cromatografía Líquida de Alta Resolución**, García De Marina, 1a. ed. México, Ed. Limusa. 1988. 252 pp.
11. **Determination of residual solvents in pharmaceutical products by gas chromatography coupled to a headspace injection system and using an external standard**, M. Peson et al, J. Chromatography 1987 403: 109 - 121 pp.
12. **Drug Matrix Effect on the Determination of Residual Solvents in Bulk Pharmaceuticals by wide - Bore Capillary Gas Chromatography**, Brian. Kersten S. et al, Journal of Chromatographic Science 30:115 - 119 (1992).
13. Kolb B, Boden Seewerk., Pharmacopial Forum 1984; 20 (1): 6956 - 6960 pp.
14. **Cromatografía de Gases**, M. Mc Nair, Harold., Trad. Xorge A. Domínguez. México. Ed. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. 1981.89 pp.
15. **High Resolution Gas Chromatography**, R.R. Freeman., 2a. de. Hewlett - Pckard Co.
16. **Organic Volatile Impurities**, USP - NF < 467 > . Suplement 1 - 9 .
17. **Impurities in official articles**, USP XXII < 1086 > 1682 - 1684 pp.
18. **La Práctica de la Cromatografía de Gases**, W. Rowland Fred., 2a. ed. México, División de Avondale Hewlett - Packard. 1977. 109 pp
19. William Christopher, Kidd III. Pharmacopial Forum 1993; 20 (2) 5063 pp.
20. J.P. Guimbard, et al, **Determination of Residual Solvents in Pharmaceutical Products by Gas Chromatography Couple to a Head-Space Injection System and Using an External Standard**. Journal Chromatografy, 1987 (403) , 109 - 121 pp.
21. **HP 19395A Headspace Sampler. Operating and service Manual**, Hewlett - Packard Company, (1988).

22. **Headspace Analysis and related methods in gas Chromatography**, Loffe, B.V. et al , 1984, Inc., U.S.A.
23. **United States Pharmacopeia XXII - National Forum XVII**, 1990, 1773 - 1779pp.
24. **Proposed modifications to USP method V for organic volatile impurities**, Clark, L. et al, Pharmacopeial Forum, 1993, 5074pp.
25. **Comparison of fused silica and other glass columns in gas chromatography**. Jennings. W.G. Heidelberg, 1981.
26. **Proposed Automated Headspace Method for Organic Volatile Impurities <467> and other residual solvent**; K.J. Dennis P.A. Josephs, and J. Dokladalova. Pharmacopeial Forum, 18_2964 - 72, (1992).
27. **Probability and Statistics for Engineers**, Irwin Miller and John E. Freund; Prentice - Hall, Inc., Inglewood Cliffs, New Jersey, (versión en español), 215-20, (1980).
28. **Introducción a la Estadística Matemática, Principios y Método**, Erwin Kreyzig, Editorial Limusa, México, D.F., 291-7, (1981).