



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**DESARROLLO DE GUÍAS DE LIMPIEZA, USO Y CALIBRACIÓN DE
CALORÍMETRO DIFERENCIAL DE BARRIDO Y ANALIZADOR
TERMOGRAVIMÉTRICO CON APLICACIONES FARMACÉUTICAS**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTAN:

DAMARIS CABRERO PALOMINO

MAYTE MARTÍNEZ SANTOYO

ASESORA: DRA. RAQUEL LÓPEZ ARELLANO



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
 UNIDAD DE ADMINISTRACION ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
 FACULTAD DE ESTUDIOS
 SUPERIORES CUAUTITLAN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
 DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLAN
 PRESENTE

ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
 Jefa del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán.

Con base en el Art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicarle a usted que revisamos la Tesis:

Desarrollo de guías de limpieza, uso y calibración de calorímetro diferencial de barrido y analizador termogravimétrico con aplicaciones farmacéuticas.

Que presenta la pasante Damaris Cabrero Palomino

Con número de cuenta: 406007360 para obtener el título de:

Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
 Cuautitlan Izcalli, Mex. a 22 de febrero de 2011

PRESIDENTE DESS. Rodolfo Cruz Rodríguez

VOCAL Dra. Raquel López Arellano

SECRETARIO QBP. Martha Elena García Corrales

1er SUPLENTE MC. Elvia Adriana Morales Hipólito

2º SUPLENTE Dr. Roberto Díaz Torres



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
 UNIDAD DE ADMINISTRACION ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
 DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLAN
 PRESENTE

ATN:L.A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
 Jefa del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán.

Con base en el Art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:
 Desarrollo de guías de limpieza, uso y calibración de calorímetro diferencial de barrido y analizador termogravimétrico con aplicaciones farmacéuticas.

Que presenta la pasante Mayte Martínez Santoyo
 Con número de cuenta: 406058568 para obtener el título de:
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
 Cuautitlan Izcalli, Mex. a 22 de febrero de 2011

PRESIDENTE ^o DESS. Rodolfo Cruz Rodríguez
 VOCAL Dra. Raquel López Arellano
 SECRETARIO QBP. Martha Elena García Corrales
 1er SUPLENTE MC. Elvia Adriana Morales Hipólito
 2º SUPLENTE Dr. Roberto Díaz Torres

AGRADECIMIENTOS DAMARIS

Gracias a mi **Papá** y mi **Mamá** por su constante e incondicional apoyo, porque nunca me faltó nada, por enseñarme a ser una mujer responsable, trabajadora y perseverante, que lucha por sus metas y es capaz de valerse por sí misma, muchas gracias y muchas felicidades por ser los mejores padres y por haber criado una mujer de bien. Este triunfo es suyo.

Gracias a mi **hermano** por ser distracción y diversión en los momentos en que necesitaba olvidarme de mis deberes.

Gracias a mis abuelitos, en especial a mi **abuelita Consuelo**, gracias a mis tíos, tías, primos y hasta sobrinos por formar en conjunto una **familia** tan especial y única como las que hay pocas y a la cual adoro.

Gracias a **Gandi, Susana, Mayte y Maritza** por su compañía y por hacer la universidad más llevadera. ¿Que hubiera sido de mi estancia en la universidad sin ustedes? Todo hubiera sido muy aburrido y tedioso, sin mencionar que el trabajar juntos aligeraba la carga de trabajo enormemente, sin ustedes no habría disfrutado de tantas horas de risas hasta doler el estómago, muchas gracias amigos, los quiero!!

Gracias a mis **maestros** tanto a los buenos como a los no tan buenos porque de cada uno de ellos aprendí algo, algunos de ellos marcaron por completo mi vida profesional y los considero un ejemplo a seguir.

Gracias **Doctora Raquel** por su apoyo y por ver en mí cualidades que la hicieron brindarme su confianza para realizar este proyecto.

Gracias **Jorge Espino** por darnos esta oportunidad. Gracias al personal de Chinoin y en especial a los integrantes del área de **desarrollo galénico** por el apoyo y por convertir nuestra estancia en Chinoin en una experiencia agradable.

DEDICATORIAS MAYTE

A mi familia y amigos.

A la Dra Raquel López Arellano

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

A Jorge Espino y al equipo de Desarrollo Galénico de Productos Farmacéuticos

S.A. de C.V.

ÍNDICE

	Página
Abreviaturas	xv
Objetivo	1
Introducción	1
Fundamentos del análisis térmico, instrumentos y sus aplicaciones	3
1. Introducción.....	3
2. Análisis Térmico en la Industria Farmacéutica.....	5
3. Principios Termodinámicos de Calorimetría Diferencial de Barrido y Análisis Termogravimétrico.....	7
3.1 Temperatura: Ley Cero de la Termodinámica.....	8
3.2 Primera Ley de la Termodinámica.....	8
3.3 Segunda Ley de la Termodinámica.....	10
3.4 Tercera Ley de la Termodinámica.....	11
3.5 Energía Libre de Helmholtz y Energía Libre de Gibbs.....	11
3.6 Sistemas Abiertos.....	12
3.7 Procesos Irreversibles.....	13
3.8 Capacidad Calorífica.....	13
4. Principios Cinéticos de Calorimetría Diferencial de Barrido y Análisis Termogravimétrico.....	15
4.1 Relación de la Temperatura con la Cinética de un Proceso.....	17
5. Analizador Termogravimétrico (TGA).....	18
5.1 Partes Principales de un TGA y Funcionamiento.....	18
5.1.1 Análisis Termogravimétrico de Temperatura Modulada (MTGA).....	21
5.1.2 Análisis Termogravimétrico de Alta Resolución (Hi –Res Tga)	22
5.2 Nuevos Avances en Análisis Termogravimétrico.....	23
6. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).....	24

6.1	Análisis Térmico Diferencial (DTA): Antecedente de DSC.....	24
6.2	Partes Principales y Funcionamiento de DSC.....	27
6.2.1	Calorimetría Diferencial de Barrido de Temperatura Modulada (MDSC).....	30
6.3	Tipos de Calorímetros.....	32
6.3.1	DSC de Compensación por Potencia.....	32
6.3.2	DSC de Flujo de Calor.....	32
6.3.2.1	DSC de Discos	33
6.3.2.2	DSC de Cilindros.....	33
6.4	Nuevos Avances en Calorimetría.....	34
7.	Aplicaciones de DSC y TGA en la Industria Farmacéutica.....	37
7.1	Estudios de Pureza.....	38
7.2	Detección de Polimorfos.....	40
7.3	Estudio de Interacciones.....	43
7.4	Análisis de Estabilidad.....	44
7.4.1	Estudio de Estabilidad por Método Isotérmico en Analizador Termogravimétrico (TGA).....	45
7.4.2	Estudios de Estabilidad por Métodos no Isotérmicos en Analizador Termogravimétrico (TGA) y Calorímetro Diferencial de Barrido (DSC).....	47
8.	Desarrollo de Guías para la Industria Farmacéutica.....	50
	Parte Experimental.....	51
A.	Metodología para Generación de Guías de Uso, Limpieza, Verificación de Aptitud de Uso y Aplicaciones para DSC y TGA...	51
B.	Guías Generadas.....	54
1.	Limpieza, Calibración y Uso del Analizador Termogravimétrico.....	55
1.1	Ubicación.....	55
1.2	Conexiones/Alimentación.....	56
1.3	Limpieza.....	59
1.3.1	Limpieza de Charolas.....	60
1.4	Mantenimiento.....	61

1.5 Encendido/Apagado.....	62
1.6 Calibración.....	63
1.6.1 Medición de Peso-Balanza.....	63
1.6.2 Medición de Temperatura-Termopar.....	64
1.7 Uso.....	67
1.7.1 Inicio – Selección de Charola.....	68
1.7.2 Características de la Muestra.....	68
1.7.3 Programación de Corrida.....	71
1.7.4 Aspectos a Considerar en la Programación de Corridas....	72
1.7.4.1 Velocidad de Calentamiento.....	72
1.7.4.2 Tamaño de Muestra.....	75
1.7.4.3 Resolución y Sensibilidad.....	76
1.7.4.4 Atmósfera de Trabajo (Gas).....	76
1.7.4.5 Tipo de Charola.....	77
1.8 Término de Corrida y Análisis.....	77
1.9 Interpretación de Curvas Termogravimétricas.....	78
1.10 Errores más Comunes.....	80
2. Limpieza, Calibración y Uso de Calorímetro Diferencial de Barrido..	83
2.1 Ubicación.....	83
2.2 Conexiones/Alimentación.....	84
2.3 Limpieza.....	87
2.4 Mantenimiento.....	88
2.5 Encendido/Apagado.....	88
2.6 Calibración.....	89
2.6.1 Línea Base.....	90
2.6.2 Capacidad Calorífica.....	90
2.6.3 Flujo de Calor/Energía.....	92
2.6.4 Medición de Temperatura – Entalpía y Constante de Celda..	92
2.6.5 Notas/Recomendaciones.....	95
2.7 Uso.....	96
2.7.1 Inicio – Selección de Charola.....	96

2.7.2	Características de la Muestra.....	100
2.7.3	Preparación de la Muestra.....	102
2.7.4	Programación de Corrida.....	106
2.7.5	Aspectos a Considerar en la Programación de Corridas.....	107
2.7.5.1	Velocidad de Calentamiento.....	107
2.7.5.2	Tamaño de Muestra.....	109
2.7.5.3	Resolución y Sensibilidad.....	111
2.7.5.4	Atmósfera de Trabajo (Gas).....	111
2.7.5.5	Tipo de Charola.....	113
2.8	Término de Corrida y Análisis.....	113
2.9	Interpretación de Curvas Termogravimétricas.....	114
2.10	Errores Más Comunes.....	118
3.	Funciones Principales del Software de Análisis de Termogramas	
	TGA y DSC.....	120
3.1	Obtención de Gráficos de Apoyo.....	120
3.2	Ubicación de Marcadores.....	122
3.3	Temperaturas de Descomposición ó Conversión.....	122
3.4	Integración de Picos.....	124
3.5	Obtención de Temperatura Máxima.....	126
3.6	Obtención de Valores de Transición Vítrea.....	126
3.7	Sobreposición de Termogramas.....	128
3.8	Tabla de Datos.....	128
4.	Aplicaciones TGA y DSC.....	130
4.1	Información Previa.....	131
4.2	Perfil Termogravimétrico.....	131
5.	Análisis de Pureza.....	134
5.1	Selección de Charola.....	135
5.2	Peso y Preparación de la Muestra.....	135
5.3	Modo.....	135
5.4	Programación de Corrida.....	135
5.5	Análisis del Termograma.....	136

5.6 Aspectos a Considerar en el Análisis de Pureza.....	139
5.7 Reporte de Datos.....	139
6. Identificación General de Polimorfos.....	141
6.1 Selección de Charola.....	142
6.2 Peso y Preparación de la Muestra.....	142
6.3 Modo.....	142
6.4 Programación de Corrida.....	142
6.5 Análisis del Termograma.....	144
6.6 Aspectos a Considerar en Identificación de Polimorfos.....	146
6.7 Reporte de Datos.....	147
7. Detección de Interacciones Fármaco – Fármaco / Fármaco – Excipiente.....	148
7.1 Selección de Charola.....	149
7.2 Peso y Preparación de la Muestra.....	149
7.3 Modo.....	150
7.4 Programación de Corrida.....	150
7.4.1 Materiales Individuales.....	150
7.4.2 Mezclas.....	151
7.5 Análisis del Termograma.....	152
7.6 Aspectos a Considerar en la Detección de Interacciones.....	154
7.7 Reporte de Datos.....	155
8. Estudio de Estabilidad de Formulaciones.....	157
8.1 Selección de Charola.....	158
8.2 Peso y Preparación de la Muestra.....	158
8.3 Modo.....	158
8.4 Programación de Corrida.....	158
8.4.1 Selección de Rango de Temperaturas.....	158
8.4.2 Programación de Isotermas.....	160
8.5 Análisis del Termograma.....	161
8.5.1 Sobreposición de Termogramas.....	161
8.5.2 Tablas de Datos.....	162

8.5.3 Determinación de Orden de Reacción.....	163
8.5.4 Ecuación de Arrhenius.....	166
8.5.5 Cálculo de T_{95}	169
8.6 Aspectos a Considerar en el Estudio de Estabilidad de Formulaciones.....	170
8.7 Reporte de Datos.....	172
9. Resumen de Condiciones de Corrida para Aplicaciones.....	173
Conclusiones	174
Glosario	175
Referencias	182
Anexos	186
Anexo 1. Calorimetría Diferencial de Barrido de Temperatura Modulada....	187
Anexo 2. Descripción de Segmentos de Programación en Corridas DSC y TGA.....	189
Anexo 3. Análisis de Pureza – Ejemplo.....	193
Anexo 4. Identificación General de Polimorfos – Ejemplo.....	196
Anexo 5. Detección de Interacciones Fármaco – Fármaco/ Fármaco – Excipiente - Ejemplo.....	201
Anexo 6. Estudio de Estabilidad de Formulaciones – Ejemplo.....	208

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Técnicas utilizadas en el Análisis Térmico de Materiales.	5
Tabla 2. Ecuaciones de Cinética química para Orden Cero, Primer Orden y Segundo Orden.	16
Tabla 3. Aplicaciones de DSC y TGA en la Industria Farmacéutica.	37
Tabla 4. Comportamiento de Polimorfos frente a algunas Propiedades de interés Farmacéutico.	41
Tabla 5. Comparación de métodos para detección de polimorfos.	43
Tabla 6. Ecuaciones utilizadas en Estudios de Estabilidad Térmica.	46
Tabla 7. Estimación de tiempo de vida.	46
Tabla 8. Comparación de Métodos de Estabilidad por Análisis Térmico.	49
Tabla 9. Metodología para Generación de Guías de uso, limpieza, verificación de aptitud de uso y aplicaciones para DSC y TGA.	51
Tabla 10. Puntos Curie de algunos materiales ferromagnéticos.	66
Tabla 11. Charolas para TGA.	68
Tabla 12. Resumen características de la muestra.	70
Tabla 13. Velocidad de calentamiento, Ventajas y Desventajas.	74
Tabla 14. Resolución y Sensibilidad.	76
Tabla 15. Tipos de curvas termogravimétricas.	78
Tabla 16. Estándares de calibración de Temperatura y Entalpía.	93
Tabla 17. Clasificación de Charolas por tipo de Material.	97
Tabla 18. Clasificación de Charolas por tipo de Cerrado.	98
Tabla 19. Características ideales de muestras para DSC.	101
Tabla 20. Ventajas y Desventajas de Tasas de Calentamiento.	109
Tabla 21. Resolución y Sensibilidad.	111
Tabla 22. Termogramas de DSC más comunes (Mettler Toledo, 2000).	115
Tabla 23. Cambios más comunes en la línea base.	116
Tabla 24. Información previa.	131
Tabla 25. Porcentajes de descomposición requeridos para desarrollo de aplicaciones. ...	132
Tabla 26. Ventajas y desventajas de TGA y MTGA.	132
Tabla 27. Ecuaciones de orden de reacción de descomposición.	163
Tabla 28. Comparación de Coeficientes de Determinación. Se puede ver que los datos se ajustan a una cinética de orden cero.	166
Tabla 29. Cálculo de constante de velocidad de descomposición k	166
Tabla 30. Datos para Gráfico de Arrhenius.	167
Tabla 31. Ecuaciones de t_{95} para cada orden de reacción.	169
Tabla 32. T_{95} en años.	170
Tabla 33. Condiciones de corrida para aplicaciones.	173

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Componentes Principales del Analizador Termogravimétrico.....	20
Figura 2. Curva termogravimétrica.....	21
Figura 3. Componentes principales de DTA.....	25
Figura 4. Componentes principales de DSC	28
Figura 5. Termograma Ideal DSC.....	30
Figura 6. DSC de Compensación por Potencia.....	32
Figura 7. DSC de flujo de calor. Discos.....	33
Figura 8. DSC de flujo de calor. Cilindros.....	34
Figura 9. Metodología Experimental.....	53
Figura 10. Ubicación de TGA.....	56
Figura 11. Conexión de energía TGA ubicada en la parte posterior del instrumento.	56
Figura 12. Conexión de gas de Purga.....	57
Figura 13. Sistema de enfriamiento.....	58
Figura 14. Conexión de red ubicada en la parte posterior de TGA.....	58
Figura 15. Alineación de los electrones bajo un campo magnético antes y después del Punto Curie.....	65
Figura 16. Efecto de la velocidad de calentamiento.....	73
Figura 17. Efecto del tamaño de muestra.....	75
Figura 18. Ubicación DSC.....	84
Figura 19. Conexión de energía TGA ubicada en la parte posterior del instrumento.	84
Figura 20. Conexiones de gas de purga.....	85
Figura 21. Sistema de enfriamiento.....	86
Figura 22. Conexión de red ubicada en la parte posterior de DSC.....	86
Figura 23. Calibración de flujo de calor.....	92
Figura 24. Preparación de la muestra en charola cerrada y hermética para DSC.	105
Figura 25. Efecto de la velocidad de calentamiento en la temperatura de fusión del Indio.....	108
Figura 26. Efecto del tamaño de muestra a 10°C/min en la temperatura de fusión del Indio.....	110
Figura 27. Transformaciones térmicas del Oxalato de Calcio monohidratado en atmosfera inerte (Ar) y oxidante (aire).....	112
Figura 28. Evaporación del agua a 10°C/min en dos charolas diferentes.....	113
Figura 29. Obtención de primera derivada en curva termogravimétrica para el software TA Universal Analysis de TA Instruments.....	121

Figura 30. Obtención de primera derivada en curva calorimétrica para el software TA Universal Analysis de TA Instruments.....	121
Figura 31. Ubicación de marcadores.	122
Figura 32. Perfil térmico de descomposición de L-isoleucina. Obtención de la temperatura correspondiente a 5% de pérdida de peso. Porcentaje remanente: 95%.	123
Figura 33. Obtención del % remanente para el 5% de descomposición de un material con humedad.	124
Figura 34. Integración de pico.	125
Figura 35. Temperatura máxima.	126
Figura 36. Transición vítrea.	127
Figura 37. Sobreposición de termogramas.	128
Figura 38. Tabla de datos.	129
Figura 39. Resumen de pasos en el desarrollo de aplicaciones.	130
Figura 40. Prueba de Pureza.	134
Figura 41. Análisis de Pureza de Claritromicina (PM: 747.95g/mol) por TA Universal Analysis.	137
Figura 42. Termograma Resultante de Análisis de Pureza en DSC.	138
Figura 43. Prueba de polimorfismo.	141
Figura 44. Separación de ciclos en una corrida de polimorfismo.	145
Figura 45. Prueba de polimorfismo de paracetamol con ciclos separados.	145
Figura 46. Detección de Interacciones Fármaco-Fármaco / Fármaco - Excipiente.	148
Figura 47. Sobreposición de termogramas de glibenclamida, estearato de magnesio y mezcla de ambos en proporción 1:1.	153
Figura 48. Estudio de Estabilidad.	157
Figura 49. Ejemplo de selección de rango para estudio de estabilidad.	159
Figura 50. Sobreposición de curvas termogravimétricas a diferentes isothermas.	161
Figura 51. Tabla de datos para análisis de estabilidad.	162
Figura 52. Tabla de Datos a Diferentes Tiempos de Isotherma.	163
Figura 53. Orden cero.	164
Figura 54. Primer Orden.	164
Figura 55. Segundo Orden.	164
Figura 56. Orden de Reacción de Descomposición.	165
Figura 57. Gráfico de Arrhenius.	167
Figura 58. Cálculo de Constante de Velocidad de Degradación.	169

ABREVIATURAS

°C: grados centígrados, unidad de temperatura.

ASTM: American Society for Testing and Materials/American Standard Test Method.

b: ordenada al origen.

DSC: Differential Scanning Calorimetry – Calorimetría Diferencial de Barrido – Calorímetro Diferencial de Barrido.

DTA: Differential Thermal Analysis – Análisis Térmico Diferencial.

Hi-Res TGA: High Resolution Thermogravimetric Analysis - Análisis Termogravimétrico de Alta Resolución.

ICH: International Conference on Harmonisation – Comité Internacional para la Armonización.

ISO: International Organization for Standardization.

J/g : Joule por gramo, unidad de entalpía.

K: Kelvin, unidad de temperatura absoluta.

k: constante de velocidad de degradación, sus unidades dependen del orden de reacción.

MDSC: Modulated Differential Scanning Calorimetry – Calorimetría Diferencial de Barrido Modulada- también conocida como TMDSC Temperature Modulated Differential Scanning Calorimetry.

MTGA: Modulated Thermogravimetric Analysis – Análisis Termogravimétrico Modulada.

m: Pendiente.

min: minutos, unidad de tiempo.

mg: miligramos, unidad de masa.

Psi: Libras por pulgada cuadrada, unidad de presión.

r²: Coeficiente de correlación.

SI: Sistema Internacional de Unidades.

TGA: Thermogravimetric Analysis – Análisis Termogravimétrico – Analizador Termogravimétrico.

T_{5%}: Temperatura correspondiente al 5% de descomposición de un material.

T_{2%}: Temperatura correspondiente al 2% de descomposición de un material.

t₉₅: tiempo estimado al cual la muestra analizada se degradará en un 5%.

V: Volts, unidad de voltaje.

OBJETIVO

Elaborar guías de limpieza, uso y calibración de analizador termogravimétrico (TGA) y calorímetro diferencial de barrido (DSC) mediante investigación documental y su aplicación experimental para determinar pureza, detectar polimorfos, estudiar interacciones y analizar la estabilidad de sustancias farmacéuticas.

INTRODUCCIÓN

El presente trabajo muestra una visión general de la calorimetría y sus aplicaciones. Principalmente está enfocada a los dos instrumentos de análisis térmicos más utilizados por la industria farmacéutica, el Calorímetro Diferencial de Barrido (DSC) y el Analizador Termogravimétrico (TGA).

La finalidad de este trabajo es proveer una guía que permita a cualquier persona con conocimientos en el área química y sin experiencia en calorimetría conocer lo suficiente respecto a análisis térmico como para poder trabajar con un DSC o TGA de cualquier marca, disminuyendo sus errores y dudas al mínimo.

Aquí encontrará los fundamentos de los instrumentos y sus aplicaciones más frecuentes en la industria farmacéutica, así mismo se dan recomendaciones de operación general de los instrumentos, mantenimiento, condiciones de corrida, ejemplos de cada aplicación e interpretación así como algunos de los errores más comunes que se pueden llegar a cometer siendo principiante en el uso de este tipo de instrumentos.

Este trabajo se encuentra dividido en 2 partes, una teórica y otra experimental. La parte teórica muestra “Antecedentes” de los fundamentos del análisis térmico, instrumentos y sus aplicaciones.

La sección medular de este trabajo es la “Parte experimental”, que se divide en:

A. Metodología para Generación de Guías de Uso, Limpieza, Verificación de Aptitud de Uso y Aplicaciones para DSC y TGA

B. Guías Generadas

En la sección A se describen los pasos que se siguieron para el desarrollo del presente trabajo y en la sección B se presentan los guías generadas junto con información adicional que es importante conocer al trabajar con estos instrumentos y sus aplicaciones así como un resumen de las condiciones recomendadas para cada aplicación que puede servir como una guía de consulta rápida. Para una fácil comprensión los capítulos de la sección B se organizaron cronológicamente conforme se van requiriendo quedando en el siguiente orden:

1. Limpieza, Calibración y Uso del Analizador Termogravimétrico
2. Limpieza, Calibración y Uso de Calorímetro Diferencial de Barrido
3. Funciones Principales del Software de Análisis de Termogramas TGA y DSC
4. Aplicaciones TGA y DSC
5. Análisis de Pureza
6. Identificación General de Polimorfos
7. Detección de Interacciones Fármaco – Fármaco / Fármaco – Excipiente
8. Estudio de Estabilidad de Formulaciones
9. Resumen de Condiciones de Corrida para Aplicaciones

Cada uno de estos capítulos trata desde aspectos generales hasta particulares e incluyen imágenes y diagramas de flujo que permiten lograr una mejor comprensión.

FUNDAMENTOS DEL ANÁLISIS TÉRMICO, INSTRUMENTOS Y SUS APLICACIONES

1. INTRODUCCIÓN

La industria farmacéutica tiene la necesidad de desarrollar procesos de fabricación más eficientes y una mejor calidad de producto para cumplir con las demandas económicas y los requisitos regulatorios del mercado, por ello, en los últimos años, han surgido nuevos conceptos que rigen todas las etapas de manufactura de un producto bajo políticas de calidad estrictas. El concepto de calidad por diseño (QbD) sugiere el desarrollo de procesos de fabricación que arrojen productos que se encuentren siempre dentro de especificaciones y así, asegurar una producción optimizada que permita tener producto terminado dentro del mercado en un menor tiempo (Ronald, 2010).

Para lograr los objetivos de calidad por diseño se debe tener en cuenta que el proceso de manufactura y las características del producto importantes para obtener el desempeño deseado se derivan de una combinación de conocimientos previos y una evaluación experimental en la etapa de desarrollo del producto, es decir, la base de un proceso de fabricación optimizado se encuentra en el amplio y profundo conocimiento de los componentes de la formulación (Freeman, 2010).

La estrategia experimental para implementar calidad por diseño en el desarrollo de un medicamento comienza por los ingredientes que contiene; por ésta razón, se ha vuelto fundamental obtener información detallada de principios activos y excipientes para entender su comportamiento, controlar y predecir los cambios que tendrán si se modifica alguna condición fundamental en su almacenamiento y manejo y si se presentará alguna interacción entre dos componentes en una formulación (Ronald, 2010); esto brinda el apoyo necesario

para formular productos terapéuticamente efectivos, diseñar procesos de manufactura eficientes y fabricar un producto de alta calidad que se encuentre dentro de especificaciones.

En términos farmacéuticos, se llama caracterización a la recopilación de toda la información posible de un principio activo ó excipiente (propiedades físicas, químicas y biológicas) por medio de estudios de preformulación (FDA, 2008).

Dentro de los estudios de preformulación se encuentra el análisis térmico, un conjunto de técnicas que ha tomado un gran auge en el ámbito farmacéutico en los últimos años y comprende, principalmente, estudios de calorimetría diferencial de barrido (DSC) y análisis termogravimétrico (TGA); éstas técnicas constituyen un apoyo a la caracterización de principios activos y excipientes mediante la obtención de información física y química individual ó en mezclas de ellos y su análisis a través de estudios de pureza, polimorfismo, interacciones y estabilidad.

Los estudios en DSC y TGA son fundamentales para el cumplimiento de directrices relacionadas con el desarrollo farmacéutico, como la guía Q8 – *Desarrollo Farmacéutico*, de ICH (ICH, 2008); dada su importancia, se han desarrollado normas que estandarizan procedimientos para la obtención de los resultados que ambos instrumentos proporcionan. ASTM e ISO ofrecen una serie de métodos para caracterizar materiales, además, existen diversas publicaciones que muestran el desarrollo de nuevas alternativas para obtener información útil que oriente en la selección de principios activos y excipientes que integrarán una formulación propuesta para un nuevo medicamento y sus proporciones, así como las condiciones de almacenamiento de cada uno de ellos y las etapas críticas de fabricación de la formulación ó si es factible su producción.

2. ANÁLISIS TÉRMICO EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

En la industria farmacéutica, las técnicas de análisis térmico se utilizan para caracterizar principios activos, excipientes y mezclas en las etapas de preformulación y formulación; éstas técnicas se comenzaron a utilizar en la industria farmacéutica a partir de 1960, con la llegada del primer calorímetro diferencial de barrido (Giron, 1995).

El análisis térmico, de acuerdo a la Confederación Internacional de Análisis Térmico y Calorimetría (ICTAC) se define como un grupo de técnicas en las cuales una propiedad de un material se monitorea en función del tiempo ó temperatura en una atmosfera controlada a una velocidad de calentamiento específica o de manera isotérmica (Brown, 1998). En la Tabla 1, se muestran las técnicas que conforman al análisis térmico y la propiedad que evalúan en función de la temperatura.

Tabla 1. Técnicas utilizadas en el Análisis Térmico de Materiales.

Técnica de Análisis Térmico	Siglas	Propiedad Evaluada
Análisis Térmico Diferencial	DTA	Diferencial de Temperatura
Calorimetría Diferencial de Barrido	DSC	Diferencial de Flujo de Calor
Análisis Termogravimétrico	TGA	Masa
Análisis Termomecánico	TMA	Dimensión
Análisis Mecánico Dinámico	DMA	Rigidez Mecánica y Amortiguación
Dilatometría	DIL	Volumen
Análisis Térmico Óptico	TOA	Propiedades Ópticas

Tabla 1. Continuación

Técnica de Análisis Térmico	Siglas	Propiedad Evaluada
Calorimetría de Titulación Isotérmica	ITC	Velocidad de Calentamiento
Análisis Térmico Dieléctrico	DEA	Permisividad Dieléctrica y Factor de Pérdida
Análisis de Gases	EGA	Productos de Descomposición Gaseosa

Las técnicas de análisis térmico más empleadas en la industria farmacéutica son: Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) y Análisis Termogravimétrico (TGA) (Craig & Reading, 2007). Éstas proporcionan información acerca de las características físicas y químicas de principios activos y excipientes tales como: punto de fusión, temperatura de cristalización, polimorfismo, contenido amorfo, transiciones vítreas, temperaturas de descomposición, porcentaje de humedad, entre otras; y permite someter a los materiales estudiados a condiciones de estrés para obtener resultados que apoyen en la predicción de condiciones de almacenamiento, tiempos de vida y selección de las etapas del proceso de fabricación.

La elección de la técnica depende de la información que se quiera conocer acerca del material que se desee analizar, sin embargo, la mayoría de las veces, DSC y TGA se acoplan para brindar la mayor cantidad de resultados posible.

3. PRINCIPIOS TERMODINÁMICOS DE CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO Y ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (Brown, 1998), (Hernández, 1996), (Gobbi), (Bhadeshia)

DSC y TGA dan información de las propiedades fisicoquímicas de un material como una función de temperatura y tiempo mientras éste se somete a un programa de temperatura bajo una atmosfera controlada.

La propiedad medida en los instrumentos de análisis térmico es el calor. La relación entre éste y las características físicas ó químicas es estudiada por la termodinámica, por ello, para entender el funcionamiento de DSC y TGA es necesario conocer los fundamentos que lo explican.

La termodinámica es una rama de la física que estudia los cambios de un estado de equilibrio a otro que ocurren en un sistema dados por una adición ó sustracción de energía a nivel macroscópico.

Existen tres tipos de sistemas: Abiertos, en donde existe un intercambio de materia y energía con el entorno; cerrados, en donde únicamente hay un intercambio de energía; y aislados, en donde no se permite el intercambio de energía y masa. Éstos sistemas, a su vez, pueden ser homogéneos, es decir, de una sola fase ó heterogéneos, de dos ó más fases. Para su estudio, los sistemas se pueden describir a partir de propiedades intensivas, que no dependen de la cantidad o tamaño del sistema como presión y temperatura ó extensivas, que dependen de la cantidad del sistema como energía interna, entalpia, masa ó volumen.

En DSC y TGA, los sistemas estudiados son abiertos y cerrados, ya que la energía añadida ó sustraída a éstos depende del entorno y a partir de ella se obtiene información del sistema. Éste se compone de la muestra y su contenedor,

que, de acuerdo a los objetivos del estudio proporciona las condiciones para un intercambio de energía ó un intercambio de masa y energía.

La mayoría de los sistemas estudiados en análisis térmico son heterogéneos, pues se someten a transiciones en las que dos estados coexisten (por ejemplo, durante un proceso de fusión se tendrán los estados sólido y líquido del material coexistiendo hasta que la fusión haya terminado) y se analizan mezclas, sin embargo se puede contar con algunos casos de sistemas homogéneos, en donde no hay un cambio de fase ó no se analizan mezclas (por ejemplo, durante una transición vítrea, no hay un cambio de estado ó coexistencia de fases).

La termodinámica está basada en tres leyes principales, la primera ley de la termodinámica establece el principio de conservación de la energía, la segunda, introduce el concepto de energía y la tercera ley provee un punto de referencia absoluto para la determinación de la entropía. Una cuarta ley, llamada, ley cero de la termodinámica hace referencia al concepto de temperatura. Las leyes de la termodinámica hacen referencia a sistemas en equilibrio, es decir, sistemas en donde no existe disipación de energía hacia el entorno.

3.1 TEMPERATURA: LEY CERO DE LA TERMODINÁMICA

La ley cero de la termodinámica define a la temperatura como un valor físico que es igual para todos los sistemas en equilibrio térmico y establece que si dos sistemas, A y B, de diferentes temperaturas se ponen en contacto durante un intervalo de tiempo, se logra un equilibrio térmico entre éstos. Si simultáneamente un tercer sistema, C, de diferente temperatura se conecta a B, pero no a A, después de cierto tiempo se logrará un equilibrio entre B y C, entre A y B y por lo tanto entre a A y C aunque estos últimos no estén en contacto directo.

3.2 PRIMERA LEY DE LA TERMODINÁMICA

La primera ley de la termodinámica establece que un cambio en la energía interna de un sistema es igual a la cantidad de calor suministrado a éste más la

cantidad de trabajo desarrollado por el sistema en su entorno, es decir, la energía no se pierde, sólo se transforma. Ésta ley se representa por la siguiente ecuación:

$$\Delta U = U(\text{estado } B) - U(\text{estado } A) = du = q + w \dots\dots\dots(1)$$

Donde U es la energía interna, q es calor y w es trabajo.

El trabajo necesario para lograr el cambio de energía interna en una transición de un estado a otro de un sistema se puede dar por el suministro de energía eléctrica, llamado trabajo eléctrico a partir de una fuente del entorno ó por el cambio de volumen dentro de un sistema, llamado trabajo por volumen, en este último caso tenemos:

$$W = -pdV \dots\dots\dots(2)$$

Donde W es trabajo, p es presión y V es volumen.

Cuando ocurren procesos a volumen constante, por ejemplo, transiciones dadas en un sistema cerrado como una charola hermética en DSC (Ver apartado 2.7.1 de la guía de limpieza, uso y calibración de calorímetro diferencial de barrido (DSC)), la ecuación de la primera ley de la termodinámica se simplifica; al no estar realizando un trabajo por volumen, entonces la energía interna del sistema es igual a la cantidad de calor añadida a un sistema.

$$dU = q \dots\dots\dots(3)$$

Es decir, que la medida de calor suministrado necesario para una transición representa la energía interna del material dentro de la charola; sin embargo, la mayoría de los procesos no ocurren bajo ésta condición; debido a esto, surge una cantidad estrechamente relacionada con la energía interna y que parte de procesos a presión constante (en calorimetría, obtenidos a su vez a través de charolas herméticas), la entalpía, definida por la ecuación:

$$H = U + pV \dots\dots\dots(4)$$

Donde H es entalpía, U es energía interna, p es presión y V es volumen. Ya que la entalpía es una función de estado, para los cambios del sistema se define como:

$$dH = d(U + pV) = dU + d(pV) = dU + pdV + Vdp \dots\dots\dots(5)$$

Si se considera el trabajo dado por el volumen y la ecuación de energía interna, entonces:

$$dH = (q - pdV) + pdV + Vdp = q + Vdp \dots\dots\dots(6)$$

Para procesos a presión constante, el calor que se intercambia es igual al cambio de la entalpía del sistema:

$$(dH)_p = q \quad \text{ó} \quad (\Delta H)_p = q \dots\dots\dots(7)$$

En la primera ley de la termodinámica, bajo las condiciones de presión y volumen constante dentro de un sistema, no influye la ruta de conversión de un estado a otro.

3.3 SEGUNDA LEY DE LA TERMODINÁMICA

La segunda ley de la termodinámica establece que la cantidad de calor de intercambio del sistema con el entorno no depende del estado inicial ó final del sistema, sino de la ruta de conversión, es decir, de la dirección en que se llevan a cabo las transformaciones energéticas. Con el fin de simplificar la aplicación de ésta ley, se introduce el concepto de entropía.

Para procesos reversibles, se ha demostrado que el calor reducido ó reversible, definido como la cantidad de calor intercambiado dividida por la temperatura absoluta en la que una conversión ocurre no depende de la ruta de conversión del sistema. La entropía es una función de estado que define lo anterior:

$$\Delta S = S(\text{estado B}) - S(\text{estado A}) = \int \left(\frac{q_{rev}}{T} \right) \dots\dots\dots(8)$$

Donde S es entropía, q_{rev} es el calor reversible y T es temperatura absoluta.

La entropía, en términos moleculares, se refiere a la medida de la energía de los movimientos de rotación, traslación ó vibración de cada una de las moléculas que conforman un sistema en un momento, es decir al grado de “desorden” de un sistema.

La segunda ley, además, establece que en los procesos espontáneos la entropía tiende a aumentar, es decir, los sistemas ordenados se desordenan sin el efecto de una influencia externa. Si se requiere restablecer el orden original, hay que realizar un trabajo sobre el sistema.

3.4 TERCERA LEY DE LA TERMODINÁMICA

La tercera ley de la termodinámica establece que para cada sistema en equilibrio, el cambio en la entropía para cada transición química ó física tiende a cero cuando la temperatura se acerca al cero absoluto. A medida que el sistema se acerca al cero absoluto, el intercambio calórico es cada vez menor hasta llegar a ser casi nulo. Ésta ley aplica para sistemas reversibles.

3.5 ENERGÍA LIBRE DE HELMHOLTZ Y ENERGÍA LIBRE DE GIBBS

Para procesos reversibles el intercambio de calor entre el sistema y su entorno está dado por la ecuación (8); si se asocia con la ecuación (2), se tiene:

$$dU = TdS - pdV \dots\dots\dots(9)$$

Si, a su vez se asocia con un proceso a volumen constante se tiene:

$$dH = TdS + Vdp \dots\dots\dots(10)$$

Ya que la entropía es una función de estado y la temperatura es una cantidad que describe el estado de un sistema su producto es también una función de estado. Si se sustrae éste término de las ecuaciones (9) y (10), entonces se tiene las ecuaciones que definen a la energía de Helmholtz (11) y a la energía de Gibbs (12):

$$A = U - TS \dots\dots\dots(11)$$

$$G = H - TS = U + pV - TS \dots\dots\dots(12)$$

La energía libre de Helmholtz mide el trabajo que se produce durante una transición a partir de un sistema cerrado a temperatura y volumen constante. Un valor negativo es igual a la máxima cantidad de trabajo generado en un proceso termodinámico a temperatura y volumen constante. La ecuación de la energía libre de Helmholtz sirve para calcular otras funciones de estado.

Por su parte la energía libre de Gibbs es el potencial termodinámico de un sistema que mide el trabajo que se requiere para iniciar un proceso en un sistema cerrado y es útil para calcular si una reacción ocurre de manera espontánea.

La energía libre de Gibbs, además, da información acerca del tipo de proceso que sufre el sistema al pasar por una transición, es decir, si es exotérmico (libera calor) ó si es endotérmico (requiere calor para efectuarse). Valores negativos de energía libre de Gibbs evidencian procesos exotérmicos, mientras que valores positivos denotan procesos endotérmicos. Cuando la energía de Gibbs es igual a cero, se dice que el sistema está en equilibrio.

3.6 SISTEMAS ABIERTOS

Las leyes de la termodinámica se han explicado hasta ahora en función de sistemas cerrados, para sistemas abiertos que consideran un intercambio de energía y masa, las ecuaciones de las funciones de estado se definen tomando en cuenta éste último intercambio.

Ejemplos de sistemas abiertos, en términos de DSC y TGA, son los sistemas en los que existen dos ó más sustancias dentro de la misma charola; el intercambio de masa se puede dar por la interacción entre ellas ó en charolas abiertas (Ver apartado 2.7.1 de la guía de limpieza, calibración y uso de calorímetro diferencial de barrido DSC) cuando la muestra interactúa con atmósferas oxidantes ó cuando sufre un proceso de descomposición.

En las funciones de estado se toma en cuenta la cantidad de cada uno de los componentes que lo conforman y sus potenciales termodinámicos, dados por

la derivada de la energía respecto a la cantidad de cada componente, las ecuaciones de estado para entalpía, energía de Helmholtz y energía libre de Gibbs son las siguientes:

$$dH = TdS + Vdp + \sum \mu_i dn_i \dots\dots\dots(13)$$

$$dA = -SdT + pdV + \sum \mu_i dn_i \dots\dots\dots(14)$$

$$dG = -SdT + Vdp + \sum \mu_i dn_i \dots\dots\dots(15)$$

Donde μ_i es el potencial termodinámico y n_i es la cantidad de cada componente presente.

3.7 PROCESOS IRREVERSIBLES

La termodinámica de los procesos irreversibles estudia sistemas que no se encuentran en equilibrio, pero que son estacionarios. Los procesos irreversibles involucran disipación de energía hacia el entorno y un flujo de entropía variable. La velocidad de disipación de energía es el producto de la temperatura y la velocidad de flujo de la entropía.

La manera más sencilla de estudiar procesos irreversibles es dividir su análisis en subsistemas, en los que existe un equilibrio a un tiempo dado, y considerar las funciones de estado como la suma de cada subsistema, sin embargo, se prefiere el estudio de éste tipo de sistemas a través de cinéticas.

3.8 CAPACIDAD CALORÍFICA

La capacidad calorífica se define como la cantidad de calor dividida por el aumento de temperatura que es el resultado de la adición de éste calor al sistema y está dada por la ecuación:

$$C = \frac{q}{dT} \dots\dots\dots(16)$$

Donde C es capacidad calorífica, q es calor y T es temperatura. La capacidad calorífica que se debe añadir a un sistema para lograr un cambio de estado depende de la ruta de conversión, por lo tanto, se establecen de nuevo condiciones de temperatura y presión constantes para trabajar con funciones de estado:

$$\text{A volumen constante } C = \left(\frac{\partial U}{\partial T}\right)_v \quad \text{A presión constante } C = \left(\frac{\partial H}{\partial T}\right)_P \dots\dots(17,18)$$

Así, la capacidad calorífica obtenida bajo estas condiciones será exclusivamente la del material estudiado.

4. PRINCIPIOS CINÉTICOS DE CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO Y ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO

La cinética química estudia procesos que no se encuentran en equilibrio ni están en estado estacionario, observa el cambio de una propiedad en función del tiempo. En análisis térmico, seguir procesos cinéticos ayuda en la comprensión del comportamiento del material a una temperatura dada durante un intervalo de estudio.

Los procesos estudiados en una cinética de análisis térmico generalmente son degradaciones y reacciones químicas, aunque se puede estudiar prácticamente cualquier tipo de transiciones que detecten DSC y TGA.

El modelo de cinética química se basa en la interacción de dos reactivos para formar productos. Si se tiene la siguiente reacción:



La ecuación que define la velocidad de reacción es:

$$k = -\frac{d[A]}{dt} = -\frac{d[B]}{dt} = \frac{d[C]}{dt} = \frac{d[D]}{dt} \dots\dots\dots(19)$$

Donde [A] y [B] son las concentraciones de los reactivos, [C] y [D] son las concentraciones de los productos, k es la constante de velocidad de reacción y t es tiempo. A partir de ésta ecuación se obtiene, con respecto a uno de los reactivos:

$$k[A]^n = -\frac{d[A]}{dt} \dots\dots\dots(20)$$

Donde n es el orden de reacción. Utilizando la ecuación anterior (20), se pueden obtener ecuaciones que describen cinéticas de orden cero, primer orden y segundo orden, principalmente:

Tabla 2. Ecuaciones de Cinética química para Orden Cero, Primer Orden y Segundo Orden.

(Castellan, 1987)

Velocidad de Reacción	Ecuación Lineal	Constante de Velocidad
Orden Cero		
$k[A]^0 = -\frac{d[A]}{dt}$	$[A] = [A]_0 - kt$	$k = \frac{[A]_0 - [A]}{t}$
Primer Orden		
$k[A]^1 = -\frac{d[A]}{dt}$	$\ln[A] = \ln[A]_0 - kt$	$k = \frac{\ln[A]_0 - \ln[A]}{t}$
Segundo Orden		
$k[A]^2 = -\frac{d[A]}{dt}$	$\frac{1}{[A]} = \frac{1}{[A]_0} + kt$	$k = \frac{\frac{1}{[A]} - \frac{1}{[A]_0}}{t}$
$k[A][B] = -\frac{d[A]}{dt}$	$\ln \frac{[A]}{[B]} = ([A]_0 - [B]_0)kt - \ln \frac{[B]_0}{[A]_0}$	$k = \frac{\ln \frac{[A]}{[B]} + \ln \frac{[B]_0}{[A]_0}}{([A]_0 - [B]_0)t}$

Donde: [A] y [B] representan la concentración de los reactivos, k es la constante de velocidad de reacción y t es tiempo.

Las ecuaciones de cinética química son útiles en la determinación de velocidades de reacciones y para el cálculo del tiempo de vida de un proceso. Más adelante se mostrarán las ecuaciones para determinar el tiempo de vida.

4.1 RELACIÓN DE LA TEMPERATURA CON LA CINÉTICA DE UN PROCESO

Al seguir una cinética, la velocidad de una reacción es calculada para una temperatura específica ó constante. Si se desea observar el comportamiento de un material al variar la temperatura, se debe utilizar la ecuación de Arrhenius que define la relación que existe entre la cinética de un proceso y la temperatura:

$$k = -Ae^{-Ea/RT} \quad \text{ó} \quad \text{Ln}k = \text{Ln}A - \frac{Ea}{R} \left(\frac{1}{T} \right) \dots\dots\dots(21)$$

Donde k es la constante de velocidad de reacción, A es el factor preexponencial, Ea es la energía de activación, R es la constante de gases y T es temperatura.

La ecuación de Arrhenius (21) permite calcular la constante de velocidad de reacción a distintas temperaturas siempre que se demuestre que existe una relación lineal entre la reacción efectuada y la temperatura; además, se puede relacionar con las ecuaciones de cinética química para conocer tiempos de vida.

5. ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA) (Brown, 1998) (Craig & Reading, 2007) (Hernández, 1996) (Haines, 2002)

El análisis termogravimétrico (TGA) describe cualquier método experimental en donde los cambios de masa dependientes de la temperatura son utilizados para detectar y medir los procesos químicos ó físicos que ocurren al calentar una muestra (Dallas, 2006). El termograma resultante es una medida de la masa ó el porcentaje de masa perdido en función de la temperatura ó tiempo.

TGA se utiliza para caracterizar cualquier material que muestre pérdida o ganancia de masa y para detectar cambios de fase debidos a su descomposición, oxidación o deshidratación, además, ayuda a la determinación de las condiciones de análisis en el calorímetro diferencial de barrido y a la interpretación de los resultados. Los mecanismos de modificación de peso en la muestra son:

- **Ganancia de peso:** Oxidación, adsorción.
- **Pérdida de peso:** Descomposición, evaporación, reducción y desorción.

TGA da información acerca de: Estabilidad térmica de materiales, estabilidad de oxidación de materiales, composición de sistemas multicomponentes, tiempo de vida estimado de un producto, cinética de descomposición de materiales, efecto de atmósferas corrosivas ó reactivas en materiales, contenido de humedad y volátiles de materiales.

5.1 PARTES PRINCIPALES DE UN TGA Y FUNCIONAMIENTO (Brown, 1998) (Haines, 2002) (Saniger, 2010)

Los componentes principales del analizador termogravimétrico son:

- **Microbalanza:** Provee mediciones precisas de la masa de la muestra durante la corrida.

- **Sistema de control de temperatura:** Se encarga de aumentar ó disminuir la temperatura del horno de acuerdo al programa asignado. Se compone de resistencias eléctricas que se encargan de generar calor y un sistema de enfriamiento por aire comprimido y recirculación de agua encargado de llevar el horno a una temperatura menor a la actual.
- **Horno:** Cavity resistente a variaciones de temperatura y fabricada de materiales conductores y aislantes del calor en donde se produce el aumento de temperatura. Las resistencias eléctricas se encuentran dentro de éste.
- **Gabinete:** Contiene al sistema mecánico y electrónico de la balanza.
- **Controladores de Flujo de Masa:** Regulan la purga del gas que se utiliza para generar la atmósfera controlada en la microbalanza y el horno.
- **Charolas:** Contenedores fabricados con un material conductor de calor en donde se coloca la muestra y son utilizadas para el ajuste inicial de masa en el instrumento. No son consideradas como parte del instrumento, sin embargo, son necesarias para realizar cualquier experimento en éste.

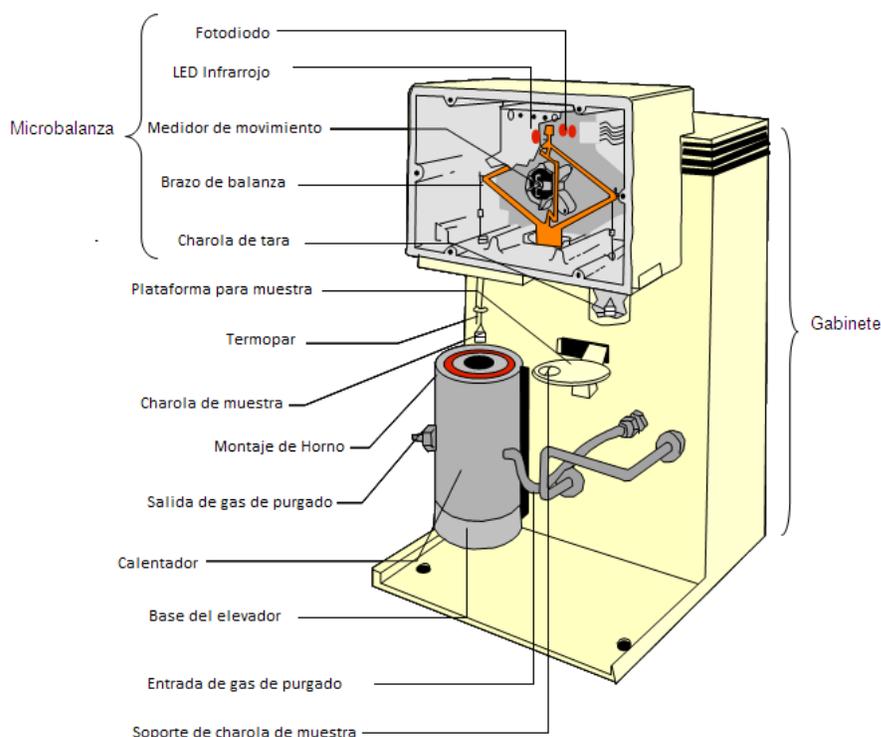


Figura 1. Componentes Principales del Analizador Termogravimétrico.

(Saniger, 2010)

El fundamento del análisis termogravimétrico se encuentra en la medición exacta del peso perdido ó ganado en un intervalo de temperatura ó tiempo de análisis bajo una atmósfera inerte; para ello el analizador termogravimétrico cuenta con una balanza controlada por fotodiodos (Saniger, 2010).

La balanza cuenta con dos brazos de igual longitud, uno que soporta a la charola de la muestra y otro que soporta a una charola vacía que se utiliza para ajustar el peso a cero al inicio de cada experimento. Se utiliza un campo magnético inducido eléctricamente que opera en los brazos de la balanza equilibrándola por medio de variaciones de corriente y manteniéndola en ceros (Calorimetry Sciences Corporation, 2006). El movimiento de un haz de luz emitido por una fotocelda ubicada en la parte posterior de los brazos de la balanza indica un desajuste en el equilibrio de la balanza; ésta respuesta es detectada por el mecanismo de control e inmediatamente ocurre el cambio necesario en la corriente y campo magnético para volver a la balanza a su posición original. La

corriente necesaria para regresar la balanza al equilibrio se considera una medida directa del cambio de masa en una muestra.

El resultado dado por TGA es el termograma de la pérdida ó ganancia de de masa en función de temperatura y/ó tiempo.

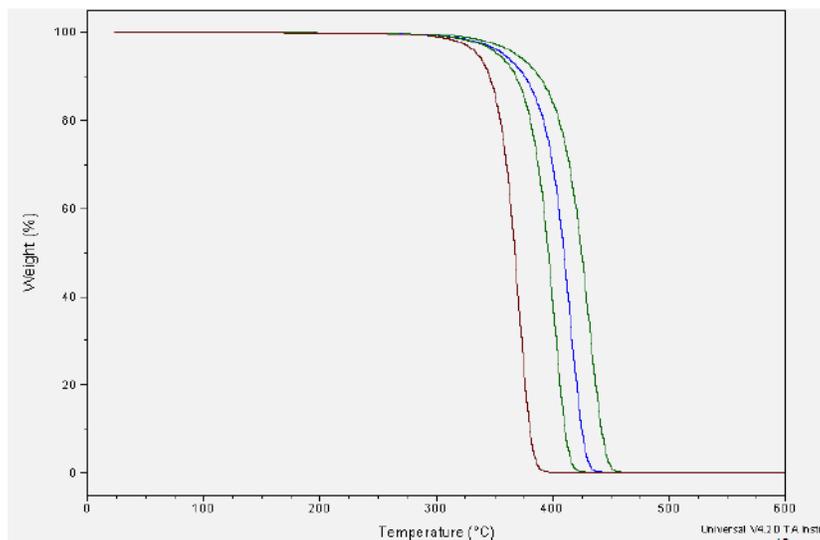


Figura 2. Curva termogravimétrica.

(Saniger, 2010)

El análisis termogravimétrico se utiliza en conjunto con la calorimetría diferencial de barrido ya que los resultados de TGA sirven de apoyo en la programación de experimentos y en la interpretación de termogramas en DSC (Carstensen, 1998).

5.1.1 ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO DE TEMPERATURA MODULADA (MTGA).

El análisis termogravimétrico de temperatura modulada (MTGA) es una modificación al análisis termogravimétrico convencional que proporciona una mayor información cinética de la muestra analizada (Carstensen, 1998).

MTGA impone una modulación sinusoidal de cómo perfil de calentamiento. Ésta modulación produce un cambio en la velocidad de pérdida ó ganancia de peso de la muestra, respuesta que, a través de una transformación matemática, permite conocer parámetros cinéticos como energía de activación y factor preexponencial. Éstos parámetros se pueden estudiar en función de los cambios de temperatura, tiempo y pérdida ó ganancia de masa en la muestra.

5.1.2 ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO DE ALTA RESOLUCIÓN (Hi-Res TGA).

El análisis termogravimétrico de alta resolución es una modificación al análisis termogravimétrico convencional en donde, por medio de valores de resolución y sensibilidad, se permite determinar el número de eventos que ocurren en un proceso, mejorando la exactitud y el carácter cuantitativo de los resultados.

TGA de alta resolución es aplicable a estudios de pérdida ó ganancia de peso en tres formas (Saniger, 2010):

- **Isotermas Sucesivas:** El equipo se programa con una velocidad de calentamiento constante; cuando éste detecta un cambio de peso previamente establecido dentro de la programación de la corrida, detiene el calentamiento y somete a la muestra a una isoterma hasta que el cambio de peso cesa, posteriormente, continúa calentando a la tasa inicial; éste proceso se repite en cada cambio de peso presentado durante el intervalo de análisis. Ésta prueba es útil para distinguir eventos que tienen temperaturas iniciales cercanas.
- **Velocidad de Reacción Constante:** En éste modo, la temperatura del horno varía de tal manera que, durante una transición, se mantiene una velocidad de reacción ó conversión constante preestablecida por medio de aumentó ó reducción de la velocidad de calentamiento, con ello se logra una mayor resolución. Este modo es especialmente adecuado para las

muestras en donde es necesario limitar la velocidad de pérdida de peso (por ejemplo, una descomposición).

- **Dinámico:** Se establece una tasa de calentamiento que se ajusta de manera dinámica y continua en respuesta a la velocidad de ganancia ó pérdida de peso de la muestra logrando con ello un aumento en la resolución. Este modo permite operar con velocidades de calentamiento altas en los intervalos donde no hay pérdida de peso y reduce notablemente la velocidad de calentamiento cuando se detecta una pérdida de peso. Se utiliza, generalmente, para obtener un perfil térmico rápido de una muestra de comportamiento desconocido.

5.2 NUEVOS AVANCES EN ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (Kolthof & Elving, 1993)

TGA es una técnica que se mantiene constante al paso de los años. Los avances que presenta están relacionados con el acoplamiento de nuevos instrumentos y equipos que se encargan de ayudar a la identificación de la composición del material y sus productos de degradación como microscopios, cromatógrafos de gases, equipos de resonancia magnética, infrarrojos, espectrómetros de masa entre otros. Entre los nuevos avances de TGA, se encuentra la termogravimetría fraccional, en donde el instrumento se utiliza para determinar no sólo la cantidad, sino la calidad y la composición de la materia volátil generada al aumentar la temperatura por medio de un cambio de charolas a recipientes interconectados por capilares que permiten captar los productos de descomposición del material.

6. CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC)

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) es la técnica de análisis térmico más utilizada dentro del entorno farmacéutico. Los primeros DSC tienen su origen en la década de 1960 (Giron, 1995).

El concepto de calorimetría diferencial de barrido deriva del origen de las palabras que lo conforman; la calorimetría, etimológicamente del latín calor y del griego *methron* se puede definir como la medida del calor; es diferencial, pues utiliza las temperaturas de una muestra y una referencia para dar su respuesta y es de barrido ya que crea un perfil térmico del material analizado para un rango de temperaturas. DSC consiste en someter una muestra a un aumento ó disminución de temperatura para obtener la medición de la temperatura y energía asociada a una serie de transiciones de la muestra bajo una atmósfera controlada (Brown, 1998).

La calorimetría diferencial de barrido tiene por objetivos: medir las capacidades caloríficas de sistemas de diversa composición, evaluar los efectos térmicos en procesos fisicoquímicos y reacciones químicas y establecer la dependencia entre los efectos térmicos y las funciones de estado. (Hernández, 1996) Adicionalmente, DSC permite conocer la temperatura de procesos de fusión y cristalización, transición vítrea, pureza, estabilidad de polimorfos y proteínas, interacciones entre materiales y estabilidad térmica y oxidativa.

6.1 ANÁLISIS TÉRMICO DIFERENCIAL (DTA): ANTECEDENTE DE DSC

Los instrumentos especializados en la medición de calor aparecieron en el siglo XX con el DTA, analizador térmico diferencial, que proporcionaba una medida de la diferencial de temperatura entre una muestra y una referencia como medida de la velocidad de calentamiento, temperatura de la muestra y tiempo. DTA se utilizó principalmente para determinar diagramas de fase, temperaturas

de transición y reacciones químicas y se desarrollaron análisis cualitativos para metales, óxidos, sales, cerámicas, vidrios, minerales, suelos y alimentos (Brown, 1998).

Los componentes básicos de DTA son: horno, sensores de temperatura (termopares), cavidades simétricas para muestra y referencia y mecanismo de generación de calor y control de temperatura por medio de resistencias. El horno es el lugar donde se lleva a cabo el control de temperatura y contiene las cavidades de la muestra y la referencia; los termopares, están en contacto con la muestra y la referencia contenidas en las cavidades. La Figura 3 muestra la ubicación de cavidades y termopares dentro del horno.

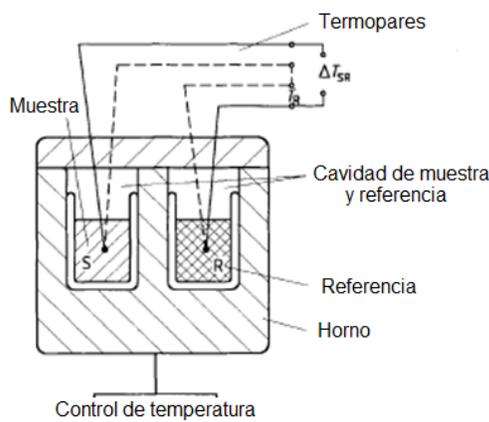


Figura 3. Componentes principales de DTA.

(Craig & Reading, 2007)

La temperatura de la referencia y la muestra se registra, la información obtenida en DTA se vierte en un gráfico, llamado termograma, como función de temperatura de la muestra, de referencia ó de tiempo. En DTA, la medición se basa en la ocurrencia de una diferencial de temperatura entre la muestra y la referencia como resultado de un evento térmico de la muestra. Para ésta técnica, se coloca un material inerte en la cavidad de la referencia cuya capacidad calorífica se aproxime a la de la muestra. La referencia y la muestra se someten a un aumento ó disminución de temperatura bajo las mismas condiciones a velocidad constante. Cuando no se presenta una transición térmica en la muestra,

la señal de DTA será pequeña y la diferencial de temperatura entre muestra y referencia será cercana a cero.

Cuando la muestra sufre una transición térmica, por ejemplo, una fusión, el aumento de temperatura para la muestra será menor que para la referencia ya que la energía impartida por el calentamiento contribuye al proceso de fusión en lugar de aumentar únicamente su temperatura mientras que la entrada de calor a la referencia continúa con el aumento de temperatura de ésta. Cuando la fusión se complete, la muestra regresa a la temperatura programada. La respuesta dada por ésta diferencia de temperaturas se observa como un pico en el termograma.

DTA puede detectar la temperatura en la que un evento térmico en particular ocurre. Sin embargo, DTA no se considera una técnica de análisis térmico cuantitativa ya que las resistencias térmicas entre el horno y ambos termopares deben ser controladas y predecibles de tal manera que puedan ser calibradas y permanezcan en las mismas posiciones en los experimentos siguientes para que la señal dada sea una medida del flujo de calor y se tenga la entalpía asociada con una transición. Por lo anterior, ésta técnica recientemente ha sido desplazada por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) (Wunderlich, 2005).

Un cambio en el diseño del instrumento y desarrollo de dispositivos electrónicos de medición y registro de calor y temperatura permitió la sustitución de una medición de diferencial de temperatura (DTA) por la medición de una diferencial de flujo de calor (DSC) (Calorimetry Sciences Corporation, 2006).

DSC tiene una mejor exactitud en la determinación de la diferencial de temperatura y una menor pérdida de calor debida a menores tamaños de muestra y tasas de calentamiento más rápidas.

6.2 PARTES PRINCIPALES Y FUNCIONAMIENTO DE DSC (Brown, 1998) (Craig & Reading, 2007) (Haines, 2002)

DSC es un instrumento que consta de:

- **Sistema de control de temperatura:** Se encarga de aumentar ó disminuir la temperatura del horno de acuerdo al programa asignado. Se compone de resistencias eléctricas responsables del aumento de temperatura y de un sistema de enfriamiento por refrigerantes ó por nitrógeno líquido para su disminución.
- **Termopares:** Sensores de temperatura formados por dos metales distintos que producen un voltaje relacionado a un diferencial de temperatura producido por ellos.
- **Horno:** Cavidad resistente a variaciones de temperatura y fabricada de materiales conductores y aislantes de calor en donde se produce el aumento de temperatura. Las resistencias eléctricas se encuentran entre sus paredes. Dentro de él se localiza la celda.
- **Celda:** Cavidad que se encuentra dentro del horno y proporciona sitios para colocar las charolas de muestra y referencia llamados plataformas, discos ó cavidades.
- **Charolas:** Contenedores fabricados con un material conductor de calor en donde se colocan la muestra y la referencia (si aplica). No son consideradas como parte del instrumento, sin embargo, son necesarias para realizar cualquier experimento en éste.

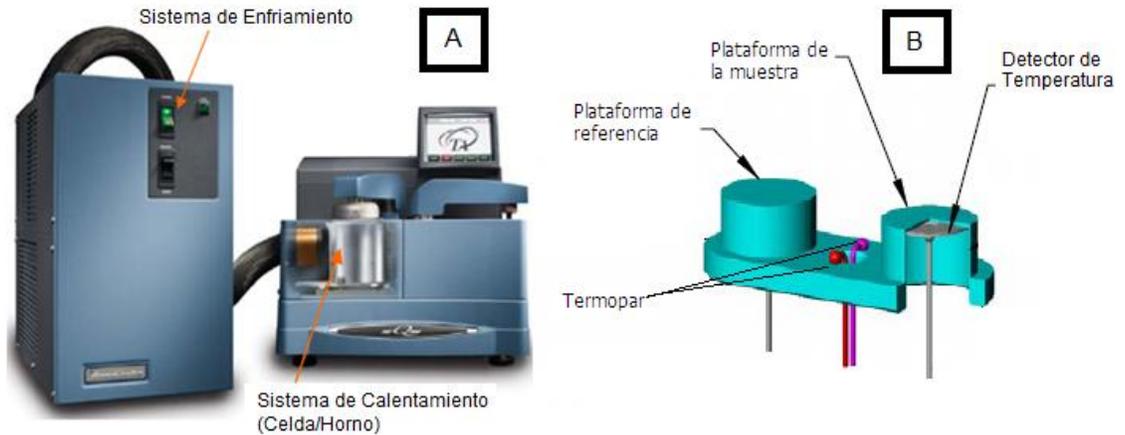


Figura 4. Componentes principales de DSC

(TA Instruments, 2010)

En A se muestran los componentes principales visibles de DSC, por su parte, B muestra los componentes de la celda.

El arreglo de los componentes anteriores dentro del instrumento, depende del tipo de DSC, tema que se discutirá posteriormente.

En DSC, el horno es el que se somete al aumento ó disminución de temperatura y las transiciones de la muestra son detectadas como una consecuencia de las desviaciones de la temperatura. Al igual que el DTA, DSC involucra la medición de la diferencia de temperatura entre una muestra y la referencia, sin embargo, DSC se considera una técnica cuantitativa ya que la señal dada es una medida directa del flujo de calor y la entalpía asociada a una transición térmica en la muestra (Miranda, 2007).

La ecuación para el flujo de calor del horno a cada charola está dada por:

$$dQ/dt = \Delta T/R \dots\dots\dots(22)$$

Donde: Q = calor; t = tiempo; ΔT = diferencia de temperatura entre el horno y la charola; R = resistencia térmica entre el horno y las charolas.

Es decir, la diferencia de temperatura entre la muestra y la referencia es una medida de la diferencial en el flujo de calor debido a la presencia de la muestra en una de las charolas dado que la difusión de calor se da por caminos simétricos. Consecuentemente, la diferencial de flujo de calor es una medida de las propiedades de la muestra con las demás influencias (absorción de calor por la charola, pérdidas de calor por procesos de convección, etc.) eliminadas por la comparación con la referencia. La señal ΔT , requiere calibración para proporcionar un flujo de calor como una función de la temperatura y generalmente se utilizan estándares puros con entalpías y temperaturas de fusión conocidas ó materiales con capacidades caloríficas conocidas.

La técnica de DSC consiste en colocar una muestra (generalmente en cantidades que van de 1 a 10 mg) en una charola de metal junto con una charola de referencia vacía en un horno, mientras se aumenta ó disminuye la temperatura a una velocidad controlada que, generalmente, se encuentra en la región de 1 a 10°C/min (Calorimetry Sciences Corporation, 2006). Cuando la muestra sufre una transición térmica tal como una fusión ó cristalización, la energía y temperaturas asociadas a tal evento se valoran y el perfil térmico de la muestra se puede determinar después del experimento haciendo un análisis del termograma resultante.

El termograma que se puede obtener en DSC es un gráfico de la respuesta del flujo de calor en función de la temperatura ó tiempo y es distinto para cada transición analizada en el material. Las transiciones más comunes que se pueden observar en un termograma se muestran en la Figura 5 . Una explicación detallada de las transiciones se explica más adelante.

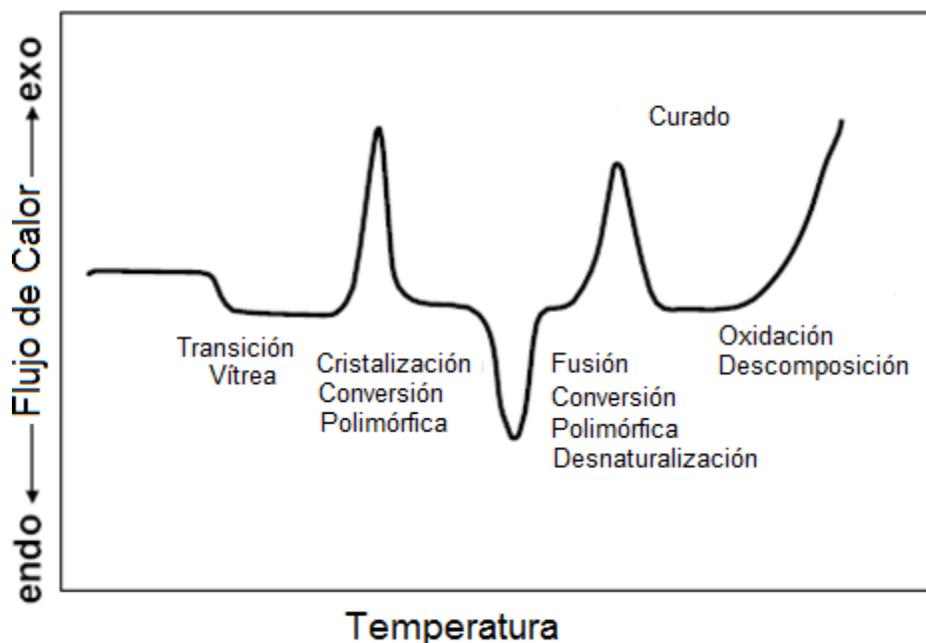


Figura 5. Termograma Ideal DSC.

(Friedli, 1997)

6.2.1 CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO DE TEMPERATURA MODULADA (MDSC) (Craig & Reading, 2007) (Saniger, 2010)

El DSC de temperatura modulada (TMDSC ó MDSC) es una extensión a la técnica original de calorimetría diferencial de barrido; en ella la diferencia en el flujo de calor ó energía entre la muestra y la referencia se monitorea como función del tiempo mientras que la muestra es sometida a un programa de temperatura modulada.

DSC modulado involucra la aplicación de una perturbación en el aumento ó disminución de temperatura de un DSC convencional (una curva sinusoidal en la mayoría de los casos, se utilizan también curvas cuadradas ó en forma de sierra) combinada con un procedimiento matemático diseñado para separar diferentes

tipos de comportamiento de la muestra. La técnica está basada en la siguiente ecuación (23):

$$dQ/dt = C_p \cdot dT/dt + f(t,T) \dots\dots\dots(23)$$

Donde: Q= Calor; Cp= Capacidad Calorífica; T=Temperatura Absoluta; t= Tiempo; f(t,T)= función de tiempo y temperatura que rige la respuesta asociada a la transformación física ó química de la muestra.

El primer término de la ecuación 23 se refiere al flujo de calor asociado a la capacidad calorífica de la muestra, es decir, la energía almacenada en los movimientos moleculares de la muestra como vibraciones, rotaciones y traslaciones. Cuando la temperatura aumenta, una mayor energía se almacena en esos movimientos; por el contrario, cuando la temperatura disminuye, la energía de los movimientos moleculares es liberada. Esto es un proceso reversible.

Para el segundo término de la ecuación, cuando se aumenta ó disminuye la temperatura lo suficiente para que la muestra sufra una transición, la entalpía asociada a ella contribuirá a la respuesta de flujo de calor. Este, generalmente, es un proceso no reversible.

MDSC puede medir por separado las respuestas de flujo de calor y capacidad calorífica por procesos reversibles e irreversible basándose en el hecho que el comportamiento de la muestra hacia un calentamiento ó enfriamiento modulado es diferente que hacia un calentamiento lineal convencional. Esto representa una gran ventaja sobre DSC convencional, pues, al separar las respuestas de la muestra se pueden definir mejor las transiciones que ésta sufre.

6.3 TIPOS DE CALORÍMETROS

6.3.1 DSC DE COMPENSACIÓN POR POTENCIA

En el DSC de compensación de energía, la diferencia de temperatura entre la muestra y la referencia se mantiene cercana a cero colocando sensores de temperatura debajo de cada charola (Saniger, 2010). La energía suministrada a la muestra varía de tal manera que la temperatura de la charola de muestra y referencia sea igual. El sistema fuerza a la muestra a experimentar el mismo aumento de temperatura. Cualquier diferencia en energía observada se deberá únicamente a la muestra; ésta diferencia se relaciona con capacidad calorífica y entalpías asociadas con transiciones. Se muestra un esquema del diseño en la Figura 6.

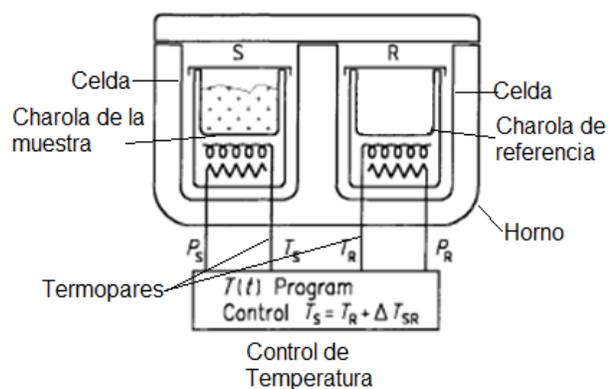


Figura 6. DSC de Compensación por Potencia.

(Brown, 1998)

6.3.2 DSC DE FLUJO DE CALOR (Wunderlich, 2005)

En éste tipo de DSC, la diferencia de temperatura entre la muestra y la referencia se registra como medida directa de la diferencia en las tasas de calentamiento entre ambas. Ésta diferencia es asignada por la calibración calorimétrica. DSC de flujo de calor se encuentra en dos modos:

6.3.2.1 DSC DE DISCOS

En éste tipo de DSC, las charolas de muestra y referencia se colocan sobre un disco ó plataforma que contiene un disco de metal ó cerámica. La diferencia de temperatura entre la muestra y la referencia se mide con sensores de temperatura que están en contacto con el disco (Haines, 2002).

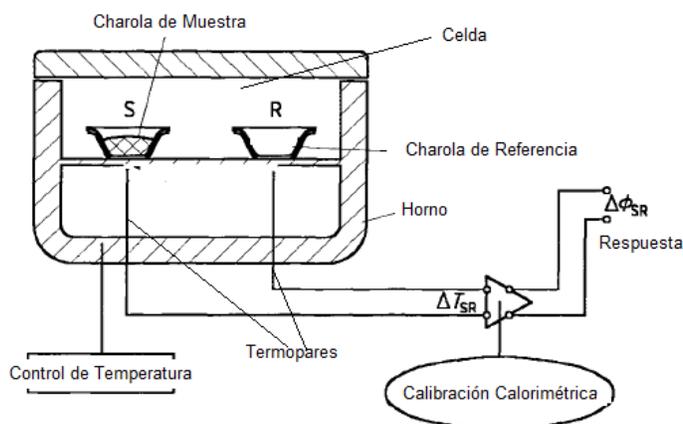


Figura 7. DSC de flujo de calor. Discos.

(Craig & Reading, 2007)

6.3.2.2 DSC DE CILINDROS

El horno tiene dos cavidades cilíndricas de fondo cerrado, llamadas celdas, en donde se colocan las charolas de muestra y referencia. Los termopares se encuentran entre las paredes de los cilindros y el horno para medir su diferencia de temperatura y otros termopares miden la diferencia de temperatura entre muestra y referencia (Haines, 2002).

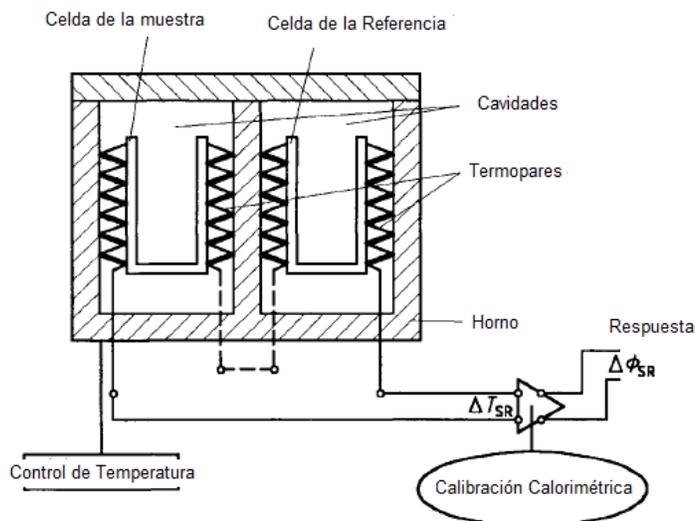


Figura 8. DSC de flujo de calor. Cilindros.

(Brown, 1998)

6.4 NUEVOS AVANCES EN CALORIMETRÍA

El uso de DSC se ha extendido en las últimas décadas y cada vez más industrias utilizan ésta tecnología; se han desarrollado mejoras y se han implementado dispositivos a la estructura original del instrumento para lograr mejores resultados. Se mencionan algunos avances que han surgido en los últimos años:

- **Calorimetría Dinámica** (Ozawa & K, 1996): Consiste en calentar la muestra rápidamente a través de un rango de temperaturas. La energía necesaria para el calentamiento y la temperatura de la muestra se miden continuamente durante la corrida. Cuando la energía suministrada es mayor que la energía de las pérdidas de calor de la muestra, la tasa de calentamiento depende solo de esta última y de la capacidad calorífica de la muestra a una temperatura dada, es decir, la tasa de calentamiento se ajusta en función de la respuesta del material. La calorimetría dinámica está limitada por la posibilidad de calentar ó medir la temperatura de las

muestras rápidamente, sin embargo es útil para materiales que se evaporan ó descomponen inmediatamente después de fundir.

- **Calorimetría de Peltier** (Brown, 1998) (Isirikyan & Sakharov, 2010): Da un resultado de mayor exactitud en las mediciones de capacidad calorífica dinámica y estática por medio del uso de un termopar de masa despreciable que se ubica en la muestra en lugar de un sistema de control de temperatura por resistencias y refrigerantes. Este tipo de calorimetría maneja cantidades de muestra menores a un miligramo y no es necesaria una calibración de capacidad calorífica.
- **Calorimetría Adiabática**: Controla la pérdida de calor hasta acercarla a un valor nulo y es el método más exacto para determinar capacidad calorífica estática.
- **Microcalorimetría y Nanocalorimetría** (Brown, 1998): Se basa en los mismos principios de la calorimetría y utiliza muestras cuya masa se encuentra en el orden de microgramos ó nanogramos, debido a esto, es una técnica más rápida y proporciona datos más exactos en la medición de capacidad calorífica.
- **Calorimetría de Titulación Isotérmica** (Pierce, Raman, & Nall, 1999) (MicroCal): Se utiliza para determinar parámetros termodinámicos en reacciones químicas y para estudiar la capacidad de enlace de moléculas pequeñas. Mide la afinidad de enlace, cambios en la entalpía de la interacción entre dos ó más moléculas en solución. A partir de éstos datos, obtiene los cambios en la energía libre de Gibbs y entropía. Se compone de dos celdas idénticas.
- **Calorimetría en Solución**: Se utiliza para el estudio de reacciones rápidas y determinación de calor de disolución, capacidad calorífica de líquidos y el cambio en la entalpía de reacciones en solución. El calorímetro de solución es un calorímetro adiabático con un dispositivo para adición de reactivos (Haines, 2002).

- **Calorimetría de Alto Desempeño:** Incrementa la sensibilidad de la medición cuantitativa de la capacidad calorífica y el estudio de cinética. Emplea un control de la tasa de calentamiento y puede llegar hasta los 500°C/min (Brown, 1998).
- **Calorimetría de Gases:** Consiste en obtener datos térmicos a partir del calentamiento y enfriamiento de gases condensados. Se utiliza para el análisis de gases combustibles (Kniebes, 1992).

7. APLICACIONES DE DSC Y TGA EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

El análisis térmico para la industria farmacéutica es una herramienta fundamental en los estudios de caracterización de principios activos y excipientes dada la gran variedad de aplicaciones. DSC y TGA se utilizan en conjunto para complementar sus resultados y así, obtener una información integral acerca de una transición térmica determinada. Las aplicaciones que DSC y TGA tienen en la industria farmacéutica son las siguientes:

Tabla 3. Aplicaciones de DSC y TGA en la Industria Farmacéutica.

Aplicaciones más Utilizadas	Otras Aplicaciones
Estudios de Pureza	Estudios de Adsorción de gases
Estudios de Polimorfismo	Estudios de reacciones oxidación-reducción
Estudios de Compatibilidad fármaco-fármaco, fármaco-excipiente	Determinación de Contenido Amorfo
Estudios de Estabilidad y estimación de Tiempo de Vida	Determinación de Porcentaje de Humedad
	Estudios de Curado en Materiales Poliméricos
	Seguimiento de Reacciones químicas
	Composición de Sistemas Multicomponentes

A continuación, se describen las aplicaciones de DSC y TGA más utilizadas.

7.1 ESTUDIOS DE PUREZA

DSC puede ser utilizado para determinar la pureza absoluta de compuestos cristalinos. Los estudios de pureza en DSC se apoyan del proceso de fusión de una sustancia. La fusión es el proceso de conversión de un sólido cristalino a una estructura líquida amorfa por medio de una energía llamada calor de fusión.

El proceso de fusión muestra un pico en el termograma resultante de un análisis en DSC. El área bajo la curva da la entalpía total del cambio por la transición de sólido a líquido (Souza & Santos, 2010):

$$\int \left(\frac{dH}{dt} \right)_{muestra} dt = \Delta H_{muestra} \dots\dots\dots(24)$$

La integral se resuelve con ayuda del software de DSC, el valor resultante se relaciona con un valor de entalpía conocido dado por la calibración del instrumento con indio:

$$\Delta H_{muestra} = \Delta H_{indio} \frac{\text{Área de la Muestra}}{\text{Área de Indio}} \dots\dots\dots(25)$$

DSC obedece un solo método para determinar la pureza de un material con una corrida simple a través de un tratamiento matemático que involucra la masa de la muestra y su masa molecular por medio de la ecuación de van't Hoff que relaciona los cambios en la temperatura a un cambio en la constante de equilibrio dada una modificación en la entalpía de un proceso; para el cálculo de pureza, se tiene (Mettler Toledo):

$$\Delta T = \left(\frac{RT^2}{\Delta H_{fus}} \right) x_B \quad y \quad K_f = \left(\frac{RT^2}{\Delta H_{fus}} \right) \dots\dots\dots(26)$$

Donde: ΔT es la depresión del punto de fusión; R la constante ideal de los gases ($1.9872 \text{ cal mol}^{-1} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$); T es la temperatura de fusión de la sustancia pura ó solvente y ΔH_{fus} es la entalpía de fusión por mol; x_B es la molalidad del soluto ó

impureza; K_f es la constante del punto de depresión del proceso de fusión. Ésta ecuación se arregla para facilitar su uso:

$$\%mol\ Impureza = 100 \left(\frac{\Delta H_{fus}}{RT^{*2}} \right) \Delta T = 100 \frac{1}{K_f} \Delta T \dots \dots \dots (27)$$

Donde T^* es el punto de fusión de una muestra sin impureza. Con ésta ecuación, la cantidad de impureza contenida de la sustancia pura puede ser determinada. K_f se calcula a partir del pico de fusión para estudios de pureza.

El área bajo la curva del pico de fusión da la entalpía para la muestra y la entalpía por mol se obtiene dividiendo entre la masa de la muestra. T^* y ΔT son obtenidos a partir de los datos del termograma.

Para llevar a cabo éste cálculo se hace una suposición: la impureza es insoluble en la fase sólida y se solubiliza en el material al fundirse (Mathkar, Kumar, & Olawoore, 2009). El aumento de la concentración de impureza en la fase líquida es inversamente proporcional a la fracción fundida. El inverso de la fracción fundida se grafica en función de la temperatura dando como resultado una línea cuya pendiente, ΔT , se encuentra en la depresión del punto de fusión y cuyo intercepto es el punto de fusión extrapolado para la sustancia pura, T^* .

Obtenido el porcentaje mol de impureza, se resta a una base de cien por ciento para obtener un valor de pureza para la muestra analizada.

DSC tiene una alta sensibilidad para detectar muy pequeñas cantidades de impureza ($\pm 0.01\%$) (Cassel). La determinación de pureza por DSC es una técnica rápida y es útil en el control de calidad de fármacos específicos con impurezas químicas conocidas. Las cantidades utilizadas para evaluar pureza pueden variar en un rango de 1 a 5 mg.

La determinación de pureza tiene ciertas limitaciones que deben ser consideradas: (a) La muestra debe tener una pureza mayor al 97%; (b) Las impurezas no deben estar en una dispersión sólida, deben formar una dispersión eutéctica (es decir, deben ser parte de la estructura cristalina); (c) la muestra no se

debe descomponer durante la fusión; y (d) cuantifica pero no determina la identidad química de las impurezas (Cassel).

7.2 DETECCIÓN DE POLIMORFOS

Una gran cantidad de principios activos y excipientes sólidos existen en diferentes formas cristalinas. De acuerdo a la guía Q6A de la ICH, el polimorfismo se define como la capacidad de una sustancia para existir en dos ó más fases cristalinas que tienen diferentes arreglos y/ó conformaciones de moléculas en la estructura cristalina. Son polimorfos, a su vez los sólidos amorfos, que consisten en arreglos desordenados de moléculas y no tienen una estructura cristalina y los solvatos, arreglos cristalinos que contienen cantidades estequiométricas ó no estequiométricas del solvente incorporadas a la estructura cristalina. El polimorfismo puede ser causado por cambios en temperatura, presión, disolución y cristalización en diferentes solventes, procesos de molienda ó deshidratación.

El polimorfismo es una propiedad del estado sólido que es de gran importancia para la industria farmacéutica ya que cerca de un 90% de principios activos se manejan en estado sólido y uno de cada tres presenta polimorfismo (Jung, Sánchez, & Hernández). Los polimorfos y solvatos de un principio activo ó excipientes pueden tener diferentes propiedades físicas y químicas tales como punto de fusión, reactividad química, solubilidad, velocidad de disolución, propiedades ópticas y eléctricas, presión de vapor y densidad. Éstas propiedades pueden tener un impacto directo en el desempeño y la calidad de un medicamento, al repercutir en estabilidad, disolución y biodisponibilidad (Craig & Reading, 2007) (Giron, 1995).

Los polimorfos se pueden clasificar en polimorfos estables ó cristalinos y polimorfos metaestables ó amorfos en base a esto, poseen ciertas características (Tabla 4) que pueden ayudar a la elección de una forma u otra al plantear el desarrollo de una forma farmacéutica (Scypinsky, 2001).

Los elementos clave en el estudio de polimorfismo son la identificación de diferentes polimorfos, la determinación de su estabilidad y la evaluación de la producción de un polimorfo en específico.

Tabla 4. Comportamiento de Polimorfos frente a algunas Propiedades de interés Farmacéutico.

(Craig & Reading, 2007)

Propiedad	Amorfo	Cristalino
Temperatura de Fusión, Entalpía de Fusión	-	+
Solubilidad	+	-
Dureza	-	+
Velocidad de disolución	+	-
Estabilidad	-	+
Biodisponibilidad	+	-
Reactividad	+	-

Donde: +: mayor, -: menor

DSC es una técnica utilizada para medir cristalinidad, amorficidad y detectar polimorfos cristalinos. Se apoya de la difracción de rayos X (XRD) de monocristal y de microscopía para la identificación más certera de los polimorfos en una muestra (Scypinsky, 2001).

DSC puede detectar la forma polimórfica en la que se encuentra un material ó “forzar” la transformación del material a sus diferentes formas. Esto se hace utilizando distintos métodos:

TA Instruments, propone un método de detección de polimorfismo basado en cambios en la velocidad de calentamiento ó enfriamiento de un material. Tasas de calentamiento bajas (menores a 5°C/min), permiten observar transiciones sólido-sólido, es decir, procesos de fusión-cristalización para el paso de una forma polimórfica a otra, mientras que tasas de calentamiento altas (mayores a 10°C)

únicamente permiten ver la forma más estable (Craig & Reading, 2007) (Saniger, 2010).

Lo anterior se debe a procesos de difusión de calor y al tiempo de exposición que tomará esa difusión, así, tasas de calentamiento bajas promueven una difusión de calor hacia el interior del material durante un mayor lapso de tiempo que favorece el desarreglo molecular paulatino para tomar diferentes arreglos cristalinos de distinta estabilidad que son observados por la aparición de dos ó más picos de fusión y/ó cristalización, mientras que tasas de calentamiento mayores ocasionan un desarreglo molecular súbito que deriva en la fusión inmediata de la forma más estable (Wiese, 2004) (Thomas, Danley, & Potter, 2005)

Cuando se han formado polimorfos por efecto de solventes ó presión y sus temperaturas de fusión se desean evaluar por medio de calorimetría es recomendable utilizar tasas de calentamiento altas.

Una alternativa al cambio de las tasas de calentamiento es proporcionar un choque térmico al material de estudio por medio de una corrida por ciclos de calentamiento-enfriamiento-calentamiento (Thomas, Danley, & Potter, 2005) (HCH, por sus siglas en inglés) a una tasa de calentamiento constante, alta ó baja. Al involucrar un ciclo de enfriamiento, se favorece la formación de polimorfos diferentes a los apreciados en el primer calentamiento y se conoce información acerca del historial térmico de la muestra para mejorar la interpretación del termograma.

En el caso de solvatos (Giron, 1995), se emplean tasas de calentamiento y ciclos HCH, sin embargo, se utiliza un tipo de charola para muestra que tiene un agujero de 75 micras que permite la salida del solvente al calentar la muestra, favoreciendo la formación de distintos arreglos moleculares a medida que se evapora el solvente.

A continuación se muestra las ventajas y desventajas que tienen ambos métodos de detección de polimorfos:

Tabla 5. Comparación de métodos para detección de polimorfos.

Método	Ventajas	Desventajas
Tasas de Calentamiento Múltiples	Se obtiene el perfil térmico de la muestra original a tasas de calentamiento altas. Tasas de calentamiento bajas favorecen la formación de polimorfos.	Si se utilizan tasas de calentamiento bajas, requiere un gran tiempo de análisis. En el caso de solvatos, tasas de calentamiento altas impiden la salida constante del solvente haciendo que el agujero de la charola se bloquee.
Ciclo H-C-H	Se pueden ver cristalizaciones en el ciclo de enfriamiento.	Se recomiendan tasas de calentamiento menores a 10°C/min, por lo que se requiere un gran tiempo de análisis.

7.3 ESTUDIOS DE INTERACCIONES

Las formas farmacéuticas se conforman de varios materiales dentro de los cuales se encuentra el o los principio(s) activo(s) y los excipientes, adicionados para facilitar la administración y manufactura, mantener la estabilidad del fármaco, mejorar su biodisponibilidad o modificar la liberación del fármaco (Miranda, 2007).

La selección de los excipientes es de vital importancia en el diseño de un medicamento de calidad. Los excipientes y su concentración en la formulación deben ser seleccionados no solo en base a funcionalidad, sino también en las interacciones entre fármaco y excipientes.

Una interacción del principio activo con uno o más componentes de la formulación puede alterar las propiedades físicas, químicas, microbiológicas o

terapéuticas de la forma farmacéutica mostrando cualquiera de los siguientes cambios (Cervantes, Díaz, Sarabia, & Rivera, 2009):

- Cambio en color y apariencia.
- Cambios en la velocidad de disolución.
- Pérdida de las propiedades mecánicas en los comprimidos.
- Disminución de la valoración (degradación del principio activo).
- Incremento de productos de degradación.
- Efectos en la estabilidad del principio activo

El análisis térmico por DSC se utiliza en la detección de posibles interacciones entre principio activo y excipiente para el desarrollo exitoso de un medicamento; el análisis térmico es una técnica que investiga la compatibilidad fisicoquímica entre éstos (Qui & Chen, 2009). Aunque no reemplaza la determinación cuantitativa de concentraciones de fármaco en pruebas de estabilidad a largo plazo ésta técnica provee datos adecuados para clasificar en aceptable ó inaceptable el ó los excipientes usados, y escanea de forma rápida los excipientes que tengan más probabilidad de brindar una forma farmacéutica estable (Thomas, 2005).

Los estudios de interacción por DSC consisten en una comparación de termogramas individuales de los principios activos y/ó excipientes con termogramas de mezclas a diferentes proporciones hechas a partir de éstos. Normalmente se propone realizar las mezclas de los materiales en iguales proporciones.

7.4 ANÁLISIS DE ESTABILIDAD

El estudio y la determinación de la estabilidad de los medicamentos se ha convertido en una necesidad de la industria farmacéutica moderna para poder garantizar la seguridad y eficacia durante su vida útil y por ende su venta en el mercado. La estabilidad se define como la capacidad de un fármaco o medicamento para permanecer dentro de las especificaciones establecidas, para

asegurar su identidad, potencia, calidad y pureza durante el período de reanálisis o de caducidad (Cervantes, Díaz, Sarabia, & Rivera, 2009).

Los estudios de estabilidad requeridos por las instancias regulatorias surgen de la necesidad de tener un período útil ó una fecha de caducidad para los medicamentos. El período útil es el tiempo estimado durante el cual el lote del producto permanecerá dentro de las especificaciones si se conserva bajo las condiciones de almacenamiento comunes. Para lograr éste objetivo, el medicamento se debe someter a estudios en donde se pruebe su estabilidad frente a condiciones críticas como temperatura, humedad, cambios de pH, atmósferas oxidantes, luz, entre otras (Tong, 2006).

Al estudiar el efecto de la temperatura sobre la estabilidad de un medicamento utilizando técnicas de análisis térmico se emplean, generalmente, métodos isotérmicos desarrollados en el analizador termogravimétrico, sin embargo, existen métodos no isotérmicos aplicables a TGA y DSC reportados en normas ASTM.

7.4.1 ESTUDIO DE ESTABILIDAD POR MÉTODO ISOTÉRMICO EN ANALIZADOR TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA)

Los estudios de estabilidad isotérmicos se basan en la determinación del orden de reacción, obtención de la velocidad de degradación a partir de la cinética de descomposición del principio activo y/ó medicamento y en la relación de la temperatura con la velocidad de degradación ó descomposición definida por la ecuación de Arrhenius (Yoshida, Lima, & Oliveira, 2010).

En éste tipo de estudios, se seleccionan diferentes temperaturas dentro de un rango de interés y distintos tiempos de isoterma. Una vez obtenidos los datos de pérdida de peso por cada temperatura y cada tiempo analizado, se utilizan las ecuaciones de cinética química mostradas en la Tabla 6 para definir el orden de reacción al cual se ajusta la descomposición y la velocidad de descomposición por cada temperatura.

Tabla 6. Ecuaciones utilizadas en Estudios de Estabilidad Térmica.

(Castellan, 1987)

Descripción	Ecuación
Cinética de descomposición de orden cero	$[A] = [A]_0 - kt$
Cinética de descomposición de primer orden	$\ln[A] = \ln[A]_0 - kt$
Cinética de descomposición de segundo orden	$\frac{1}{[A]} = \frac{1}{[A]_0} + kt$
Ecuación de Arrhenius	$k = -Ae^{\frac{E_a}{RT}}$
Ecuación de Arrhenius linealizada	$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T} \right)$

Donde [A] es la concentración ó masa de principio activo en cada momento; [A]₀ es la concentración ó masa inicial del principio activo; k es la constante de velocidad de degradación; t es tiempo; A es el factor preexponencial; E_a es la energía de activación; R es la constante de gases ideales 8.314 JK⁻¹mol⁻¹ y T es temperatura absoluta.

Por último, para evaluar como la velocidad de degradación depende de la temperatura se utiliza la ecuación de Arrhenius y se obtiene velocidad de degradación y tiempo de vida (Tabla 7) a una temperatura establecida.

Tabla 7. Estimación de tiempo de vida.

(Castellan, 1987)

Nombre	t ₉₅
Cinética de descomposición de orden cero	$t_{95} = \frac{0.05C_0}{k}$
Cinética de descomposición de primer orden	$t_{95} = \frac{0.0513}{k}$
Cinética de descomposición de segundo orden	$t_{95} = \frac{5}{95C_0k}$

El tiempo de vida de un medicamento se define, de acuerdo a los términos de la norma NOM-073-SSA1-2005, Estabilidad de Fármacos y Medicamentos, como el tiempo que tarda un fármaco ó un medicamento en perder un 5% del contenido ó potencia del principio activo ó el tiempo en que sus productos de degradación rebasen los límites de especificación.

7.4.2 ESTUDIOS DE ESTABILIDAD POR MÉTODOS NO ISOTÉRMICOS EN ANALIZADOR TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA) Y CALORÍMETRO DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC)

Otra alternativa a la obtención de parámetros cinéticos son los métodos no cinéticos reportados en normas ASTM para análisis termogravimétrico y calorimetría diferencial de barrido y métodos alternativos publicados en artículos. Estos estudios proporcionan información más rápidamente que los métodos isotérmicos, sin embargo éstos últimos aportan resultados más exactos.

- **ASTM E 1641 – Método de Prueba Estándar para Evaluar Cinética de Descomposición por Termogravimetría:** Éste método calcula parámetros cinéticos como energía de activación y factor preexponencial por medio de iteraciones a partir de datos de temperatura a cierto porcentaje de pérdida de peso de cuatro ó más corridas de un material a diferentes tasas de calentamiento menores a 10°C/min. Supone una cinética de primer orden, por lo que no es necesario utilizar las ecuaciones mostradas en la Tabla 6. Se apoya en la ASTM E 1877 – Cálculo de Resistencia Térmica para Materiales a partir de Información de Termogravimetría para obtener el tiempo de vida a diferentes temperaturas.
- **ASTM E 698 – Método de Prueba Estándar para el Cálculo de Constantes Cinéticas para Materiales Térmicamente Inestables:** Este método calcula parámetros cinéticos como energía de activación y factor preexponencial por medio de iteraciones a partir de datos de flujo de calor de las transiciones máximas observadas en un termograma de cuatro ó

más corridas de un material a diferentes tasas de calentamiento menores a 10°C/min realizadas en DSC. Supone una cinética de primer orden. El cálculo del tiempo de vida implica el uso de la ecuación de Arrhenius y las ecuaciones mostradas en la Tabla 7.

- **Método de Cinética de Descomposición** (Saniger, 2010): Se basa en el cálculo de la energía de activación por medio de un ajuste lineal dado por un conjunto de derivadas. Este método termogravimétrico requiere de al menos tres corridas a una sola tasa de calentamiento. El cálculo de factor preexponencial y tiempo de vida a una temperatura determinada se obtiene siguiendo ASTM E1641 y ASTM1877, por lo que supone una cinética de descomposición de primer orden.

El uso de métodos no isotérmicos es recomendable cuando se desea conocer la estabilidad de materiales individuales ya que la mayoría de los principios activos y excipientes presentan descomposiciones de primer orden, sin embargo, no es recomendable utilizarlo en formulaciones ó mezclas, pues en éstas predomina una cinética de descomposición de segundo orden. En la Tabla 8 se presentan algunas ventajas y desventajas de los métodos descritos anteriormente.

Tabla 8. Comparación de Métodos de Estabilidad por Análisis Térmico.

Método	Ventajas	Limitaciones
ASTM E1641	Supone una cinética de descomposición de primer orden, por lo que no es necesario el cálculo de orden de reacción. Requiere un mínimo de 4 tasas de calentamiento (1,2,5, y 10°C/min), por lo que se considera un método rápido.	No aplicable a descomposiciones parcialmente inhibidas. Sólo para sustancias que presentan descomposición en una etapa. No aplica a descomposiciones que no sean de primer orden.
ASTM E 698	Se emplean cantidades de muestra menores que el analizador termogravimétrico,	No aplicable a descomposiciones parcialmente inhibidas. Representatividad de la muestra reducida debido a su tamaño. No aplica a descomposiciones que no sean de primer orden.
Isotermas (Yoshida, Lima, & Oliveira, 2010)	Aplica para la mayoría de activos excipientes y formulaciones sólidas.	Se considera un método largo pues consta de cinco ó más corridas.
Cinética de descomposición (Saniger, 2010)	Es un método rápido que consta de al menos tres corridas a una misma tasa de calentamiento.	Dependencia de la ASTM 1641. Necesidad de realizar múltiples cálculos.

8. DESARROLLO DE GUÍAS PARA LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

(Warshauer,2008)

Una guía se define como un documento desarrollado a través de un consenso y describe criterios para prácticas de operación general, procedimientos ó descripción de material. La guía es de uso voluntario y se puede aplicar su contenido exactamente cómo es descrito ó se modifica dependiendo de las necesidades específicas del usuario.

Las guías se utilizan para crear procedimientos, definidos como documentos desarrollados por procesos de consenso e identifica requisitos ó elementos específicos para materiales, métodos ó prácticas. A diferencia de la guía, los procedimientos son de carácter obligatorio y se deben seguir como están descritos. Pueden tener elementos sujetos a discreción del usuario.

El desarrollo de guías para la industria de basa en una búsqueda bibliográfica, información experimental y en la selección de elementos para establecer una serie de recomendaciones.

PARTE EXPERIMENTAL

A. Metodología para Generación de guías de uso, limpieza, verificación de aptitud de uso y aplicaciones para DSC y TGA

La generación de guías de uso, limpieza, verificación de aptitud de uso y aplicaciones para los instrumentos de análisis térmico DSC y TGA se realizó siguiendo los pasos mostrados en la Tabla 9 y se resumen en la Figura 9.

Tabla 9. Metodología para Generación de Guías de uso, limpieza, verificación de aptitud de uso y aplicaciones para DSC y TGA.

Elemento	Descripción
Búsqueda de Fuentes de Información	<p>Es el primer paso para la elaboración de cualquier procedimiento, guía ó instructivo. Comprende la búsqueda en libros, revistas, fuentes electrónicas, manuales de proveedor y entrevistas a expertos en el tema.</p> <p>Esta investigación abarca los siguientes temas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Conceptos de análisis térmico. • Importancia de la calorimetría en la industria farmacéutica. • Componentes, fundamentos y operación de DSC y TGA. • Mantenimiento y limpieza de instrumentos DSC y TGA • Utilidad de DSC y TGA en la industria farmacéutica. • Fundamentos de estudios de pureza, polimorfismo, interacciones y estabilidad. • Metodologías reportadas en artículos, normas o libros para realizar estudios de pureza, polimorfismo, interacciones y estabilidad.

Tabla 9. Continuación

Elemento	Descripción
Traducción de Información y Manuales de Usuario de DSC y TGA	Traducción de las secciones de mayor relevancia de artículos, libros y manuales de usuario proporcionados por el fabricante del instrumento.
Uso de Instrumentos DSC y TGA	<p>Este paso comprende:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Uso inicial de los instrumentos para conocer sus partes, su funcionamiento, y familiarización para comprobar que posean las características descritas en el manual de usuario y sean funcionales. • Manejo de los instrumentos para desarrollar aplicaciones (estudios de pureza, polimorfismo, interacciones y estabilidad) y encontrar las condiciones de trabajo que mejor se ajusten a los materiales que se analizarán en el instrumento.
Generación de Guías	<ul style="list-style-type: none"> • Redacción en un lenguaje claro y simple de las recomendaciones y pasos a llevar a cabo para el correcto uso y limpieza, verificación de la aptitud de uso y realización de estudios de pureza, polimorfismo, interacciones y estabilidad, así como el reporte de los resultados obtenidos para TGA y DSC de acuerdo al “Procedimiento para la Elaboración de Procedimientos Normalizados de Operación” previamente establecido por el laboratorio.

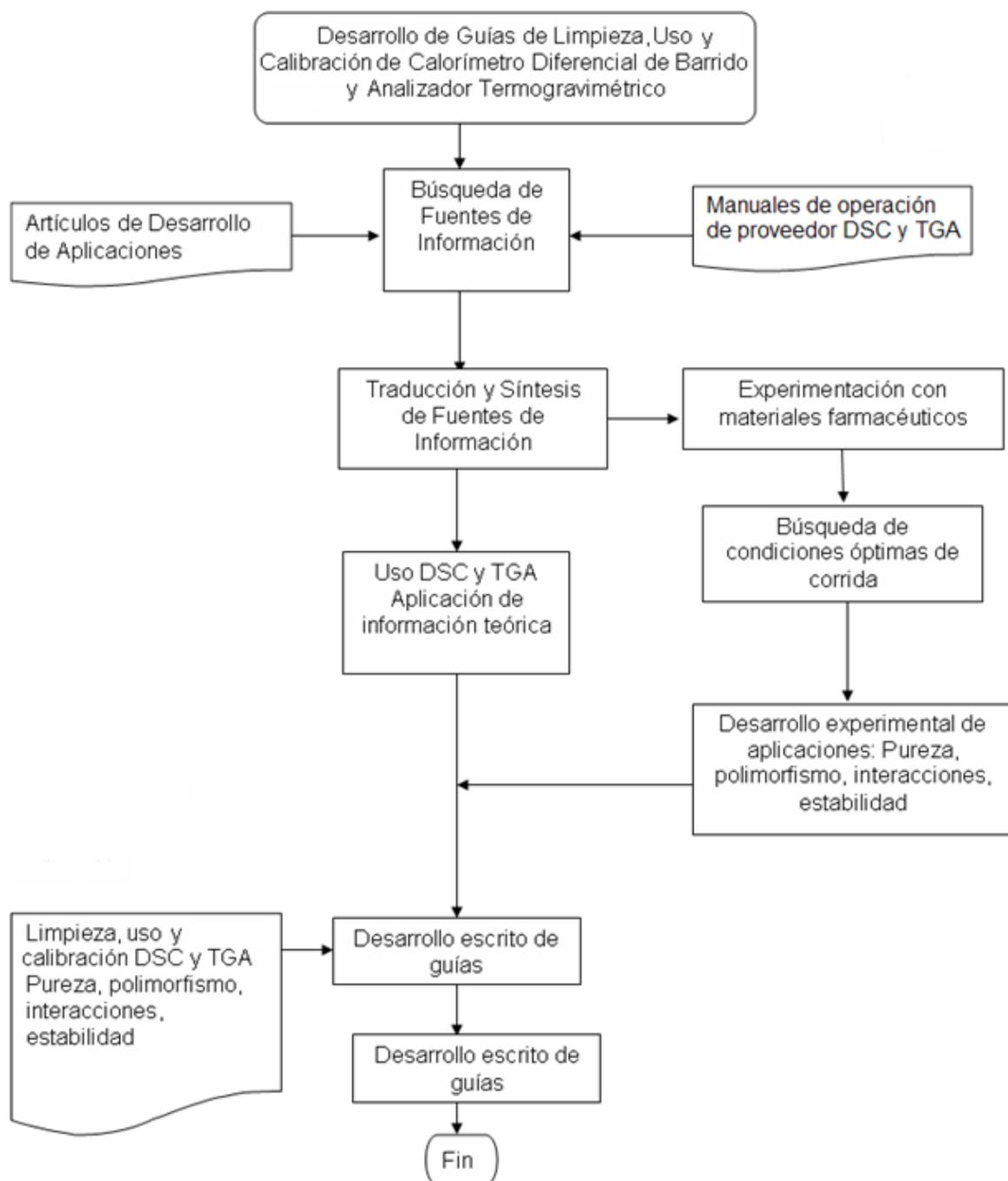


Figura 9. Metodología Experimental.

B. Guías Generadas

Los resultados presentados se obtuvieron mediante el uso de los instrumentos DSC Q2000 y TGA Q500 de TA Instruments™ y la práctica con materiales farmacéuticos para ofrecer sugerencias a sus aplicaciones en la industria farmacéutica.

Las siguientes guías son de carácter general y aplicable a cualquier marca y/o modelo de DSC y TGA ya que todos se basan en los mismos fundamentos y tienen los mismos componentes principales, sin embargo, algunas observaciones pueden ser específicas para instrumentos de TA Instruments.

En las guías se presentan recomendaciones en base a las observaciones realizadas durante el manejo de los instrumentos y se discuten alternativas (por ejemplo, condiciones de corrida que se adecúen a los fines pretendidos en un experimento).

Las guías de aplicaciones se ajustan en su mayoría a muestras sólidas, sin embargo, se pueden utilizar para el análisis de muestras líquidas y semisólidas.

1. LIMPIEZA, CALIBRACIÓN Y USO DEL ANALIZADOR TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA) (TA Instruments, 2006)

1.1 UBICACIÓN

Para un adecuado desempeño del TGA se debe asegurar que el sitio destinado para su uso cumpla con los siguientes requisitos:

- La superficie sobre la cual se encuentra el instrumento debe estar libre de vibraciones ya que se puede provocar ruido en la señal y con ello apreciar transiciones falsas, debido a la alta sensibilidad de la balanza electrónica del TGA.
- La temperatura de la habitación debe estar entre los 15 y los 35°C y el instrumento no debe tener una exposición directa al sol, ya que esto puede provocar cambios en la señal.
- El lugar de trabajo debe estar ventilado; en TGA comúnmente se trabaja con charolas abiertas en las cuales la muestra llega hasta su descomposición total produciendo gases, liberando solventes o productos de degradación que pueden ser dañinos si se acumulan dentro del área de trabajo, sin embargo, no debe haber corrientes de aire directas sobre el instrumento para evitar ruido en la señal ya que el flujo de aire impide la estabilización del gancho que suspende a la muestra dentro del horno y mantiene a la muestra en un constante movimiento, el cual es detectado por el sistema de medición de peso.
- El entorno de trabajo debe estar limpio para reducir el riesgo de contaminación de la muestra.

- El área debe tener el espacio suficiente para los instrumentos y para que el operador pueda trabajar cómodamente, sin condiciones inseguras.

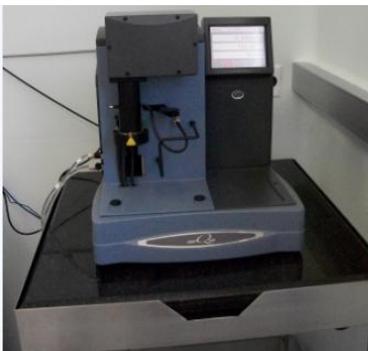


Figura 10. Ubicación de TGA.

1.2 CONEXIONES / ALIMENTACIÓN

Antes de encender TGA se debe verificar que el instrumento cuente con alimentación y conexiones requeridas para su buen funcionamiento:

- **Energía:** Se debe contar con una fuente de energía de 120Vac ó 230Vac regulada para evitar daños al instrumento y transiciones en el termograma ajenas a la muestra.



Figura 11. Conexión de energía TGA ubicada en la parte posterior del instrumento.

- **Alimentación de Gases:** Para la mayoría de los experimentos se debe proporcionar al TGA una atmósfera inerte por medio de una alimentación de nitrógeno, helio o argón de alta pureza. La selección del gas depende del objetivo del experimento; para trabajar a temperaturas mayores de 600°C se prefiere el uso de Argón debido a que tiene una conductividad térmica

menor que nitrógeno y helio, lo que disminuye la pérdida de calor; cuando se trabaja a temperaturas menores de -180°C se recomienda el uso de Helio, ya que Argón y Nitrógeno condensan. Si se necesita observar el efecto de una atmósfera oxidante ó reductora sobre un material, se recomienda el uso de aire, oxígeno ó hidrógeno respectivamente. (Gabbott, 2008) El gas más utilizado en la industria farmacéutica para corridas estándar es Nitrógeno, el cual debe ser al menos de grado 5 y debe tener una presión de 15 a 20 psi.

Algunos instrumentos cuentan con dos entradas para gas de purga pues tienen la opción de cambiar el gas durante una corrida. En éstos casos, la alimentación de gases siempre debe ir en la entrada principal.



Figura 12. Conexión de gas de Purga.

A. Parte posterior del instrumento. La flecha verde indica la entrada principal marcada como “Gas 1”. B. Manómetro. La presión del gas de purga debe estar entre 15 y 20 psi.

- **Sistema de enfriamiento:** El sistema de enfriamiento en TGA se compone de dos partes:
 - **Aire Comprimido:** Se utiliza a una presión de 40-60 psi y en varios modelos de TGA tiene la opción de activarse automáticamente después de cada corrida. Sirve para enfriar el horno de TGA rápidamente. Se puede prescindir de su uso.

- **Sistema de Circulación de Agua:** Se utiliza en la mayoría de modelos de TGA y se activa durante una corrida para regular la temperatura del horno ó después de ella, para enfriar hasta 35°C. Se utiliza agua destilada.



Figura 13. Sistema de enfriamiento.

A. Sistema de recirculación de agua, B. Mangueras de entrada y salida de agua conectadas en la parte posterior del sistema de recirculación de agua, C. Mangueras de entrada y salida del agua del instrumento, D. Conexión del sistema de recirculación de agua a la parte posterior del instrumento, E. TGA de frente, F. Suministro de aire comprimido y G. Entrada de aire comprimido a la parte posterior del instrumento.

- **Red:** TGA cuenta con un cable que establece una red entre el instrumento y una computadora que lo controla. Este cable es de tipo Ethernet y debe estar conectado del instrumento a la computadora directamente. (Si se cuenta con dos ó más instrumentos acoplados a la computadora, es posible establecer la red por medio de un concentrador (HUB)).



Figura 14. Conexión de red ubicada en la parte posterior de TGA.

1.3 LIMPIEZA

Previo al uso del instrumento se debe verificar que se encuentre limpio y que sus componentes se encuentren en buenas condiciones.

El aseo del analizador termogravimétrico es sumamente importante ya que al ser utilizado para técnicas que descomponen materiales es susceptible a la acumulación de partículas emanadas por el material en descomposición.

Antes y después del uso del instrumento se debe verificar la limpieza, ya que ésta es fundamental en la obtención de resultados reproducibles. Las partes a verificar son:

- **Porta Muestras:** La limpieza del porta muestras se puede realizar con una brocha limpia de cerdas suaves o haciendo pasar una corriente de nitrógeno para eliminar partículas sólidas que pudieran adherirse a la charola, si las partículas son líquidas o semisólidas se puede realizar una limpieza con alcohol, acetona u otro solvente en el que sean solubles e hisopo o algún paño que no suelte pelusa.
- **Horno:** El horno tiende a acumular en sus paredes restos de partículas emanadas por los materiales en descomposición y la cantidad acumulada durante cierto tiempo dependerá de la frecuencia de uso del instrumento. Para considerar que el horno está limpio, se debe observar que sus paredes se encuentren en su estado original, es decir, con la apariencia previa a su primer uso. De no ser así, se recomienda hacer una isoterma a la temperatura máxima del horno, con el fin de evaporar la suciedad y arrastrarla con el gas de purga para evitar futuras emanaciones de vapores debido a la acumulación.

Para los calorímetros que ofrezcan ésta facilidad, se puede desmontar el horno y limpiarlo con alcohol, acetona ó algún otro solvente; generalmente el proveedor da recomendaciones de la limpieza del horno.

En ocasiones, el horno no se podrá limpiar hasta su estado original después de haber calentado ó desmontado para realizar la limpieza. Se debe evaluar si el acumulado del horno no desprende emanaciones en el rango de temperatura que trabaja el instrumento, de ser así, verificar que estas no tengan un efecto negativo en el material, por ejemplo, una adsorción que altere la medición del peso de la muestra.

La limpieza del horno juega un papel importante en el caso en que el TGA este acoplado a algún otro instrumento que analice los gases emitidos como espectrómetro de masas ó cromatógrafo de gases ya que una emanación del acumulado del horno puede afectar la respuesta dada por ellos. Cuando no se analiza los gases emanados, es posible utilizar el horno a pesar de que no conserve su apariencia inicial.

- **Termopar:** Si después de una corrida el termopar parece sucio, realizar una corrida con isoterma de un minuto a la temperatura máxima del instrumento. Evitar tocar ó limpiar el termopar ya que esto puede descalibrarlo.
- **Gancho:** Si el gancho que sostiene las charolas tiene residuos de cualquier tipo, estos podrían desprenderse y caer en la charola ó descomponerse alterando el resultado dado por el instrumento. Para los ganchos, debido a su fragilidad, se recomienda desmontar, limpiar con alcohol, acetona u otro solvente y secar con nitrógeno ó incinerar la suciedad en mechero.

1.3.1 LIMPIEZA DE CHAROLAS

Las charolas de TGA son reutilizables, su limpieza es fundamental cuando se trabajan diferentes materiales ó temperaturas en una sola charola.

Las charolas de TGA se rocían ó sumergen en etanol, y posteriormente se limpian con un hisopo y secar con una corriente de nitrógeno; si esta limpieza no es suficiente se puede realizar una incineración de los residuos adheridos con mechero, colocando la charola solo unos segundos en la llama (No es

recomendable limpiar las charolas con el mechero de manera continua ya que esto puede reducir su tiempo de vida. Evitar éste método en charolas de aluminio); otra opción es el tratamiento con ácidos y bases ó solventes a baja concentración, los cuales se seleccionan dependiendo del material de la charola y la naturaleza de los residuos.

Se debe considerar que para corridas en serie de una sola sustancia, como en el caso de estudios de estabilidad, no siempre es necesario que las charolas queden perfectamente limpias. Si la corrida anterior se realizó a temperaturas más elevadas o iguales a la que está por realizarse y con tiempos iguales o mayores de isoterma no se corre riesgo de tener pérdidas de peso que no correspondan a la muestra. Es necesario planear el orden de éste tipo de corridas, las corridas de mayor temperatura final y mayor tiempo de isoterma se deben realizar primero.

1.4 MANTENIMIENTO

El mantenimiento en TGA es fundamental para conservar el instrumento en buenas condiciones de operación. Normalmente el proveedor del instrumento ofrece un programa de mantenimiento preventivo anual, sin embargo, es necesario que el operador conozca el mantenimiento básico que pueda requerirse entre cada visita del proveedor:

El mantenimiento más común realizar es:

- **Cambio o arreglo del gancho porta muestra:** (Si aplica) El gancho porta muestra es un alambre delgado de platino cuya forma se puede deteriorar con el paso del tiempo, es necesario su reemplazo ó arreglo cuando se detecte cualquier irregularidad en su forma.
- **Cambio de alambre para ganchos:** (Si aplica) Para los instrumentos que utilizan el sistema de gancho para suspender la muestra dentro del horno, es necesario revisar continuamente los alambres que sostienen a éste gancho ya que son muy frágiles y se pueden romper fácilmente evitando la

carga segura de las charolas. De encontrarse en mal estado, es necesario su reemplazo.

- **Cambio de agua de recirculación:** Verificar que el agua de recirculación del sistema de enfriamiento se encuentre libre de partículas, algas y que no muestre alguna apariencia que denote un mal estado. Cambiar el agua de recirculación cada 6 meses ó cada que el instrumento lo requiera. Adicionar un agente conservador que, generalmente, es proporcionado por el proveedor, este debe evitar la formación de burbujas y algas.

Estos son puntos críticos que se deben cuidar y corregir en cuanto se perciban, para realizar todos ellos es necesario retirar la tapa que protege todo el sistema mecánico y eléctrico de la balanza, para colocar los repuestos es necesario manejarlos con pinzas y con extremo cuidado ya que se pueden doblar fácilmente.

1.5 ENCENDIDO / APAGADO

Después de asegurarse de cumplir con las condiciones de, alimentación, conexiones y limpieza del instrumento se procede al encendido con el interruptor que generalmente se encuentra en la parte posterior.

Previo al uso del instrumento se recomienda un periodo de equilibrio mínimo de 30 minutos, para que se estabilice y purgue con el gas inerte.

En la mayoría de los casos, el apagado del instrumento se puede realizar a partir del software de control ó directamente desde el instrumento. Se recomienda apagar desde el software de control ya que de esta manera se apaga el instrumento y se cierra el software de manera simultánea evitando que éste último se alarme. Una vez apagado el instrumento, se puede presionar el interruptor.

1.6 CALIBRACIÓN (Gabbott, 2008)(Brown M. , 1998)(TA Instruments, 2006)(Craig & Reading, 2007)

Como cualquier otro instrumento en la industria farmacéutica un TGA debe estar calibrado para comprobar que los resultados que arroja son confiables. Se calibran balanza y termopar.

El valor aceptable de cualquier medición para comprobar que un instrumento esta calibrado no es puntual, se fija un rango dependiendo de la capacidad del instrumento, la normatividad interna de la industria en la que se encuentre y que tan exactos se requiere que sean los resultados.

1.6.1 MEDICIÓN DE PESO - BALANZA

La balanza de TGA tiene una capacidad de 1g; éste instrumento se especializa en la medición de rangos de peso muy pequeños y es necesaria la calibración de la balanza para evitar errores en la medición. Para calibrar la balanza se utilizan masas de platino de peso conocido (100mg y 1g) avaladas por un organismo certificador.

La calibración de la balanza se realiza utilizando la opción de calibración del software de control del instrumento que hace un ajuste con el peso exacto de las masas.

No es necesario calibrar la balanza cada vez que se utilice el instrumento y dependiendo de su uso y comportamiento se pueden establecer fechas de calibración cada que se requiera (anual, semestral, etc.). Sin embargo, se debe verificar que el instrumento permanezca calibrado. Esto se hace antes de cada uso colocando las masas certificadas en la balanza y observando que el peso detectado esté dentro de un rango establecido en el cual se considera el error de medición.

Se puede establecer diferentes rangos dependiendo de los requerimientos de calibración de cada laboratorio.

Se prefiere que la calibración y verificación de masa se realice antes de la calibración de temperatura ya que de ésta manera se reduce el tiempo al no tener que esperar que el horno se enfríe después de la calibración de temperatura y se previene cualquier cambio de peso ó cambio de estado de las masas debido a temperaturas altas cuando están hechas con otro material como aluminio ó bronce.

1.6.2 MEDICIÓN DE TEMPERATURA - TERMOPAR

La calibración de la temperatura es fundamental para dar resultados representativos de la muestra y es importante ya que al realizar una corrida la muestra y su entorno no están en completo equilibrio térmico (la temperatura de la muestra siempre será un poco menor a la temperatura del horno). Existe un retraso en la transferencia de calor (conocido como “thermal lag”) entre horno, charola y muestra por lo cual una corrección en la temperatura es necesaria para obtener información más exacta.

Para la calibración, se ajusta el termopar a una altura determinada, de tal manera que quede cerca de la muestra sin riesgo de ensuciarse durante una corrida ya que existen materiales que se expanden al aumentar la temperatura y podrían adherirse al termopar.

La posición del termopar puede ser modificada para ajustarse a diferentes tamaños y tipos de material. Por cada cambio es necesaria una calibración, pues la temperatura varía en diferentes ubicaciones, por ello, efectuada la calibración, se debe cuidar que el termopar no se mueva de su lugar.

El ajuste del termopar se basa en el empleo de materiales ferromagnéticos y la medición de la Temperatura Curie, es decir, la temperatura por encima de la cual un cuerpo ferromagnético pierde su propiedad magnética comportándose como un material paramagnético.

La temperatura Curie se obtiene al calentar el material ferromagnético bajo un campo magnético generado por un imán, el material es atraído por éste, aparentando un aumento de peso, cuando se rebasa dicha temperatura, se observa una disminución súbita de peso en el termograma, provocada por la pérdida de atracción del campo magnético sobre la muestra.

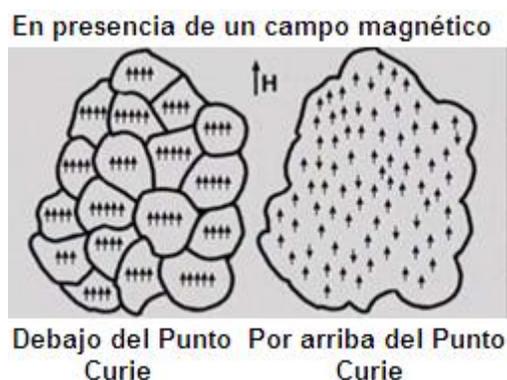


Figura 15. Alineación de los electrones bajo un campo magnético antes y después del Punto Curie.

(American Chemical Society, 1998)

La Figura 15 muestra la alineación de los electrones de un material ferromagnético antes del punto Curie, es decir, al estar bajo el efecto de un campo magnético; por arriba de ésta temperatura, los electrones pierden su dirección, ocasionando que el material deje de ser atraído por el campo. Ejemplos de estos materiales se encuentran en la Tabla 10.

Tabla 10. Puntos Curie de algunos materiales ferromagnéticos.

Material Ferromagnético	Temperatura Curie (°C)
Alumel	153
Níquel	357
Níquel 83% Cobalto 17%	554
Níquel 63% Cobalto 37%	746
Níquel 37% Cobalto 63%	931
Hierro	768
Cobalto	1114

Se recomienda realizar las calibraciones con dos estándares, de tal forma que las transiciones que se desee analizar estén entre las puntos Curie de estos.

Cuando no se cuenta con dos estándares, el ajuste se puede realizar con uno, siempre y cuando su punto Curie este cercano a las temperaturas a las que se pretende trabajar. El material ferromagnético más utilizado para la calibración de la temperatura es el Níquel cuyo intervalo de temperatura Curie es de 353°C a 363.6 °C.

Al igual que en la calibración de la balanza, es importante que los estándares estén certificados, sin embargo, debido a su alto costo y a que los resultados que el instrumento arroja no son utilizados para dar un resultado analítico sino más bien sirven de apoyo a otras técnicas, se puede utilizar el níquel no certificado que ofrece el proveedor.

Se debe considerar la validez de los resultados obtenidos al utilizar un material de calibración no certificado. Si se quiere validar un método en TGA ó si las políticas de la empresa dictan la calibración con materiales certificados, será necesario adquirirlos.

La calibración de la temperatura se realiza a la tasa de calentamiento pretendida para los experimentos posteriores y entre cada periodo de calibración, al igual que la masa, se deben llevar a cabo verificaciones. Estas se efectúan calentando el material ferromagnético a la velocidad de calentamiento que se va a utilizar en los experimentos posteriores y es necesario hacerla cada vez que se cambie de velocidad de calentamiento o se encienda el instrumento.

Cuando se utilizan diversas velocidades de calentamiento en un experimento no es necesaria la calibración de cada una de ellas, sin embargo, se debe realizar verificación de la calibración de cada una y el valor de temperatura Curie obtenido tendrá que caer dentro del rango.

Por lo anterior, es fundamental organizar las corridas que se realizarán durante el día ó la sesión con el fin de realizar la menor cantidad de verificaciones posible, aprovechar al máximo el tiempo destinado a los experimentos y economizar en gastos de nitrógeno y electricidad.

1.7 USO (TA Instruments, 2006)

Previo al uso del instrumento, se debe investigar información relevante de la muestra como: temperatura de descomposición, sublimación (si existe), polimorfismo, temperaturas de fusión, cristalización, transiciones vítreas, temperaturas de ignición, deflagraciones ó si el material es explosivo.

Es importante conocer la mayor información posible de la muestra pues esto ayudará a establecer las condiciones de corrida y a interpretar la información dada por el instrumento.

1.7.1 INICIO – SELECCIÓN DE CHAROLA (Dominguez, 2010)

Las charolas para TGA más utilizadas son las de Platino, aunque también hay de cerámica y aluminio. Su uso depende de los objetivos del experimento, a continuación se muestra una tabla que describe las características de cada Charola:

Tabla 11. Charolas para TGA
(TA Instruments, 2010).

Material	Volúmenes	Ventajas	Desventajas
Platino 	50 - 100 μ L	Inerte en la mayoría de los casos, se puede trabajar con temperaturas altas (>2000°C), fácil limpieza	Alto Costo
Cerámica 	100, 250 y 500 μ L	Inerte, se puede trabajar con temperaturas altas (>3000°C)	Alto costo
Aluminio 	100 μ L	Baratas, se pueden desechar. Disponibles como charolas herméticas.	No se pueden limpiar con mechero temperatura máxima de trabajo de 600°C.

1.7.2 CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA (Dominguez, 2010) (Saniger, 2010) (Amezquita, 2010)

Una vez que el instrumento está estable y se ha verificado su calibración, se procede a realizar las corridas. Se debe recordar que la velocidad de calentamiento a la que se realiza la verificación de la calibración es a la que se trabajará.

Lo primero que se debe realizar antes de hacer una corrida en TGA es tarar. Al realizar la tara, el instrumento ajusta a ceros una charola limpia destinada a contener la muestra con ayuda de una charola vacía, la charola de tara.

Posteriormente, se coloca el material en la charola ajustada a ceros; la cantidad de muestra manejada se encuentra en un rango de 1 a 15 mg y ésta debe estar distribuida de manera uniforme en el fondo de la charola y ser representativa. Algunas características que deben tener las muestras de origen farmacéutico que pueden ser analizadas en TGA y su obtención se resumen en la Tabla 12.

- **Polvo:** El polvo debe de tener preferentemente un tamaño de partícula uniforme, de lo contrario, evitar moler ya que esto podría ocasionar cambios en la estructura cristalina de los componentes que lo forman, se debe tomar una muestra aproximadamente de 5mg del polvo. Dependiendo de la densidad del polvo y la prueba a realizar, pesar mayor ó menor cantidad dentro de un rango de 1 a 15mg. Colocar el polvo en la charola con una espátula de material que no genere estática, si el polvo se adhiere a la espátula, bajar con ayuda de la punta de unas pinzas delgadas ó con una espátula de menor tamaño.
- **Líquidos (Jarabes, Suspensiones, Emulsiones, Elíxires, etc.):** Se debe tener una distribución uniforme. Se debe tomar una muestra 10-15mg ó las gotas suficientes para cubrir el fondo de la charola sin que el líquido se desborde de la charola, con ayuda de una pipeta pasteur o un gotero. Cuando se analicen líquidos de ebullición súbita, pesar una menor cantidad ya que éste proceso podría provocar mucho movimiento en la charola y hacerla caer de su plataforma ó gancho y la medición de peso se puede ver afectada.
- **Semisólidos:** Se debe tener una distribución uniforme. Las muestras van de 10-15mg y se procede de la misma manera que con líquidos.
- **Tabletas, Grajeas, Supositorios:** Se pesa de 5 a 10mg de muestra. La muestra ideal debe tener un contenido uniforme. Se debe evitar moler ya que esto puede ocasionar cambios en la estructura cristalina de los componentes por lo cual se recomienda hacer cortes para obtener delgadas

láminas de la muestra de un tamaño aproximado que permita que el fondo de la charola quede cubierta con una sola capa. Si se tiene un recubrimiento, realizar el análisis de la muestra sin él, a menos que se quiera ver su efecto sobre los demás componentes.

- **Cápsulas:** Se pesa de 5 a 10mg de muestra y se procede de la misma manera que en los puntos anteriores dependiendo del contenido de la cápsula. Si se desea analizar el efecto de la cápsula, cortar láminas y mezclar con el contenido. Colocar la mezcla lo más uniforme posible sobre el fondo de la charola.

Tabla 12. Resumen características de la muestra.

Descripción	Muestra Analítica	Características Ideales	Comentarios
Polvo	1-15mg	Tamaño de Partícula Uniforme	N/A
Líquidos	10-15mg	Uniformidad	Colocar la muestra con gotero ó pipeta pasteur.
Semisólidos	10 -15mg	Uniformidad	Colocar la muestra con espátula ó pipeta pasteur.
Tabletas Grajeas Supositorios	5 -10mg	Láminas delgadas	No moler, cortar láminas con navaja.
Cápsulas	5 -10mg	Uniformidad	Realizar corridas del contenido de la cápsula, seguir las recomendaciones de polvos, tabletas y líquidos. Si se desea observar los efectos de la cápsula sobre la muestra, cortar con navaja láminas y mezclar con el contenido de la cápsula.

1.7.3 PROGRAMACIÓN DE CORRIDA (TA Instruments, 2006)

Se programa la corrida de acuerdo a los objetivos fijados a través del software de control del instrumento.

El software maneja todas las funciones que realiza TGA; algunos ejemplos son: apagado del instrumento, inicio y término de las corridas ó visualización del estado del instrumento antes, durante y después de la corrida.

La forma de programar las corridas varía dependiendo de la marca de los instrumentos y el software de programación con que se cuente, pero, en general, cualquier software debe contar con las secciones principales descritas a continuación:

- **Identificación de la muestra:** En esta sección se coloca nombre de la muestra, lote, fecha, tipo de charola utilizada y cualquier otro tipo de información referente a la muestra que se considere relevante. Si se trabajan muchas muestras, es necesario contar con una codificación que permita identificarlas rápidamente, de igual manera, si se realizan varias corridas con el mismo material, se debe colocar el nombre y las condiciones de corrida para facilitar su localización.
- **Programación de la corrida:** En ésta sección se establecen el modo de TGA y las condiciones de corrida de un material y se seleccionan pasos para dirigirla, llamados segmentos. El más utilizado de ellos es la rampa, que indica la velocidad de calentamiento y la temperatura final de la corrida. En el Anexo 2 se enlistan los segmentos de corrida más utilizados.
- **Almacenamiento de Resultados:** Se indica la ubicación en donde se guardara toda la información que se obtenga de la corrida para su posterior análisis. Es recomendable almacenar los resultados en carpetas destinadas al instrumento en específico y ordenar por fechas o proyecto.
- **Observaciones o Notas:** En estas secciones se puede colocar mayor cantidad de información acerca de la muestra, la finalidad de la corrida o los

eventos esperados. Debido a que muchas veces los campos de identificación están limitados este espacio permite incluir toda la información que se considera importante pero no se pudo introducir en otros campos.

Lo más común en la programación de corridas es tener una rampa desde temperatura ambiente hasta total descomposición para poder observar el perfil térmico de la muestra, sin embargo, las condiciones de corrida dependen del experimento a realizar y otros factores que se discutirán posteriormente.

Se recomienda hacer las corridas por triplicado como mínimo, para obtener valores estadísticos básicos como media, desviación estándar y coeficiente de variación.

1.7.4 ASPECTOS A CONSIDERAR EN LA PROGRAMACIÓN DE CORRIDAS

(Saniger, 2010)(Gabbott, 2008)(Brown M. , 1998)

Para cada corrida llevada a cabo en TGA se debe tener en cuenta la influencia de factores experimentales, ya que los resultados pueden variar. Si se desean corridas reproducibles, es importante tomar en cuenta ciertos factores que a continuación se describen.

1.7.4.1 VELOCIDAD DE CALENTAMIENTO

El cambio en la velocidad de calentamiento altera el resultado dado por TGA. Una mayor velocidad de calentamiento da lugar a un incremento de la temperatura de inicio de la descomposición, esto debido a la inercia térmica. Tasas de calentamiento altas pueden generar gradientes de temperatura en la muestra impidiendo que la descomposición se dé en un solo paso y provocando que el rango de temperatura de la descomposición sea muy amplio, mientras que tasas de calentamiento bajas proporcionan al material un calentamiento más

uniforme que permite la descomposición en un rango de temperatura más corto. El efecto del cambio en la velocidad de calentamiento se muestra en la Figura 16.

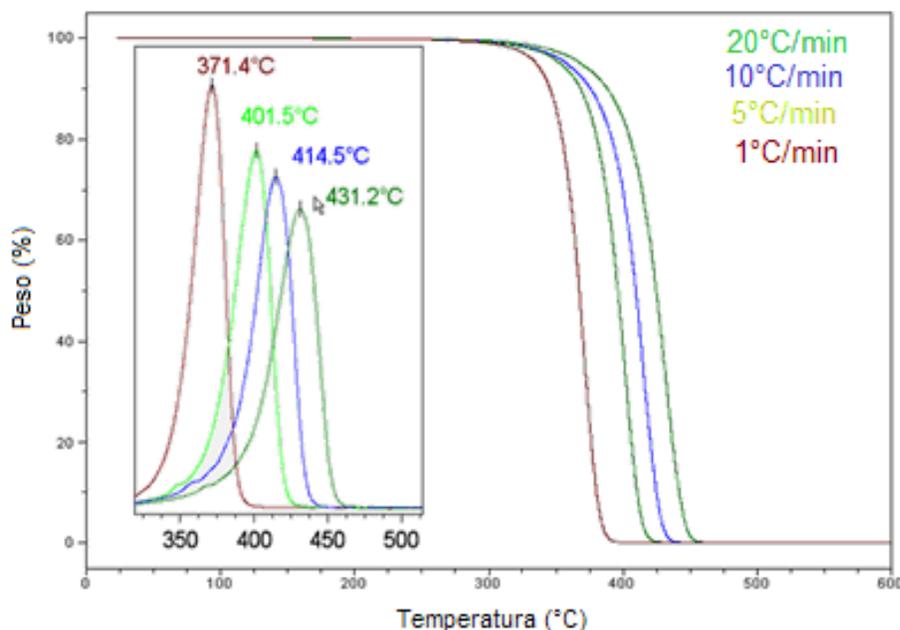


Figura 16. Efecto de la velocidad de calentamiento.

(Saniger, 2010)

La velocidad de calentamiento a usar depende de la finalidad de la corrida. Se utilizan tasas de calentamiento altas cuando el resultado que se pretende obtener no requiere ser exacto, cuando ya se ha observado el comportamiento de la muestra en una región del termograma ó cuando se realizan perfiles térmicos de una sustancia que no ha sido analizada previamente y se quiere conocer de manera rápida su comportamiento frente al cambio de temperatura.

Por su parte, se emplean velocidades de calentamiento bajas si se necesita un resultado exacto ya que proporciona una mayor resolución al termograma, lo que ayuda a evidenciar la presencia de un material en muy pequeña cantidad o con temperatura de descomposición cercana a la de otro evento térmico. Es recomendable utilizar primeramente velocidades de calentamiento altas y en base

a los resultados mostrados en estas analizar si es conveniente o no hacer la corrida a velocidad baja.

Tabla 13. Velocidad de calentamiento, Ventajas y Desventajas

Velocidad de Calentamiento	Ventajas	Desventajas
Alta >10°C/min	Menor tiempo de experimentación. Menor gasto de energía y gas de purga.	Menor Resolución. Los resultados no son exactos.
Baja <7°C/min	Mayor Resolución. Hombros de Evaporación/ Descomposición más definidos Resultados exactos.	Tiempos de experimentación largos. Mayor gasto de energía y gas de purga.

Las velocidades de calentamiento recomendadas para correr una muestra por primera vez, según ASTM son: 10°C/min y 20°C/min mientras que las más utilizadas son 1, 2, 5, 10 porque a menor tasa de calentamiento hay más probabilidad de ver un mayor número de eventos que a tasas elevadas.

1.7.4.2 TAMAÑO DE MUESTRA (Saniger,2010)

El tamaño de la muestra influye en la respuesta que se obtiene del instrumento. Una mayor cantidad de material se descompone a una temperatura más alta que una cantidad de muestra pequeña. El hecho tiene que ver, al igual que la velocidad de calentamiento, con un gradiente de temperatura, es decir, la homogenización de la temperatura en la sustancia es más tardada cuanto mayor sea su masa.

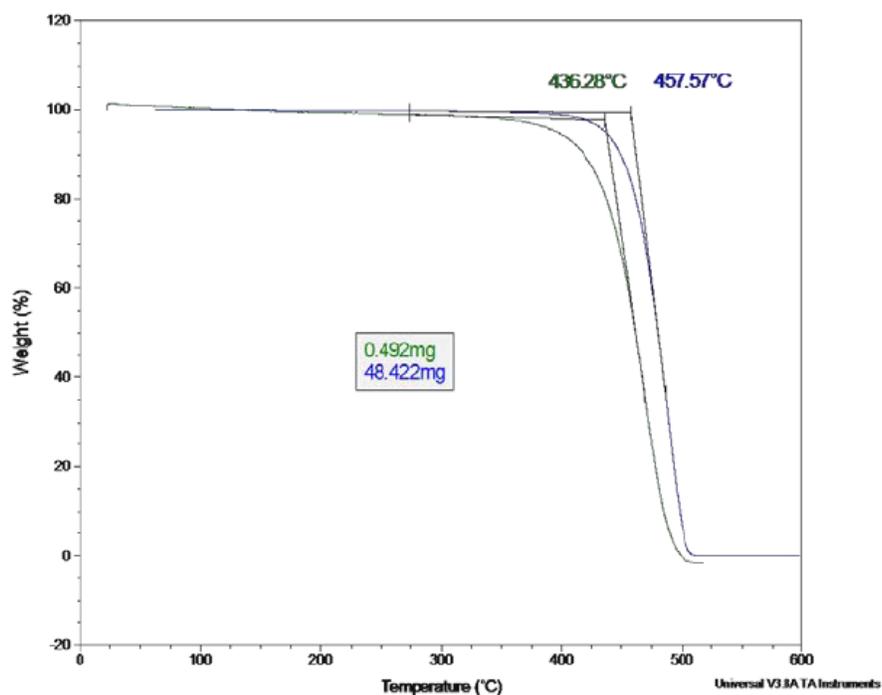


Figura 17. Efecto del tamaño de muestra.

(Saniger, 2010)

Es conveniente trabajar con cantidades pequeñas (menores a 15mg) de muestra para lograr su homogeneidad térmica y obtener un resultado exacto. De la misma manera, tamaños de muestra pequeños protegen al aparato de explosiones o deflagraciones fortuitas en el caso de materiales reactivos.

1.7.4.3 RESOLUCIÓN Y SENSIBILIDAD (TA Instruments, 2010)

De acuerdo al fin que se desee al realizar un experimento en TGA, resolución y sensibilidad serán parámetros de gran interés que ayudarán en la definición e interpretación de los resultados obtenidos.

Resolución y sensibilidad se obtienen modificando condiciones de masa de la muestra y velocidad de calentamiento, como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 14. Resolución y Sensibilidad.

Parámetro	Condiciones	Beneficios
Sensibilidad	Velocidades de calentamiento altas Tamaños de muestra grandes	Detección de cambios de peso menores
Resolución	Velocidades de calentamiento bajas Tamaños de muestra pequeños	Mejor separación de transiciones

1.7.4.4 ATMÓSFERA DE TRABAJO (GAS) (Saniger, 2010)

El gas utilizado también afecta el resultado que se obtiene en TGA. El paso de una atmósfera inerte a una oxidante ó reductora puede ocasionar un cambio radical en los resultados obtenidos que puede verse como un aumento de peso debido a adsorción u oxidación, una disminución de peso por descomposición, diferentes temperaturas de transición ó aparición y desaparición de hombros para una sola sustancia en un mismo intervalo de estudio.

Si se desea sustituir el gas de purga en un experimento, es importante conocer si el material analizado sufrirá alteraciones por efecto de la atmósfera, de

no ser así, el cambio de gas no implica una diferencia significativa en los resultados arrojados por el instrumento.

1.7.4.5 TIPO DE CHAROLA (Gabbott, 2008)

La influencia del tipo de charola sobre los resultados dados por TGA no se considera de suma importancia ya que se utilizan charolas de platino para la mayoría de los experimentos, sin embargo, si se desea trabajar una misma sustancia con dos charolas diferentes es importante considerar la conductividad térmica de cada una de ellas. Una charola con una conductividad menor requerirá de una mayor temperatura para alcanzar la descomposición de la muestra que aquella con una conductividad mayor.

De acuerdo al material de la charola, la conductividad se rige por:

Aluminio>Platino> Cerámica

1.8 TÉRMINO DE CORRIDA Y ANÁLISIS

Al terminar una corrida en TGA se debe esperar a que el horno se enfríe para poder comenzar una nueva, el tiempo que el instrumento tarda en enfriarse depende de si cuenta o no con un sistema de enfriamiento y de qué tipo. El tiempo promedio que tarda un instrumento en regresar a temperatura ambiente sin ningún enfriamiento cuando ha llegado hasta los 1000°C es de aproximadamente 40 minutos, si se utiliza aire comprimido para enfriar es de aproximadamente 20 minutos.

Al término de la corrida se obtiene un termograma de porcentaje de pérdida de peso en función de temperatura ó tiempo que se analiza por medio de un software que el proveedor proporciona para su instalación en la computadora acoplada al instrumento.

El software de análisis permite realizar de manera rápida y fácil los estudios de: pérdida de peso (en porcentajes o masa), porcentaje ó peso del residuo,

determinación de temperaturas a un porcentaje específico, determinación de peso a una temperatura específica, entre otras.

Estos análisis se realizan automáticamente después de indicar límites en el termograma con ayuda de marcadores o introduciendo valores numéricos.

Las curvas termogravimétricas sirven de apoyo para fijar la temperatura máxima de trabajo en DSC y apoyan a la interpretación de sus termogramas.

1.9 INTERPRETACIÓN DE CURVAS TERMOGRAVIMÉTRICAS (Gabbott, 2008) (Brown, 2004)

Los análisis dados por el software ayudan al cálculo de valores puntuales a partir de un termograma, sin embargo, es fundamental conocer las formas más comunes de termogramas TGA para saber cuál análisis llevar a cabo y tener una buena interpretación a los resultados.

Las curvas termogravimétricas pueden tomar diferentes formas, dependiendo de la naturaleza de la muestra y las transiciones sufridas, ejemplos de éstos comportamientos se describen a continuación:

Tabla 15. Tipos de curvas termogravimétricas
(Mettler Toledo, 2000).

Termograma	Descripción
	La muestra no sufre descomposición ó pérdida de productos volátiles en el rango de temperatura mostrado. Pueden ocurrir transiciones como fusión.
	Rápida pérdida de masa inicial característica de procesos de desorción o secado.

Tabla 15. Continuación

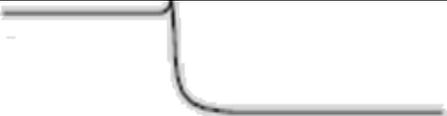
Termograma	Descripción
	<p>Descomposición de la muestra en un proceso simple. La curva se puede utilizar para definir los límites de estabilidad del reactante.</p>
	<p>Descomposición de etapas múltiples con intermediarios relativamente estables. Se puede definir los límites de estabilidad del reactante e intermediarios.</p>
	<p>Descomposición de etapas múltiples, pero los productos intermedios no son estables.</p>
	<p>Ganancia de masa como consecuencia de la reacción de la muestra con la atmósfera que la rodea.</p>
	<p>El producto de una reacción de oxidación que descompone a temperaturas más elevadas: $2 \text{ Ag} + \frac{1}{2} \text{ O}_2 \rightarrow \text{Ag}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{ Ag} + \frac{1}{2} \text{ O}_2$</p>
	<p>Descomposición explosiva</p>

Tabla 15. Continuación

Termograma	Descripción
 <p>The graph shows a horizontal line representing constant weight. At a certain point, the line drops sharply and then levels off at a lower weight. Above the transition point, the labels N_2 and O_2 are separated by a vertical line, indicating the change in atmosphere.</p>	Combustión de carbón al cambiar el gas de purga
 <p>The graph shows a horizontal line representing constant weight. At a certain point, the line drops sharply and then levels off at a lower weight. This represents the effect of a magnet on the material's weight during a run.</p>	Corrida de material ferromagnético en ausencia y presencia de imán.

1.10 ERRORES MÁS COMUNES

Existen algunos aspectos del uso de TGA a los cuales se debe prestar atención, ya que son errores que frecuentemente se pueden presentar y se debe estar preparado para evitarlos. Estos se enlistan y describen a continuación:

- **Apertura automática del horno al calibrar:** (Aplicable a hornos cuyo cerrado se realiza de abajo hacia arriba). Cuando se realiza la calibración o la verificación de la calibración se coloca un imán debajo del horno durante la corrida para generar el campo magnético necesario para obtener la temperatura Curie; si se tiene activada la opción de descarga automática de la muestra, se debe indicar en el software de control que al terminar la corrida el horno permanezca cerrado, de lo contrario, éste descenderá sobre el imán intentando descargar la muestra y esto puede forzar su motor, dañar alguna parte del instrumento o lastimar al operador.
- **Olvidar tarar:** Si se olvida ajustar a ceros el peso de la charola de muestra antes de la corrida, los resultados obtenidos serán erróneos. Cuando no se recuerda si ya se realizó la tara, el software de control de algunos modelos

de TGA tiene la opción de mostrar un listado de las acciones llevadas a cabo en el instrumento donde se puede verificar lo anterior.

- **Limpieza de la charola:** Si la limpieza de la charola no fue adecuada ó si no se siguieron las recomendaciones para corridas en serie de un solo material mencionadas en el apartado 1.3.1 y se realiza una corrida, los resultados pueden indicar pérdidas de peso mayores al 100% ó ganancias mayores a lo esperado lo que nos indica que los datos no corresponden únicamente a la muestra
- **Charola de tara suelta** (cuando aplique): En ocasiones, debido a un movimiento brusco sobre la superficie en la cual se encuentra TGA, la charola de tara puede soltarse del gancho que la sostiene. Al encontrarse dentro del gabinete, es difícil observar cuando esto ocurre, sin embargo, es posible detectarlo al intentar cargar una charola de muestra ya que el gancho para ésta no puede sujetarla y el instrumento marca un error. Para colocarla de nuevo, se debe abrir el gabinete y colgarla en el gancho con ayuda de pinzas.
- **No dejar equilibrar el instrumento:** Si no se deja equilibrar el instrumento el suficiente tiempo, es posible que el resultado de la verificación de la calibración no se encuentre dentro de rango especificado haciendo pensar erróneamente al operador que el instrumento esta descalibrado.
- **Mangueras dobladas:** En los instrumentos con horno móvil, las mangueras que suministran el aire comprimido, la atmosfera inerte u oxidante al horno pueden doblarse, por lo cual es importante estar presente cuando el horno sube ó baja.
- **Mover el termopar:** Si se toca el termopar y este cambia de posición es muy probable que la medición de la temperatura se descalibre, en este caso, lo más recomendable es realizar una verificación de la calibración y dependiendo de su resultado se decide si efectuar la calibración o no.

- **Charola no carga adecuadamente:** Las charolas de TGA son frágiles y al manipularlas es posible que poco a poco se deformen, cuando esto sucede el gancho no alcanza a tomar la charola; si esto sucede, con ayuda de unas pinzas se puede volver a dar la forma lo más parecida posible a la original al alambre que sostiene la charola y con esto debe ser suficiente para que la cargue.
- **Pérdida de la comunicación entre el instrumento y la computadora:** La conexión entre el instrumento y la computadora se puede perder en algunas ocasiones, en éste caso hay que verificar que los cables que establecen la red estén bien conectados, si esto no funciona es necesario revisar la computadora o el instrumento.

La pérdida de la conexión se puede provocar también por un cambio en la dirección asignada al instrumento que establece la comunicación entre éste y la computadora, se debe tener cuidado en no alterarla.

- **Gancho doblado:** El gancho que carga las muestras puede estar doblado y tocar alguna superficie, si esto sucede, las mediciones del peso se podrían ver alteradas, cuando esto se detecte, es necesario arreglar ó sustituir el gancho.

2. LIMPIEZA, CALIBRACIÓN Y USO DE CALORÍMETRO DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC) (TA Instruments, 2006)

2.1 UBICACIÓN

Para utilizar el calorímetro diferencial de barrido se debe asegurar que el sitio destinado para su uso cumpla los siguientes requisitos:

- La superficie sobre la cual se encuentra el instrumento debe estar libre de vibraciones para evitar movimientos de la muestra ó charola que puedan favorecer ó perjudicar las transiciones observadas.
- La temperatura de la habitación debe estar entre los 15 y los 30°C y el instrumento no debe tener una exposición directa al sol, ya que esto puede provocar errores en la respuesta y transiciones no deseadas en la muestra. (Por ejemplo, la volatilización de materiales debida a la temperatura del cuarto y no a un aumento de temperatura de la celda DSC).
- El lugar de trabajo debe estar ventilado; cuando se trabaja con charolas abiertas ó con charolas que no están selladas se pueden desprender gases, liberando solventes o productos de degradación que pueden ser dañinos si se acumulan dentro del área de trabajo, sin embargo, no debe haber corrientes de aire directas sobre el instrumento para evitar ruido en la señal en caso de no tener un cerrado adecuado de la celda.
- Se debe tener una humedad relativa entre 5 y 80% en el cuarto para evitar condensaciones no deseadas en el horno, celda ó anillo de calentamiento del instrumento.
- El entorno de trabajo debe estar limpio para reducir el riesgo de contaminación de la muestra.

- El área debe tener el espacio suficiente para los instrumentos y para que el operador pueda trabajar cómodamente, sin condiciones inseguras.



Figura 18. Ubicación DSC.

2.2 CONEXIONES/ ALIMENTACIÓN

Antes de encender DSC se debe verificar que el instrumento cuente con alimentación y conexiones requeridas para su buen funcionamiento:

- **Energía:** Se debe contar con una fuente de energía de 120Vac ó 230Vac regulada para evitar daños al instrumento y transiciones en el termograma ajenas a la muestra.



Figura 19. Conexión de energía TGA ubicada en la parte posterior del instrumento.

- **Alimentación de Gases:** Para la mayoría de los experimentos se debe proporcionar al DSC con una atmósfera inerte por medio de una alimentación de nitrógeno, helio o argón de alta pureza. La selección del

gas depende del objetivo del experimento; para trabajar a temperaturas mayores de 600°C se prefiere el uso de Argón debido a que tiene una conductividad térmica menor que nitrógeno y helio, lo que disminuye la pérdida de calor; cuando se trabaja a temperaturas menores de -180°C se recomienda el uso de Helio, ya que Argón y Nitrógeno condensan. Si se necesita observar el efecto de una atmósfera oxidante ó reductora sobre un material, se recomienda el uso de aire, oxígeno ó hidrógeno. (Gabbott, 2008) El gas más utilizado e industria farmacéutica para corridas estándar es Nitrógeno, el cual debe ser al menos de grado 5 y debe tener una presión de 15 a 20 psi.

DSC cuenta con dos entradas de gas de purga que dirigen el nitrógeno hacia la celda y al sistema de calentamiento. Adicionalmente, algunos instrumentos cuentan con una entrada para un segundo gas de purga pues tienen la opción de cambiar el gas durante una corrida. En éstos casos, la alimentación de gases siempre debe ir en la entrada principal marcada como “Gas 1”.

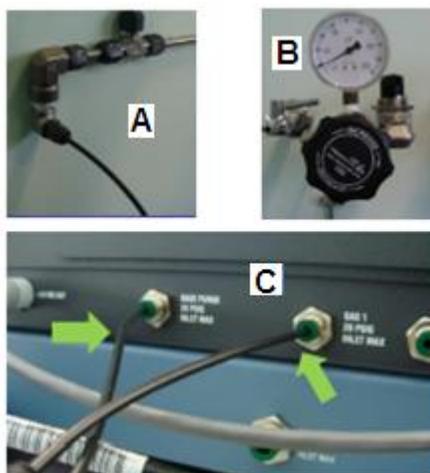


Figura 20. Conexiones de gas de purga.

A. Suministro de gas de purga, B. Manómetro, se recomienda que la presión del gas de purga este entre 15 y 20 psi, C. Las flechas verdes indican la entrada de las mangueras a la alimentación de gas de purga hacia la celda y sistema de calentamiento.

- **Sistema de enfriamiento:** El sistema de enfriamiento en DSC consta de un equipo auxiliar acoplado al instrumento que se encarga de regular la temperatura del horno y disminuirla hasta valores por debajo de los 0°C por medio de un anillo de enfriamiento; se basa en el uso de agentes refrigerantes como: aire comprimido (25°C), hielo seco (-78.5°C), nitrógeno líquido (-150°C), aire comprimido ó gases (<-50°C).



Figura 21. Sistema de enfriamiento.

La flecha verde muestra la conexión al instrumento del sistema de enfriamiento. El enfriador tiene una conexión adicional a una toma de corriente.

- **Red:** DSC cuenta con un cable que establece una red entre el instrumento y una computadora que lo controla. Este cable es de tipo Ethernet y debe estar conectado del instrumento a la computadora directamente. (NOTA: Si se encuentra con dos ó más instrumentos acoplados a la computadora, es posible establecer la red por medio de un concentrador (HUB)).



Figura 22. Conexión de red ubicada en la parte posterior de DSC.

2.3 LIMPIEZA

Previo al uso del instrumento se debe verificar que se encuentre limpio y que sus componentes se encuentren en buenas condiciones. A diferencia de TGA, en DSC existen menos aspectos a considerar en la limpieza ya que la mayoría de sus componentes se encuentran en el interior del instrumento.

En primer lugar, se debe revisar que las superficies del instrumento, en especial en los alrededores del horno, estén libres de partículas ya que podrían caer dentro de éste y los resultados arrojados por el instrumento podrían ser afectados. Si se encuentran restos de polvo ó suciedad, retirar con ayuda de una brocha de cerdas suaves ó con una toalla de papel ó tela que no desprenda fibras. Efectuado lo anterior, se abre el horno y se revisa la celda.

La celda se limpia con una brocha fina o lápiz de fibra de vidrio, teniendo cuidado de no tocar cualquier termopar cercano. Cuando el instrumento tiene plataformas para colocar las charolas, se procura limpiarlas suavemente y en una sola dirección. Posteriormente, se hace pasar una corriente de nitrógeno para eliminar los restos de fibra de vidrio; ésta corriente puede ser obtenida desconectando las mangueras que suministran el nitrógeno al instrumento (si aplica).

Cuando se observa algún resto de material en descomposición, ó cuando la celda no recupera su apariencia original después de retirar partículas con la fibra de vidrio, se utiliza un hisopo humedecido en algún solvente que pueda disolver el residuo (generalmente se utiliza alcohol ó agua) y se pasa por las paredes de la celda cuidando de no tocar termopares ó plataformas. Para secar el horno, se pasa una corriente de nitrógeno sobre la celda y se calienta la celda vacía hasta la temperatura máxima para eliminar restos de solvente (TA Instruments, 2008).

En el caso de las charolas, se lleva a cabo una revisión inicial para asegurar que se encuentren libres de partículas ó grasas, de no ser así, se recomienda una limpieza sumergiendo las charolas en xileno. (Gray, 2008)

Según el tipo de material, las charolas pueden ser desechables ó no. Si es posible, la limpieza se efectúa incinerando el contenido de la charola en un mechero (se deben consultar los puntos de fusión de los materiales de las charolas en el apartado 2.7.1), a su vez, se pueden utilizar solventes como etanol, xileno ó acetona.

Se debe tener cuidado al manejar las charolas para evitar la adherencia de partículas grasas, en todo momento se deben sujetar con pinzas.

2.4 MANTENIMIENTO

Al igual que en TGA, conservar el DSC en buenas condiciones depende del mantenimiento. El proveedor del instrumento normalmente ofrece un programa de mantenimiento preventivo anual, sin embargo, es necesario que el operador conozca el mantenimiento básico que pueda requerirse entre cada visita del proveedor:

El mantenimiento consiste en verificar el estado de las conexiones, las funciones de cierre automático y muestreador automático (si aplica), reemplazo de partes (si aplica) y, en caso de que el equipo no esté en funcionamiento durante mucho tiempo, hacer corridas para verificar el estado de la calibración.

2.5 ENCENDIDO / APAGADO

Después de asegurarse de cumplir con las condiciones de, alimentación, conexiones y limpieza del instrumento se procede al encendido con el interruptor que, generalmente, se encuentra en la parte posterior.

Previo al uso del instrumento se recomienda un periodo de estabilización ó equilibrio mínimo de 30 minutos, esto con el fin de que el instrumento se estabilice y purgue con el gas inerte. Si es necesaria una temperatura de reposo ó de espera

definida (Standby Temperature que, generalmente, es de 40°C), equilibrar el instrumento con ésta condición, de igual manera, encender el sistema de enfriamiento.

Antes de apagar el instrumento se debe revisar la temperatura de la celda, ésta debe ser la temperatura de reposo, así mismo, la temperatura de la brida ó anillo de enfriamiento de enfriamiento debe ser al menor de 15°C para evitar condensación de humedad en la celda debido a bajas temperaturas. Para alcanzar ésta temperatura, desactivar el enfriador 30 minutos antes de apagar el instrumento.

El apagado del instrumento se realiza a partir del software de control ó a partir del instrumento directamente. Se recomienda apagar desde el software de control ya que de esta manera se apagan instrumento y software de manera simultánea y se evita que el software se alarme por haber apagado el instrumento antes que el software.

Una vez que esté apagado el instrumento, se puede presionar el interruptor.

2.6 CALIBRACIÓN (Brown M. , 1998) (Gabbott, 2008) (Craig & Reading, 2007) (TA Instruments, 2006)

Como cualquier otro instrumento en la industria farmacéutica, un DSC debe estar calibrado para comprobar que los resultados que arroja son confiables. Se calibran línea base, capacidad calorífica, flujo de calor, temperatura y entalpía.

El valor aceptable de cualquier medición para comprobar que un instrumento esta calibrado no es puntual, se fija un rango dependiendo de la capacidad del instrumento, la normatividad interna de la industria en la que se encuentre y que tan exactos se requiere que sean los resultados.

El instrumento cuenta con una guía para calibración de temperatura, y capacidad calorífica que hace un ajuste entre el valor obtenido de una medición y el valor teórico (Brown M. , 1998).

2.6.1 LÍNEA BASE (Brown M. , 1998) (Craig & Reading, 2007) (Gabbott, 2008)

Previo a cualquier calibración, se debe hacer un ajuste de la línea base importante para la adecuada detección de transiciones. Ésta consiste en un calentamiento de la celda vacía por todo el rango de temperaturas que se utilizarán en los experimentos posteriores aplicando comandos de isotermas en los límites de temperatura. Se calcula la pendiente del termograma obtenido y mediante el uso de fórmulas que dependen del diseño del instrumento se establece en cero el valor de la línea base.

Los valores recomendados para éste ajuste son tasas de calentamiento de 10°C/min y 20°C/min con isotermas de 5 minutos a la temperatura inicial y final de la corrida.

La calibración de la línea base se lleva a cabo la primera vez que se utiliza DSC y cada vez que el instrumento lo requiera. Se debe establecer un programa de calibración en base al comportamiento del instrumento.

Los cambios en la línea base no siempre se deben a un desajuste en la medición. Una curvatura puede ser causada por una inadecuada limpieza de la celda ó un mal cerrado de la cubierta del horno que permita salidas de calor.

Una buena línea base se considera aquella que se encuentra entre -10 y 10 microwatts en el rango de temperaturas manejado por el instrumento.

2.6.2 CAPACIDAD CALORÍFICA (Brown M. , 1998) (Craig & Reading, 2007)

La calibración de la capacidad calorífica (C_p) se realiza cuando se requiere el valor absoluto de capacidad calorífica para una muestra. Ésta consiste en el uso de materiales con valores de C_p conocidos dentro de un rango de temperatura para lograr un ajuste en el instrumento a través de una constante.

El material de calibración más utilizado es el Zafiro pues presenta valores de capacidad calorífica determinados con exactitud entre -180°C y 1400°C.

Comúnmente se proporciona con el instrumento al momento de su compra como discos de peso conocido, sin embargo, en la mayoría de los casos, no cuenta con una certificación. Es posible utilizarlo para calibrar el instrumento siempre y cuando se tome en consideración la validez de los resultados obtenidos. Si se quiere validar un método en DSC ó si las políticas del laboratorio dictan la calibración con materiales certificados, será necesario adquirirlos.

Los discos de zafiro se colocan en las plataformas de la celda y se efectúa una corrida de preparación ó acondicionamiento que consiste en un calentamiento, con tasas recomendadas de 10 y 20 °C/min, hasta 10°C por arriba de la temperatura final del rango pretendido para experimentos. Terminada la corrida, se sitúan en un desecador (aproximadamente 3 horas).

La preparación de los discos de zafiro es importante para una buena determinación de la capacidad calorífica; al realizarla, se aseguran limpieza y pérdida de humedad dentro de las temperaturas empleadas. Se debe sujetar en todo momento los discos de zafiro con pinzas para evitar la adherencia de partículas grasas ó suciedad y con ello, una alteración de peso del mismo.

Cuando los discos están listos, se someten al mismo programa de calentamiento conducido para la línea base, introduciendo el peso exacto en el software del instrumento.

Finalmente, el software del instrumento obtiene una constante de calibración que se utiliza en el cálculo de la capacidad calorífica de las muestras, referida como la razón del valor teórico y el valor obtenido de manera experimental.

2.6.3 CALIBRACIÓN DEL FLUJO DE CALOR/ENERGÍA (Craig & Reading, 2007) (Brown M. , 1998)

Al igual que los dos factores anteriores, el flujo de calor se debe ajustar. Las variaciones dadas por los materiales que constituyen el horno, la celda y las plataformas en la transferencia de calor deben ser consideradas en la calibración.

El factor de calibración para flujo de calor se obtiene por medio de una sobreposición de los termogramas de las corridas de línea base y capacidad calorífica y el cálculo del área que existe entre ellas.

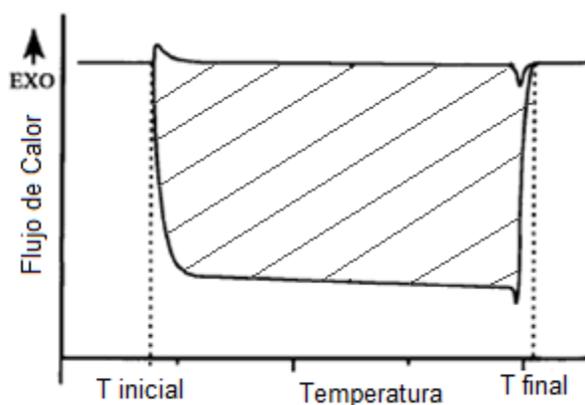


Figura 23. Calibración de flujo de calor.

(Brown M. , 1998)

2.6.4 CALIBRACIÓN DE TEMPERATURA – ENTALPÍA Y CONSTANTE DE CELDA (Brown M. , 1998)(Craig & Reading, 2007)(Saniger, 2010)

La calibración de la temperatura y entalpía es fundamental para dar resultados representativos de la muestra. Ésta consiste en el uso de materiales de referencia para lograr un ajuste de temperatura en el instrumento mediante un factor obtenido por la razón del valor de temperatura y entalpía teórico y el experimental.

La calibración es importante ya que, al realizar una corrida, la muestra y su entorno no están en completo equilibrio térmico (la temperatura de la muestra siempre será un poco menor a la temperatura del horno). Existe un retraso en la transferencia de calor (conocido como “thermal lag”) entre horno, charola y muestra por lo cual una corrección en la temperatura es necesaria para obtener información más exacta (Craig & Reading, 2007).

Se calibra con materiales certificados de los cuales se conoce la temperatura y la entalpía de fusión, entre ellos se encuentran metales y materiales orgánicos mencionados en la Tabla 16.

Tabla 16. Estándares de calibración de Temperatura y Entalpía
(The Engineering ToolBox)

Estándar	Entalpía de Fusión (J/g)	Temperatura de Fusión(°C)
Ácido Benzoico	147.30	123.00
Urea	241.80	133.00
Indio	28.45	156.60
Antraceno	161.90	216.00
Estaño	-	231.95
Plomo	-	327.46
Zinc	-	419.53

Al igual que TGA, en DSC el uso de dos estándares para calibrar el rango de temperaturas y entalpías de trabajo es altamente recomendado. A su vez, si se pretende trabajar con materiales orgánicos, como en la industria farmacéutica, es ideal efectuar el ajuste con materiales orgánicos, sin embargo, debido a su baja estabilidad y alto costo, se prefiere el uso de sustancias inorgánicas.

El material más utilizado para el ajuste de temperatura y entalpía es el indio, por su fácil acceso (se proporciona junto con el instrumento al momento de la compra), buena estabilidad y reproducibilidad de respuesta; éste reporta intervalos

de punto de fusión de 155.3 – 157.9°C y entalpía de fusión de 27.9 a 29.5 J/g, es reutilizable siempre y cuando no sea calentado por arriba de los 180°C para evitar una recristalización incompleta, para este mismo fin se recomienda enfriar el indio después de cada corrida hasta una temperatura de 50°C o menor. Algunas recomendaciones referentes al uso de éste metal se discuten más adelante.

El indio proporcionado por el proveedor, en la mayoría de los casos, no cuenta con una certificación, sin embargo, es posible utilizarlo para calibrar el instrumento siempre y cuando se tome en consideración la validez de los resultados obtenidos. Si se quiere validar un método en DSC ó si las políticas de la empresa dictan la calibración con materiales certificados, será necesario adquirirlos.

La calibración se debe realizar a las mismas condiciones que serán sometidas las muestras de los experimentos futuros; así, gas de purga, tasa de calentamiento y tipo de charola no deberán cambiar entre calibración y uso. Si es necesario cambiar alguna de estas condiciones, se requerirá una nueva calibración.

Se deben evaluar los cambios anteriores, pues no todos ameritan una calibración, por ejemplo la sustitución de nitrógeno por aire u oxígeno no afecta la calibración del instrumento ya que éstos tienen conductividades térmicas similares(Gabbott, 2008). Estos cambios también son función del material de calibración y de su estabilidad a diferentes atmósferas.

Al calibrar al igual que en los experimentos futuros, se utiliza una referencia para obtener la medición apropiada del diferencial de temperatura. Ésta consta de una charola vacía del mismo tipo que la que se utiliza para el material de calibración.

No es necesario calibrar cada vez que se utilice el instrumento y, dependiendo de su uso y comportamiento, se pueden establecer fechas de calibración cada que se requiera (anual, semestral, etc.). Sin embargo, se debe verificar que el instrumento permanezca calibrado entre los intervalos de

calibración. Esto se hace con una corrida del material de calibración previa al uso del equipo.

El rango aceptado para las verificaciones de la calibración va del 0.1% al 1% dependiendo de la exactitud que se desee tener.

Cuando se utilizan diversas tasas de calentamiento en un experimento no es necesaria la calibración de cada una de las velocidades de calentamiento, sin embargo, se debe realizar verificación de la calibración por cada una de ellas y el valor de temperatura de fusión obtenido tendrá que caer dentro del rango.

Por lo anterior, es fundamental organizar las corridas que se realizarán durante el día ó la sesión con el fin de realizar la menor cantidad de verificaciones ó calibraciones posibles, aprovechar al máximo el tiempo destinado a los experimentos y economizar en gastos de nitrógeno y electricidad.

2.6.5 NOTAS/RECOMENDACIONES

Al utilizar indio se deben tener ciertos cuidados para que la calibración sea adecuada:

- Pesar de 3 a 6 mg de muestra y presionar contra una superficie plana para formar una lámina que se coloca en la charola (del mismo tipo a ser usado en experimentos posteriores) con el fin de garantizar una mayor superficie de contacto entre el Indio y el fondo de la charola y con ello disminuir el retraso térmico que se pueda producir. Seguir las indicaciones de preparación de muestra mostradas en el apartado 2.7.3.
- Llevar a cabo una fusión previa a la calibración (“pre-melt”, hasta 160°C) para asegurar la mayor superficie de contacto entre el indio y el fondo de la charola.
- Utilizar una atmósfera inerte para la calibración (nitrógeno, argón, helio). El indio sufre oxidación, evitar el uso de oxígeno ó aire como gas de purga.

A su vez, se deben considerar otros aspectos importantes como el uso de diferentes tipos de charola (Ver apartado 2.7.1 de ésta guía) para la calibración con indio y las corridas experimentales:

- Se pueden utilizar diferentes charolas para la calibración y las corridas posteriores siempre y cuando el material y el grosor de la base sean los mismos.
- Si se cumplen las condiciones anteriores, es recomendable siempre realizar la calibración en una charola con tapa cerrada, esto, a diferencia de las charolas abiertas protege al indio de contaminación, las tapas para charolas cerradas son más baratas que las herméticas y permiten mantener el indio en contacto con el fondo de la charola, ya que las charolas herméticas tienen espacio libre dentro de ellas.

2.7 USO

Previo al uso del instrumento, se debe investigar información relevante de la muestra como: temperatura de descomposición, sublimación (si existe), polimorfismo, temperaturas de fusión, cristalización, transiciones vítreas, temperaturas de ignición, deflagraciones ó si el material es explosivo. Es importante conocer la mayor información posible de la muestra pues esto ayudará a establecer las condiciones de corrida y a interpretar la información dada por el instrumento.

2.7.1 INICIO – SELECCIÓN DE CHAROLA

Una vez que el instrumento está estable y se ha verificado su calibración, se procede a realizar las corridas. Se debe recordar que la velocidad de calentamiento a la que se realiza la verificación de la calibración es a la que se trabajará.

Existen diferentes tipos de charolas en DSC que se utilizan dependiendo de las características de la muestra y las condiciones a las que éstas serán sometidas. Éstas se clasifican por material y tipo de cerrado. Se resumen sus características en la Tabla 17 y Tabla 18.

Tabla 17. Clasificación de Charolas por tipo de Material.

(The Engineering ToolBox)

Material	Temperatura de Trabajo (°C)	Temperatura de Fusión (°C)	Características/Comentarios
Aluminio	-180 a 600	660.32	<ul style="list-style-type: none"> • Son las más utilizadas • Desechables • Bajo costo y alta conductividad térmica • Temperatura máxima de trabajo: 550°C
Cobre	-180 a 725	1084.62	<ul style="list-style-type: none"> • Se utiliza cuando la muestra reacciona con aluminio ó cuando la temperatura excede los 550°C. • Bajo costo • Estudios térmicos de estabilidad de oxidación.
Oro	-180 a 725	1064.18	<ul style="list-style-type: none"> • Se utiliza cuando la muestra reacciona con aluminio ó cuando la temperatura excede los 550°C. • Para muestras biológicas. • Cuando se requiere una presión mayor a 300kPa

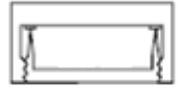
Tabla 17. Continuación

Material	Temperatura de Trabajo (°C)	Temperatura de Fusión (°C)	Características/Comentarios
Platino	-180 a 725	1768.30	<ul style="list-style-type: none"> • Se utiliza cuando la muestra reacciona con aluminio ó cuando la temperatura excede los 550°C.
Grafito	-180 a 725	Sublima a 3652.00	<ul style="list-style-type: none"> • Se utiliza cuando la muestra reacciona con aluminio ó cuando la temperatura excede los 550°C. • Cuando existen interacciones entre metal y muestra.
Acero Inoxidable	-180 a 725	1510.00	<ul style="list-style-type: none"> • Se utiliza cuando la muestra reacciona con aluminio ó cuando la temperatura excede los 550°C. • Líquidos a temperaturas altas y muestras biológicas

Tabla 18. Clasificación de Charolas por tipo de Cerrado.

Charola	Imagen	Aplicación	Comentarios
Estándar	Abierta 	<ul style="list-style-type: none"> • Materiales no volátiles 	<ul style="list-style-type: none"> • Favorece la interacción de la muestra con la atmósfera.
	Cerrada 	<ul style="list-style-type: none"> • Sólidos no volátiles 	<ul style="list-style-type: none"> • Mayor superficie de contacto ya que presionan la muestra contra el fondo. • Reducción del gradiente térmico en la muestra • Mayor resolución y sensibilidad.

Tabla 18. Continuación

Charola	Imagen	Aplicación	Comentarios
Hermética	Cerrada 	<ul style="list-style-type: none"> Líquidos, semisólidos Sólidos volátiles y no volátiles. Sólidos sensibles a la presión del cerrado 	<ul style="list-style-type: none"> Sellada con prensa de encapsulación. Se utiliza para la mayoría de los experimentos en DSC. Sin salpicaduras por ebullición ó descomposición súbita Presión máxima: <ul style="list-style-type: none"> - Aluminio= 300kPa - Oro: 600kPa
	Pin Hole 	<ul style="list-style-type: none"> Líquidos, semisólidos, solvatos, sólidos con agua enlazada 	<ul style="list-style-type: none"> Se utiliza en estudios de evaporación.
	Anillo 	<ul style="list-style-type: none"> Líquidos por arriba de los 120°C Proteínas 	<ul style="list-style-type: none"> Presión máxima: 3MPa Temperatura máxima: 250°C*
	Arandela 	<ul style="list-style-type: none"> Evaluación de materiales peligrosos Evaluación de estabilidad 	<ul style="list-style-type: none"> Presión máxima: 20MPa Temperatura Máxima: 300°C

*Temperaturas más allá de los 250°C pueden generar transiciones en líquidos con presiones mayores a 3MPa provocando que la charola se abra.

Se debe revisar el estado de las charolas antes de su uso por irregularidades en la forma. De presentarse, se deberá desechar la charola ya que cualquier deformación puede afectar el contacto entre la plataforma y la base ó el cerrado y con ello, alterar la transferencia de calor hacia la muestra.

2.7.2 CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA (Dominguez, 2010)(Saniger, 2010)(Amezquita, 2010)

La cantidad de muestra manejada se encuentra en un rango de 1 a 12 mg y ésta debe ser representativa y estar distribuida de manera uniforme en el fondo de la charola para tener una superficie de contacto óptima para la difusión de calor y disminución de retraso térmico. Algunas características que deben tener las muestras de origen farmacéutico que pueden ser analizadas en DSC y su obtención se resumen en la Tabla 19 y se desglosan a continuación:

- **Polvo:** El polvo debe de tener preferentemente un tamaño de partícula uniforme, de lo contrario, evitar moler ya que esto podría ocasionar cambios en la estructura cristalina de los componentes que lo forman, se debe tomar una muestra analítica de 3 a 5mg aproximadamente. Dependiendo de la densidad del polvo y la prueba a realizar, pesar mayor ó menor cantidad dentro de un rango de 1 a 10mg. Colocar el polvo en la charola con una espátula de material que no genere estática, si el polvo se adhiere a la espátula, bajar con ayuda de la punta de unas pinzas delgadas ó con una espátula de menor tamaño.
- **Líquidos (Jarabes, Suspensiones, Emulsiones, Elíxires, etc.):** Se debe tener una distribución uniforme. Tomar una muestra de 5 a 10 mg ó las gotas suficientes para cubrir el fondo de la charola sin que el líquido se desborde de la charola con ayuda de una pipeta pasteur o un gotero. Distribuir el líquido en el fondo de la charola. Cuando se analicen líquidos de ebullición súbita, pesar una menor cantidad ya que éste proceso podría provocar mucho movimiento en la charola y hacerla caer de su plataforma ó podría deformar la tapa de una charola hermética evitando una adecuada

medición de entalpía (Ver apartado 3.2 de Antecedentes). Utilizar charola hermética ó pinhole.

- **Semisólidos:** Se debe tener una distribución uniforme. Tomar una muestra de 5-10mg y proceder de la misma manera que líquidos.
- **Tabletas, Grajeas, Supositorios:** Se pesan 5 mg de muestra. La muestra ideal debe tener un contenido uniforme. Evitar moler ya que esto puede ocasionar cambios en la estructura cristalina de los componentes por lo cual se recomienda hacer cortes para obtener delgadas láminas de la muestra de un tamaño aproximado que permita que el fondo de la charola quede cubierta con una sola capa. Si se tiene un recubrimiento, realizar el análisis de la muestra sin él, a menos que se quiera ver su efecto sobre los demás componentes.
- **Cápsulas:** Pesar 5mg de muestra y proceder de la misma manera que en los puntos anteriores, dependiendo del contenido de la cápsula. Si se desea analizar el efecto de la cápsula, cortar láminas y mezclar con el contenido. Colocar la mezcla lo más uniforme posible sobre el fondo de la charola. Si desprende vapores ó sublima, utilizar charola hermética ó pinhole.

Tabla 19. Características ideales de muestras para DSC.

Descripción/ Charola	Muestra Analítica	Características Ideales	Obtención
Polvo	3-5mg	Tamaño de Partícula Uniforme	N/A
Líquidos	5-10mg	Uniformidad	Colocar la muestra con gotero ó pipeta pasteur.
Semisólidos	5-10mg	Uniformidad	Colocar la muestra con espátula ó pipeta pasteur.

Tabla 19. Continuación

Descripción/ Charola	Muestra Analítica	Características Ideales	Obtención
Tabletas Grajeas Supositorios	5mg	Láminas delgadas	No moler, cortar láminas con navaja
Cápsulas	5mg	Uniformidad	Realizar corridas del contenido de la cápsula, seguir las recomendaciones de polvos, tabletas y líquidos. Si se desea observar los efectos de la cápsula sobre la muestra, cortar con navaja láminas y mezclar con el contenido de la cápsula.

2.7.3 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA (Dominguez, 2010)

Contrario a TGA, DSC no cuenta con un sistema de medición de peso integrado, así que para la preparación de la muestra es necesario contar con una balanza analítica que detecte masas en el orden de miligramos.

Una medición inapropiada de la masa de la muestra no afectará los datos de temperatura arrojados por el instrumento, sin embargo, el correcto pesado de la muestra es sumamente importante para la medición de la entalpía ya que ésta depende de la masa de la muestra (Ver apartado 3 de Antecedentes).

Antes de introducir una muestra en DSC se deben considerar ciertos pasos en su preparación que se resumen en la Figura 24:

- **Charola Abierta:**

- Colocar la base de la charola en la balanza, registrar el peso y tarar (Peso Charola Vacía).
- Pesar cierta cantidad de muestra dependiendo de su naturaleza y el experimento a realizar. Distribuir la muestra en el fondo de la charola y presionar con una espátula para tener una mayor superficie de contacto. Registrar el peso de la muestra.
- Situar la charola en la plataforma de la celda ó en el muestreador automático de DSC.
- Programar corrida.

- **Charola Cerrada/ Hermética/ Pinhole:**

- Colocar la base de la charola en la balanza y tarar.
- Pesar cierta cantidad de muestra dependiendo de su naturaleza y el experimento a realizar. Distribuir la muestra en el fondo de la charola y presionar con una espátula para tener una mayor superficie de contacto. Anotar el peso en un registro (Peso Muestra).
- Sobreponer la tapa de la charola, que será elegida en función de la muestra y finalidad de la corrida.
- Cerrar charola con ayuda de la prensa. Llevar el brazo de ésta hasta el tope en un movimiento suave.

Si se trabaja con diferentes dados, colocar los dados correspondientes al cerrado simple ó hermético antes de prensar la charola.

- Pesar la charola prensada. Registrar en bitácora (Peso Total).
- Obtener el peso de la charola de muestra vacía de acuerdo a:

$$\textit{Peso Charola Vacía} = \textit{Peso Total} - \textit{Peso Muestra}$$

- Situar la charola en la plataforma de la celda ó en el muestreador automático de DSC.
- Programar corrida.

Se debe contar con una referencia. Al igual que para la calibración, ésta consta de una charola vacía abierta, cerrada, hermética ó pinhole, según sea la charola de la muestra.

Utilizar charolas diferentes para muestra y referencia no es recomendable, pues la transferencia de energía entre ellas no es igual; asimismo, la presión generada en los distintos tipos de charola varía. Según la charola, se generan distintas condiciones que pueden acelerar ó disminuir las transiciones de la muestra.

Se debe recordar que dentro de la celda de DSC se encuentran plataformas, discos ó cavidades destinadas a la muestra y referencia. Según el modelo será su ubicación. No se deben intercambiar las posiciones pues la diferencial de flujo de calor indicaría un valor negativo.

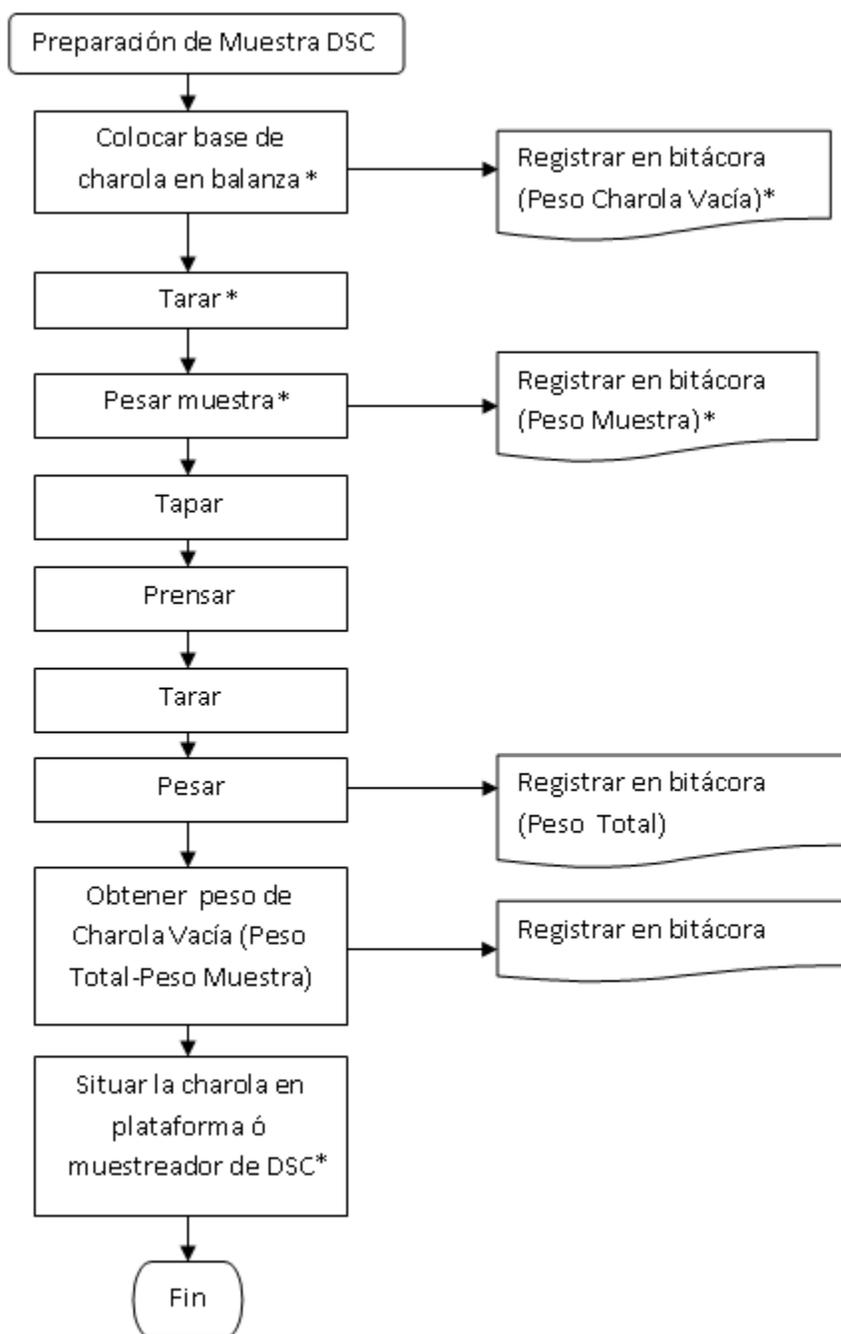


Figura 24. Preparación de la muestra en charola cerrada y hermética para DSC.

* Los elementos marcados son aplicables a charolas abiertas

2.7.4 PROGRAMACIÓN DE CORRIDA

Se programa la corrida de acuerdo a los objetivos fijados a través del software de control del instrumento.

El software maneja todas las funciones que realiza el DSC; algunos ejemplos son: apagado del instrumento, inicio y término de las corridas ó visualización del estado del instrumento antes, durante y después de la corrida.

La forma de programar las corridas varía dependiendo de la marca de los instrumentos y el software de programación con que se cuente, pero, en general, cualquier software debe contar con las secciones principales descritas a continuación:

- **Identificación de la muestra:** En esta sección se coloca nombre de la muestra, lote, fecha, tipo de charola utilizada, peso muestra, peso charola vacía y peso de la referencia, ubicación de la muestra y referencia en muestreador automático (si aplica) y cualquier otro tipo de información referente a la muestra que se considere relevante. Si se trabajan muchas muestras, es necesario contar con una codificación que permita identificarlas rápidamente; de igual manera, si se realizan varias corridas con el mismo material, se debe colocar el nombre y las condiciones de corrida para facilitar su localización.
- **Programación de la corrida:** En ésta sección se establecen el modo de DSC y las condiciones de corrida de un material y se seleccionan pasos para dirigirla, llamados segmentos. El más utilizado de ellos es la rampa, que indica la velocidad de calentamiento y la temperatura final de la corrida. En el Anexo 2 se enlistan los segmentos de corrida más utilizados.
- **Almacenamiento de Resultados:** Se indica en donde se guardara toda la información que se obtenga de la corrida para su posterior análisis. Es recomendable almacenar los resultados en carpetas destinadas al instrumento en específico y ordenar por fechas o proyecto.

- **Observaciones o Notas:** En estas secciones se puede colocar mayor cantidad de información acerca de la muestra, la finalidad de la corrida o los eventos esperados. Debido a que muchas veces los campos de identificación están limitados este espacio permite incluir toda la información que se considera importante pero no se pudo introducir en otros campos.

Lo más común en la programación de corridas es tener una rampa desde 50°C antes de la primer transición y hasta el término de las transiciones de la muestra, sin embargo, las condiciones de corrida dependen de las características de la muestra, la finalidad del experimento a realizar y otros factores que se discutirán posteriormente.

Se recomienda hacer las corridas por triplicado como mínimo, para obtener valores estadísticos básicos como media, desviación estándar y coeficiente de variación.

2.7.5 ASPECTOS A CONSIDERAR EN LA PROGRAMACIÓN DE CORRIDAS (Saniger, 2010)(Brown M. , 1998)(Brown M. E., 2004)(Craig & Reading, 2007)

Para cada corrida llevada a cabo en DSC se debe tener en cuenta la influencia de factores experimentales, ya que los resultados pueden variar. Si se desean corridas reproducibles, es importante tomar en cuenta ciertos factores que a continuación se describen.

2.7.5.1 VELOCIDAD DE CALENTAMIENTO

El cambio en la velocidad de calentamiento altera el resultado dado por DSC.

Una mayor velocidad de calentamiento da lugar a un incremento de la temperatura de inicio de transición debido a inercia térmica. Tasas de calentamiento altas generan gradientes de temperatura en la muestra impidiendo que la transición se dé en un solo paso y provocando que el rango de temperatura de la descomposición sea muy amplio, mientras que tasas de calentamiento bajas

proporcionan al material un calentamiento uniforme que permite la descomposición en un rango de temperatura más corto. El efecto del cambio en las tasas de calentamiento se muestra en la Figura 25.

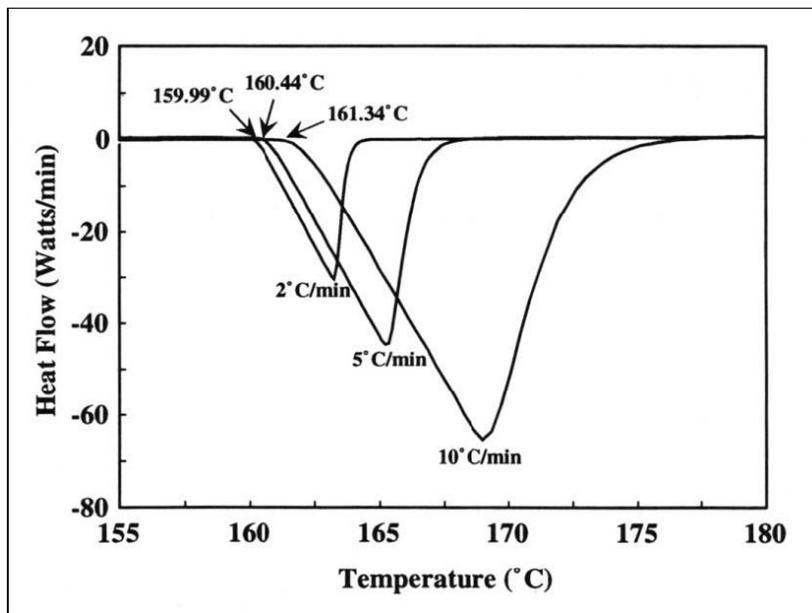


Figura 25. Efecto de la velocidad de calentamiento en la temperatura de fusión del Indio.

(Saniger, 2010)

La velocidad de calentamiento a usar depende de la finalidad de la corrida. Se utilizan tasas de calentamiento altas cuando el resultado que se pretende obtener no deba ser exacto, cuando ya se ha observado el comportamiento de la muestra en una región del termograma ó cuando se realizan perfiles térmicos de una sustancia que no ha sido analizada previamente.

Por su parte, se emplean velocidades de calentamiento bajas si se necesita un resultado exacto ya que proporciona una mayor resolución al termograma, lo que ayuda a evidenciar la presencia de un material en muy pequeña cantidad o con temperatura de descomposición cercana a la de otro evento térmico. Es preferible conocer el perfil térmico de la muestra antes de utilizar una velocidad baja.

Tabla 20. Ventajas y Desventajas de Tasas de Calentamiento.

Velocidad de Calentamiento	Ventajas	Desventajas
Alta >10°C/min	Menor tiempo de experimentación Menor gasto de energía y gas de purga	Menor Resolución Los resultados no son exactos
Baja <5°C/min	Mayor Resolución Hombros de Evaporación/ Descomposición más definidos Resultados exactos	Tiempos de experimentación largos Mayor gasto de energía y gas de purga

Las velocidades de calentamiento recomendadas para correr una muestra por primera vez, según ASTM son: 1°C/min 10°C/min y 20°C/min mientras que las más utilizadas son 1, 2, 5 y 10°C/min.

2.7.5.2 TAMAÑO DE MUESTRA

El tamaño de la muestra influye en la respuesta que se obtiene del instrumento. Una mayor cantidad de masa brinda un termograma con mayor sensibilidad, sin embargo, propiciará la formación de gradientes de temperatura dentro de la muestra, representados como una disminución en la pendiente del pico de la transición y un aumento en la temperatura máxima que disminuyen la resolución en el termograma; mientras que en tamaños de muestra pequeños la sensibilidad del termograma disminuirá, se evitará la formación del gradiente térmico y se obtendrá una buena resolución.

Para cualquier tamaño de muestra, la temperatura de inicio de la transición se mantendrá constante (Ver Figura 26), por lo que al trabajar con diferentes masas un solo material, se deberá reportar éste valor.

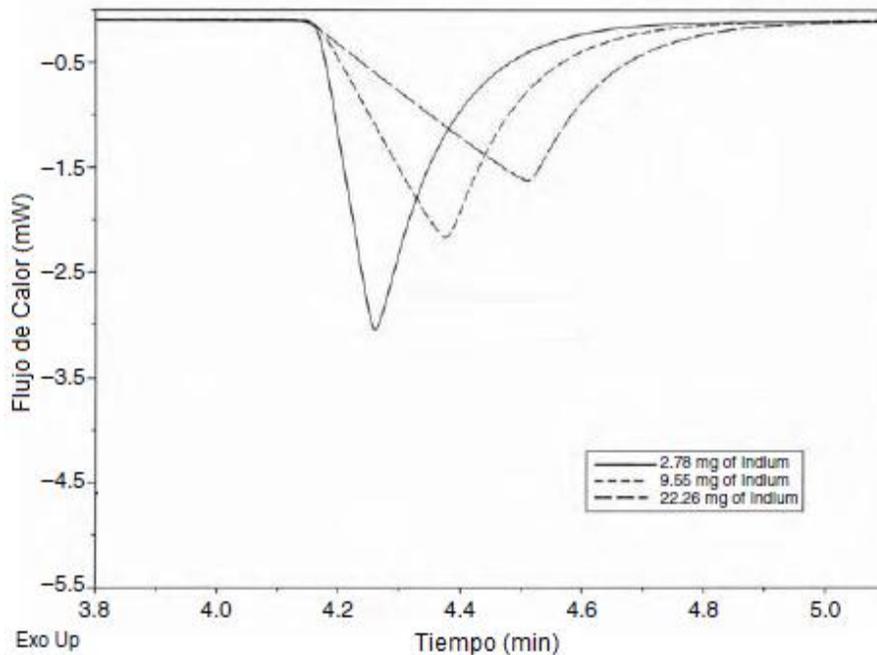


Figura 26. Efecto del tamaño de muestra a 10°C/min en la temperatura de fusión del Indio.

(Saniger, 2010)

2.7.5.3 RESOLUCIÓN Y SENSIBILIDAD

Dependiendo de la finalidad del experimento en DSC, resolución y sensibilidad serán parámetros de gran interés que ayudarán en la definición e interpretación de los resultados obtenidos.

Como fue mencionado en los apartados anteriores, resolución y sensibilidad se obtienen modificando condiciones de masa de la muestra y velocidad de calentamiento, como se muestra en la Tabla 21

Tabla 21. Resolución y Sensibilidad.

Parámetro	Condiciones	Beneficios
Sensibilidad	Velocidades de calentamiento altas Tamaños de muestra grandes	Detección de transiciones proveniente de pequeñas cantidades de material
Resolución	Velocidades de calentamiento bajas Tamaños de muestra pequeños	Mejor separación de transiciones

2.7.5.4 ATMÓSFERA DE TRABAJO (GAS)

El gas utilizado también afecta el resultado que se obtiene en DSC. El paso de una atmósfera inerte a una oxidante ó reductora puede ocasionar un cambio en los resultados obtenidos que puede verse como un cambio en la línea base ó en las transiciones que sufre la muestra en un mismo intervalo de estudio.

Si se desea sustituir el gas de purga en un experimento, es importante conocer si el material analizado sufrirá alteraciones por efecto de la atmósfera, de no ser así, el cambio de gas no implica una diferencia significativa en los resultados arrojados por el instrumento.

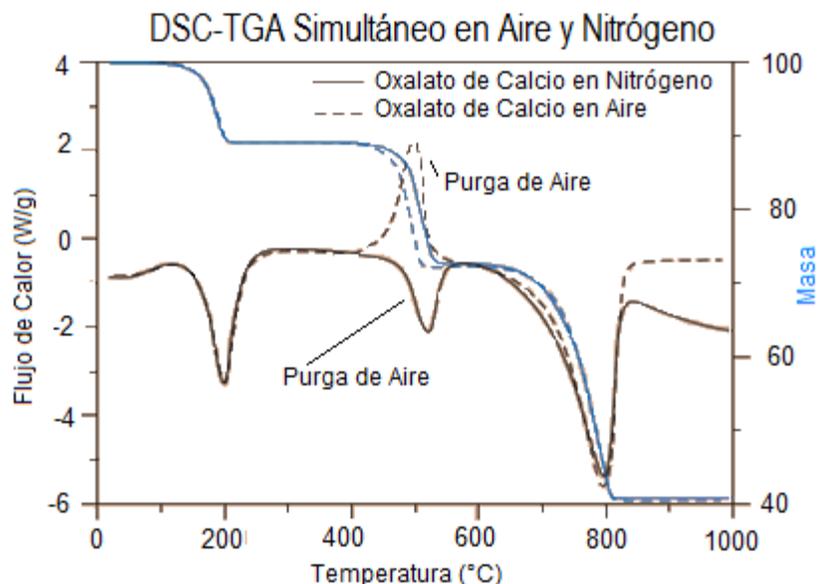


Figura 27. Transformaciones térmicas del Oxalato de Calcio monohidratado en atmósfera inerte (Ar) y oxidante (aire).

(TA Instruments, 2006)

El ejemplo más conocido de cambio de atmósfera en DSC es el indicado por la Figura 27, en el se observa que al correr oxalato de calcio monohidratado en una atmósfera inerte (Nitrógeno) se presentan tres procesos endotérmicos debido a la pérdida de agua, CO y CO₂; mientras que en la atmósfera oxidante (Aire) se observan dos procesos endotérmicos y uno exotérmico causado por la reacción de CO y oxígeno que forman CO₂.

2.7.5.5 TIPO DE CHAROLA

Como se muestra en el apartado 2.7.1 el tipo de charola utilizada en DSC depende de la muestra y del objetivo del experimento.

De acuerdo a la Figura 28, un cambio de charola pinhole por una charola abierta en el estudio de la evaporación del agua será un factor importante en los resultados obtenidos. La charola pinhole protege a la muestra de las corrientes del gas de purga y gradientes térmicos evitando que las moléculas de agua sean retiradas y no se observa una transición previa a la temperatura de evaporación del agua; por otra parte, en la charola abierta, la muestra está expuesta a corrientes de gas de purga y a gradientes térmicos que favorecen una evaporación temprana.

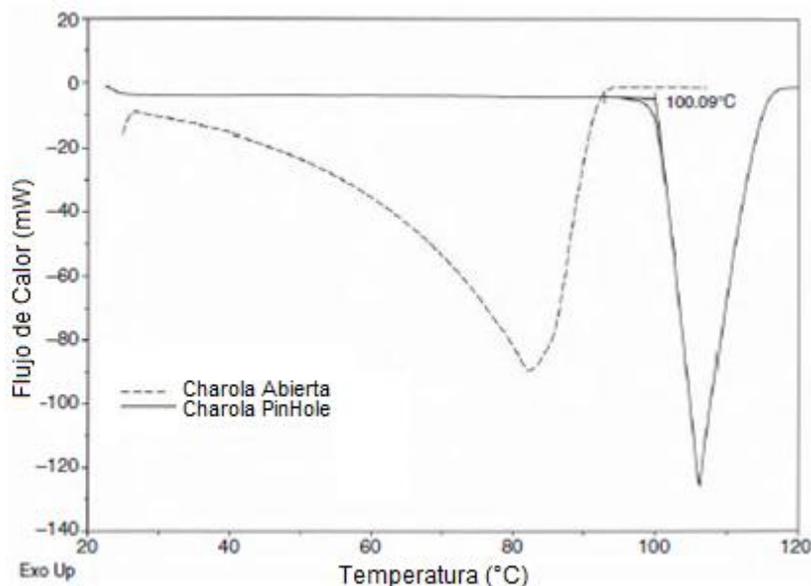


Figura 28. Evaporación del agua a 10°C/min en dos charolas diferentes.

(Brown, 1998)

2.8 TÉRMINO DE CORRIDA Y ANÁLISIS

Al terminar una corrida en DSC se debe esperar a que el horno se enfríe para comenzar una nueva; el sistema de enfriamiento lleva al instrumento a su

temperatura de reposo en pocos minutos. Si se cuenta con un muestreador automático, éste cargará la siguiente muestra al enfriarse.

Al término de la corrida se obtiene un termograma de flujo de calor en función de temperatura ó tiempo que se analiza por medio de un software que el proveedor proporciona para su instalación en la computadora acoplada al instrumento.

El software de análisis permite realizar de manera rápida y fácil el estudio de: análisis de pureza, integración de picos endotérmicos y obtención de datos de picos exotérmicos, cálculo de transiciones vítreas, entre otras.

Estos análisis se realizan automáticamente después de indicar límites en el termograma con ayuda de marcadores o introduciendo valores numéricos.

Las curvas calorimétricas, junto con las obtenidas en TGA sirven para interpretar transiciones que llevan al desarrollo de aplicaciones.

2.9 INTERPRETACIÓN DE TERMOGRAMAS (Mettler Toledo, Mettler Toledo UserCom, 2000)(Saniger, 2010)(Rawlinson, 2006)

Los análisis dados por el software ayudan al cálculo de valores puntuales a partir de un termograma, sin embargo, es fundamental conocer las formas más comunes de termogramas TGA para saber cuál análisis llevar a cabo y tener una buena interpretación a los resultados.

Las curvas calorimétricas pueden tomar diferentes formas, dependiendo de la naturaleza de la muestra y las transiciones sufridas, ejemplos de éstos comportamientos se describen a continuación:

Tabla 22. Termogramas de DSC más comunes (Mettler Toledo, 2000).

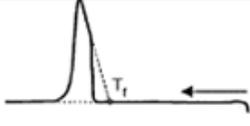
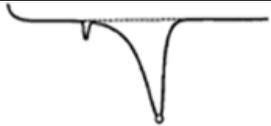
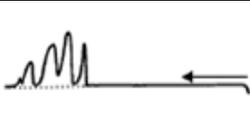
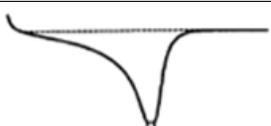
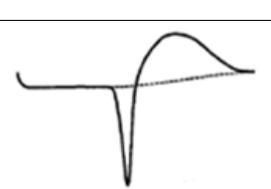
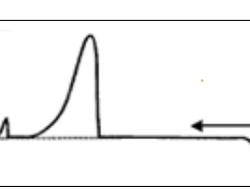
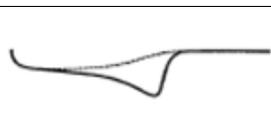
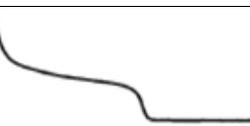
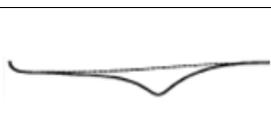
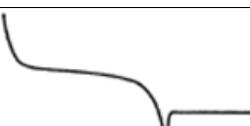
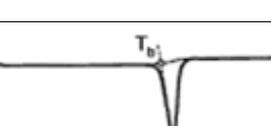
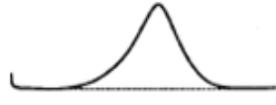
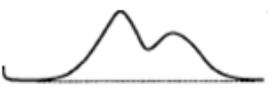
Termograma	Descripción	Termograma	Descripción
	Sustancia pura		Cristalización de sustancia pura
	Sustancia con impureza		Cristalización múltiple
	Sustancia parcialmente cristalina		Sustancia fundida que solidifica a una forma amorfa
	Fusión con descomposición		Cristalización de sustancia con impureza
			Cristalización por arriba de Tg.
	Transición con pérdida de peso		Transición vítrea (Tg)
	Desorción, sublimación		Tg con relajación entálpica
	Deshidratación		Tg inversa
	Ebullición en pinhole		Transición Curie

Tabla 22. Continuación

Termograma	Descripción	Termograma	Descripción
	Reacción Exotérmica		Reacción química con reacción secundaria
	Inicio de Descomposición		Oxidación parcial

A su vez, es importante tener en cuenta que se pueden observar cambios en la línea base, llamados artefactos, que no siempre son debidos a la muestra y se deben identificar para no hacer una mala interpretación de los termogramas obtenidos:

Tabla 23. Cambios más comunes en la línea base.

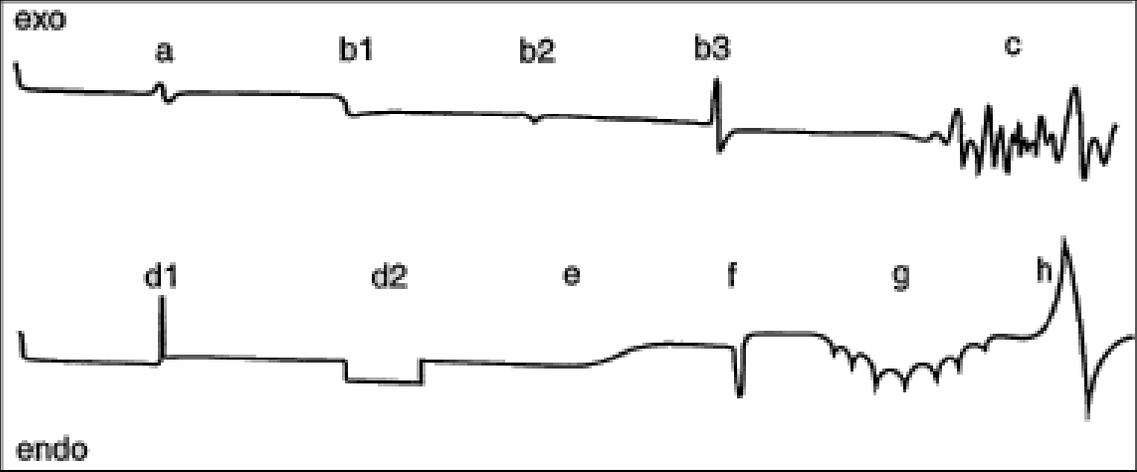
	
A	<p>Cambio abrupto en la transferencia de calor entre la muestra y la charola. Movimiento de la muestra dentro de la charola por:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ebullición • Reblandecimiento de polímeros • Transición de muestras de forma irregular

Tabla 23. *Continuación*

b1	Cambio abrupto en la transferencia de calor entre la charola y el sensor de temperatura. Distorsión de la charola de muestra debido al aumento de presión interna (aplicable a charolas herméticas).
b2	Movimiento de charola en la celda ó cambios en charola debido a diferentes coeficientes de expansión (no aplicable a charolas de platino).
b3	Impacto mecánico que provoca movimiento ó caída de charolas de plataformas.
c	Entrada de aire frío a la celda debido al mal ajuste de la tapa de la celda; fluctuaciones en la temperatura.
d1 d2	Efectos eléctricos por descarga eléctrica de estática en una parte metálica del sistema, o disturbios en el suministro de energía. Emisiones de radio, teléfonos celulares y otras fuentes de interferencia de alta frecuencia.
e	Cambios en la atmósfera de trabajo ó cambio súbito en la temperatura de la habitación.
f	La tapa de la charola explota como resultado del incremento de la presión interna. Esto produce un pico endotérmico con una altura de entre 0.1 a 100mW.
g	Obstrucción del agujero en charola por evaporación, sublimación ó formación de espuma (para charolas pinhole).
h	Contaminación del sensor de temperatura causada por residuos de experimentos previos.

Los artefactos dependen de la naturaleza de la muestra y los posibles residuos; una adecuada limpieza sumada a un profundo conocimiento de las características físicas y químicas reportadas para la muestra son fundamentales para evitarlos.

2.10 ERRORES MÁS COMUNES

- **No encender el enfriador durante la corrida:** El sistema de enfriamiento para DSC normalmente consta de un anillo de enfriamiento que está en contacto con la celda, si éste se sobrecalienta puede dañarse, es por esto que el enfriador debe estar encendido en todo momento a pesar de realizar corridas de calentamiento.
- **No programar una fusión previa del Indio al calibrar ó verificar la calibración:** Al utilizar por primera vez el Indio para una calibración se debe realizar una fusión previa para que éste tenga un mejor contacto con la superficie del fondo de la charola, de no llevarse a cabo, es probable que el resultado de calibración o verificación de la calibración no se encuentre dentro del rango aceptable.
- **Tapa mal colocada:** Revisar que la tapa de la charola este bien colocada antes de prensar, de lo contrario tapa y charola podrían deformarse, dejando de ser aptas para el uso destinado. En el caso de charolas herméticas, puede quedar un espacio que permita fugas de solvente ó vapores no deseadas; en charolas cerradas un mal prensado evita el buen contacto de la muestra con el fondo de la charola.
- **Muestreador automático no carga/descarga charola:** (Si aplica). Es necesario supervisar que el muestreador automático cargue ó descargue adecuadamente las charolas, de lo contrario, se puede detener una secuencia de corridas programadas. Cerciorarse que el muestreador esté calibrado y en buenas condiciones.
- **Pico incompleto:** TGA y DSC presentan una diferencia de temperaturas dada por la ubicación de termopares. Al fijar una temperatura de término de corrida en DSC basada en los resultados de TGA, es importante supervisar la corrida para evitar que ésta termine antes que ocurran las transiciones de Interés. Se debe tener especial cuidado en las muestras que sufren un

proceso de fusión con descomposición ya que ésta última, de presentarse, puede dañar la celda del instrumento.

- **Descomposición de la muestra dentro del horno/celda u horno sucio:** Se debe contar con datos de temperatura de descomposición de una muestra ó un perfil térmico en TGA antes de correr una muestra en DSC. La celda del instrumento se puede dañar si la muestra descompone dentro de ella ya que puede liberar vapores ó partículas que se adhieren a sus paredes y al termopar. Esto altera los resultados dados por el instrumento y arroja respuestas con ruido.
- **La charola se mueve dentro del horno durante la corrida:** Hay diferentes factores que pueden provocar que una charola se mueva o vuelque dentro del horno durante una corrida: Una mala colocación de la charola en las plataformas, crepitación, ebullición ó evaporación de la muestra ó un impacto mecánico al instrumento provocaran inestabilidad en la charola moviéndola ó haciéndola caer.
- **Pérdida de la comunicación entre el instrumento y la computadora:** La conexión entre el instrumento y la computadora se puede perder en algunas ocasiones, en éste caso hay que verificar que los cables que establecen la red estén bien conectados, si esto no funciona es necesario revisar la computadora o el instrumento.

La pérdida de la conexión se puede provocar también por un cambio en la dirección asignada al instrumento que establece la comunicación entre éste y la computadora, se debe tener cuidado en no alterarla.

3. FUNCIONES PRINCIPALES DEL SOFTWARE DE ANÁLISIS DE TERMOGRAMAS DE TGA y DSC

Antes de iniciar el estudio de las aplicaciones de DSC y TGA, es necesario conocer algunas funciones principales del software de análisis importantes para la obtención de resultados y su buena interpretación. Los ejemplos proporcionados pertenecen al software TA Universal Analysis de TA Instruments, sin embargo, la información proporcionada es aplicable a diversas marcas.

3.1 OBTENCIÓN DE GRÁFICOS DE APOYO

En el software de cada instrumento se pueden obtener primeras y segundas derivadas de los gráficos dados por DSC y TGA. El uso de derivadas ayuda a la interpretación de los datos y a la correcta ubicación de marcadores para los cálculos predeterminados. De acuerdo al modelo de DSC y TGA, se presentarán las opciones del software para obtener dichos gráficos. Ejemplos de obtención de derivadas se pueden encontrar en las siguientes figuras:

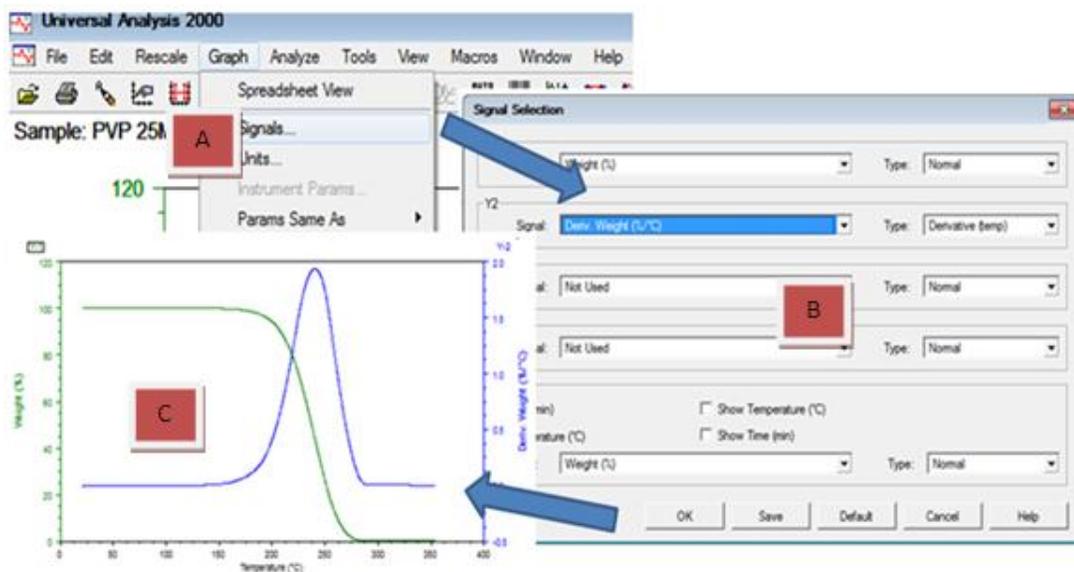


Figura 29. Obtención de primera derivada en curva termogravimétrica para el software TA Universal Analysis de TA Instruments.

A. Despliegue de menú para selección de señales, B. Ventana de selección de señales C. Curva termogravimétrica con su primera derivada.

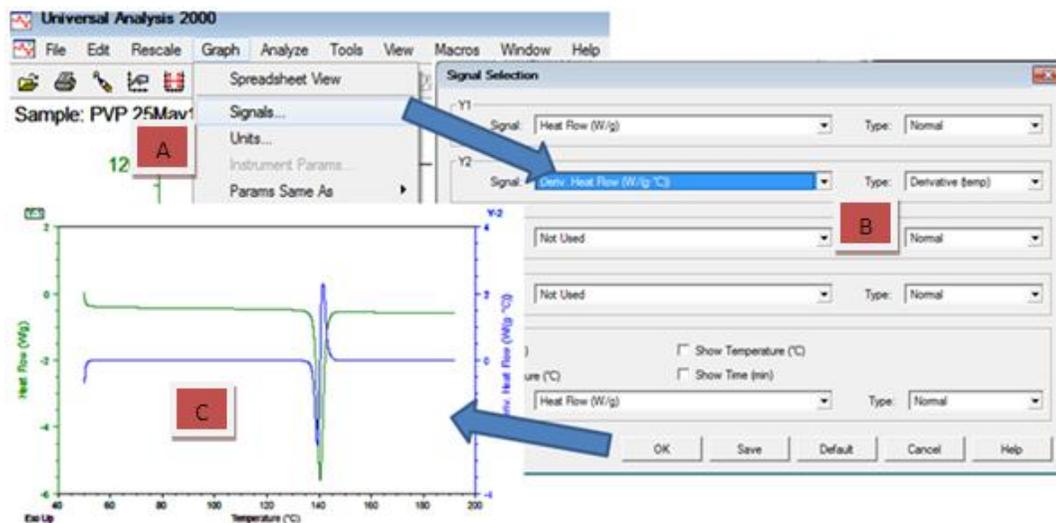


Figura 30. Obtención de primera derivada en curva calorimétrica para el software TA Universal Analysis de TA Instruments.

A. Despliegue de menú para selección de señales, B. Ventana de selección de señales C. Curva calorimétrica con su primera derivada.

Adicionalmente, en MDSC se encuentran gráficos de apoyo relevantes para la ubicación de los marcadores como los de flujo de calor ó capacidad calorífica reversible e irreversible, mientras que en MTGA se encuentran gráficos que proporcionan información cinética de la muestra como energía de activación y factor preexponencial. Estas opciones se encuentran en el menú desplegable de gráficos de apoyo.

3.2 UBICACIÓN DE MARCADORES

Dependiendo de la función utilizada, se muestran marcadores en la curva termogravimétrica ó en el termogramas de DSC que ayudan a delimitar el área de análisis; éstos se ubican sobre el termograma inicial tomando como guía las regiones estables del gráfico derivado.

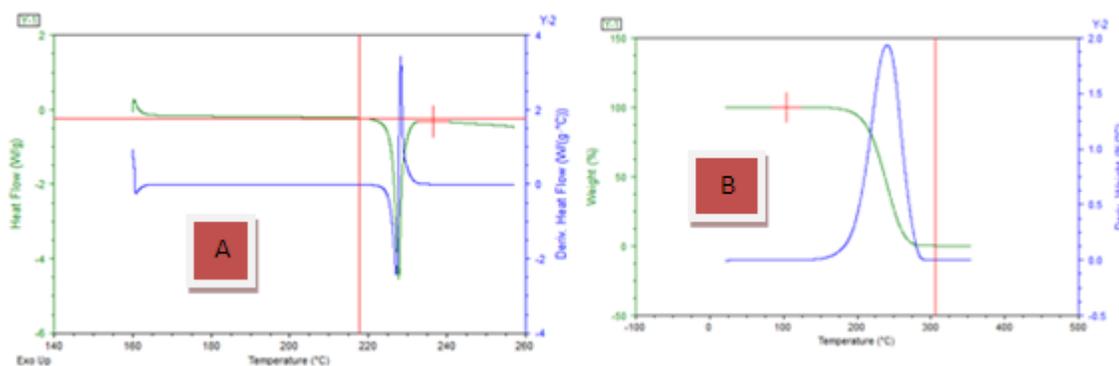


Figura 31. Ubicación de marcadores.

A. Ubicación de marcadores en un termograma de DSC, B. ubicación de marcadores en un termograma de TGA.

3.3 TEMPERATURAS DE DESCOMPOSICIÓN Ó CONVERSIÓN

Las temperaturas de descomposición se obtienen a partir del termograma de perfil térmico arrojado por TGA utilizando el software del instrumento. En él, existe la posibilidad de calcular temperaturas a ciertos porcentajes de conversión.

Las temperaturas de descomposición se calculan a partir del inicio del termograma, es decir, a partir del 100% de peso de la muestra (ver Figura 32). Se ubican marcadores y se asigna el porcentaje remanente requerido.

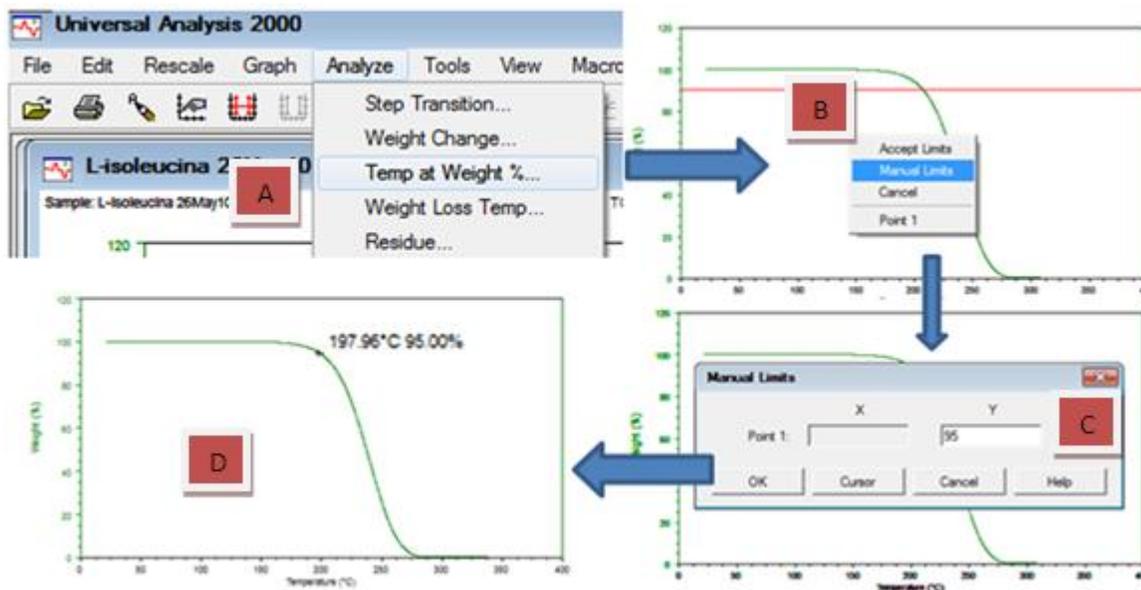


Figura 32. Perfil térmico de descomposición de L-isoleucina. Obtención de la temperatura correspondiente a 5% de pérdida de peso. Porcentaje remanente: 95%.

A. despliegue de menú para determinar la temperatura a un cierto porcentaje de peso, B. Ubicación de marcador y aceptar límite marcado para desplegar el resultado, C. Opción de insertar el valor exacto de porcentaje de peso del cual se desea conocer la temperatura y D. Curva termogravimétrica que muestra la temperatura a la cual se ha perdido un 5% de masa.

Para las sustancias que sufren pérdida de agua ó solventes, es necesario ajustar el valor dado por el software restando el porcentaje de humedad al total y a partir del valor obtenido, calcular el porcentaje remanente deseado.

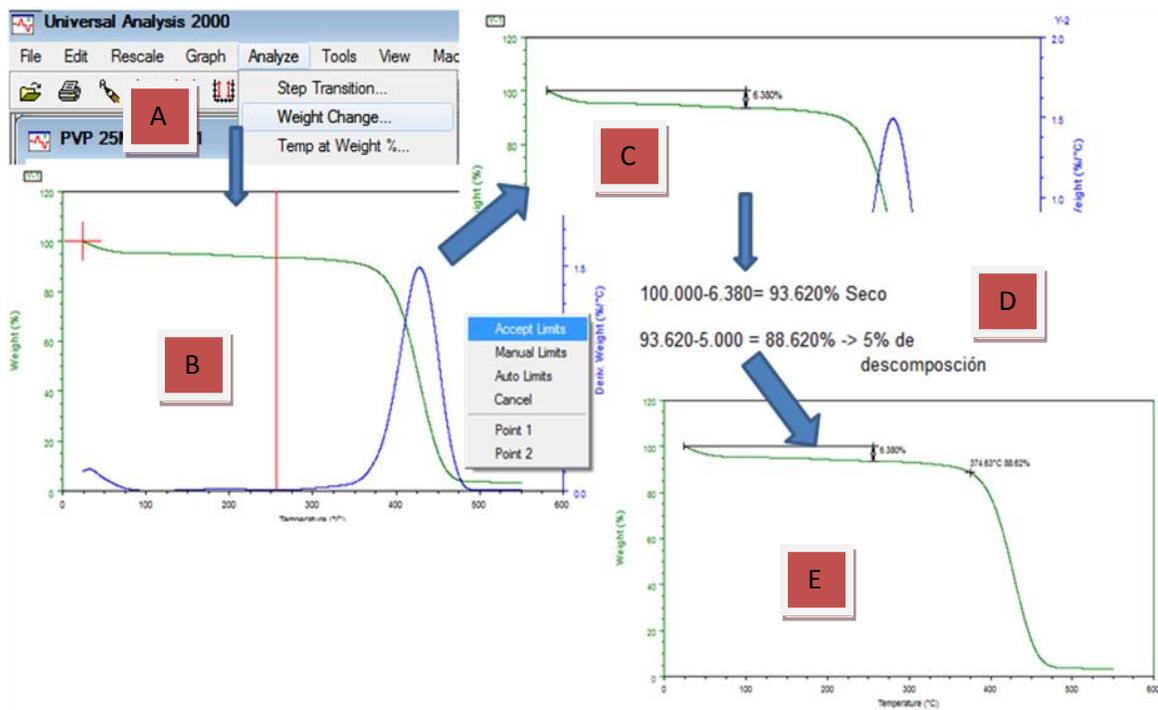


Figura 33. Obtención del % remanente para el 5% de descomposición de un material con humedad.

- A. Despliegue de menú para opción de análisis de cambio de peso, B. ubicación de marcadores en el hombro de pérdida de agua y aceptar límites, C. Obtención del porcentaje de peso correspondiente al agua, D. Operaciones para obtener el porcentaje de peso correspondiente al material libre de humedad al cual se le resta un 5% para conocer la temperatura a la cual la muestra se ha descompuesto en un 5% y E. Curva termogravimétrica que muestra la pérdida de peso debida a la humedad y el 5% de descomposición.

3.4 INTEGRACIÓN DE PICOS

La integración de picos es importante para obtener temperaturas de fusión y evaporación y se aplica únicamente a picos que poseen una línea base estable antes y después de la transición, de lo contrario, el resultado arrojado no será exacto.

La integración consiste en la delimitación del área a integrar y el cálculo del área bajo la curva del pico. Se obtiene un resultado de temperatura máxima de pico y una temperatura de inicio de fusión llamada Onset, obtenida por el trazo de una tangente en la transición observada.

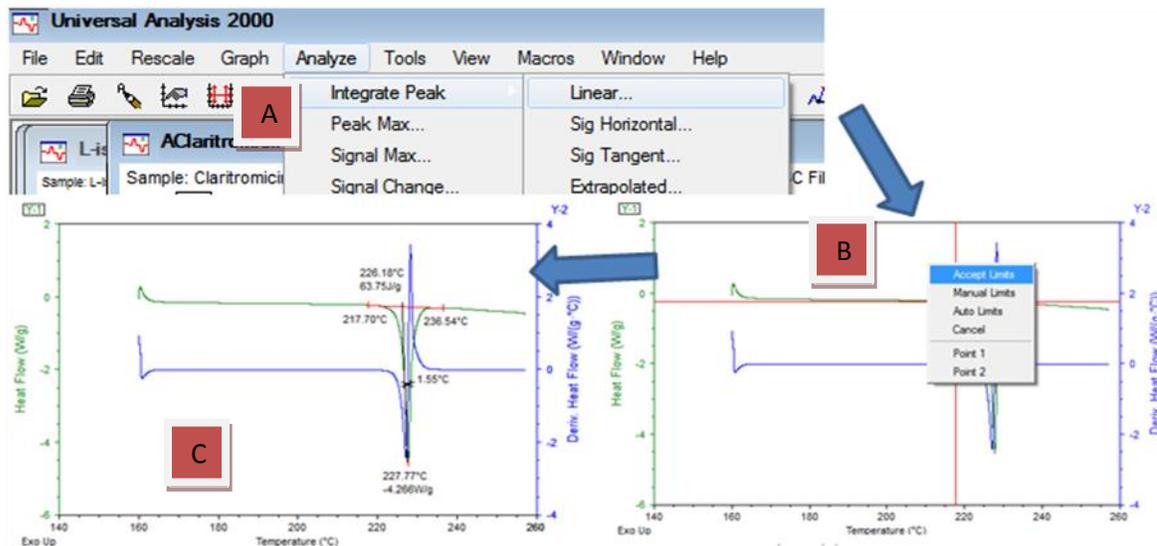


Figura 34. Integración de pico.

- A. Despliegue de menú para análisis de integración de pico, B. Ubicación de marcadores y aceptar límites y
C. Resultados obtenidos de la integración del pico.

Algunos programas de análisis ofrecen distintos tipos de integración de picos dependiente de la forma ó de la recuperación de la línea base. Se debe asegurar que cualquier modo utilizado se ajuste a la forma del termograma y que el cálculo de área bajo la curva del pico sea total.

La integración de picos se aplica sólo a transiciones endotérmicas, esto debido a que en el caso de las transiciones exotérmicas, (la más importante de ellas la cristalización) normalmente no se requiere conocer datos como ancho de pico, alto de pico o entalpia, en estos casos lo más importante es conocer su temperatura máxima, la cual se obtiene como se indica a continuación.

3.5 OBTENCIÓN DE TEMPERATURA MÁXIMA

La temperatura máxima aplica a transiciones exotérmicas y proporciona el valor más alto del pico obtenido.

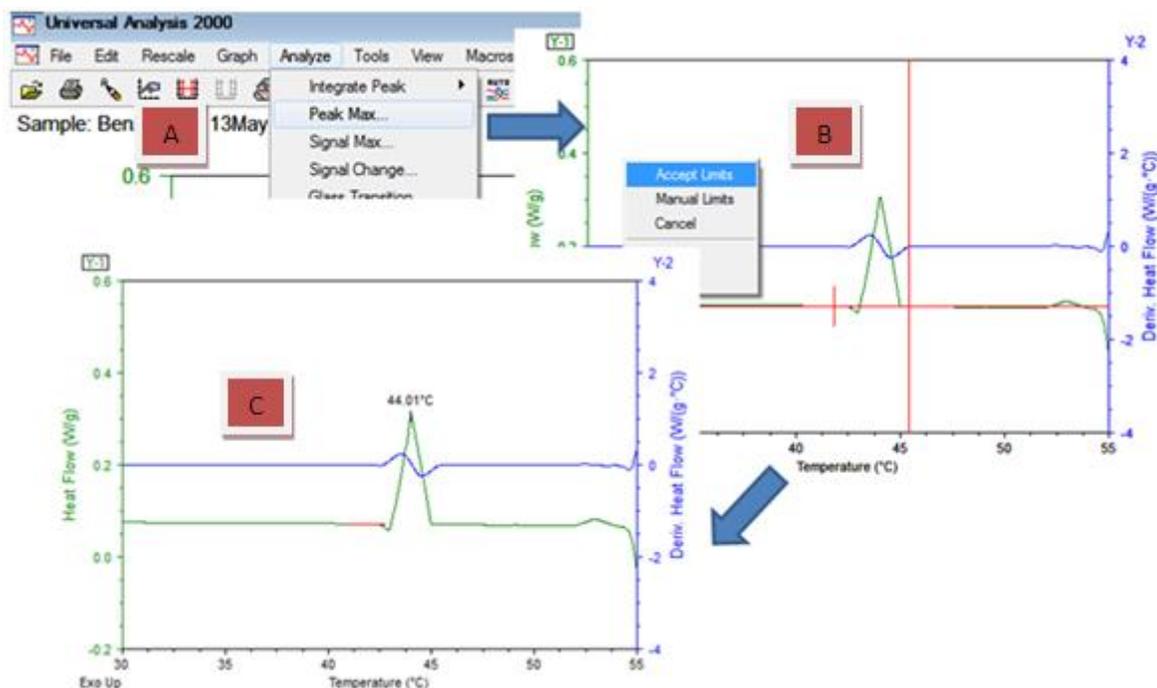


Figura 35. Temperatura máxima.

- A. Despliegue de menú para análisis de temperatura máxima, B. ubicación de marcadores y aceptar limites y
C. Termograma que muestra la temperatura máxima.

3.6 OBTENCIÓN DE VALORES DE TRANSICIÓN VÍTREA

El software cuenta con uno ó varios algoritmos para calcular un rango de transición vítrea. Para ubicar los marcadores es necesario contar con una corrida en MDSC, ya que así se podrán desplegar los gráficos de flujo de calor ó capacidad calorífica reversible e irreversible que se utilizarán de guía.

Si se cuenta con dos ó más métodos matemáticos para el cálculo de transición vítrea se debe utilizar únicamente uno de ellos para reportar los resultados de datos en serie.

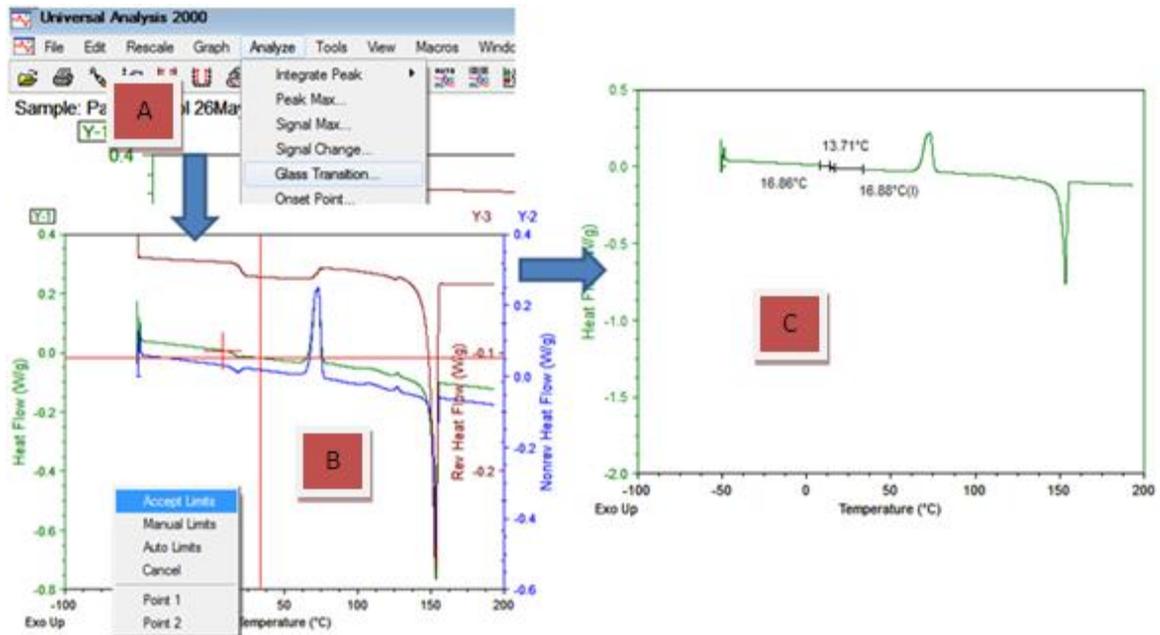


Figura 36. Transición vítrea.

- A. Despliegue de menú para análisis de transiciones vítreas, B. Ubicación de marcadores y aceptar límites y
 C. Resultado obtenido del análisis de la transición vítrea, en el que se muestran las temperaturas correspondientes al limite superior, inferior y el punto medio.

3.7 SOBREPOSICIÓN DE TERMOGRAMAS

Se debe contar con una función que haga un traslape de los termogramas DSC ó TGA en el software para comparar los resultados dados por dos ó más corridas.

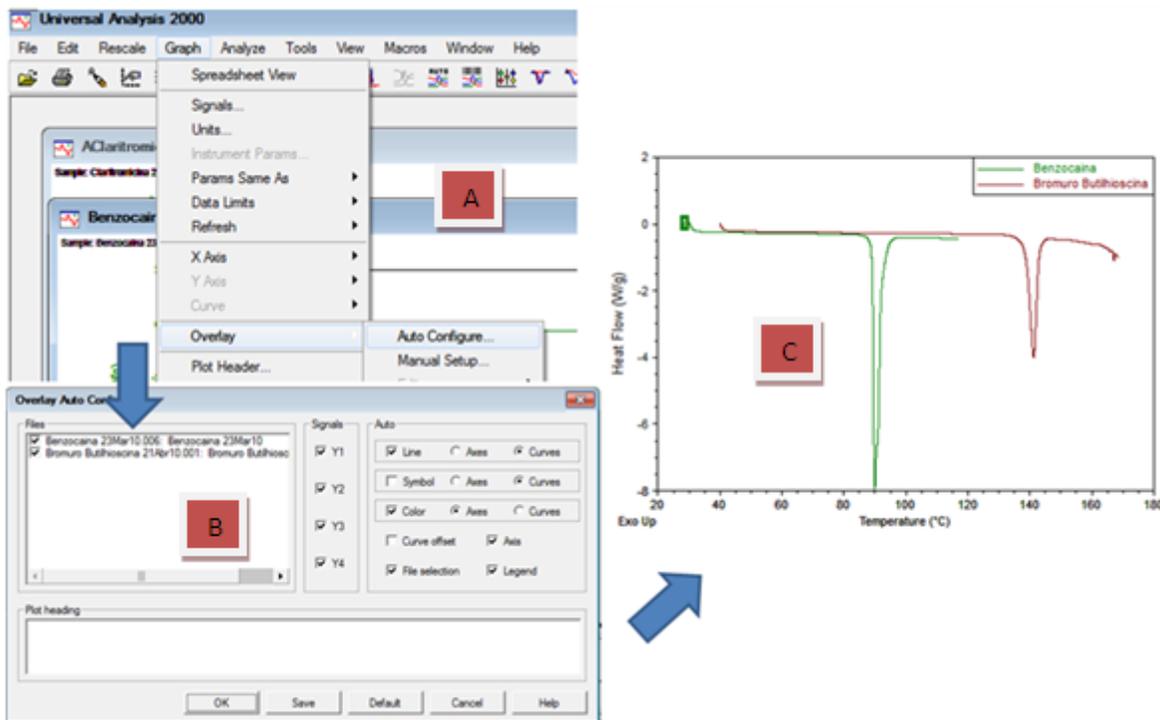


Figura 37. Sobreposición de termogramas.

A. Despliegue de menú para sobreponer termogramas, B. Selección de termogramas a sobreponer y C. Termogramas sobrepuestos.

3.8 TABLA DE DATOS

El software de análisis debe proporcionar los datos que se obtuvieron durante la corrida y con los cuales se grafican los termogramas. La información se presenta como una tabla de datos en hoja de cálculo, mostrando principalmente los valores de los ejes X y Y del gráfico de interés dentro de un intervalo e incremento fijados de acuerdo al objetivo del experimento.

Si se tienen dos ó más gráficos de apoyo desplegados en la misma ventana que el termograma inicial, los datos correspondientes a éstos también aparecerán en la hoja de cálculo.

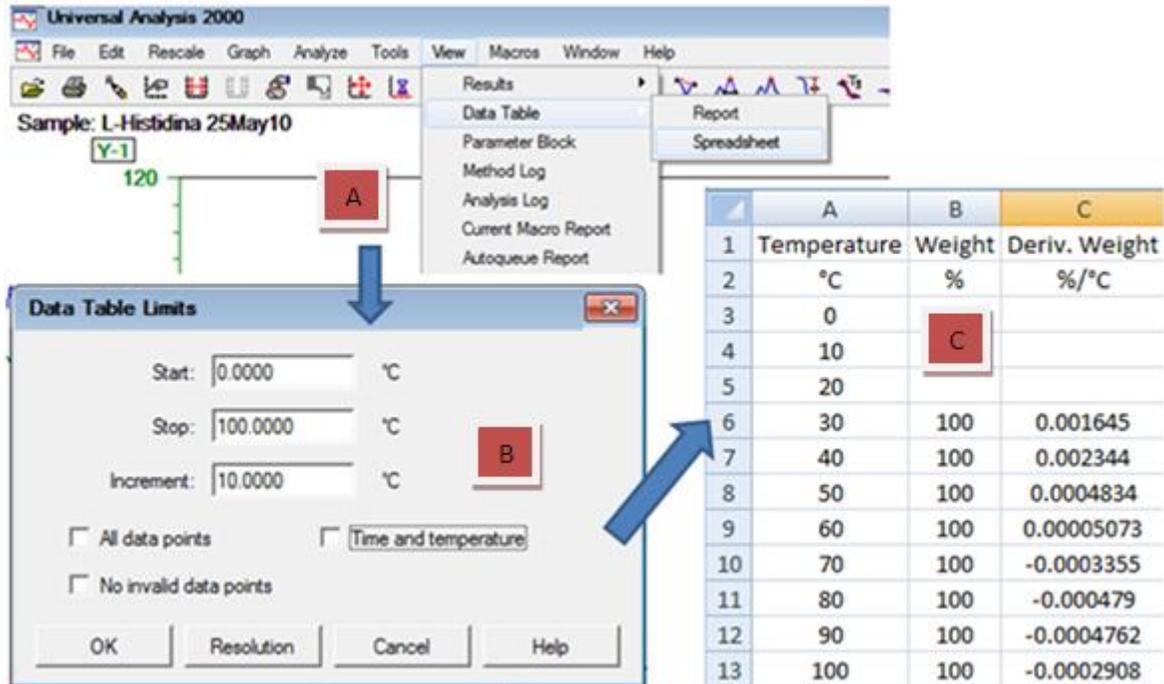


Figura 38. Tabla de datos.

A. Menú para obtener la tabla de datos, B. Selección de límites e incremento de los valores a mostrar en la tabla y C. Tabla de datos desplegada en la hoja de cálculo.

4. APLICACIONES DSC Y TGA

Las aplicaciones presentadas están basadas en la experimentación con materiales farmacéuticos y se proporcionan las condiciones de experimentación que mejor se ajustan a la mayoría de ellos; éstas, se pueden modificar dependiendo del comportamiento de la muestra en estudio y los objetivos buscados al realizar cualquiera de ellas.

Las aplicaciones DSC y TGA cuentan con pasos en común mostrados en la Figura 39 y descritos en las secciones siguientes:



Figura 39. Resumen de pasos en el desarrollo de aplicaciones.

*Aplicable a DSC.

4.1 INFORMACIÓN PREVIA

Contar con la información previa de cada sustancia indicada en los apartados 1.7 y 2.7 de las guías de uso de TGA y DSC, respectivamente y, de acuerdo a la prueba a realizar, obtener los datos adicionales mostrados en la siguiente tabla:

Tabla 24. Información previa.

Prueba	Información Adicional
Análisis de Pureza	<ul style="list-style-type: none"> • Descomposición inmediatamente después de la fusión.
Identificación de Polimorfos	<ul style="list-style-type: none"> • Número de polimorfos reportados. • Hidratos, solvatos. • Amorficidad.
Detección de Interacciones	<ul style="list-style-type: none"> • Temperaturas de cristalización en el caso de muestras líquidas. • Interacciones entre componentes reportadas. • Solubilidad entre componentes.
Estudios de Estabilidad	<ul style="list-style-type: none"> • Tipo de degradación. • Datos de estabilidad a largo plazo (si aplica).

4.2 PERFIL TERMOGRAVIMÉTRICO

Realizar un perfil de descomposición total a cada uno de los materiales a estudiar, identificar los hombros de descomposición en el termograma resultante y la presencia de humedad y obtener la temperatura correspondiente a los porcentajes de conversión según la prueba a realizar.

Tabla 25. Porcentajes de descomposición requeridos para desarrollo de aplicaciones.

Prueba	% de Conversión requerido	Prueba	% de Conversión requerido
Análisis de Pureza	5	Detección de Interacciones	5
Identificación de Polimorfos	2	Estudios de Estabilidad	N/A

Ésta corrida se puede realizar en modos TGA convencional, MTGA y TGA de alta resolución - dinámico, las tasas recomendadas, ventajas y desventajas de cada uno de los modos se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 26. Ventajas y desventajas de TGA y MTGA.

Modo	Velocidad de Calentamiento (°C/min)*	Ventajas	Desventajas
TGA	<20	<ul style="list-style-type: none"> • Proporciona información básica de temperaturas de descomposición a diversos porcentajes de conversión. 	<ul style="list-style-type: none"> • No proporciona información cinética. • En descomposiciones múltiples puede perderse resolución.

Tabla 26. Continuación

Modo	Velocidad de Calentamiento (°C/min)*	Ventajas	Desventajas
MTGA**	>20	<ul style="list-style-type: none"> • Proporciona información básica y datos cinéticos comparables con los obtenidos por estudio de estabilidad. 	<ul style="list-style-type: none"> • En descomposiciones múltiples puede perderse resolución.
TGA HiRes Dinámico**	>20 Recomendada: 50	<ul style="list-style-type: none"> • Mejor resolución en transiciones simultáneas. 	<ul style="list-style-type: none"> • El tiempo de corrida depende del material.

* Tasas de calentamiento mayores a 20°C/min en TGA han mostrado temperaturas de descomposición similares a las observadas en DSC y reducirán el tiempo de corrida.** En MTGA se recomienda un periodo de modulación de 0.5°C cada 40 segundos. En TGA HiRes Dinámico se recomienda un valor de resolución de 4, una sensibilidad de 1.

NOTA: Los materiales orgánicos normalmente descomponen en su totalidad a temperaturas entre 300 y 600°C mientras que las sustancias inorgánicas sufren transiciones por arriba de los 700°C y descomponen a temperaturas mayores de 900°C.

Para la prueba de estabilidad se necesita obtener el perfil termogravimétrico de la formulación a analizar y el de cada uno de sus componentes.

5. ANÁLISIS DE PUREZA

El análisis de pureza de sustancias farmacéuticas se realiza en DSC con ayuda del software. El procedimiento presentado es para una identificación general y no diferencia tipos de polimorfos. En la Figura 40 se puede observar un resumen.

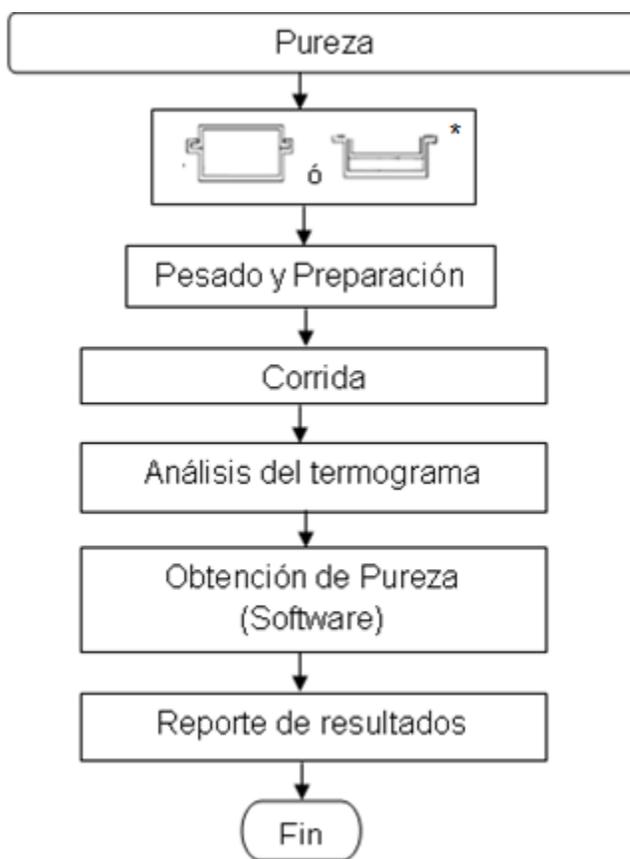


Figura 40. Prueba de Pureza.

*Tipos de charola recomendados para ésta prueba (Ver Tabla 18).

5.1 SELECCIÓN DE CHAROLA

Se prefiere el uso de charolas herméticas para proporcionar un resultado que represente el estado actual de la muestra. En charolas abiertas, cerradas o pinhole la pureza del material no podrá ser determinada con exactitud si éste contiene impurezas volátiles.

5.2 PESO Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Pesar aproximadamente 1 mg ó 3 mg y seguir las indicaciones mostradas en los apartados 2.7.2 y 2.7.3 de la guía de limpieza calibración y uso de DSC.

5.3 MODO

Se prefiere el uso de DSC convencional para la mayoría de las muestras. En polímeros, es recomendable utilizar MDSC, pues proporciona mayor información de su proceso de fusión (Ver Anexo1).

5.4 PROGRAMACIÓN DE CORRIDA

La prueba de pureza consta de una corrida en cuatro etapas:

- Equilibrio: Establecer una temperatura inicial preferentemente de 50°C antes del punto de fusión reportado en la literatura, con la finalidad de tener suficiente línea base para observar el pico endotérmico de fusión y llevar a cabo el análisis de pureza.
- Modulación de temperatura: Emplear una modulación de 1°C cada 60 segundos para tener una buena respuesta (sólo para MDSC).
- Isoterma: Mantener la temperatura inicial de 5 a 10 minutos para homogenizar la temperatura en la celda, charolas y muestra.

- Velocidad de Calentamiento: Cuando el material a analizar no presenta polimorfos se puede utilizar una tasa de calentamiento de 1°C/min para 1mg de muestra ó 10°C/min para 3mg de muestra. Si se sabe que la muestra presenta polimorfismo es recomendable realizar la corrida a 10°C/min con 3mg. para evitar la formación de algún polimorfo no existente originalmente en la muestra. (Ver apartado 7.2 de Antecedentes).

Estos pesos y velocidades de calentamiento son una combinación de condiciones que para materiales farmacéuticos mostraron equilibrar sensibilidad y resolución para dar un buen termograma, sin embargo, no son limitativos.

- Temperatura Final: Finalizar el termograma en la temperatura del 5% de descomposición obtenida en TGA ó al menos 20°C después de la fusión del material, en los casos que sea posible (Ver sección 3.3 de funciones principales del software de análisis de termogramas DSC y TGA, ver Anexo 3).

NOTA: Ya que la temperatura reportada por el DSC es diferente a la del TGA debido a la ubicación del termopar, es necesario estar pendiente del desarrollo de la corrida para evitar picos de fusión incompletos ó descomposiciones la primera vez que se corre el material.

5.5 ANÁLISIS DEL TERMOGRAMA

Obtener el punto de fusión en el termograma resultante por medio de una integración de pico (ver apartado 3.4 de funciones principales de software de análisis de TGA y DSC). Comparar el punto de fusión y la temperatura de inicio de fusión experimental con el reportado en la literatura si estos dos últimos difieren no se podrá hacer el análisis de pureza.

Se debe tener en cuenta que si se utilizan diferentes condiciones de corrida la temperatura de fusión puede cambiar (ver apartado 2.7.5 de la guía de limpieza, calibración y uso de la guía del Calorímetro Diferencial de Barrido), si esto sucede comparar únicamente con la temperatura de inicio de fusión.

Normalmente el termograma resultante muestra un pico endotérmico donde se realiza el análisis de pureza. Si tiene dos ó más picos endotérmicos y se cuenta con información de composición de la muestra, este también se puede llevar a cabo, siempre y cuando los picos muestren una buena resolución.

El cálculo de la pureza de un material se efectúa mediante el software de análisis. En él, se sitúan marcadores en el termograma antes y después del pico de fusión y se introduce el peso molecular de la sustancia analizada.

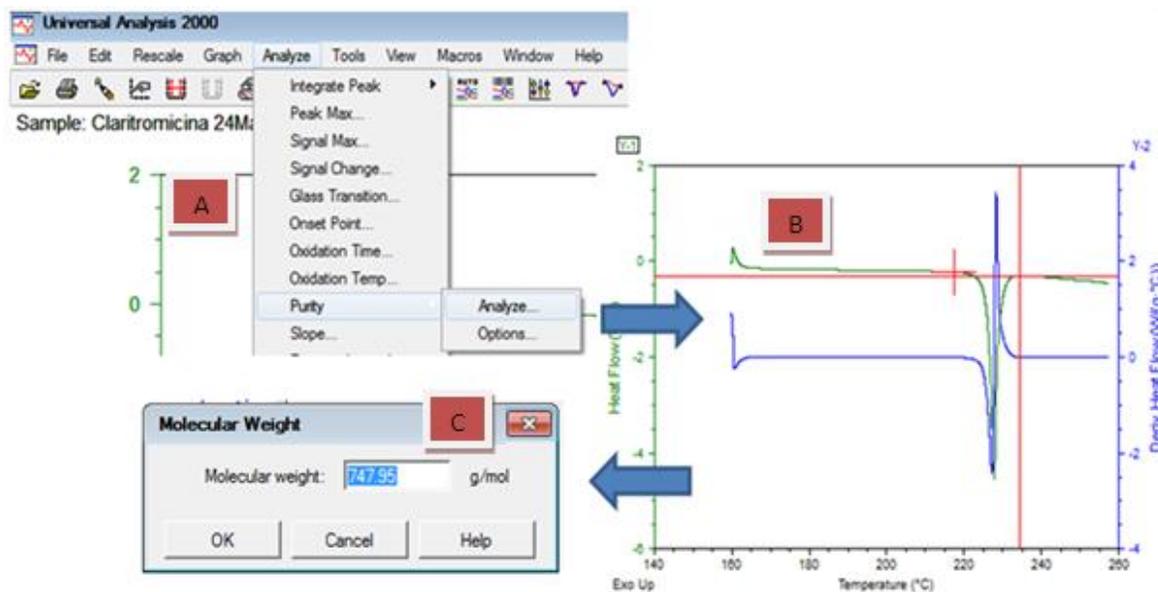


Figura 41. Análisis de Pureza de Claritromicina (PM: 747.95g/mol) por TA Universal Analysis.

A. Despliegue de menú para el análisis de pureza, B. Selección de límites, ubicación de marcadores y aceptar límites y C. Ventana para introducir el peso molecular del material analizado.

El programa contiene un algoritmo basado en la ecuación de Van't Hoff y arroja un resultado de porcentaje de pureza.

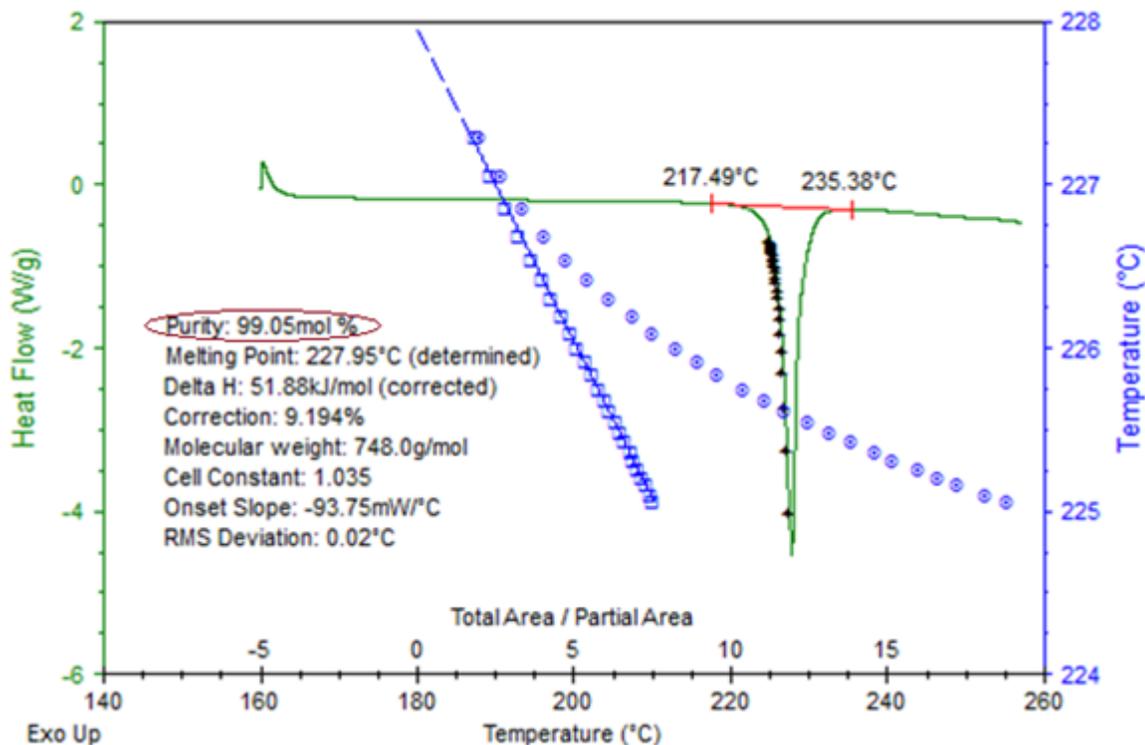


Figura 42. Termograma Resultante de Análisis de Pureza en DSC.

Junto con el termograma de pureza, se pueden presentar datos como:

- Punto de fusión.
- Entalpía de fusión corregida por la ecuación de Van't Hoff
- Porcentaje de corrección de la entalpía de fusión: Debe ser menor al 20% para aceptar el valor calculado de pureza.
- Peso molecular.
- Constante de celda: Debe ser cercana a 1.
- Pendiente de inicio de fusión.

- Desviación de raíz de cuadrado medio (RMS Deviation): Desviación de los valores producida por el modelo matemático utilizado para calcular la pureza.

Generalmente no se observa un pico con el que se pueden identificar las impurezas ya que éstas se disuelven en la materia analizada (Ver apartado 7.2 de Antecedentes), sin embargo, un indicio de presencia de impurezas es la aparición de un pico de fusión ancho del material analizado ó un cambio en la temperatura de inicio de fusión.

5.6 ASPECTOS A CONSIDERAR EN EL ANÁLISIS DE PUREZA

- Se debe realizar la prueba por triplicado.
- Las velocidades de calentamiento recomendadas no son limitativas y dependiendo del comportamiento del material analizado será la tasa de calentamiento que mejor se adecue, se debe seleccionar las condiciones bajo las cuales se obtenga el mejor pico, esto es, un pico bien definido, estrecho y alto.
- Se deben tomar en cuenta las condiciones de almacenamiento a las que ha sido sometida la muestra previa a la experimentación.

5.7 REPORTE DE DATOS

El reporte de datos de interacciones debe contener como mínimo los siguientes puntos (Ver Anexo 3):

- **Identificación del Instrumento:** Nombre, modelo y marca del instrumento. Nombre y versión del software de análisis.
- **Identificación de la muestra:** Nombre, proveedor ó fabricante (si aplica), lote (si aplica), peso molecular y peso de la muestra.

- **Condiciones de Corrida:** Tipo de gas de purga, flujo de gas de purga, modo de corrida, tasa de calentamiento, temperatura inicial y final, condiciones de modulación (si aplica).
- **Resultados de Termogramas:** Incluir termograma, ubicación en la computadora y análisis de pureza realizado por el software en el que se muestre:
 - Punto de fusión.
 - Pureza.
 - Entalpía de fusión corregida.
- **Dictamen (opcional):** En base a los requerimientos de laboratorio determinar si el porcentaje de pureza es aceptable.
- **Bibliografía:** Incluir referencias de apoyo al dictamen.

6. IDENTIFICACIÓN GENERAL DE POLIMORFOS

La identificación de polimorfos se realiza en DSC. Aplica para muestras sólidas y detecta polimorfismo, amorficidad, solvatos e hidratos. En la Figura 43 se puede observar un resumen de la prueba. Ejemplos de termogramas se encuentran en el Anexo 4.

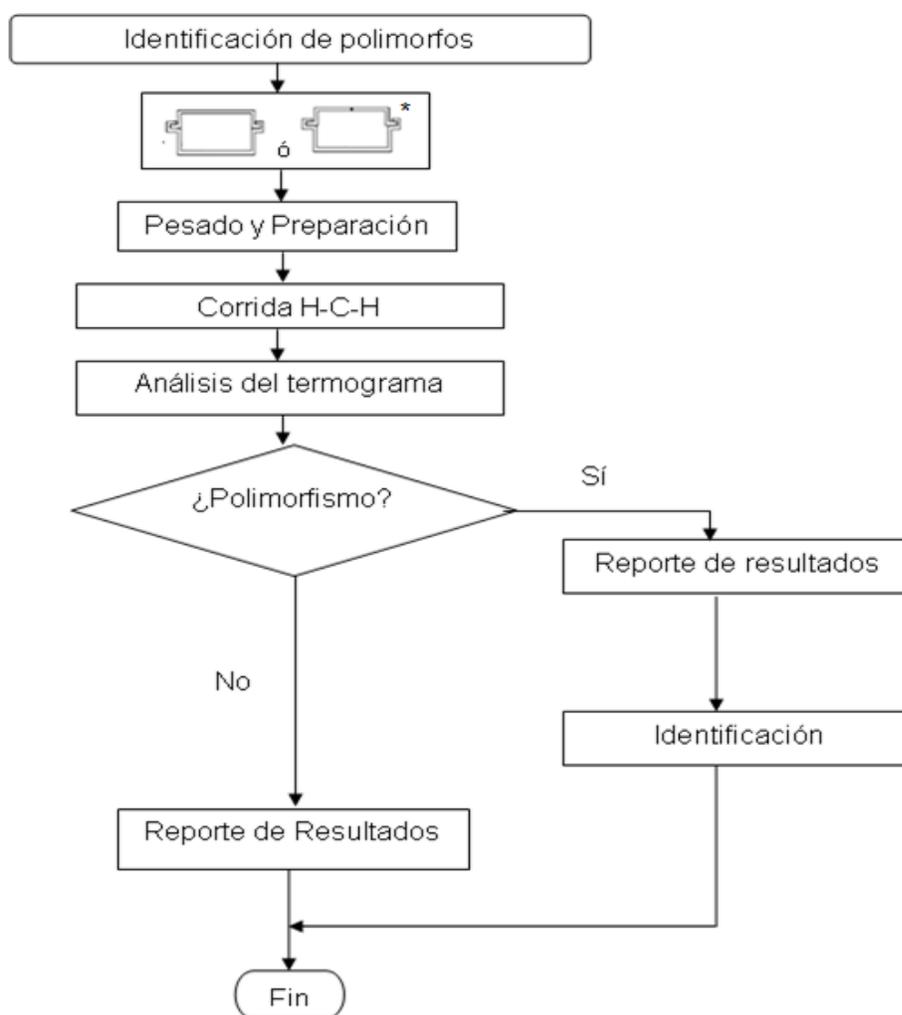


Figura 43. Prueba de polimorfismo.

*Tipos de charola recomendados para ésta prueba (Ver Tabla 18).

6.1 SELECCIÓN DE CHAROLA

Para la mayoría de materiales se utiliza charolas herméticas ya que proporcionan un resultado que representa el estado actual del material pues evitan la fuga de sustancias volátiles.

Cuando se analiza hidratos y solvatos utilizar charolas pinhole que permiten el escape del solvente, favoreciendo la generación de nuevas estructuras cristalinas.

6.2 PESO Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Pesar aproximadamente 1 mg ó 3 mg y seguir las indicaciones mostradas en los apartados 2.7.2 y 2.7.3 de la guía de limpieza calibración y uso de DSC.

6.3 MODO

Utilizar preferentemente MDSC pues proporciona mayor información acerca del proceso de fusión de la muestra (Ver Anexo 1). Se puede emplear DSC convencional.

6.4 PROGRAMACIÓN DE CORRIDA

Se realiza una corrida de calentamiento-enfriamiento-calentamiento a tasas bajas por ciclos (cuando aplique), con el fin de facilitar el análisis de termogramas.

Los ciclos sólo indican el final de etapas en el termograma, no detienen la secuencia programada.

- **Ciclo 1**

- Equilibrio: Establecer una temperatura inicial mínimo de -10°C para tener el perfil térmico completo del material a analizar y detectar si existe agua en la muestra.
- Modulación de temperatura: Emplear una modulación de 1°C cada 60 segundos.
- Isotherma: Mantener la temperatura inicial de 5 a 10 minutos para homogenizar la temperatura en la celda, charolas y muestra.
- Velocidad de Calentamiento: Utilizar una tasa de calentamiento de $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ para 1mg de muestra.
- Temperatura Final: Finalizar el termograma en la temperatura del 2% de descomposición obtenida en TGA ó al menos 20°C después de la fusión del material.
- Marcar fin de ciclo 1.

- **Ciclo 2**

- Modulación de temperatura: Emplear una modulación de 1°C cada 60 segundos.
- Velocidad de Enfriamiento: Utilizar la misma tasa empleada en el primer ciclo. Se debe someter la muestra al mismo programa de calentamiento.
- Temperatura Final: Finalizar el termograma a -10°C .
- Marcar fin de ciclo 2.

- **Ciclo 3**

- Modulación de temperatura: Emplear una modulación de 1°C cada 60 segundos.

- Velocidad de Calentamiento: Utilizar la misma tasa que en el ciclo 1.
- Temperatura Final: Finalizar el termograma en la temperatura del 5% de descomposición obtenida en TGA ó al menos 20°C después de la fusión del material, cuando sea posible.
- Marcar fin de ciclo 3.

NOTA: Ya que la temperatura reportada por el DSC es diferente a la del TGA debido a la ubicación del termopar, es necesario estar pendiente del desarrollo de la corrida para evitar picos de fusión incompletos ó descomposiciones la primera vez que se corre el material.

La mayor resolución en los termogramas se obtiene a 1°C/min con 1mg de muestra, sin embargo, el tiempo de corrida aumenta y bajo éstas condiciones se pueden generar polimorfos que no se encuentran presentes en la muestra. (Ver apartado 7.2 de Antecedentes).

Una tasa de calentamiento de 10°C/min con un tamaño de muestra de 3mg reflejará el estado actual de la materia en el primer ciclo. Es posible generar polimorfos en los siguientes ciclos.

6.5 ANÁLISIS DEL TERMOGRAMA

El termograma resultante puede mostrar dos ó más picos endotérmicos, exotérmicos y transiciones vítreas. Para facilitar el análisis del termograma se deben separar los ciclos de programación.

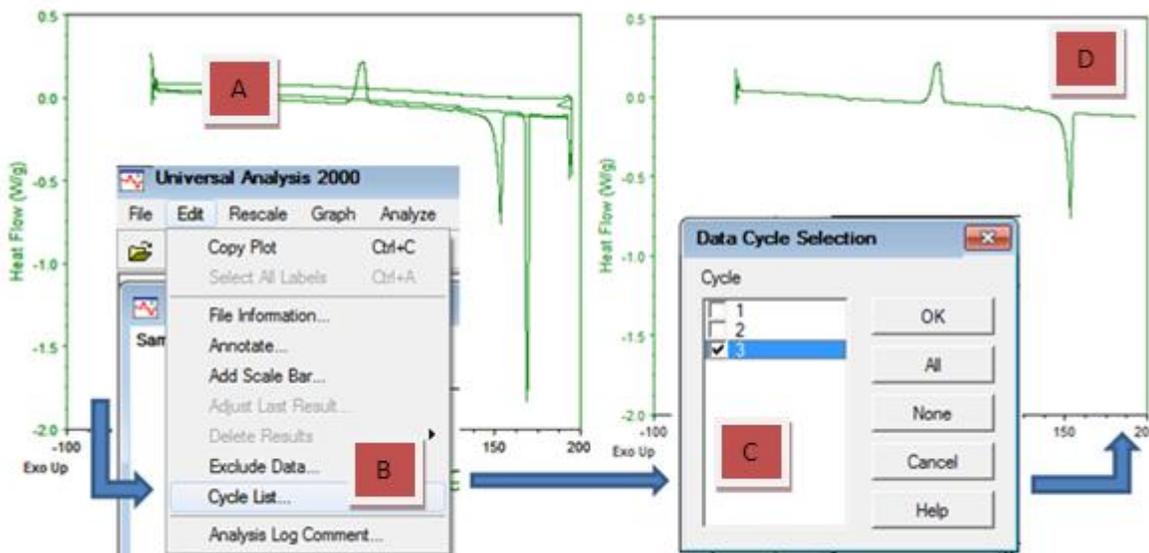


Figura 44. Separación de ciclos en una corrida de polimorfismo.

A. Termograma de polimorfismo mostrando los tres ciclos juntos, B. Despliegue del menú para mostrar la lista de ciclos presentes en el termograma, C. Selección de ciclo que se desea observar de forma individual y D. Ciclo mostrado de forma individual.

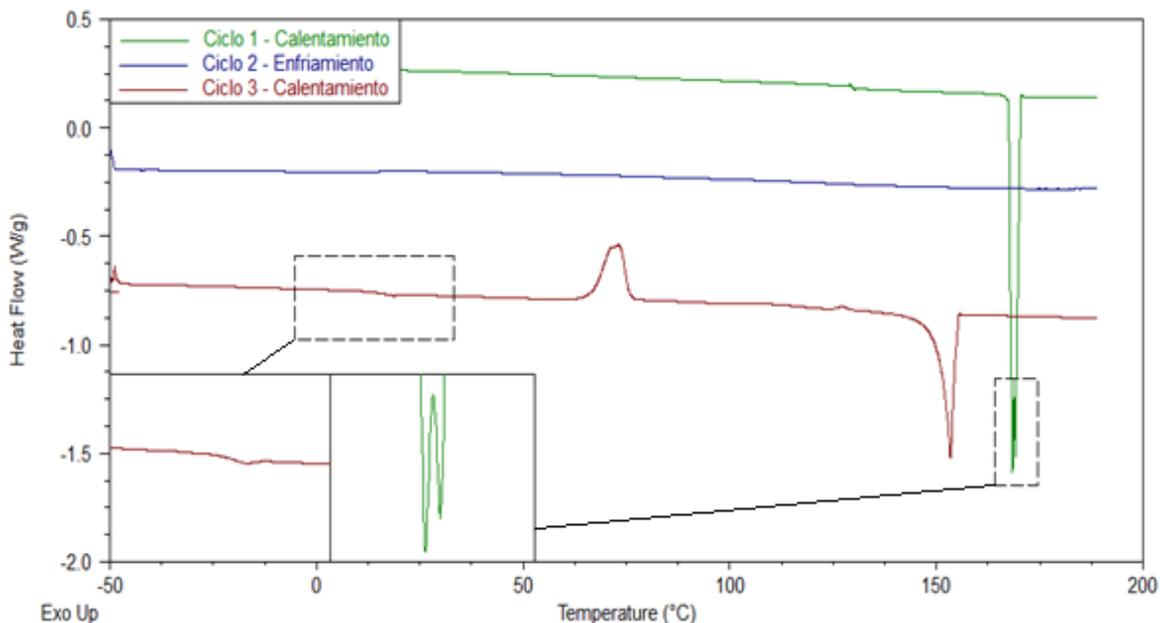


Figura 45. Prueba de polimorfismo de paracetamol con ciclos separados.

En el ciclo 1 – calentamiento (verde) se observa un pico con doble punta que da un indicio de polimorfismo. En el ciclo 2 – enfriamiento (azul) no hay ningún cambio y en el ciclo 3 – calentamiento (rojo), se puede observar una transición vítrea seguida de una cristalización y posteriormente se aprecia una fusión.

Una muestra presenta polimorfismo cuando en el termograma muestra:

- Dos ó más picos de fusión con diferentes temperaturas en los ciclos de calentamiento (Ver Figura 45).
- Picos de fusión anchos en los ciclos de calentamiento.
- Un pico de fusión con doble punta ó escalonado en los ciclos de calentamiento (Ver Figura 45).
- Dos ó más picos de cristalización en el ciclo de enfriamiento ó en los ciclos de calentamiento.
- Transición vítrea seguida de cristalización y fusión en ciclos de calentamiento (Ver Figura 45).
- Fusión seguida de transición vítrea en ciclos de calentamiento.

6.6 ASPECTOS A CONSIDERAR EN LA IDENTIFICACIÓN DE POLIMORFOS

- Se debe realizar la prueba por triplicado.
- Se recomienda realizar una corrida a 10°C/min con 3mg de muestra la primera vez que se prueba una materia para hacer una detección rápida. En base a los resultados obtenidos, decidir si es necesario correr a 1°C/min con 1 mg.
- Los materiales poliméricos pueden dar respuestas variables en el segundo ciclo de calentamiento si no han sido almacenados correctamente.
- En ocasiones, no se obtienen todos los polimorfos de un material por ésta prueba; se debe consultar en información bibliográfica los métodos de obtención de los polimorfos reportados para éste.
- Para identificar polimorfos correctamente, se debe contar con información bibliográfica.

6.7 REPORTE DE DATOS

El reporte de identificación de polimorfos debe contener como mínimo los siguientes puntos (Ver Anexo 4):

- **Identificación del Instrumento:** Nombre, modelo y marca del instrumento. Nombre y versión del software de análisis.
- **Identificación de la muestra:** Nombre y peso de la muestra, proveedor ó fabricante (si aplica) y lote (si aplica).
- **Condiciones de Corrida:** Tipo de gas de purga, flujo de gas de purga, modo de corrida, tasa de calentamiento, temperatura inicial y final, condiciones de modulación.
- **Resultados de Termogramas:** Incluir termograma y ubicación en la computadora e identificar las transiciones presentadas y reportar promedios de puntos de fusión, temperaturas de cristalización y transiciones vítreas.
- **Dictamen:** En base a los resultados y la información bibliográfica, incluir el número de polimorfos encontrados y, si es posible, identificarlos. Evaluar si el polimorfismo detectado impacta a los procesos destinados para el material bajo los lineamientos de la guía “ANDAs: Pharmaceutical Solid Polymorphism” de FDA.
- **Bibliografía:** Incluir referencias de apoyo al dictamen.

7. DETECCIÓN DE INTERACCIONES FÁRMACO-FÁRMACO/ FÁRMACO-EXCIPIENTE

La detección de interacciones de sustancias farmacéuticas se realiza en DSC con ayuda del software de análisis y aplica para muestras sólidas, líquidas y semisólidas. En la Figura 46 se puede observar un resumen de la prueba. Ejemplos de termogramas se encuentran en el Anexo 5.

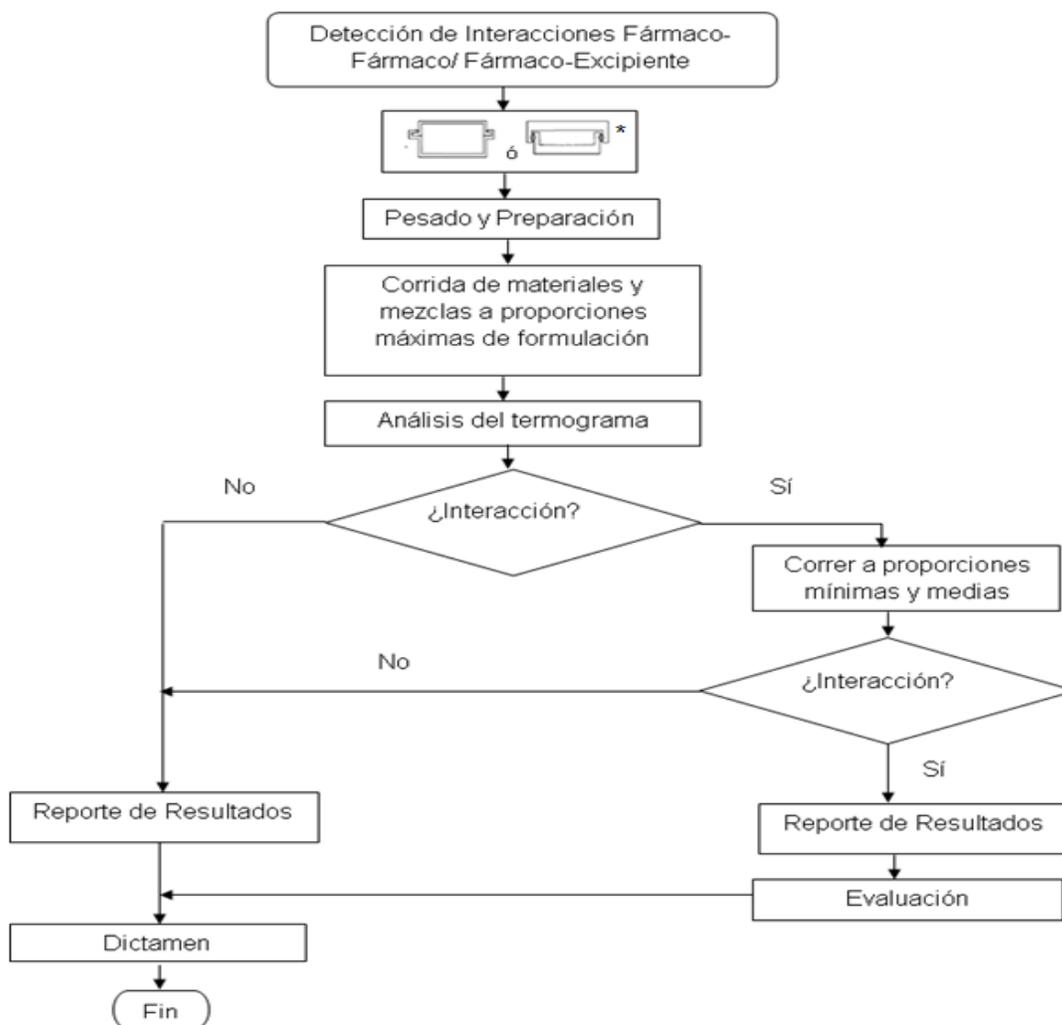


Figura 46. Detección de Interacciones Fármaco-Fármaco / Fármaco - Excipiente.

*Tipos de charola recomendados para ésta prueba (Ver Tabla 18).

7.1 SELECCIÓN DE CHAROLA

Se utilizan charolas herméticas ó de anillo para líquidos y semisólidos para evitar volatilización y fuga de vapores.

Para muestras sólidas, se prefiere el uso de charolas herméticas, estas proporcionan un resultado que refleja el estado actual de la muestra ya que evitan la fuga de sustancias volátiles que puedan favorecer una interacción.

Si se sabe que los materiales sólidos a analizar no son volátiles ni tienen agua ó solventes en su estructura, se puede realizar la prueba en charolas cerradas.

7.2 PESO Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Pesar aproximadamente de 1-2 mg de cada materia por separado y seguir las indicaciones mostradas en los apartados 2.7.2 y 2.7.3 de la guía de limpieza calibración y uso de DSC.

Si se desea detectar interacciones entre dos fármacos, realizar mezclas de éstos en las proporciones destinadas para la formulación, pesar 4-6 mg de la mezcla y seguir las indicaciones de los apartados 2.7.2 y 2.7.3.

Por su parte, si el objetivo es el análisis de interacciones entre un fármaco y un excipiente se deberá hacer una mezcla tomando para el excipiente la proporción máxima posible reportada en bibliografía; pesar 4-6 mg y seguir las indicaciones de los apartados 2.7.2 y 2.7.3.

Por último, si se desea evidenciar una interacción conocida, hacer una mezcla en proporción 1:1 de los materiales, pesar 4-6 mg y seguir las indicaciones de los apartados 2.7.2 y 2.7.3.

7.3 MODO

Utilizar preferentemente MDSC pues proporciona mayor información acerca del proceso de fusión de la muestra (Ver Anexo 1). Se puede emplear DSC convencional.

7.4 PROGRAMACIÓN DE CORRIDA

7.4.1 MATERIALES INDIVIDUALES

Se realiza una corrida de cada una de las sustancias por separado para conocer sus temperaturas de fusión, consta de 4 etapas:

- Equilibrio: Establecer una temperatura inicial preferentemente de 50°C antes del punto de fusión reportado en la literatura, con la finalidad de tener suficiente línea base para observar el pico endotérmico de fusión y obtener su temperatura. Esto implica que para materiales líquidos y semisólidos primero se enfría la muestra hasta su cristalización a la misma tasa de calentamiento utilizada para la prueba para poder observar su fusión.
- Modulación de temperatura: Emplear una modulación de 1°C cada 60 segundos para tener una buena respuesta (Solo para MDSC).
- Isoterma: Mantener la temperatura inicial de 5 a 10 minutos para homogenizar la temperatura en la celda, charolas y muestra.
- Velocidad de Calentamiento: Utilizar una tasa de calentamiento de 1°C/min para asegurar una buena resolución.
- Temperatura Final: Terminar la corrida en la temperatura del 5% de descomposición obtenida en TGA ó al menos 20°C después de la fusión del material, en los casos que sea posible.

NOTA: Ya que la temperatura reportada por el DSC es diferente a la del TGA debido a la ubicación del termopar, es necesario estar pendiente del desarrollo

de la corrida para evitar picos de fusión incompletos ó descomposiciones la primera vez que se corre el material.

7.4.2 MEZCLAS

Las mezclas de fármacos y excipientes se deben correr a las mismas condiciones que las sustancias individuales para poder comparar los resultados.

Al igual que las corridas individuales, se debe cuidar el termograma por descomposiciones ó picos incompletos, pues una interacción puede provocar un desplazamiento de éstos.

Las condiciones de corrida constan de 4 etapas:

- Equilibrio: Establecer una temperatura inicial preferentemente de 50°C antes del primer punto de fusión de las sustancias de la mezcla con la finalidad de tener suficiente línea base para observar el pico endotérmico de fusión y obtener su temperatura. Esto implica que para materiales líquidos y semisólidos se enfriara la muestra hasta su cristalización a la misma tasa de calentamiento utilizada para la prueba para poder observar su fusión.
- Modulación de temperatura: Emplear una modulación de 1°C cada 60 segundos para tener una buena respuesta (sólo para MDSC).
- Isoterma: Mantener la temperatura inicial de 5 a 10 minutos para homogenizar la temperatura en la celda, charolas y muestra.
- Velocidad de Calentamiento: Utilizar una tasa de calentamiento de 1°C/min para asegurar una buena resolución.
- Temperatura Final: Terminar la corrida en la temperatura de 5% descomposición de la sustancia menos estable de la mezcla ó al menos 20°C después del último pico de fusión, en los casos que sea posible.

7.5 ANÁLISIS DEL TERMOGRAMA

Para los termogramas individuales de las sustancias y sus mezclas definir los puntos de fusión mediante una integración de pico con ayuda del software de análisis.

Realizar una sobreposición de termogramas por cada mezcla con sus respectivos termogramas individuales y comparar los resultados obtenidos.

Una no interacción se distingue al ver que la suma de los termogramas individuales (principio activo y excipiente) es igual al termograma de la mezcla; al no apreciar aparición, desaparición ó desplazamientos de picos en el termograma. (Tong, 2006) (Mura, Faucci, & Cecarelli, 1998).

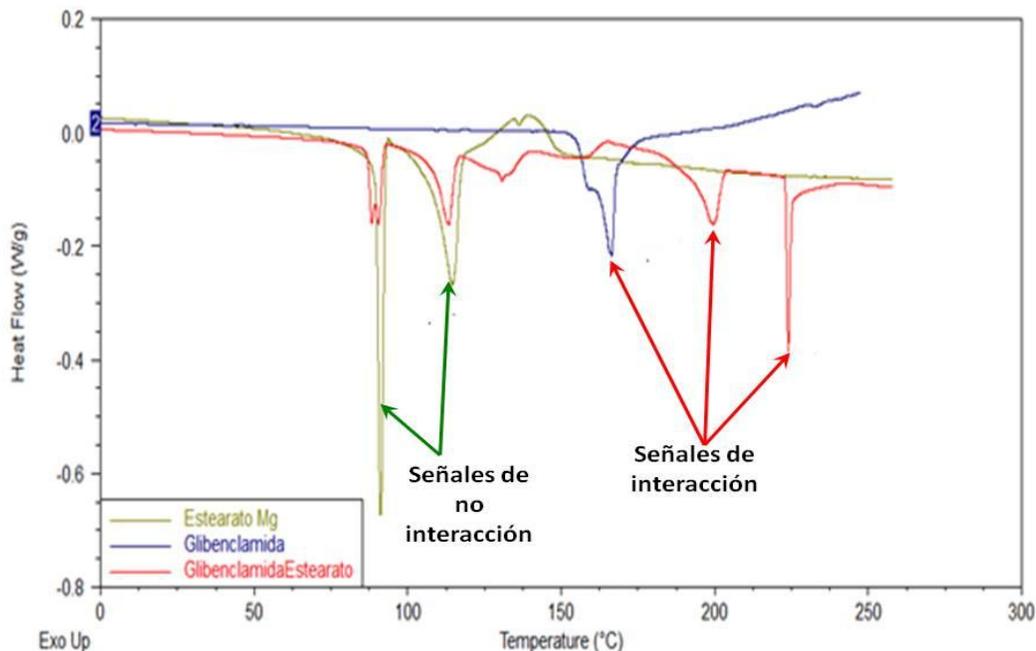


Figura 47. Sobreposición de termogramas de glibenclamida, estearato de magnesio y mezcla de ambos en proporción 1:1.

Las flechas moradas indican los puntos en donde no hay una interacción. Las flechas verdes indican señales de interacción. En los termogramas azul y olivo se muestran las diferentes formas polimórficas de glibenclamida y estearato de magnesio. El termograma de la mezcla de ambos materiales, en rojo, no es la suma de los termogramas individuales, muestra desplazamiento y aparición de picos, por lo que se infiere que hay una posible interacción.

Por su parte, una interacción se detecta al observar que la suma de los termogramas individuales no es igual al termograma de mezcla; al apreciar la aparición ó desplazamiento de nuevos picos en el termograma.

7.6 ASPECTOS A CONSIDERAR EN LA PRUEBA DE DETECCIÓN DE INTERACCIONES

- Se debe realizar la prueba por triplicado.
- Tomar tamaños de muestra que sean adecuados para realizar un buen mezclado: Considerar que un mal mezclado repercute en la reproducibilidad de los resultados debido al tamaño de muestra.
- Las cantidades de muestra mencionadas en el apartado 7.2 pueden cambiar dependiendo de la densidad de la muestra, es necesario considerar que la muestra debe ser representativa, lo cual es de suma importancia para las mezclas, al mismo tiempo se debe considerar que el volumen utilizado de la charola preferentemente no debe sobrepasar $\frac{3}{4}$ de su volumen total.
- Estar pendiente de los termogramas de las mezclas cuando se corren por primera vez. Una interacción entre los componentes puede acelerar su descomposición. De la misma manera, observar desplazamientos de picos; si se ha sobrepasado el 5% de descomposición de uno ó más componentes de la mezcla y no se observan transiciones, evaluar la posibilidad de continuar la corrida hasta la temperatura que se considere pertinente en base a la información bibliográfica disponible.

En ocasiones, puede ocurrir una disolución de alguno de los integrantes de la mezcla en la materia fundida del otro; en éste caso, se mostrará sólo el pico de fusión de uno de ellos. Investigar información acerca de éste proceso para cada componente analizado antes de hacer un dictamen de interacción.

- Si se detecta una interacción significativa entre principio activo y excipiente a proporciones máximas, repetir la prueba con las proporciones media y mínima posible de éste para determinar en cual de ellas la interacción es menor ó nula.

- Si se detecta una interacción en una proporción seleccionada para una formulación, evaluar si ésta es significativa ó tiene efecto sobre reología, disolución, friabilidad, dureza, desintegración, estabilidad ó biodisponibilidad y analizar si es factible utilizar el excipiente.
- Si es necesario se pueden evaluar más proporciones dependiendo del comportamiento de la muestra.

7.7 REPORTE DE DATOS

El reporte de datos de interacciones debe contener como mínimo los siguientes puntos (Ver Anexo 5):

- **Identificación del Instrumento:** Nombre, modelo y marca del instrumento. Nombre y versión del software de análisis.
- **Identificación de la muestra:** Nombre de materiales individuales y componentes de la mezcla con proporción, proveedor ó fabricante (si aplica), lote (si aplica) y peso de la muestra.
- **Condiciones de Corrida:** Tipo de gas de purga, flujo de gas de purga, modo de corrida, tasa de calentamiento, temperatura inicial y final, condiciones de modulación (si aplica).
- **Resultados de Termogramas Individuales:** Incluir nombre de la muestra, termograma y su ubicación en la computadora. Identificar las transiciones presentadas y reportar promedios de puntos de fusión, temperaturas de cristalización y transiciones vítreas. Adicionalmente, para muestras líquidas ó semisólidas, reportar las temperaturas máximas de cristalización de cada material.
- **Resultados de Termogramas de Mezclas:** Incluir nombre de los componentes de la mezcla, sobreposición de termogramas de mezclas y componentes individuales y su ubicación en la computadora, identificar las

proporciones de la mezcla y reportar puntos de fusión de los picos encontrados. Adicionalmente, para muestras líquidas ó semisólidas, incluir los termogramas de la corrida de congelación y reportar las temperaturas máximas de cristalización de cada material.

- **Dictamen:** En base a los resultados encontrados y la información bibliográfica, determinar si existe interacción ó no por cada proporción y cada mezcla analizada y si ésta interacción afecta significativamente las características del principio activo ó la mezcla.
- **Bibliografía:** Incluir referencias de apoyo al dictamen.

8. ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE FORMULACIONES

El estudio de estabilidad de formulaciones se realiza en TGA con ayuda del software de análisis y una hoja de cálculo. Aplica para formulaciones sólidas, líquidas y semisólidas. En la Figura 48 se puede observar un resumen de la prueba. Para comprender la explicación mostrada es necesario observar el Anexo 6.

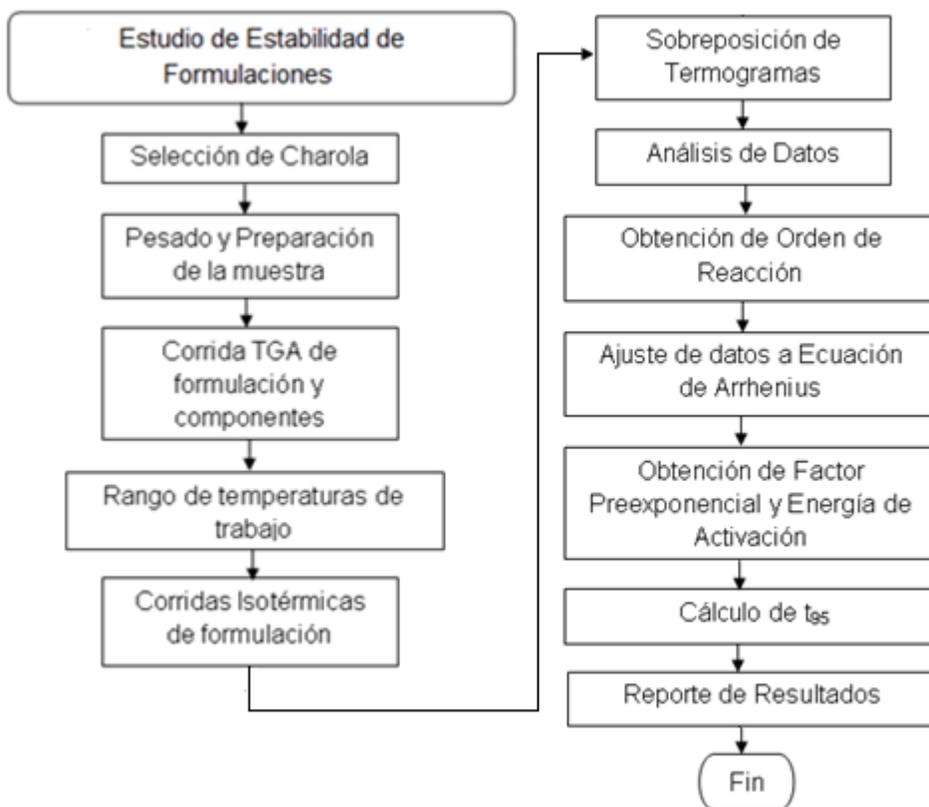


Figura 48. Estudio de Estabilidad.

8.1 SELECCIÓN DE CHAROLA

Dependiendo de la muestra a analizar, utilizar charolas estándar de platino ó charolas de cerámica para materiales de baja densidad.

8.2 PESO Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Pesar entre 10 y 15 mg de muestra y seguir las indicaciones mostradas en el apartado 1.7.1 y 1.7.2 de la guía de limpieza, calibración y uso del analizador termogravimétrico (TGA).

8.3 MODO

El conjunto de corridas se realiza en modos TGA de alta resolución y TGA convencional para obtener mayor información de la muestra.

8.4 PROGRAMACIÓN DE CORRIDAS

8.4.1 SELECCIÓN DE RANGO DE TEMPERATURAS

El estudio de estabilidad de formulaciones se hace por métodos isotérmicos. Para seleccionar las temperaturas a las cuales se trabajará es necesario conocer en primera instancia los perfiles termogravimétricos de descomposición de la formulación en conjunto y de los componentes de la formulación por separado (Ver apartado 4.2 de Aplicaciones DSC y TGA). En ésta etapa se prefiere el uso de TGA de alta resolución.

Estos termogramas sirven para:

- Identificar el inicio de la descomposición de la formulación apoyándose en los termogramas individuales de sus componentes, especialmente los que corresponden a los principios activos.

- Identificar el hombro de descomposición correspondiente al principio activo en el termograma de la formulación (si se tienen dos principios activos, identificar el hombro de descomposición que se encuentre a la temperatura menor).
- Establecer un rango de temperaturas que cubra el inicio de la descomposición del material; la recomendación es que la temperatura menor del rango se encuentre antes del aumento de la pendiente del termograma mientras que la temperatura final podrá ubicarse, para descomposiciones en una sola etapa, antes de llegar a la máxima pendiente de pérdida de peso (Ver apartado 8.6 de esta guía); para descomposiciones en varias etapas, se debe evaluar si la temperatura final puede estar después del hombro correspondiente al principio activo (Ver Figura 49) ó se sigue la condición anterior.

A partir del rango de temperaturas anterior, seleccionar al menos 5 temperaturas dentro de él para el desarrollo del estudio de estabildades (Ver punto 1 de Anexo 6).

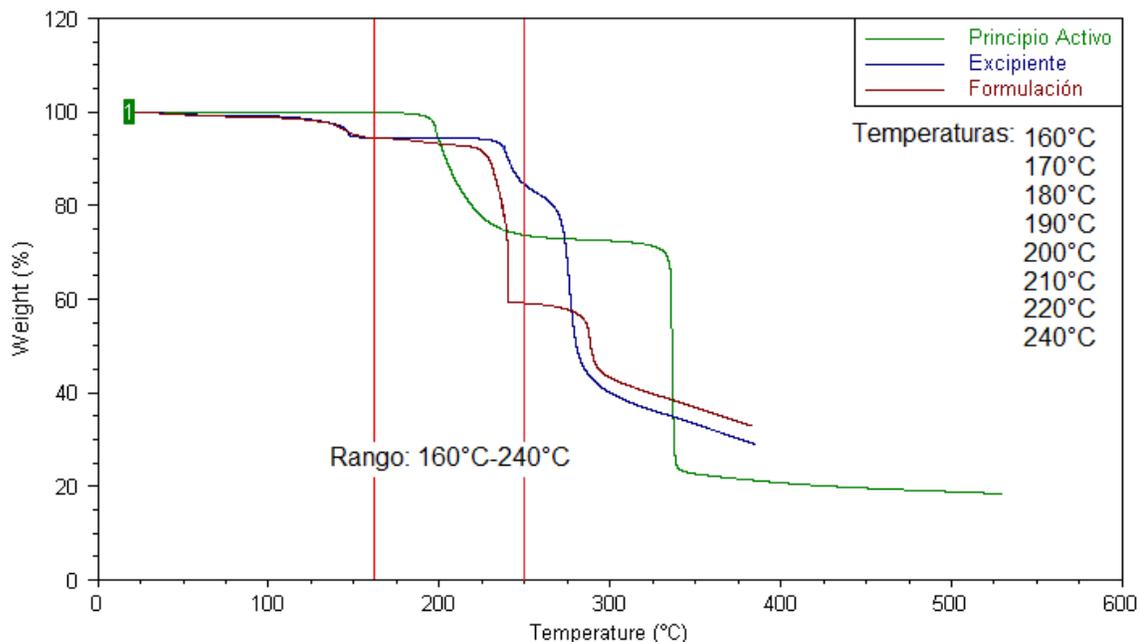


Figura 49. Ejemplo de selección de rango para estudio de estabilidad.

8.4.2 PROGRAMACIÓN DE ISOTERMAS

Las corridas del estudio de estabilidad cuentan con un segmento principal isotérmico en donde se analiza la descomposición.

La corrida completa se compone de los siguientes segmentos:

- Equilibrio: Como temperatura inicial se coloca cada una de las temperaturas seleccionadas para la isoterma en la sección anterior

Se recomienda iniciar con la temperatura más alta del rango para que esta permita el análisis de resultados y predecir si las temperaturas seleccionadas son adecuadas.

- Isoterma: El tiempo en que se mantendrá la temperatura inicial depende de la muestra. Se recomienda empezar con una isoterma de 65 minutos y evaluar si éste tiempo es suficiente para observar descomposición en el material. Reducir ó aumentar el tiempo de acuerdo al comportamiento mostrado.
- Velocidad de Calentamiento: Si se requiere, después de la isoterma se puede someter la muestra a un programa de calentamiento. Cuando se utiliza TGA convencional, se deben programar las corridas a tasas de calentamiento bajas (menores a 5°C) para obtener una buena resolución. Si se utiliza la combinación de TGA de alta resolución con TGA modulado, se pueden emplear tasas de calentamiento más altas. 10, 20 ó 50°C/min son útiles para realizar la prueba.
- Temperatura Final: Ya que el interés principal se encuentra en la isoterma, la temperatura final se puede establecer aproximadamente 50°C después de ésta; en el caso de que se desee analizar la fracción de la muestra que no ha descompuesto o si se desea comprobar que el perfil de descomposición se conserva la

temperatura final corresponderá a la descomposición total ó máxima de la muestra.

NOTA: Si no se requiere analizar la fracción restante de una muestra después de su descomposición se omite la programación del segmento de tasa de calentamiento.

8.5 ANÁLISIS DEL TERMOGRAMA

8.5.1 SOBREPOSICIÓN DE TERMOGRAMAS

En la prueba de estabildades se tendrá un termograma por cada temperatura analizada. Se puede realizar una sobre posición de termogramas para observar el comportamiento de la muestra (Ver punto 2 de Anexo 6).

Al sobreponer los termogramas se debe ver que la temperatura más baja de isoterma tenga el menor porcentaje de descomposición; éste debe incrementar proporcionalmente al aumento de temperatura (Ver Figura 50) y su relación debe ser lineal para realizar estudio de estabilidad (Ver apartado 8.5.4 de ésta guía), de no ser así, es necesario hacer modificaciones a las condiciones de corrida, es decir seleccionar otros tiempos y temperaturas de isoterma.

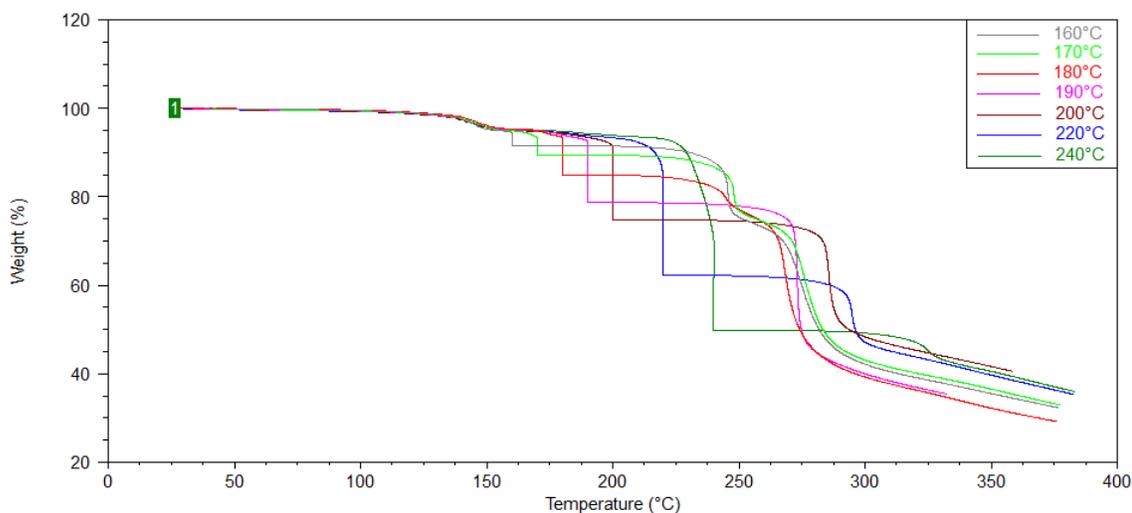


Figura 50. Sobreposición de curvas termogravimétricas a diferentes isotermas.

8.5.2 TABLAS DE DATOS

Para hacer los cálculos del estudio de estabilidad se debe obtener la tabla de datos de cada curva resultante (Ver apartado 3.8 de Funciones Principales del Software de Análisis TGA y DSC); ésta debe contener datos de tiempo, temperatura y porcentaje de masa y muestra incrementos de tiempo pequeños (de 0.1 a 0.5) pues en ella se localiza el momento exacto en que inicia la isoterma y se marca como el tiempo cero. Además, permite conocer el porcentaje de peso remanente de la muestra en cada momento de la isoterma.

El análisis de los datos mostrados en la tabla se realiza por cada temperatura de isoterma utilizada en el experimento.

	A	B	C	D	E
1	Tiempo	Masa	Temperatura		
2	min	%	°C		
3	0				
4	0.2	99.94	12.56		
5	0.4	99.9	16.39		
6	0.6	99.79	24.38		
49	9.2	94.45	179.97	Tiempo de Isotherma	
50	9.4	94.36	180.03	0	
51	9.6	94.24	180.06	0.2	
52	9.8	94.11	180.07	0.4	
53	10	93.97	180.06	0.6	
54	10.2	93.84	180.05	0.8	
55	10.4	93.7	180.04	1	
56	10.6	93.56	180.04	1.2	
57	10.8	93.42	180.04	1.4	

Figura 51. Tabla de datos para análisis de estabilidad.

Se muestran en verde datos de tiempo, masa y temperatura; se indica en morado el inicio de una isoterma a 180°C, marcado como tiempo cero.

A partir de la tabla de datos, se seleccionan al menos cinco tiempos de isoterma para llevar a cabo el análisis de los datos:

Tiempo	Porcentaje Masa	Orden Cero Masa(mg)	Primer Orden Ln (Masa)	Segundo Orden 1/Masa
0	92.788	0.9279	-0.0749	1.0777
10	86.038	0.8604	-0.1504	1.1623
20	79.508	0.7951	-0.2293	1.2577
30	73.208	0.7321	-0.3119	1.3660
40	67.078	0.6708	-0.3993	1.4908
50	61.078	0.6108	-0.4930	1.6373
60	55.228	0.5523	-0.5937	1.8107

Figura 52. Tabla de Datos a Diferentes Tiempos de Isotherma.

En verde se muestran los tiempos de isoterma seleccionados a partir de la Figura 49. La imagen muestra la variación del porcentaje de masa a diferentes tiempos de isoterma y los datos necesarios para la evaluación del orden de descomposición de los datos.

8.5.3 DETERMINACIÓN DE ORDEN DE REACCIÓN DE DESCOMPOSICIÓN

Para determinar el orden de descomposición de los datos, el porcentaje de masa que proporciona el instrumento en la tabla de datos ó su fracción pueden ser utilizados en las ecuaciones de la Tabla 27 ó se puede convertir a unidades de masa considerando la cantidad inicial de muestra pesada. Se determina el orden de reacción por cada temperatura de isoterma utilizada en el experimento.

Tabla 27. Ecuaciones de orden de reacción de descomposición.

Orden Cero	Primer Orden	Segundo Orden
$W = W_i - kt$	$\ln W = \ln W_i - kt$	$\frac{1}{W} = \frac{1}{W_i} + kt$
Donde: W, masa; W_i , masa inicial; k, constante de velocidad de degradación y t, tiempo.		

Se elaboran los gráficos correspondientes a cada orden de reacción para observar la tendencia de los datos (Ver Figura 53-55):

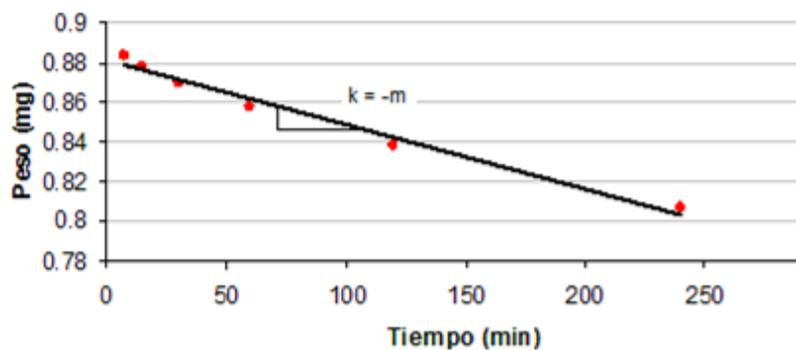


Figura 53. Orden cero.

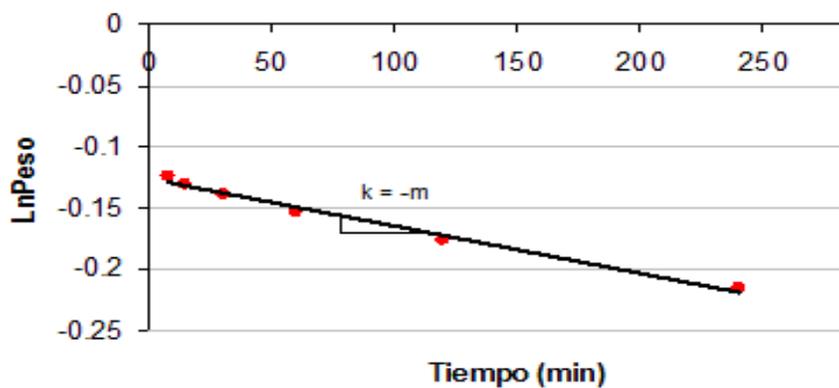


Figura 54. Primer Orden.

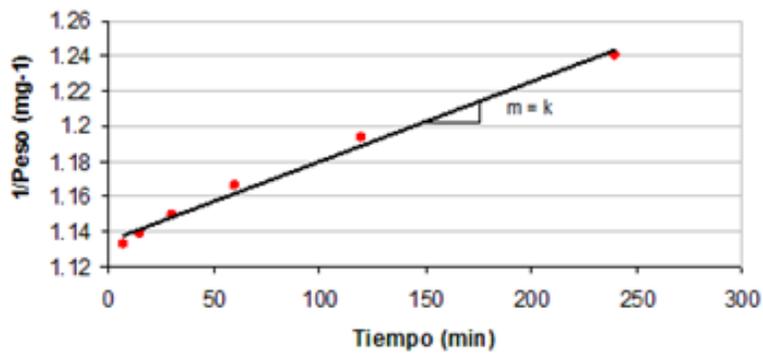


Figura 55. Segundo Orden.

A partir de los gráficos anteriores, se obtienen los valores de pendiente, intercepto y coeficiente de determinación para cada orden y se comparan. Los datos graficados se ajustan al orden de descomposición cuyo coeficiente de determinación sea mayor. Así, por cada temperatura de isoterma empleada se tendrá un orden de reacción de descomposición.

Tiempo	Porcentaje Masa	Orden Cero Masa(mg)	Primer Orden Ln (Masa)	Segundo Orden 1/Masa
0	92.788	0.9279	-0.0749	1.0777
10	86.038	0.8604	-0.1504	1.1623
20	79.508	0.7951	-0.2293	1.2577
30	73.208	0.7321	-0.3119	1.3660
40	67.078	0.6708	-0.3993	1.4908
50	61.078	0.6108	-0.4930	1.6373
60	55.228	0.5523	-0.5937	1.8107
	Pendiente	-0.0063	-0.0086	0.0121
	Intercepto	0.9231	-0.0634	1.0380
	Coeficiente de determinación	-0.9997	-0.9987	0.9921

Figura 56. Orden de Reacción de Descomposición.

En la figura se muestran los datos de pendiente, intercepto y coeficiente de determinación para una isoterma de 180°C. En morado se muestra que el coeficiente de determinación más alto corresponde a una cinética de orden cero.

Los órdenes de descomposición de todas las isotermas utilizadas se comparan obteniendo el promedio y el coeficiente de variación del coeficiente de determinación; el orden que muestre el promedio más alto y el coeficiente de variación menor será aquel al que se ajuste la cinética de degradación de la muestra (Tabla 28).

Tabla 28 . Comparación de Coeficientes de Determinación. Se puede ver que los datos se ajustan a una cinética de orden cero

Temperatura (°C)	Orden Cero	Primer Orden	Segundo Orden
200	-0.9519	-0.9816	0.9649
190	-0.9979	-0.9879	0.9304
180	-0.9996	-0.9973	0.9843
170	-0.9998	-0.9995	0.9964
160	-0.9998	-1.0000	0.9994
150	-0.9997	-0.9999	1.0000
Promedio	-0.9994	-0.9969	0.9821
Desviación Std	0.0008	0.0051	0.0296
C.V.(%)	-0.0812	-0.5165	3.0093

En ocasiones, en éste punto del análisis, no se puede determinar el orden de reacción; se debe evaluar si se requieren más corridas a diferentes temperaturas de isoterma ó un mayor ó menor tiempo de isoterma; de igual manera, el orden de reacción se puede determinar ó comprobar con los cálculos que se muestran en la sección siguiente.

8.5.4. ECUACIÓN DE ARRHENIUS

En los siguientes cálculos se utilizan los datos del orden de reacción seleccionado en la sección anterior. Cuando no se pueda determinar el orden de reacción, los cálculos se llevarán a cabo con los datos de los tres órdenes.

A partir de la pendiente del orden de reacción elegido se calcula la constante de velocidad de descomposición de la muestra (Tabla 29):

Tabla 29. Cálculo de constante de velocidad de descomposición k .

Orden Cero	Primer Orden	Segundo Orden
$m = -k$	$m = -k$	$m = k$

Los datos de velocidad de degradación se evalúan en función de la temperatura según la ecuación de Arrhenius (28):

$$k = A \frac{-Ea}{RT} \quad \text{ó} \quad \text{Ln}K = \text{Ln}A - \frac{Ea}{R} \left(\frac{1}{T} \right) \dots\dots\dots(28)$$

Donde k , constante de velocidad de degradación; A , factor preexponencial; Ea , energía de activación; R , constante de gases ideales; T , temperatura absoluta.

Así, se obtiene una tabla de datos (Tabla 30) y un gráfico (Figura 57) que muestran la relación de la temperatura con la velocidad de degradación:

Tabla 30. Datos para Gráfico de Arrhenius.

Las unidades de k dependen del orden de reacción elegido, así, orden cero: masa/tiempo, primer orden: tiempo⁻¹, segundo orden masa⁻¹tiempo⁻¹.

Temperatura (°C)	1/Temperatura Absoluta (1/Kelvin)	PRIMER ORDEN	
		K (min ⁻¹)	$\text{Ln}k$
190	0.0022	0.0257	-3.6601
180	0.0022	0.0119	-4.4323
170	0.0023	0.0060	-5.1078
160	0.0023	0.0032	-5.7596
150	0.0024	0.0017	-6.4066
Pendiente			-13348.9561
Intercepto			25.0803
Coeficiente de Correlación			-0.9981
Coeficiente de Determinación			0.9962

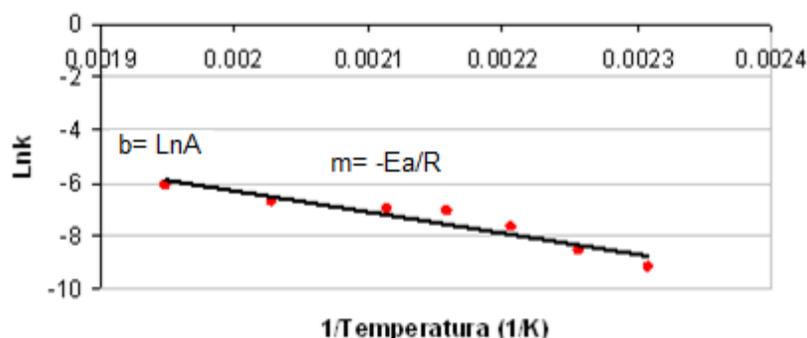


Figura 57. Gráfico de Arrhenius.

Se obtienen valores de pendiente, intercepto, coeficiente de correlación y coeficiente de determinación (Ver Tabla 31) y se analiza si los datos pueden ser empleados para calcular el tiempo de vida de la muestra; para ello, el coeficiente de correlación debe tener un valor por arriba de -0.98, pues éste demuestra que existe una relación entre la temperatura y la velocidad de degradación y el coeficiente de determinación debe ser mayor a 96% ya que éste muestra el porcentaje de predicción que tiene el modelo de Arrhenius (Freund,1992).

Cuando no se haya determinado el orden de reacción previamente y se trabaje la ecuación de Arrhenius (28) con los tres órdenes de reacción, se elegirá el orden de reacción cuyos coeficientes de determinación y correlación sean mayores.

Una vez que se tenga seleccionado el orden de reacción de descomposición y se conozcan valores de pendiente e intercepto, calcular energía de activación con las ecuaciones 29 y 30.

$$m = -\frac{Ea}{R} \quad Ea = -mR \quad \dots\dots\dots(29)$$

$$b = LnA \quad A = e^B \quad \dots\dots\dots(30)$$

Cuando se conoce energía de activación y factor preexponencial se puede calcular la constante de velocidad degradación a cualquier temperatura con la ecuación 28 (Ver Figura 58); en la industria farmacéutica las temperaturas de interés se determinarán en base a los requerimientos de estabilidad de cada laboratorio.

$$Lnk = 31.0490J/mol - 16011.644J/Kmol \left(\frac{1}{298.15K} \right)$$

$$Lnk = 31.0490J/mol - 16011.644J/Kmol \left(\frac{1}{303.15K} \right)$$

	Primer Orden	
LnA	31.049	
Ea/R	16011.644	
Temperatura (°C):	25	30
Temperatura (Kelvin)	298.15	303.15
1/Temp(Kelvin)	0.003354	0.003298697
Lnk =	-22.653688	-21.76793349
k =	1.451E-10	3.51809E-10

Figura 58. Cálculo de Constante de Velocidad de Degradación.

Se muestra la ecuación 28 sustituida con los valores correspondientes a 25°C y 30°C y su constante de velocidad de degradación, k , respectiva.

8.5.5 CÁLCULO DE t_{95}

Con el valor de constante de degradación correspondiente a cierta temperatura se procede a calcular el tiempo requerido para obtener el 5% de la variación de la potencia inicial de un fármaco, t_{95} (punto 7.5.1.2 de la NOM-073-SSA1-2005) por medio de las siguientes ecuaciones:

Tabla 31. Ecuaciones de t_{95} para cada orden de reacción

Orden Cero	Primer Orden	Segundo Orden
$t_{95} = \frac{0.05 M_i}{k}$	$t_{95} = \frac{0.0513}{k}$	$t_{95} = \frac{0.05}{0.95kM_i}$
NOTA: Para muestras que presenten porcentaje de humedad, restar éste a la masa inicial para obtener M_i .		

El tiempo obtenido es convertido a años y se analiza si el resultado obtenido es coherente para determinar si este método se ajusta al comportamiento de la sustancia analizada (Ver Tabla 33).

Tabla 32. T₉₅ en años.

Temperatura (°C):	Primer Orden	
	25	30
T95(minutos)	3671711.53	1514223.929
T95 años	6.98575252	2.880943549

En caso de que los resultados no sean coherentes se pueden realizar los procedimientos descritos en la ASTM E1641 Método Estándar para Cinéticas de Descomposición por Termogravimetría, ASTM E698. Método para el Cálculo de Constantes Cinéticas de Arrhenius para Materiales Térmicamente Estables o el método de cinética de descomposición descrito por el Dr. Saniger cuyas ventajas y desventajas se muestran en el apartado 7.4.2 de los Antecedentes.

8.6 ASPECTOS A CONSIDERAR EN EL ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE FORMULACIONES

- Preferentemente realizar la prueba por triplicado.
- Si se cuenta con charolas de diferentes materiales, utilizar un mismo tipo para poder comparar resultados.
- El peso de muestra que se maneje puede ser cualquiera que esté dentro del rango marcado en el punto 8.2 pero una vez seleccionada la cantidad que se va a pesar las demás corridas deben tener aproximadamente el mismo peso para evitar alguna discrepancia.
- Para ubicar el punto en el cual se tiene la máxima pendiente de pérdida de peso se puede utilizar el gráfico de apoyo de la primera derivada de peso respecto de la temperatura (Ver apartado 3.1 de Funciones principales del Software de Análisis de Termogramas TGA y DSC), el punto más alto del pico de la derivada que corresponda a la descomposición en cuestión es el punto en el cual se tiene su máxima pendiente de descomposición, es decir la mayor velocidad de pérdida de peso conforme aumenta la temperatura.

- Considerar que el mejor orden de trabajo para corridas sucesivas en TGA es de temperaturas mayores a temperaturas menores y de tiempos de isoterma mayores a menores para disminuir el número de limpiezas de charola (Ver el apartado 1.3.1 de Guía de Limpieza, Calibración y Uso del Analizador Termogravimétrico).
- En el caso de presencia de humedad o algún residuo de solvente que se volatiliza al inicio, restar a los porcentajes remanentes para trabajar sobre datos de base seca ó eliminar la humedad con ayuda de un desecador.
- Conforme se vayan generando los resultados es conveniente ir realizando los cálculos para conocer la tendencia de los gráficos que se van obteniendo; es posible que las temperaturas o tiempos de isoterma seleccionados no sean los adecuados, por lo cual, algunas veces es necesario realizar corridas adicionales en las que se modifiquen estos parámetros para poder seleccionar los datos obtenidos que den una mejor respuesta.

REPORTE DE DATOS

El reporte de datos de estudios de estabilidad puede contener todos o algunos de los siguientes puntos (Ver Anexo 6):

- **Identificación del Instrumento:** Nombre, modelo y marca del instrumento. Nombre y versión del software de análisis.
- **Identificación de la muestra:** Nombre y lote de la formulación y sus componentes, formulación, proveedor ó fabricante (si aplica) y peso de la muestra.
- **Condiciones de Corrida:** Tipo de gas de purga, flujo de gas de purga, modo de corrida, listado de los segmentos que conforma la corrida y sus valores.
- **Resultados:** Orden de reacción, energía de activación, factor preexponencial, constante de velocidad de degradación y T_{95} en años a una temperatura determinada, conclusiones, observaciones, ubicación de archivos, termogramas y tablas con valores de pendiente, intercepto, coeficiente de variación, coeficiente de correlación y coeficiente de determinación que sustenten los resultados reportados.
- **Bibliografía:** Incluir referencias de apoyo.

9. RESUMEN DE CONDICIONES DE CORRIDA PARA APLICACIONES DSC/TGA

Tabla 33. Condiciones de corrida para aplicaciones

	Pureza	Polimorfismo	Interacciones	Estabilidad
Instrumento	DSC	DSC	DSC	TGA
Tipo de Charola	Hermética Cerrada	Hermética Pinhole	Hermética	N/A
Peso de la muestra (mg)	1,3	1,3	Componentes individuales: 1 – 2 Mezclas: 4 - 6	10-15
Equilibrio	50°C antes de punto de fusión	-10°C	50°C antes del primer punto de fusión	Depende del material analizado
Condiciones de Modulación	1°C cada 60 seg	1°C cada 60 seg	1°C cada 60 seg	N/A
Isoterma (min)	5	5	5	65
Tasa de Calentamiento (°C/min)	1,10	1,10	1,10	5
Temperatura Final	20°C después de fusión ó T _{5%}	Ciclo 1: T _{2%} Ciclo 1: T _{5%}	20°C después de fusión ó T _{5%} del material menos estable	50°C después de la isoterma

CONCLUSIONES

Con este trabajo de tesis se logró desarrollar guías de limpieza, calibración y uso del analizador termogravimétrico y calorímetro diferencial de barrido, además se elaboraron guías de aplicaciones farmacéuticas como análisis de pureza, detección de polimorfos, estudio de interacciones fármaco-fármaco y fármaco-excipientes, así como, análisis de estabildades de sustancias farmacéuticas mediante la investigación, análisis, síntesis y organización de la información obtenida de artículos científicos, libros, manuales de operación y estudios de preformulación y formulación de medicamentos.

Para cada aplicación farmacéutica se consiguió generar un caso de estudio, los cuales ayudaron a lograr la descripción detallada de las recomendaciones mostradas en las guías y se enlistan a continuación:

- Estudio de pureza de Febantel materia prima.
- Detección de polimorfos en Benzocaina materia prima.
- Estudio de interacciones en una formulación de Glibenclamida.
- Análisis de estabilidad de una formulación de Glibenclamida.

Este trabajo retroalimenta la formación de los estudiantes de las licenciaturas de Químico Farmacéutico Biólogo y de Farmacia, así como al personal involucrado en estudios de desarrollo y control de calidad de medicamentos que labora en la industria farmacéutica.

GLOSARIO

Adsorción: Proceso por el cual átomos, iones o moléculas son atrapadas o retenidas en la superficie de un material.

Alumel: Aleación de aproximadamente 95% Níquel, 2% Magnesio, 2% Aluminio y 1% Silicio.

Atmósfera Controlada: Entorno del cual se conoce completamente su composición y comportamiento, su finalidad es evitar que se presente un evento no deseado que afecte los resultados.

Atmosfera inerte: Entorno en el que por su composición, no puede mantenerse una combustión. Se obtiene eliminando o disminuyendo la cantidad de oxígeno mediante su sustitución con un gas no comburente (Nitrógeno).

Calor: Suma de la energía cinética de todas las moléculas de un cuerpo.

Calorimetría: Técnica de análisis térmico que se encarga de la medición del calor de las reacciones químicas o cambios físicos de una sustancia.

Capacidad Calorífica: Cantidad de calor que hay que suministrar a toda la masa de una sustancia para elevar su temperatura en una unidad.

Carga de charolas: Acción de introducir la charola ya sea de TGA o DSC al horno o celda respectivamente.

Condición Insegura: Conjunto de condiciones físicas y materiales presentes en el entorno de trabajo que puedan originar un accidente a las personas que ahí laboran.

Contaminación (de la muestra): Cualquier partícula ajena no deseada a la muestra que se encuentre mezclada con ella.

Convección Térmica: Es un proceso por medio del cual el calor es transferido hacia un objeto ó hacia el entorno a través de un fluido.

Dado: Aditamento de la prensa que sirve de soporte para cerrar las charolas de referencia y muestra. Existen diferentes dados dependiendo del tipo de charola a usar.

Descarga de charola: Acción de retirar la charola ya sea de TGA o DSC del horno o celda.

Descomposición parcialmente inhibida: Tipo de degradación en la que se encuentra presente un compuesto principal donde ocurre la descomposición y compuestos secundarios que se encuentran ligados al principal evitando su descomposición total.

Diseño de experimentos: Estrategia para la recolección de información por medio de experimentos y métodos analíticos que permite obtener la mayor cantidad de información con el menor número de experimentos facilitando la determinación de las variables críticas en el desarrollo de una formulación.

Dispersión Eutéctica: Tipo de dispersión sólida formada por una mezcla de dos ó más compuestos químicos ó elementos cristalinos que son parte de una misma composición química.

Entalpía: Magnitud termodinámica cuya variación expresa una medida de la cantidad de energía absorbida o cedida por un sistema termodinámico. Cantidad de energía que un sistema puede intercambiar con su entorno.

Equilibrio: De un sistema, cuando no se aprecian cambios en las propiedades termodinámicas del mismo.

Energía de Activación: Energía mínima requerida para que una reacción química ocurra.

Energía Térmica: Conjunto de energía generada por la transición, rotación y vibración de los átomos o moléculas que componen un material. En el caso de los sólidos la energía térmica se expresa fundamentalmente por la vibración de sus átomos alrededor de sus posiciones de equilibrio en su red estructural.

Entorno: Todo lo que rodea el sistema.

Espacio de diseño: Combinación multidimensional de interacción de variables de entrada (atributos de material) y los parámetros del proceso que han demostrado garantizar la calidad.

Estado Estacionario: Un sistema físico está en estado estacionario cuando sus características no varían con el tiempo.

Etapas de Formulación: Etapa del desarrollo farmacéutico en la cual se seleccionan los componentes del medicamento, sus proporciones, proceso de manufactura y su control.

Etapas de Preformulación: Fase del desarrollo de medicamentos que involucra la aplicación de principios biofarmacéuticos a las propiedades físicas y químicas de principios activos y excipientes con el fin de diseñar una forma farmacéutica óptima y conocer los problemas que se pueden presentar durante el desarrollo de la misma para encaminarla al proceso de manufactura más adecuado. Se consideran estudios de preformulación: Determinación de solubilidad, pKa y coeficiente de partición, propiedades cristalinas y polimorfismo, tamaño de partícula, forma y área superficial, obtención de especificaciones para principios activos y productos nuevos y desarrollo de forma farmacéutica.

Factor Preexponencial: En la ecuación de Arrhenius es el símbolo de A, el cual involucra la frecuencia con que ocurren las colisiones y la orientación de las moléculas al colisionar.

Fecha de caducidad: Fecha que indica el fin del periodo de vida útil del medicamento.

Ferromagnetismo: Es un fenómeno físico en el que se produce ordenamiento magnético de todos los momentos magnéticos de una muestra, en la misma dirección y sentido.

Flujo de Calor: También conocido como transferencia de calor o intercambio de calor es el movimiento de calor de un lugar a otro, cuando un cuerpo tiene una

temperatura diferente a la de su entorno ocurre el flujo de calor de tal forma que el cuerpo y el entorno buscan tener la misma temperatura.

Función de estado: (o variable de estado) Es una magnitud física macroscópica que caracteriza el estado de un sistema en equilibrio, depende solo del estado termodinámico actual en que se encuentre el sistema, sin importar cómo llegó a él. Algunas variables de estado de un sistema en equilibrio son: energía interna, la presión, la temperatura, el volumen, la entalpía, la entropía, la densidad y polarización.

Hombro: Curva en el termograma que se observa como una caída del porcentaje de peso desde una región estable en el termograma hasta la siguiente región estable.

Hombro de descomposición: Curva en el termograma que muestra una pérdida de peso y generalmente se distingue por: (a) coincide con el valor de temperatura de descomposición reportada en la literatura; (b) en materiales higroscópicos, generalmente corresponde al segundo hombro y se encuentra a una temperatura distinta al punto de ebullición del agua (98.2°C); (c) en hidratos, solvatos y materiales no higroscópicos, corresponde al primer hombro.

Interacción: En términos de este trabajo, situación en la que 2 o más sustancias ejercen entre sí una acción o influencia física.

Masa: Magnitud física que permite expresar la cantidad de materia que contiene un cuerpo. Su unidad en SI es el Kg.

Material Certificado: Aquel que tiene la finalidad de servir como patrón de referencia para la medición de cantidad de sustancia, propiedades fisicoquímicas, físicas o mecánicas.

Material Ferromagnético: Es aquel que puede presentar ferromagnetismo.

Material Paramagnético: Material atraído por imanes que no se magnetiza de forma permanente.

Modulación: En análisis térmico se refiere a un calentamiento en forma sinusoidal y no lineal como comúnmente se acostumbra.

Potencial Termodinámico: Función escalar utilizada para representar el estado termodinámico de un sistema, describe la cantidad de energía potencial disponible en el sistema termodinámico sujeta a ciertas restricciones, sirven para predecir bajo las restricciones impuestas que cambios termodinámicos serán espontáneos y cuales necesitarán aporte energético.

Los cuatro potenciales termodinámicos más comunes son: Energía Interna, Energía libre de Helmholtz (potencial termodinámico a volumen constante), Entalpia y Energía Libre de Gibbs (Potencial termodinámico a presión constante).

Presión Interna: Medida del cambio de la energía interna de un sistema cuando éste se expande o contrae a una temperatura constante.

Proceso Espontáneo: Es un proceso que termodinámicamente es favorecido, ejemplo de esto son los procesos exotérmicos.

Producto de Degradación Térmica: Toda aquella sustancia química resultante de la descomposición parcial o total de un material, producida por el cambio de temperatura.

Rampa: Nombre común que se le da al segmento de la corrida en el cual se indica la velocidad de calentamiento.

Región estable: Parte del termograma que en la primera derivada respecto a la temperatura se muestra como una línea horizontal.

Registro: Evidencia documentada de la realización de alguna actividad.

Relajación Entálpica: Proceso que ocurre por debajo de la transición vítrea en el cual un material meta estable se relaja hacia su estado de equilibrio, ocurre cuando una muestra es enfriada por debajo de su T_g o es almacenada a temperaturas debajo de su T_g .

Resolución: Es la capacidad para separar dos transiciones que ocurren a temperaturas muy cercanas.

Reproducibilidad: Capacidad de un método para ser repetido.

Ruido: Fluctuaciones aleatorias que llegan a presentarse en la señal de un instrumento y son inherentes a él, es una señal no deseada que tiende a dificultar la recepción y la reproducción precisa de señales deseadas. Está siempre presente en los sistemas electrónicos.

Sensibilidad: Es la capacidad para detectar y analizar la transición de interés.

Sistema: Parte del universo que se encuentra bajo estudio.

Temperatura: Es la medida de la cantidad de energía térmica. Se define a través de unidades arbitrarias.

Termograma: Representación gráfica que muestra el comportamiento de una propiedad (peso, capacidad calorífica, flujo de calor, etc.) respecto al aumento ó disminución de temperatura en una muestra.

Termopar: Dispositivo para medir temperatura, el cual está formado por dos alambres de distintos metales o aleaciones metálicas, soldados por uno de sus extremos para formar la unión o punta del termopar. Una vez formada la punta del termopar, en el extremo opuesto (terminal) del termopar se genera un voltaje del orden de los milivoltios que puede ser fácilmente medido y registrado. El voltaje generado es función del tipo de termopar y de la temperatura a la que se encuentre la punta del termopar.

Tiempo: Magnitud física de medición de la duración o separación de acontecimientos sujetos a un cambio.

Tiempo de vida: Periodo útil de algún material, equipo, instrumento o accesorio.

Trabajo: Es la energía transferida de un sistema a otro.

Transición térmica: Cambios endotérmicos ó exotérmicos que se presentan en un material al ser calentado o enfriado (procesos de fusión, cristalización ó descomposición, transición vítrea, etc.)

Velocidad: Magnitud física que expresa el cambio de alguna propiedad de la sustancia analizada por unidad de tiempo.

Velocidad o tasa de calentamiento: Variación de la temperatura con respecto al tiempo sus unidades son °C/min.

Volumen: Magnitud que involucra las tres dimensiones y define el espacio que ocupa un cuerpo. Su unidad en SI es el m³.

REFERENCIAS

1. Calorimetry Sciences Corporation. (2006). *The Pharmaceutical Scientist's Guide to Calorimetry*. Florida: CRC Press.
2. American Chemical Society. (1998). *Chemistry Comes Alive!* Recuperado el Agosto de 2010, de <http://jchemed.chem.wisc.edu/JCESoft/CCA/CCA2/MAIN/CURIE/CD2R1.HTM>
3. Amezquita, L. (12 de Marzo de 2010). Instalación y Calibración DSC y TGA. (D. C. Palomino, Entrevistador)
4. Bhadeshia, H. (s.f.). *University of Cambridge - Department of Materials Science & Metallurgy*. Recuperado el 16 de octubre de 2010, de University of Cambridge - Department of Materials Science & Metallurgy: <http://www.msm.com>
5. Brown, M. E. (2004). *introduction to Thermal Analysis; Techniques and Applications*. New York: Kluwer Academic Publishers.
6. Brown, M. (1998). *Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry*. Ohio: Elsevier.
7. Carstensen, J. (1998). *Pharmaceutical Preformulation*. Londres: CRC Press.
8. Cassel, B. (s.f.). *Purity Determination and DSC Tzero Technology*. Recuperado el 15 de Agosto de 2010, de TA Instruments: http://www.tainstruments.co.jp/application/pdf/Thermal_Library/Applications_Briefs/TA295a.PDF
9. Castellan. (1987). *Fisicoquímica*. México: Addison Weasley.
10. Cervantes, A., Díaz, J. L., Sarabia, M., & Rivera, P. (2009). *Estabilidad de Fármacos y Medicamentos*. México: UNAM.
11. Craig, D., & Reading, M. (2007). *Thermal Analysis of Pharmaceuticals*. Florida: CRC Press.
12. Dallas, G. (2006). Taking Thermogravimetric Analysis to a New Level of Performances and Convenience. EUA: American Laboratory.
13. Dominguez, M. A. (27 de Marzo de 2010). Capacitación en Análisis Térmico. (M. M. Santoyo, Entrevistador)

14. FDA. (s.f.). *Slideshare*. Recuperado el 9 de septiembre de 2010, de Slideshare: <http://www.slideshare.net>
15. Freeman, T. (1 de junio de 2010). *PharmPro*. Recuperado el 10 de septiembre de 2010, de PharmPro: <http://www.pharmpro.com>
16. Friedli, G. (1997). *Dr. George Lousi Friedli Website*. Recuperado el 27 de mayo de 2010, de <http://www.friedli.com/research/PhD/Dsc/chap3.html>
17. Gabbott, P. (2008). *Principles and Applications of Thermal Analysis*. Singapur: Blackwell Publishing.
18. Giron, D. (1995). Thermal Analysis and Calorimetric Methods in the Characterisation of Polymorphs and Solvates. *Thermichinica Acta* , 1-4.
19. Gobbi, A. (s.f.). *IB*. Recuperado el 23 de septiembre de 2010, de IB: <http://www.2.ib.edu.ar>
20. Gray, C. (2008). *Cleaning of DSC Pans*. Recuperado el 23 de Marzo de 2010, de TA Instruments: www.tainstruments.com
21. Haines, J. (2002). *Principles of Thermal Analysis and Calorimetry*. Cambridge: Informa Health Care.
22. Hernández, E. (1996). *Estudio sobre la Interacción Fármaco-Excipiente usando como Modelo la Molécula de Naproxen*. Mexico: UNAM.
23. ICH. (2008). Pharmaceutical Development Q8. Inglaterra.
24. Isirikyan, A., & Sakharov, N. (2010). Use of Peltier Effect in Calorimetry. *Russian Chemical Bulletin* , 1307-1309.
25. Jung, H., Sánchez, E. Y., & Hernández, V. (s.f.). Importancia del Polimorfismo en la Industria Farmacéutica. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* , 55-76.
26. Kniebes, D. (1992). *Patente nº 5100244*. EUA.
27. Kolthof, I., & Elving, P. (1993). *Treatise on Analytical Chemistry*. Londres: Wiley.
28. Mathkar, S., Kumar, S., & Olawoore, K. (2009). The Use of Differential Scanning Calorimetry for the Purity Verification of Pharmaceutical Reference Standards. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* , 627-631.

29. Mettler Toledo. (s.f.). *Mettler Toledo Support*. Recuperado el 25 de Agosto de 2010, de http://pl.mt.com/global/pl/home/supportive_content/product_documentation/product_brochures/stare_purity_datasheet.rxHgAwXLlLnPBMDszq--.MediaFileComponent.html/51724796.pdf.
30. Mettler Toledo. (14 de Junio de 2000). *Mettler Toledo UserCom*. Recuperado el 5 de Abril de 2010, de <http://files.instrument.com.cn/FilesCenter/20091125/SH100270-117235.pdf>
31. MicroCal. (s.f.). *MicroCal*. Recuperado el 25 de Octubre de 2010, de <http://www.microcal.com/technology/itc.asp>
32. Miranda, E. (2007). *Estudio de Interacciones Fármaco-Excipiente en el Estado Sólido mediante el uso de Análisis Térmico*. México: UNAM.
33. Miranda, E. (2007). *Estudio de Interacciones Fármaco-Excipiente en el Estado Sólido mediante el uso de Análisis Térmico*. México: UNAM.
34. Ozawa, T., & K, K. (1996). Heat Capacity Measurements by Dynamic Differential Scanning Calorimetry. *Thermochimica Acta* , 39-51.
35. Pierce, M., Raman, C., & Nall, B. (1999). Isothermal Titration Calorimetry of Protein -Protein Interactions. *Methods* , 213-221.
36. Qui, Y., & Chen, Y. (2009). *Developing Oral Dosage Forms: Pharmaceutical Theory and Practice*. Londres: Academic Press.
37. Rawlinson, C. (2006). Differential Scanning Calorimetry: "Cooking with Chemicals". Bradford, West Yorkshire, Inglaterra.
38. Ronald, D. (23 de marzo de 2010). *Implementing Quality by Design*. Recuperado el 10 de septiembre de 2010, de PharmPro: <http://www.pharmpro.com>
39. Saniger, J. (2010). Notas de Análisis Térmico., (pág. 59). México.
40. Scypinsky, S. (2001). *Handbook of Modern Pharmaceutical Analysis*. Londres: Academic Press.
41. Souza, A., & Santos, A. (2010). Determination of the Melting Temperature, Heat of Fusion and Purity Analysis of different samples of Zidovudine (AZT) using DSC. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* , 37-44.

42. TA Instruments. (Junio de 2006). *TA Instruments*. Recuperado el Agosto de 2010, de <http://www.TAInstruemnts.com>
43. TA Instruments. (2008). *TA Instruments*. Recuperado el 19 de Febrero de 2010, de http://www.tainstruments.com/main.aspx?n=2&id=181&main_id=395&siteid=11
44. The Engineering ToolBox. (s.f.). *The Engineering ToolBox*. Recuperado el 2010 de Noviembre de 27, de http://www.engineeringtoolbox.com/melting-temperature-metals-d_860.html
45. Thomas. (2005). *Characterization of Pharmaceutical Materials by Thermal Analysis*. Recuperado el 2010 de Agosto de 15, de <http://www.tainstruments.com>
46. Thomas, C., Danley, R., & Potter, A. (2005). *Characterization of Polymorphs in Tolbutamide*. New Castle: TA.
47. Tong, W. (19 de Julio de 2006). *Pharamceutical Preformulation*. Recuperado el 2010 de Aagosto de 23, de <http://www.pharmacy.utah.edu>
48. Warshauer, D. (s.f.). *Wisconsin State Laboratory of Hygiene*. Recuperado el 17 de Noviembre de 2010, de <http://www.slh.wisc.edu/dotAsset/18239.pdf>
49. Wiese, M. (2004). *DSC Detectiob of Polymorphism in Pharmaceutical Anhydrous Dexamethasone Acetate*. Alzenau: TA.
50. Wunderlich, B. (2005). *Thermal Analysis of Polymeric Materials*. Tenesse: Springer.
51. Yoshida, M., Lima, E. D., & Oliveira, M. (2010). Thermal Analysis Applied to Verapamil Hydrochloride Characterization in Pharmaceutical Formulations. *Molecules* , 2439-2452.

Anexos

Las tablas y termogramas mostradas en los anexos 3, 4, 5 y 6 son ejemplos de formatos que muestran la información que puede contener el reporte de resultados de cada una de las aplicaciones mencionadas en esta tesis, no son limitativos ni tampoco obligatorias, la información que se incluya en el reporte de resultados queda a criterio del usuario. Estos formatos contienen información que identifica la muestra, el instrumento, condiciones de corrida, termogramas obtenidos y los resultados que de este se obtuvieron, así como algunos comentarios del termograma o dictamen en los casos que aplica.

ANEXO 1 - CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO DE TEMPERATURA MODULADA.

MDSC puede medir por separado las respuestas de flujo de calor y capacidad calorífica por procesos reversibles e irreversibles basándose en el hecho que el comportamiento de la muestra hacia un calentamiento ó enfriamiento modulado es diferente que hacia un calentamiento lineal convencional. Esto representa una gran ventaja sobre DSC convencional, pues, al separar las respuestas de la muestra se pueden definir mejor las transiciones que ésta sufre.

La separación de señales por MDSC proporciona mayor información acerca de las transiciones de una muestra que DSC convencional:

- Medición de capacidad calorífica
- Aumento de sensibilidad para transiciones débiles
- Aumento de resolución sin disminución de sensibilidad
- Detección de transiciones simultáneas y fenómenos ocultos
- Detección de transiciones vítreas

Los procesos que se pueden detectar en las señales reversibles e irreversibles en MDSC son diversos, sin embargo, la detección de las principales transiciones que puede sufrir una muestra se da según lo siguiente:

Tabla 1. Detección de transiciones en señales reversibles y no reversibles

Señal Reversible	Señal No Reversible
Fusión	Cristalización
Polimorfismo	Curado
Transición vítrea	Polimorfismo
	Evaporación

En los experimentos con MDSC se recomiendan grandes periodos (cerca de 80segundos) y grandes amplitudes de modulación ($\pm 0.5^{\circ}\text{C}/\text{segundo}$ a $\pm 1.0^{\circ}\text{C}/\text{segundo}$). El uso de periodos largos resulta en la máxima exactitud mientras que una amplitud de modulación grande mejora la separación del ruido de la señal del flujo modulado.

*ANEXO 2 – DESCRIPCIÓN DE SEGMENTOS DE PROGRAMACIÓN EN
CORRIDAS DSC Y TGA*

A. SEGMENTOS PRINCIPALES - SEGMENTOS QUE COMPARTEN DSC Y TGA

Segmento	Descripción
<p>EQUILIBRAR</p>  Equilibrate	<p>Lleva al horno ó la celda a una temperatura determinada. Al llegar a ésta temperatura se activa inmediatamente el siguiente segmento.</p>
<p>TEMPERATURA INICIAL</p>  Initial temperature	<p>Estabiliza a una temperatura determinada y la conserva hasta que un experimento se inicie de manera manual.</p>
<p>ISOTERMA</p>  Isothermal	<p>Marca el tiempo que el instrumento mantendrá una temperatura especificada.</p>
<p>RAMPA</p>  Ramp	<p>Calienta el horno TGA a una velocidad constante hasta una temperatura final.</p> <p>Calienta ó enfría la celda DSC a una velocidad constante hasta una temperatura final.</p>
<p>PASO</p>  Step	<p>Provoca saltos en la temperatura a intervalos de tiempo especificados hasta una temperatura final.</p>
<p>REPETIR</p>  Repeat	<p>Repite toda la secuencia de segmentos programada.</p>
<p>DETENER SIGUIENTE SEGMENTO EN LÍMITE</p>  Abort next segment on limit	<p>Finaliza un segmento cuando se reúnen ciertas condiciones como porcentaje de pérdida, cambio en el flujo de calor, altura de pico, etc.</p>

A. SEGMENTOS PRINCIPALES - Continuación

Segmento	Descripción
INTERVALO DE MUESTREO DE DATOS  Sampling interval	Establece el intervalo de tiempo de lectura de la temperatura.
ALMACENAMIENTO DE DATOS  Data storage	Guarda los datos obtenidos a partir de los segmentos posteriores.
REGULACIÓN DEL DESEMPEÑO DEL HORNO  Heater PID	Se utiliza para cambiar el desempeño del horno del instrumento durante la ejecución de un método térmico. PID significa Proporcional, Integral y Derivativo, los tres modos del control de temperatura. El segmento Heater PID especifica coeficientes para cada modo de control de temperatura.
FIN DE CICLO  Mark end of cycle	Indica el término de una secuencia de segmentos.
SELECCIÓN DE GAS  Gas selection	Permite la selección entre gases de purga.
TASA DE FLUJO  Flow Rate	Establece una velocidad de flujo para la entrada del gas de purga al horno.

B. SEGMENTOS ADICIONALES

1. SEGMENTOS DSC

Segmento	Descripción
ENFRIADOR  External event	Activa las funciones de enfriamiento en el caso de sistemas que utilizan gases refrigerantes.
MODULAR TEMPERATURA  Modulate temperature	Introduce una amplitud de temperatura de modulación y frecuencia de modulación a una rampa ó isoterma subsiguiente.
LLENAR ENFRIADOR  Fill Cooler	Controla el sistema de enfriamiento con nitrógeno líquido cuando el porcentaje de éste cae por debajo de un valor establecido durante un experimento.

2. SEGMENTOS TGA

Segmento	Descripción
RAMPA DE ALTA RESOLUCIÓN  High resolution ramp	Aumenta ó disminuye la temperatura en respuesta a cambios en la velocidad de descomposición de la muestra hasta una temperatura final para mejorar la resolución de cambio de peso.
SENSIBILIDAD DE ALTA RESOLUCIÓN  High resolution sensitivity	Establece un parámetro de sensibilidad asociado a los segmentos de rampa de alta resolución que pueden ser usados para ajustar la temperatura. Esto es necesario debido a una variación en los mecanismos de descomposición de materiales. La configuración de sensibilidad es un número adimensional que va del 1.0 (baja sensibilidad) al 8.0 (alta sensibilidad). El aumento de sensibilidad tiende a aumentar el tiempo del experimento.

2. SEGMENTOS TGA. *Continuación*

Segmento	Descripción
AIRE COMPRIMIDO  Air Cool	Activa el sistema de enfriamiento por aire comprimido. Por debajo de los 600C
MODULAR TEMPERATURA  TGA modulate	Activa la opción de modulación de temperatura.

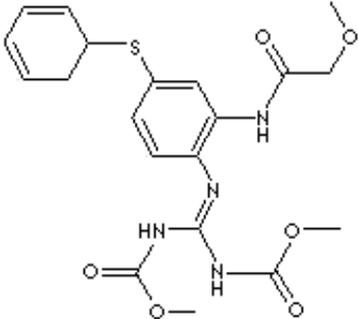
C. NOTA ADICIONAL

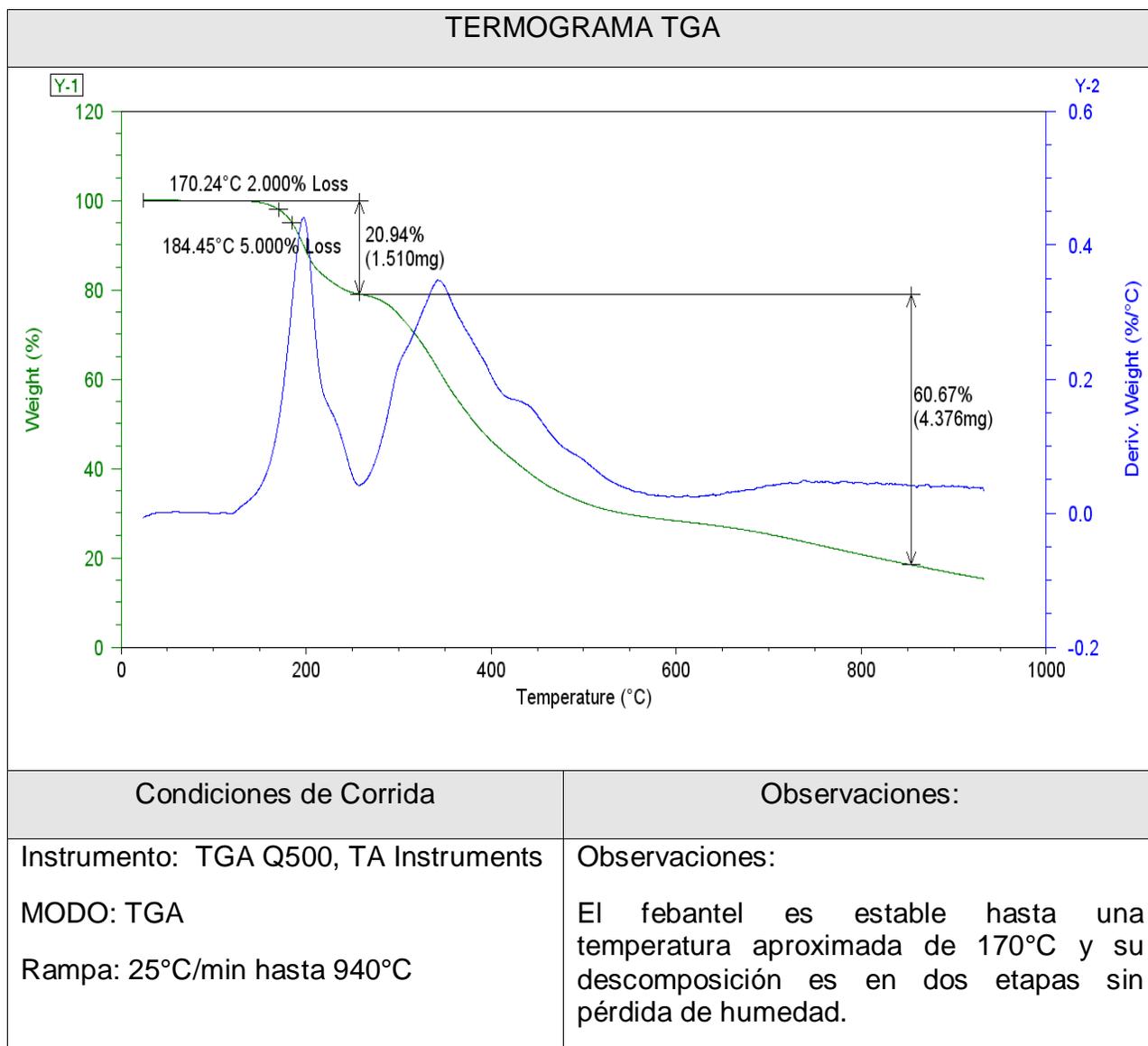
Se debe tomar en cuenta que los segmentos forman una secuencia, por ello el orden es importante. Dependiendo del software, serán los requerimientos que se establecen para programar una corrida. Un ejemplo de ellos se encuentra en la siguiente figura:

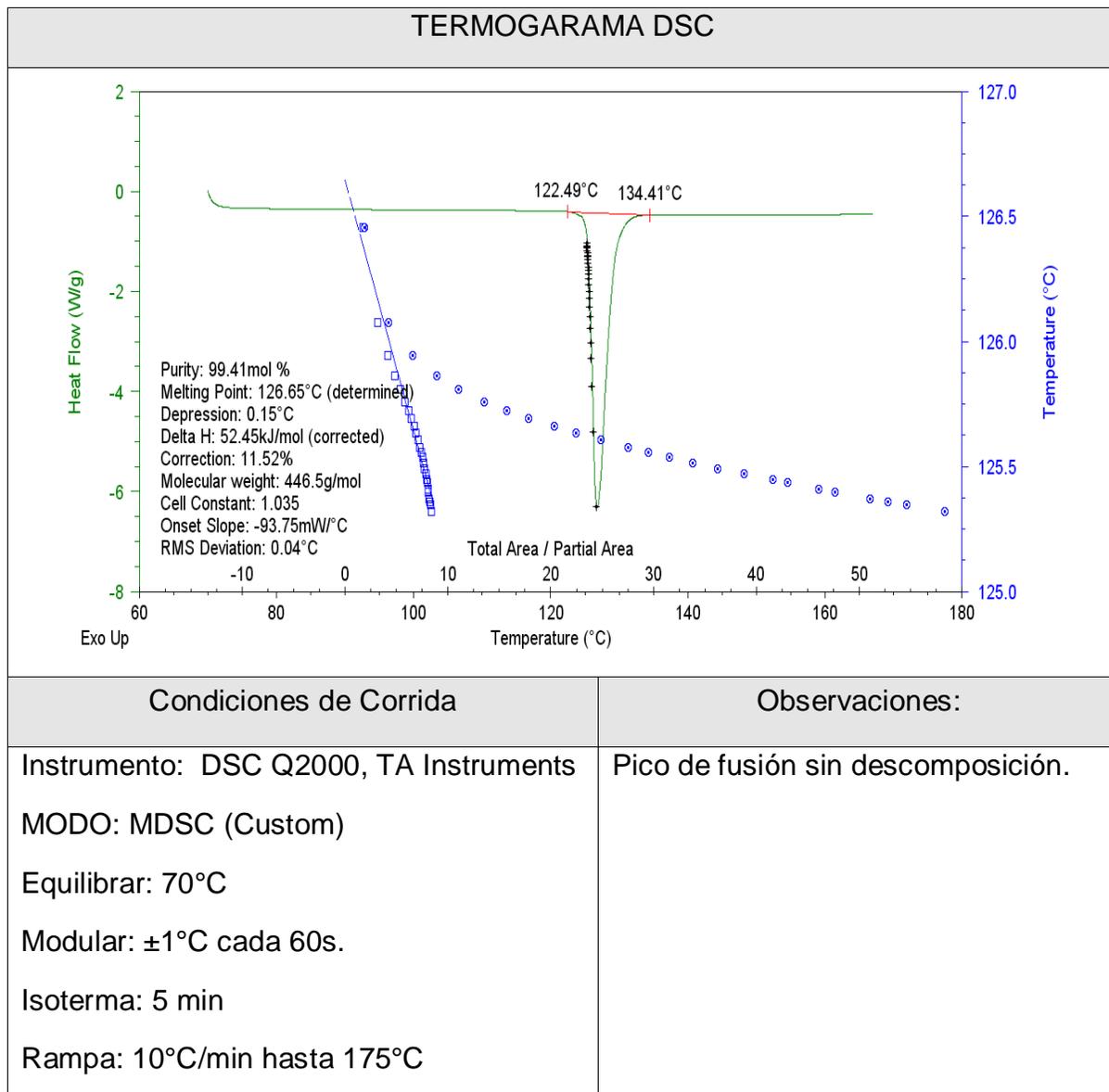
#	Running Segment Description
1	 Equilibrate at -10.00 °C
2	 Modulate ± 1.000 °C every 60 s
3	 Isothermal for 5.00 min
4	 Ramp 10.000 °C/min to Temperatura del 2% de descomposición
5	 Mark end of cycle 1
6	 Modulate ± 1.000 °C every 60 s
7	 Ramp 10.000 °C/min to -10.00 °C
8	 Mark end of cycle 2
9	 Modulate ± 1.000 °C every 60 s
10	 Ramp 10.000 °C/min to Temperatura del 5% de descomposición
11	 Mark end of cycle 3

Figura 1. Secuencia de Segmentos para Prueba de Polimorfismo

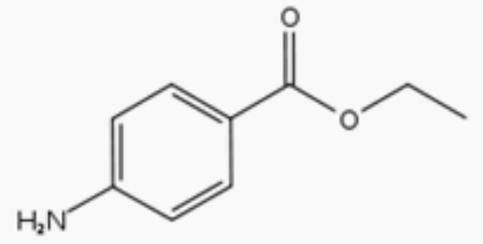
ANEXO 3 - ANÁLISIS DE PUREZA – EJEMPLO

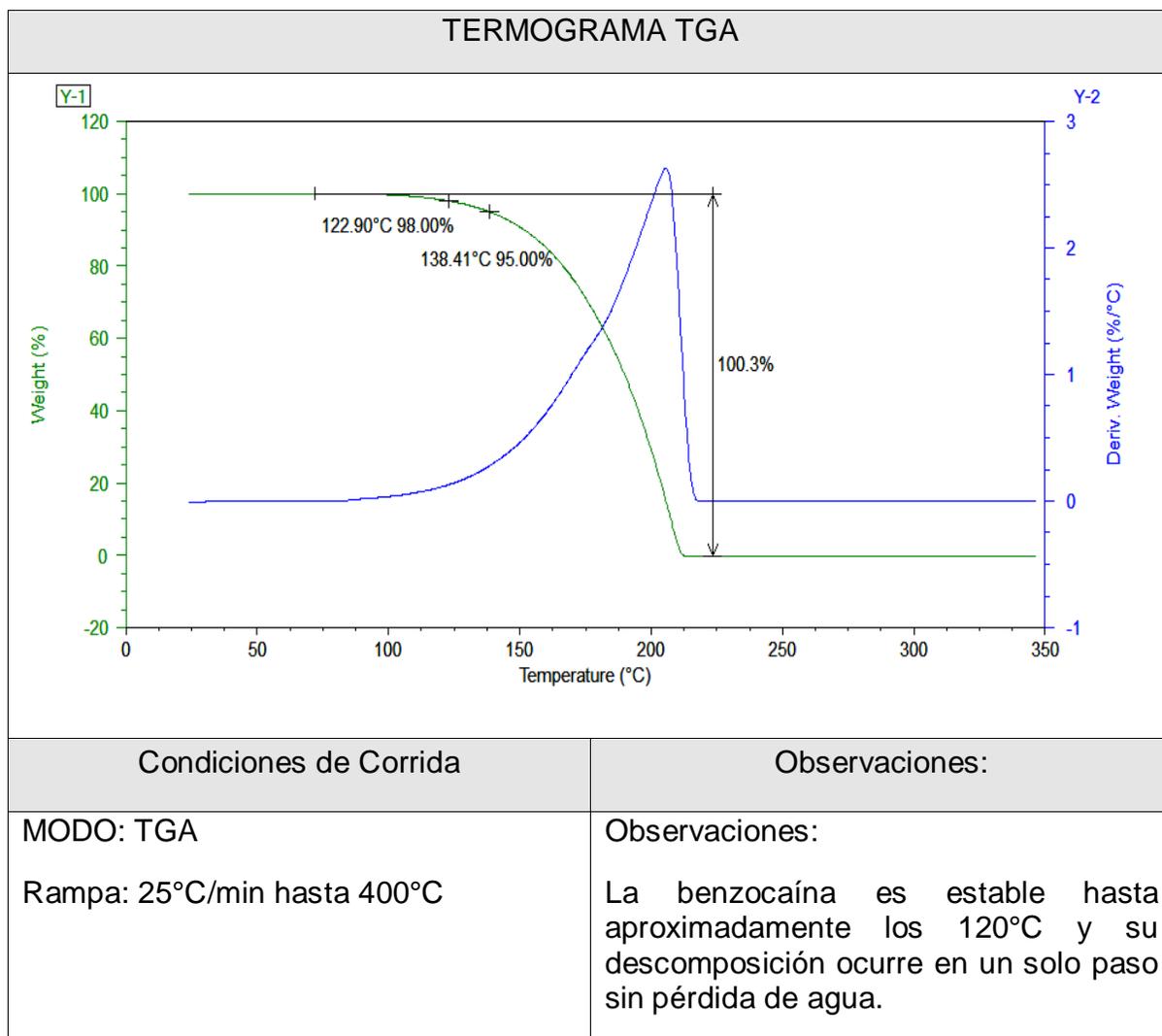
Características Generales	Nombre	Febantel	
	Fabricante	Blue Hill International Trading Co.	
	Lote	N87654	
	Estructura Molecular		
Peso Molecular	446.48 g/mol		
Información de Termogramas	Temp. 5% Desc. (°C)	184.45	
	Temp. 2% Desc(°C)	170.24	
	% Humedad	N/A	
	Tipo De Fusión	Verdadera	
	Temp. Fusión (°C)	126.65	
	Onset Temp (°C)	125.5	
	Peso de la Muestra (mg)	3.69	
	Entalpía (J/g)	105.2	
	Transición Vítre (°C)	Inicio	Fin
		N/A	N/A
	Temp. Cristalización (°C)	N/A	
	Análisis Realizados	Pureza	
Polimorfismo	No Presenta		
Pureza (%)	99.41		



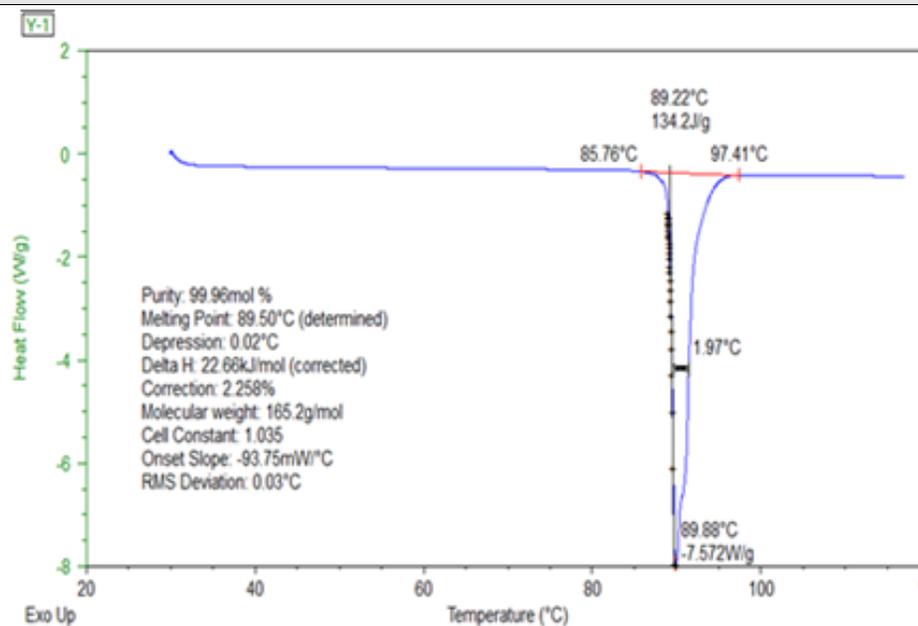


ANEXO 4 - IDENTIFICACIÓN GENERAL DE POLIMORFOS – EJEMPLO

Características Generales	Nombre	Benzocaína	
	Fabricante	LK UK TRADE	
	Lote	L-987-745	
	Estructura Molecular		
Peso Molecular	165.189 g/mol		
Información de Termogramas	Temp. 5% Desc. (°C)	138.41	
	Temp. 2% Desc(°C)	122.90	
	% Humedad	N/A	
	Tipo De Fusión	Verdadera	
	Temp. Fusión (°C)	89.88	
	Onset Temp (°C)	89.22	
	Peso de la Muestra (mg)	3.53	
	Entalpía (J/g)	134.2	
	Transición Vítre (°C)	Inicio	Fin
		N/A	N/A
	Temp. Cristalización (°C)	N/A	
	Análisis Realizados	Pureza, Polimorfismo	
Polimorfismo	Presenta		
Pureza (%)	99.96		



TERMOGRAMA DSC



Condiciones de Corrida

Observaciones:

Instrumento: DSC Q2000, TA Instruments

MODO: DSC

Equilibrar: 30

Isoterma: 5 min

Rampa: 10°C/min hasta 120°C

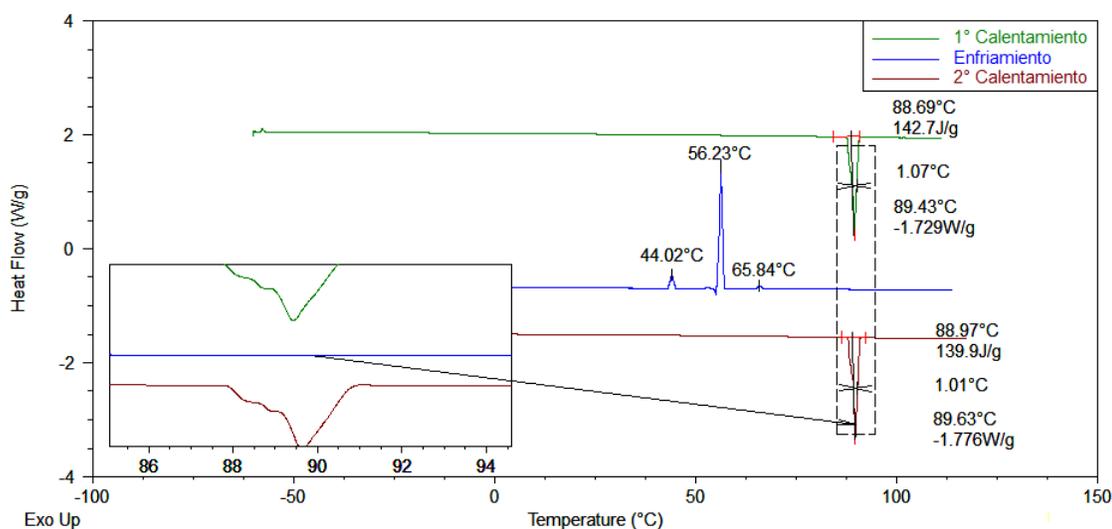
Observaciones:

Se observa un pico de fusión con un ancho de 1.97°C. Sin descomposición.

INFORME DE POLIMORFISMO

Polimorfos reportados en la literatura: 2	Polimorfo	Temp. Fusión (°C)
	I	N/A
Fuente(s): Ferrero M., Faudone S. Polimorfismo de la Benzocaína dependiendo la Concentración de Solventes. <i>Reunión de la Asociación Argentina de Cristalografía. 2008.</i>	II	N/A
Polimorfo Proporcionado por el Fabricante	N/A	

TERMOGRAMA DSC Q2000



CONDICIONES DE CORRIDA

Instrumento DSC Q2000 TA Instruments	Equilibrar: -10°C
MODO: MDSC (Custom)	Modular: ±1°C cada 60s.
Peso de la Muestra: 1.03mg	Isoterma: 5 min
	Rampa: 1°C/min hasta 120°C
	Fin de Ciclo: 1
	Modular: ±1°C cada 60s.
	Rampa: 1°C/min hasta -10°C
	Fin de Ciclo: 2
	Modular: ±1°C cada 60s.
	Rampa: 1°C/min hasta 120°C
	Fin de Ciclo: 3

INFORMACIÓN DEL TERMOGRAMA					
Evento Endotérmico	Temperatura (°C)	Entalpía (J/g)	Onset Temp. (°C)	Evento Exotérmico	Temperatura Máxima (°C)
I(1,3)	89.43	142.7	88.69	I	65.84
N/A	N/A	N/A	N/A	II	56.23
N/A	N/A	N/A	N/A	III	44.02
Observaciones:					
Los datos obtenidos muestran que el polimorfo que se encuentra en mayor cantidad es el que muestra un pico de cristalización más grande (II).					

ANEXO 5 - DETECCIÓN DE INTERACCIONES FÁRMACO-FÁRMACO / FÁRMACO-EXCIPIENTE

OBJETIVO					
Análisis general de compatibilidad					
FORMULACIÓN					
Ingrediente	Lote	Cantidad (mg)	Ingrediente	Lote	Cantidad (mg)
Glibenclamida	N/A	N/A	Lactosa	N/A	N/A
Povidona	N/A	N/A	Estearato de Mg	N/A	N/A
RESULTADOS					
Mezcla			Proporción		
			Máxima¹	Mínima	Formulación
Glibenclamida/Lactosa			Interacción	N/A	Interacción
Glibenclamida/Estearato de Magnesio			Interacción	N/A	No Interacción
CONCLUSIONES					
La formulación de Glibenclamida, Lactosa y Estearato de Magnesio no muestra una interacción que afecte a las características del principio activo Glibenclamida.					
OBSERVACIONES					
<p>En caso de encontrar una interacción se recomienda revisar que esta no afecte las propiedades mecánicas, físicas y químicas de la formulación, para ello realizar estudios reológicos, perfiles de disolución y estudios de estabilidad. No todas las interacciones son perjudiciales para la formulación.</p> <p>Este análisis es efectivo únicamente para las condiciones establecidas y la formulación planteada; si se modifican proporciones de la formulación este análisis puede orientar al formulador para suponer las consecuencias que estos cambios conllevan.</p>					

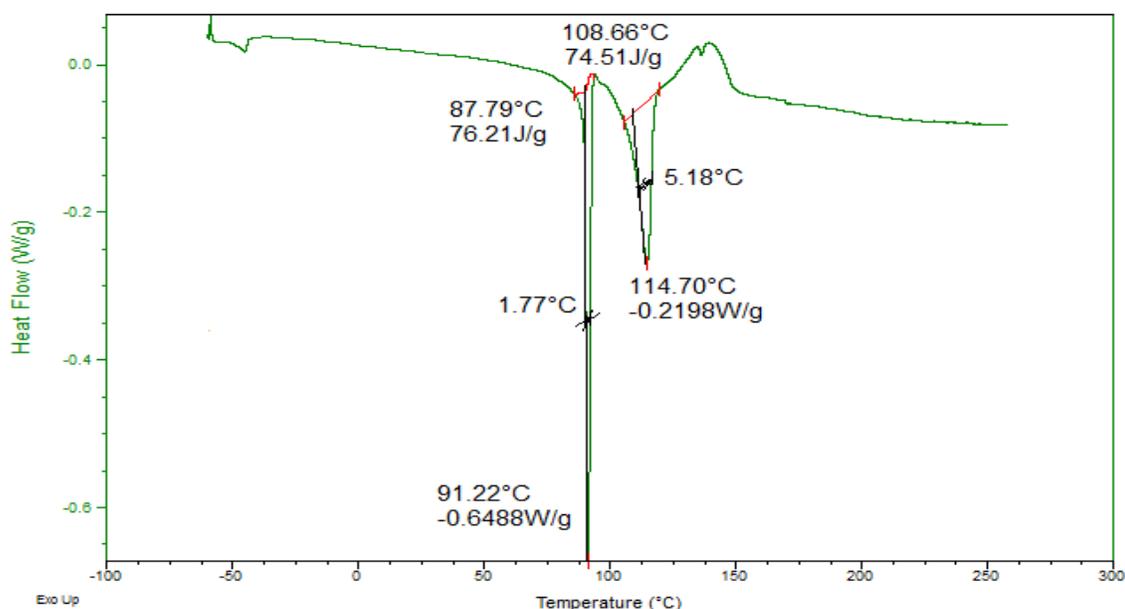
¹ Proporción 1:1

TABLA 1. TERMOGRAMAS DE INGREDIENTES POR SEPARADO

TERMOGRAMA		
Muestra: Glibenclamida		
<p>Heat Flow (W/g)</p> <p>Temperature (°C)</p> <p>160.80°C 83.09(106.9)J/g</p> <p>155.52°C 23.80J/g</p> <p>159.11°C -0.1009W/g</p> <p>5.40°C</p> <p>166.44°C -0.2152W/g</p> <p>Exo Up</p>		
<p>Observaciones: El termograma muestra un pico endotérmico escalonado, lo que evidencia la presencia de dos polimorfos con temperaturas de fusión cercanas.</p> <p>La glibenclamida tiene dos polimorfos, el primero tiene un punto de fusión de 159.11°C, un onset point de 155.52°C y un valor de entalpía de: 23.80J/g; el segundo polimorfo tiene un punto de fusión de 166.44°C, un onset point de 160.80°C y un valor de entalpía de: 83.09J/g a las condiciones de corrida establecidas.</p>		
Peso	1.170 mg	
Método	Equilibrar	-50°C
	Modular	±1°C cada 60s
	Isoterma	5min
	Rampa	1°C/min hasta 250°C

TERMOGRAMA

Muestra: Estearato de Magnesio



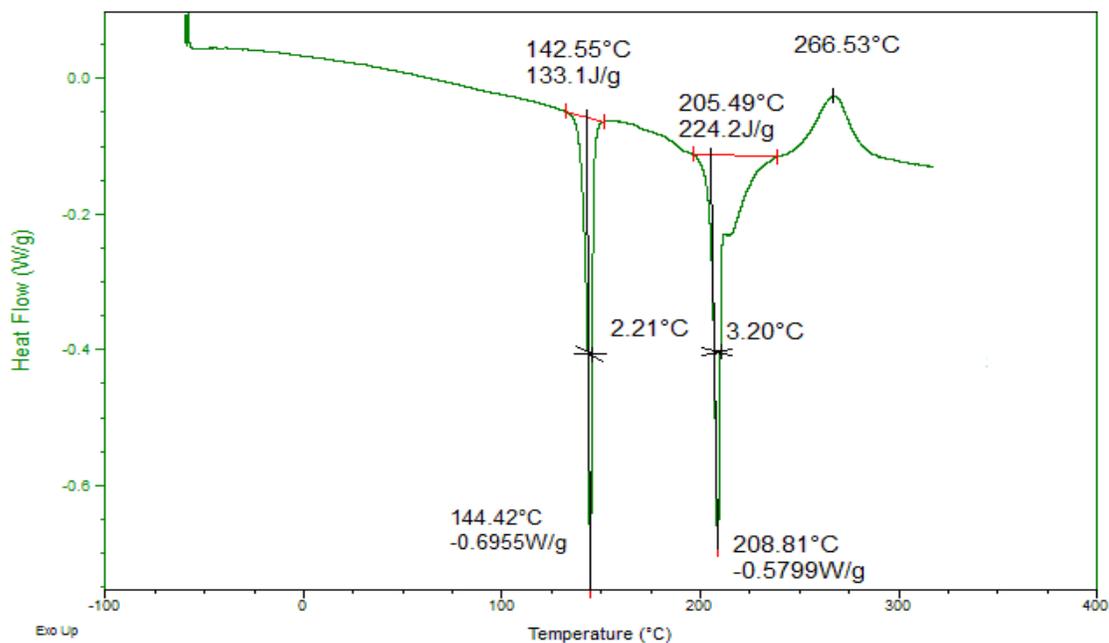
Observaciones: El termograma muestra dos picos endotérmicos correspondientes a dos formas de estearato de magnesio, presenta polimorfismo.

El primer polimorfo observado tiene un punto de fusión de 91.22°C, un onset point de 87.79°C y un valor de entalpía de: 76.21J/g; el segundo polimorfo tiene un punto de fusión de 114.70°C, un onset point de 108.66°C y un valor de entalpía de: 74.51J/g a las condiciones de corrida establecidas

Peso	1.100mg	
Método	Equilibrar	-50°C
	Modular	±1°C cada 60s
	Isoterma	5min
	Rampa	1°C/min hasta 260°C

TERMOGRAMA

Muestra: Lactosa (povidona, crospovidona).

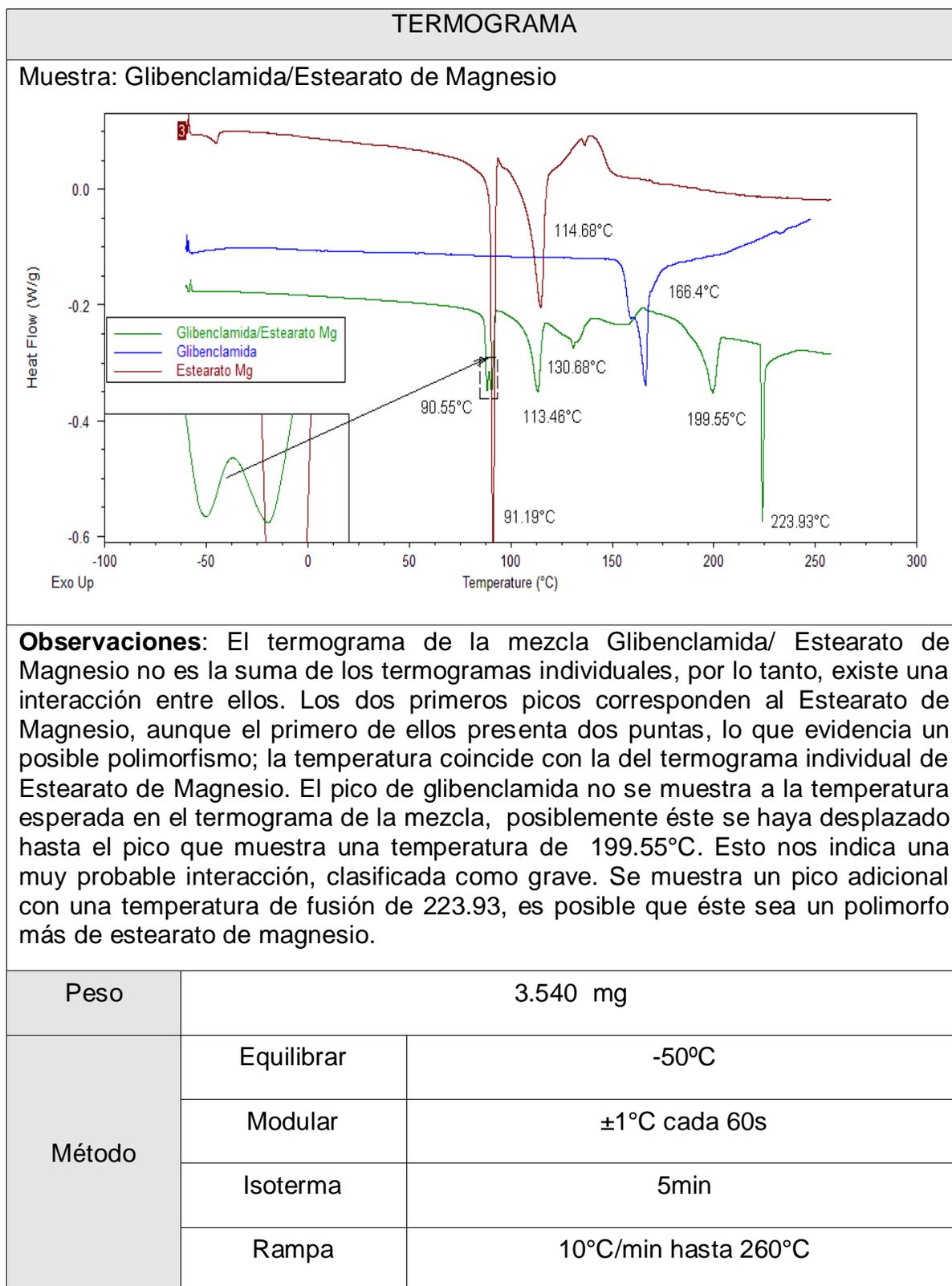


Observaciones: El termograma muestra dos picos endotérmicos correspondientes a crospovidona-povidona y lactosa monohidratada.

El primer pico observado corresponde a la fusión de crospovidona/povidona y tiene un punto de fusión de 144.42°C, un onset point de 142.55°C y un valor de entalpía de: 133.1J/g; el segundo pico corresponde a lactosa monohidratada y tiene un punto de fusión de 208.81°C, un onset point de 205.49°C y un valor de entalpía de: 224.2J/g a las condiciones de corrida establecidas. Se muestra un pico exotérmico con temperatura de 266.53°C.

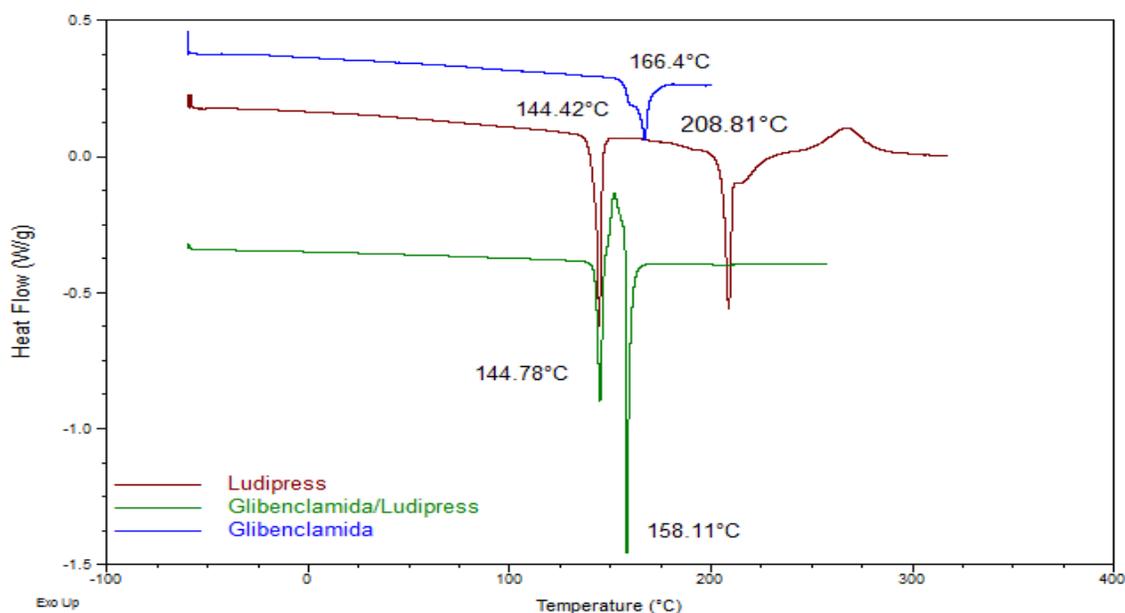
Peso	1.300mg	
Método	Equilibrar	-50°C
	Modular	±1°C cada 60s
	Isoterma	5min
	Rampa	1°C/min hasta 250°C

TABLA 2. TERMOGRAMAS MEZCLAS 50/50.



TERMOGRAMA

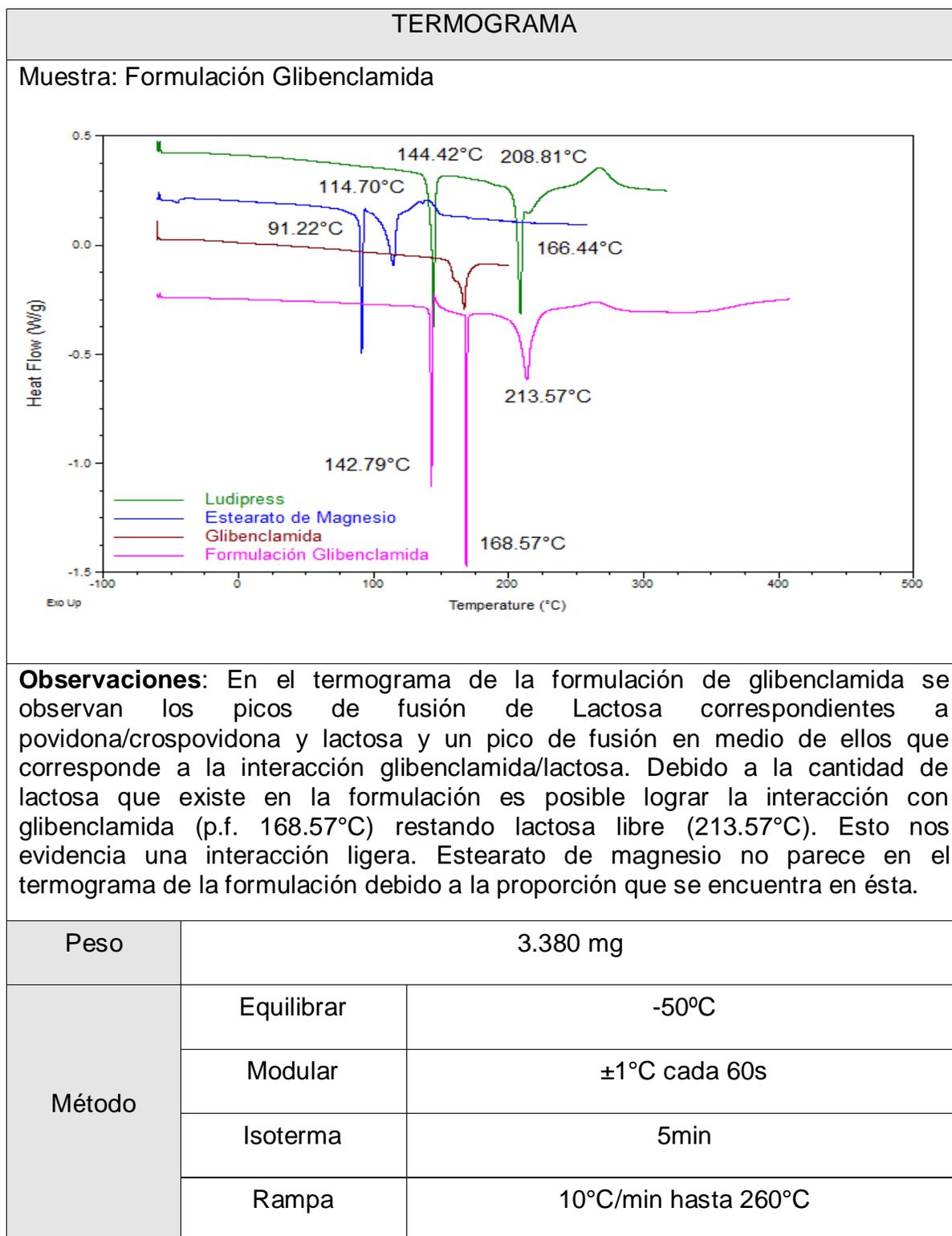
Muestra: Glibenclamida/Lactosa



Observaciones: En el termograma de la mezcla se conserva el primer pico de fusión de povidona/crospovidona. Posteriormente, se observa una posible cristalización seguida de una fusión que corresponde a la interacción Glibenclamida/lactosa, desplazando el pico de fusión de Glibenclamida más de 5°C por lo cual se considera una interacción moderada.

Peso	3.700 mg	
Método	Equilibrar	-10°C
	Modular	±1°C cada 60s
	Isoterma	5min
	Rampa	10°C/min hasta 260°C

TABLA 3. TERMOGRAMAS PROPORCIONES DE LA FORMULACIÓN



ANEXO 6 - ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE FORMULACIONES - EJEMPLO

OBJETIVO		
Determinación de t_{95} en base a estudio de estabilidad térmica para una formulación de Glibenclamida a 25°C y 30°C.		
FORMULACIÓN		
Ingrediente	Lote/Análisis	Cantidad (mg)
Glibenclamida	N/A	N/A
Lactosa (Povidona y Crospovidona)	N/A	N/A
Estearato de Magnesio	N/A	N/A
CONDICIONES DE CORRIDA		
MÉTODO:	Isoterma en hombro de descomposición	
MODO:	MTGA HiRes	
Almacenamiento de Datos	ON	
Equilibrar	240, 220, 200, 190, 180, 170, 160°C	
Modular temperatura	0.5°C cada 40 seg	
Isoterma(min)	240min.	
Sensibilidad de alta resolución	1.0	
Rampa de alta resolución	50°C/min Res 4 hasta 400°C	
RESULTADOS		
ORDEN DE REACCIÓN	Segundo Orden	
ENERGÍA DE ACTIVACIÓN (J/mol)	67107.47139	
FACTOR PREEXPONENCIAL	18708.40 mg ⁻¹ min ⁻¹	
COEFICIENTE DE PEARSON	0.9037	
TEMPERATURA DE ANÁLISIS	25°C	30°C
CONSTANTE DE VELOCIDAD DE DEGRADACIÓN (mg ⁻¹ min ⁻¹)	3.271 x10 ⁻⁸	5.112 x10 ⁻⁸
T ₉₅ (AÑOS)	3.21	2.05

CONCLUSIONES

La formulación de Glibenclamida es térmicamente estable por un periodo de 3.21 años a 25°C y por un periodo de 2.05 años a 30°C.

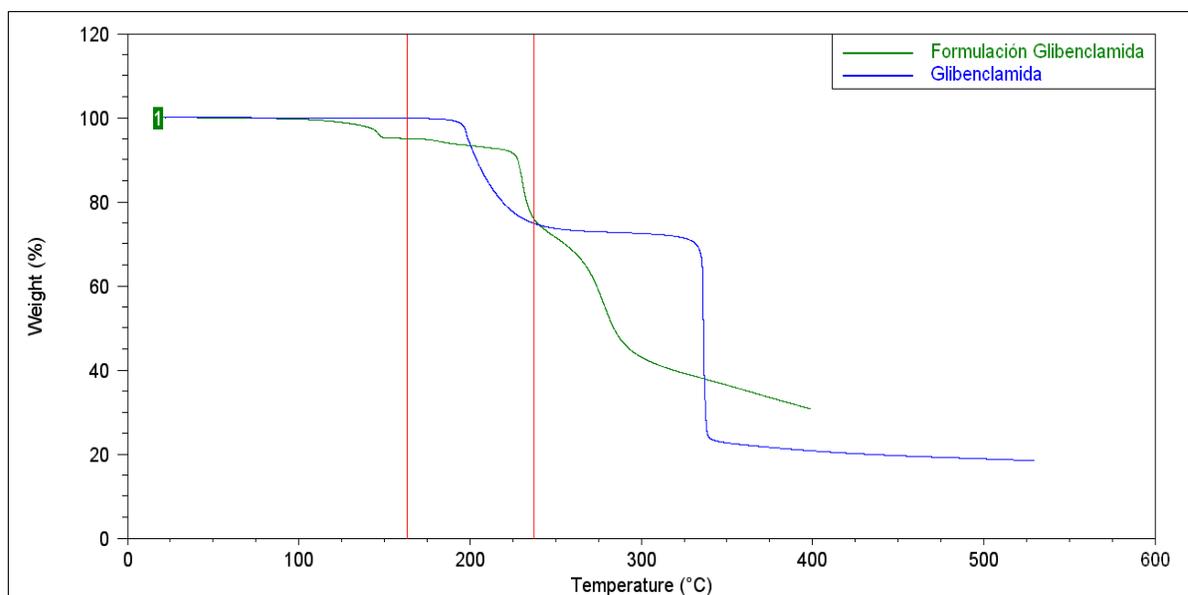
OBSERVACIONES

Las aproximaciones de estabilidad térmica reportadas son válidas únicamente para la formulación y condiciones de corrida especificadas y por ningún motivo sustituyen a los resultados obtenidos en estudios de estabilidad establecidos en instancias regulatorias.

RESULTADOS

1. SELECCIÓN DEL RANGO DE TEMPERATURAS

Gráfico 1. Termograma Formulación Glibenclamida.



Observaciones

MODO: MTGA HiRes
Modular: 0.5 cada 40s
Sensibilidad de alta resolución: 1.0
Rampa de alta resolución: 50°C/min
Res 4 hasta 550°C.

Observaciones

Rango de Temperaturas Seleccionado:
160°C-240°C.
Incremento: 10°C, a partir de 200,
incremento de 20°C.

2. SOBREPOSICIÓN DE TERMOGRAMAS

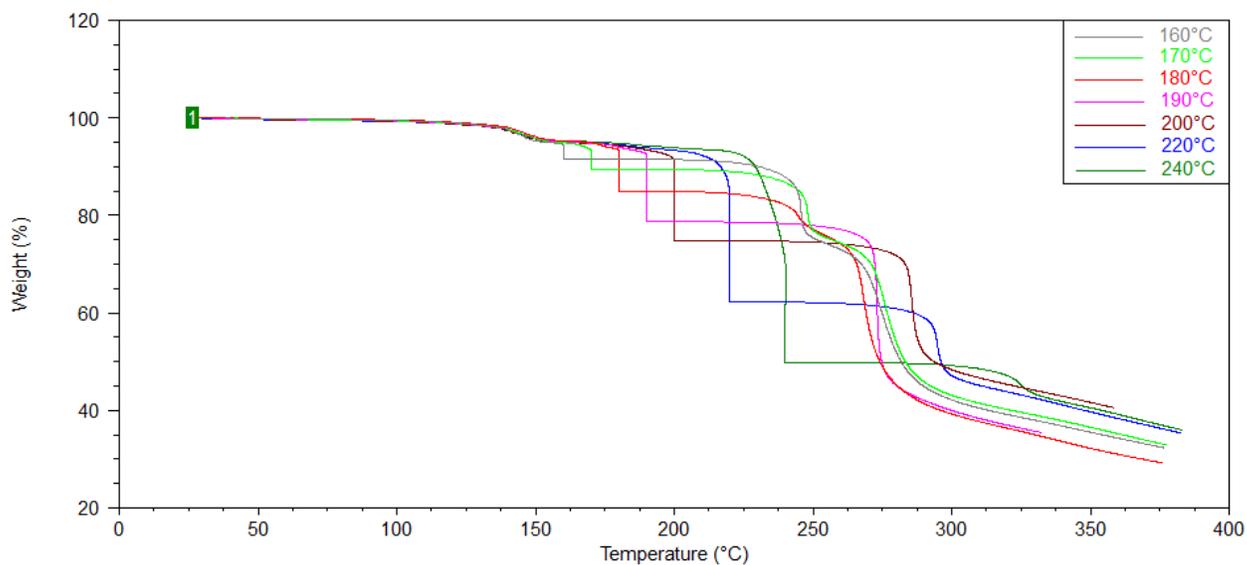


Figura 1. Sobreposición de termogramas. A mayor temperatura de isoterma se presenta una mayor descomposición.

Tabla 1. %Peso remanente tras isoterma

TIEMPO	%PESO						
	240°C	220°C	200°C	190°C	180°C	170°C	160°C
15	55.824	67.548	81.967	85.84	87.796	88.005	88.594
30	52.524	65.028	77.647	84.09	86.996	87.585	88.294
60	49.154	62.838	73.907	80.94	85.766	86.995	87.934
120	46.314	60.518	71.777	76.78	83.796	86.145	87.474
240	44.134	57.868	70.437	74.27	80.646	84.885	86.894

TABLA 2. Cinética de degradación orden cero. Peso remanente tras isotermas. Valores de pendiente, intercepto y coeficiente de correlación para Peso (f)tiempo.

TIEMPO	PESO(mg)						
	240°C	220°C	200°C	190°C	180°C	170°C	160°C
15	0.55824	0.67548	0.81967	0.8584	0.87796	0.88005	0.88594
30	0.52524	0.65028	0.77647	0.8409	0.86996	0.87585	0.88294
60	0.49154	0.62838	0.73907	0.8094	0.85766	0.86995	0.87934
120	0.46314	0.60518	0.71777	0.7678	0.83796	0.86145	0.87474
240	0.44134	0.57868	0.70437	0.7427	0.80646	0.84885	0.86894
Pendiente	-0.0005	-0.0004	-0.0004	-0.0005	-0.0003	-0.0001	-7.1523E-05
Intercepto	0.5389	0.6637	0.7912	0.8503	0.8789	0.8797	0.8850
C. Correlación	-0.9006	-0.9398	-0.8350	-0.9424	-0.9941	-0.9878	-0.9721

TABLA 3. Cinética de degradación primer orden. Logaritmo natural de peso remanente tras isotermas. Valores de pendiente, intercepto y coeficiente de correlación para LnPeso (f)tiempo.

TIEMPO	LnPESO						
	240°C	220°C	200°C	190°C	180°C	170°C	160°C
15	-0.5352	-0.34704	-0.1703	-0.1414	-0.1242	-0.1244	-0.1182
30	-0.5830	-0.39233	-0.1989	-0.1527	-0.1302	-0.1278	-0.1211
60	-0.6439	-0.43035	-0.2530	-0.1733	-0.1393	-0.1326	-0.1245
120	-0.7102	-0.46461	-0.3024	-0.2115	-0.1535	-0.1393	-0.1286
240	-0.7697	-0.50223	-0.3316	-0.2642	-0.1768	-0.1491	-0.1338
Pendiente	-0.8179	-0.54701	-0.3505	-0.2975	-0.2151	-0.1639	-0.1405
Intercepto	-0.0009	-0.00062	-0.0006	-0.0006	-0.0004	-0.0002	-8.1577E-05
C. Correlación	-0.6173	-0.40918	-0.2344	-0.1613	-0.1285	-0.1281	-0.1221

TABLA 4. Cinética de degradación segundo orden. Inverso de peso remanente tras isotermas. Valores de pendiente, intercepto y coeficiente de correlación para 1/Peso (f) tiempo.

TIEMPO	1/PESO(mg-1)						
	240°C	220°C	200°C	190°C	180°C	170°C	160°C
15	1.7078	1.4149	1.1857	1.1519	1.1323	1.1324	1.1254
30	1.7913	1.4804	1.2200	1.1650	1.1390	1.1363	1.1287
60	1.9039	1.5378	1.2879	1.1892	1.1495	1.1417	1.1326
120	2.0344	1.5914	1.3531	1.2355	1.1660	1.1495	1.1372
240	2.1592	1.6524	1.3932	1.3024	1.1934	1.1608	1.1432
Pendiente	2.2658	1.7281	1.4197	1.3464	1.2400	1.1781	1.1508
Intercepto	0.0022	0.0012	0.0009	0.0008	0.0005	0.0002	0.0001
C. Correlación	1.8028	1.4743	1.2383	1.1654	1.1342	1.1349	1.1283

Tabla 5. Comparación de coeficiente de correlación de Formulación de Glibenclamida para orden cero, primer orden y segundo orden.

Temp(°C)	ORDENCERO	PRIMERORDEN	SEGUNDOORDEN
240	-0.9006	-0.9138	0.9138
220	-0.9398	-0.9475	0.9209
200	-0.8350	-0.8448	0.8542
190	-0.9424	-0.9478	0.9554
180	-0.9941	-0.9953	0.9947
170	-0.9878	-0.9886	0.9848
160	-0.9721	-0.9728	0.9608
Promedio	-0.9388	-0.9444	0.9407
Desviación Std	0.0560	0.0520	0.0484
C.V.(%)	-5.9668	-5.5096	5.1478

En la tabla 5 el mayor promedio de coeficientes de correlación se tiene en la cinética de primer orden, mientras que el menor coeficiente de variación se observa en la cinética de segundo orden. Al no demostrarse tendencia hacia un orden, se prosigue con el cálculo de la ecuación de Arrhenius para conocer cuál de los órdenes muestra una relación más estrecha entre la temperatura y la degradación de la formulación.

Tabla 6. Datos necesarios para gráfico de Arrhenius. Logaritmo natural de la constante de degradación de Formulación de Glibenclamida para primer y segundo orden. Inverso de temperatura absoluta.

1/Temp(K)	Primer Orden	Segundo Orden
0.0019	-6.9673	-6.1132
0.0020	-7.3778	-6.7396
0.0021	-7.4720	-7.0027
0.0022	-7.3715	-7.0786
0.0022	-7.9012	-7.6962
0.0023	-8.7699	-8.5698
0.0023	-9.4140	-9.1880
Pendiente	-6168.5002	-8071.6227
Intercepto	5.3406	9.8367
Coef.de Correlación	-0.8882	-0.9506
Coef. Pearson	0.7889	0.9037

En la Tabla 6 se muestra el Coeficiente de Correlación para cada orden estudiado, en base a él, se demuestra que para el segundo orden existe una dependencia mayor de la velocidad de degradación con el aumento de temperatura, así mismo, el coeficiente de Pearson nos indica que el porcentaje de predicción del modelo matemático de cinética de segundo orden tiene mayor

porcentaje de predicción, por lo cual, éste orden fue el que se utilizó para cálculos posteriores.

Gráfico 3. Gráfico de Arrhenius. Muestra la dependencia de la velocidad de degradación con respecto a la temperatura para segundo orden.

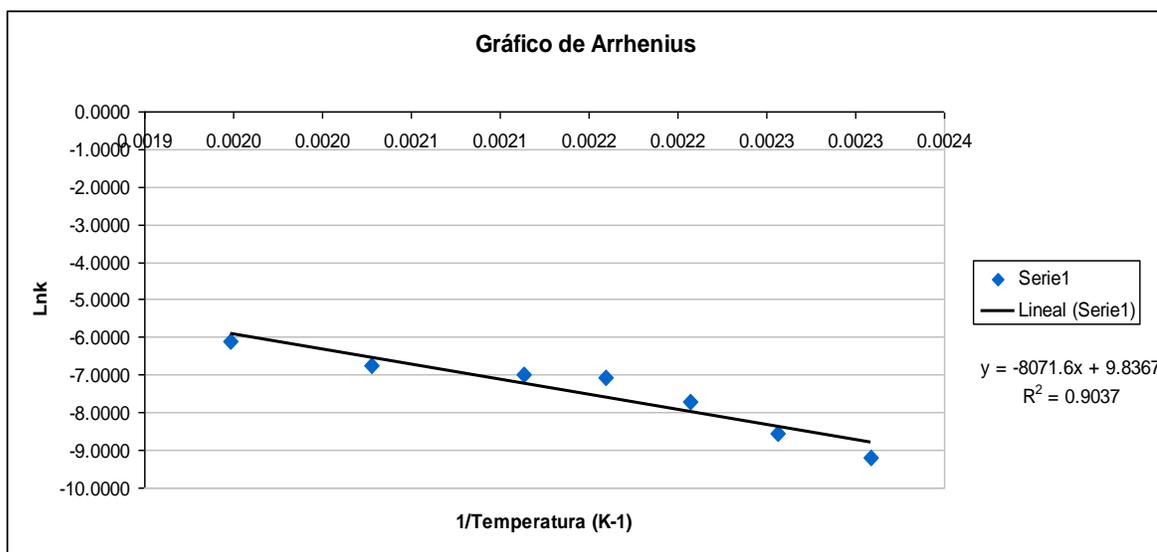


Tabla 8. Datos cinéticos. Constante de velocidad de degradación a 25°C y 30°C.

T_{95}

Factor Preexponencial (A)	18708.40443 mg ⁻¹ min ⁻¹	
Energía de Activación J/mol(Ea)	67107.47139	
LnA	9.8367	
Ea/R	8071.6227	
Temperatura (°C)	25	30
1/Temp(K)	0.0034	0.0030
LnK =	-16.7891097	-17.2356272
k=	3.270910 ⁻⁸	5.1119x10 ⁻⁸
t _{95(min)} =	1687414.7	1079696.63
t _{95(año)} =	3.21045415	2.05421734

La tabla 8 muestra los tiempos de degradación del 5% de la formulación de formulación de glibenclamida, se puede observar que un aumento en la temperatura de almacenamiento reduce el tiempo de vida útil de Formulación de Glibenclamida.