

2
2ej.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Escuela Nacional de Estudios Profesionales
"PLANTEL ZARAGOZA"

"CERTIFICACION Y CALIBRACION DEL ESPECTROFOTOMETRO INFRARROJO Y DETERMINADOR DE HUMEDAD KARL FISCHER DE ACUERDO A NORMAS INTERNACIONALES"

T E S I S

Que para obtener el Título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

Presenta:

GLORIA ARAGON MERINO

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Noviembre de 1992.



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

	pag.
1. Introducción.	1
II. Generalidades.	
A. Espectrofotometria.	
A.1. Principio.	2
A.2. Unidades.	3
A.3. Instrumento.	4
A.3.1. Fuentes de radiación infrarroja.	9
A.3.2. Materiales ópticos.	10
A.3.3. Detectores.	10
A.3.4. Monocromador.	12
A.3.5. Prismas y redes.	12
A.4. Manejo de muestras.	13
A.4.1. Muestras sólidas.	13
A.4.1.1. Método de suspensión en Nujol.	13
A.4.1.2. Método de suspensión en Bromuro de Potasio	14
A.4.2. Muestras líquidas.	15
A.4.3. Celdas desmontables.	15
A.5. Parámetros espectrofotométricos.	
A.5.1. Definiciones.	15
A.5.2. Verificación.	16
A.5.2.1. Celdas de muestras líquidas.	18
A.5.2.1.1. Limpieza.	18
A.5.2.1.2. Goteo	19
A.5.2. Calibración.	
A.5.2.1. Exactitud y precisión de la longitud de onda.	19

	pág.
A.5.2.2. Linealidad de la escala fotométrica.	20
B. Determinación de humedad.	
B.1. Instrumento.	21
B.2. Principio.	21
B.3. Química.	22
B.4. Humedad.	23
B.5. Valoración del titulante.	24
B.5.1. Detección del punto final.	24
B.6. Reactivos.	25
B.7. Interferencias.	26
B.8. Aplicaciones.	26
B.8. Evaluación de parámetros.	
B.8.1. Valoración del reactivo.	28
B.8.1.1. Precisión y repetibilidad.	28
III. Planteamiento del problema.	30
IV. Objetivos.	31
V. Hipótesis.	32
VI. Material.	33
VII. Metodología.	
A. Espectroscopia infrarroja.	
A.1. Verificación.	
A.1.1. Especificaciones de instalación.	34

	pag.
A.1.2. Características de las celdas de absorción.	
A.1.2.1. Limpieza.	34
A.1.2.2. Goteo.	35
A.2. Calibración.	
A.2.1. Exactitud y precisión de la longitud de onda.	35
A.2.2 Linealidad fotométrica.	36
B. Determinación de humedad.	
B.1. Valoración del reactivo.	
B.1.1. Estandarización con tartrato de sodio.	37
B.1.2. Estandarización con agua destilada.	37
B.1.3. Estandarización con disolución agua-metanol.	37
B.2. Precisión y repetibilidad.	38
VIII. Resultados y Discusión	
A. Espectroscopia infrarroja.	
A.1. Verificación.	39
A.2. Calibración.	39
B. Determinación de humedad.	
B.1. Valoración del reactivo.	63
B.2. Precisión y exactitud.	64
IX. Conclusión.	72
X. Propuestas.	73
XI. Bibliografía.	74
ANEXO A. Formulario.	76

I. INTRODUCCION

Uno de los objetivos más importante de todo laboratorio farmacéutico es asegurar la calidad de sus productos, mediante análisis y controles efectuados a lo largo de la etapa de fabricación y acondicionamiento. Para obtener resultados seguros y confiables es necesario contar con instrumentos y equipos perfectamente certificados y calibrados, por lo que se deben establecer las condiciones de operación adecuadas, para realizar análisis altamente satisfactorios.

Estas condiciones están establecidas por variables que determinan el funcionamiento adecuado del equipo. Por lo que es necesario, someterlos a una verificación periódica, para obtener lecturas precisas y exactas.

Actualmente existen normas emitidas por organismos encargados del control y verificación de instrumentos y equipos, las cuales establecen las variables que deben evaluarse en cada equipo.

En el presente trabajo se establecieron los parámetros para la calibración y certificación del espectrofotómetro infrarrojo y del determinador de humedad Karl Fischer, basados en las normas internacionales American Society of Testing and Materials (ASTM) y por las de la Secretaria de Comercio y Fomento Industrial (SECOFI).

Para el espectrofotómetro infrarrojo se estudiaron los parámetros de: precisión y exactitud del número o longitud de onda, repetibilidad de las longitudes de onda, linealidad fotométrica y evaluación del estado de las celdas para muestras líquidas.

Con lo que respecta al Karl Fischer, se realizó un estudio utilizando diferentes sustancias en la estandarización del reactivo, evaluando la precisión y exactitud de las lecturas obtenidas. Por otro lado, se evaluó la precisión y exactitud en la valoración del contenido de agua en muestras sólidas. Todo lo anterior con el objeto de establecer los parámetros de evaluación.

En base a estos estudios se estableció un programa de control, que abarca todos los parámetros que deben ser verificados y calibrados, utilizando sustancias y materiales de referencia.

II. GENERALIDADES

Una calibración se define como la metodología que contempla la evidencia documentada del estado operacional en el que se encuentra un equipo. La calibración sirve como base para una certificación, en ésta se utiliza dicha evidencia, y es realizada por un organismo internacional utilizando a su vez patrones certificados y autorizados por organismos internacionales.

La legislación para las certificaciones y calibraciones que se realizan en nuestro país está generada en la Secretaría de Comercio y Fomento Industrial (SECOFI), a través de la Dirección General de Normas (DGN), las cuales se basan en normas internacionales como las generadas por la International Standard Organization (ISO). Las calibraciones son registros que nos proporcionan información para conocer si el equipo se encuentra dentro de sus especificaciones de uso, y de no ser así proporcionarle un servicio completo y adecuado.

(1)

A. ESPECTROFOTOMETRIA

A.1. PRINCIPIO

La absorción de radiación infrarroja se limita a especies moleculares para las cuales existen pequeñas diferencias de energía entre los distintos estados vibratorios y rotatorios.

Para absorber la radiación infrarroja, una molécula debe experimentar un cambio neto en el momento dipolar como consecuencia de su movimiento vibratorio o rotatorio. Sólo en estas circunstancias puede interactuar con la molécula el campo eléctrico alternante de la radiación y causar cambios en su movimiento.

Si una radiación infrarroja de diferentes frecuencias incide sobre una sustancia, se registra una serie de bandas de absorción que corresponden a las formas vibracionales fundamentales de la molécula.

(2,3)

A.2. UNIDADES

La región infrarroja abarca las regiones del espectro comprendidas entre los números de onda de 12 800 a 10 cm^{-1} aproximadamente, lo que corresponde a longitudes de onda de 0.78 a 1 000 μm . Tanto desde el punto de vista de las aplicaciones como de los instrumentos, es conveniente subdividir la región infrarroja del espectro en tres porciones denominadas infrarrojo cercano, medio y lejano. En la Figura 1 se muestran los límites de cada una de ellas; la gran mayoría de las aplicaciones analíticas utilizan la región del infrarrojo medio comprendida entre los 4 000 y los 670 cm^{-1} o sea entre las longitudes de onda de 2.5 y 15 μm .

Para expresar la longitud de onda en cada una de estas regiones espectrales, se utilizan, por conveniencia, diversas unidades, con el fin de evitar el manejo de números demasiado pequeños o demasiado grandes, así en la radio-espectroscopía, la longitud de onda se suele medir en centímetros o milímetros, en la región de microondas se mide en centímetros o milímetros, en la región infrarroja la unidad normalmente utilizada es la micra (μ), y en la región visible y ultravioleta la longitud de onda se suele expresar en nanómetros (nm), unidad reconocida por el Sistema Internacional de unidades.



Fig. 1. Diagrama del Espectro Infrarrojo

Para la interpretación teórica de los espectros en la región infrarroja en relación con la estructura de la materia, es mucho más conveniente utilizar la frecuencia, ν , de la radiación electromagnética, en lugar de su longitud de onda, λ . Ambas magnitudes, están ligadas entre sí por la relación:

$$\lambda \nu = c$$

siendo c la velocidad de la radiación electromagnética, (velocidad de la luz), que es una constante ($2,997,930 \cdot 10^{10}$ cm/seg).

El llamado número de onda, es el inverso de la longitud de onda expresada en centímetros y, por tanto, representa el número de ondas de la radiación contenidas en un centímetro.

(3)

A.3. INSTRUMENTO

Cualquier instrumento utilizable para producir o estudiar un espectro, en cualquier región espectral, se denomina *espectroscopio*, aunque esta palabra se utiliza generalmente en sentido más restringido para designar aquellos instrumentos que permiten la visión directa del espectro por el ojo. Si el aparato registra el espectro sobre una placa fotográfica, se suele denominar *espectrógrafo*; si al mismo tiempo da también una medida de la intensidad de esa radiación, se suele llamar *espectrofotómetro*.

El funcionamiento de los instrumentos empleados en la región infrarroja está basado en principios simples. Los componentes mecánicos y eléctricos están diseñados de forma que pueden transformar las pequeñas variaciones de energía producidas por el paso de energía radiante a través de la muestra, debidas a las absorciones de las muestras, en un registro espectral preciso y reproducible.

Los componentes básicos que caracterizan a los espectrofotómetros infrarrojos son: una fuente de radiación infrarroja, que suministra la radiación incidente sobre la muestra que se estudia; un monocromador, que dispersa la energía en sus componentes y luego un detector. Este último componente transforma la energía de la banda de frecuencia en una señal

eléctrica, que es amplificada lo suficiente para ser registrada. En forma esquemática estos componentes están representados en la Fig. 2.

La trayectoria óptica y los componentes principales de un espectrofotómetro aparecen, en forma más detallada, en la Fig. 3.

En el espectrofotómetro evaluado, un espectrofotómetro infrarrojo modelo AccuLab 10 de Beckman, la radiación de la fuente es reflejada por los espejos Ms y Mr, para dar rayos idénticos que se enfocan sobre las celdas de la muestra y de referencia, respectivamente. La radiación transmitida por cada celda se dirige a un espejo dividido en sectores Sm. En un instante dado, este espejo giratorio está enviando energía radiante desde la muestra a la entrada de la rendija Se; enseguida, incide energía radiante desde la celda de referencia enfocada por el espejo M1, sobre la parte trasera del espejo dividido en secciones. En este sistema se enfoca el haz infrarrojo desde las celdas de la muestra y de referencia a la rendija de entrada del monocromador en una sucesión rápida de tiempos. El espejo M2 colima el haz y lo refleja a un prisma o a una red. El haz pasa a través del prisma P y se refleja en el espejo M3, y vuelve a atravesar el prisma P por segunda vez aumentando la dispersión del haz de radiación. El espejo M3 está montado sobre una base móvil, que se gira con el fin de que las distintas partes de la radiación dispersada vuelvan a atravesar el prisma. Este espejo se denomina, espejo de Littrow. En este punto, sólo se vuelve una estrecha banda de frecuencias al espejo colimador M2. Otro espejo, M4, enfoca el estrecho haz a la rendija de salida Sx, y por último, de el espejo M3 pasa a un espejo de focalización M5 que envía la banda seleccionada de frecuencias infrarrojas.

Cuando no hay absorción por la muestra o la referencia, la cantidad de radiación que llega al detector es igual para los dos haces, y el detector no producirá ninguna señal. Sin embargo, con una muestra en su correspondiente celda, los dos haces transmitidos no son iguales; debido a la absorción de radiación por la muestra. El sistema giratorio dividido en sectores envía entonces un grupo pulsante de la misma frecuencia que el espejo giratorio dividido en sectores.

La señal es amplificada y utilizada para mover un atenuador de rejilla o cuchilla, C, en el haz de referencia. La rejilla reduce la cantidad de energía del haz de referencia hasta que se reestablece el equilibrio energético entre la muestra y la referencia. Esto se conoce con el nombre de "Método de anulación óptica". En este momento, el detector cesa de emitir señales. La extensión de la compensación del haz de referencia es una medida de la absorción de la muestra. Mediante un sistema de registro en movimientos sincrónicos con el atenuador, puede medirse la absorción de la muestra.

Por lo tanto, la operación completa del sistema óptico es dependiente de la señal amplificada del detector y del mecanismo regulador de las longitudes de onda y frecuencias. A medida que el espejo de Littrow gira, varía la frecuencia de la radiación incidente que llega al detector. Cuando esta frecuencia se iguala a un modo de vibración de la muestra, tiene lugar una variación de energía en el haz de la muestra que llega al detector. Una fuerte absorción de energía origina una energía proporcionalmente fuerte en el detector; impulsando al atenuador dentro del haz de referencia para anular la diferencia de energía y eliminar la señal. Cuando se alcanza esta situación, el movimiento de la pluma cesa. Esto coincide con la aparición de la banda de absorción. El proceso inverso volverá la pluma a la línea base del registro. De esta manera, el espectro completo se recorre a una velocidad que permite la respuesta de los componentes.

(4,5)

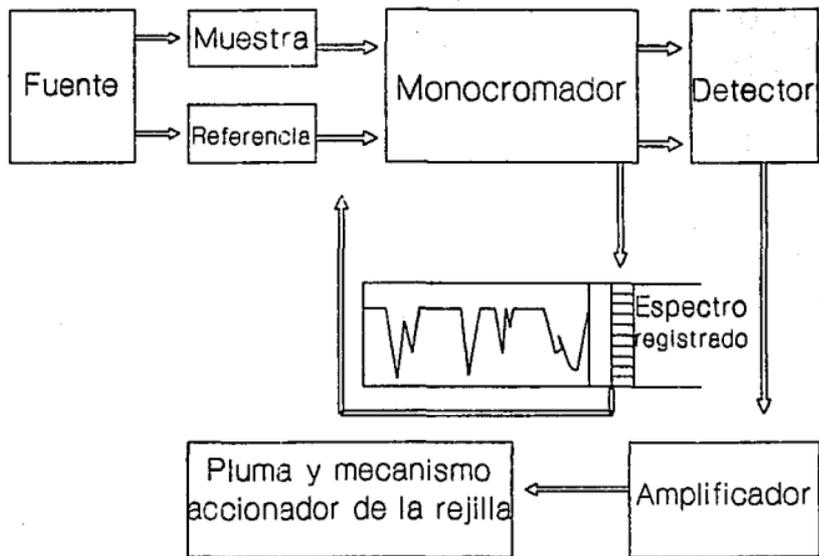
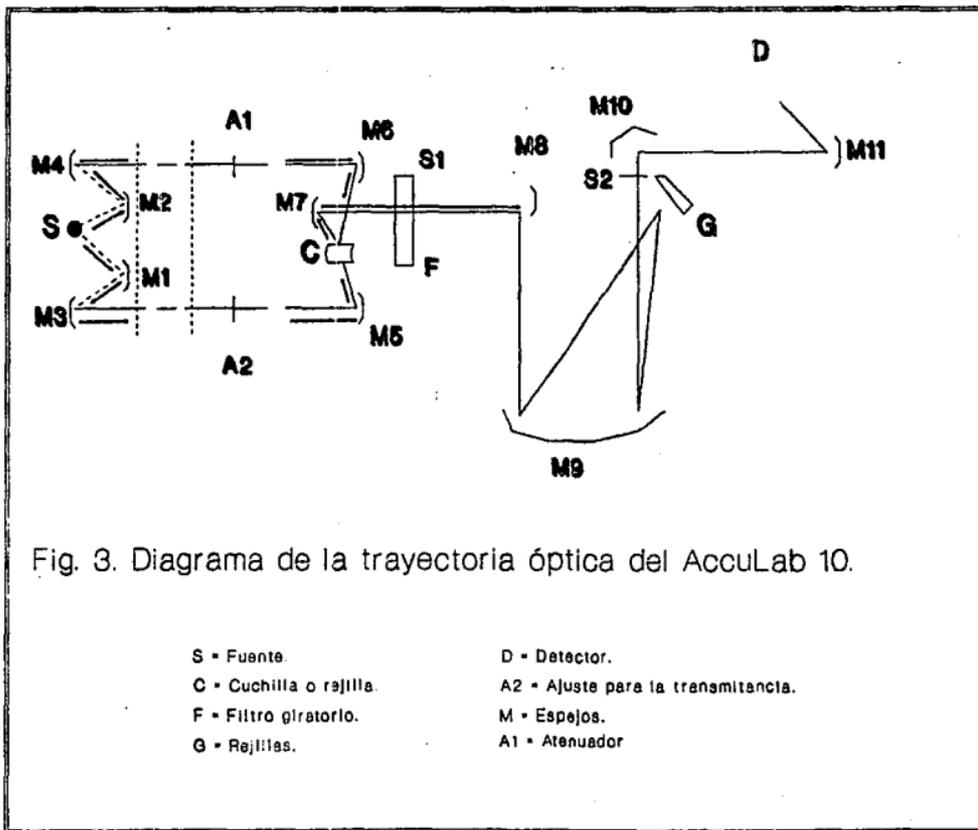


Fig. 2. Componente de un espectrofotómetro infrarrojo de doble haz.



A.3.1. Fuentes de radiación infrarroja.

Se emplean dos tipos de materiales para suministrar la energía radiante en la región infrarroja, estos materiales son sustancias refractarias que se calientan al rojo, en el caso del espectrofotómetro infrarrojo evaluado, este utiliza como fuente de radiación el hilo de Nicrom, de espirales muy juntas que se lleva a incandescencia por medio de un calentamiento resistivo. La radiación de estos materiales se emite con una distribución de longitudes de onda característica de la temperatura de los mismos. La posición del máximo de radiación emitida depende de la temperatura del material emisor. (4,5)

De los materiales refractarios utilizados como fuentes, el filamento de Nernst y el Globar son los más empleados. (4)

El filamento de Nernst es más caliente, y por lo tanto, más brillante, y permite una temperatura de operación que puede llegar hasta 1500°C. Las lámparas de Nernst son frágiles, tienen un coeficiente de resistencia negativa y deben precalentarse para que sean conductores, por consiguiente, es necesario utilizar calentadores auxiliares. La lámpara debe protegerse de las corrientes de aire, pero al mismo tiempo se necesita una ventilación adecuada para eliminar el exceso de calor.

El Globar, posee características intermedias entre los alambres calentados y la lámpara de Nernst, no es necesario calentarlo previamente y tiene una temperatura de operación cercana a 1300°C, el coeficiente de temperatura de resistencia es positivo y puede controlarse con un transformador variable, su resistencia aumenta con el tiempo de uso, lo que debe tomarse en cuenta para poder aumentar el voltaje de la unidad. Sus electrodos deben enfriarse con agua.

En la región del infrarrojo cercano (13,333 cm^{-1} a 4,000 cm^{-1}), el problema de los materiales utilizables como fuentes es mucho más sencillo. La lámpara de Wolframio empleada de ordinario en espectrofotometría visible da una radiación continua hasta 3 333 cm^{-1} .

(4)

En el infrarrojo lejano, esto es, a más de 200 cm^{-1} , las fuentes de radiación de cuerpo negro pierden efectividad; los arcos de mercurio de alta presión con un recubrimiento extra de cuarzo reducen las pérdidas térmicas, y proporcionan radiaciones intensas en esta región.

A.3.2. Materiales ópticos.

Los materiales necesarios para reflejar, transmitir y dispersar la radiación infrarroja desde la fuente al detector, dependen de las características de absorción deseadas, y estas pueden ser el cuarzo natural o el sintético, para transmitir radiación en la región infrarroja próxima hasta 3300 cm^{-1} , en la Fig. 4 se resumen las características de absorción de cierto número de materiales ópticos empleados en función de la longitud de onda. En el equipo evaluado el material óptico utilizado es el cloruro de sodio. (4,5)

A.3.3. Detectores

Los tres detectores más empleados en los espectrofotómetros infrarrojos son: 1) el bolómetro, 2) el termopar, y 3) la célula neumática de Golay. En el caso del espectrofotómetro evaluado, éste utiliza un termopar de bromoyoduro de talio (KRS-5). Todos estos dispositivos se basan en el efecto térmico producido cuando la radiación infrarroja se absorbe del haz incidente. La energía que incide sobre el detector a determinadas frecuencias es muy pequeña y, en consecuencia, las especificaciones para un dispositivo de detección conveniente son muy rígidas. En general, ha de tener un área sensible pequeña, una baja capacidad calorífica, una respuesta rápida, un nivel de ruido bajo, una sensibilidad térmica alta y una absorptividad alta no selectiva para todas las frecuencias de la radiación infrarroja. (4,5)

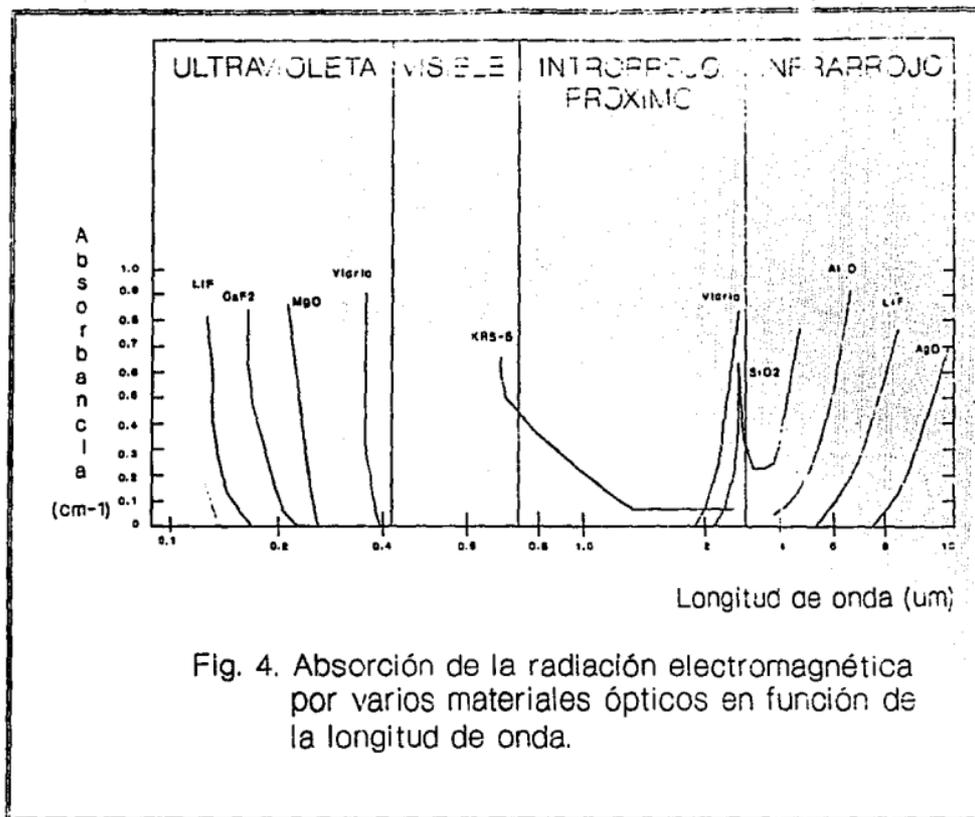


Fig. 4. Absorción de la radiación electromagnética por varios materiales ópticos en función de la longitud de onda.

A.3.4. Monocromador.

La imagen enfocada sobre la rendija de entrada del monocromador conserva toda la energía espectral emitida por la fuente, si se supone que no ha habido absorción de energía antes de entrar en el monocromador. El espejo colimador refleja en forma de radiación paralela el haz infrarrojo que atravesó la rendija de entrada. La radiación se dispersa por el prisma en su espectro. Por utilización del espejo móvil (espejo de Littrow), una porción estrecha de la luz dispersada se pasa de nuevo a través del prisma, se vuelve a dispersar y se enfoca por el espejo colimador sobre la rendija de salida. La rendija de salida permite sólo el paso de un estrecho intervalo de frecuencias de la radiación dispersada. (2,4)

A.3.5. Prismas y redes.

La dispersión de la radiación por el prisma depende de su índice de refracción, que varía con los cambios de la frecuencia de radiación. Con una selección cuidadosa de los materiales de fabricación del prisma, puede mejorarse la resolución espectral en regiones determinadas del espectro. La Tabla 1 resume los intervalos útiles de longitud de onda y de frecuencia de los materiales más comunes. La eficiencia máxima se obtiene en las regiones de frecuencia más baja de los intervalos indicados.

Para una gran parte de la región fundamental de vibración-rotación desde 4000 a 650 cm^{-1} , el cloruro de sodio es un material de gran utilidad para la fabricación de prismas.

MATERIAL	INTERVALO DE FRECUENCIA (cm^{-1})	INTERVALO DE LONGITUD DE ONDA (μm)
NaCl	5000 - 650	2.0 - 15.4
KBr	1100 - 385	9.0 - 26.0
LiF	4000 - 1700	2.5 - 5.9
CaF ₂	4200 - 1300	2.4 - 7.7
Vidrio	Por encima de 3500	Por debajo de 2.9
Cuarzo	Por encima de 2860	Por debajo de 3.5

TABLA 1. Intervalos de trabajo de materiales de prismas.

(2,4)

A.4. MANEJO DE MUESTRAS

Existen diversos métodos para el manejo de muestras, los cuales pueden resumirse como sigue, dichos métodos se utilizan en el espectrofotómetro evaluado, AccuLab 10 de Beckman.

A.4.1. Muestras sólidas.

En la preparación de muestras de materiales sólidos pueden emplearse los siguientes procedimientos.

A.4.1.1. Método de suspensión en Nujol.

Los polvos o sólidos reducidos a partículas pueden examinarse en forma de una pasta delgada o moliendo el sólido pulverizado (aproximadamente 1 mg) con un medio líquido grasoso. La suspensión se prensa en un surco anular de una celda desmontable. Entre los medios líquidos adecuados para este fin están el Nujol (aceite mineral), hexaclorobutadieno, perfluoroqueroseno, y grasas de clorofluorocarbono (lubricantes fluorados).

(2,4)

A.4.1.2. Método de suspensión en Bromuro de Potasio.

Igual que un material puede dispersarse, puede también molerse junto a un haluro inorgánico, tal como el bromuro de potasio, y comprimirse en un disco fino o pastilla.

El método de la pastilla consiste en mezclar la muestra finamente molida (1/100 mg) con polvo de bromuro de potasio, hasta que la mezcla se haya homogenizado por completo, comprimiendo la mezcla hasta obtener un disco claro por aplicación de presiones entre 1000 a 3000 kg/cm^2 . Ver Fig.5.

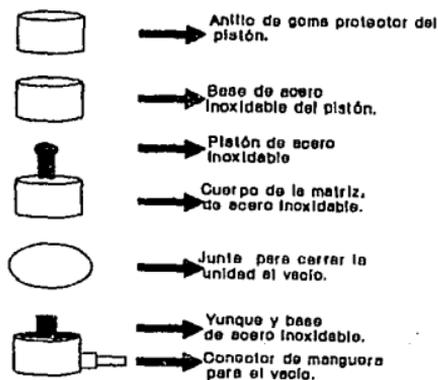


Fig. 5. Unidades para preparar pastillas de Bromuro de Potasio.

A.4.2. Muestras líquidas.

Generalmente el agua debe ser evitada al utilizar el análisis infrarrojo; no solamente porque absorbe amplias regiones de radiación sino por que también ataca muchos de los materiales usados en la fabricación de las celdas. Desde el punto de vista de la transparencia, los dos disolventes más satisfactorios son el tetracloruro y el disulfuro de carbono.

(2,5)

A.4.3. Celdas desmontables

En las técnicas de suspensión y en las aplicaciones cualitativas del infrarrojo, cuando se trabaja con soluciones, resultan mucho más útiles las celdas desmontables. Las celdas desmontables para el trabajo con soluciones son idénticas en lo que se refiere a su construcción a las celdas fijas, excepto en que se utilizan espaciadores de teflón en sustitución de las juntas amalgamadas de plomo. Además, para cada par de celdas desmontables puede emplearse una serie completa de espaciadores. Las celdas desmontables son más fáciles de limpiar, y, si es necesario, las láminas de sal pueden pulirse antes de volverse a utilizar.

A.5. PARAMETROS ESPECTROFOTOMETRICOS.

A.5.1. Definiciones

1. Precisión del número de onda. Es una medida de la habilidad del espectrofotómetro para retornar a una posición espectral de medida por una banda de absorción o una banda de emisión de un número de onda conocido cuando el instrumento es estabilizado nuevamente. El indicativo utilizado es la desviación estándar.

2. Exactitud del número de onda, es la desviación del número de onda promedio obtenido para una banda de absorción o de emisión, de una banda con un número de onda conocido.

3. Linealidad fotométrica. Es la relación proporcional que existe entre la concentración y la absorbancia, en un intervalo determinado. (7)

A.5.2. Verificación

Algunos espectrofotómetros pueden ser descritos por su fuente de energía radiante monocromática junto con un detector para medir el poder de radiación absorbida o transmitida. Un espectrofotómetro exacto involucra un gran número de factores interrelacionados que determinan la calidad del paso de la energía radiante a través de la muestra y la sensibilidad y linealidad con la que la energía radiante puede ser medida. Asumiendo las características propias del instrumento y su uso, los factores responsables para que existan inexactitudes en los instrumentos son: la resolución, la linealidad, energía radiante dispersa y las celdas.

En el caso de los espectrofotómetros más modernos, que no es nuestro caso, éstos son capaces de una mayor exactitud. El problema radica en la selección y el uso adecuado del instrumento, para asegurar que un instrumento es adecuado, así como su uso en un método espectrofotométrico, es necesario realizar un análisis que evalúe ciertos parámetros que puedan controlar los resultados obtenidos. Estos parámetros son: exactitud y precisión del número de onda, ancho de la abertura espectral y la absorción de las celdas. Mediciones inadecuadas por alguno de éstos parámetros puede ser debida a un instrumento inadecuado o al mal uso del instrumento disponible. Por ello, es necesario determinar las operaciones instrumentales de acuerdo a las recomendaciones del proveedor. Las pruebas tienen que realizarse para determinar el manejo del instrumento en términos de los parámetros antes mencionados. (6,7)

Las condiciones de operación que establece el fabricante, son las siguientes, las cuales deben ser evaluadas ya que cada instrumento tiene sus especificaciones de instalación. El proveedor de nuestro equipo, AccuLab 10, recomienda evaluar las siguientes condiciones de instalación y operación:

1. Temperatura ambiente.
2. Tiempo de respuesta.
3. Relación señal-ruido.
4. Velocidad de análisis.
5. Repetibilidad mecánica.

(6,7)

El espectrofotómetro Acculab 10, requiere ser instalado en una atmósfera libre de agentes corrosivos, con una humedad relativa no mayor al 80% y alejado de agitadores magnéticos. Para obtener lecturas exactas y estables se requiere que el equipo no esté sujeto a grandes fluctuaciones de temperatura, y además suministrado por un voltaje de 120 volts.

(6)

Cada uno de los factores arriba mencionados para la operación del instrumento son importantes en la medida del número de onda analítica y en los datos fotométricos. Por ejemplo, cambios en la repetibilidad y exactitud del número de onda pueden ocurrir por una variación de temperatura ambiente en varias partes del monocromador, particularmente en el prisma.

En el registro espectrofotométrico pueden existir variaciones entre la lectura obtenida y la verdadera. Por ello es necesario, para seleccionar las condiciones de operación lograr que estos cambios sean repetibles o insignificantes. La velocidad de registro puede ser seleccionada para asegurar que el sistema de detección puede seguir la señal de líneas estrechas de emisión o de bandas de absorción. La repetibilidad mecánica de varias partes del monocromador y del sistema de lectura, así como la posición del papel gráfico son importantes para lograr una buena medida del número de onda. Lotes sucesivos de papel gráfico deben ser chequeados en su uniformidad a lo largo de la carta espectral, particularmente si el papel está sujeto a pronunciados cambios de humedad.

(7)

El espectrofotómetro está casi siempre atrasado entre la lectura leída y la verdadera lectura, por lo que es necesario hacer la selección de operación de manera tal que el efecto sea insignificativo o repetible. Este tiempo puede determinarse evaluando el tiempo que tarda en descender la plumilla cuando se establece el 100% de transmitancia y se obstruye el haz de luz para que descienda al 0% de transmitancia.

La relación señal-ruido indica la desviación de lectura que presenta el indicador, esta propiedad se determina midiendo la desviación que presenta la lectura al establecer el 0.0 de absorbancia (o 100% de transmitancia) durante 2 minutos. Las desviaciones que se presentan corresponden al ruido del equipo.

(6)

A.5.2.1. Celdas de muestras líquidas.

El análisis requiere determinar si las celdas de absorción sólo sirven como un contenedor para la muestra y que no contribuyan en la absorbancia medida por la muestra.

Para un trabajo preciso, las diferencias entre las celdas deben ser pequeñas, y las celdas siempre deben colocarse de la misma manera y en el mismo lugar cuando se realizan las evaluaciones.

Si la celda no es limpiada adecuadamente, o tiene residuos de la solución de enjuague, por evaporación de la misma, una película es formada en la pared de la celda la cual absorbe parte de la energía radiante.

Existen dos tipos comunes de celdas infrarrojas para el análisis cuantitativo de muestras líquidas y muestras gaseosas. Muchos de los materiales de las ventanas de las celdas requieren de técnicas especiales de manejo, particularmente si éstas tienen baja resistencia al agua.

(7)

A.5.2.1.1. Limpieza.

Los contaminantes en las paredes de las celdas pueden generalmente ser detectados obteniendo un espectro infrarrojo de las celdas vacías y notando la presencia de bandas de absorción extrañas.

Las celdas no deben contribuir a la absorbancia de la muestra, para evaluar si presentan o no absorbancia, se deben colocar las celdas con disolvente y obtener el espectro correspondiente.

En este, la absorción por parte de las celdas debe ser nula. Si esto no sucede así, puede ser debido a que tengan residuos de alguna sustancia por no haberse limpiado apropiadamente.

Para limpiar las celdas que están hechas de cloruro de sodio, como material en las ventanas, se puede usar tetracloruro de carbono o cloroformo (reactivo analítico) anhidros, si las celdas no llegan a limpiarse así, entonces se requiere de un proceso de pulido de las ventanas que conforman las celdas.

A.5.2.1.2. Goteo.

Una celda sellada para muestras líquidas es considerada adecuada cuando se somete a un período de tres horas, llena con cloroformo a temperatura ambiente y no presenta pérdida visual de dicho disolvente. (7)

A.5.3. Calibración

A.5.3.1. Exactitud y precisión de la longitud de onda.

Muchos métodos espectrofotométricos emplean compuestos puros o mezclas conocidas con el propósito de calibrar sus instrumentos fotométricos a longitudes de onda específicas. La longitud de onda es obtenida por la lectura del monocromador registrada en una gráfica espectral. Para reproducir adecuadamente las lecturas, es necesario establecer los límites con los cuales será aceptable la longitud de onda.

La repetibilidad mecánica del sistema de registro y de la posición del papel graficador son importantes en la medida del número de onda. Para observar si existe precisión y exactitud en un espectro graficado, se realizan varias determinaciones bajo las mismas condiciones de análisis.

Para obtener medidas reproducibles es necesario trabajar con sustancias de las cuales se conozcan las longitudes de onda características. El espectro más adecuado para la calibración de la longitud de onda es el espectro obtenido con la película de poliestireno, el cual presenta absorciones características.

Con la comparación de las señales de máxima absorción reportados para la película de poliestireno y los obtenidos experimentalmente se puede comprobar la precisión y exactitud de la longitud de onda. Y de esta manera saber la variación que existe entre el valor reportado y el obtenido experimentalmente, y mantener en los análisis esta misma variación. (7)

A.5.3.2. Linealidad de la escala fotométrica.

Los datos fotométricos que se obtienen de un análisis son usados para determinar las concentraciones que pueden ser utilizadas en un método espectrofotométrico. Es necesario establecer la relación entre la absorbancia y la concentración, y determinar el intervalo en el cual dicha relación es lineal.

En muchos análisis donde la banda de absorción es fácilmente analizada, puede establecerse con facilidad la relación entre la absorbancia medida y la concentración. El intervalo en el cual la relación es lineal, es determinada en parte por el funcionamiento del sistema fotométrico y en parte por el manejo de las muestras, en especial por la exactitud y repetibilidad de la escala de absorbancia. Proporcionando así información del funcionamiento del sistema, dado que si tiene un comportamiento lineal se dice que funciona adecuadamente pues los valores obtenidos o las variaciones son constantes.

Al graficar los valores de absorbancia obtenidos contra diferentes valores de concentración, y al determinar la línea recta que los rige, se establecerá la linealidad entre ambos parámetros.

B. DETERMINACION DE HUMEDAD

B.1. INSTRUMENTO

El equipo debe ser utilizado siempre y cuando provea de un control confiable y una adecuada exclusión de humedad atmosférica, así como de la adecuada determinación del punto final. El equipo utilizado está compuesto de manera fundamental por 2 buretas automáticas, un vaso de titulación con tapón hermético, electrodos de platino y un agitador magnético. Está incorporado al aparato, un circuito eléctrico simple que permite el paso de 5 a 10 microampers de corriente directa, entre un par de electrodos de platino sumergidos en la solución por titular (alrededor de 5 mm² de área y alrededor de 2.5 cm de distancia).

En el punto final de la titulación, un ligero exceso de reactivo aumenta el flujo de corriente entre 50 y 150 microampers por segundo. (8)

Es necesario considerar que todo el sistema interior del aparato, debe mantenerse seco y sin penetración de humedad. Las entradas de aire, se deben proteger con sílica gel, como indicador de humedad. (9)

B.2. PRINCIPIO

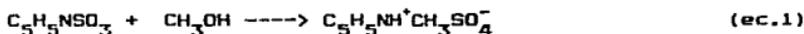
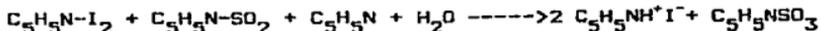
El método de análisis fundamentado en el uso del reactivo de Karl Fischer es utilizado para la determinación de agua libre y de agua de hidratación en muchos sólidos o líquidos orgánicos y en compuestos inorgánicos. De acuerdo a las propiedades de la muestra, la concentración del reactivo de Karl Fischer, y al aparato, el método es adecuado para la medida de la cantidad de agua en un intervalo de concentraciones dado.

La muestra a analizar debe contener un máximo de 300 mg. de agua, y ésta es disuelta o dispersada en un líquido adecuado y titulada con el reactivo de Karl Fischer.

El método se basa en la reacción del agua presente con una solución de yodo y dióxido de azufre en una mezcla de metanol y piridina (Reactivo de Karl Fischer), previamente normalizado con una cantidad determinada de agua. (2,10,11)

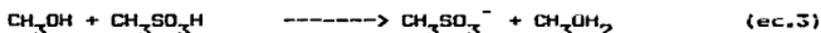
B.3. QUINICA

La reacción del agua con el reactivo de Karl Fischer es descrita en dos pasos:

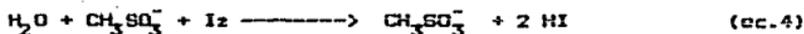


Las especies $C_5H_5N \cdot I_2$, $C_5H_5N \cdot SO_2$ y $C_5H_5N \cdot SO_3$ pueden ser transferidas a complejos cargados y $C_5H_5NH^+I^-$ y $C_5H_5NH^+CH_3SO_3^-$ son sales. La química del sistema es más complicada que lo indicado en estas dos reacciones.

El reactivo contiene el ion triyodo I_3^- , formado en el equilibrio entre yodo y yoduro, y sulfito de monometilo, formados de la siguiente manera:



El comportamiento del pH indica que el $CH_3SO_3^-$ es el verdadero reactivo en la reacción redox con agua y yodo, esto se muestra en la ecuación 4.



Esto es posible porque la piridina sirve como amortiguador manteniendo un pH efectivo para generar la base conjugada del reactivo, $CH_3SO_3^-$.

Después de que el agua ha reaccionado con el yodo libre en la solución, se produce una despolarización y se produce un cambio de energía en la reacción, el cual puede ser detectado mediante un amperímetro.

Para la determinación de agua con el reactivo de Karl Fischer, el método del punto final es universalmente utilizado. En éste, una constante de potencial es aplicada a dos partes de un electrodo de platino colocado dentro de la solución, y las variaciones en la corriente produce cambios en las concentraciones de polarización en el electrodo y se mide durante el curso de la titulación. (12)

B.4. HUMEDAD

Cuando un experimento se lleva a cabo en un aire con cierta temperatura y con cierta humedad relativa, la sustancia con la que se trabaja ganará o perderá humedad hasta alcanzar el equilibrio en el que ya no ocurrirán cambios, mientras no se modifiquen las condiciones del experimento y se tenga cuidado en el manejo de las sustancias que en un momento dado, contaminen dicho experimento o determinación. A esto se le conoce como "Humedad controlada".

Llamamos "Humedad en equilibrio", a la cantidad de humedad que contiene un sólido en la cual su presión de vapor va por igual a la presión de vapor de la atmósfera que le rodea.

La humedad que un sólido contiene en exceso sobre el valor de humedad de equilibrio (X_0) se le denomina "Humedad libre".

$$X_L = X - X_0$$

La humedad que un sólido contiene puede estar ligada de tal manera que la presión de vapor que ejerza sea menor que la que corresponde al agua a esa temperatura. A ésta se le conoce como "Humedad ligada" (X_L). (13)

B.5. VALDRACION DEL TITULANTE

El agua líquida es obviamente un estándar primario para la estandarización del reactivo de Karl Fischer, tal que pequeñas cantidades controladas de agua (en peso o volumen), pueden utilizarse para llevar a cabo la evaluación del reactivo.

Generalmente se utilizan soluciones cuantitativas de agua en metanol, y alícuotas de ésta solución son tomadas para su titulación. Este método tiene la ventaja de que la muestra sustancial de agua es pesada (de 10 a 15 g de agua por litro de solución metanólica). Es necesario que el mismo lote de metanol sea usado para la preparación de la solución estándar y de los blancos de titulación de metanol.

Sales hidratadas estables constituyen otra clase de referencia. Muchos de éstos han sido estudiados, pero sólo se han encontrado dos para este uso. Uno de ellos es el acetato de sodio trihidratado (contenido teórico de agua de 39.72%). Esta sal es soluble en metanol, pero el contenido de agua no es constante.

El estándar primario más popular es el tartrato de sodio dihidratado, $\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (contenido de agua teórico 15.66%). El tartrato de sodio dihidratado no es higroscópico y es completamente estable sobre condiciones ordinarias de almacenaje. La principal desventaja de este estándar primario es su limitada solubilidad en metanol, el cual no genera confianza de que el agua de cristalización es liberada durante la titulación. (14)

Para conocer el contenido real de agua del tartrato de sodio se secará de 2 a 3 g de muestra a $155 \pm 5^\circ \text{C}$ hasta peso constante (mínimo 4 horas). (15)

B.5.1. Detección del punto final.

Para la detección del punto final en las valoraciones, utilizando el reactivo de Karl Fischer, existen dos métodos generales para establecerlo, a saber:

A. Punto final por cambio de color.

La valoración utilizando el punto final por cambio de color no es tan preciso y exacto, comparado con el punto final electrométrico, y no puede ser usado para muestras coloreadas. Sin embargo, es adecuado para determinaciones rutinarias de agua de alrededor del 0.1 al 0.2%. El punto final es definido durante la titulación cuando el color cambia de amarillo a rojo-anaranjado y éste persiste por más de 30 segundos.

B. Punto final electrométrico.

La valoración con detección del punto final electrométrico es aplicable sobre un amplio intervalo de contenido de agua, y puede ser utilizado para las soluciones que poseen color. Usualmente el punto final electrométrico es determinado cuando el amperímetro señala una lectura persistente.

(15)

B.6. REACTIVOS

Los reactivos utilizados deben ser grado químico o equivalente.

El reactivo de Karl Fischer puede ser preparado en el laboratorio o bien comprado, existiendo diferentes tipos de reactivo, debido a su composición y empleo.

El secado de los disolventes puede llevarse a cabo en el laboratorio mediante diferentes métodos.

(15)

B.7. INTERFERENCIAS

Un número de sustancias y clases de compuestos interfieren en la determinación del agua utilizando este método. Las interferencias son asociadas con reacciones de condensación o de oxido reducción.

La interferencia de muchas clases de compuestos pueden ser eliminadas por reacciones químicas para formar compuestos inertes previos a la titulación, o bien pueden ser eliminadas mediante tratamientos especiales que se le da a la sustancia por analizar.

Los siguientes grupos pertenecen a esta categoría:

Aldehidos y cetonas activas.

Aminas fuertes.

Amonio.

Sales férricas.

Derivados de hidrazina.

Sales hidroxilamina.

Mercaptanos.

Metilatos de sodio.

Acido sulfúrico.

Tioácidos.

Tioureas.

(15)

B.8. APLICACIONES

La técnica de titulación usando reactivo de Karl Fischer es un método ampliamente utilizado para la determinación de agua.

Las aplicaciones pueden ser subdivididas en dos secciones:

a. Compuestos orgánicos e inorgánicos en los que el agua puede ser determinada directamente y,

b. Compuestos en los que el agua no puede ser determinada directamente, pero en donde las interferencias pueden ser eliminadas por una reacción química adecuada o realizando modificaciones al procedimiento. Dichos procedimientos incluyen disolver la muestra en un disolvente adecuado y valorarla, después de que ha sido agitada y separando una alícuota de líquido sobrenadante.

El agua puede ser determinada directamente en la presencia de los siguientes tipos de compuestos:

COMPUESTOS ORGANICOS

Acetales	Haluros
Acidos	Hidrocarburos
Alcoholes	Cetonas, estables
Aldehidos estables	Nitrilos
Amidas	Ortoesteres
Aminas débiles	Peróxido
Anhídridos	Tiocianatos
Esteres	Tioesteres

COMPUESTOS INORGANICOS

Acidos	Oxido cúprico
Oxido ácidos	Sulfato de hidrazina
Oxidos de aluminio	Sales de ác. orgánicos
Anhídridos	Dióxido de bario
Carbonato de calcio	

(15)

Algunos compuestos sólo reaccionan parcialmente con el reactivo de Karl Fischer cuando son tratados bajo condiciones especiales. Estos incluyen los siguientes:

Metilurea	Dicromatos
Perácidos	Oxidos de hierro
Quinonas	Oxidos de níquel
Oxidos de arsenito	Cromatos

(15)

B.9. EVALUACION DE PARAMETROS

B.9.1. Valoración del reactivo.

La valoración del reactivo de Karl Fischer se puede llevar a cabo utilizando diferentes sustancias, a saber: agua destilada, tartrato de sodio y/o una solución de agua-metanol.

Dependiendo de la cantidad de agua contenida en una muestra, se utilizan diferentes cantidades de tartrato de sodio y de una solución de agua en metanol, para lograr su valoración. A continuación se muestra dicha relación:

Contenido de Agua(g)	Tartrato de sodio dihidratado (g)	Disolución agua metanol (ml)
0.03 a 0.05	0.2 a 0.30	30 a 50
0.09 a 0.15	0.6 a 0.90	-----
0.18 a 0.30	1.1 a 1.90	-----

Es necesario que la estandarización del reactivo se lleve a cabo diariamente, a fin de obtener un dato verídico, dicho valor no debe tener una gran diferencia con los obtenidos anteriormente, dado que las condiciones son muy similares.

Para observar si las lecturas obtenidas son repetibles, es necesario evaluar los resultados obtenidos con cada una de ellas, analizandolas durante tres días, con cuatro repeticiones de cada una. (15)

B.8.1.1. Precisión y repetibilidad.

Después de que el agua ha reaccionado con el yodo libre en la solución se produce un cambio de color el en punto final de la titulación, dicho punto se puede determinar electrométicamente utilizando un microamperímetro. Para llevar a cabo esta titulación es indispensable tomar las precauciones adecuadas para evitar que los reactivos y el recipiente en donde se efectúa la reacción, tengan contacto con la humedad atmosférica.

La sensibilidad, precisión, y exactitud dependen de varios factores, por ejemplo, la concentración del reactivo de Karl Fischer, la técnica de valoración, el equipo o instrumento empleado, la cantidad de agua valorada y la naturaleza del material a analizar.

Utilizando la técnica del punto final electroquímico, pueden detectarse cantidades menores de 0.02 mg.

La estequiometría de la reacción no es exacta y la reproducibilidad de una determinación depende de factores tales como las concentraciones relativas de los ingredientes del reactivo, la naturaleza del disolvente utilizado en la solución del producto de prueba y la técnica utilizada en la determinación particular. Por esta razón, es necesario estandarizar la técnica y así para alcanzar la precisión adecuada.

La repetibilidad se considera cuando las determinaciones no tienen una diferencia mayor del 0.013%, entre cada una de ellas.

(11,15)

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Las técnicas de medición por espectrofotometría infrarrojo son ampliamente usadas para la determinación de propiedades espectrales de innumerables moléculas o grupos funcionales en una gran variedad de materiales. Por lo que la necesidad de obtener resultados seguros y confiables nos lleva a contar con instrumentos y equipos perfectamente calibrados y certificados.

Esto se logra estableciendo los parámetros que deben evaluarse, y las condiciones bajo las cuales dicho análisis debe llevarse a cabo.

Dentro de la literatura existen normas internacionales como las de la American Society of Testing and Materials, ASTM, y nacionales, como las emitidas por la Secretaría de Comercio y Fomento Industrial (SECOFI). En cada una de ellas se establecen algunos de los parámetros que deben evaluarse y en algunos casos la manera de realizarlas, pero dichas metodologías deben adaptarse a las condiciones de los equipos, por lo que es necesario crear la tecnología para evaluarlas. Dicho desarrollo abarca desde la elección de las sustancias a trabajar, hasta la manera de realizar los cálculos adecuados y la forma de reportarlos, abarcando así mismo la metodología.

En el presente trabajo se determinarán las variables, y se evaluará cada una de ellas logrando con esto, crear un método para la calibración de los equipos, considerando sus limitaciones y requisitos.

Gracias a esto es posible generar un programa de calibración y de uso para cada uno de los equipos, logrando con esto mantenerlos en óptimas condiciones de uso, o bien, detectar a tiempo posibles fallas en los mismos.

IV OBJETIVOS

Establecer las condiciones de prueba para la calibración, evaluación y manejo del espectrofotómetro infrarrojo AccuLab 10 y del determinador de humedad Karl Fischer, marca Methrom, evaluando las variables que influyen en el funcionamiento de dichos equipos, y documentando cada una de éstas variables con el fin de establecer una tecnología de uso.

V. HIPOTESIS

Al establecer los parámetros de evaluación y calibración de los equipos y sus condiciones, así como el control de las variables que influyen en la obtención de resultados con calidad, en base a algunas de las normas establecidas por la American Society of Testing (ASTM) y por la Secretaria de Comercio y Fomento Industrial, que afectan el correcto funcionamiento del equipo y control de operación, entonces será posible generar los procedimientos para que, de acuerdo a programas establecidos, el equipo sea verificado y calibrado y pueda ser mantenido en condiciones adecuadas de operación.

IV. MATERIAL

A. CALIBRACION DEL ESPECTROFOTOMETRO INFRARROJO.

EQUIPO:

- a. Espectrofotómetro infrarrojo Beckman Acculab 10.
- b. Prensa hidráulica de vacío con manómetro, marca OSYMA.
- c. Horno de vacío de precisión, serie 29AU-9.
- d. Balanza Mettler AE260 Delta-Range.
- e. Soporte para muestras sólidas.
- f. Celda para muestras líquidas con ventanas de Bromuro de potasio.
- g. Película de poliestireno, patrón de referencia.

REACTIVOS:

- a. Bromuro de potasio, grado espectro.
- b. Sulfoxazol, reactivo analítico.
- c. Tetracloruro de carbono anhidro, reactivo analítico.
- d. Sulfato de sodio anhidro, reactivo analítico.
- e. Cloroformo, grado espectro.

B. DETERMINACION DE HUMEDAD.

EQUIPO:

- a. Determinador de humedad Karl Fischer Marca Methrom.
- b. Balanza Mettler AE260 Delta-Range.

REACTIVOS:

- a. Reactivo de Karl Fischer, reactivo analítico.
- b. Tartrato de sodio, reactivo analítico.
- c. Metanol, reactivo analítico.

VII. METODOLOGIA

A. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA

A.1. VERIFICACION

A.1.1. Especificaciones de instalación.

Antes de realizar la verificación de los parámetros establecidos por las normas, es necesario verificar que las condiciones de instalación sean las adecuadas.

En este punto se evalúa:

a) Temperatura ambiental. Utilizando un termómetro y registrando los datos a diferentes tiempos.

b) Así mismo, se evalúa el tiempo de respuesta y la relación señal-ruido, que se determina corriendo un espectro con las cavidades para la muestra y la referencia vacías.

c) Velocidad de análisis, se toma el tiempo que tarda el equipo en registrar un espectro a diferentes velocidades.

A.1.2. Características de las celdas de absorción

A.1.2.1. Limpieza.

Colocar las celdas para muestras líquidas, llenas con el mismo disolvente en ambas. Obtener el espectro correspondiente.

(7)

A.1.2.2. Goteo.

Llenar las celdas (muestra y referencia) con Cloroformo.

Dejar transcurrir 3 horas, chequeando a diferentes intervalos de tiempo si aún están llenas. De no ser así, verificar que se encuentran bien cerradas y llenar nuevamente, reiniciando la prueba. En caso de que el goteo sea persistente, es recomendable desmontar la celda y armarla nuevamente. La determinación del volumen en la celda se realiza de manera visual. (7)

A.2. CALIBRACION

A.2.1. Exactitud y precisión de la longitud de onda

Obtener 10 veces el espectro completo de la película de poliestireno.

Una vez obtenidos los espectros evaluar en cada uno de ellos, las señales de máxima absorción, tanto en número de onda como en longitud de onda. Evaluando los resultados mediante una prueba t de Student, la desviación estándar y el coeficiente de variación, para mayores detalles ver el Anexo A.

Las señales de máxima absorción reportados para la película de poliestireno están registrados en la tabla No.2.

NUMERO DE ONDA (cm^{-1})	LONGITUD DE ONDA (micras)
3027.9	3.303
2851.5	3.507
1944.5	5.143
1601.8	6.243
1154.6	8.661
1028.3	9.725
906.9	11.027

TABLA 2. Señales de máxima absorción para la película de poliestireno.

(2,6,16)

A.7.2. Linealidad fotométrica

Preparar 4 mezclas a diferentes concentraciones de la sustancia a analizar.

De estas mezclas tomar las cantidades adecuadas para preparar la pastilla, y obtener sus espectros.

De cada una de las mezclas determinar por triplicado sus espectros.

Calcular la absorbancia para cada banda característica de máxima absorción.

Realizar esta prueba por duplicado. Evaluar estadísticamente. Ver Anexo A, para las pruebas estadísticas a realizar.

(18,19,20)

B. DETERMINACION DE HUMEDAD

B.1. VALORACION DEL REACTIVO.

B.1.1. Estandarización con tartrato de sodio.

Introducir en el vaso de titulación metanol. Agregar reactivo de Karl Fischer hasta obtener una lectura persistente en la escala del amperímetro. Pesar aproximadamente y con exactitud tartrato de sodio. Obteniendo el peso real por diferencia de peso. Titularla con reactivo de Karl Fischer hasta que el amperímetro tenga una lectura constante. Anotar el volumen de reactivo usado. Repetir todo 6 veces. Con estos resultados calcular el valor del factor " F " , de acuerdo al Anexo A. (9,15)

B.1.2. Estandarización con agua destilada.

Colocar metanol y agregar reactivo de Karl Fischer hasta su neutralización. Adicionar 0.04 g de agua destilada, al vaso de titulación. Titular y registrar el volumen empleado, realizar 6 determinaciones de igual manera. Ver el Anexo A, para los cálculos del factor " F " . (9,15)

B.1.3. Estandarización con una solución agua-metanol.

Preparar una solución metanólica. Añadir metanol al vaso de titulación y valorar con reactivo Karl Fischer. Adicionar 10 ml de la solución y valorar con reactivo Karl Fischer.

Anotar el volumen gastado y realizar 6 determinaciones.

La normalización del reactivo se realizará en 3 días diferentes. Realizar los cálculos pertinentes, de acuerdo al Anexo A. (9,15)

B.2. PRECISION Y REPETIBILIDAD

Adicionar al vaso de titulación metanol. Neutralizar con el reactivo. Pesar aproximadamente y con exactitud una cantidad de muestra. Obtener el peso real por diferencia de peso. Introducir la muestra al vaso de titulación y valorarla. Anotar el volumen empleado. Repetir 6 veces.

Calcular el porcentaje de agua contenido en la muestra, utilizando el factor obtenido el mismo día. (Ver el Anexo A, para los cálculos). Realizar este análisis por 3 días. Evaluar la precisión y la exactitud obtenida para las determinaciones.

(9,15)

VIII. RESULTADOS Y DISCUSION

A. ESPECTROSCOPIA

A.1. Verificación

A.1.1. Evaluación de las condiciones de instalación.

Se evaluo la temperatura ambiente, tiempo de respuesta, relación de la señal-ruido y la velocidad de análisis, encontrándose en cada una de ellas resultados favorables, según las especificaciones proporcionadas por el proveedor. Por lo tanto, podemos decir que el equipo está en buenas condiciones de instalación.

En la tabla 3, se reportan los valores obtenidos para cada una de las pruebas realizadas, junto con las especificaciones proporcionadas por el proveedor.

PRUEBA	PROVEEDOR	LECTURA EXPERIMENTAL
Temperatura	15-45°C	20-32 °C
Vel. de análisis	9 min.	8 min.
Relación señal-ruido	-----	Escala de 5

Tabla 3. Tabla de comparación para las condiciones de instalación.

A.2.1. Celdas de muestras líquidas.

A.1.2.1. Limpieza

Las ventanas de bromuro de potasio no se encontraban en buen estado, por lo que fué necesario someterlas a un proceso de limpieza. Consistente en pulir las ventanas; para realizar dicha operación se utilizo un producto comercial. La suciedad de las

ventanas se detecto mediante un espectro. Debido a que en la literatura se reporta que éstas no deben de presentar bandas de absorción extrañas y además deben observarse transparentes a simple vista, se decidió llevar a cabo el proceso de pulido.

Una vez pulidas las ventanas de las celdas se obtuvo el espectro correspondiente. El espectro obtenido, Fig. 6, no presenta ninguna banda de absorción, por lo que podemos decir que el proceso de limpieza de las celdas fué adecuado.

Al comparar este espectro con uno obtenido para el aire, Fig. 7, se observa que son similares, por lo que podemos decir que nuestras celdas no presentarán ninguna interferencia en la absorción de la muestra.

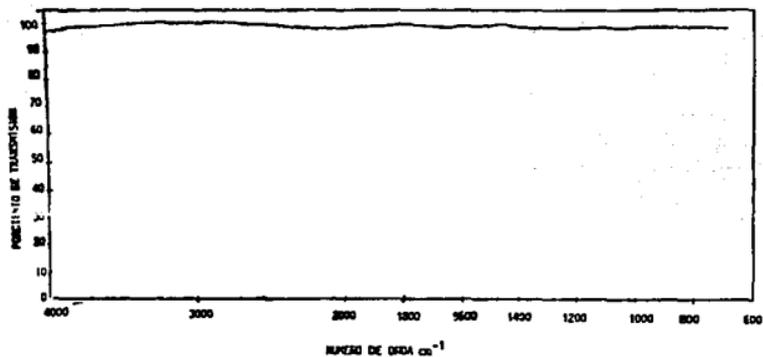


Fig. 6. Espectro de las celdas de muestras liquidas despues de un proceso de pulido.

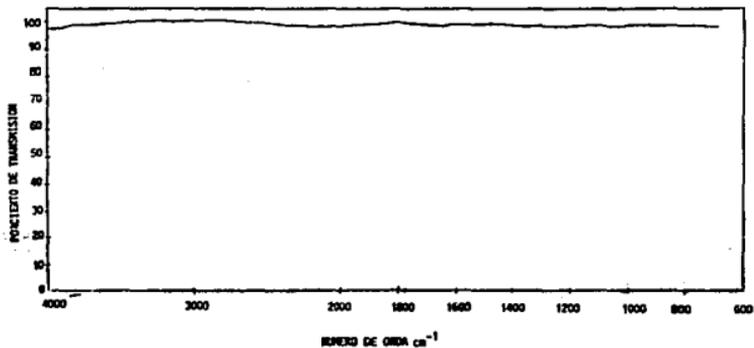


Fig.7. Espectro obtenido para el aire

A.1.2.2. Prueba de goteo

Una vez limpiadas las celdas, se procedió a armarlas y a probar si estaban perfectamente selladas. En esta prueba, las celdas se dejaron llenas con un disolvente, obteniéndose que con el transcurrir del tiempo no presentaban fugas, por lo que las celdas estaban perfectamente selladas.

Tiempo Inicial	Tiempo transcurrido	Condición
	-----	Llena
1a. hora	1 hora 07 minutos	Llena
2a. hora	1 hora 20 minutos	Llena
3a. hora	1 hora 05 minutos	Llena

A.2. Calibración

A.2.1. Exactitud y precisión de la longitud de onda

Se obtuvieron 10 espectros del patrón de referencia (Ver Figura B), con los cuales se evaluó la precisión y exactitud, los puntos elegidos para leer el número de onda en los espectros obtenidos experimentalmente, son los que se reportan en la Tabla 4 como señales de máxima absorción característicos.

Longitud de onda de la referencia (cm ⁻¹)	NUMERO DE DETERMINACION									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Longitud de onda (cm ⁻¹) obtenida									
3027.9	3080	3064	3100	3100	3094	3088	3100	3092	3088	3100
2851.5	2860	2846	2882	2880	2874	2874	2880	2876	2870	2886
1944.5	1928	1927	1944	1945	1944	1942	1943	1943	1938	1944
1601.8	1602	1595	1610	1611	1609	1607	1610	1605	1603	1610
1154.6	1162	1157	1173	1175	1175	1170	1175	1171	1165	1175
1028.3	1040	1034	1050	1050	1050	1047	1050	1050	1042	1050
906.8	921	915	932	932	933	928	932	931	923	934

TABLA 4. Resultados obtenidos con la película de poliestireno.

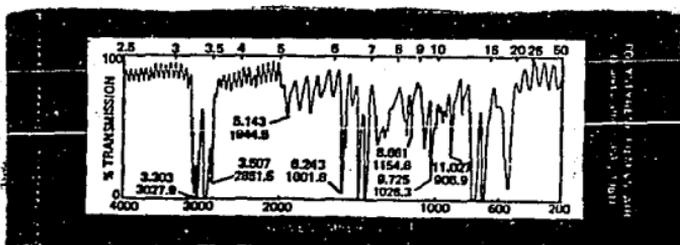


Fig. B. Espectro de la película de poliestireno, utilizada como patrón de referencia.

En la Figura 9 se muestra un espectro obtenido experimentalmente con la película de poliestireno.

Una vez obtenidas las longitudes de onda para cada uno de los picos característicos, estos se sometieron a un análisis estadístico, calculando algunos parámetros los cuales se muestran en la Tabla No. 5

Longitud de onda de la referencia	PARAMETROS ESTADISTICOS			
	Promedio	Desviación estandar	tcal.	Coefficiente de variación
3027.9	3090.6	11.5480	17.160	0.3736
2851.5	2872.8	11.8584	5.680	0.4127
1944.5	1939.8	6.7626	2.197	0.3486
1601.8	1606.2	5.0508	2.754	0.3144
1154.6	1169.8	6.3909	7.520	0.5463
1028.3	1046.3	5.6969	9.990	0.5444
906.9	928.1	6.3324	6.031	0.6822

TABLA 5. Parámetros estadísticos obtenidos para las longitudes de onda obtenidas.

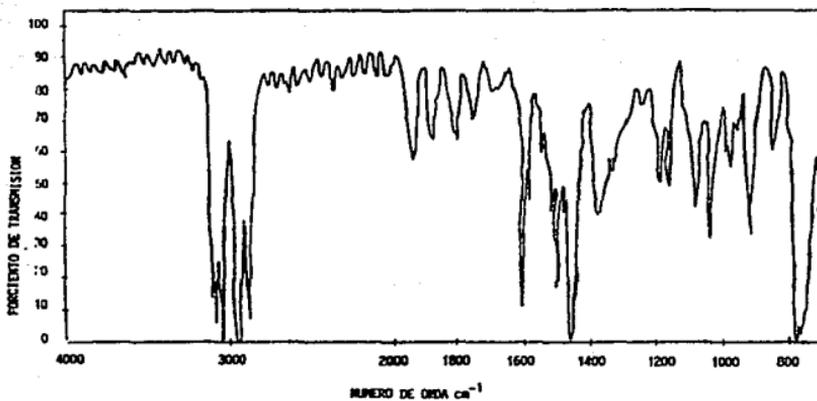


Fig. 9. Espectro de la película de poliestireno obtenido experimentalmente.

El coeficiente de variación nos sirve para evaluar la precisión. Con lo que respecta a la t de student, el valor de la t calculada es mayor que el valor de tablas, que en este caso es de 2.262 con 9 grados de libertad, por lo que el equipo no presenta exactitud, tomando como referencia los valores del número de onda reportados para cada banda de máxima absorción de la película de poliestireno.

Para determinar que tanta variación existe entre el valor encontrado y el reportado, se calculo la diferencia, con lo cual se confirma que no existe exactitud por parte del equipo. Dichas diferencias se reportan en la Tabla 6.

Longitud de onda de la referencia (R_i)	Valor promedio obtenido (X_i)	Diferencia ($R_i - X_i$)
3027.9	3090.6	62.7
2851.5	2872.8	21.3
1944.5	1939.8	4.7
1601.8	1606.2	4.4
1154.6	1169.8	15.2
1028.3	1046.3	18.0
906.9	928.1	21.2

TABLA 6. Diferencias entre los valores reportados y los obtenidos.

Dado que el equipo no es exacto, fué necesario calcular los límites de confianza para cada uno de los picos, los cuales se reportan en la Tabla 7. Los intervalos de confianza se obtuvieron sumando y restando la desviación estandar al valor promedio. Para emplear estos intervalos en las calibraciones que se lleven a cabo y así asegurar que el equipo se encuentra en buenas condiciones para su uso.

Longitud de onda de la referencia	Intervalo de confianza (número de onda, cm^{-1})
3027.9	2892.4363 < x > 3288.7637
2851.5	2805.4443 < x > 2940.1557
1944.5	1935.1017 < x > 1944.4983
1601.8	1601.8013 < x > 1610.5987
1154.6	1154.6022 < x > 1184.9978
1028.3	1028.3028 < x > 1064.2972
906.9	916.0230 < x > 940.1769

TABLA 7. Intervalos de confianza para las longitudes de onda.

A.2.2. Linealidad fotométrica

Para evaluar la linealidad fotométrica se utilizaron dos sustancias grado reactivo analítico, el Sulfisoxazol y el Metronidazol, de las cuales se conocían sus picos máximos, con éstas se probaron diferentes concentraciones hasta que se encontró el intervalo adecuado de trabajo.

Posteriormente, el análisis en todo el intervalo de concentración se realizó en dos días obteniéndose en cada día tres repeticiones por cada nivel de concentración.

Los valores de absorbancia fueron analizados para obtener el promedio por cada día y de estas dos se obtuvo su promedio general. La desviación estandar y el coeficiente de variación se realizó en base a los promedios obtenidos en los dos días de análisis.

Los límites superior e inferior se obtuvieron para establecer las condiciones de calibraciones posteriores, y estos se encuentran reportados en las Tablas 8 y 9.

Promedio 1a. pha.	Promedio 2a. pha.	Promedio general	Desv. estandar	Límites (cm^{-1})		Cantidad (mg)
				inferior	superior	
PICO 1 (3105 cm^{-1})						
0.1783	0.1840	0.1811	0.0054	0.1702	0.1919	0.249
0.3776	0.3862	0.3819	0.0104	0.3609	0.4028	0.498
0.5782	0.5025	0.5403	0.0438	0.4527	0.6279	0.747
0.8694	0.8005	0.8349	0.0416	0.7515	0.9183	0.996
PICO 2 (1538 cm^{-1})						
0.2201	0.2227	0.2259	0.0041	0.2142	0.2335	0.249
0.4322	0.4271	0.4296	0.0077	0.4141	0.4451	0.498
0.5987	0.5343	0.5665	0.0363	0.4939	0.6391	0.747
0.7651	0.6918	0.7284	0.0409	0.6466	0.8102	0.996
PICO 3 (1375 cm^{-1})						
0.1871	0.1900	0.1885	0.0093	0.1698	0.2072	0.249
0.3739	0.3753	0.3746	0.0111	0.3520	0.3968	0.498
0.5987	0.4837	0.5412	0.0637	0.4138	0.6686	0.747
0.7650	0.6917	0.7283	0.0490	0.6303	0.8263	0.996
PICO 4 (1078 cm^{-1})						
0.1866	0.1774	0.1820	0.0091	0.1636	0.2003	0.249
0.3925	0.3879	0.3902	0.0055	0.3791	0.4012	0.498
0.5649	0.5087	0.5368	0.0321	0.4726	0.6010	0.747
0.7633	0.7040	0.7336	0.0340	0.6656	0.8016	0.996
PICO 5 (830 cm^{-1})						
0.1284	0.1250	0.1267	0.0054	0.1160	0.1380	0.249
0.2633	0.2620	0.2626	0.0055	0.2520	0.2740	0.498
0.3957	0.3530	0.3743	0.0251	0.3240	0.4240	0.747
0.5216	0.4840	0.5028	0.0224	0.4580	0.5480	0.996

Tabla No.8

Datos de absorbancia obtenidos de la prueba de linealidad
para Metronidazol

Promedio 1a. pba.	Promedio 2a. pba.	Promedio general	Desv. estandar	Límites (cm^{-1})		Cantidad (μg)
				inferior	superior	
PICO 1 (3380 cm^{-1})						
0.4291	0.3745	0.4018	0.0299	0.3418	0.4617	0.249
0.8710	0.7712	0.8211	0.0562	0.7085	0.9336	0.498
1.5878	1.3377	1.4627	0.1430	1.1767	1.7487	0.747
PICO 2 (1633 cm^{-1})						
0.1552	0.1255	0.1403	0.0168	0.1066	0.1740	0.249
0.2891	0.2374	0.2632	0.0284	0.2064	0.3200	0.498
0.3521	0.3341	0.3431	0.0138	0.3155	0.3707	0.747
0.4356	0.4290	0.4323	0.0166	0.3991	0.4655	0.996
PICO 3 (1503 cm^{-1})						
0.0788	0.0721	0.0754	0.0047	0.0658	0.0850	0.249
0.1635	0.1420	0.1527	0.0120	0.1285	0.1769	0.498
0.2498	0.2324	0.2411	0.0115	0.2181	0.2641	0.747
0.3320	0.3124	0.3222	0.0121	0.2980	0.3464	0.996
PICO 4 (1343 cm^{-1})						
0.1901	0.1620	0.1760	0.0157	0.1446	0.2074	0.249
0.3606	0.3418	0.3512	0.0127	0.3258	0.3766	0.498
0.5358	0.4760	0.5059	0.0347	0.4365	0.5753	0.747
0.7331	0.6446	0.6888	0.0499	0.589	0.7886	0.996
PICO 5 (1166 cm^{-1})						
0.4867	0.4059	0.4463	0.0447	0.3569	0.5357	0.249
1.1025	0.8707	0.9866	0.1295	0.7276	1.2456	0.498
0.0000	2.1832	1.0916	0.0000	1.0916	1.0916	0.747
PICO 6 (840 cm^{-1})						
0.0630	0.0541	0.0585	0.0057	0.0469	0.0701	0.249
0.1298	0.1167	0.1232	0.0076	0.1079	0.1385	0.498
0.1955	0.1778	0.1866	0.0128	0.1610	0.2122	0.747
0.2773	0.2492	0.2632	0.0157	0.2318	0.2946	0.996

Tabla No.9
 Datos de absorbancia obtenidos de la prueba de linealidad
 para Sulfisoxazol

Estos datos se graficaron de manera individual para cada pico y para las dos sustancias analizadas, (ver graficas de la 1 a la 5 para Metronidazol y de la 6 a la 11 para Sulfisoxazol).

En éstas gráficas se presenta el comportamiento de las repeticiones, del promedio y de los límites obtenido para cada uno de los picos.

Gráficamente se observa que los resultados tienen un comportamiento lineal. Por otro lado, los datos obtenidos para cada uno de los análisis, es decir, de los valores obtenidos para cada día con sus repeticiones, se sometieron a análisis estadístico. Los resultados de éstos se presentan a continuación en las Tablas 10 y 11.

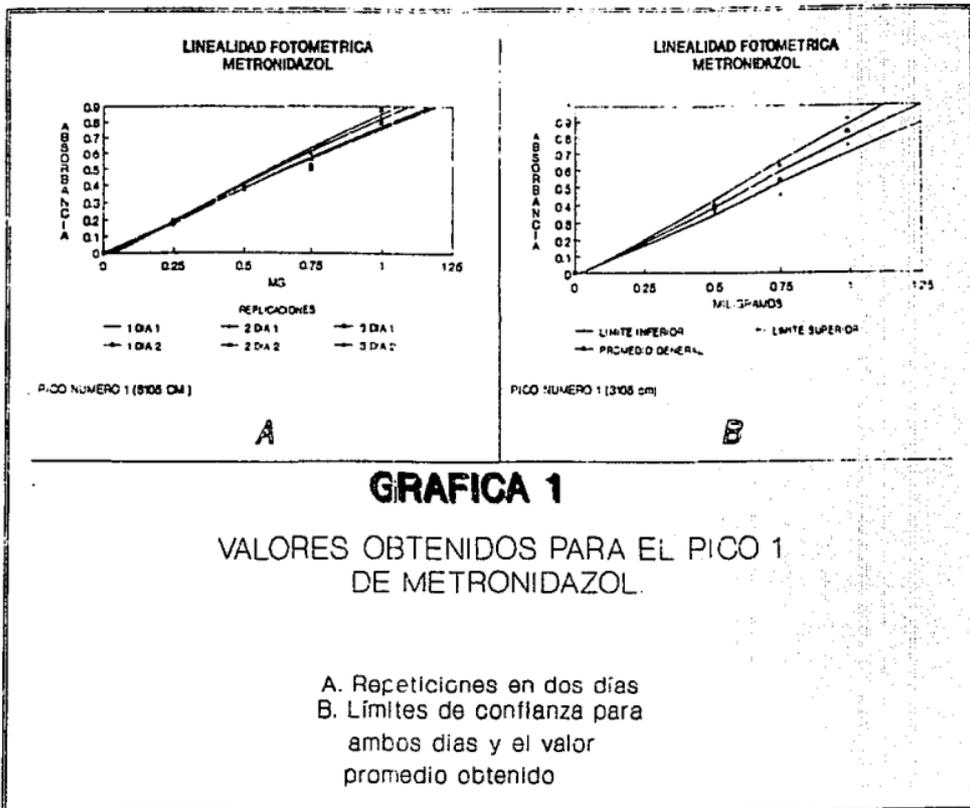
Sustancia	Numero de pico	PARAMETROS ESTADISTICOS				
		r^2	a	b	Br	Ar
1a. determinación						
Sulfisoxazol	1	0.9792	-0.1959	2.3266	1.2036	-0.2035
	2	0.9649	0.0819	0.3633	0.7303	-0.2694
	3	0.9979	-0.0054	0.3397	1.0265	-0.0262
	4	0.9973	0.0039	0.7245	0.9914	0.0085
	5	0.9988	-0.1291	2.473	1.1624	-0.1624
	6	0.9565	-0.0034	0.1636	1.0349	-0.0350
	7	0.9922	-0.0107	0.2846	1.0646	-0.0643
	8	0.9661	0.0006	0.1975	0.9946	0.0056
2a. determinación						
	1	0.9866	-0.1353	1.9340	1.1634	-0.1634
	2	0.9942	0.0296	0.4045	0.8944	0.1051
	3	0.9953	-0.0130	0.3258	1.0691	-0.0695
	4	0.9945	0.0106	0.6353	0.9738	0.0261
	5	0.9143	-0.0580	3.4378	1.5663	-0.5666
	6	0.9783	-0.0098	0.1478	1.1192	-0.1196
	7	0.9968	-0.0121	0.2596	1.0816	-0.0809
	8	0.9921	-0.0068	0.1859	1.0626	-0.0627

TABLA 10. Tratamiento estadístico para Sulfisoxazol.

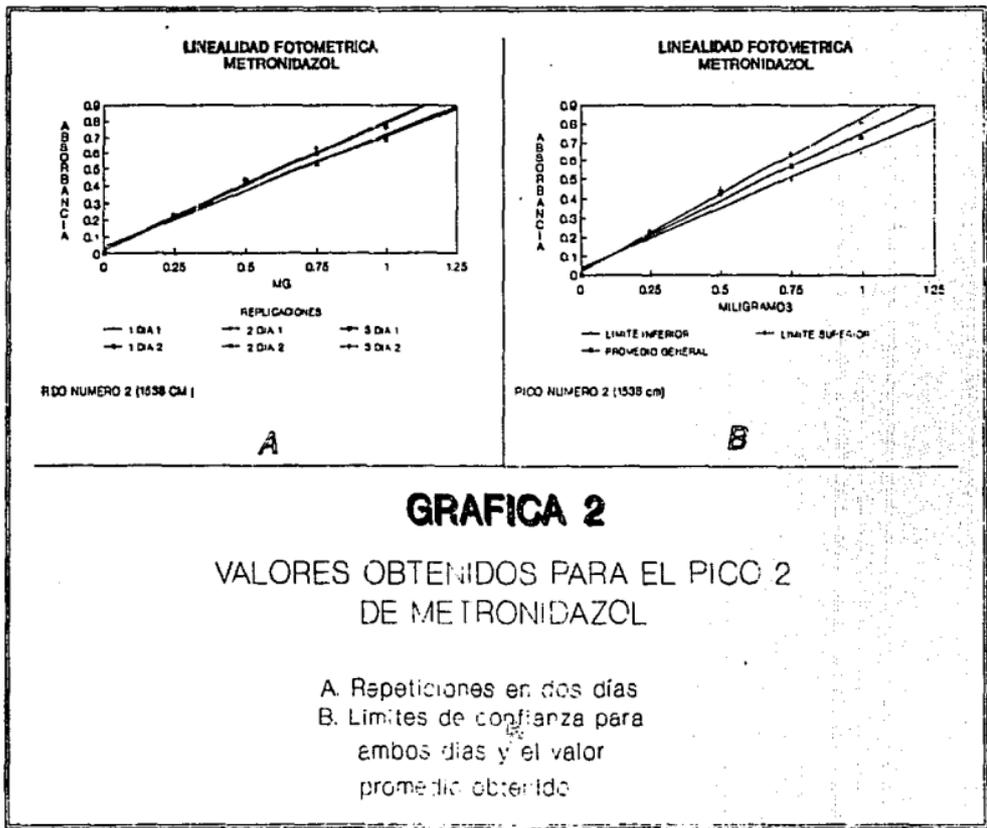
Sustancia	Numero de pico	PARAMETROS ESTADISTICOS					
		r^2	a	b	B _r	A _r	
Metronidazol		1a. determinación					
	1	0.9880	-0.0675	0.9132	1.1351	-0.1347	
	2	0.9928	0.0587	0.7242	0.8848	0.1152	
	3	0.9914	-0.0084	0.7865	1.0174	-0.0174	
	4	0.9967	0.0012	0.7640	0.9974	0.0025	
	5	0.9975	-0.0007	0.5268	1.0022	-0.0021	
			2a. determinación				
	1	0.9684	-0.0231	0.7895	1.0494	-0.0434	
	2	0.9843	0.0903	0.6082	0.8074	0.1925	
	3	0.9816	0.0318	0.6479	0.9267	0.0730	
4	0.9900	0.0193	0.6829	0.9563	0.0434		
5	0.9916	0.0138	0.4694	0.9549	0.0450		

TABLA 11. Tratamiento estadístico
para Metronidazol.

En estas tablas se muestran los valores obtenidos para cada uno de los picos en dos análisis. Para ambas sustancias, se observa que presentan un comportamiento lineal.



52

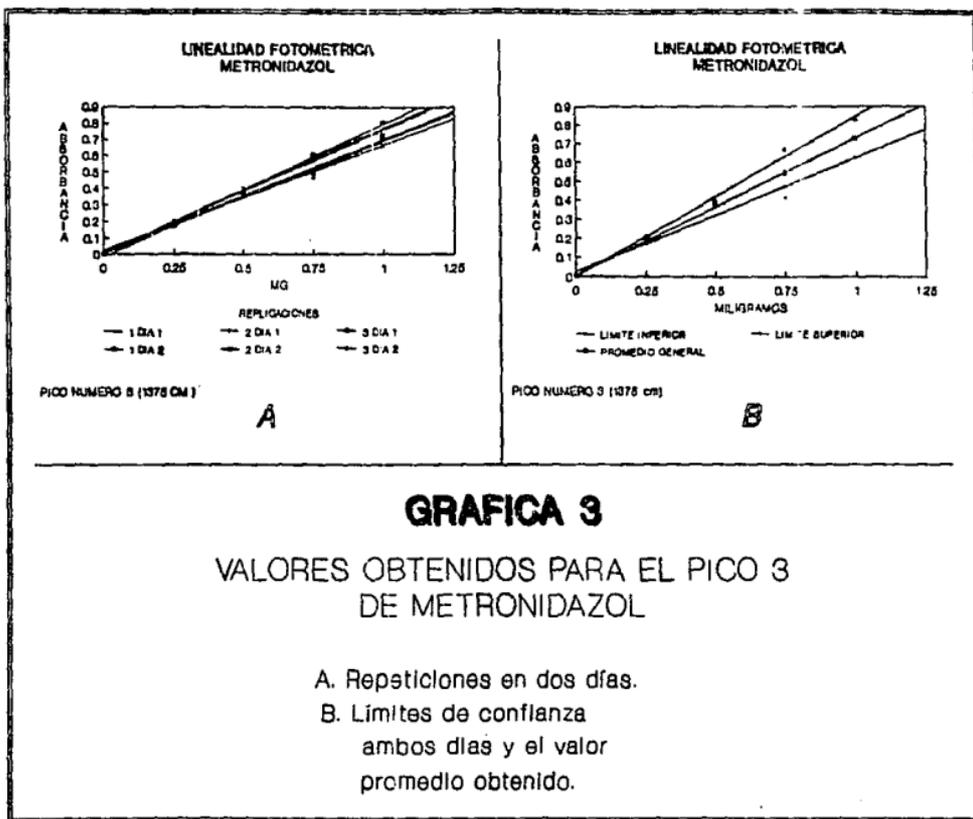


GRAFICA 2

VALORES OBTENIDOS PARA EL PICO 2
DE METRONIDAZOL

- A. Repeticiones en dos días
- B. Limites de confianza para ambos días y el valor promedio obtenido

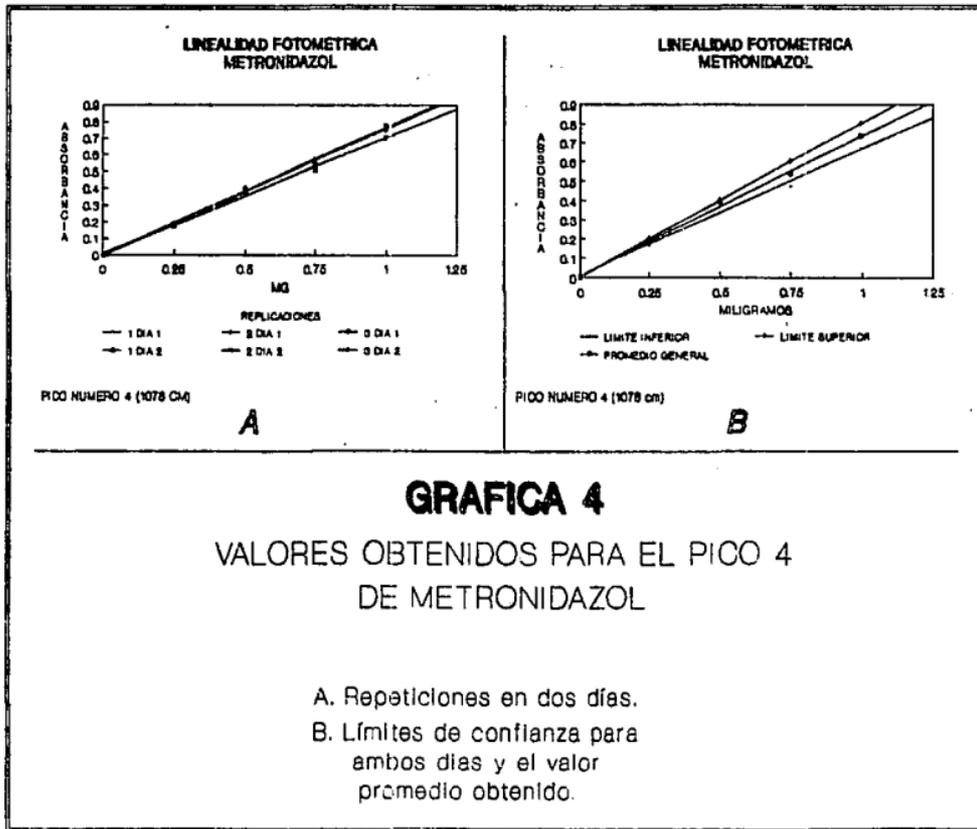
58

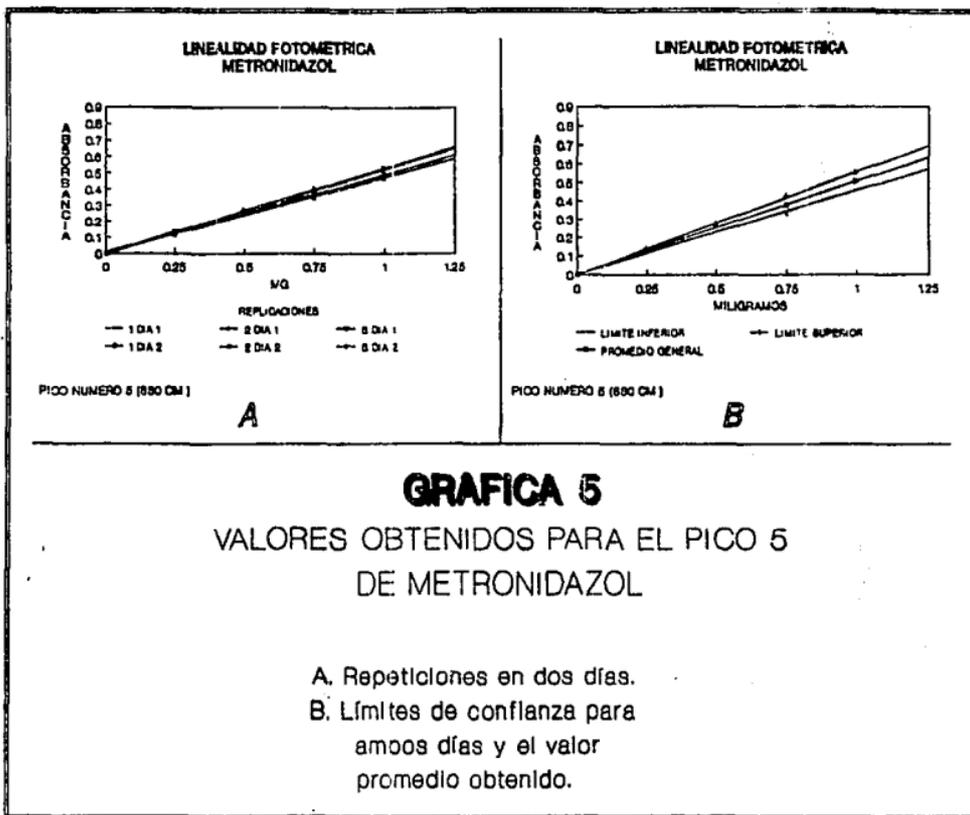


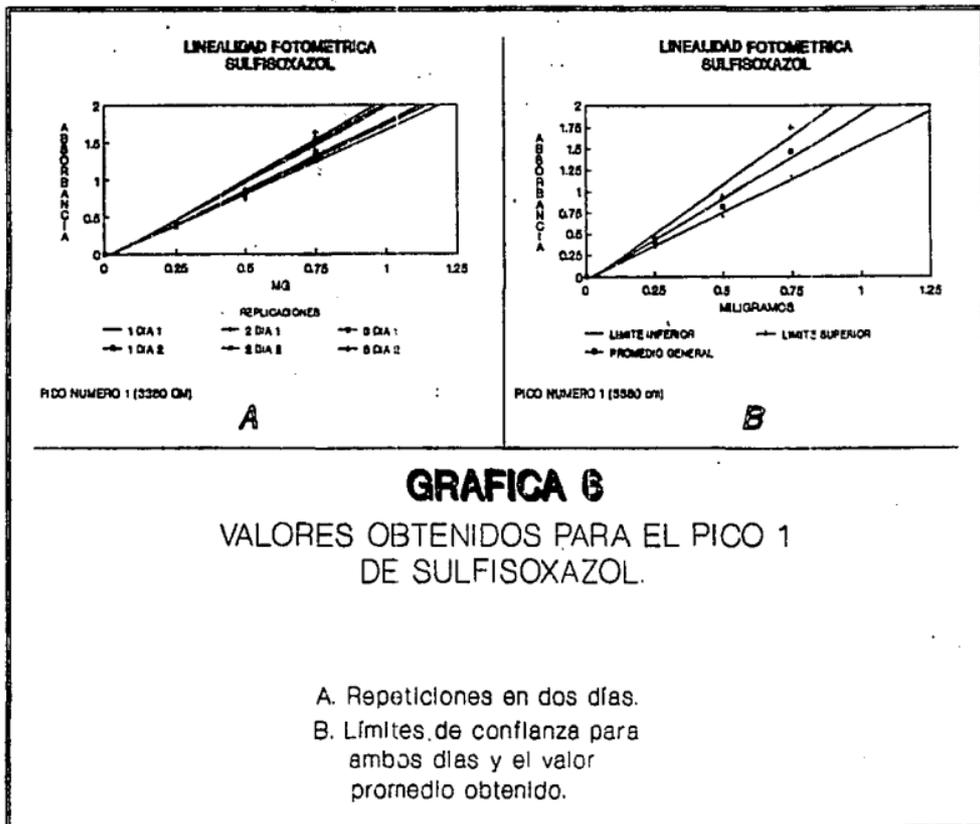
GRAFICA 3

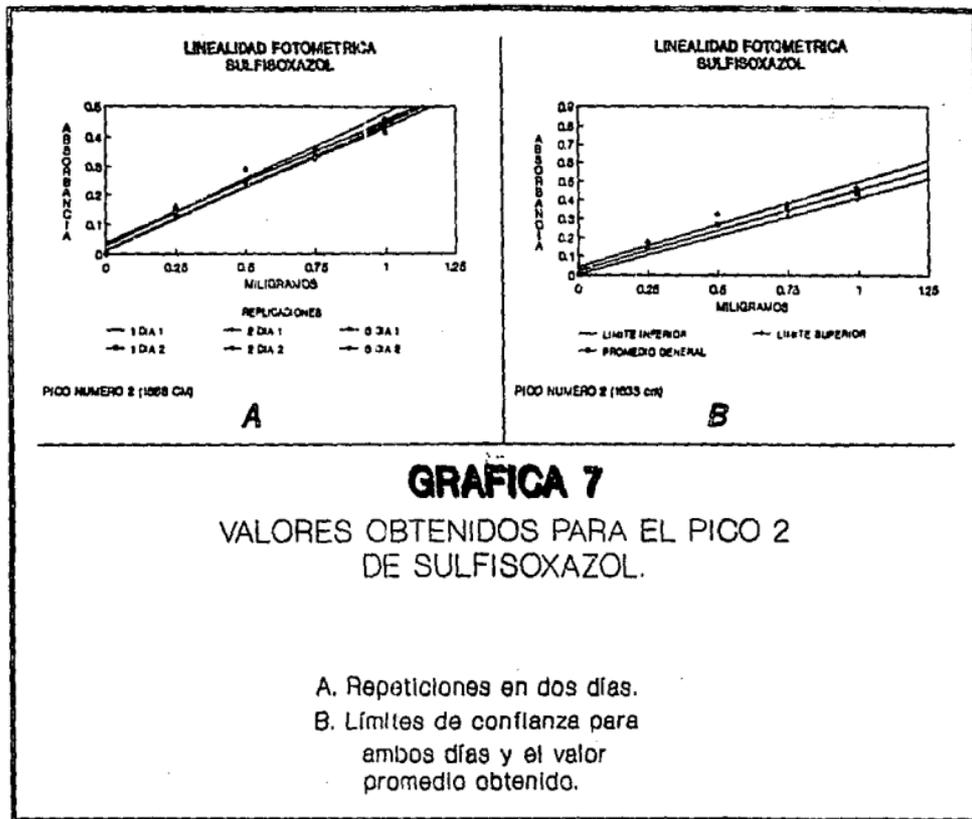
VALORES OBTENIDOS PARA EL PICO 3
DE METRONIDAZOL

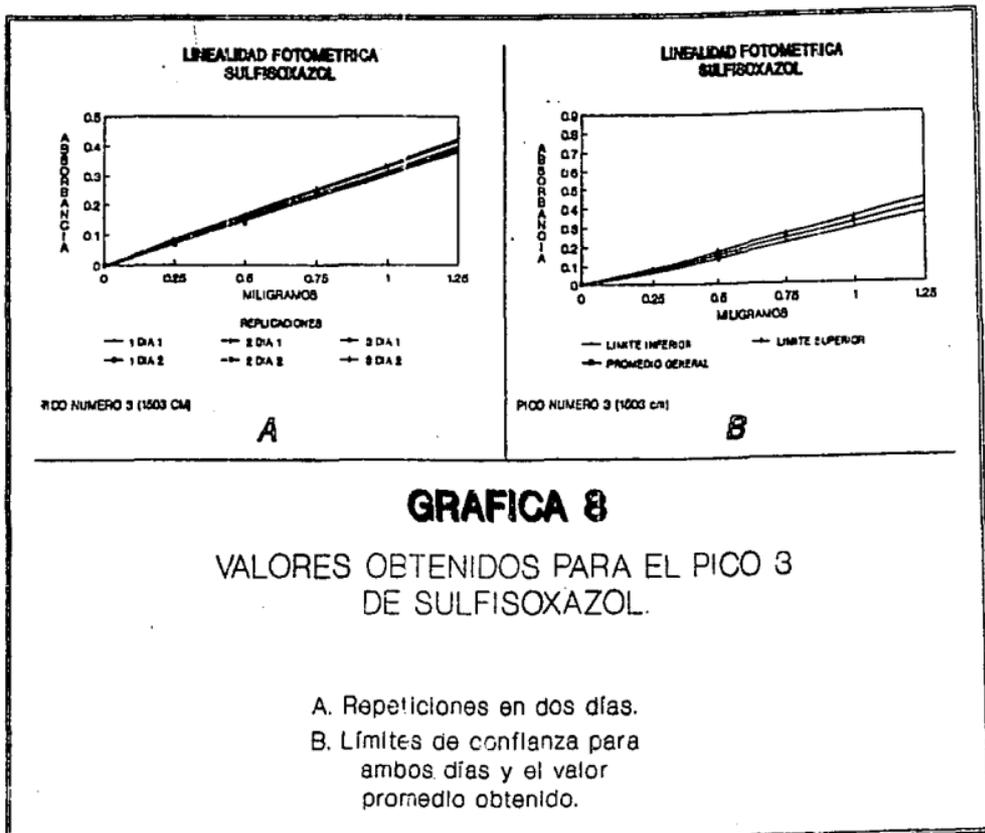
- A. Repeticiones en dos días.
- B. Límites de confianza
ambos días y el valor
promedio obtenido.

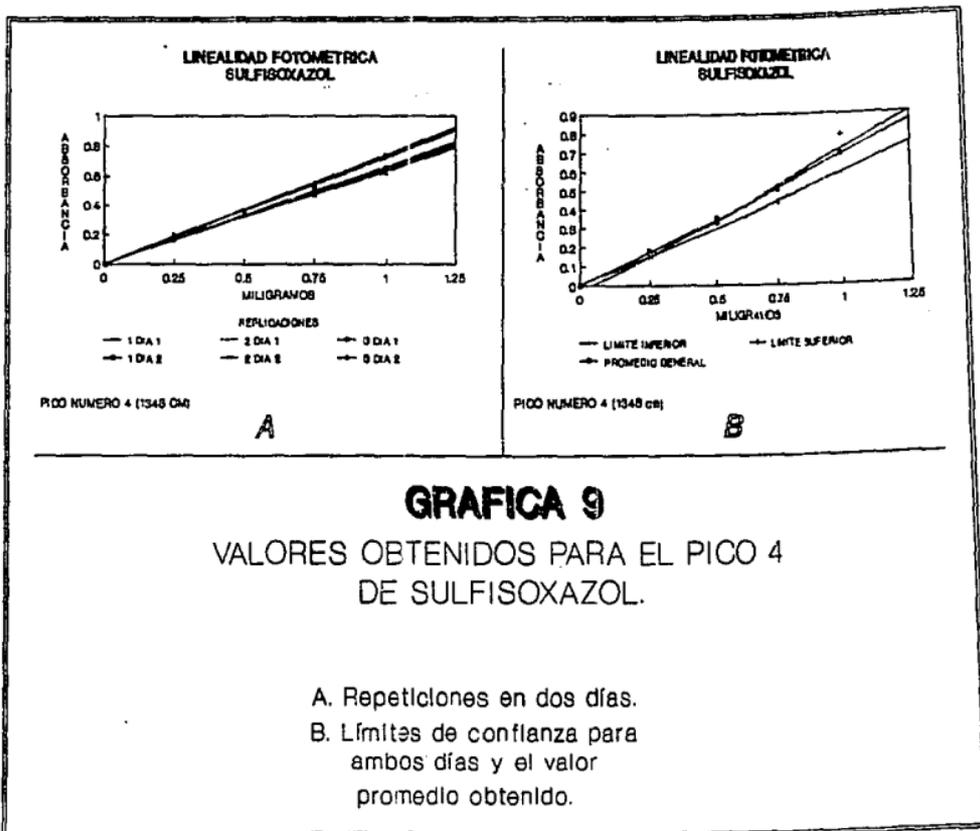


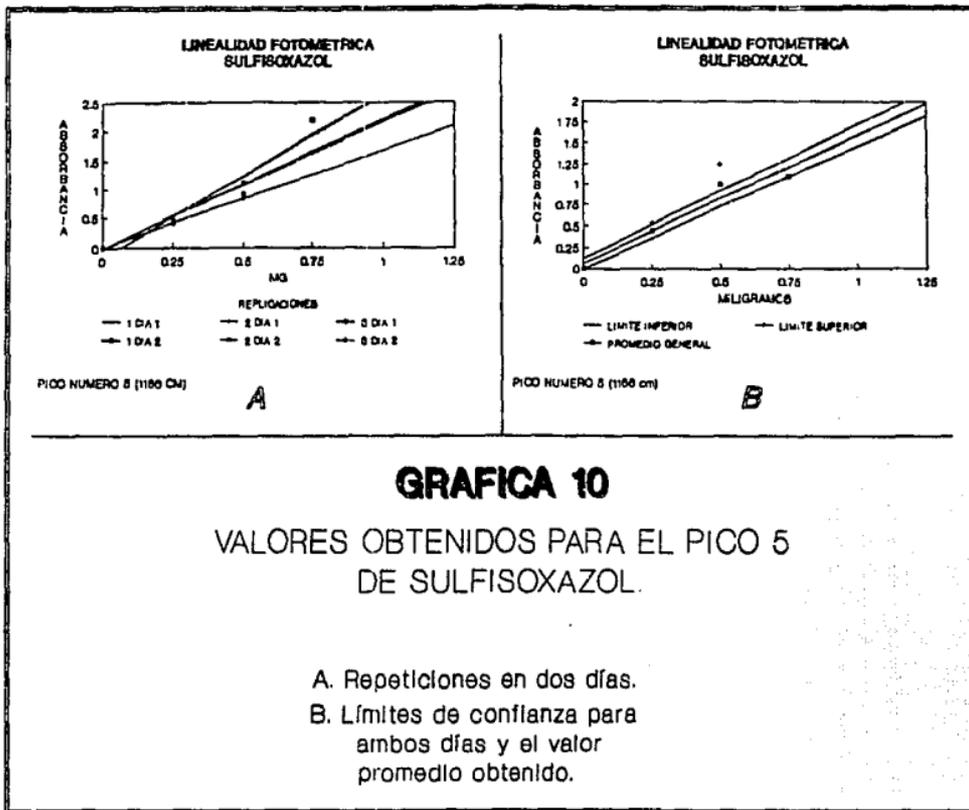




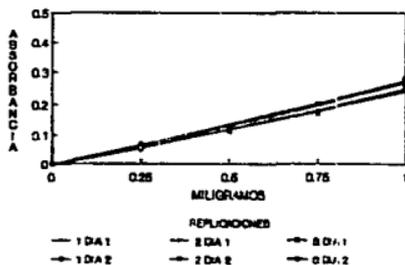








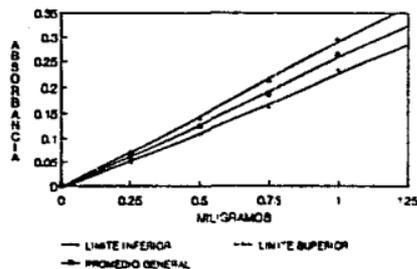
**LINEALIDAD FOTOMETRICA
SULFISOXAZOL**



PICO NUMERO 8 (840 cm)

A

**LINEALIDAD FOTOMETRICA
SULFISOXAZOL**



PICO NUMERO 6 (840 cm)

B

GRAFICA 11

VALORES OBTENIDOS PARA EL PICO 6
DE SULFISOXAZOL

- A. Repeticiones en dos días.
B. Límites de confianza
ambos días y el valor
promedio obtenido.

B. DETERMINACION DE HUMEDAD.

B.1. VALORACION DEL REACTIVO.

Para la estandarización del reactivo se utilizaron 3 sustancias que según la bibliografía podían ser utilizadas. Estas sustancias son: el tartrato de sodio, el agua destilada y una solución de agua-metanol.

El tartrato de sodio se encontró en dos presentaciones: micronizado y en cristales. Para probar esta sustancia se ocuparon estas dos presentaciones y además los cristales fueron molidos manualmente para observar si esto representaba alguna variación.

La estandarización del reactivo se realizó en 3 días diferentes con 4 repeticiones de cada una de las sustancias probadas. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 11.

Tartrato de sodio					
día	Micronizado	Cristal	Cristales molidos	Agua destilada	Solución agua-metanol
1	6.2209	6.2546	6.2488	7.3027	5.7882
2	6.2504	6.2613	6.2311	7.4351	5.9983
3	6.3113	6.3133	6.3727	7.7812	6.1736
\bar{x}	6.2609	6.2764	6.2842	7.5063	5.9867
s	0.0461	0.0321	0.0772	0.2471	0.1930
CV	0.7363	0.5119	1.2277	3.2916	3.2232

donde: _

\bar{x} = Promedio.

s = Desviación estandar.

CV = Coeficiente de variación.

TABLA 11. Repetibilidad y reproducibilidad de la valoración del reactivo de Karl Fischer.

En la Tabla 11 se observa primero, que el coeficiente de variación menor pertenece al tartrato de sodio en ambas presentaciones y, los mayores coeficientes de variación al agua destilada y a la solución agua-metanol.

Segundo, el valor del factor "F" proporcionado por cada una de las sustancias es diferente entre sí, sólo entre los diferentes tartratos de sodio se obtienen similitudes.

Para evaluar la repetibilidad se utilizó el criterio establecido por la SECOFI, que establece un intervalo de $\pm 3\%$ del promedio obtenido.

Evaluación según SECOFI:

Tartrato de sodio:

Micronizado: 6.0729-6.4486

Cristales: 6.0881-6.4646

Cristales molidos: 6.0955-6.4726

Agua destilada:

7.2811-7.7314

Solución agua-metanol:

5.8070-6.1661

B.2. PRECISION Y EXACTITUD

La determinación de agua en muestras sólidas se llevó a cabo en tres días con 4 repeticiones cada una, estandarizando diariamente al reactivo.

Los datos obtenidos del porcentaje de agua, se sometieron a un análisis según la SECOFI y según la Norma ASTM, obteniéndose lo siguiente:

METILDOPA

1. SECOFI:

No.DE MUESTRA	DIAS DE ANALISIS		
	1er.	2o.	3o.
1	11.6600	11.6078	11.4363
2	11.6600	11.3805	11.0848
3	11.2600	11.1994	11.2240
4	11.5600	11.2138	11.4371
X	11.5350	11.3504	11.2956
s	0.1892	0.1903	0.1726
CV	1.6411	1.6764	1.5281

donde:

X = Promedio.

s = Desviación estandar.

CV = Coeficiente de variación.

Intervalo según SECOFI $\pm 3\%$: 11.518-11.7354

Promedio global : 11.3936 %

Desviación estandar global: 0.1980

Coeficiente de variación global: 1.7381

2. ASTM (Evaluación de la precisión y exactitud).

	REPLICACIONES				$\Sigma(X_j)$	$\Sigma(\Sigma X_j)^2$	
	1	2	3	4			
	1	11.6600	11.6600	11.2600	11.5600	46.1400	2128.8996
DIA	2	11.6078	11.3805	11.1994	11.2138	45.4015	2061.2962
	3	11.4363	11.0848	11.2240	11.4371	45.1822	2041.4312
						-----	-----
						136.7237	6231.6270

$n = 4$ repeticiones
 $p = 3$ días
 $m = 1$ sustancia

1. $\Sigma X^2 = 1558.2123$
2. $CT = (136.7237)^2 / (4)(3) = 1557.7808$
3. $SST = 1558.21230 - 1557.7808 = 0.4314$
4. $SSL = (6231.627) / 4 - 1557.7807 = 0.2159$
5. $SSW = 0.4314 - 0.1259 = 0.3055$
6. $MSL = 0.1259 / (3-1) = 0.0629$
7. $MSW = 0.3055 / 3(4-1) = 0.0339$
8. $F = 0.0629 / 0.0339 = 1.8553$
9. $SW = \sqrt{0.0339} = 0.184$
10. $SL^2 = 1/4 (0.0629 - 0.0339) = 7.2575E-3$
11. $S_{SR} = \sqrt{7.2575E-3 + [(0.1842)^2 / 1]}$
12. $R_1 = 3.20 (0.1842 \sqrt{1}) = 0.5894$
 $Fd_{g1} = 3(4-1) = 3.20$
13. $R_2 = 6.09 (0.2029) = 1.2356$
 $Fd_{g1} = 3-1 = 6.09$
14. $S_a = 2 \sqrt{0.4492 / 11} = 0.4041$
15. $\Sigma(dt)^2 = (0.2664)^2 + (0.2142)^2 + (0.0427)^2 +$
 $(0.2664)^2 + (-0.0131)^2 + (-0.3088)^2 +$
 $(-0.1336)^2 + (-0.1942)^2 + (-0.1696)^2 +$
 $(0.1664)^2 + (-0.1798)^2 + (0.0435)^2$
 $= 0.4492$
16. $q - 1 = 12 - 1$

Exactitud:

$$11.3936 \pm 0.4041 \text{---} 10.9895 < x > 11.7977$$
Precisión:

Valor promedio	Desv. estandar			
	Replicación (SW)	Día (Sxx)	R ₁	Intervalo R ₂
11.3936	0.1842	0.2029	0.5894	1.2356

Repetibilidad:

$$11.3936 \pm 0.5894 \text{---} 10.804 < x > 11.983$$
Reproducibilidad:

$$11.3936 \pm 1.2356 \text{---} 10.158 < x > 12.629$$
ACIDO PIPEMIDICO**1. SECOFI:**

No.DE MUESTRA	DIAS DE ANALISIS		
	1	2	3
1	15.0781	15.6519	15.1635
2	15.1850	15.0786	14.9226
3	15.2092	15.3283	14.7398
4	10.4674	15.0341	14.9706
X	15.1574	15.2732	14.9481
s	0.0697	0.2837	0.1757
CV	0.4602	1.8576	1.1754

\bar{X} = Promedio
 s = Desviación estandar
 CV = Coeficiente de variación

Intervalo según SECOFI $\pm 3\%$: 14.6727 - 15.5799%

Promedio global : 15.1262

Desviación estandar global: 0.2366

Coeficiente de variación global: 1.5647

2. ASTM (Evaluación de la precisión y exactitud)

		REPLICACIONES				$\Sigma (X_j)$	$\Sigma (\Sigma X_j)^2$
		1	2	3	4		
	1	15.0781	15.1850	15.2092		45.4723	2067.7300
DIA	2	15.6519	15.0786	15.3283	15.3283	61.0929	3732.3434
	3	15.1635	14.9226	14.7358	14.9706	59.7925	3575.1430
						-----	-----
						166.3577	9375.2154

$n = 4$ replicaciones

$p = 3$ días

$m = 1$ sustancia

1. $\Sigma X^2 = 2516.4585$

2. $CT = (166.3577)^2 / (4)(3) = 2306.2403$

3. $SST = 2516.4585 - 2306.2403 = 210.2182$

4. $SSL = (9375.2154) / 4 - 2306.2403 = 37.5635$

5. $SSW = 210.2182 - 37.5635 = 172.6547$

6. $MSL = 37.5635 / (3-1) = 18.7817$

7. $MSW = 172.6547 / 3(4-1) = 19.1838$

8. $F = 18.7817 / 19.1838 = 0.9790$

9. $SW = \sqrt{19.1838} = 4.3799$
10. $SL^2 = 1/4 (18.7817 - 19.1838) = 0.1005$
11. $S_{sx} = \sqrt{0.1005 + [(4.3799)^2/1]} = 4.3684$
12. $R_1 = 3.20 (4.3799 / \sqrt{1}) = 14.0156$
 $Fd_{g1} = 3(4-1) = 3.20$
13. $R_2 = 6.09 (4.3684) = 26.6035$
 $Fd_{g1} = 3-1 = 6.09$
14. $S_a = 2 / \sqrt{0.5599/10} = 0.4732$
15. $\Sigma(dt)^2 = (-0.0453)^2 + (0.5285)^2 + (0.0401)^2 +$
 $(0.0616)^2 + (-0.0448)^2 + (-0.2008)^2 +$
 $(0.0858)^2 + (0.2049)^2 + (-0.3876)^2 +$
 $(-0.0893)^2 + (-0.1528)^2$
 $= 0.5599$
16. $q - 1 = 12 - 1 = 11$

Exactitud:

$$15.1234 \pm 0.4732 \text{ ---- } 14.6502 < x > 15.5966$$

Precisión:

Valor promedio	Desv. estandar			
	Replicación (SW)	Día (S _{xx})	Intervalo R ₁	Intervalo R ₂
15.1234	4.3799	4.3684	14.0156	26.6035

Repetibilidad:

15.1234 \pm 14.0156 --- 1.1078 < x > 29.139

Reproducibilidad:

15.1234 \pm 26.6035 ----- -11.4801 < x > 41.7269

El método para determinar la humedad en la metildopa tiene un coeficiente de variación menor al 2% en los 3 días de análisis, por lo que se puede decir que este método de evaluación presenta precisión, así mismo, el promedio obtenido para cada uno de los días de análisis presenta un valor semejante entre sí, siendo la diferencia entre los mismos muy pequeña. Por otra parte, el valor obtenido para la desviación estándar promedio, tiene un valor mínimo, por lo que se confirma la precisión que existe entre los datos obtenidos.

Para la evaluación de la precisión y exactitud, se utilizan los parámetros establecidos por la ASTM, en los cuales se involucran los días de análisis, el número de sustancias utilizadas y el número de determinaciones analizadas por cada día. Para la exactitud, se establece un intervalo de confianza en el cual deben contemplarse todos los datos obtenidos, dado que esto se cumple, se dice que el método es exacto.

En la evaluación de la precisión, se involucran las desviaciones estándar presentadas entre días y entre repeticiones; estableciéndose con estos valores los intervalos de confianza correspondientes. Para la repetibilidad se utiliza la desviación estándar calculada entre las repeticiones, para la reproducibilidad se utiliza la estimada para los días. Ya que los datos están dentro de los límites de confianza establecidos, se dice que existe precisión.

Como una alternativa a la evaluación de la repetibilidad, la SECOFI establece un límite de \pm 3 % del valor promedio obtenido, si los datos obtenidos caen dentro de este intervalo, se dice que

existe precisión, y los datos experimentales se acoplan a este intervalo, por lo que se reafirma con evaluaciones diferentes que existe precisión en la metodología desarrollada para metildopa.

Siguiendo estos mismos lineamientos, se procedió a evaluar el contenido de agua presente en el ácido pipemídico, sólo que en el primer día de análisis, se obtuvo un valor erróneo, por lo que fué descartado.

Los cálculos pertinentes para la evaluación de ésta sustancia, se realizaron sin tomar en consideración este valor, obteniéndose un valor de 1.5647 para el coeficiente de variación, por lo que se establece que existe precisión.

Para la evaluación realizada según la SECOFI y la ASTM, podemos establecer, que existe tanto precisión como exactitud en la cuantificación del agua en el ácido pipemídico.

IX. CONCLUSION

De la evaluación realizada al espectrofotómetro infrarrojo se obtuvo que el equipo presenta precisión pero no exactitud, para la longitud de onda, luego de comparar los valores reportados para el patrón de referencia contra los obtenidos por el equipo. Dado que el equipo presenta precisión se establecieron los límites de confianza para éstos valores y de ésta manera asegurarse que el equipo se mantiene en las mismas condiciones de uso.

Para evaluar la relación lineal obtenida entre la absorbancia y la cantidad de muestra, se estableció un intervalo de 0.25 a 1 gramo de muestra. En este intervalo se obtuvieron los límites (superior e inferior) de confianza, partiendo del valor promedio obtenido para cada uno de las bandas características de máxima absorción.

Con lo que respecta al determinador de humedad, éste presentó exactitud y precisión tanto para la estandarización del reactivo como para las determinaciones de agua en diferentes muestras.

Ambos equipos se encuentran calibrados y operacionalmente funcionando adecuadamente.

Cada uno de los parámetros evaluados, así como los límites establecidos para cada uno, sirvieron para verificar el funcionamiento del equipo y además con los reportes de los datos obtenidos en las diferentes calibraciones, se generaron los certificados de calibración correspondientes, y de ésta manera garantizar el buen funcionamiento del equipo.

Por otro lado, al crear los procedimientos específicos para cada equipo, tanto de uso como de calibración, se garantiza que el usuario del equipo lo mantendrá en óptimas condiciones, y le dará un funcionamiento adecuado.

X. PROPUESTAS

Para el espectrofotómetro infrarrojo sólo algunas de las pruebas no se realizaron por falta del material necesario, este es el caso de la prueba de la precisión fotométrica, en donde se requería de un tamiz metálico para evaluarla, pero por falta de información de los proveedores, no fué posible conseguirla. Esta prueba es de gran ayuda, puesto que ella nos proporciona la precisión del equipo en su parte fotométrica. Por lo tanto, se recomienda, tratar de conseguir un equipo equivalente si no es posible contactarse con el proveedor, para llevarla a cabo.

Con lo que respecta a la calibración del determinador de humedad se sugiere que se realicen más pruebas de estandarización del reactivo con agua destilada y la solución de agua-metanol, pues en teoría ambas son equivalentes, pero en la práctica, esta equivalencia no fué posible obtenerla, ya que los valores obtenidos para el factor difieren notablemente entre ellos y al calcular el por ciento de agua en una muestra, éste se ve alterado y por lo tanto no es confiable. Esto pudo deberse a la utilización de una pipeta automática para la dosificación de los líquidos, ya que dicha pipeta no estaba ni calibrada ni certificada, por lo que se sugiere se trabaje con una pipeta calibrada.

X. BIBLIOGRAFIA

1. Norma Oficial Mexicana de Metrología NOM-2-55-1986, "Metrología -Vocabulario de Términos Fundamentales y Generales", Secretaría de Comercio y Fomento Industrial, Dirección General de Normas.
2. Willard, H., "Métodos Instrumentales de Análisis", 2a. ed., Compañía Editorial Continental, México DF., 1980.
3. Morcillo, R.L., "Espectroscopia", Alhambra, Madrid España, 1985.
4. Conley, R.T., "Espectroscopia Infrarroja", Alhambra, Madrid España, 1982.
5. Skoog, A.D., "Fundamentos de Química Analítica", Reverté, España, 1980.
6. Manual del espectrofotómetro infrarrojo, Beckman AccuLab 10.
7. American Society of Testing and Materials, "Annual Book of ASTM Standards", Section 14, Volume 14.01 "Analytical Methods-Spectroscopy; Chromatography; Computerized Systems", 1988, Designation E932-83 "Standard Practice for DESCRIBING AND MEASURING PERFORMANCE OF DISPERSIVE INFRARED SPECTROPHOTOMETERS".
8. Norma Oficial Mexicana "Determinación de Humedad- METODO DE KARL FISCHER; NOM-K-119-1979", Dirección General de Normas, Secretaría de Comercio y Fomento Industrial.
9. Instituto Mexicano del Seguro Social; "Norma. Métodos Generales para Análisis de Medicamentos Subgrupo 5 del grupo de Medicamentos", JCC 01/M5.027, "DETERMINACION DE AGUA POR EL METODO DE KARL FISCHER".
10. Secretaría de Salubridad, "Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos", 5a. ed., México DF, 1988.

11. "THE KARL FISCHER TITRATION OF WATER", Drug Development and Industrial Pharmacy, 14 (14) 1981-1903 (1988).
12. Manual del titulador "Karl Fischer", Marca Methrom.
13. " Teory and Practice the Pharmaceutical Industry " Lachman, 2a. ed.
14. American Society of Testing and Materials, "Annual Book of ASTM Standards", Section 14, Volume 14.01 "Analytical Methods-Spectroscopy; Chromatography; Temperature Measurement; Computerized Systems", 1984, Designation E168-67 "Standard Recommended Practices for GENERAL TECHNIQUES OF INFRARED SPECTROPHOTOMETERS".
15. American Society of Testing and Materials, "Annual Book of ASTM Standards"; Section 15, Volume 15.05, "Engine Coolants; Halogenated Organic Solvents; Industrial Chemicals", Designation E203-75, "Standrad Test Method for WATER USING KARL FISCHER REAGENT".
16. American Society of Testing and Materials, "Annual Book of ASTM Standards", Section 14, Volume 14.01 "Analytical Methods-Spectroscopy; Chromatography; Temperature Measurement; Computerized Systems", 1984, Designation E275-83 "Standard Practice for DESCRIBING AND MEASURING PERFORMANCE OF ULTRAVIOLET, VISIBLE, AND NEAR INFRARED SPECTROPHOTOMETERS".
17. Watty, B.M., "Quimica Analitica", Alhambra, Mexico, 1982.
18. Florey, "Analytical Profiles of Drug Substances", Vol.5, pp.329, USA, 1976.
19. The United States Pharmacopeia, USP XXII, USA, pp. 1298, 1990.
20. British Pharmacopeia, Vol. 1, pp.452, 1988.
21. Centro AF de Estudios Tecnológicos "Manual de Valida. Versión 1.0", México DF., 1991.

ANEXO A. FORMULARIO

A. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA

A.1. EXACTITUD Y PRECISIÓN DE LA LONGITUD DE ONDA

La exactitud es evaluada mediante una prueba t de Student, ya que ésta evalúa la dispersión que existe entre los resultados obtenidos experimentalmente con respecto a un valor central, que será el valor reportado para cada una de las bandas de máxima absorción del patrón de referencia.

Para establecer si nuestro equipo es exacto, el valor de la t calculada debe ser menor al reportado en tablas. Por otro lado la diferencia entre el valor obtenido y el reportado para los picos de máxima absorción que se encuentran en el intervalo de 4000 a 2000 cm^{-1} debe ser menor a $\pm 5 \text{ cm}^{-1}$, y el intervalo de 2000 a 250 cm^{-1} debe ser menor a $\pm 3 \text{ cm}^{-1}$. (6,8)

t de Student calculada.

$$t \text{ cal.} = \frac{\bar{X} - \mu}{s / \sqrt{n}}$$

donde: _

\bar{X} = Promedio de las lecturas.

μ = Número de longitud de onda reportado para los picos de máxima absorción.

s = Desviación estandar de las lecturas.

n = Número de lecturas realizadas.

La precisión se evalúa mediante el coeficiente de variación (CV) el cual debe tener un valor menor al 2% para establecer que el equipo es preciso.

$$CV = (s / \bar{x}) * 100$$

Donde:

s = Desviación estandar de las lecturas.

\bar{x} = Promedio de las lecturas.

La diferencia entre cada una de las lecturas obtenidas en el intervalo de 4000 a 2000 debe ser menor a 4 cm^{-1} ; y en el intervalo de 2000 a 250 cm^{-1} debe ser menor a 2 cm^{-1} , para poder establecer repetibilidad en las lecturas. (6,8)

Por otro lado, dos resultados obtenidos por el mismo analista son considerados sospechosos, si ellos difieren por más del 0.013% absoluto. (14)

A.2. LINEALIDAD FOTOMETRICA.

La linealidad se puede definir como la relación entre las cantidades de principio activo, es decir, la concentración y la respuesta obtenida, que en este caso es la absorbancia. Esta función lineal tiene una expresión del tipo:

$$Y_{ij} = \alpha_0 + \beta_0 X_i + E_j(i)$$

donde:

Y_{ij} = Respuesta obtenida.

α_0 = Ordenada al origen.

β_0 = Pendiente.

X_i = Cantidad de principio activo.

$E_j(i)$ = Error del sistema.

La linealidad se establece con ayuda de parámetros estadísticos, entre los cuales se encuentran los siguientes:

Pendiente (b). Se define como la relación de cambio de la respuesta dada con respecto al cambio de la cantidad de principio activo.

Ordenada al origen (a). Es la respuesta del sistema a la cantidad de cero.

Las fórmulas para calcular estos parámetros son:

$$b = \frac{n(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)}{n(\sum X)^2 - (\sum X)^2}$$

$$a = \frac{(\Sigma Y)(\Sigma X) - (\Sigma X)(\Sigma XY)}{n(\Sigma X)^2 - (\Sigma X)^2}$$

Ademas se deben calcular tanto la ordenada como la pendiente relativa, las cuales nos proporcionan un valor mucho más estrecho. Las fórmulas empleadas son:

a. Pendiente relativa (Br):

$$Br = b \left(\frac{\bar{X}}{\bar{Y}} \right)$$

b. Ordenada relativa (Ar):

$$Ar = a / \bar{Y}$$

Correlación.

Es el grado de asociación entre dos variables dado el modelo de regresión. Se designa con la letra r.

$$r^2 = \frac{[n(\Sigma XY) - (\Sigma X)(\Sigma Y)]^2}{[n(\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2][n(\Sigma Y^2) - (\Sigma Y)^2]}$$

(21)

B. DETERMINACION DE HUMEDAD.

La precisión puede ser evaluada utilizando el coeficiente de variación, el cual no debe ser mayor al 2%, utilizando tres muestras con seis repeticiones de cada una.

Realizando la evaluación de repetibilidad, según la norma editada por la SECOFI, establece que: "La diferencia entre los valores extremos de una serie de determinaciones evaluadas por un mismo analista no debe ser mayor del 3% para las titulaciones electrométricas del valor promedio de todas las determinaciones".

Realizando una evaluación según la norma de la ASTM para la exactitud y la precisión de la determinación de agua. Dicha evaluación esta conformada por los siguientes cálculos:

1. Calcular la suma de los resultados de los días (ΣX).
2. Sumar el cuadrado de la suma de los resultados para cada día $\Sigma(\Sigma X_j^2)$.
3. Cálculos para el análisis de la varianza.
 - a. Calcular el cuadrado de cada resultado y sumarlos, ΣX^2 .
 - b. Calcular el término de corrección , CT, como sigue:

$$CT = [\Sigma(\Sigma X_j)]^2 / np$$
 donde:
 n = repeticiones.
 p = días.
 - c. Calcular la suma de cuadrados total, SST.

$$SST = \Sigma X^2 - CT$$
 - d. Calcular la suma de cuadrados en los días.

$$SSL = [\Sigma(\Sigma X_j^2)] / n - CT$$
 - e. Calcular la suma de cuadrados entre los días.

$$SSW = SST - SSL$$
 - f. Calcular la media de cuadrados en los días.

$$MSW = SSW / p (n-1)$$
 - g. Calcular el estimado de la desviación estandar en los días.

$$SW = \sqrt{MSW}$$

- h. Calcular el estimado de la desviación estandar entre días.

$$SL^2 = \frac{1}{n} (MSL - MSW)$$

- i. Calcular S_{sx} , necesario para calcular R_z

$$S_{sx} = \sqrt{SL^2 + (Sv^2/m)}$$

donde:

m = Número de muestras.

- j. Calcular los límites aceptables para el intervalo de confianza.

$$R_1 = Fd (Sw / \sqrt{m})$$

donde:

Fd = Factor apropiado de tablas [grados de libertad para análisis entre días = $p(n-1)$].

- k. Calcular los límites aceptables, para el análisis entre días.

$$R_z = Fd (S_{sx})$$

donde:

Fd = Factor apropiado de tablas [grados de libertad para análisis entre sustancias = $(p-1)$].

B.1. CALCULOS DEL FACTOR "F".

Estandarizando el reactivo:

a. Utilizando tartrato de sodio:

$$F = (156.6)C/A$$

donde:

C = Peso de tartrato de sodio.

A = ml. de reactivo necesario para titular C.

b. Utilizando agua destilada:

$$F = 1000 G / A$$

donde:

G = Peso de agua usada (gramos).

A = ml. de reactivo necesario para titular G.

c. Utilizando solución de agua metanol.

$$F = D E / A$$

donde:

D = ml. de solución de agua-metanol.

E = mg. de agua/ml en la solución agua-metanol.

A = ml. de reactivo necesario para titular D.

B.2. CALCULOS PARA EL CONTENIDO DE AGUA EN MUESTRAS.

B.2.1. Sólidos.

$$\% \text{ H}_2\text{O} = \frac{V_1 F}{(m_0)10}$$

donde:

V_1 = ml. de reactivo necesarios para titular m_0 .

F = Valor del factor calculado.

m_0 = Peso de la muestra (gramos).

B.2.2. Líquidos.

$$\% \text{ H}_2\text{O} = \frac{V_1 F}{(V_0)(d)(10)}$$

donde:

V_1 = ml. de reactivo necesarios para titular V_0 .

F = Valor del factor calculado.

V_0 = Volumen de la muestra (mililitros).

d = Densidad del líquido.

(9,15)