

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERIA

COMPARACION ENTRE LA ESPECTROMETRIA ULTRAVIOLETA Y LA SEPARACION  
POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA PRECISION EN LA CUANTIFICACION  
DE SUSTANCIAS ACTIVAS DE TABLETAS ANTIGRIPALES PARA NIÑOS

TESIS

PRESENTADA A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE INGENIERIA

POR

JUAN ANTONIO VIVAR RIVERA

AL CONFERIRSELE EL TITULO DE

INGENIERO QUIMICO

GUATEMALA, FEBRERO DE 1997

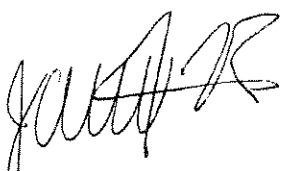
08  
T(3952)  
C.4

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

Cumpliendo con los preceptos que establece la ley de la  
Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su  
consideración el trabajo de tesis titulado

COMPARACION ENTRE LA ESPECTROMETRIA ULTRAVIOLETA Y LA SEPARACION  
POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA PRECISION EN LA CUANTIFICACION  
DE SUSTANCIAS ACTIVAS DE TABLETAS ANTIGRIPALES PARA NIÑOS

tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de  
Ingeniería Química

  
JUAN ANTONIO VIVAR RIVERA

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERIA

MIEMBROS DE LA JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing.	Herbert Rene Miranda Barrios
VOCAL 1	Ing.	Miguel Angel Sánchez Guerra
VOCAL 2	Ing.	Jack Douglas Ibarra Solórzano
VOCAL 3	Ing.	Juan Adolfo Echeverría Méndez
VOCAL 4	Br.	Fernando Waldemar De León Contreras
VOCAL 5	Br.	Pedro Ignacio Escalante Pastor
SECRETARIO	Ing.	Gilda Marina Castellanos de Illescas

TRIBUNAL QUE PRACTICO EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	Ing.	Julio Ismael González Podzueck
EXAMINADOR	Ing.	Julio Chávez Montufar
EXAMINADOR	Ing.	Rodolfo Espinosa Smith
EXAMINADOR	Ing.	Williams Alvarez Mejía
SECRETARIO	Ing.	Francisco Javier González López

Guatemala,  
octubre 17, 1996

Dr. Adolfo Gramajo  
Director Escuela de Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería  
Universidad de San Carlos de Guatemala

Estimado Dr. Gramajo:

Por medio de la presente hago constar que he revisado como asesor, la Tesis del señor Juan Antonio Vivar Rivera con Carnet No. 89-11959, denominada COMPARACION ENTRE LA ESPECTROMETRIA ULTRAVIOLETA Y LA SEPARACION POR CROMATOLOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA PRECISION EN LA CUANTIFICACION DE SUSTANCIAS ACTIVAS DE TABLETAS ANTIGRIPALES PARA NIÑOS, habiéndola encontrado satisfactoria y adecuada para su aprobación.

Por lo tanto, considero someter este trabajo de Tesis a su estimable consideración, a la vez aprovecho la oportunidad para saludarlo,

Atentamente,



Ing. José Oscar Vásquez Antillón

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS  
DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERIA

Escuelas de Ingeniería Civil, Ingeniería  
Mecánica Industrial, Ingeniería Química,  
Ingeniería Mecánica Eléctrica, Técnica  
y Regional de Post-grado de Ingeniería  
Sanitaria.

Ciudad Universitaria, zona 12  
Guatemala, Centroamérica

Guatemala, 22 de octubre de 1,996.

Doctor  
Adolfo Gramajo  
Director Escuela Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería  
Presente.

Doctor Gramajo.

Por medio de la presente hago de su conocimiento, que he revisado el Informe Final de Tesis del estudiante, Juan Antonio Vivar Rivera, carnet No. 89-11959, titulado: COMPARACION ENTRE LA ESPECTROMETRIA ULTRAVIOLETA Y LA SEPARACION POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA PRECISION EN LA CUANTIFICACION DE SUSTANCIAS ACTIVAS DE TABLETAS ANTIGRIPALES PARA NIÑOS, de la cual dejo constancia de mi aprobación, para proceder a la autorización del respectivo trabajo.

Agradeciendo su atención me suscribo de usted.

Atentamente,

ID Y ENSEÑAD A TODOS

Ing. Oscar Rosal Higueros  
REVISOR

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS  
DE GUATEMALA

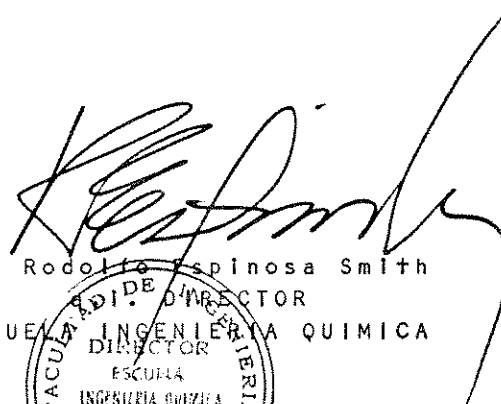


FACULTAD DE INGENIERIA

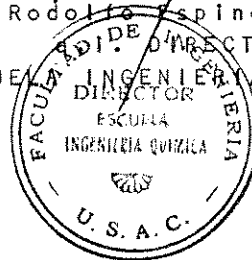
Escuelas de Ingeniería Civil, Ingeniería  
Mecánica Industrial, Ingeniería Química,  
Ingeniería Mecánica Eléctrica, Técnica  
y Regional de Post-grado de Ingeniería  
Sanitaria.

Ciudad Universitaria, zona 12  
Guatemala, Centroamérica

El Director de la Escuela de Ingeniería Química, después de conocer el dictamen del Asesor con el Visto Bueno del Jefe de Departamento, al trabajo del estudiante; JUAN ANTONIO VIVAR RIVERA, titulado: COMPARACION ENTRE LA ESPECTROMETRIA ULTRAVIOLETA Y LA SEPARACION POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA PRECISION EN LA CUANTIFICACION DE SUSTANCIAS ACTIVAS DE TABLETAS ANTIGRIPALES PARA NIÑOS, procede a la autorización del mismo.

  
Dr. Rodolfo Espinosa Smith  
DIRECTOR

ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA  
DIRECTOR  
ESCUELA  
INGENIERIA QUIMICA



Guatemala, 18 de noviembre de 1,996.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS  
DE GUATEMALA



**FACULTAD DE INGENIERIA**

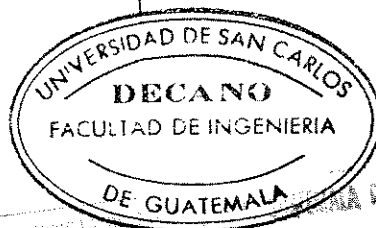
Escuelas de Ingeniería Civil, Ingeniería  
Mecánica Industrial, Ingeniería Química,  
Ingeniería Mecánica Eléctrica, Técnica  
y Regional de Post-grado de Ingeniería  
Sanitaria.

Ciudad Universitaria, zona 12  
Guatemala, Centroamérica

El Decano de la Facultad de Ingeniería, luego de conocer la autorización por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al trabajo de tesis titulado: **COMPARACION ENTRE LA ESPECTROMETRIA ULTRAVIOLETA Y LA SEPARACION POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA PRECISION EN LA CUANTIFICACION DE SUSTANCIAS ACTIVAS DE TABLETAS ANTIGRIPALES PARA NIÑOS**, procede a la autorización para la impresión de la misma.

IMPRIMASE:

  
Ing. Herbert René Miranda Barrios  
DECANO



Guatemala, 18 de noviembre de 1996

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS  
BIBLIOTECA CARLOS

ACTO QUE DEDICO

- A DIOS: Razón de nuestra existencia.
- A MIS PADRES: Juan Antonio Vivar Sandoval  
María Emilia Rivera de Vivar  
Por su integridad y deseos de superación.
- A MI HERMANO: Berner Stuardo Vivar Rivera, su esposa María Emilia León F. de Vivar y su hijo Roberto Antonio, por su cariño de siempre.
- A MIS ABUELOS: Juan Manuel Vivar L. (Con amor flores sobre su tumba).  
Lucila Sandoval Vda. de Vivar  
Juan Esteban Rivera Lucero  
Marcelina del Carmen Ruiz de Rivera  
Por sus enseñanzas impartidas.
- A MI TIOS: María Emilia Ruiz Vides, Erick Rolando Rivera Ruiz y familia  
Por el apoyo brindado en todo momento.
- A MIS AMIGOS: Byron, Gerardo, Marvin, Mynor, Ricardo, Estuardo, Mario, Mirna, Carolin, Saúl, Juan Ignacio, Gaylord, Henri y Fernando Danilo.  
Por los momentos compartidos.



## AGRADECIMIENTO

A Dios, por permitir nuestra existencia.

Al Ing. José Oscar Vásquez Antillón por la confianza recibida,  
así como por el apoyo y colaboración en la realización del pre-  
sente trabajo.

A la empresa Bayer de Guatemala

## Indice general

Sección	Página
1. Lista de ilustraciones.....	2
1.1 Lista de figuras.....	2
1.2 Lista de tablas.....	3
2. Lista de símbolos.....	4
2.1 Letras latinas.....	4
2.2 Letras griegas.....	4
3. Glosario.....	5
4. Resumen.....	7
5. Introducción.....	8
6. Antecedentes.....	10
7. Justificaciones.....	17
8. Objetivos.....	19
9. Hipótesis.....	20
10. Metodología.....	21
11. Resultados.....	34
12. Discusión de resultados.....	46
13. Conclusiones.....	51
14. Recomendaciones.....	52
15. Referencias.....	53
16. Anexos.....	55

## 1. Lista de ilustraciones

### 1.1 Lista de figuras

Página	Figura	Descripción
36	1	Gráfica de cuantificación de acetaminofén por los métodos propuestos, evaluación de exactitud.
39	2	Gráfica de cuantificación de maleato de clorfeniramina por los métodos propuestos, evaluación de exactitud.
42	3	Gráfica de cuantificación de bitartrato de fenilefrina por los métodos propuestos; evaluación de exactitud.

## 1.2 Lista de tablas

Página	Tabla	Descripción
34	1	Resultados:cuantificación de acetaminofén; evaluación de exactitud.
35	2	Resultados:cuantificación de acetaminofén; evaluación de precisión.
37	3	Resultados: cuantificación de maleato de clorfeniramina; evaluación de exactitud.
38	4	Resultados: cuantificación de maleato de clorfeniramina; evaluación de precisión.
40	5	Resultados:cuantificación de bitartrato de fenilefrina; evaluación de exactitud.
41	6	Resultados:cuantificación de bitartrato de fenilefrina; evaluación de precisión.
43	7	Evaluación de exactitud.
44	8	Evaluación de precisión.
45	9	Evaluación económica.
57	10	Evaluación de tiempo de análisis.

## 2. Lista de símbolos

### 2.1 Letras latinas

A : área

P : porcentaje de pureza

W : peso

HPLC: iniciales de la traducción del inglés: High Performance Liquid Chromatography, cromatografía líquida de alta precisión.

UV : ultravioleta

Vis: visible

DI; diámetro interno

### 2.2 Letras griegas

$\sigma$  : desviación media

$\alpha$  : nivel de confianza

$\mu$  : media conocida

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE BOBOMBONA  
BOBOMBONA  
1974

### 3. Glosario

**Columna de separación:** cilindros de acero inoxidable cuyo diámetro oscila entre 2-6 mm empacadas con material en micropartículas porosas polares en donde se separa una muestra en sus componentes.

**Cromatografía líquida de alta precisión:** es la cromatografía líquida moderna que logra alta resolución y velocidad en el análisis por medio de fases estacionarias, que permite utilizar altas velocidades en la fase móvil. Los detectores que son sensibles con frecuencia permiten el análisis de muestras pequeñas además del manejo computarizado de los datos.

**Degradación:** descomposición de una sustancia en sus componentes o derivados.

**Detector:** es un instrumento (transductor) que cambia la energía radiante en energía eléctrica y da una señal eléctrica que esta relacionada con la energía radiante que absorbió la superficie sensible.

**Elución:** Es la migración de los solutos a lo largo de la columna de separación hacia la salida de ésta.

**Espectrofotómetro:** es un instrumento que mide la transmitancia o la absorbancia de una muestra en función de una longitud de onda determinada.

**Exactitud:** es la concordancia entre el valor real y el valor encontrado.

**Excipientes:** son ingredientes complementarios, cuyas propiedades son proveer vehículo de dosificación a un producto farmacéutico.

**Fase estacionaria:** partículas de sílica u otro adsorbente polar no soluble en la fase móvil, que constituye el empaque de la columna de separación.

**Fase móvil:** solución que transporta la muestra a través de todo el sistema.

**Fase inversa:** es la forma más común de la cromatografía líquida de alta precisión donde la fase estacionaria es apolar y la fase móvil es polar.

**Lote control:** es una muestra de la que se conoce la cantidad de sustancias activas presentes.

**Placebo:** porción de una muestra control donde se encuentran todos los excipientes, no así las sustancias activas que corresponden al producto normal.

**Precisión:** es el grado de concordancia entre los resultados individuales, cuando éstos se obtienen por repetición de una prueba a una misma muestra.

**Solvente:** solución utilizada para disolver sustancias activas y el placebo para la realización del análisis.

**Sustancia activa:** sustancia dentro de un medicamento, que actúa directamente dentro del cuerpo humano.

**Tiempo de retención:** período de tiempo correspondiente a la elución del compuesto de análisis.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

#### 4. Resumen

Se comparan dos métodos para la cuantificación de acetaminofén, maleato de clorfeniramina y bitartrato de fenilefrina como sustancias activas en tabletas antigripales para niños, por medio de los métodos de análisis de separación por cromatografía líquida de alta precisión y espectrometría ultravioleta.

La evaluación de exactitud se desarrolla partiendo de un lote control, del cual se conoce la cantidad de sustancias activas presentes, y se realiza seis veces el análisis de cuantificación por medio de los métodos propuestos.

La evaluación de precisión se desarrolla a partir de un lote de producción normal de una marca comercial de tabletas antigripales para niños; se efectúa seis veces el análisis de cuantificación de sustancias activas por medio de los métodos propuestos.

Por el método de análisis de separación por cromatografía líquida de alta precisión, se obtienen cuantificaciones más exactas y precisas, además de mayores ventajas respecto del método de análisis de espectrometría ultravioleta.

En ambos métodos de análisis, la cuantificación de sustancias activas se compara contra una muestra patrón de concentración conocida.



## 5. Introducción

La calidad es el conjunto de características de un producto que satisface las necesidades de los clientes, y conforme a una especificación, hace satisfactorio el producto.

Por ello, es el punto de partida respecto a una característica importante en un producto de la industria farmacéutica, como es la cuantificación de sustancias activas presentes en el mismo, característica que desde el punto de vista de control de calidad en el análisis químico tiene como fin lograr el nivel esperado de exactitud y precisión en la cuantificación realizada del mismo.

Según las disposiciones de Buenas Prácticas de Manufactura en la Sección de Control de Calidad, subsección pruebas y liberación para distribución, corresponde al Departamento de Control de Calidad muestrear y analizar el producto terminado para determinar sobre su aprobación o rechazo. Si el producto fuera aprobado, será liberado para su venta y/o distribución.

Asimismo, le corresponde al departamento de control de calidad establecer los criterios de aceptación para el muestreo y pruebas adecuadas para asegurar que los lotes de producto terminado cumplen con todas y cada una de las especificaciones apropiadas. Estos serán criterios estadísticos que incluirán niveles apropiados de aceptación y/o rechazo, como una condición para

la aprobación y autorización del producto farmacéutico. (1)

En el presente trabajo, se comparan dos métodos de análisis para la cuantificación de acetaminofén, maleato de clorfeniramina y bitartrato de fenilefrina como sustancias activas, en tabletas antigripales para niños.

Los métodos que se van a comparar son el método por espectrometría ultravioleta, y el de separación por cromatografía líquida de alta precisión.

El éxito de la cromatografía líquida de alta precisión, referida como HPLC por sus siglas en inglés (High Performance Liquid Chromatography), se debe a las ventajas que presenta esta técnica sobre los métodos tradicionales. Con frecuencia, es posible obtener tiempos de análisis de pocos minutos; en adición, pueden separarse ingredientes de mezclas complejas con alta resolución; los análisis con métodos HPLC son ejecutados con precisión y exactitud, y se pueden obtener errores relativos menores de 1 % . (2)

Un método HPLC puede tener mayores ventajas en la cuantificación de sustancias activas en tabletas antigripales para niños respecto de ensayos de análisis realizados, con la utilización de métodos espectrofotométricos.

## 6. Antecedentes

Los procedimientos para la evaluación de los niveles de calidad de productos farmacéuticos están sujetos a varios requerimientos. De acuerdo con la Sección 501 del Acta Federal de alimentos, drogas y cosméticos, los ensayos y especificaciones en monografías de la Farmacopea de los Estados Unidos y del Formulario Nacional constituyen estándares legales. Las actuales regulaciones de las buenas prácticas de manufactura, requieren que los métodos de ensayo utilizados para evaluar el cumplimiento de un producto farmacéutico con especificaciones establecidas deben llenar sus propios estándares de exactitud y seguridad.

También, de acuerdo con estas mismas regulaciones, los usuarios de métodos analíticos descritos en la Farmacopea de los Estados Unidos y en el Formulario Nacional no requieren validar la exactitud y seguridad de estos métodos, pero deben verificar la adecuabilidad bajo las condiciones actuales de uso.

Reconociendo el estatus legal de la Farmacopea de los Estados Unidos y el Formulario Nacional, es esencial, para propósitos de adopción de un nuevo método analítico, reforzar con suficientes datos de laboratorio la documentación de la validación de estos procedimientos. (6)

### Precisión

La precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre los resultados de análisis individuales, cuando el procedimiento es aplicado repetidamente a múltiples muestras de una muestra homogénea. Es una medida del grado de reproducibilidad de un método analítico bajo condiciones operacionales normales. (4,6)

### Exactitud

La exactitud de un método analítico es la concordancia entre el valor real y el valor encontrado durante el análisis.

La exactitud esta definida para la desviación de la media y el t-test. La cantidad obtenida en porcentaje durante el análisis con una confianza del 95.0 % ( $\alpha = 0.05$ ). (4,6)

### Precisión del sistema

Es una medida de la oscilación y desviación del sistema con la realidad. En rutina, para métodos HPLC, podrá ser evaluado igualando los resultados obtenidos al inyectar una misma solución por duplicado.

Como medición de la precisión del sistema, se tiene:

La repetibilidad de la desviación estándar

El coeficiente de variación

Intervalos  $2\sigma$  y  $3\sigma$  del valor medio. (4,6)

La precisión de un método analítico se determina analizando un número suficiente de alicuotas de una muestra homogénea, para calcular la desviación estándar o la desviación estándar relati-

va (coeficiente de variación). Los ensayos en este contexto son análisis independientes de muestras que han sido sometidas a un procedimiento analítico completo desde la preparación de la muestra hasta el resultado final. (6)

Al emplear un método analítico, pueden variar las condiciones del aparato, los reactivos, así como las soluciones e influir en los resultados satisfactorios del análisis. Todas las variaciones observadas deberán ser reportadas por escrito.

Al recibir un método de análisis, la reproducibilidad del sistema puede ser complementada comparando las desviaciones estándar obtenidas en cada análisis. (6)

La comparación de la desviación estándar informa sobre probables desviaciones de los resultados de una muestra analizada bajo diferentes condiciones, por ejemplo: diferentes equipos, analistas, muestras o diferente tiempo.

Para comparar y calcular las diferentes desviaciones estándar, es necesario por lo menos tres muestras y dos analistas diferentes para la obtención de resultados.

### Cromatografía

La cromatografía es un conjunto de técnicas de separación.

Mezclas complejas se separan en sus componentes individuales por diferencias de distribución entre 2 fases:

La fase móvil y

la fase estacionaria.(6)

La fase móvil puede ser:

- a. Un gas, en cuyo caso se trata de cromatografía de gases.
- b. Un líquido, en cuyo caso tenemos cromatografía líquida.

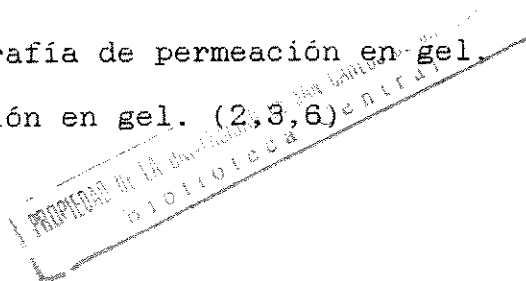
A su vez, la cromatografía líquida se divide en:

Cromatografía en columna

Cromatografía de superficie: de capa fina y de papel.

La cromatografía en columna admite cinco tipos principales que incluyen:

1. Cromatografía líquido-sólido o cromatografía de adsorción.
2. Cromatografía líquido-líquido o cromatografía de partición.
3. Cromatografía de enlace químico.
4. Cromatografía de intercambio iónico.
5. Cromatografía de exclusión. De esta última, se conocen dos modalidades:
  - a. Cromatografía de permeación en gel.
  - b. Cromatografía de filtración en gel. (2,3,6)



### Cromatografía líquida de alta precisión (HPLC)

La cromatografía líquida de alta precisión (HPLC) es una técnica usada para separar componentes de una mezcla química.

Estos componentes (o solutos) son primeramente disueltos en un solvente líquido y luego forzados a fluir a través de una columna cromatográfica bajo presión alta. En esta columna, la mezcla es separada en sus componentes. La cantidad de resolución es importante y es dependiente de la extensión de la interacción entre los componentes del soluto y la fase estacionaria.

La fase estacionaria está definida como un material de empaque inmóvil en la columna. La parte en movimiento del sistema es la fase móvil, la cual es un líquido. La interacción de el soluto con las fases móvil y estacionaria puede ser manipulada a través de diferentes solventes y columnas. Como resultado de esto, la cromatografía líquida de alta resolución adquiere alto grado de versatilidad no encontrado en otros sistemas cromatográficos. De esta forma, la técnica HPLC tiene la capacidad de separar fácilmente una amplia variedad de mezclas químicas. (6)

### Componentes del sistema

En la instrumentación de la cromatografía líquida, se necesita una bomba de alta presión para empujar el solvente, a través de una válvula de inyección, lugar donde se introduce la muestra, luego pasa a través de una corta y estrecha columna de acero inoxidable rellena compactamente con partículas pequeñas.

El solvente y los componentes separados de la muestra pasan a través de un detector en donde se mide su concentración. La señal del detector se traslada a un registrador que imprime el cromatograma, el cual consiste en una serie de picos, cada uno de los cuales representa un componente de la mezcla original.

Las principales diferencia entre la técnica HPLC y la cromatografía en columna son:

La técnica HPLC utiliza bombas de alta presión, columnas cortas y estrechas empacadas con partículas pequeñas y un detector, el cual registra continuamente la concentración de los componentes.

Estas circunstancias determinan las ventajas de la instrumentación HPLC.

Antes de inyectar la muestra, el solvente es bombeado del reservorio a través del inyector, columna, detector, hasta obtener una línea base recta.

Luego, se inyecta la muestra y el solvente o la fase móvil la lleva a la columna. Esta retendrá más tiempo algunos componentes que otros. Eventualmente, cada uno de ellos pasará al detector, diluido en el solvente.

Los picos impresos en el cromatograma corresponden a cada uno de los compuestos separados en la columna. (2,6)

La temperatura de la columna cromatográfica debe mantenerse constante.



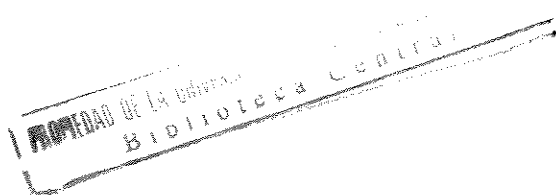
### Espectrometría

Durante mucho tiempo, los químicos han utilizado el color como ayuda para la identificación de sustancias químicas. La espectrometría se puede considerar como la extensión de la inspección visual en donde un estudio más detallado de la absorción de energía radiante por las especies químicas permite una mayor precisión en su caracterización y en su cuantificación. Al reemplazar el ojo humano con otros detectores de radiación, se pueden realizar los experimentos espectrométricos en forma selectiva.

El término espectrometría sugiere la medición de la cantidad de energía radiante que absorbe un sistema químico en función de una longitud de onda de radiación, así como las mediciones por separado a una longitud de onda determinada.

Un espectrofotómetro es un instrumento para medir absorbancia o transmitancia de una muestra en función de una longitud de onda determinada. La mayor parte de la espectrometría utiliza soluciones y por esta razón la mayoría de recipientes para la muestra son celdas para colocar líquidos en el haz del espectrofotómetro.

La celda debe transmitir la energía radiante en la región espectral de interés; las celdas típicas para la región visible y ultravioleta tienen 1 cm de paso de luz. (8)



## 7. Justificaciones

El método de análisis, por cromatografía líquida de alta precisión, ha sustituido a los métodos químicos tradicionales por espectrometría, para la cuantificación de sustancias activas en tabletas antigripales para niños, se desea probar que es más preciso, exacto, rápido y económico en su aplicación. La importancia del método de cuantificación, por cromatografía líquida de alta precisión, reside en la disminución de los costos de análisis, debido a que es posible utilizar menor cantidad de reactivos, realizar el proceso de análisis en menor tiempo y además varias muestras simultáneamente.

Los resultados que se obtienen para la cuantificación de una sustancia activa de una presentación farmacéutica deben ser confiables y asegurar que las decisiones que se tomen, a partir de los mismos, tengan un respaldo válido.

La concordancia entre los resultados obtenidos y los teóricamente esperados es lo que les da validez.

La tendencia de utilización de separación por cromatografía líquida de alta precisión es porque con ella se logra una mayor repetibilidad de respuesta y velocidad en el análisis, además, los detectores que utiliza son sensibles y con frecuencia permiten el análisis de muestras pequeñas, y permite el manejo computarizado de los datos obtenidos.

La espectrometría, en su momento, sustituyó técnicas de tipo visual, pero en el desarrollo de nuevos tipos de técnicas para análisis cuantitativos; la separación cromatográfica presenta más ventaja en cuanto a la separación de muestra a cuantificar.

Un estudio de este tipo es un aporte técnico-científico necesario, para cuando una empresa de manufacturación de productos farmacéuticos deba tomar una decisión respecto a la utilización de este tipo de tecnología, puesto que a la hora de invertir existe el principio de la maximización de utilidades en relación con la inversión utilizada.

## 8. Objetivos

### General:

Comprobar que el método de cromatografía líquida de alta precisión tiene mayor utilidad en la cuantificación de sustancias activas en tabletas antigripales para niños; que el método por espectrometría ultravioleta, por las mediciones más exactas y precisas que es capaz de realizar.

### Específicos:

- a. Comprobar que la exactitud y precisión obtenida por el método de cromatografía líquida de alta precisión evaluados, estadísticamente, son mejores que los obtenidos por el método por espectrometría ultravioleta.
- b. Hacer una comparación respecto a tiempo de análisis y costo por análisis entre los métodos propuestos para la cuantificación de sustancias activas en tabletas antigripales para niños.

## 9. Hipótesis

El método de separación por cromatografía líquida de alta precisión es más exacto y preciso que el método por espectrometría ultravioleta ; es además de más bajo costo, como costo unitario en relación con la capacidad, en la cuantificación de acetaminofén, maleato de clorfeniramina y bitartrato de fenilefrina como sustancias activas en tabletas antigripales para niños.

## 10. Metodología

### Universo de trabajo

Para realizar el presente trabajo, se utilizará un lote control en la evaluación de exactitud de los métodos propuestos, y la evaluación de precisión se efectuará con un lote de producción normal de una marca comercial de tabletas antigripales para niños, la cual contiene acetaminofén, maleato de clorfeniramina y bitartrato de fenilefrina como sustancias activas.

Las muestras de tabletas serán preparadas y analizadas de acuerdo con el método propuesto en este trabajo, y con los resultados obtenidos, se evaluará la exactitud y precisión, en la cuantificación de sustancias activas presentes, reportadas por cada método de análisis.

### Medios

Recursos humanos:

Estudiante: Juan Antonio Vivar Rivera.

Asesoría técnica y científica:

Asesor: Ing. Oscar Vásquez Antillón.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

Método de análisis: separación por cromatografía líquida  
de alta precisión (HPLC)

a) acetaminofén ,b) maleato de clorfeniramina, c) bitartrato de fenilefrina.

Determinación por cromatografía líquida de alta precisión,  
fase reversa.

Equipo: 1) Cromatógrafo líquido de alta precisión, con detector a 270 nm, integrador y registrador.

2) Columna de acero inoxidable, dimensiones: 25 cm \* 4.6 mm DI, empacada con Spherisorb CN, 5µm.

Si la columna está empacada con hexano, se remueve con etanol antes de usar la fase móvil.

Reactivos: 1) Acetonitrilo , grado HPLC

2) Fosfato monobásico de potasio , grado reactivo

3) 1-octanosulfonato de sodio , grado reactivo

4) Acido orto-fosfórico , grado reactivo

Soluciones: Tampón pH 3.5 :

Disolver 1.0 g de fosfato monobásico de potasio y 1.0 g de 1-octanosulfonato de sodio en 900 ml de agua. Ajustar el pH a 3.5 con ácido orto-fosfórico 1 M y diluir a 1000 mL con agua destilada.

Medio de dilución:

Acetonitrilo - tampón pH 3.5, en relación 1:1

La columna debe ser equilibrada con la fase móvil prescrita.

Se prepara la solución de la sustancia que va a ser examinada y la solución de referencia o soluciones de referencia. La solución debe ser libre de partículas sólidas. Usando la solución de referencia, se determina la adecuabilidad del sistema y las cantidades que van a ser inyectadas para producir una respuesta adecuada.

Se realizarán inyecciones repetidas para verificar la repetibilidad de la respuesta y verificar, si se requiere, el número de platos teóricos.

Se inyecta la solución y se registran los cromatogramas resultantes.

Las inyecciones se llevan en duplicado para verificar la repetibilidad de la respuesta. Se determina el área de los picos o alternativamente, cuando el factor de simetría calculado está entre 0.80 y 1.20, las alturas de los picos correspondientes a los componentes de interés. De los valores obtenidos, se calcula el contenido del componente o los componentes que se van a determinar. (2,6)

La evaluación de exactitud se realiza analizando seis veces una muestra de un lote control.

La evaluación de precisión se efectúa analizando seis veces una muestra de un lote de producción normal.



Cálculos:

Cálculos - Acetaminofén

$$\text{mg acetaminofén} = \text{Amta} * \text{Wmg\_std} * P * 5 * 1000 * 50$$

tab            Astd            100            50    20tab    5

$$\text{mg acetaminofén} = \text{Amta} * \text{Wmg\_std} * P * 0.5$$

tab            Astd

Cálculos - Bitartrato de fenilefrina

$$\text{mg B. de fenilefrina} = \text{Amta} * \text{Wmg\_std} * P * 4 * 5 * 1000 * 50$$

tab            Astd            200            100 50    20tab    5

$$\text{mg B. de fenilefrina} = \text{Amta} * \text{Wmg\_std} * P * 0.01$$

tab            Astd

Cálculos - Maleato de clorfeniramina

$$\text{mg M. clorfeniramina} = \text{Amta} * \text{Wmg\_std} * P * 4 * 5 * 1000 * 50$$

tab            Astd            200            100 50    20tab    5

$$\text{mg M. clorfeniramina} = \text{Amta} * \text{Wmg\_std} * P * 0.01$$

tab            Astd

Donde:

Amta            Area de la muestra del componente i  
 Astd            Area del estándar II del componente i  
 Wmg std        Peso en miligramos de estándar del componente i  
 20tab          20 tabletas  
 P                Porcentaje de pureza del estándar i  
 tab             Tableta

**Método de análisis por espectrometría ultravioleta**

a) acetaminofén

Equipo: Espectrofotómetro UV-Vis

Reactivos: Isopropanol , grado reactivo

Acetaminofén , estándar

Hidróxido de sodio , grado reactivo

Acido clorhídrico , grado reactivo

Soluciones: Hidróxido de sodio 1 N

Se pesan 40 g de hidróxido de sodio y se transfiere a un balón de 1000 mL que contiene 500 mL de agua destilada. Se afora con agua destilada.

Acido clorhídrico 1 N

Pipetear 8.5 mL de ácido clorhídrico concentrado en un balón de 100 mL, se diluye y se afora con agua destilada.

Estándar I acetaminofén: cuantitativamente se pesan 100 mg de estándar de acetaminofén, en un balón de 100 mL.

Se agrega 20 mL de agua y 60 mL de isopropanol.

Se mezcla y disuelve. Se afora con isopropanol.

Estándar II acetaminofén: se transfiere 5 ml de la solución de estándar I acetaminofén a un balón de 500 mL que contiene 300 mL de agua destilada. Se agregan 5 mL de HCl 1 N, aforar con agua destilada.

Muestra: se pesan 20 tabletas y se muelen en un mortero hasta

polvo fino.

Cuantitativamente se pesan 0.410 g y se transfieren a un balón de 50 mL. Se agregan 30 mL de NaOH 1 N y se disuelven. Se agregan 30 mL de isopropanol y se mezclan. Se esperan 5 minutos, y se aforan con isopropanol.

Se filtra con papel filtro Whatman No.4. Se transfieren 5 mL del filtrado a un balón de 500 mL, que contienen 300 mL de agua y se agregan 10 mL de HCl 1 N. Se aforan con agua destilada.

Placebo: se pesan 360 mg de la mezcla de placebo (excipientes CBP 1 tableta) en un balón de 50 mL, y se llevan como una muestra.

Procedimiento: una vez preparada la muestra, placebo y solución estándar II se leen sus respectivas absorbancias en el espectrofotómetro UV-Vis, a una longitud de onda de 243 nm, en celdas de vidrio que tengan 1 cm de paso de luz, y se usa agua destilada como blanco. Utilizando un detector con sensibilidad elevada en la región espectral de interés, respuesta lineal a la energía radiante, disponibilidad de ampliación y un bajo nivel de ruido.

b) Maleato de clorfeniramina

Reactivos: cloroformo , grado reactivo  
bromocresol púrpura

Maleato de clorfeniramina , estándar .

Fosfato disódico anhidro , grado reactivo .

Fosfato monobásico de sodio monohidratado , grado reactivo

Hidróxido de sodio , grado reactivo

Soluciones: reactivo de bromocresol púrpura:

Transferir a un balón de 1000 mL 0.800 g de bromocresol púrpura. Se agregan 500 mL agua destilada y 12.8 mL de NaOH 1N para disolver. Se aforan con agua destilada , y se filtra con papel Whatman No. 42.

Hidróxido de sodio 10 % :

Se pesan 50 g de NaOH y se transfieren a un balón de 500 mL. Se disuelven y aforan con agua destilada.

Estándar I maleato de clorfeniramina:cuantitativamente se pesan 176 mg de maleato de clorfeniramina estándar y se transfieren a un balón de 200 mL.Se disuelven y aforan con agua destilada.

Estándar II maleato de clorfeniramina:cuantitativamente se pesan 2.726 mg de bicarbonato de sodio carbonatado y 1.910 mg de ácido cítrico en un balón de 200 mL.Se Agregan 5 mL de la solución estándar I maleato de clorfeniramina. Se aforan con agua destilada.

Tampón pH 5.3 :

cuantitativamente se pesan 38 g de fosfato monobásico de sodio monohidratado y 2 g de fosfato disódico

anhidro en un balón de 1000 mL. Se disuelven y aforan con agua destilada.

Muestra: Se pesan 20 tabletas y se muelen en un mortero hasta polvo fino. Cuantitativamente se pesan 6.65 g y se transfieren a un balón de 250 mL. Se diluyen y aforan con agua destilada.

Se transfieren 5 mL de la muestra a una ampolla de separación de 125 mL. Se agregan 2 mL de NaOH al 10 % y 25 mL de cloroformo. Se agita por 30 segundos.

Se permite que las capas se separen y se transfiere la capa de cloroformo a una segunda ampolla de 125 mL. Se agregan 10 mL de Tampón pH 5.3 .

Con un repipeteador, se adicionan 3 mL del reactivo de bromocresol púrpura, se agitan por 30 segundos.

Se permite que las fases se separen, y se transfiere la fase de cloroformo a través de papel filtro Wathman No.4 descartando los primeros 10 mL, y se recolecta lo restante en un tubo de ensayo.

Procedimiento: una vez obtenida la fase filtrada de cloroformo y preparada la solución estándar II, se leen sus respectivas absorbancias en espectrofotómetro UV Vis a una longitud de onda de 420 nm en celdas de vidrio que tengan 1 cm de paso de luz, y se utiliza cloroformo como blanco.

Utilizando un detector con sensibilidad elevada en

la región espectral de interés, respuesta lineal a la energía radiante, disponibilidad de ampliación y un bajo nivel de ruido.

c) Bitartrato de fenilefrina

Reactivos: Acetato de amonio , grado reactivo  
Hidróxido de amonio , grado reactivo  
Disulfuro de carbono , grado reactivo  
Acido cítrico anhidro , grado reactivo  
Sulfato cúprico , grado reactivo  
Isobutanol , grado reactivo  
Isopropanol , grado reactivo  
Bitartrato de fenilefrina , estándar  
Bicarbonato de sodio , grado reactivo  
Hidróxido de sodio , grado reactivo  
Tolueno , grado reactivo

Soluciones: reactivo disulfuro de carbono

Precaución: disulfuro de carbono es altamente inflamable y venenoso, se prepara en campana de extracción se transfieren 100 mL de disulfuro de carbono a un balón de 2000 mL, se añaden 1000 mL de isobutanol y se aforan con tolueno.

Reactivo cúprico amoniacal:

se pesan 5 g de acetato de amonio y 0.05 g de sulfato cúprico en un balón de 100 mL que contienen 20

mL de agua destilada. Se añaden 5 mL de hidróxido de amonio concentrado y se aforan con agua destilada.

Estándar I bitartrato de fenilefrina: cuantitativamente se pesan 100 mg de bitartrato de fenilefrina estándar y se transfiere a un balón de 100 mL. Se disuelve y afora con agua destilada. Hay que mantenerlo en refrigeración.

Estándar II bitartrato de fenilefrina: se pesan 2.975 g de bicarbonato de sodio carbonatado y 1.191 g de ácido cítrico en un balón de 100 mL, y se disuelve en 20 mL de agua destilada. Se agregan 8 mL de la solución de estándar I de bitartrato de fenilefrina y se aforan con agua.

Muestra: se pesan 20 tabletas y se muelen en un mortero hasta polvo fino.

Cuantitativamente se pesan 6.65 g y transferir a un balón de 250 mL. Se diluyen y aforan con agua destilada. Dentro de un tubo de centrifuga con tapadera de rosca, se transfieren 3 mL de agua para la preparación del reactivo blanco. En un segundo tubo, se transfieren 3 mL de la solución estándar II de bitartrato de fenilefrina. En otros tubos, se agregan 3 ml de cada una de la solución muestra. Se añade 1 mL de reactivo cúprico amoniaco a cada uno de los tubos de centrifuga. Se transfieren 20 mL del reac-

tivo disulfuro de carbono, se tapan y agitan por 30 segundos en agitador vortex. Repetir este paso para cada uno de los tubos.

Se espera a que las fases se separen y se transfieren 8 mL de la fase superior de cada tubo dentro de un tubo de ensayo que contenga 2 mL de isopropanol, se mezcla por 10 segundos en agitador vortex.

Procedimiento: una vez preparada la muestra y la solución estándar II, inmediatamente se determina la lectura de su absorbancia respectiva en el espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda de 434 nm usando el blanco de reactivo para la estandarización del espectrofotómetro, en celdas de vidrio de 1 cm de paso de luz. Utilizando un detector con sensibilidad elevada en la región espectral de interés, se da respuesta lineal a la energía radiante, a la disponibilidad de ampliación y un bajo nivel de ruido.



Cálculos:

Cálculos - Acetaminofén

$$\begin{aligned} \text{mg acetaminofén} &= \frac{(\text{Abs mta} - \text{Abs pla}) * \text{Wmg std} * P * 5 * 50}{\text{tab} \quad \text{Abs std} \quad 100 \quad 500 \quad \text{Wg mta}} \\ &\quad * \frac{500 * \text{W g 20tab}}{5 \quad 20\text{tab}} \end{aligned}$$

Cálculos - Maleato de clorfeniramina

$$\begin{aligned} \text{mg M. clorfeniramina} &= \frac{\text{Abs mta} * \text{Wmg std} * P * 5 * 250}{\text{tab} \quad \text{Abs std} \quad 200 \quad 200 \quad \text{Wg mta}} \\ &\quad * \frac{\text{W g 20tab}}{20\text{tab}} \end{aligned}$$

Cálculos - Bitartrato de fenilefrina

$$\begin{aligned} \text{mg B. fenilefrina} &= \frac{\text{Abs mta} * \text{Wmg std} * P * 8 * 250}{\text{tab} \quad \text{Abs std} \quad 100 \quad 100 \quad \text{Wg mta}} \\ &\quad * \frac{\text{W g 20tab}}{20\text{tab}} \end{aligned}$$

Donde:

Abs mta	Absorbancia de la muestra del componente i
Abs std	Absorbancia del estándar II del componente i
Abs pla	Absorbancia del placebo
Wg mta	Peso en gramos de la muestra
Wmg std	Peso en miligramos de estándar i
W g 20tab	Peso en gramos de 20 tabletas
P	Pureza del estándar i

## 11. Resultados

Como se especifica en la parte de metodología, la cuantificación de sustancias activas presentes en tabletas antigripales para niños se realiza de acuerdo con los métodos propuestos.

### 1. Acetaminofén

La evaluación de exactitud se realiza partiendo de un lote control del que se conoce la cantidad de sustancia activa presente cuantificada, de acuerdo con los métodos propuestos.

Los resultados obtenidos corresponden a la repetición de 6 veces dicho análisis; la tabla 1 muestra los valores obtenidos.

Tabla No. 1  
 Cuantificación de acetaminofén, prueba de exactitud.  
 Método de análisis: separación cromatográfica y espectrometría ultravioleta

No. de muestra	Lote control (mg/tab)	Separación cromatográfica (mg/tab)	Espectrometría ultravioleta (mg/tab)
1	162.4071	164.1000	163.6000
2	162.4071	162.7300	160.2000
3	162.4071	162.0600	160.1000
4	162.4071	163.0800	160.0000
5	162.4071	164.0800	159.6000
6	162.4071	161.9000	163.9000

La figura 1 muestra una comparación de la cuantificación de acetaminofén, respecto del lote control por los métodos propuestos.

La evaluación de precisión se realiza partiendo de un lote de producción normal de tabletas antigripales para niños, el que se analiza 6 veces por los métodos de separación por cromatografía líquida de alta precisión, y por el método de espectrometría ultravioleta.

Los resultados de cuantificación obtenidos se presentan en la tabla 2.

Tabla No. 2  
Cuantificación de acetaminofén, prueba de precisión  
Método de análisis: separación cromatográfica y espectrometría ultravioleta

No. de muestra	Separación cromatográfica (mg/tab)	Espectrometría ultravioleta (mg/tab)
1	165.4000	159.8000
2	167.7000	165.3000
3	163.7000	169.4000
4	163.1000	164.0000
5	165.1000	162.9000
6	161.7000	165.6000

# Acetaminofén

Comparación entre los métodos de análisis . Exactitud

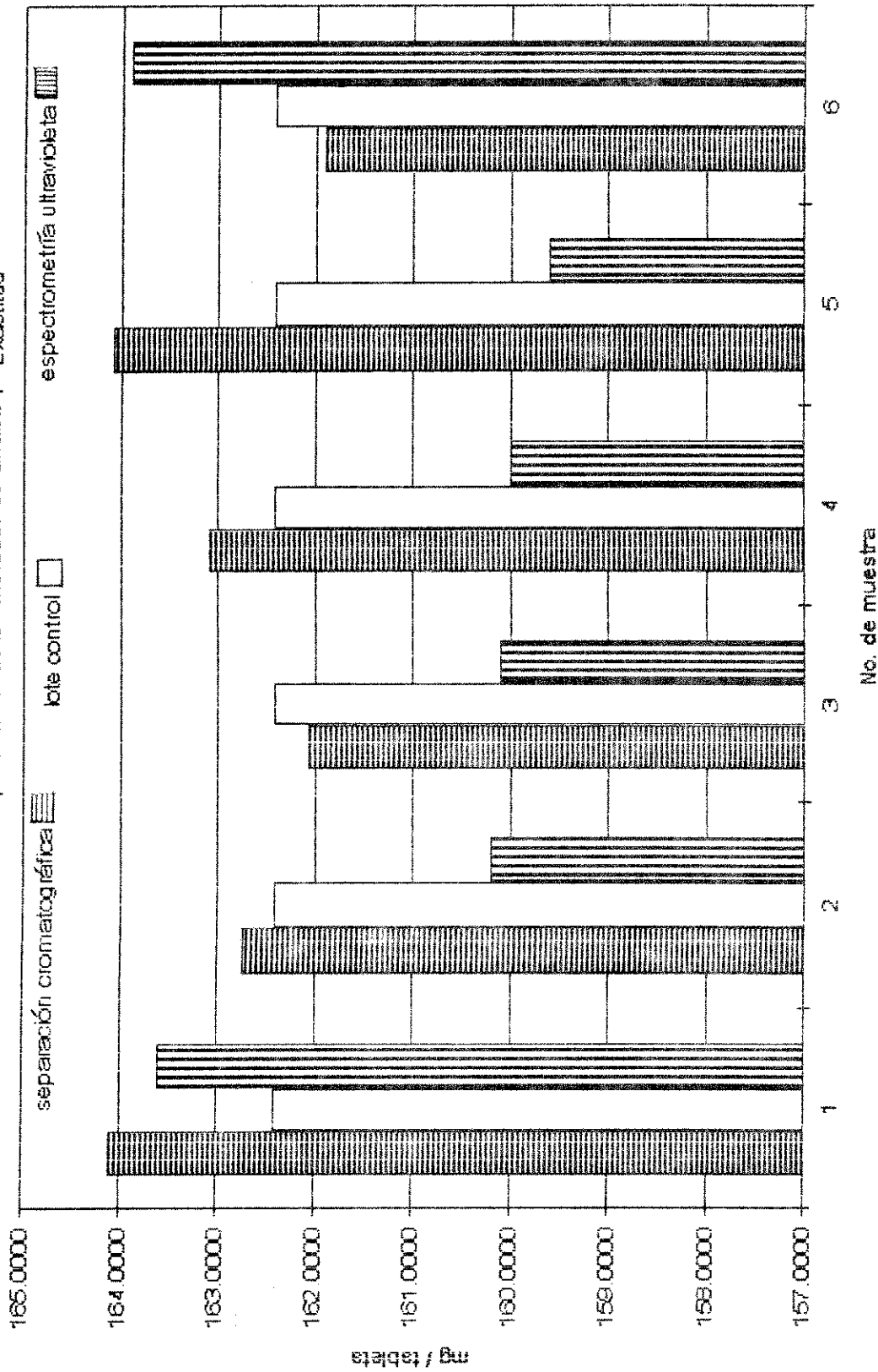


Figura No. 1

## 2. Maleato de clorfeniramina

La evaluación de exactitud se realiza a partir de un lote control, del que se conoce la cantidad de sustancia activa presente, que se cuantifica de acuerdo con los métodos de análisis propuestos.

Los resultados obtenidos corresponden a la repetición de 6 veces dicho análisis por los métodos de separación por cromatografía líquida de alta precisión y el método por espectrometría ultravioleta; la tabla 3 muestra los valores obtenidos.

**Tabla No. 3**  
**Cuantificación de maleato de clorfeniramina, prueba de exactitud.**  
**Método de análisis: separación cromatográfica y espectrometría ultravioleta**

No. de muestra	Lote control (mg/tab)	Separación cromatográfica (mg/tab)	Espectrometría ultravioleta (mg/tab)
1	1.0430	1.0600	1.0400
2	1.0430	1.0300	1.0300
3	1.0430	1.0600	1.0000
4	1.0430	1.0300	1.0200
5	1.0430	1.0600	1.0600
6	1.0430	1.0300	1.0000

La figura 2 muestra una comparación respecto del lote control de la cuantificación obtenida por los métodos de análisis propuestos.

La evaluación de precisión se realiza a partir de un lote de producción normal de tabletas antigripales para niños, que se analiza 6 veces según los métodos propuestos.

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 4 .

Tabla No.4

Quantificación de maleato de clorfeniramina, prueba de precisión  
Método de análisis: separación cromatográfica y espectrometría ultravioleta

No. de muestra	Separación cromatográfica (mg/tab)	Espectrometría ultravioleta (mg/tab)
1	1.0597	1.0610
2	1.0550	1.0250
3	1.0541	1.0450
4	1.0597	1.0770
5	1.0573	1.0580
6	1.0614	1.0360

### Maleato de clorfeniramina

Comparación entre los métodos de análisis, Exactitud

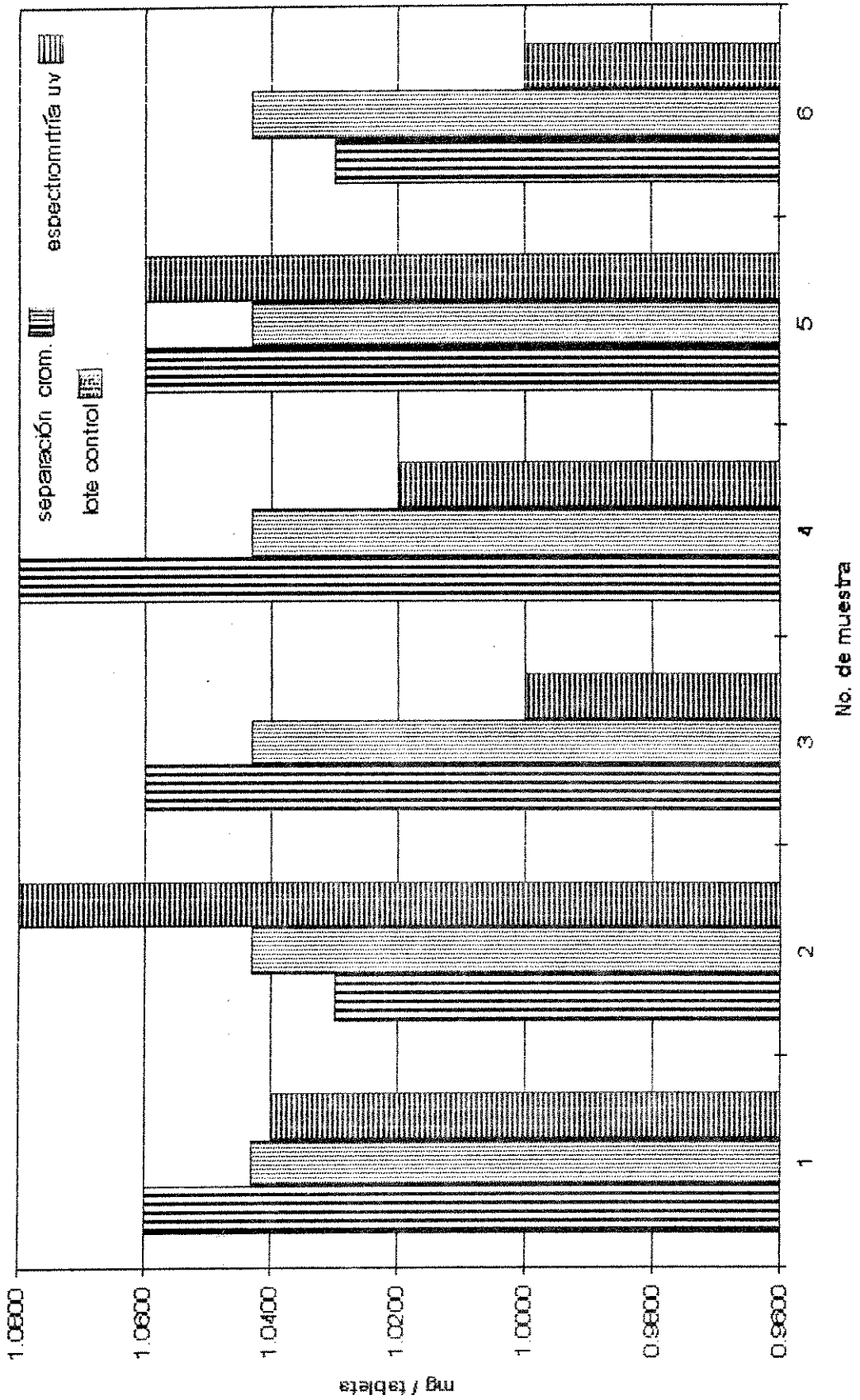


Figura No. 2

### 3. Bitartrato de fenilefrina

La evaluación de exactitud se realiza a partir de un lote control, del que se conoce la cantidad de sustancia activa presente, que se cuantifica de acuerdo con los métodos de análisis propuestos.

Los resultados obtenidos corresponden a la repetición de 6 veces dicho análisis por los métodos propuestos.

La tabla 5 muestra los resultados obtenidos.

Tabla No. 5

Cuantificación de bitartrato de fenilefrina, prueba de exactitud.

Método de análisis: separación cromatográfica y espectrometría ultravioleta

No. de muestra	Lote control (mg/tab)	Separación cromatográfica (mg/tab)	Espectrometría ultravioleta (mg/tab)
1	3.9640	3.9000	3.8300
2	3.9640	3.8300	3.7400
3	3.9640	3.9400	3.6500
4	3.9640	3.7900	3.7200
5	3.9640	3.8600	3.7500
6	3.9640	3.8000	3.7800



La figura 3 muestra una comparación para la cuantificación de bitartrato de fenilefrina respecto del lote control, por los métodos de análisis propuestos.

La evaluación de precisión se realiza a partir de un lote de producción normal de tabletas antigripales para niños, que se analiza 6 veces de acuerdo con los métodos de análisis propuestos.

La tabla 6 muestra los resultados obtenidos.

Tabla No.6  
Cuantificación de bitartrato de fenilefrina, prueba de precisión  
Método de análisis: separación cromatográfica y espectrometría ultravioleta

No. de muestra	Separación cromatográfica (mg/tab)	Espectrometría ultravioleta (mg/tab)
1	3.88450	3.9000
2	3.88010	3.8800
3	3.88100	3.9360
4	3.87900	3.8750
5	3.88200	3.8500
6	3.87200	3.8600

### Bitartrato de fenilefrina

Comparación entre los métodos de análisis, Exactitud

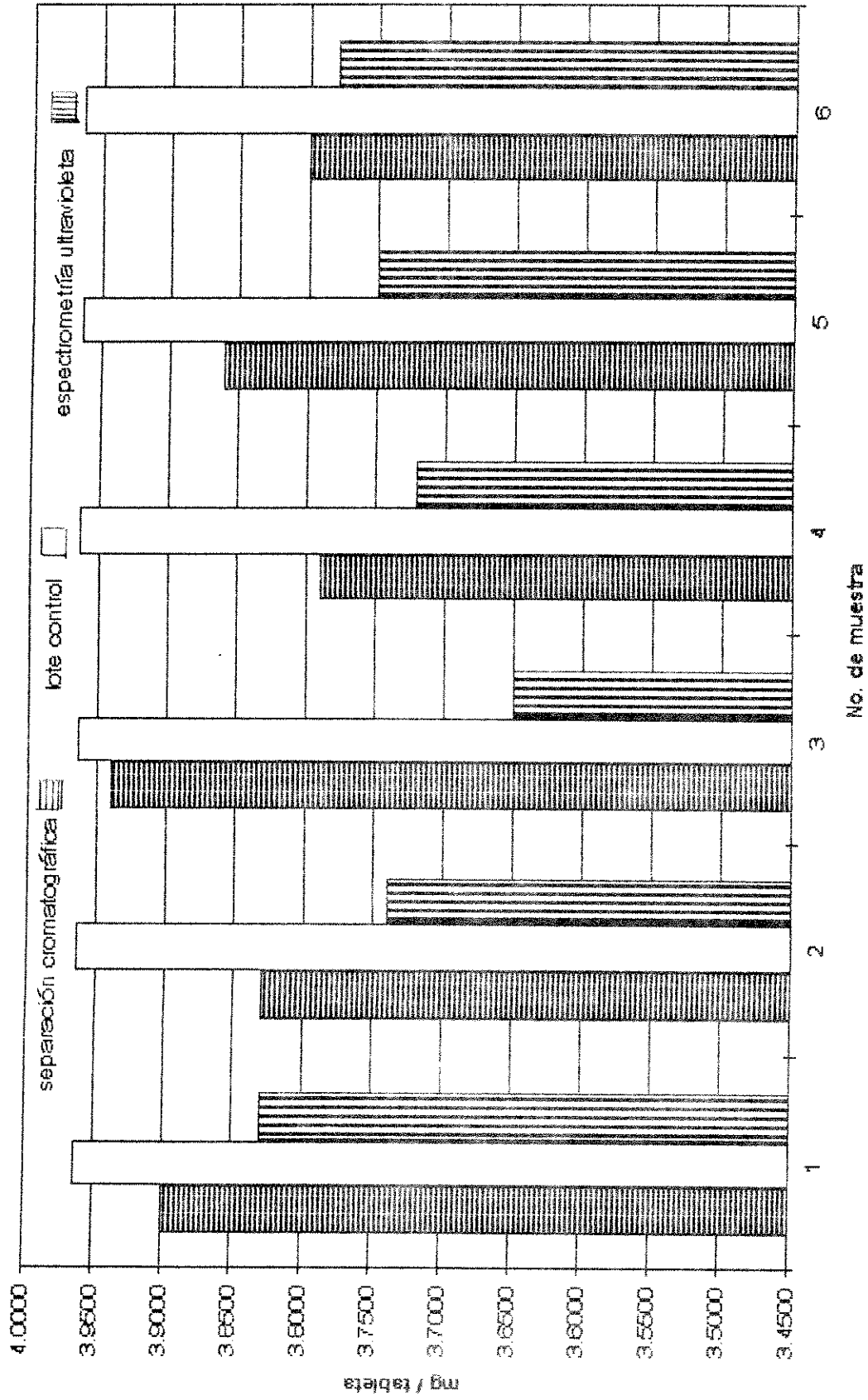


Figura No. 3

Tabla No. 7

Evaluación de exactitud.

Método de análisis: separación cromatográfica y espectrometría ultravioleta

	Separación cromatográfica	Espectrometría ultravioleta
Promedio $\bar{X}$	162.9917	161.2333
Desviación media $\sigma$	0.9538	1.9623
Media $\mu$	162.4071	162.4071
t-test	1.501 < 2.571	1.465 < 2.571
Límites de confianza		
P= 0.95	162.9917 + - 1.0011	161.2333 + - 2.0596
Error estándar del promedio	0.39	0.80

	Maleato de clorfeniramina	Maleato de clorfeniramina
Promedio $\bar{X}$	1.0533	1.0333
Desviación media $\sigma$	0.0197	0.0326
Media $\mu$	1.0430	1.0430
t-test	1.287 < 2.0571	0.7263 < 2.571
Límites de confianza		
P= 0.95	1.0533 + - 0.0207	1.0333 + - 0.0342
Error estándar del promedio	0.008	0.0133

	Bitartrato de fenilefrina	Bitartrato de fenilefrina
Promedio $\bar{X}$	3.8533	3.7450
Desviación media $\sigma$	0.0585	0.0602
Media $\mu$	3.9640	3.9640
t-test	4.631 < 2.571	8.900 < 2.571
Límites de confianza		
P= 0.95	3.8533 + - 0.0614	3.7450 + - 0.0632
Error estándar del promedio	0.0239	0.0246

Tabla No.8

Evaluación de precisión.

Método de análisis: separación cromatográfica y espectrometría ultravioleta

	Separación cromatográfica	Espectrometría ultravioleta
	Acetaminofén	Acetaminofén
Promedio $\bar{X}$	164.4617	164.5000
Desviación media $\sigma$	2.0714	3.1862
Coefficiente de variación %	1.2595	1.9369
Límites + -2 $\sigma$	164.4617 + - 2.5190	164.5000 + - 6.372
Límites + -3 $\sigma$	164.4617 + - 6.2142	164.5000 + - 9.5586
Error estándar del promedio	0.8500	1.3000
	Maleato de clorfeniramina	Maleato de clorfeniramina
Promedio $\bar{X}$	1.0579	1.0503
Desviación media $\sigma$	0.0029	0.0186
Coefficiente de variación %	0.2738	1.7859
Límites + -2 $\sigma$	1.0579 + - 0.0058	1.0503 + - 0.072
Límites + -3 $\sigma$	1.0579 + - 0.0087	1.0503 + - 0.0558
Error estándar del promedio	0.0012	0.0077
	Bitartrato de fenilefrina	Bitartrato de fenilefrina
Promedio $\bar{X}$	3.8798	3.9000
Desviación media $\sigma$	0.0042	0.0306
Coefficiente de variación %	0.1093	0.7881
Límites + -2 $\sigma$	3.8798 + - 0.0084	3.9000 + - 0.0612
Límites + -3 $\sigma$	3.8798 + - 0.0126	3.9000 + - 0.0918
Error estándar del promedio	0.0017	0.0125

De la evaluación económica realizada, el costo obtenido corresponde al costo unitario en relación a la capacidad; además, se evalúa el costo de reactivos utilizado por análisis, así como el costo incremental por análisis.

Los resultados de la evaluación económica se observan en la tabla 9 .

La tabla 10 muestra la evaluación de tiempo de análisis.

**Tabla No. 9**

**Evaluación económica**

**Método de análisis: separación cromatográfica y espectrometría ultravioleta.**

<b>Costo evaluado</b>	<b>Separación cromatográfica</b>	<b>Espectrometría ultravioleta</b>
<b>Costo unitario en relación con la capacidad</b>	<b>Q 2,215</b>	<b>Q 5,025</b>
<b>Costo de reactivos utilizados por análisis</b>	<b>Q 35</b>	<b>Q 75</b>
<b>Costo incremental por análisis</b>	<b>Q 15</b>	<b>Q 75</b>

## 12. Discusión de resultados

La sustancia activa acetaminofén es cuantificada de manera más exacta por el método de separación por cromatografía líquida de alta precisión, que por el método por espectrometría ultravioleta a partir de la repetición de 6 veces el análisis por los métodos propuestos.

Sea la desviación media la medida de estimación más confiable para la variabilidad de los resultados obtenidos, por separación cromatográfica, se tiene una desviación media de 0.9538 respecto de 1.9623 obtenida por la espectrometría ultravioleta. (5)

La prueba de t-test realizada con una confianza del 95 % prueba la hipótesis de la comparación del promedio de un conjunto de datos respecto de un valor conocido; en este caso se compara la media de los datos obtenidos por los métodos propuestos y una media hipotética o supuesta como es el lote control. (4)

Ambos métodos de análisis cumplen con dicha prueba.

Los límites de confianza del 95 % para los seis datos evaluados denotan los límites de la muestra alrededor del promedio, en ambos métodos de análisis; la cuantificación del lote control se encuentra entre los límites de confianza del 95 % de los métodos propuestos.

Si la desviación media da una medida de la variación de observaciones individuales acerca del valor medio, una medida com-

parable de la variación del promedio de las muestras acerca de sus promedios lo constituye el llamado error estándar del promedio. (3) Por el método de separación cromatográfica se, obtiene un error estándar del promedio de 0.39 menor, que el 0.80 obtenido por el método de espectrometría ultravioleta. (Ver tabla 7)

La sustancia activa acetaminofén es cuantificada de manera más precisa por el método de separación cromatográfica, que por el método por espectrometría ultravioleta.

La precisión se evaluó por la posibilidad de los métodos de análisis propuestos de reproducir sus propias mediciones. La experiencia ha demostrado que cualquier sistema de medición tiene una cierta dispersión propia que es, a su vez, reproducible, mensurable y, por consiguiente, una vez conocida, predecible. (5)

La cuantificación de la dispersión se hace en función de la desviación media, y la repetibilidad de la misma se evalúa por su coeficiente de variación.

Por el método de separación cromatográfica, se obtiene una desviación media de 2.0714 respecto de 3.1862 obtenida por la espectrometría ultravioleta, así como coeficientes de variación de 1.2595 % y 1.9369 % respectivamente.

La evaluación del error estándar del promedio es de 0.8500 en la separación cromatográfica menor que el 1.3000 de la espectrometría ultravioleta. (Ver tabla 8)

La sustancia activa maleato de clorfeniramina es cuantificada de forma más exacta por el método de separación cromatográfica, que por la espectrometría ultravioleta.

La desviación media por separación cromatográfica es 0.0197, respecto de 0.0326 de la espectrometría ultravioleta.

Ambos métodos de análisis cumplen con la prueba de t-test al 95 % de confianza.

El valor de cuantificación del lote control se encuentra en ambos métodos comprendido en los límites de confianza del 95 %.

Por el método de separación cromatográfica, se obtiene un error estándar del promedio 0.008, que es menor al 0.0133 obtenido por espectrometría ultravioleta. (Ver tabla 7)

La sustancia activa maleato de clorfeniramina es cuantificada de forma más precisa por el método de separación cromatográfica, que por el de espectrometría ultravioleta.

La desviación media obtenida por separación cromatográfica es de 0.0029 respecto de 0.0188 obtenida por espectrometría ultravioleta, así como coeficientes de variación de 0.2738 y 1.7859 respectivamente.

La separación cromatográfica presenta un error estándar del promedio de 0.0012 , que es menor al obtenido de 0.0077 por la espectrometría ultravioleta.



La sustancia activa bitartrato de fenilefrina es cuantificada de forma más exacta por la separación cromatográfica, que por la espectrometría ultravioleta.

La desviación media 0.0585 obtenida por separación cromatográfica es menor que la obtenida por espectrometría ultravioleta de 0.0602 .

En ambos métodos de análisis, la prueba de t-test es rechazada; debe observarse que el valor más cercano al nivel de confianza planteado es el de separación cromatográfica.

En ambos métodos de análisis, los límites de confianza del 95% no contienen el valor cuantificado en el lote control.

El error estándar promedio obtenido por separación cromatográfica es de 0.0239, respecto de 0.0246 obtenido por espectrometría ultravioleta. (Ver tabla 7)

Por lo cercano de los errores obtenidos en los métodos propuestos, se plantea la necesidad de optimizar la cuantificación de dicha sustancia activa.

La sustancia activa bitartrato de fenilefrina es cuantificada de forma más precisa por separación cromatográfica, que por espectrometría ultravioleta.

Por separación cromatográfica, se obtiene una desviación media de 0.0042 respecto de 0.0306 obtenida por espectrometría ultravioleta; los coeficientes de variación son de 0.1393 % y de 0.7881 % , respectivamente.

El error estándar del promedio obtenido por separación cro-

matográfica es de 0.0017 , que es menor al 0.0125 obtenido por la espectrometría ultravioleta. (Ver tabla 8)

La evaluación económica se refiere al costo unitario en relación a la capacidad.

Por el método de separación cromatográfica, se cuantifica tal costo en Q 2,215 ,respecto al de espectrometría ultravioleta que se cuantifica en Q 5,025 . El costo unitario en relación con la capacidad permite evaluar lo que corresponde al costo de reactivos utilizados por análisis, así como el costo incremental por análisis. (Ver tabla 9)

La evaluación anterior se efectúa teniendo como base de cálculo un año de trabajo. (Ver anexos)

La evaluación de tiempo de análisis se presenta en la tabla 10 . (Ver anexos)

### 13. Conclusiones

1. El método de separación por cromatografía líquida de alta precisión tiene mayor exactitud y precisión, que el método por espectrometría ultravioleta en la cuantificación de sustancias activas de tabletas antigripales para niños.
2. El método por separación cromatográfica presenta mayores ventajas: menor tiempo de análisis, menor cantidad de reactivos utilizados respecto del método por espectrometría ultravioleta.
3. El método por separación cromatográfica tiene un menor costo unitario en relación con la capacidad, costo de reactivos por análisis y costo incremental por análisis que, el método por espectrometría ultravioleta.

#### 14. Recomendaciones

1. Para ambos métodos de análisis, se necesita optimizar la exactitud en la cuantificación de la sustancia activa bitartrato de fenilefrina.
2. Para el método por separación cromatográfica, se necesita optimizar la separación de bitartrato de fenilefrina, tema que puede ser considerado como objeto de una investigación que se va a desarrollar.
3. El estudio de este tipo de métodos de análisis debe ser implementado en el curso de análisis cuantitativo, dentro del pènsum de estudios de Ingeniería Química.

## 15. Referencias

- 1 Current Good Manufacturing Practice.  
Title 21 Code of Federal Regulation .48-49 pp.
- 2 JOHNSON, E., Stevenson, R., Basic Liquid Chromatography.  
Estados Unidos: s.p.i. 1,978. 1-15 pp.
- 3 Remington's Pharmaceutical Science.  
16 th edition. Estados Unidos: Edit. Mack Publishing,  
1,980. 2,928 pp.
- 4 HITOSHI, Kume. Herramientas estadísticas básicas para el me-  
joramiento de la calidad.  
3a. edición. Colombia: Edit. Norma, s.f. 75 pp.
- 5 JURAN, J.M., Gryna, Frank. Manual de Control de Calidad.  
Traducción: Josep Vallhonrat. Volumen I y II  
4a. edición. España: Edit. Mc Graw Hill, s.f. 90 pp.
- 6 The United States Pharmacopeia.  
The National Formulary. XXIII Ed. Estados Unidos:  
s.p.i. 1,994. 2391 pp.

7 The Merck Index of Chemicals and Drugs.

7 th edition. Estados Unidos: s.p.i. 1,960. 802 pp.

8 DAY, R.A. et.al. Química analítica cuantitativa.

Traducción: María C. Arroyo. 5a. edición. México:

Edit. Prentice-Hall Hispanoamericana, s.f. 841 pp.

## 16. Anexos

Monografía de Acetaminofén

Nombre IUPAC: 4'-Hydroxyacetanilida.

Preparación: El p-nitrofenol es reducido y el p-aminofenol resultante es acetilizado por calentamiento con una mezcla de anhídrido acético y ácido acético glacal. El producto crudo puede ser purificado por recristalización a partir de una mezcla de etanol-agua o de otro solvente apropiado.

Nombre genérico: paracetamol y acetaminofén .

Descripción: Acetaminofén es un polvo cristalino blanco, sin olor, posee un ligero sabor amargo; funde entre 168 y 172 °C; pH (solución saturada) se encuentra entre 5.3 y 6.5; pKa 9.51 .

Estabilidad: Es estable a la luz; al calor el acetaminofén sólido, seco y puro es estable a temperatura de 45 °C, más allá se hidroliza a p-aminofenol. Es relativamente estable a la oxidación.

Su uso médico es como un analgésico.

Compatibilidad: Es compatible con varios excipientes, aunque se ha demostrado que interactúa con la carboximetilcelulosa a temperatura elevada, se decolora en presencia de cafeína o fosfato de codeína.(3)

Monografía de Maleato de clorfeniramina

Nombre genérico: teldrin.

Descripción: Polvo cristalino blanco.

Fórmula molecular  $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$  . Punto de fusión entre 130 - 135 °C . Soluble en agua, alcohol y cloroformo, parcialmente en éter y benceno. El pH de una solución acuosa al 2 % es 5. Su pérdida por secado es no más de 0.5 % ,determinado en un gramo cuando se seca en un horno 4 hrs. a 105 °C.

Su uso médico es como un antihistamínico. (7)

Monografía de Bitartrato de fenilefrina

Descripción: Polvo cristalino blanco.

Punto de fusión entre 137 - 141 °C . Su pérdida por secado es no más de 1.0 % ,determinado en un gramo cuando se seca 2 horas a 105 °C. Tiene rotación específica levorrotatoria de - 42° a - 47.5° ,en base seca. Tiene como prueba de identidad la formación de color azul, cuando se disuelve 10 mg de muestra de bitartrato de fenilefrina en un mL de agua,se agrega una gota de sulfato cúprico TS, seguidamente se agrega 1 mL de hidróxido de sodio (solución 1 en 5) , el color azul es producido.

Su uso médico es como un descongestionante nasal. (7)



Tabla No. 10

**Evaluación de tiempo de análisis**

**Método de análisis: separación cromatográfica y espectrometría ultravioleta.**

<b>Tiempo de análisis</b>	<b>Separación cromatográfica</b>	<b>Espectrometría ultravioleta</b>
<b>Tiempo empleado en un análisis</b>	<b>4 hrs</b>	<b>5 hrs</b>
<b>Tiempo empleado en 10 análisis continuos</b>	<b>8 hrs</b>	<b>40 hrs</b>
<b>Análisis realizados por día</b>	<b>10 análisis</b>	<b>2 análisis</b>

Cálculo de costo unitario en relación a la capacidad

base de cálculo: 1 año

Método por separación cromatográfica

$$\text{CURC} = (((B*T)+(C*I)+(2A))*(1-U/P)*(Q/2))+(S*NU/Q)$$

$$\text{CURC} = (((0.02*100)+(15*0.10)+(2*10))*(1-1/10)*(2,000/2)) \\ + (100*20,000/2,000)$$

$$\text{CURC} = \text{Q } 2,215$$

Método por espectrometría ultravioleta

$$\text{CURC} = (((B*T)+(C*I)+(2A))*(1-U/P)*(Q/2))+(S*NU/Q)$$

$$\text{CURC} = (((0.02*200)+(75*0.10)+(2*10))*(1-1/2)*(400/2)) \\ + (25*30,000/400)$$

$$\text{CURC} = \text{Q } 5,025$$

Costo unitario en relación a la capacidad (CURC)

	Separación c.	Espectrometría UV
Análisis por día (P)	10	2
Costo de preparación por análisis (S) Q	100	25
Costo anual de reactivos (NU)	Q 20,000	Q 30,000
Impuesto y seguros (B)	2 %	2 %
Costo total por análisis (T)	Q 100	Q 200
Tasa mínima de rendimiento (I)	10 %	10 %
Costo incremental por análisis (C)	Q 15	Q 75
Costo de almacenaje (A)	Q 10	Q 10
Equipos utilizados (U)	1	1
Capacidad para realizar análisis al año (Q)	2,000	400