



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería Química

**IMPLEMENTACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA IDENTIFICACIÓN Y
CUANTIFICACIÓN DE IMPUREZAS DE GLICOLES EN MATERIA PRIMA UTILIZADA EN LA
INDUSTRIA FARMACÉUTICA MEDIANTE CROMATOGRFÍA DE GASES**

Fredy Alejandro Morales López

Asesorado por el Ing. Hugo Leonel Rubio Gordillo

Guatemala, julio de 2022

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**IMPLEMENTACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA IDENTIFICACIÓN Y
CUANTIFICACIÓN DE IMPUREZAS DE GLICOLAS EN MATERIA PRIMA UTILIZADA EN LA
INDUSTRIA FARMACÉUTICA MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA
POR

FREDY ALEJANDRO MORALES LÓPEZ
ASESORADO POR EL ING. HUGO LEONEL RUBIO GORDILLO

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

GUATEMALA, JULIO DE 2022

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANA	Inga. Aurelia Anabela Cordova Estrada
VOCAL I	Ing. José Francisco Gómez Rivera
VOCAL II	Ing. Mario Renato Escobedo Martínez
VOCAL III	Ing. José Milton de León Bran
VOCAL IV	Br. Kevin Vladimir Cruz Lorente
VOCAL V	Br. Fernando José Paz González
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANA	Inga. Aurelia Anabela Cordova Estrada
EXAMINADOR	Ing. Gerardo Ordóñez
EXAMINADOR	Ing. Víctor Manuel Monzón Valdez
EXAMINADOR	Ing. César Ariel Villela Rodas
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

IMPLEMENTACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE IMPUREZAS DE GLICOLES EN MATERIA PRIMA UTILIZADA EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha 15 de marzo de 2021.

Fredy Alejandro Morales López

Guatemala 28 de enero de 2022

Ingeniero
Williams Guillermo Álvarez Mejía
DIRECTOR
Escuela Ingeniería Química
Presente.

Estimado Ingeniero Álvarez:

Le saludo cordialmente, deseándole éxitos en sus actividades. Por medio de la presente hago constar que he revisado y aprobado el Informe Final del trabajo de graduación titulado: **"IMPLEMENTACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE IMPUREZAS DE GLICOLAS EN MATERIA PRIMA UTILIZADA EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA MEDIANTE CROMATOGRFÍA DE GASES"**, elaborado por el estudiante de la carrera de Ingeniería Química, Fredy Alejandro Morales López, quien se identifica con el registro académico 2014-04197 y con el CUI 2815 75444 01 01.

Agradeciendo la atención a la presente, me suscribo de usted,

Atentamente,


Hugo Leonel Rubio Gordillo
INGENIERO QUIMICO
COL.: 1751
MSc. Ing. Hugo Leonel Rubio Gordillo
ASESOR
Ingeniero Químico
Colegiado activo No. 1751



Guatemala, 23 de marzo de 2022.
Ref. EIQ.TG-IF.007.2022.

Ingeniero
Williams Guillermo Álvarez Mejía
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Álvarez:

Como consta en el registro de evaluación, correlativo **014-2020**, le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

INFORME FINAL

Solicitado por el estudiante universitario: **Fredy Alejandro Morales López**.
Identificado con número de carné: **2815754440101**.
Identificado con registro académico: **201404197**.
Previo a optar al título de la carrera: **Ingeniería Química**.
En la modalidad: **Informe Final, Seminario de Investigación**.

Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

**IMPLEMENTACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA IDENTIFICACIÓN
Y CUANTIFICACIÓN DE IMPUREZAS DE GLICOLES EN MATERIA PRIMA
UTILIZADA EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA MEDIANTE
CROMATOGRAFÍA DE GASES**

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por:

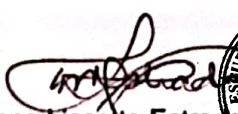

Hugo Leonel Rubio Gordillo, profesional de la Ingeniería Química

Habiendo encontrado el referido trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Ingeniera Química

Dinna Lissette Estrada Moreira
Colegiado 666



Dinna Lissette Estrada Moreira
profesional de la Ingeniería Química
COORDINADOR DE TERNA
Tribunal de Revisión
Trabajo de Graduación

C.c.: archivo



LNG.DIRECTOR.119.EIQ.2022

El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor, el visto bueno del Coordinador de Área y aprobación del área de lingüística del trabajo de graduación titulado: **IMPLEMENTACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE IMPUREZAS DE GLICOLAS EN MATERIA PRIMA UTILIZADA EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA MEDIANTE CROMATOGRFÍA DE GASES**, presentado por: **Fredy Alejandro Morales López**, procedo con el Aval del mismo, ya que cumple con los requisitos normados por la Facultad de Ingeniería.

“Id y Enseñad a Todos”

Ing. Williams G. Alvarez Mejía, U.I.E.
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química

Guatemala, junio de 2022.

LNG.DECANATO.OI.418.2022

La Decana de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al Trabajo de Graduación titulado: **IMPLEMENTACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE IMPUREZAS DE GLICOLAS EN MATERIA PRIMA UTILIZADA EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA MEDIANTE CROMATOGRFÍA DE GASES**, presentado por: **Fredy Alejandro Morales López**, después de haber culminado las revisiones previas bajo la responsabilidad de las instancias correspondientes, autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE:


Inga. Aurelia Anabela Cordova Estrada
Decana



Guatemala, julio de 2022

AACE/gaoc

ACTO QUE DEDICO A:

- Dios** Por nunca abandonarme, darme la salud y sabiduría necesaria para alcanzar esta tan ansiada meta.
- Mis padres** Lesbia Ninette López y Víctor Vidal Morales por todo su apoyo en este proceso y desde que soy un niño, por sus consejos, por todo su amor, su educación y velar por que sea un hombre de bien y un excelente profesional.
- Mi familia** A mis hermanos, Jessica Alejandra y Kevin Estuardo Morales; a mi sobrina Emily Valdez y a Mateo Valdez, por ser fuente de inspiración para mí y por sus muestras de cariño en todo momento.
- Mi novia** Cindy Karina Pérez por estar a mi lado en todo momento, por todo su apoyo, su amor, sus consejos y sus palabras de ánimo a lo largo de este proceso.
- Mis amigos** Con quienes hemos compartido buenos momentos, nos hemos apoyado mutuamente y formar parte de este proceso hasta llegar a ser profesionales.

AGRADECIMIENTOS A:

**Universidad de San
Carlos de Guatemala**

Mi *alma máter* por brindarme la oportunidad de iniciar mi formación profesional.

Facultad de Ingeniería

Por todos los conocimientos adquiridos a través de mis catedráticos.

**Compañeros y amigos
del trabajo**

Quienes me han mostrado su apoyo en todo momento y han estado al pendiente de este proceso.

Ing. Hugo Rubio

Por brindarme su apoyo asesorando mi proyecto, sus consejos y su amistad.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	V
LISTA DE SÍMBOLOS	VII
GLOSARIO	IX
RESUMEN	XI
OBJETIVOS.....	XIII
HIPÓTESIS.....	XV
INTRODUCCIÓN	XVII
1. MARCO CONCEPTUAL.....	1
1.1. Antecedentes.....	1
1.2. Justificación	3
1.3. Determinación del problema.....	3
1.3.1. Definición	3
1.3.2. Delimitación	4
2. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP)	5
2.2. Glicoles.....	6
2.3. Cromatografía de gases	8
2.3.1. Aplicaciones de la cromatografía de gases	9
2.3.2. Aplicaciones en comida, saborizantes y fragancias	10
2.3.3. Aplicaciones relacionadas a químicos y petróleo ...	10
2.3.4. Aplicaciones prácticas	11

2.3.5.	Componentes fundamentales de un cromatógrafo de gases.....	12
2.3.5.1.	Fase móvil.....	13
2.3.5.2.	Puerto de inyección.....	14
2.3.5.3.	Horno de la columna.....	14
2.3.5.4.	Fase estacionaria.....	15
2.3.5.5.	Soporte.....	17
2.3.5.6.	Columna cromatográfica.....	17
2.3.5.7.	Detectores.....	21
2.3.5.8.	Gas portador.....	24
2.4.	Cromatografía de gases y espectrometría de masas.....	26
2.5.	Método analítico en un laboratorio.....	27
2.5.1.	Criterios para la elección de un método.....	28
2.6.	Jerarquía de Normas aplicadas a la industria farmacéutica.....	28
2.7.	Informe 32 de la OMS.....	29
2.8.	Reglamento Técnico Centro Americano (RTCA).....	30
2.8.1.	Validaciones.....	30
2.8.2.	Equipo.....	31
2.8.3.	Materiales y productos.....	31
2.8.4.	Documentación.....	31
2.8.5.	Departamentos (Producción, Garantía de calidad, Control de calidad).....	32
2.9.	Buenas Prácticas de Laboratorio (Norma ISO 17025).....	32
3.	MARCO METODOLÓGICO.....	35
3.1.	Variables.....	35
3.2.	Delimitación del campo de estudio.....	36
3.2.1.	Área de conocimiento.....	36
3.2.2.	Proceso.....	36

3.2.3.	Etapas del proceso	37
3.2.4.	Ubicación	37
3.2.5.	Clima	37
3.2.6.	Viabilidad	38
3.3.	Recurso humano disponible:	38
3.4.	Recurso material disponible	38
3.4.1.	Equipo	38
3.4.2.	Cristalería y materiales	39
3.4.3.	Reactivos	39
3.5.	Metodología experimental aplicada	39
3.5.1.	Observaciones generales	39
3.5.2.	Preparación de diluyente (Acetona:Agua)(96:4)	40
3.5.3.	Preparación de estándar mixto	40
3.5.4.	Preparación de muestras de glicerina	41
3.5.5.	Preparación de muestras de sorbitol 70 %	42
3.6.	Técnica cuantitativa o cualitativa	43
3.7.	Recolección y ordenamiento de la información	43
3.8.	Diseño general de la técnica cuantitativa	44
3.9.	Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información	46
3.10.	Análisis estadístico	47
3.10.1.	Media aritmética	48
3.10.2.	Varianza	48
3.10.3.	Desviación estándar	48
3.11.	Plan de análisis de los resultados	49
3.11.1.	Métodos y modelos de los datos según tipo de variables	49
3.11.1.1.	Análisis de Varianza (ANOVA)	49
3.11.1.2.	Correlación de Pearson	49

3.11.2.	Programas a utilizar para análisis de datos.....	49
4.	RESULTADOS.....	51
5.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	63
	CONCLUSIONES.....	71
	RECOMENDACIONES	73
	BIBLIOGRAFÍA.....	75
	APÉNDICES.....	77
	ANEXO.....	97

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1.	Ejemplificación de un cromatograma de Cromatografía de gases	12
2.	Esquema de un cromatógrafo de gases.....	13
3.	Horno con columna capilar.....	15
4.	Tipos de columnas para cromatografía	21
5.	Detector de conductividad térmica	23
6.	Detector de ionización de flama	24
7.	Orden jerárquico de normas en industria farmacéutica.....	29
8.	Diagrama de proceso de metodología de investigación.....	45
9.	Identificación de estándar de etilenglicol en cromatograma.....	52
10.	Identificación de estándar de dietilenglicol en cromatograma	53
11.	Dispersión de estándares de etilenglicol (tiempo – área).....	59
12.	Dispersión de estándares de dietilenglicol (tiempo – área).....	60

TABLAS

I.	Definición operacional de las variables cuantificables.....	35
II.	Técnica cualitativa o cuantitativa de las variables	43
III.	Propiedades físicas de materia prima	46
IV.	Concentración de estándar utilizado	46
V.	Área obtenida de estándares	47
VI.	Área de muestras y porcentaje de impurezas detectado	47
VII.	Propiedades físicas de la glicerina	51
VIII.	Propiedades físicas del sorbitol al 70 %.....	51

IX.	Cuantificación de etilenglicol en sorbitol 70 %	54
X.	Cuantificación de dietilenglicol en sorbitol 70 %	55
XI.	Cuantificación de etilenglicol en glicerina	56
XII.	Cuantificación de dietilenglicol en glicerina.....	57
XIII.	Especificaciones para técnica implementada	58
XIV.	Recuperación de etilenglicol y dietilenglicol en cada materia prima	59
XV.	Correlación de Pearson para áreas de estándares de etilenglicol y dietilenglicol en función del tiempo de retención.....	60
XVI.	Análisis de varianza (ANOVA) para las dos muestras de sorbitol 70 % con trazas de etilenglicol	61

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
A	Área bajo la curva [unidades adimensionales]
A_{Mx}	Área bajo la curva de la muestra [unidades adimensionales]
A_{STD}	Área bajo la curva del estándar [unidades adimensionales]
R_u, R_s	Cociente de respuesta entre picos de glicol y estándar para muestra y estándar respectivamente
[C]	Concentración [mg/mL]
C_s, C_u	Concentración de glicol pertinente, en estándar y muestra respectivamente
R²	Correlación lineal de Pearson
GC	Cromatografía de gases
DSR	Desviación estándar [%]
STD	Estándar
F	Factor de conversión [1 000 mg/g]
NF	Formulario nacional de medicamentos
He	Helio
H₂	Hidrógeno
μL	Microlitros
Mv	Milivoltios
M_{xn}	Muestra / analito
N₂	Nitrógeno
ppm	Partes por millón

POT_{STD}	Potencia del estándar
P	Presión [Psi]
S/SL	Split / Splitless
T	Temperatura [°C]
Tr	Tiempo de retención [minutos]
V	Voltios

GLOSARIO

Cromatografía de gases	Técnica cromatográfica donde la muestra se volatiliza. Cada componente de la muestra a analizar elude en una columna y se representa en un cromatograma en función del tiempo.
Cromatograma	Representación gráfica de una curva de elución obtenida a partir de una cromatografía. Muestra la señal recogida por un detector, que identifica la concentración de analito inyectado.
Detector de cromatógrafo de gases	Dispositivo que reconoce y da respuesta a los componentes de la muestra que eluden en la columna.
Elución	Proceso en el cual los componentes de una sustancia se separan y son absorbidas por un cuerpo que se encuentra en un lavado progresivo con un fluido apropiado.
Farmacopea	Libro o conjunto de libros que contienen recetas de productos medicinales, que incluye sus componentes y formas de preparación. También incluyen advertencias generales, valoraciones e información relacionada a este tipo de productos.

Gas acarreador	Gas presurizado utilizado para transportar el analito a través de un sistema de cromatografía de gases.
Glicoles	Compuestos químicos formados por dos grupos hidroxilos; éstos son producto de la reacción de óxido de etileno con agua. Son sustancias dañinas para el medio ambiente y de gran uso en el sector industrial.
Método analítico	Modelo de estudio científico para analizar el fenómeno estudiado, descomponiéndolo en sus partes o elementos para observar causas, naturaleza y efectos.
USP	Siglas de <i>United States Pharmacopeia</i> o Farmacopea de los Estados Unidos en español; es una organización sin fines de lucro que rige los procedimientos de elaboración / manejo de principios activos y productos relacionados a la industria farmacéutica. También rige suplementos dietéticos.

RESUMEN

Con el objetivo de implementar un método analítico que permita identificar y cuantificar las posibles trazas de glicoles en sorbitol al 70 % (lote: E912RIX, vence: 02/11/2024) y glicerina (lote: 214505520211/130521-05, vence: 19/07/2022) utilizados para la elaboración de productos farmacéuticos, se estableció una metodología referenciada en la monografía de la farmacopea estadounidense para el sorbitol al 70 % en la cual se fijaron las condiciones de trabajo y tratamiento de muestras para llevar a cabo la experimentación.

Como parte inicial de la investigación, se planteó una metodología no oficial referenciada a la monografía del sorbitol al 70 %; se utilizaron estándares secundarios de etilenglicol y dietilenglicol para determinar el tiempo de retención de los picos bajo las condiciones establecidas según la monografía. Así mismo se inyectaron los estándares por separado para identificar el tiempo de retención de cada uno.

Con una metodología establecida, se procedió a inyectar un estándar mixto de etilenglicol y dietilenglicol seis veces consecutivas; también se prepararon dos muestras de cada materia prima y se inyectaron por duplicado, también se inyectó una muestra de diluyente. Con estos resultados fue posible obtener datos estadísticos como la media aritmética y la desviación estándar. Así mismo se obtuvo el porcentaje de etilenglicol y dietilenglicol contenido en cada materia prima comparado con los valores obtenidos por los estándares y determinar si están por debajo del criterio de aceptación establecido.

Se realizaron ensayos de propiedades físicas a cada materia prima, además se determinó que para el lote analizado de glicerina se obtuvo 0,0 % de cuantificación de etilenglicol y dietilenglicol, es decir, no hay presencia de trazas de alguno de los glicoles analizados. Mientras que para el sorbitol al 70 % se determinó que hay ausencia de dietilenglicol, sin embargo, si hay presencia de etilenglicol en un 0,08381 % para el lote analizado. El criterio de aceptación indica que el valor máximo permitido de etilenglicol o dietilenglicol en muestras de materia prima no debe exceder en 0,1 %; por tanto, se aprueba el uso de las materias primas analizadas para la producción de medicamentos. También se realizó un análisis estadístico para verificar si el área de los picos de los cromatogramas depende del tiempo de retención y se determinó que no es así, solo depende del volumen de inyección de la muestra y de su concentración; Por medio de ANOVA se determinó que la variación entre las muestras de sorbitol al 70 % donde se encontraron trazas de etilenglicol no es significativa.

OBJETIVOS

General

Implementar un método analítico con base en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) para identificar y cuantificar impurezas de glicoles en materia prima utilizada para la producción de medicamentos en una industria farmacéutica de Guatemala.

Específicos

1. Determinar el porcentaje de glicoles contenidos en la materia prima analizada comparada con estándares secundarios de etilenglicol, dietilenglicol y 1,3-butanodiol.
2. Realizar análisis de varianza y correlación de Pearson para determinar estadísticamente el comportamiento de los resultados obtenidos.
3. Determinar el tiempo de retención de los glicoles mediante los cromatogramas obtenidos.
4. Determinar las propiedades físicas de la materia prima a analizar para verificar que los parámetros de cada propiedad cumplan según el certificado de proveedor.

HIPÓTESIS

Hipótesis científica

Es posible implementar una metodología analítica como referencia a la Farmacopea de los Estados Unidos para identificar y cuantificar las impurezas de glicoles en materia prima utilizada en productos farmacéuticos.

Hipótesis estadística

Hipótesis nula

No es posible desarrollar una metodología analítica para la identificación y cuantificación de impurezas de glicoles según como se referencia en la Farmacopea Estadounidense (USP) para materia prima utilizada en la elaboración de medicamentos.

Hipótesis alterna

Es posible desarrollar una metodología analítica para la identificación y cuantificación de impurezas de glicoles según como se referencia en la Farmacopea Estadounidense (USP) para materia prima utilizada en la elaboración de medicamentos.

INTRODUCCIÓN

Los glicoles son sustancias que se forman a partir de óxido de etileno que reacciona con agua. Estos compuestos en general son líquidos claros, inodoros, baja volatilidad y miscibles en agua. Los principales glicoles son el etilenglicol, dietilenglicol, y trietilenglicol. Los glicoles son tóxicos para el medio ambiente y dañinos a la salud humana a grandes dosis de intoxicación, afectando principalmente a riñones y corazón. Es indispensable cuantificar las impurezas de glicoles en materia prima utilizada para la manufactura de medicamentos, ya que de esta manera se puede garantizar al consumidor final que el medicamento está libre de componentes que puedan perjudicar su salud.

La cromatografía de gases a diferencia de la cromatografía líquida, tiene la característica que trabaja con muestras volátiles para separar sus componentes y probar su pureza o riqueza en el analito de mayor interés en el análisis. La fase móvil es un gas inerte que acarrea los componentes y eluden en la columna para que un detector los refleje mediante un cromatograma.

La farmacopea de los Estados Unidos es un compendio de procedimientos y formas de preparación de medicamentos y principios activos, metodologías de análisis, advertencias generales, entre otros. En Guatemala es la bibliografía principalmente aceptada y es un requisito de norma a cumplir según el Reglamento Técnico Centro Americano (RTCA) 11.42.03:47 en concordancia con el informe 32 de la Organización Mundial de la Salud (OMS) que establece los principios y directrices de las Buenas Prácticas de Manufactura que regulan todos los procedimientos involucrados en la manufactura de productos farmacéuticos.

El porcentaje máximo aceptado de impurezas de glicoles en materia prima es de 0,1 %, por lo que la metodología planteada debe cumplir con este límite permisivo, de lo contrario, se replanteará la metodología a manera de que la implementación sea fundamentada como referencia interna en lugar de que sea una referencia farmacopéica.

1. MARCO CONCEPTUAL

1.1. Antecedentes

En 1982 se realizó un análisis para determinar etilenglicol en suero medicinal mediante cromatografía de gases, procedimiento el cual es considerado un método rápido determinado por el ester de boronato de fenilo. Para el desarrollo de esta metodología se requiere 100 μL de muestra de suero y acetonitrilo como diluyente, el cual contiene un estándar interno de 1,3-propanodiol, se centrifugó para remover precipitado y se mezcla solución superior con ácido fenilborónico con 2,2-dimetoxipropano; resultado de la solución obtenida se inyectaron muestras entre 0,5 y 1,0 μL al cromatógrafo de gases. De los resultados obtenidos, se trazó una curva de calibración comparando los resultados de estándares de etilenglicol / 1,3-propanodiol con los resultados de las muestras de suero. La metodología mostró tener una correlación lineal entre el área bajo la curva de los picos obtenidos y la concentración de etilenglicol en mg/mL ¹

En abril de 1985, el diario *Association of official analytical chemists* publicó un artículo científico para la determinación de residuos de óxido de etileno, etileno clorhidrina y etilenglicol en catéteres de goma blanda esterilizados previamente con óxido de etileno mediante cromatografía isotérmica de gases con detección de ionización por llama. Las muestras fueron extraídas mediante agitación con disulfuro de carbono y analizadas mediante una columna Chromosorb 101 de malla 80-100 y nitrógeno como gas acarreador. Se realizaron diez inyecciones y se obtuvieron coeficientes de variación de 1,91, 1,23 y 4,74 % para óxido de etileno, etileno clorhidrina y etilenglicol respectivamente.²

En marzo de 1990 se desarrolló una metodología en el Centro de investigaciones de análisis de esterilidad de Minnesota para detectar y cuantificar óxido de etileno, 2-cloroetanol y etilenglicol mediante cromatografía de gases. Las muestras analizadas consistieron en celulosa y material plástico. Se utilizó una columna DB-Wax-30N, 0.25mm con inyecciones en proporción 1:50 con dimetilformamida utilizado como disolvente e inyecciones de proporción 1:100 con agua. Se trabajó a una temperatura de detector de 300 °C y temperatura de 250 °C de entrada de inyección. Los resultados obtenidos demostraron una mejor cuantificación con inyecciones 1:100 de agua para los picos de óxido de etileno y etilenglicol y a medida que el

¹ PORTER, William; AUANSAKUL, Arunee. *Gas-chromatographic determination of ethylene glycol in serum*. p. 1.

² MUZEIN, R.J. *Rapid gas chromatographic determination of ethylene oxide, ethylene chlorohydrin, and ethylene glycol residues in rubber catheters*. <https://www.osti.gov/biblio/5940702-rapid-gas-chromatographic-determination-ethylene-oxide-ethylene-chlorohydrin-ethylene-glycol-residues-rubber-catheters>. Consulta: 25 de mayo de 2021.

volumen de inyección aumenta, se puede cuantificar 2-cloroetanol. En el caso de las inyecciones 1:50 de dimetilformamida, se pueden cuantificar el óxido de etileno y etilenglicol sin interferencia, sin embargo, en el caso de 2-cloroetanol se presenta una interferencia en el pico que dificulta su cuantificación. Para el caso de los tres componentes se demostró linealidad mediante correlación lineal de Pearson.³

En marzo de 2014 en el Centro Nacional De Investigación Científica de Cuba se realizó el experimento *Validación de una metodología analítica para la determinación de dietilenglicol y etilenglicol como impurezas en glicerina y propilenglicol* en donde se desarrolló y validó una metodología para cuantificar etilenglicol y dietilenglicol mediante cromatografía de gases mediante ionización por llama. El gas acarreador utilizado fue el hidrógeno, con una temperatura de horno de 100 °C hasta 200 °C. Se utilizó dimetilsulfóxido a una concentración de 10 µg/mL como estándar interno; flujo de columna de 4,2 mL/min. Se establecieron límites de detección de 0,0350 µg/mL a 0,0572 µg/mL y 0,1160 µg/mL a 0,1897 µg/mL para cuantificación. Los resultados obtenidos demostraron que la metodología desarrollada es lineal, exacta, robusta, sensible y selectiva para determinar ambas impurezas para la glicerina y propilenglicol como materia prima.⁴

En 2015 en la Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia, se desarrolló un análisis cromatográfico llamado “Desarrollo de la técnica de cromatografía de gases (GC-FID) para la determinación de contaminantes emergentes tipo productos farmacéuticos” en donde se determinaron los contaminantes emergentes tipo fármacos como cafeína, carbamazepina, diclofenaco e ibuprofeno en algunos productos farmacéuticos y de higiene personal que liberan este tipo de fármacos que son dañinos para el medio ambiente. El análisis consistió en registrar curvas de calibración para los principios activos mencionados en un rango de concentraciones de 5 – 53,3 ppm. El sistema de cromatografía de gases fue operado con helio como gas transportador a una velocidad lineal constante de 40 cm/s; temperatura de horno de 65 °C durante 2 minutos e intervalos de 15 °C/min a 120 °C/min, 4 °C/min a 160 °C/min, 7 °C/min a 220 °C/min, 5 °C/min a 290 °C/min y 15 °C/ a 320 °C/min. Volumen de inyección por muestra: 1 µL con temperatura de inyector de 260 °C. Se determinaron los tiempos de concentración para cada concentración y con ello se trazó una curva de calibración para cada activo. El resultado final fue una correlación de Pearson lineal con valores por encima de $R^2=0,95$.⁵

³ DANIELSON, J., SNELL, R., OXBORROW, G. *Detection and quantitation of ethylene oxide, 2-chloroethanol, and ethylene glycol with capillary gas chromatography*. p. 1.

⁴ ROSABAL, Úrsula; FONSECA, Antonio; CORDOVÍ, Juan y MORALES, Galina. *Validación de una metodología analítica para la determinación de dietilenglicol y etilenglicol como impurezas en glicerina y propilenglicol*. p. 2.

⁵ DUQUE, Sara; ARANGO, Leidy. *Desarrollo de la técnica de cromatografía de gases (GC-FID) para la determinación de contaminantes emergentes tipo productos farmacéuticos*. p. 11.

1.2. Justificación

La empresa realizó una fuerte inversión para la compra de un cromatógrafo de gases con sus componentes, y, sin embargo, no se le ha dado uso alguno para análisis que impliquen el uso de este equipo; además, se contratan los servicios de una empresa externa para identificar y cuantificar las impurezas de glicoles en materia prima utilizada para la elaboración de medicamentos en la empresa. Por tanto, se ve la necesidad de disminuir costos de servicios externos y también de dar uso al equipo que por el momento no se encuentra operando; para ello, se busca implementar la metodología analítica con referencia a la USP y cumplir con los requisitos establecidos por el Reglamento Técnico Centro Americano en concordancia con el Informe 32 de la Organización Mundial de la Salud de las Buenas Prácticas de Manufactura.

1.3. Determinación del problema

La empresa cuenta con solamente dos metodologías analíticas implementadas en su cromatógrafo de gases, lo que provoca que el equipo no se utilice frecuentemente; por ello se buscó implementar una metodología para dos materias primas con la finalidad de darle más uso al equipo y aprovechar la inversión realizada en el mismo.

1.3.1. Definición

Actualmente la empresa tiene en desuso un equipo valorado en aproximadamente Q1 000 000 por lo que la empresa desea realizar análisis en este equipo y darle el uso adecuado para recuperar costos de inversión y prescindir de servicios externos para realizar dichos análisis.

1.3.2. Delimitación

El proyecto está enfocado para uso exclusivo de la empresa interesada, ubicada en el municipio de Villa Nueva del departamento de Guatemala. El departamento de Garantía de Calidad será el beneficiario directo, incluyendo en este departamento a Investigación y Desarrollo para análisis de materia prima por cambio de proveedor, a Laboratorios Analíticos para análisis de lotes nuevos de materia prima que ingresan a la planta, y Validaciones para validar el método analítico que se desarrollará en este proyecto.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP)

Por sus siglas en inglés (*United States Pharmacopeia*) es la farmacopea oficial de los Estados Unidos, publicada junto con el *National Formulary* (formulario nacional de medicamentos) como la USP-NF. Se trata de una institución privada, sin fines de lucro, fundada en 1820 y reconocida como oficial por la Ley Federal de Alimentos y Medicamentos, en 1906. Posee la marca registrada y los derechos de autor de la USP-NF y la publica todos los años. Establece por escrito normas de referencia para los medicamentos, los ingredientes alimentarios, suplementos dietéticos y sus ingredientes. Estas normas son utilizadas por los organismos reguladores y fabricantes para ayudarles a garantizar que estos productos son de la identidad adecuada, así como la fuerza, calidad, pureza y consistencia. Los medicamentos recetados y de venta libre, y otros productos para el cuidado de la salud vendidos en los Estados Unidos están obligados a seguir las normas de la USP-NF. Muchos países usan la USP-NF en lugar de emitir su propia farmacopea, o también es utilizada como complemento de su propia farmacopea.

USP–NF es una combinación de dos compendios oficiales: la Farmacopea de Estados Unidos (USP) y el Formulario Nacional (NF). Las monografías para sustancias y preparaciones farmacéuticas se publican en la USP. Las monografías para ingredientes y suplementos dietéticos se publican en una sección separada de la USP. Las monografías para excipientes se publican en el NF.

Su fuente de financiamiento proviene esencialmente de la elaboración y venta de estándares de referencia, que son matrices o patrones de comparación indicados en la farmacopea vigente y que son utilizados por los laboratorios para validar sus técnicas analíticas. La USP constituye un referente mundial de calidad de materias primas del ámbito farmacéutico y de los alimentos. De hecho, es utilizada y reconocida como oficial en 131 países, incluyendo Guatemala.

La misión de la USP es promover la salud pública y beneficiar a los profesionales de la salud y a los pacientes difundiendo normas oficiales e información desarrollada por sus voluntarios sobre medicamentos, otras tecnologías para el cuidado de la salud y prácticas relacionadas que se emplean para preservar, mejorar la salud y promover una asistencia médica óptima.

Una monografía incluye el nombre del ingrediente o preparación, la definición, los requisitos de envasado, almacenamiento y etiquetado, y la especificación, la cual consiste en una serie de pruebas, procedimientos y criterios de aceptación. Estas pruebas y procedimientos requieren el uso de los Estándares de Referencia de USP oficiales. Los productos e ingredientes medicinales tendrán el contenido, calidad y pureza estipulados cuando cumplan con los requisitos de la monografía y los capítulos generales correspondientes.

2.2. Glicoles

Los glicoles son un tipo de compuesto químico que contiene dos grupos hidroxilos (grupos $-OH$) que resultan de la reacción del agua con el óxido de etileno. En general, todos los glicoles se presentan en forma de líquido claro, transparente, inodoro y de baja volatilidad. Además, los glicoles de poco peso molecular son totalmente miscibles en agua y la mayoría cuentan con una gran

capacidad para disolverse en casi todos los compuestos orgánicos. Entre los principales glicoles se encuentran:

- Etilenglicol

Líquido transparente, incoloro, prácticamente inodoro, poco volátil e higroscópico. Regularmente, se utiliza para la producción de fibra PET, para la obtención de fibra poliéster, se utiliza como plastificante del celofán, materia prima para explosivos, fluidos hidráulicos, agente coalescente en pinturas, entre otros.

- Dietilenglicol

Su alto grado de higroscopia y las diferencias marcadas a comparación del etilenglicol, hacen que éste sea preferido para una gran cantidad de aplicaciones. Se utiliza principalmente en la producción de resina poliéster, en la producción de frenos y como plastificante de celofán, papel y corcho. Además, se utiliza como humectante de tabaco aportando de esta manera una mayor suavidad y permitiendo que la combustión sea más lenta. También es utilizado como abrillantador en tintas de impresión, así como vehículo en pigmentos y colorantes, agente coalescente en pinturas, secado de gas natural, solvente agroquímico, entre otros.

- Trietilenglicol

Sus propiedades son muy similares a las del dietilenglicol, siendo así que en muchos casos se pueden utilizar indistintamente. Su uso principal radica como lubricante en el hilado de la fibra poliéster y debido a que es un agente higroscópico muy efectivo permite ser utilizado en el secado de gas natural. Es

un excelente solvente de la nitrocelulosa y resinas; aumenta la flexibilidad de varios plásticos y es humectante en el tabaco.

- Propilenglicol

Sus propiedades son muy similares a las del dietilenglicol, siendo así que en muchos casos se pueden utilizar indistintamente. Su uso principal radica como lubricante en el hilado de la fibra poliéster y debido a que es un agente higroscópico muy efectivo permite ser utilizado en el secado de gas natural. Es un excelente solvente de la nitrocelulosa y resinas; aumenta la flexibilidad de varios plásticos y es humectante en el tabaco. En grado USP se utiliza principalmente para la preparación de cosméticos, así como fragancias y saborizantes, así como solvente, humectante y agente preservador en la industria alimenticia.

2.3. Cromatografía de gases

La cromatografía de gases es probablemente la técnica de más amplia utilización en el ámbito de técnicas cromatográficas, esto se debe a su capacidad de separación o su sensibilidad para analizar compuestos volátiles. Por lo general, la utilización de la cromatografía de gases está restringida a la separación de compuestos a una temperatura máxima de trabajo de aproximadamente 400 °C.

En la cromatografía de gases la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil que es un gas inerte, y a diferencia de la mayoría de los tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analítico; su única función es la de transportar el analítico a través de la columna.

Para realizar una separación mediante cromatografía de gases, se inyecta una pequeña cantidad de la muestra a separar en una corriente de un gas inerte a elevada temperatura; esta corriente de gas, atraviesa una columna cromatográfica que separará los componentes de la mezcla por medio de un mecanismo de partición (cromatografía gas líquido), de adsorción (cromatografía gas sólido) o, en muchos casos, por medio de una mezcla de ambos. Los componentes separados, emergerán de la columna a intervalos discretos y pasarán a través de algún sistema de detección adecuado, o bien serán dirigidos hacia un dispositivo de recogida de muestras.

En comparación con la cromatografía líquida, la cromatografía de gases tiene la ventaja de disponer de detectores mucho más universales (por ejemplo, el de ionización de llama). Además, para numerosas aplicaciones, los métodos son más simples, más rápidos y más sensibles que los correspondientes a la cromatografía líquida de alta resolución. La instrumentación requerida para cromatografía de gases también es mucho más sencilla y económica que la empleada en HPLC (cromatografía líquida de alta eficacia por sus siglas en inglés).

2.3.1. Aplicaciones de la cromatografía de gases

- Medioambientales: análisis de pesticidas y herbicidas, análisis de hidrocarburos, semivolátiles y volátiles, análisis del aire, entre otros.
- Alimentos y aromas: fragancias y aromas, aceites, bebidas, ácidos orgánicos, azúcares, FAMES, ésteres metílicos, triglicéridos, alcoholes, entre otros.

- Química Industrial: alcoholes, ácidos orgánicos, aminas, aldehídos y cetonas, ésteres y glicoles, hidrocarburos, disolventes, anilinas, gases inorgánicos, entre otros
- Biociencia: drogas, fármacos, alcoholes y contaminantes en sangre, disolventes residuales, entre otros.
- Derivadas del petróleo: gas natural, gases permanentes, gas de refinería, gasolinas, gasóleos y parafinas.

2.3.2. Aplicaciones en comida, saborizantes y fragancias

En la mayoría de las investigaciones hechas sobre saborizantes se realizan por cromatografía de gases, y las correlaciones sensoriales que se requieren para que haya significancia en la determinación de sabores deben ser medidas por patrones de cromatografía de gases. El análisis puede ser complicado debido a que los compuestos de interés volatilizan usualmente en muy bajas concentraciones, y son frecuentemente dispersados dentro de una matriz que contiene materiales los cuales podrían, si se quedan dentro de la columna, acortar la vida de la muestra en un grado considerable. La cromatografía puede ser extremadamente compleja y frecuentemente influenciada por los métodos de preparación de la muestra.

2.3.3. Aplicaciones relacionadas a químicos y petróleo

Los análisis de productos del petróleo incluyen la separación de mezclas de gases ligeros hasta la caracterización de aceites crudos y materiales producidos en la licuación del carbón. La diferenciación de hidrocarburos parafínicos, olefínicos y aromáticos son metas normales, y algunas veces se requiere la

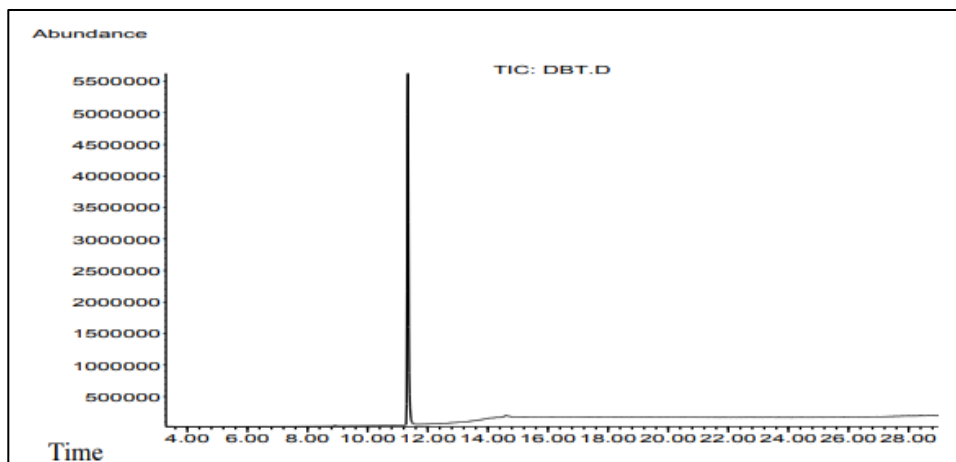
detección de componentes nitrogenados y sulfurados. Las preparaciones de hidrocarburos derivados de aceites o carbón licuado pueden ser extremadamente complejas y también pueden incluir una variedad de otros grupos funcionales. La cromatografía multidimensional puede ser requerida para el análisis de estas mezclas complejas, la cual da una gran estimación de ciertos aditivos de octanos.

La cromatografía multidimensional se utiliza para la separación de algunos componentes menores como los aditivos antiknock en gasolinas. Se describe un sistema para cuantificar aditivos oxigenados con las bases de características de retención cuando las inyecciones de gasolina eran simultáneamente agregadas a dos columnas diferentes.

2.3.4. Aplicaciones prácticas

Dentro de la investigación que se realiza en el Instituto de Biotecnología, en el departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, se realiza investigación sobre la degradación enzimática de compuestos azufrados, como el dibenzotiofeno, presentes en petróleo crudo y sus derivados. El azufre al ser oxidado durante el proceso de combustión, se convierte en un contaminante atmosférico al formar ácido sulfhídrico, el cual forma parte de la lluvia ácida. La detección de los productos de degradación se realiza por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. La cromatografía de gases nos permite cuantificar la concentración de compuestos azufrados; y la espectrometría, el análisis de los productos.

Figura 1. **Ejemplificación de un cromatograma de Cromatografía de gases**



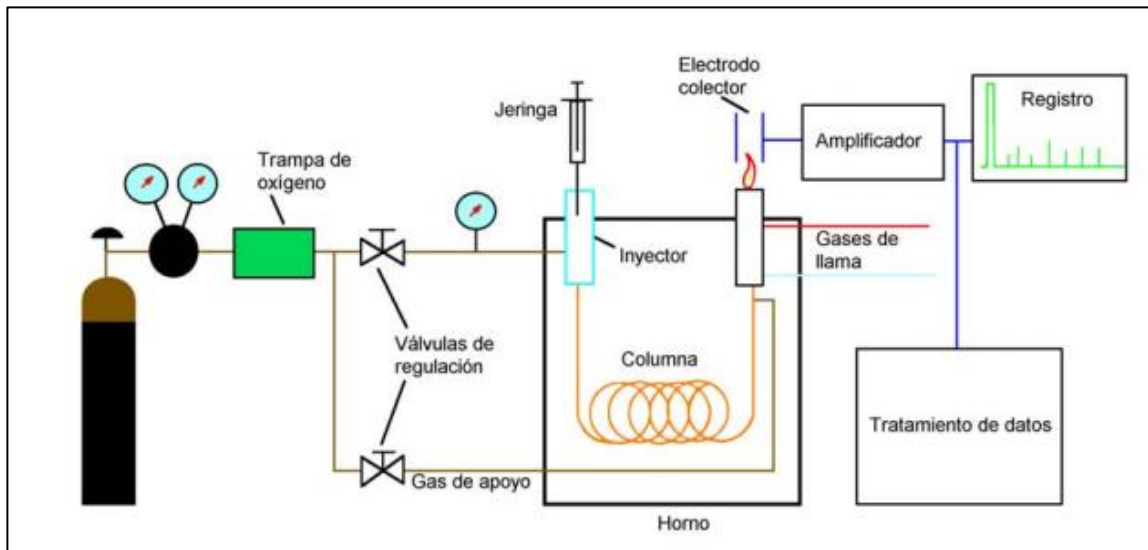
Fuente: OLGUÍN, Patricia; RODRÍGUEZ, Héctor. *Cromatografía de gases*. p. 2.

2.3.5. Componentes fundamentales de un cromatógrafo de gases

- Fase móvil
- Puerto de inyección
- Horno de la columna
- Columnas
- Fase estacionaria
- Detector
- Sistema de registro de datos
- Gases de arrastre y demás gases suministrados al sistema
- Válvulas de regulación

A continuación, se presenta un diagrama de un cromatógrafo de gases con sus principales componentes:

Figura 2. **Esquema de un cromatógrafo de gases**



Fuente: OLGUÍN, Patricia; RODRÍGUEZ, Héctor. *Cromatografía de gases*. p. 3.

2.3.5.1. Fase móvil

Gaseosa, líquida o fluido supercrítico (potencia disolvente de los fluidos a temperaturas y presiones superiores al punto crítico). Estas fases son generalmente gases inertes como Helio, Argón o Nitrógeno. El gas portador lleva las moléculas del analito a través de la columna, este movimiento es inhibido por la adsorción que presenta el analito tanto en las paredes de la columna cuanto en los materiales empaquetados en la misma. La fase móvil fluye a través de una fase estacionaria, arrastrando con ella a los compuestos de la mezcla.

2.3.5.2. Puerto de inyección

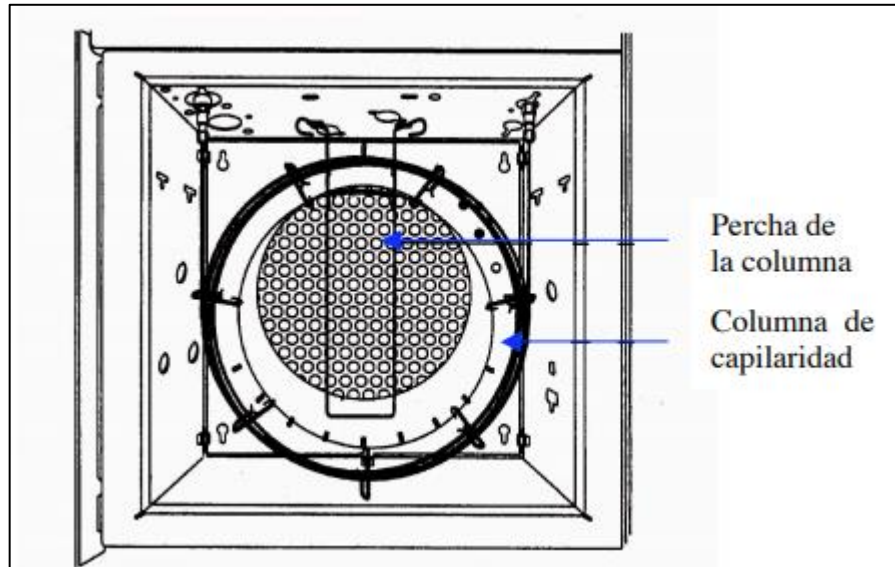
Es un dispositivo que permite la introducción de la muestra en la corriente del gas portador. El más común es el inyector de líquidos, que puede utilizarse para sólidos (en disolución) y gases (mediante jeringas especiales). El inyector se trata de una cámara situada a la entrada de la columna y calentada independientemente de ésta (a temperatura superior del punto de ebullición del componente más volátil de la muestra, generalmente), que suele tener una membrana de caucho a través de la cual se introduce la muestra con la ayuda de una micro jeringa hipodérmica.

La técnica de inyección de muestra recomendada para líquidos en cromatografía de gases es el método de flujo del solvente. El solvente puro es introducido a la jeringa seguida de una bolsa de aire, después se coloca la solución muestra, y finalmente otra bolsa de aire. Se lee el volumen de la muestra y posteriormente se inyecta al cromatógrafo.

2.3.5.3. Horno de la columna

En el interior se sitúa la columna, donde se debe tener una buena regulación de la temperatura. Dentro del horno la columna se conecta en un extremo al puerto de inyección, y en el otro al detector. La columna debe estar en el centro del horno sin tener contacto con las paredes.

Figura 3. **Horno con columna capilar**



Fuente: OLGUÍN, Patricia; RODRÍGUEZ, Héctor. *Cromatografía de gases*. p. 3.

2.3.5.4. Fase estacionaria

La fase estacionaria es la encargada de separar los componentes de la muestra. Esta puede ser un sólido o un líquido, dispuestos sobre un sólido que actúa como soporte (columna). El sólido de la fase estacionaria puede ser de aluminio, sílica gel, carbón o tierra de diatomeas; y el líquido de la fase estacionaria debe tener una baja viscosidad y una alta diferencial solubilidad. Cuando la fase estacionaria es un sólido, la interacción que puede tener con la fase móvil se puede clasificar en: Adsorción, intercambio iónico y de filtración sobre geles porosos. Cuando es un líquido, la interacción con la fase móvil recibe el nombre de reparto, esta última es la forma más usual de hacer cromatografía de gases. En la fase estacionaria están retenidos los componentes de la muestra, y a través de la cual fluye la fase móvil arrastrando a los mismos.

Para la elección de la fase estacionaria se deben de tener en cuenta las siguientes consideraciones:

- Los límites de temperatura del líquido elegido, considerando su viscosidad y volatilidad.
- La posibilidad de reacciones irreversibles con la columna.
- La fuerza de interacción soluto-solvente que han de influir en los coeficientes de actividad de los componentes de la mezcla.
- La elección de la fase estacionaria dependerá no solo de la presencia de polaridad dentro de los solutos, sino más bien de una visión de conjunto de la mezcla compleja que se desee separar.

Las propiedades deseables de una fase estacionaria son con frecuencia contradictoria, por lo que no existe la fase estacionaria ideal. Las propiedades que debería cumplir una fase estacionaria son:

- Debería tener un rango de temperaturas de utilización lo más amplio posible (idealmente entre -60 y 400 °C)
- Debe tener una presión de vapor lo más baja posible.
- Debe ser térmicamente estable.
- Debe ser químicamente inerte.
- Debe tener baja viscosidad en las condiciones de trabajo.
- Debe mojar bien el soporte, presentando además una adherencia suficiente como para que no sea arrastrada por la fase móvil.

2.3.5.5. Soporte

La función básica del soporte sólido es sostener la fase estacionaria. El soporte debe de tener elevada superficie por unidad de volumen, estabilidad térmica, dureza mecánica, inactividad química y baja resistencia al paso de un gas.

2.3.5.6. Columna cromatográfica

Las columnas están hechas de cobre, acero inoxidable o tubos de vidrio, dobladas o enrolladas. Excepto para las de vidrio, las columnas son empacadas mientras se están doblando. Las columnas analíticas tienen una longitud de 1-6 m. de longitud y de 2-4 mm. de diámetro. Según se encuentre en ella distribuida la fase estacionaria y el valor que alcance la relación de fases se originan los diferentes tipos de columnas. La separación de la mezcla se realiza dentro de la columna, por lo tanto, es la parte más importante del cromatógrafo.

El criterio para la diferenciación de columnas es con base en dos propiedades de éstas:

- Relación de fases: volumen de fase móvil/volumen de fase estacionaria; V_m/V_s .
- Permeabilidad: representada por una constante dependiente de las características geométricas de la columna; k .

Con base en estas características se encuentran los siguientes tipos de columnas, en las que V_m/V_s y k aumentan en orden progresivo:

- Clásicas de relleno
- Capilares rellenos
- Capilares de capa porosa
- Capilares abiertos

La elección de las columnas es lo más crítico, existen dos diferencias fundamentales que deben ser consideradas para la elección de la columna: la cantidad de muestra que admiten (capacidad de carga) y los valores de los flujos del gas portador. La capacidad de carga se define como la cantidad de muestra que se puede inyectar sin pérdida apreciable de eficacia y está relacionado con la cantidad de fase estacionaria por unidad de longitud de la columna.

- Columnas clásicas de relleno (empaquetadas)

Constituidas por un tubo de metal o vidrio con relleno de soporte granular con la superficie recubierta por una película de la fase estacionaria.

- Longitud 1-10 m
- Diámetro interno 2-4 mm hasta 5 cm en escala preparativa
- Tamaño de la partícula de relleno diez veces menor que el diámetro del tubo
- Capacidad de carga grande
- Relación de fases pequeña
- Permeabilidad baja

A mayor tamaño de partícula del relleno mayor será su permeabilidad, cuanto más rugosa sea su superficie mayor capacidad de carga se obtendrá. Por esta razón es el único tipo de columna que se usa a escala preparativa.

- Columnas capilares rellenas

Se distinguen de las columnas clásicas de relleno por el diámetro interno del tubo, no excede un milímetro. Además, la relación entre los diámetros del tubo y de la partícula de relleno es del orden de tres a cinco veces. Esto hace que sea un relleno más irregular y una permeabilidad del orden de diez veces superior.

- Longitud de 10-50 m.
- Diámetro interno de 1 mm.
- Tamaño de la partícula de relleno de 3 a 5 veces
- Capacidad de carga pequeña
- Relación de fases grande
- Permeabilidad mayor que las clásicas

Al ser mayor la permeabilidad, pueden construirse columnas más largas (10-50 m). Este tipo de columnas no está comercializado, debido a lo difícil de introducir un soporte en un tubo capilar metálico de esa longitud. Por el contrario, es más sencillo cuando se trata de tubos de vidrio.

- Columnas capilares de capa porosa

En este caso el soporte es depositado en la pared interior del tubo, después es recubierto por la fase estacionaria y la parte central del capilar permanece vacía.

- Longitud de 25-200 m
- Diámetro interno de 0,1-0,5 mm

- Tamaño de la partícula de relleno varía entre el de un soporte clásico y las partículas de carbono producidas por la pirolisis de una sustancia orgánica.
- Permeabilidad valores máximos (al igual que las capilares abiertas)

El procedimiento dependerá de la naturaleza de la columna y del soporte.

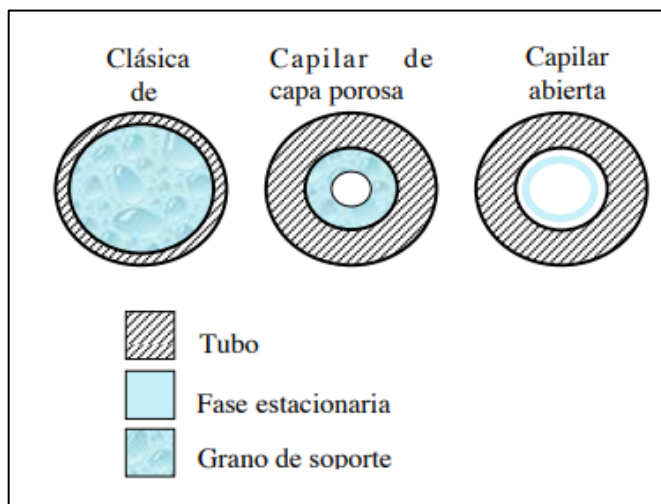
- Columna metálica: se prepara una suspensión del soporte, se llena la columna con la suspensión, se cierra un extremo y se evapora el agente dispersante quedando así adheridos a la pared del capilar.
 - Columna de vidrio: similar al de columnas capilares rellenas. La diferencia consiste en introducir una varilla de acero inoxidable un el tubo de vidrio y situar el soporte entre ambos. Después se procede al estirado manteniendo fija la varilla.
- Columnas capilares abiertas

También conocidas como columnas Golay, quien fue el primero en utilizarla. La fase estacionaria va depositada en la pared interior del tubo que actúa como soporte.

- Longitud hasta 200 m, los más utilizados varían entre 50-100 m
- Diámetro interno 0,1-0,5 mm
- Capacidad de carga muy pequeña
- Relación de fases es la más alta

Debido a la pequeña cantidad de fase estacionaria por unidad de longitud de la columna tiene una capacidad de carga muy pequeña. Necesita detectores más sensibles.

Figura 4. Tipos de columnas para cromatografía



Fuente: OLGUÍN, Patricia; RODRÍGUEZ, Héctor. *Cromatografía de gases*. p. 4.

2.3.5.7. Detectores

Los detectores son dispositivos que indican y miden los solutos en la corriente del gas acarreador, convirtiendo una señal no medible directamente en una señal elaborable de una propiedad física. Esta señal es elaborada por una comparación entre el gas acarreador puro (blanco) y el mismo gas llevando cada uno de los componentes previamente separados en la columna, esto es traducido en una señal eléctrica que es amplificada y registrada al momento de salir de la columna.

Un buen detector es altamente sensible (sensibilidad), tiene una respuesta lineal (linealidad) sobre un amplio rango de concentración y es relativamente insensible a variaciones de flujo y temperatura (rango dinámico lineal).

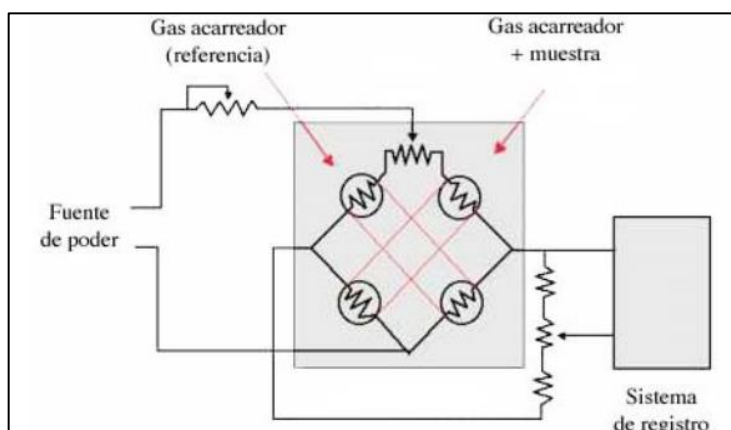
Pueden ser clasificados por:

- Grado de selectividad: universales que responden a la mayoría de los solutos; específicos-selectivos con respuesta a un grupo particular de sustancias.
- Recuperación de la muestra: en referencia a si la muestra es destruida o no.
- Modo de respuesta: dependientes de flujo de masa (cantidad de soluto independientemente de la cantidad de gas portador); dependientes de concentración (cantidad de soluto por unidad de volumen de gas portador).
- Proceso de detección: ionización; óptico-espectroscópico; electroquímico.
- Los detectores más ampliamente utilizados son el detector de conductividad térmica (TCD) y el detector de ionización de flama (FID).
- Detector de conductividad térmica (TCD).

Consiste de dos celdas metálicas idénticas, cada una conteniendo un filamento de alambre de tungsteno o de tungsteno con lámina de oro. El efluente fluye a través de una celda y el gas portador (He o H₂) fluye a través de la otra. En un lado de la muestra el gas fluye por el filamento mientras que en el lado de referencia el gas puede pasar sobre el alambre del filamento y difundir a través

de él. Los filamentos son calentados por una corriente eléctrica. La temperatura del elemento sensor depende de la conductividad térmica del gas que fluye alrededor. Cambios en conductividad térmica, como cuando las moléculas orgánicas desplazan un poco al gas portador, provocan un incremento en la temperatura del elemento el cual está siendo monitoreado como un cambio en la resistencia. Su modo de detección es debido al cambio de resistencia del cable basado en la termo conductividad del gas cuando fluye a través de la columna.

Figura 5. **Detector de conductividad térmica**

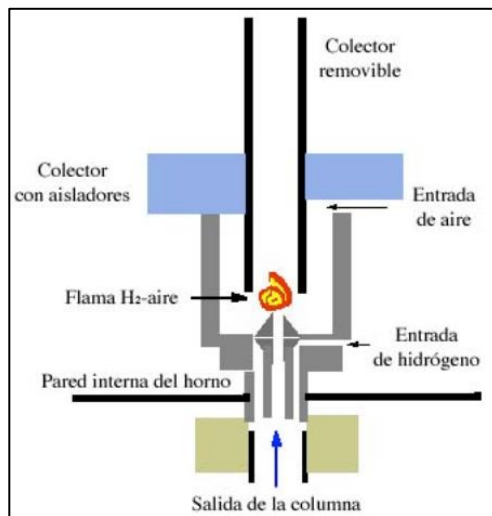


Fuente: OLGUÍN, Patricia; RODRÍGUEZ, Héctor. *Cromatografía de gases*. p. 4.

- **Detector de ionización de flama (FID)**

El FID consiste de una flama hidrógeno/aire y una placa colectora. Las muestras que salen de la columna pasan a través de la flama, la cual rompe las moléculas orgánicas y produce iones. Los iones son colectados en un electrodo parcial y produce una señal eléctrica. Es extremadamente sensible en un amplio rango dinámico.

Figura 6. **Detector de ionización de flama**



Fuente: OLGUÍN, Patricia; RODRÍGUEZ, Héctor. *Cromatografía de gases*. p. 5.

2.3.5.8. **Gas portador**

El gas portador cumple básicamente dos propósitos: Transportar los componentes de la muestra, y crear una matriz adecuada para el detector. Un gas portador debe reunir ciertas condiciones:

- Debe ser inerte para evitar interacciones (tanto con la muestra como con la fase estacionaria).
- Debe ser capaz de minimizar la difusión gaseosa.
- Fácilmente disponible y puro.
- Económico.
- Adecuado al detector a utilizar.

Un gas portador se utiliza para transportar la muestra por la columna del cromatógrafo de gases. Las impurezas críticas en el gas portador, como el agua

o el oxígeno, pueden interactuar con la fase estacionaria y provocar problemas significativos, como un elevado ruido de línea base y purga de la columna en el cromatograma de gases de salida, lo que reduciría la sensibilidad del analizador y reduciría la vida útil de la columna.

En función de la técnica, a veces son necesarios otros gases, como un gas auxiliar, que se utiliza a la salida de la columna para aumentar el caudal que entra en el detector. También se utilizan mezclas de calibración para la calibración de muchos analizadores.

A continuación, se enumeran los gases más comunes utilizados en cromatografía.

- Gas argón: contiene niveles muy bajos de oxígeno, hidrocarburos y agua, lo que lo convierte en un gas portador idóneo para la cromatografía de gases, ya que minimiza la purga de la columna y el ruido de línea base. De este modo se consiguen unos análisis más precisos.
- Gas helio: contiene niveles muy bajos de oxígeno, hidrocarburos y agua, lo que lo convierte en un gas portador y de relleno idóneo para un gran número de aplicaciones de laboratorio, ya que minimiza la purga de la columna y el ruido de línea base. De este modo se consiguen unos análisis más precisos.
- Gas hidrógeno: contiene niveles muy bajos de oxígeno, agua e hidrocarburos, lo que lo convierte en un gas portador, de relleno y detector idóneo para la cromatografía de gases, ya que minimiza la purga de la columna y el ruido de línea base. De este modo se consiguen unos análisis más precisos.

- Gas nitrógeno: contiene niveles muy bajos de oxígeno, hidrocarburos y agua, lo que lo convierte en un gas portador y de relleno idóneo para aplicaciones de cromatografía de gases.
- Zero Air: con sus niveles ultrabajos de impurezas de hidrocarburos, es un detector de gas perfecto para su uso en muchas técnicas de GC para reducir el ruido de línea base y garantizar la sensibilidad del detector.

2.4. Cromatografía de gases y espectrometría de masas

Durante los últimos veinte años la espectrometría de masas (EM) y la cromatografía de gases (GC) han demostrado repetidamente, en gran número de laboratorios en todo el mundo, su versatilidad como métodos analíticos para la determinación estructural y separación de compuestos orgánicos. Ambas técnicas han alcanzado últimamente un alto grado de desarrollo en sus diversas facetas prácticas, habiéndose convertido respectivamente e independientemente en dos métodos analíticos en los que se conjuntan una gran rapidez, sensibilidad y poder resolutivo.

Conectando la salida de un cromatógrafo de gases a la cámara de ionización de un espectrómetro de masas se puede obtener información estructural (espectro de masas) para cada uno de los componentes de la mezcla original, previamente inyectada en el cromatógrafo, a medida que estos son eludidos en serie de la columna cromatográfica. De esta forma las limitaciones inherentes de la cromatografía de gases quedan considerablemente reducidas en el análisis cualitativo. Dichas limitaciones surgen del hecho de que mientras la cromatografía de gases pueda separar los componentes individuales de una mezcla con un alto grado de poder resolutivo, no puede dar, en sentido riguroso más que información preliminar sobre su estructura. Hay que señalar como

esencial que cualquier columna cromatográfica no es un instrumento analítico, sino tan solo un medio de separación física.

2.5. Método analítico en un laboratorio

El método analítico es un modelo de estudio científico basado en la experimentación directa y la lógica empírica. Es el más frecuentemente empleado en las ciencias, tanto en las ciencias naturales como en las ciencias sociales. Este método analiza el fenómeno que estudia, es decir, lo descompone en sus elementos básicos. Los métodos analíticos que se apliquen para producir datos de composición química de alimentos deben ser apropiados, utilizar técnicas analíticas exactas y ser realizados por analistas entrenados.

El proceso analítico se puede considerar dividido en 3 etapas:

- Operaciones previas (muestreo, acondicionamiento, disolución, separaciones, reacciones analíticas y otras).
- Medición y traducción de la señal analítica mediante el uso de instrumentos.
- Toma y tratamiento de datos.

La calidad de los resultados depende de la calidad de las diferentes etapas del proceso analítico. En la elección de un método se debe focalizar la atención en los principios analíticos involucrados, más bien que en el grado de sofisticación del instrumento. Muchas veces un método con uso de instrumentos modernos puede producir valores menos confiables que el método tradicional que pretende reemplazar y es preferible desarrollar programas que aseguren la calidad de los datos obtenidos.

2.5.1. Criterios para la elección de un método

Entre los atributos a considerar en la calidad de un método se deben mencionar aquellas características que son básicas: confiabilidad, aplicabilidad, selectividad, exactitud, precisión, detectabilidad y sensibilidad.

- **Confiabilidad**

Es un término general cualitativo que expresa el grado de cumplimiento satisfactorio de un método analítico en términos de sus variados atributos técnicos (aplicabilidad, exactitud, precisión, sensibilidad y detectabilidad), siendo, por lo tanto, un concepto compuesto. El objetivo del análisis es determinar cuál de estos atributos es importante y cuál puede estar comprometido.

- **Selectividad**

Es la habilidad de un método para responder exclusivamente a la sustancia que se desea analizar.

- **Exactitud**

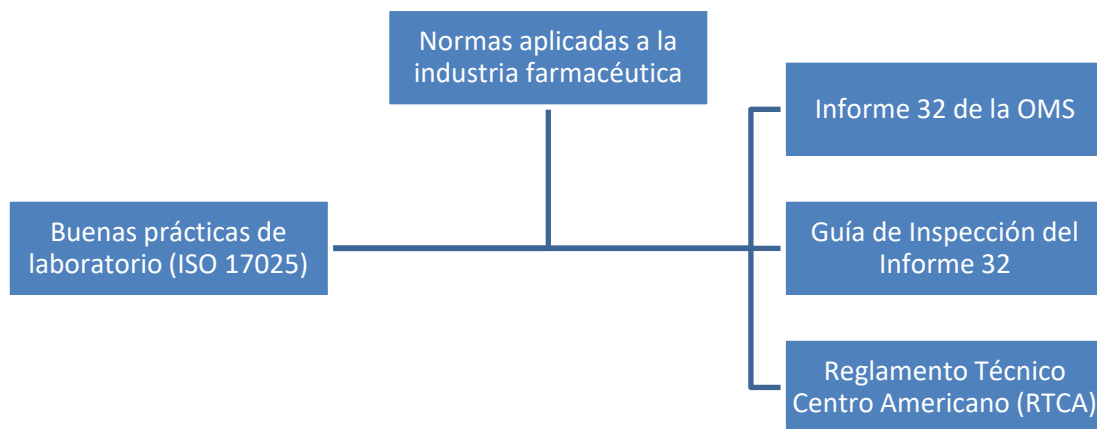
Es la cercanía del valor analítico al "valor verdadero" de concentración del compuesto de interés en el material bajo examen.

2.6. Jerarquía de Normas aplicadas a la industria farmacéutica

En la industria farmacéutica se aplican diversas normas para su funcionamiento. Algunas son de carácter obligatorio y otras opcionales. A

continuación, se muestra la jerarquía de las normas de comúnmente aplicadas a industria farmacéutica.

Figura 7. **Orden jerárquico de normas en industria farmacéutica**



Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

2.7. Informe 32 de la OMS

Es la normativa regida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para promover las buenas prácticas de manufactura respecto a productos destinados a la salud del consumidor, garantizando su calidad, especificaciones aplicables a sustancias y formas farmacéuticas.

Este informe abarca las prácticas adecuadas para la fabricación de productos farmacéuticos (PAF), pautas para la inspección de fabricantes de productos farmacéuticos, certificación de calidad de la OMS, influencia de la farmacopea internacional, estabildades de formas farmacéuticas e incluso la capacitación que debe recibir el personal involucrado en la producción de estos productos.

Toda industria farmacéutica regida bajo el informe 32, debe cumplir con todos los lineamientos que se postulan en este reglamento, para asegurar el cumplimiento del mismo, la empresa realiza auto inspecciones (o auditorías internas) para determinar los posibles hallazgos, es decir, las carencias de la empresa con base en el reglamento. Así, el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social realiza auditorías anuales para revalidar el certificado de Informe 32 en el laboratorio.

2.8. Reglamento Técnico Centro Americano (RTCA)

Este Reglamento está basado en el Informe 32 elaborado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre las especificaciones para preparaciones farmacéuticas en la industria farmacéutica. En Guatemala, este reglamento está regido por el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS) y editado por el Ministerio de Economía (MINECO).

Este reglamento, como su nombre lo indica, está enfocado a la región Centro Americana sobre las buenas prácticas de manufactura para regular los procedimientos involucrados en la elaboración de productos farmacéuticos con el objetivo de asegurar la eficacia y calidad de los mismos para un seguro consumo del cliente.

2.8.1. Validaciones

Se deben efectuar de acuerdo a un plan maestro y su programa, quedando registrados los resultados obtenidos y las conclusiones.

La empresa debe constar con protocolos de validación que contengan el procedimiento para realizar una validación y el formato de un informe final que muestre resultados y conclusiones.

Según el Reglamento Técnico Centro Americano, los métodos analíticos pertenecen a la lista de validaciones que debe tener una empresa

2.8.2. Equipo

Se debe contar con manuales técnicos que indiquen la correcta operación de los equipos y materiales con los que se debe trabajar, además de ello, se debe capacitar al personal para asegurar que se utilice de manera correcta el equipo, así como su cuidado, limpieza, mantenimiento, calibración.

2.8.3. Materiales y productos

Se toma en cuenta todos los procedimientos de almacenamiento, usos, identificación, su permanencia en cuarentena, muestreo, contenedores adecuados, trasvasado, autorización de uso, dispensado, pesaje, manipulación, rechazo y registros necesarios.

2.8.4. Documentación

Se especifica el diseño de los formatos, características e información necesaria que debe llevar, formas de correcciones de errores, trazabilidad, ubicación en espacios designados para los mismos, actualizaciones, entre otros.

2.8.5. Departamentos (Producción, Garantía de calidad, Control de calidad)

Se describen las generalidades, sus operaciones y obligaciones, usos de áreas, prevención de contaminación cruzada y prevención de contaminación microbiológica, controles de proceso, materia prima, etiquetado, aprobación de graneles, uso de equipo, documentación.

2.9. Buenas Prácticas de Laboratorio (Norma ISO 17025)

En Guatemala, esta norma está regida por la Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR) y el Ministerio de Economía (MINECO) y busca promover la confianza en la operación de los laboratorios de ensayo y calibración. Para implementar esta norma dentro de un laboratorio, se debe abordar los riesgos y las oportunidades de manera que se pueda lograr mejores resultados en las actividades de la empresa y prevenir efectos negativos.

Proporciona los requisitos necesarios que deben cumplir los laboratorios de ensayo y calibración para garantizar la competencia técnica y la fiabilidad de los resultados analíticos. Se busca incidir en la mejora de la calidad del trabajo realizado en los laboratorios.

Esta norma también cumple con los requerimientos técnicos de la norma ISO 9000 (gestión de la calidad); esta norma no es de carácter obligatoria que sea implementada en todo laboratorio, pero si bien es cierto que no es obligatoria, los laboratorios que implementan esta norma poseen cierta ventaja competitiva sobre sus rivales que no la implementan

La ISO 17025 establece diversos puntos sobre lo que conlleva su implementación, como, por ejemplo: la imparcialidad, confidencialidad, requisitos relativos a la estructura, requisitos sobre los recursos, equipos, validaciones, muestreos, entre otros puntos, cada uno detallado en sus generalidades, definiciones e incluso ejemplos.

Entre las ventajas que se pueden mencionar por la implementación de esta norma en un laboratorio son las siguientes:

- Mejora de la reputación tanto a nivel nacional como internacional, e imagen del laboratorio.
- Ayuda a la mejora continua y a la efectividad del laboratorio.
- Mejor posicionamiento del laboratorio, para tener acceso a un mayor número de contratos para ensayos y calibraciones.

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Variables

Las variables utilizadas son de tipo cuantitativo para determinar la concentración de glicoles encontrados en la materia prima.

Tabla I. Definición operacional de las variables cuantificables

No.	Variable	Unidad	Factor potencial de diseño		Tipo de Variable	
			Constante	No constante	Independiente	Dependiente
1	Concentración de analito	mg/mL		X	X	
2	Presión	Psi	X			X
3	Temperatura de detector	°C	X			X
4	Tiempo de retención	Min		X		X
5	Temperatura de columna	°C	X			X

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

3.2. Delimitación del campo de estudio

El campo de estudio está comprendido para toda industria farmacéutica que cuente con un cromatógrafo de gases que desee determinar las trazas de etilenglicol y dietilenglicol en materia prima.

3.2.1. Área de conocimiento

Fundamento de conocimiento: Química orgánica, Análisis cuantitativo, Fisicoquímica y Análisis cualitativo.

3.2.2. Proceso

- Se inició obteniendo la columna, detector y materia prima con la cual se realizó la fase experimental.
- Con base en la Farmacopea Estadounidense, y la monografía para la materia prima se sorbitol en solución acuosa se planteó una metodología de prueba para realizar el análisis.
- Se recibió capacitación para uso del equipo.
- Se preparó muestras de materia prima a analizar.
- Se preparó y programó el equipo para lectura de muestras según metodología de prueba planteada.
- Se realizó lectura de muestras en cromatógrafo de gases.
- Se reprocesó e imprimió cromatogramas.
- Se tabuló y se emplearon las ecuaciones matemáticas para cuantificar resultados finales.
- Con base en las áreas obtenidas de los estándares se determinó el porcentaje de glicoles presentes en muestras analizadas de materia prima

- Se realizaron cálculos estadísticos para determinar desviación entre resultados.
- Se redactó reporte con resultados finales y cálculos estadísticos.
- Se aprobó metodología según resultados obtenidos para la experimentación realizada.
- Se presentó la metodología propuesta en formato oficial al departamento de Validaciones.

3.2.3. Etapas del proceso

- Obtención de muestras de materia prima y elementos del cromatógrafo de gases a utilizar.
- Preparación previa de muestras, equipo y software a utilizar.
- Fase experimental en cromatógrafo de gases.
- Reprocesamiento de cromatogramas obtenidos.
- Tabulación de resultados finales y análisis estadístico.
- Redacción de reporte.
- Aprobación
- Presentación de metodología que cumple con resultados deseados.

3.2.4. Ubicación

El proceso de toma de datos y procesamiento de estos se realizó en el Laboratorio de Garantía de Calidad de la empresa farmacéutica interesada, ubicada en el municipio de Villa Nueva, Guatemala.

3.2.5. Clima

Villa Nueva tiene un clima templado que oscila entre los 20 °C a los 28 °C.

3.2.6. Viabilidad

La empresa cuenta con equipo y software necesario para el desarrollo del análisis propuesto; así como materia prima utilizada para fabricación de fármacos que comercializan.

3.3. Recurso humano disponible:

La fase experimental, recolección de datos e interpretación de resultados estuvo a cargo del estudiante Fredy Alejandro Morales López bajo la asesoría del Ingeniero Químico Hugo Rubio con el apoyo y coordinación del proyecto del Químico Farmacéutico Jenner Juárez.

3.4. Recurso material disponible

A continuación, se detalla todo el recurso material requerido para la elaboración de la fase experimental y elaboración de informe, comprendido desde equipo de laboratorio instrumental a cristalería.

3.4.1. Equipo

- Cromatógrafo de gases
- Computadora con impresora
- Agitador magnético
- Balanza analítica
- Bomba de vacío
- Baño de ultrasonido

3.4.2. Cristalería y materiales

- Beakers de 250 mL
- Balones aforados de 100 mL
- Balones aforados de 50 mL
- Balones aforados de 25 mL
- Pipetas de 5 y 10 mL.
- Viales para cromatógrafo de gases
- Tapones con septum para viales de cromatógrafo de gases
- Jeringas de 5 mL
- Filtros de 0,45 μm

3.4.3. Reactivos

- Agua purificada
- Acetona
- Gases para cromatógrafo
- Muestras de materia prima a analizar.

3.5. Metodología experimental aplicada

La metodología se detalla según los parámetros establecidos por la empresa, indicando tanto las observaciones generales como el procedimiento detallado de la elaboración de la fase experimental.

3.5.1. Observaciones generales

- Todo pesado debe realizarse en una balanza analítica calibrada.
- Dejar registro del análisis incluyente: equipo, reactivos, pesos y cálculos.

- Los reactivos deben encontrarse vigentes.
- NOTA: Las muestras de materia prima deben prepararse con 24 horas de anticipación a su análisis en el cromatógrafo, siendo almacenadas en un refrigerador y esperar a que llegue a temperatura ambiente antes de ser analizadas.

3.5.2. Preparación de diluyente (Acetona: Agua)(96:4)

- En un recipiente de capacidad adecuada, realizar una mezcla de 288 mL de acetona y 12 mL de agua purificada.
- Agitar mecánicamente con magneto hasta homogenizar solución.

3.5.3. Preparación de estándar mixto

- Pesar 0,0500 g de estándar secundario de etilenglicol en un balón volumétrico de 50 mL.
- Pesar 0,0500 g de estándar secundario de dietilenglicol en un balón volumétrico de 50 mL.
- Agregar aproximadamente 30 mL de diluyente a cada balón y agitar mecánicamente con magneto por 10 minutos.
- Colocar en baño ultrasonido los balones por 5 minutos.
- Esperar a que llegue a temperatura ambiente y aforar con diluyente, mezclar con agitación manual.

- Tomar una alícuota con pipeta volumétrica de 5 mL de cada uno de los estándares por separado y mezclar en un balón volumétrico de 25 mL.
- Llevar a volumen con diluyente. Mezclar.
- Filtrar a través de membrana PVDF de poro 0,20 μm .
- La concentración final de los estándares debe ser aproximadamente de 0,2 mg/mL de etilenglicol y dietilenglicol.

3.5.4. Preparación de muestras de glicerina

- Pesar con exactitud y por duplicado 5 g de glicerina materia prima a ensayar en un balón volumétrico de 25 mL.
- Agregar aproximadamente 15 mL de diluyente.
- Agitar mecánicamente con magneto durante 45 minutos.
- Colocar en baño ultrasonido por 15 minutos y dejar a que llegue a temperatura ambiente.
- Llevar a volumen con diluyente. Mezclar.
- Almacenar en refrigeradora por 24 horas. Al terminar este tiempo de almacenamiento dejar reposar al aire libre hasta que llegue a temperatura ambiente. Es importante no volver a mezclar luego de cumplido su tiempo de almacenamiento.

- Con una pipeta serológica de 5 mL extraer aproximadamente 3 mL del sobrenadante y filtrar a través de membrana PVDF de poro 0,20 μm .
- La concentración final de la muestra debe ser aproximadamente de 200 mg/mL de materia prima.

3.5.5. Preparación de muestras de sorbitol 70 %

- Pesar con exactitud y por duplicado 5 g de sorbitol 70 % materia prima a ensayar en un balón volumétrico de 25 mL.
- Agregar aproximadamente 15 mL de diluyente.
- Agitar mecánicamente con magneto durante 45 minutos.
- Colocar en baño ultrasonido por 15 minutos y dejar a que llegue a temperatura ambiente.
- Llevar a volumen con diluyente. Mezclar.
- Almacenar en refrigeradora por 24 horas. Al terminar este tiempo de almacenamiento dejar reposar al aire libre hasta que llegue a temperatura ambiente. Es importante no volver a mezclar luego de cumplido su tiempo de almacenamiento.
- Con una pipeta serológica de 5 mL extraer aproximadamente 3 mL del sobrenadante y filtrar a través de membrana PVDF de poro 0,20 μm .

- La concentración final de la muestra debe ser aproximadamente de 200 mg/mL de materia prima.

3.6. Técnica cuantitativa o cualitativa

Se determina el tipo de variables según los parámetros utilizados; en este caso, al ser una técnica cuantitativa, todas las variables empleadas son de tipo cuantitativo.

Tabla II. **Técnica cualitativa o cuantitativa de las variables**

Variable	Tipo
Concentración de analito	Cuantitativo
Presión	Cuantitativo
Temperatura	Cuantitativo
Tiempo de retención	Cuantitativo

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

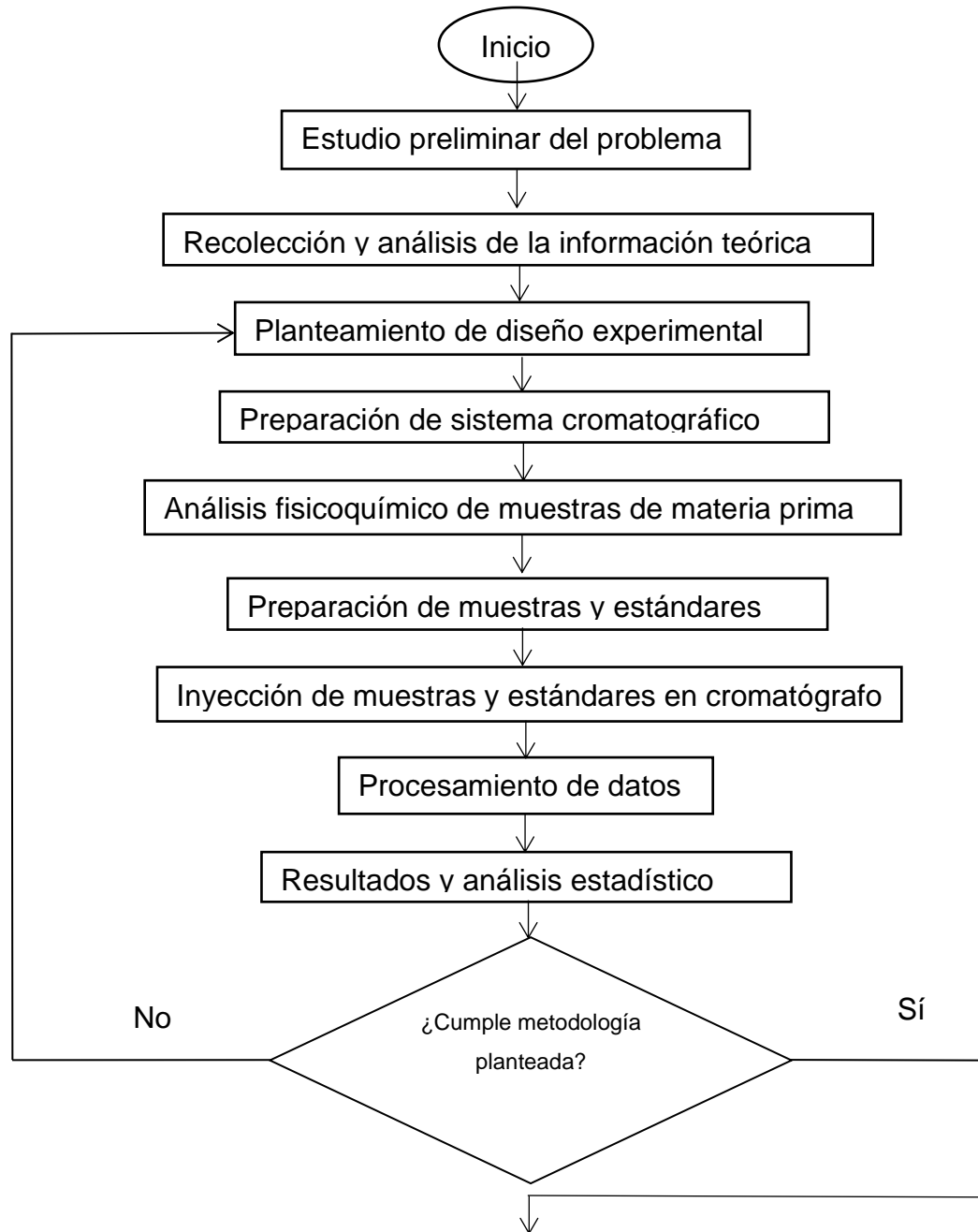
3.7. Recolección y ordenamiento de la información

- Planteamiento de una metodología con base en la USP 42.
- Reprocesamiento de cromatogramas en software CompassCDS.
- Tabulación de resultados obtenidos de los cromatogramas.
- Determinación de resultados finales a partir de áreas bajo la curva.
- Realización de análisis estadístico.

3.8. Diseño general de la técnica cuantitativa

Mediante un diagrama de proceso se representa de una mejor manera el proceso empleado para establecer la metodología de investigación para la implementación de la metodología analítica.

Figura 8. Diagrama de proceso de metodología de investigación



Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

3.9. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información

Se representa la manera en la que se recolectarán los datos intermedios para realizar los cálculos correspondientes para determinar los resultados finales, que de igual manera se representa la manera de tabularlos.

Tabla III. **Propiedades físicas de materia prima**

No.	Análisis	Referencia	Criterio de aceptación	Resultado	Analista
1	Apariencia				
2	Color				
3	Olor				
4	Humedad				

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

Tabla IV. **Concentración de estándar utilizado**

Estándar Utilizado	
Potencia con base seca (%)	
Fecha de vencimiento	
Peso de estándar (mg)	
Concentración de estándar (mg/mL)	

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

Tabla V. **Área obtenida de estándares**

No. inyección	Área de estándar
1	
2	
3	
4	
5	
6	
\bar{X}	

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

Tabla VI. **Área de muestras y porcentaje de impurezas detectado**

No. Muestra	Repetición	Área de estándar	% Impurezas
1	1		
	2		
2	1		
	2		
N	N		

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

3.10. Análisis estadístico

Para el análisis de los datos cuantitativos obtenidos, se utilizarán las siguientes herramientas estadísticas:

3.10.1. Media aritmética

La media aritmética es la sumatoria de un conjunto de valores dividido entre la cantidad de valores implicados (tamaño de la muestra).

$$x_p = \frac{\sum x_i}{n}$$

3.10.2. Varianza

La varianza es una medida de dispersión de cada uno de los valores obtenidos comparándolos con la media aritmética para evaluar la variación entre ellos.

$$s^2 = \frac{\sum(x - x_p)^2}{n - 1}$$

3.10.3. Desviación estándar

Es la raíz cuadrada de la varianza y es un índice de la dispersión de los datos respecto a la media aritmética. Es un promedio de las desviaciones individuales de cada dato.

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x - x_p)^2}{n - 1}}$$

3.11. Plan de análisis de los resultados

Se presenta el plan para validar los resultados mediante herramientas estadísticas para determinar la correlación entre dos variables y los programas utilizados para emplearlos.

3.11.1. Métodos y modelos de los datos según tipo de variables

Para el análisis de los resultados se utilizarán las siguientes herramientas estadísticas:

3.11.1.1. Análisis de Varianza (ANOVA)

Permite contrastar las hipótesis nulas con respecto a la media de la población determinando si los diferentes tratamientos muestran diferencias significativas, o bien, que no difieren entre sí respecto a la media poblacional.

3.11.1.2. Correlación de Pearson

Muestra una relación lineal entre un grupo de variables cuantitativas. A medida que el coeficiente de correlación de Pearson se acerque a la unidad, se dice que existe una relación lineal entre las variables cuantitativas analizadas.

3.11.2. Programas a utilizar para análisis de datos

Se utilizará el *software* CompassCDS para la cromatografía y Microsoft Excel 2013 para tabulación de datos y análisis estadístico.

4. RESULTADOS

Tabla VII. **Propiedades físicas de la glicerina**

No	Análisis	Especificación	Resultado obtenido	Unidades	Método
1	Apariencia	Líquido fluido claro poco viscoso	Líquido fluido claro poco viscoso, libre de impurezas visibles	N/A	Visual
2	Color	Incoloro o casi incoloro	Incoloro	N/A	Visual
3	Olor	Leve característico	Característico	N/A	Organoléptico
4	Sabor	Dulce	Dulce	N/A	Organoléptico
5	Solubilidad	Agua: Miscible Alcohol: Miscible	Miscible (1:2) Miscible (1:1)	N/A	Ensayo
6	Gravedad específica	Mayor o igual a 1,2490	1.2648	g / mL	Picnómetro

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

Tabla VIII. **Propiedades físicas del sorbitol al 70 %**

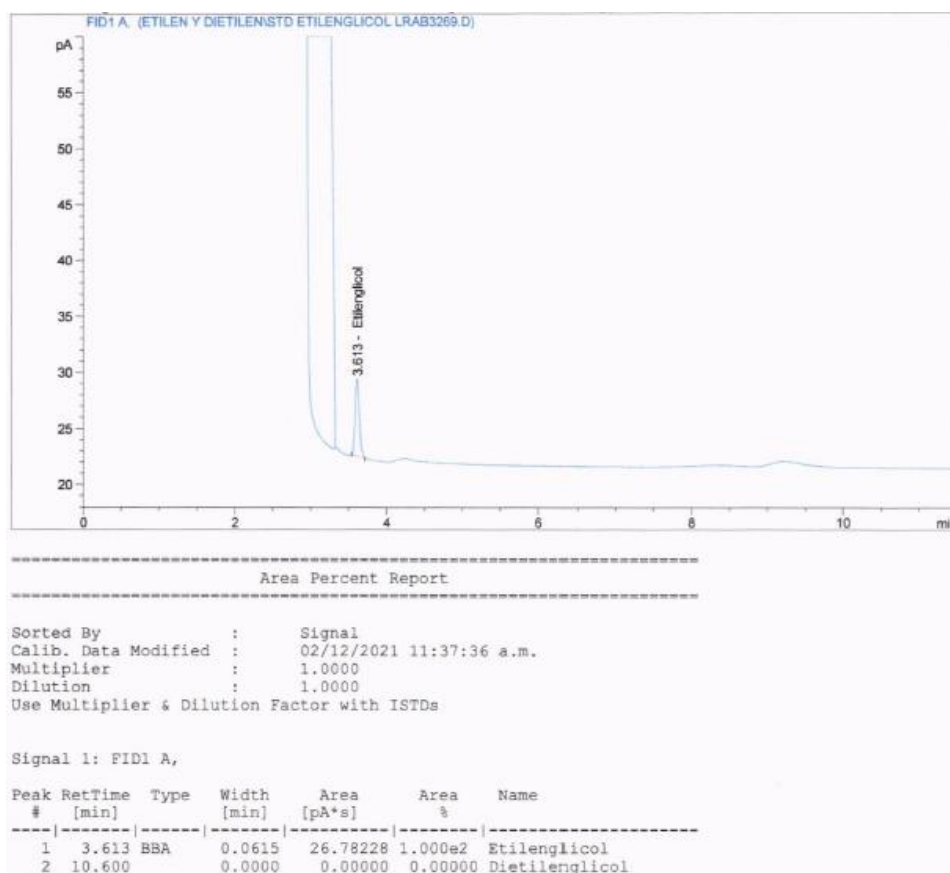
No.	Análisis	Especificación	Resultado obtenido	Unidades	Método
1	Apariencia	Líquido fluido claro	Líquido fluido claro, libre de impurezas visibles	N/A	Visual
2	Color	Incoloro	Incoloro	N/A	Visual
3	Olor	Inodoro	Inodoro	N/A	Organoléptico
4	Sabor	N/A	N/A	N/A	N/A

Continuación de la tabla VIII.

5	Solubilidad	Agua: Miscible Alcohol: Insoluble	Miscible (1:2) Insoluble (1:10 000+)	N/A	Ensayo
6	Gravedad específica	Mayor o igual a 1,2850	1,3172	g / mL	Picnómetro

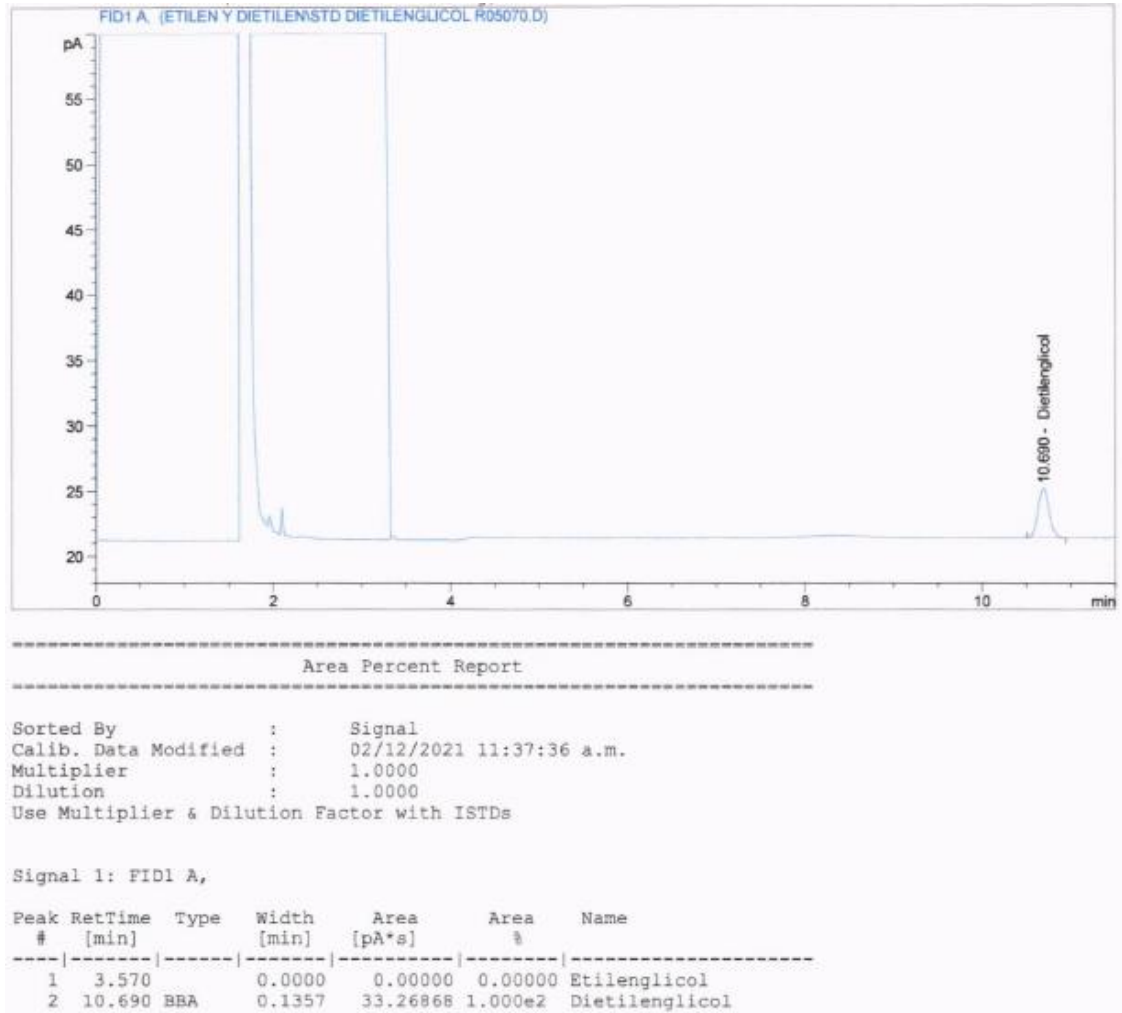
Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

Figura 9. **Identificación de estándar de etilenglicol en cromatograma**



Fuente: elaboración propia, empleando CompassCDS.

Figura 10. Identificación de estándar de dietilenglicol en cromatograma



Fuente: elaboración propia, empleando CompassCDS.

Tabla IX. **Cuantificación de etilenglicol en sorbitol 70 %**

Resultados de Sorbitol 70 %		
Especificación	Cuantificación de impureza	
	Etilenglicol	
	Lote STD	LRAC02089
	Potencia STD (%)	99,90 %
	Peso de STD (mg)	54,3
	CSTD (mg / mL)	0,2170
	Área de estándar (pA*s)	RT (min)
	29,67559	3,564
	29,97628	3,576
	29,56716	3,580
	29,96905	3,583
	29,95679	3,582
	30,12037	3,583
Promedio	29,87754	3,578
DSR	0,7029 %	0,2054 %
	Peso de muestras	
	Mx 1 (g)	5,0082
	Mx 2 (g)	5,0044
	Área	%
C1.1	22,87554	0,08293
C1.2	23,19658	0,08409
C2.1	23,11731	0,08381
C2.2	23,28910	0,08443
Promedio	23,11963	0,08381
DSR	0,7666 %	0,7666 %

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

Tabla X. **Cuantificación de dietilenglicol en sorbitol 70 %**

Resultados de Sorbitol 70 %		
Especificación	Cuantificación de impureza	
	Dietilenglicol	
	Lote STD	LRAC0277
	Potencia STD (%)	99,80 %
	Peso de STD (mg)	52,2
	CSTD (mg / mL)	0,2084
	Área de estándar (pA*s)	RT (min)
	34,44568	10,526
	34,73455	10,551
	34,34226	10,561
	34,87871	10,567
	34,83435	10,568
	35,02905	10,567
Promedio	34,71077	10,557
DSR	0,7638 %	0,1547 %
	Peso de muestras	
	Mx 1 (g)	5,0082
	Mx 2 (g)	5,0044
	Área	%
C1.1	0	0,000000
C1.2	0	0,000000
C2.1	0	0,000000
C2.2	0	0,000000
Promedio	0	0
DSR	0,0 %	0,0 %

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

Tabla XI. **Cuantificación de etilenglicol en glicerina**

Resultados de glicerina		
Especificación	Cuantificación de impureza	
	Etilenglicol	
	Lote STD	LRAC0277
	Potencia STD (%)	99,90 %
	Peso de STD (mg)	50,0
	CSTD (mg / mL)	0,1998
	Área de estándar (pA*s)	RT (min)
	29,67559	3,564
	29,97628	3,576
	29,56716	3,58
	29,96905	3,583
	29,95679	3,582
	30,12037	3,583
Promedio	29,87754	3,578
DSR	0,7029 %	0,2054 %
	Peso de muestras	
	Mx 1 (g)	5,0235
	Mx 2 (g)	5,0877
	Área	%
C1.1	0	0,000000
C1.2	0	0,000000
C2.1	0	0,000000
C2.2	0	0,000000
Promedio	0	0
DSR	0,0 %	0,0 %

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

Tabla XII. **Cuantificación de dietilenglicol en glicerina**

Resultados de glicerina		
Especificación	Cuantificación de impureza	
	Dietilenglicol	
	Lote STD	LRAC0277
	Potencia STD (%)	99,80 %
	Peso de STD (mg)	52,2
	CSTD (mg / mL)	0,2084
	Área de estándar (pA*s)	RT (min)
	34,44568	10,526
	34,73455	10,551
	34,34226	10,561
	34,87871	10,567
	34,83435	10,568
	35,02905	10,567
Promedio	34,71077	10,557
DSR	0,7638 %	0,1547 %
	Peso de muestras	
	Mx 1 (g)	5,0054
	Mx 2 (g)	5,0049
	Área	%
C1.1	0	0,000000
C1.2	0	0,000000
C2.1	0	0,000000
C2.2	0	0,000000
Promedio	0	0
DSR	0,0 %	0,0 %

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

Tabla XIII. **Especificaciones para técnica implementada**

Parámetro	Especificación	Resultado
Preparación de muestras	Concentración de estándar de etilenglicol	0,200 mg / mL
	Concentración de estándar de dietilenglicol	0,200 mg / mL
	Concentración de muestras de materia prima (usar sobrenadante)	200 mg / mL
	Diluyente	(Acetona:Agua) (96:4)
Sistema cromatográfico	Detector	FID
	Columna	Restek Rxi 624-sil MS, 1,8 μ mdf, 30m x 0,32 mm
	Velocidad de flujo	3,0 mL/min
	Gas acarreador	Helio
	Temperatura de detector	300 °C
	Temperatura de puerto de inyección	240 °C
	Make up Flow	20 mL / min
	Temperatura inicial de horno	70 °C
	Tiempo con temperatura inicial mantenida	2 min
	Rampa de temperatura	50 °C / min
	Temperatura final de columna	300 °C
	Tiempo con temperatura final mantenida	5 min
	Duración total de cada corrida	11,60 minutos
	Volumen de inyección	1,0 μ L
	Tipo de inyección	Split ratio 10:1
	Tiempo de retención aproximado para etilenglicol	3 min
Tiempo de retención aproximado para dietilenglicol	10 min	
Criterio de aceptación	Límite máximo permitido en relación de áreas de muestras con estándares	0,1 %
	Desviación estándar en muestras	≤ 2 %

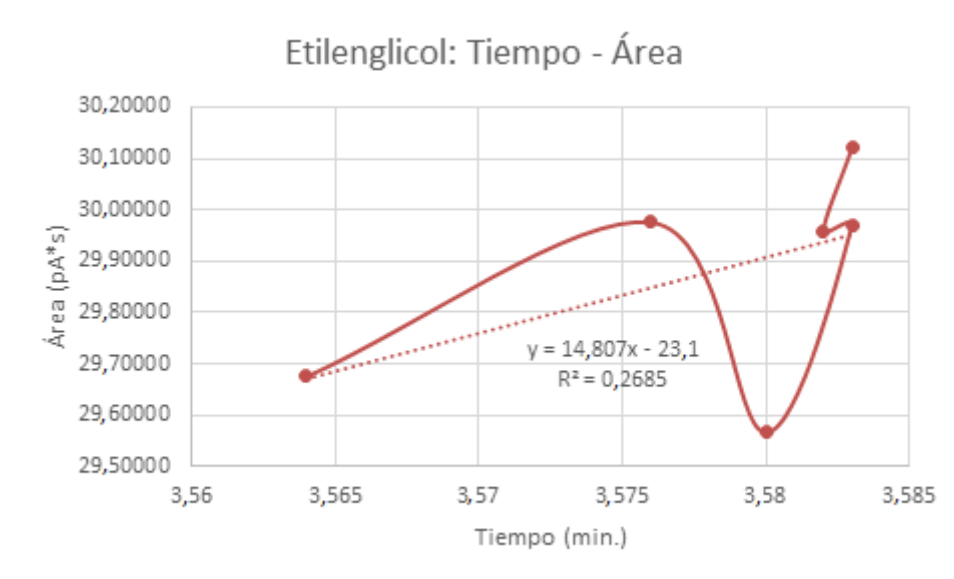
Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

Tabla XIV. **Recuperación de etilenglicol y dietilenglicol en cada materia prima**

Materia prima	Principio activo	Límite máximo permitido	Valor obtenido	¿Cumple?
Sorbitol 70%	Etilenglicol	0,1 %	0,08381 %	Sí
	Dietilenglicol	0,1 %	0,00000 %	Sí
Glicerina	Etilenglicol	0,1 %	0,00000 %	Sí
	Dietilenglicol	0,1 %	0,00000 %	Sí

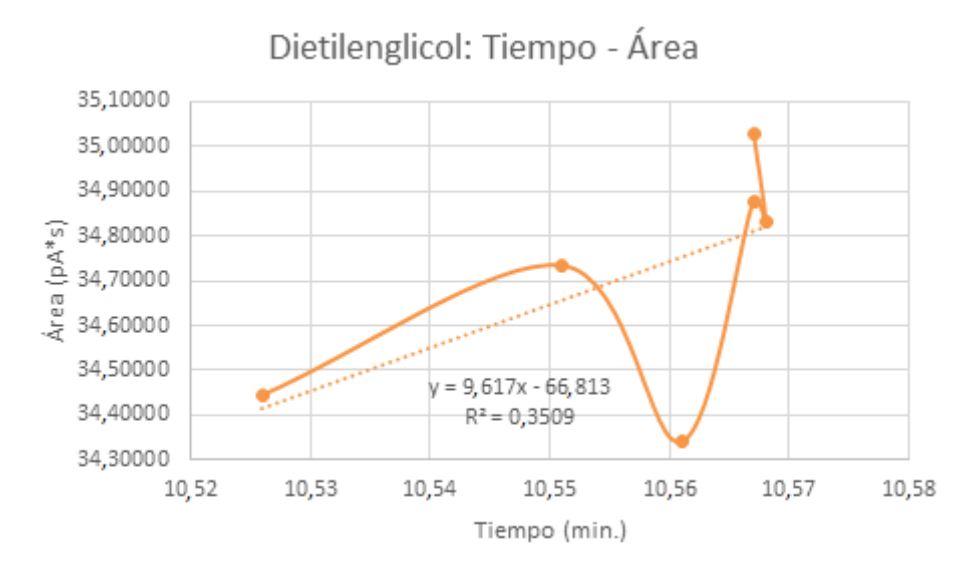
Fuente: Elaboración propia, empleando Microsoft Word.

Figura 11. **Dispersión de estándares de etilenglicol (tiempo – área)**



Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Figura 12. **Dispersión de estándares de dietilenglicol (tiempo – área)**



Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla XV. **Correlación de Pearson para áreas de estándares de etilenglicol y dietilenglicol en función del tiempo de retención**

	Valor R	Valor R ²
Etilenglicol	0,5181	0,2685
Dietilenglicol	0,5924	0,3509

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

Tabla XVI. **Análisis de varianza (ANOVA) para las dos muestras de sorbitol 70% con trazas de etilenglicol**

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Muestra 1	2	46,07212	23,03606	0,051533341
Muestra 2	2	46,40641	23,203205	0,014755902

ANÁLISIS
DE
VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0,027937451	1	0,027937451	0,842895463	0,455489307	18,51282051
Dentro de los grupos	0,066289243	2	0,033144621			
Total	0,094226694	3				

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Toda industria farmacéutica debe garantizar a sus consumidores que los productos elaborados en sus plantas de producción, además de ejercer su acción farmacológica, están libres de sustancias que puedan perjudicar a corto, mediano o largo plazo la salud del paciente. La síntesis de la materia prima utilizada para la elaboración de medicamentos puede estar expuesta a solventes u otras sustancias que, de no ser eliminadas o reducidas hasta cierto valor permitido, puede afectar la salud del consumidor, siendo efectos leves o graves que pueden llegar a causar la muerte. Es por ello que en este proyecto se planteó como objetivo general implementar un método referenciado en la farmacopea estadounidense que permita identificar impurezas de glicoles (etilenglicol y dietilenglicol específicamente) debido a que por encima de 0.1% puede ser perjudicial para el consumidor.

Como parte de la realización de este proyecto, se planteó determinar las propiedades físicas principales de las materias primas analizadas (glicerina y sorbitol solución al 70 %) ya que, independientemente de los resultados para trazas de etilenglicol y dietilenglicol, si las propiedades físicas no cumplen según la especificación de la monografía de la USP, son rechazados de inmediato, no pudiendo usarse para la producción de medicamentos. En la tabla VII y VIII se muestran las propiedades físicas de los lotes de glicerina y del sorbitol 70 % respectivamente analizados. Para ambas materias primas, se especificó que visualmente no se observan partículas extrañas que serían señal de contaminación cruzada, o degradación de la misma materia prima. Así mismo, se realiza análisis de solubilidad para cada materia prima debido a que en el proceso de producción de medicamentos pueda estar involucrado el uso de agua, etanol

o una mezcla de ambos; en este caso, la glicerina es soluble para agua y etanol, mientras que el sorbitol al 70 % es soluble solo en agua, pero no es soluble en alcohol, esto conlleva a que las materias primas analizadas son sustancias polares debido a que son solubles en agua.

Por identificación de una sustancia se entiende que debe ser ubicada con certeza y nombrada. En este caso, se trabajó con materia prima que puede tener trazas de etilenglicol y dietilenglicol. Si fuera el caso donde la materia prima tenga trazas de ambas sustancias, en los cromatogramas se vería reflejado dos picos que representan a cada glicol eludido en la columna, sin embargo, no fuera posible diferencial cuál es cada uno. Es por ello que se utilizaron dos estándares secundarios proveídos por Merck, que es fabricante de medicamentos y suministros farmacéuticos de origen alemán.

Se utilizó estándar de etilenglicol (lote: LRAC2089, vencimiento: 31/05/2023 y potencia: 99,9 %) y dietilenglicol (lote: LRAC0277, vencimiento: 30/06/2023 y potencia: 99,8 %). Se trabajó cada estándar por separado llevándolo a la concentración de 0,200 mg / mL (igual concentración de trabajo para estándar mixto que incluye a ambos estándares) y se inyectó por separado; así fue posible identificar el tiempo de retención en el cuál elude cada estándar.

Además, esto se puede corroborar con las monografías de la USP para la glicerina y solución de sorbitol donde se menciona que el dietilenglicol elude a un tiempo mayor que el etilenglicol. La identificación de cada estándar se puede apreciar en la figura 9 y 10, donde el etilenglicol elude a los 3,613 minutos y el dietilenglicol lo hace a los 10,690 minutos.

De estas figuras, también se puede diferenciar que la altura alcanzada en el pico del etilenglicol es mayor que la del dietilenglicol, lo que quiere decir que el

etilenglicol, en la columna utilizada para este ensayo tiene una mayor absorbancia al detector utilizado (detector de ionización a la llama, FID), es decir, se encuentra en un rango de mejor visibilidad al detector por lo que es más fácil identificarlo para él y se representa con una mayor altura en el cromatograma.

Los cromatogramas obtenidos en la fase experimental se encuentran adjuntos en la parte de anexos al final de este informe. En la parte de resultados se ha agregado únicamente los valores de las áreas y tiempos de retención para estándares de etilenglicol y dietilenglicol, y para las muestras de glicerina y sorbitol 70 %.

En la tabla IX se muestran los resultados de la recuperación de etilenglicol en las muestras de sorbitol al 70 %. Se muestran los datos de estándar utilizados (mencionados anteriormente) y se muestran los valores de área y tiempo de retención en los cromatogramas; como se mencionó en el párrafo anterior, el tiempo de retención para el etilenglicol es aproximadamente tres minutos.

La Farmacopea de los Estados Unidos (USP) establece los intervalos para desviación estándar entre repeticiones de una misma muestra; un cromatógrafo de gases es un equipo con alta sensibilidad, es decir, identificará cualquier impureza de la muestra o incluso suciedad en la columna, por lo que los datos obtenidos no serán iguales pero sí deben ser similares, es por ello que se determina la desviación estándar entre los estándares, debiendo ser éste menor a 2 % (parámetro establecido por la USP); para el caso de los estándares la desviación estándar de las áreas es de 0,7029 % y de 0,2054 % para el tiempo de retención. También se determina el promedio de área de estándares porque es el valor que se utilizará para los cálculos de porcentaje de recuperación de etilenglicol en la materia prima.

Se puede observar en esta tabla que las áreas de etilenglicol en las muestras son muy similares a las de los estándares de etilenglicol. Esto llevaría a pensar que se recuperó una cantidad cercana al 100 % de etilenglicol en la muestra, sin embargo, esto no es así debido a que la concentración de la muestra y el estándar son distintas; la concentración de la muestra es de aproximadamente 200,0 mg / mL, mientras que la del estándar es aproximadamente 0,2 mg / mL, es decir, la muestra tiene 1 000 veces más la cantidad de etilenglicol que el estándar.

Esta variación en las concentraciones se debe a que se está cuantificando una impureza, por lo que se espera que el resultado de la cuantificación sea nula o mínima; suponiendo que existan trazas mínimas de dicha impureza, se debe tener una concentración alta de la impureza para que pueda ser visible, de lo contrario, si se tiene una concentración muy pequeña (en este caso si fuera de 0,2 mg / mL) muy probablemente no se podría apreciar la impureza en la inyección de la materia prima y fácilmente se podría confundir el pico de la impureza con otro pico que no represente lo que se desea cuantificar. Es por ello que las muestras contienen una concentración de aproximadamente 1 000 veces mayor a los estándares; dicho esto, la razón por la cual el porcentaje de etilenglicol recuperado es muy bajo, es por la diferencia de concentraciones que se ve reflejado en los cálculos (ver sección de apéndice, muestra de cálculo).

Respecto al porcentaje de activo recuperado, se aprecia que en promedio es de 0,08381 %, el cuál es un valor aceptable debido a que la monografía de sorbitol 70 % en la USP 43, identificación C “Límite de dietilenglicol y etilenglicol” especifica que el límite máximo permitido es de 0,1 % comparando los resultados de las muestras con los estándares. Por tanto, cumple con el límite de etilenglicol. Al igual que la desviación estándar para los estándares, se realiza desviación estándar de los resultados de las muestras y se aplica el mismo criterio del límite

de 2 %, en este caso, también cumple al obtener un valor inferior al límite establecido.

La tabla X representa los valores obtenidos para la identificación y cuantificación de dietilenglicol en las muestras de sorbitol al 70 %. Al igual que para los estándares de etilenglicol en la tabla IX, se determina el área de cada inyección, su tiempo de retención, promedio y desviación estándar de ambos datos (siendo menor a 2 % por lo que cumple en este sentido). En la sección de anexos se puede observar en los cromatogramas de las muestras de materia prima que no se detectó trazas de dietilenglicol en el cromatógrafo de gases, por lo que el resultado es cero.

Este resultado no requiere de cálculos debido a que la relación de área de muestra con el área de estándar es automáticamente cero; el resultado obtenido es satisfactorio ya que no hay traza alguna de dietilenglicol y se garantiza el uso seguro de esta materia prima para la fabricación de medicamentos. Tomando en cuenta que de la tabla VIII se determinó que las propiedades físicas del sorbitol 70 % cumplen, que de la tabla IX se concluyó que el resultado de etilenglicol recuperado en las muestras es menor al límite permitido y que de la tabla X no se encontraron trazas de dietilenglicol, se da por aprobada la materia prima para su uso en producción.

La tabla XI muestra los resultados de trazas de etilenglicol en las muestras de glicerina. Al igual que la tabla X para las trazas de dietilenglicol en sorbitol 70 %, no se observa trazas de la impureza analizada y esto también se puede apreciar en los cromatogramas de las muestras de glicerina en la sección de anexos. Por tanto, también tomando en consideración que el valor de la desviación estándar del grupo de datos de área de estándares de etilenglicol es menor a 2 %, se puede determinar que se aprueba esta parte del análisis.

La tabla XII muestra los resultados de trazas de dietilenglicol en las muestras de glicerina y se observa que el valor obtenido es igual a cero, lo que indica que no se apreció contaminación alguna en los cromatogramas de las muestras. Esto conlleva a que, con los resultados de la tabla XI donde se indica que no se detecta presencia de etilenglicol en las muestras de glicerina, y que en la tabla VII las propiedades físicas de la materia prima cumple con las especificaciones, se puede dar por aprobada la materia prima para su uso en el área de producción.

Luego de la recolección de datos, tabulación y realización de cálculos para determinar los resultados finales, se da por aprobada la metodología utilizada para el proceso experimental. Por ello, en la tabla XIII se muestra los parámetros utilizados en la experimentación para determinar la metodología final, es decir, todas las especificaciones tanto del manejo de muestras, como del equipo para poder reproducir otros lotes o bien, aplicarlo a otras materias primas con posibles trazas de etilenglicol y dietilenglicol. Se observa que, como se mencionó anteriormente la concentración de las muestras es 1 000 veces mayor al de los estándares.

Así mismo se especifica que para la inyección de las muestras se debe utilizar el sobrenadante; esto quiere decir que la muestra se separará en dos fases, una oleosa o pesada que es la que estará en la parte de abajo y otra acuosa o liviana que está en la parte de arriba y es mejor conocida como sobrenadante, esto es muy importante tomarlo en cuenta debido a que, sabiendo que el principio de funcionamiento del equipo es la lectura de muestras volatilizadas, las columnas de cromatógrafos de gases no pueden tener líquidos no volatilizados dentro de ellas, de lo contrario se puede obtener lecturas erróneas o incluso el deterioro de la columna llevándola a su completo desuso; esto quiere decir que una solución oleosa debido a que tiene fuerzas de cohesión

mayores, su vaporización requiere de un aumento de energía, mismo que el equipo no garantiza proveer, llevando a una lectura de una muestra posiblemente no volatilizada.

Como gas acarreador debe utilizarse un gas que sea inerte para que este no reaccione e interfiera con las muestras inyectadas, por lo que se decidió usar helio. El *make up flow* es una variable que se utiliza para definir mejor el cromatograma, mientras más alto sea este valor se obtendrán cromatogramas más agradables visualmente con picos mejores definidos pero se verá reflejado en el consumo de los gases; se decidió utilizar un valor de 20 mL / min que se considera dentro de un rango aceptable como el valor máximo, sin embargo se utiliza así debido a que al ser cromatogramas de impurezas, los picos obtenidos podrían llegar a ser pequeños y mal definidos, por lo que se busca que los picos resultantes sean lo más estéticos posibles para facilitar su cuantificación.

La tabla XIV muestra un resumen de la tabla IX, X, XI y XII, determinando la resolución de aprobación a cada análisis realizado, por lo que se concluye que es posible utilizar los lotes analizados de sorbitol al 70 % y glicerina para la producción de medicamentos en una industria farmacéutica.

La figura 11 muestra la gráfica de dispersión de datos entre el tiempo de retención y el área en cada inyección de estándar de etilenglicol. Esta gráfica se realiza con el objetivo de determinar el coeficiente de comparación (R^2) y así obtener el coeficiente de correlación de Pearson (R). Se puede observar que el valor de R^2 (que oscila entre 0 y 1) es incluso menor a 0,5, y además, en la tabla XV se observa que el valor de R es 0,5181; Con estos resultados se puede concluir que el área de cada pico no depende del tiempo de retención; esto es debido a que la altura de un pico en su cromatograma y su área depende únicamente del volumen de inyección de la muestra y de su concentración. Si el

coeficiente de correlación de Pearson o el coeficiente de comparación son cercanos a la unidad sería coincidencia simplemente. En el caso de la figura 12, que representa la gráfica de dispersión de datos entre el tiempo de retención y el área en las inyecciones de estándar de dietilenglicol se puede observar el mismo comportamiento. Por tanto, ni para etilenglicol ni el dietilenglicol, el valor del área depende del tiempo de retención.

La tabla XVI muestra el análisis de varianza de los resultados de las trazas de etilenglicol en las muestras de sorbitol 70 %; en la parte del resumen se puede observar que la varianza entre las repeticiones de cada muestra es baja (0,0515 y 0,0147 para muestra 1 y muestra 2 respectivamente) lo cual indica que hay poca variación entre los resultados de cada muestra individualmente, es decir, las áreas de los picos de etilenglicol son similares y cumple con el criterio de la USP de que las áreas deben ser similares entre repeticiones de una misma muestra. En la sección de análisis de varianza de esta tabla se resaltó la parte de F, probabilidad y valor crítico para F, ya que se puede observar que F es inferior a su valor crítico, esto indica que el factor tuvo un efecto bajo en la variación y no es significativo; es decir, no hay efecto significativo en el uso de distintas muestras para determinar el área del etilenglicol en los cromatogramas de las muestras.

Esto es el resultado esperado, ya que se está trabajando con el mismo lote de materia prima y considerando que las muestras están a concentraciones casi iguales (difieren por decimales y esto no afecta significativamente) debe ser resultados similares. De lo contrario, es sinónimo de fallos en el equipo al momento de realizar la inyección, contaminación de la muestra, error de analista u otro inconveniente que conllevaría a la repetición de las inyecciones. En este caso, no ha sido necesario repetirlas.

CONCLUSIONES

1. Con base en los cálculos realizados, se determinó que para el sorbitol 70 % se recupera 0 % de dietilenglicol y 0,08381 % de etilenglicol, lo cual está por debajo del 0,1 % siendo éste el límite máximo permitido. Para la glicerina, se recupera 0 % tanto para etilenglicol como dietilenglicol.
2. Se realizó análisis estadístico y se determinó mediante análisis de varianza que las muestras de sorbitol 70 % donde se detectaron trazas de etilenglicol no difieren significativamente los resultados obtenidos, es decir, las áreas de las cuatro inyecciones en las muestras son similares. Así mismo se determinó por correlación de Pearson que el área de los picos no depende del tiempo de retención, solo del volumen de inyección y concentración de las muestras.
3. Por medio de los cromatogramas obtenidos en el cromatógrafo de gases con detector FID, se determinó que el tiempo de retención promedio para el etilenglicol y dietilenglicol son de 3,578 minutos y 10,557 minutos respectivamente.
4. Se ha comparado las propiedades físicas de cada materia prima conforme la referencia de las monografías respectivas de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 41) y certificado de proveedor, obteniendo resultados similares a estas especificaciones, por lo que las propiedades físicas son aprobadas.

5. No se utiliza estándar secundario de 1,3-butanodiol debido a que este se utiliza, según la monografía, como criterio de comparación para determinar el porcentaje de recuperación de cada activo. En su lugar, se utilizó una relación de área de estándares y muestras para determinar el porcentaje recuperado utilizando las concentraciones de cada muestra.

6. La metodología implementada es útil para identificar y cuantificar etilenglicol y dietilenglicol; además, es posible implementarla para dos materias primas, en este caso, el sorbitol 70 % y glicerina. También es reproducible debido a que no presenta desviación entre repeticiones de inyecciones de una misma muestra. Es por esto que se puede concluir que es viable la implementación de esta metodología para la detección de trazas de glicoles en materia prima.

RECOMENDACIONES

1. Utilizar la metodología planteada para analizar materias primas como polietilenglicol, propilenglicol, jarabe de maltitol, aspartamo y entre otras materias primas con posibles trazas de etilenglicol y dietilenglicol para determinar si es posible utilizar la metodología propuesta con otras materias primas bajo las mismas condiciones en que se realizó esta experimentación.
2. Utilizar para las muestras y estándares es (acetona: agua) (96: 4). En este caso se recomienda utilizar agua desionizada en lugar de agua purificada, debido a que el agua desionizada conlleva procesos adicionales al agua purificada que hacen que el agua no contenga ni minerales ni iones. Esto se hace con el objetivo de evitar que los minerales o iones reaccionen o interfieran en la lectura de las muestras en el cromatógrafo de gases y así evitar posibles resultados erróneos.
3. Operar el cromatógrafo de gases por personal bien capacitado, o en su efecto, capacitar al personal que lo utilizará para evitar accidentes que puedan afectar la integridad del operario o deteriorar el equipo ya que es un equipo delicado y altamente costoso.
4. Llevar un control de la presión de los cilindros de gases alimentados al equipo. Por ello se recomienda revisar la presión antes de encender el equipo y leerla constantemente si la experimentación requiere de mucho tiempo funcionando el equipo. Si la presión desciende entre 300 y

500 psi, se debe estimar el uso de los gases de manera que se termine el análisis o interrumpirlo de ser necesario.

5. Realizar la limpieza de aguja y jeringa del equipo programando su respectivo lavado en el equipo con metanol y con acetona. Así mismo, se recomienda hacer una inyección de limpieza que constaría en inyectar diluyente (sin muestra ni estándares) para que limpie cualquier resto de muestra o impureza que haya quedado en la columna.

BIBLIOGRAFÍA

1. DANIELSON, J., SNELL, R., OXBORROW, G. *Detection and quantitation of ethylene oxide, 2-chloroethanol, and ethylene glycol with capillary gas chromatography*. Minneapolis, Minnesota, Estados Unidos: Diario de ciencia cromatográfica, 1990. 3 p.
2. DUQUE, Sara; ARANGO, Leidy. *Desarrollo de la técnica de cromatografía de gases (GC-FID) para la determinación de contaminantes emergentes tipo productos farmacéuticos*. Pereira, Colombia: Universidad Tecnológica de Pereira, 2015. 93 p.
3. Farmacopea de los Estados Unidos de América. *USP 42 – NF 37, 2019. The United States Pharmacopeial Convention Inc., Rockville, Maryland*. Estados Unidos 2007 98 p.
4. Ministerio de Economía, Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. *Reglamento Técnico Centro Americano (RTCA 11.03.42:07). Productos farmacéuticos, medicamentos de uso humano, buenas prácticas de manufactura para la industria farmacéutica*. Guatemala: 2007. 70 p.
5. Museo Nacional de Ciencias Naturales. *Cromatografía de gases*. Madrid, España: Palacio de las artes y la industria, 2015.
6. MUZEIN, R.J. *Rapid gas chromatographic determination of ethylene oxide, ethylene chlorohydrin, and ethylene glycol residues in rubber*

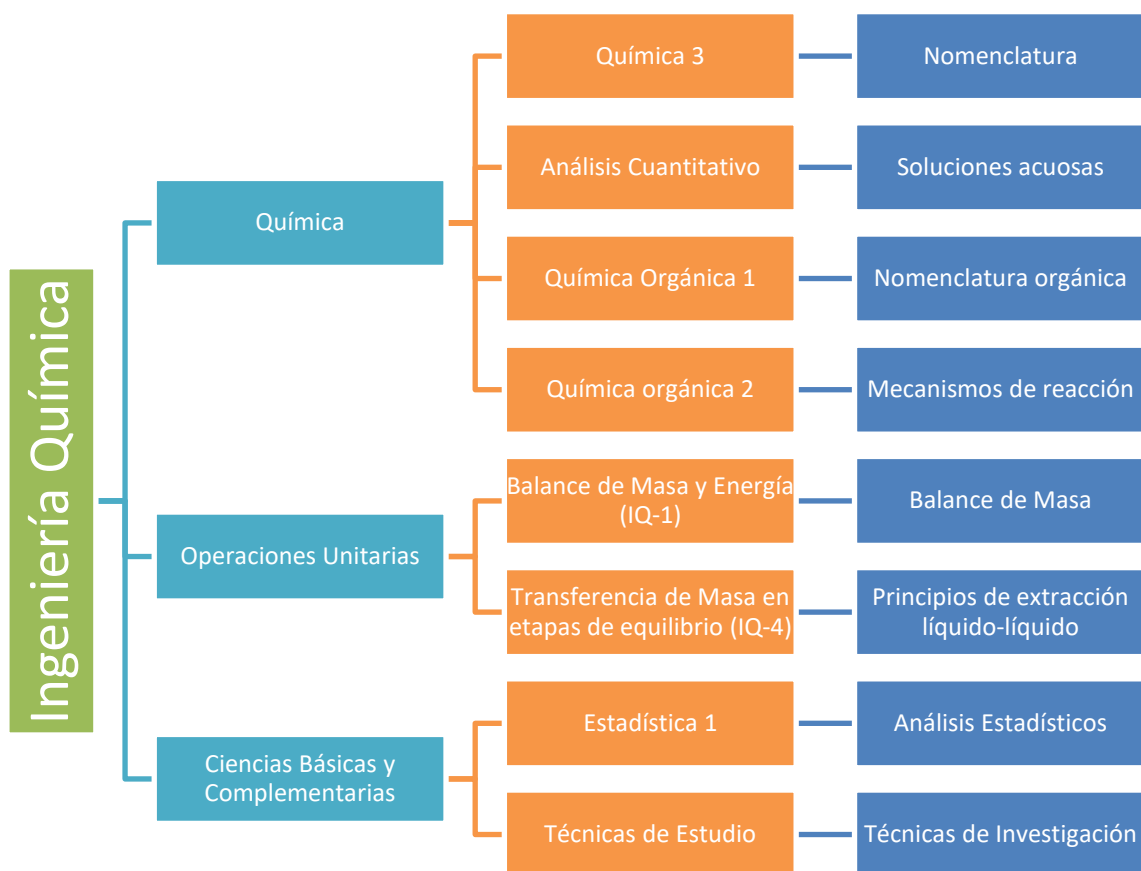
catheters. [en línea]. <<https://www.osti.gov/biblio/5940702-rapid-gas-chromatographic-determination-ethylene-oxide-ethylene-chlorohydrin-ethylene-glycol-residues-rubber-catheters>>.

[Consulta: 25 de mayo de 2021].

7. OLGUÍN, Patricia; RODRÍGUEZ, Héctor. *Cromatografía de gases*. México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2004. 12 p.
8. OMS. *Comité de expertos de la OMS en especificaciones para las preparaciones farmacéuticas*. [en línea]. <<https://apps.who.int/iris/handle/10665/42320>>. [Consulta: 25 de mayo de 2021].
9. PORTER, William; AUANSAKUL, Arunee. *Gas-chromatographic determination of ethylene glycol in serum*. Kentucky, Estados Unidos: Centro médico de la Universidad de Kentucky, 1982. 4 p.
10. ROSABAL, Úrsula; FONSECA, Antonio; CORDOVÍ, Juan; MORALES, Galina. *Validación de una metodología analítica para la determinación de dietilenglicol y etilenglicol como impurezas en glicerina y propilenglicol*. Cuba: Santiago de Cuba, 2014. 9 p.
11. Secretaría Central de ISO. *Norma Técnica Guatemalteca, Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración (NTG/ISO/IEC 17025:2017)*. Ginebra, Suiza: 2017. 206 p.

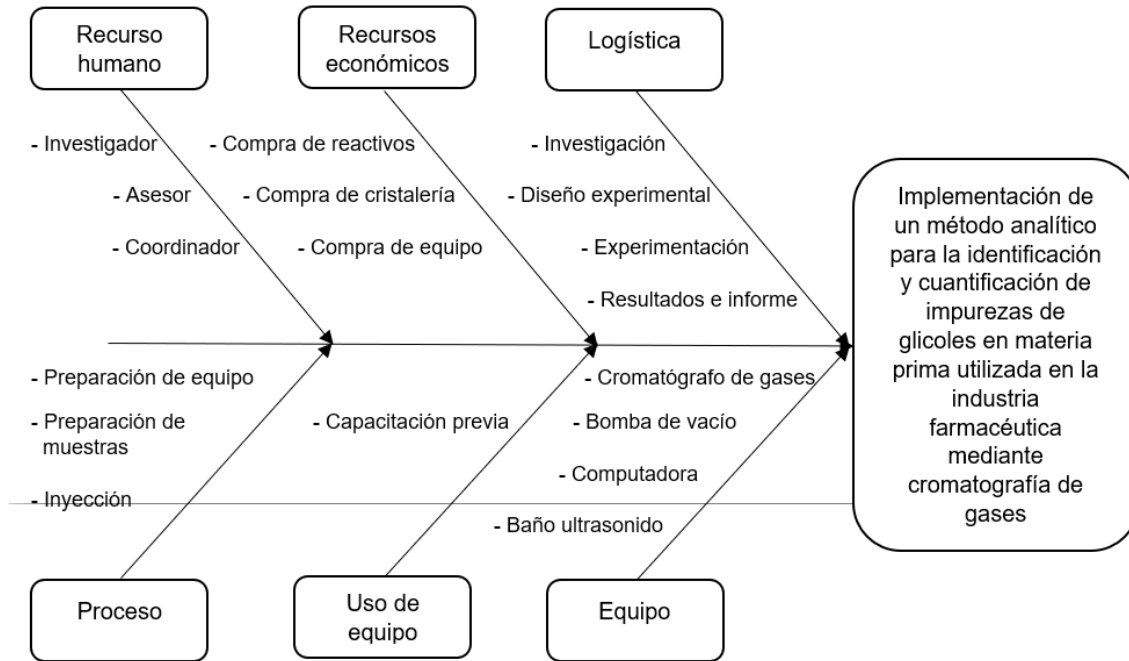
APÉNDICES

Apéndice 1. Requisitos académicos



Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

Apéndice 2. Diagrama de Ishikawa



Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Apéndice 3. Muestra de cálculo

A continuación, se mostrarán los métodos numéricos empleados para la determinación de resultados de esta investigación.

- Concentración de estándar de etilenglicol

$$[Etilenglicol] = \frac{P_{STD} (mg)}{50 mL} * \frac{5 mL}{25 mL} * POT_{STD} \quad [Ec. 1]$$

Continuación del apéndice 3.

Se determinó la concentración de estándar de etilenglicol midiendo el peso del estándar en un balón de 50 mL y haciendo una alícuota de 5 mL en un balón de 25 mL.

$$[Etilenglicol] = \frac{54,3 \text{ mg}}{50 \text{ mL}} * \frac{5 \text{ mL}}{25 \text{ mL}} * 0,9990$$
$$[Etilenglicol] = 0,2170 \text{ mg/mL}$$

- Concentración de estándar de etilenglicol

$$[Dietilenglicol] = \frac{P_{STD} (mg)}{50 \text{ mL}} * \frac{5 \text{ mL}}{25 \text{ mL}} * POT_{STD} \quad [\text{Ec. 2}]$$

Se determinó la concentración de estándar de etilenglicol midiendo el peso del estándar en un balón de 50 mL y haciendo una alícuota de 5 mL en un balón de 25 mL.

$$[Dietilenglicol] = \frac{52,2 \text{ mg}}{50 \text{ mL}} * \frac{5 \text{ mL}}{25 \text{ mL}} * 0,9980$$
$$[Dietilenglicol] = 0,2084 \text{ mg/mL}$$

- Concentración de muestra de materia prima a analizar

$$[Mx] = \frac{P_{Mx} (g)}{25 \text{ mL}} * \frac{1 \text{ 000 mg}}{1 \text{ g}}$$

Continuación del apéndice 3.

Se determinó la concentración de las muestras de materia prima (glicerina y sorbitol 70 %) midiendo el peso de la muestra en un balón de 25 mL.

$$[Mx1 \text{ Sorbitol } 70\%] = \frac{5,0082 \text{ g}}{25 \text{ mL}} * \frac{1\ 000 \text{ mg}}{1 \text{ g}}$$
$$[Etilenglicol] = 200,328 \text{ mg/mL}$$

- Media aritmética

$$x_p = \frac{\sum x_i}{n} \quad [\text{Ec. 4}]$$

Se determinó la media aritmética o promedio del área de los estándares, área de las muestras, de tiempo de retención y porcentaje de recuperación de etilenglicol y dietilenglicol.

Se muestra el ejemplo de determinación de la media aritmética del área de los estándares de etilenglicol.

$$x_{STD \text{ etilenglicol}}$$
$$= \frac{(29,67559 + 29,97628 + 29,56716 + 29,96905 + 29,95679 + 30,12037)pA * s}{6}$$
$$x_{STD \text{ etilenglicol}} = 29,87754 \text{ pA} * s$$

- Porcentaje de etilenglicol o dietilenglicol encontrado en la muestra

$$\%Glicol = \frac{\text{Área}_{Mx}}{\text{Área prom.}_{STD}} * \frac{[STD]}{[Mx]} * 100 \% \quad [\text{Ec 5.}]$$

Continuación del apéndice 3.

Se determinó el porcentaje de etilenglicol o dietilenglicol para cada muestra comparando las áreas obtenidas en los cromatogramas y la concentración de las mismas.

$$\%Etilenglicol, (sorbitol 70\%) = \frac{23,28910 \text{ pA} * s}{29,87754 \text{ pA} * s} * \frac{0,2170 \text{ mg/mL}}{200,3280 \text{ mg/mL}} * 100 \%$$

$$\%Etilenglicol, (sorbitol 70\%) = 0,08443 \%$$

- Porcentaje de desviación estándar:

$$S = \sqrt{\frac{\sum(x-x_p)^2}{n-1}} * 100 \% \quad [\text{Ec. 6}]$$

Se determinó la desviación estándar del área de los estándares de etilenglicol ya con la media aritmética obtenida previamente.

$$S = \sqrt{\frac{(29,87754 - 29,67559)^2 + (29,87754 - 29,97628)^2 + (29,87754 - 29,56716)^2 + (29,87754 - 29,96905)^2 + (29,87754 - 29,95679)^2 + (29,87754 - 30,12037)^2}{6 - 1}} * 100 \%$$

$$S = 0,7029 \%$$

- Varianza

$$S^2 = \frac{\sum(x - x_p)^2}{n - 1}$$

Ecuación #7

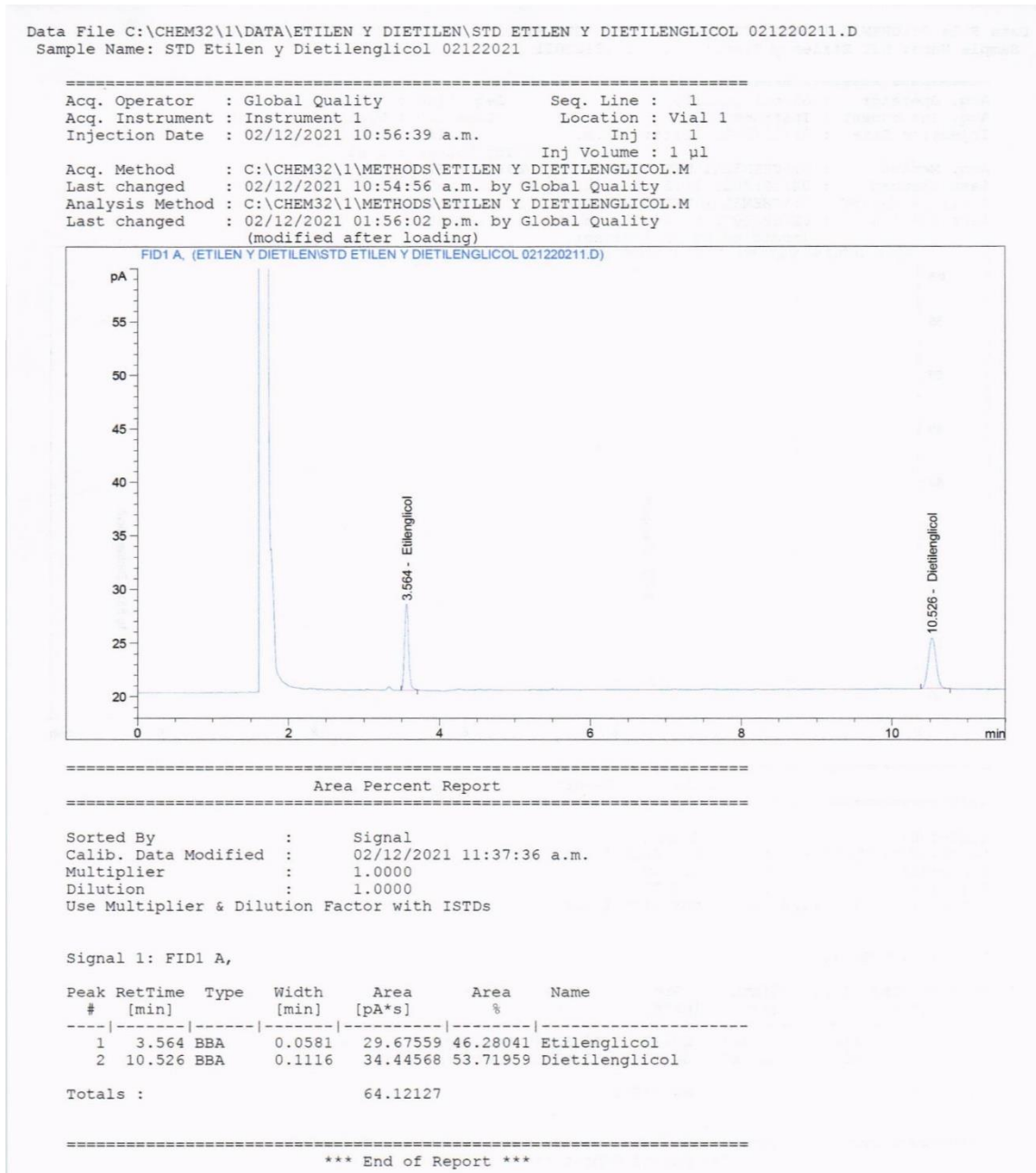
Continuación del apéndice 3.

Se determinó la varianza del área de los estándares para el etilenglicol. En este caso, la ecuación demuestra que es igual a la fórmula de la desviación estándar sin la raíz cuadrada; por tanto, se procede a calcular la varianza a partir del dato obtenido de la desviación estándar.

$$S^2 = \left(\frac{0,7029}{100}\right)^2$$
$$S^2 = 0,0000494 \equiv 0,00494 \%$$

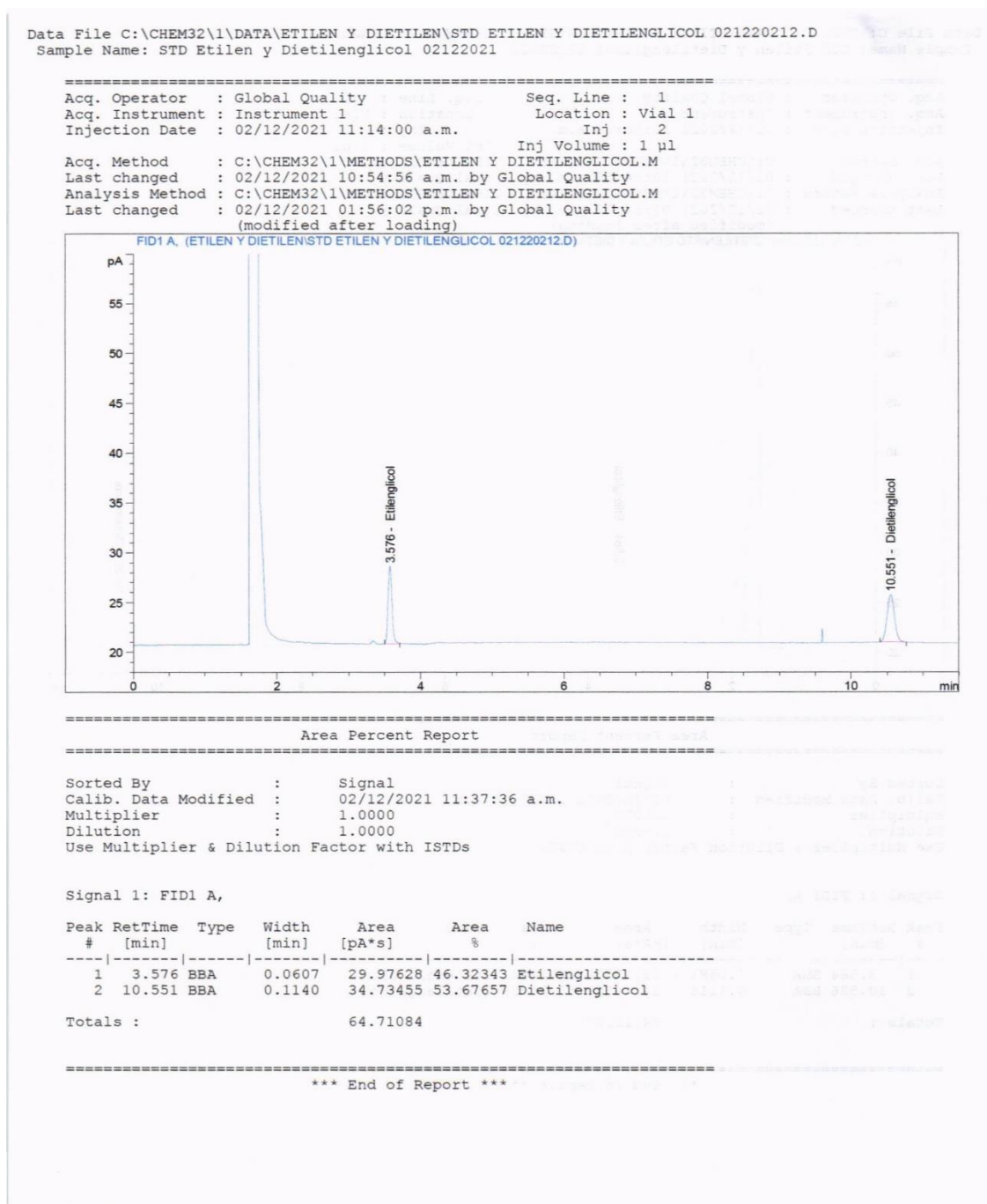
Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

Apéndice 4. Estándar mixto etilenglicol y dietilenglicol, repetición 1



Fuente: elaboración propia, empleando CompassCDS.

Apéndice 5. Estándar mixto etilenglicol y dietilenglicol, repetición 2



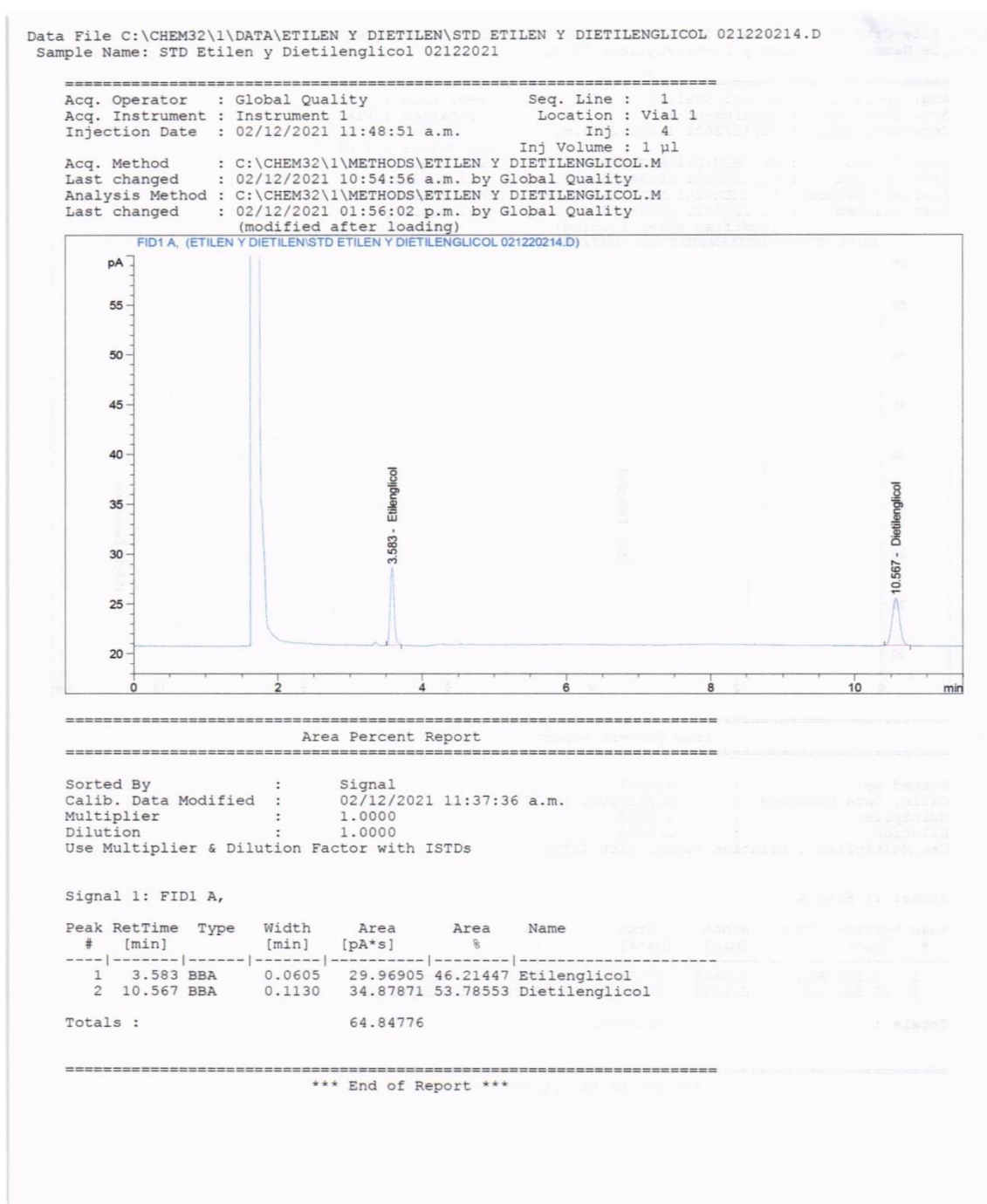
Fuente: elaboración propia, empleando CompassCDS.

Apéndice 6. Estándar mixto etilenglicol y dietilenglicol, repetición 3



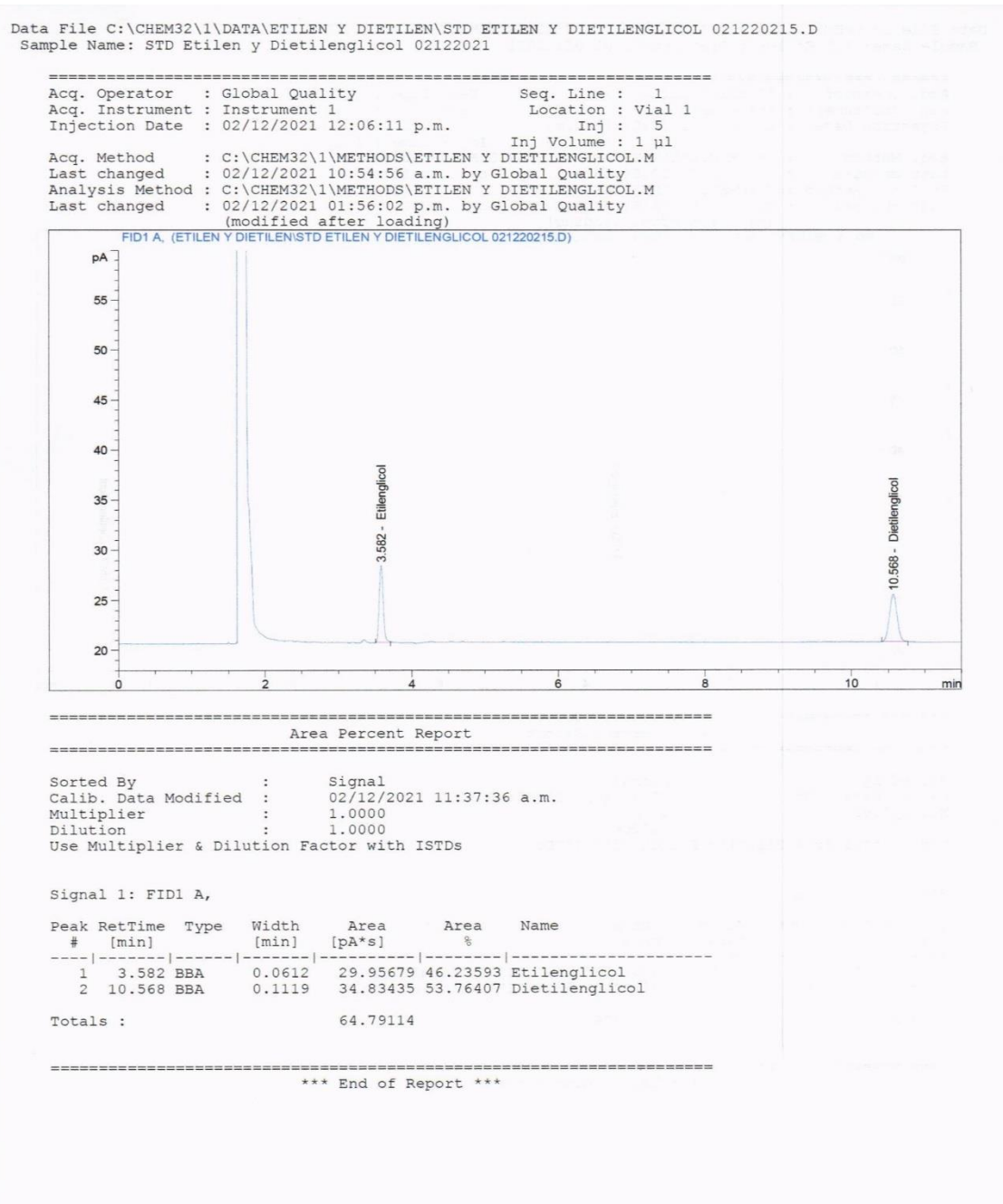
Fuente: elaboración propia, empleando CompassCDS.

Apéndice 7. Estándar mixto etilenglicol y dietilenglicol, repetición 4



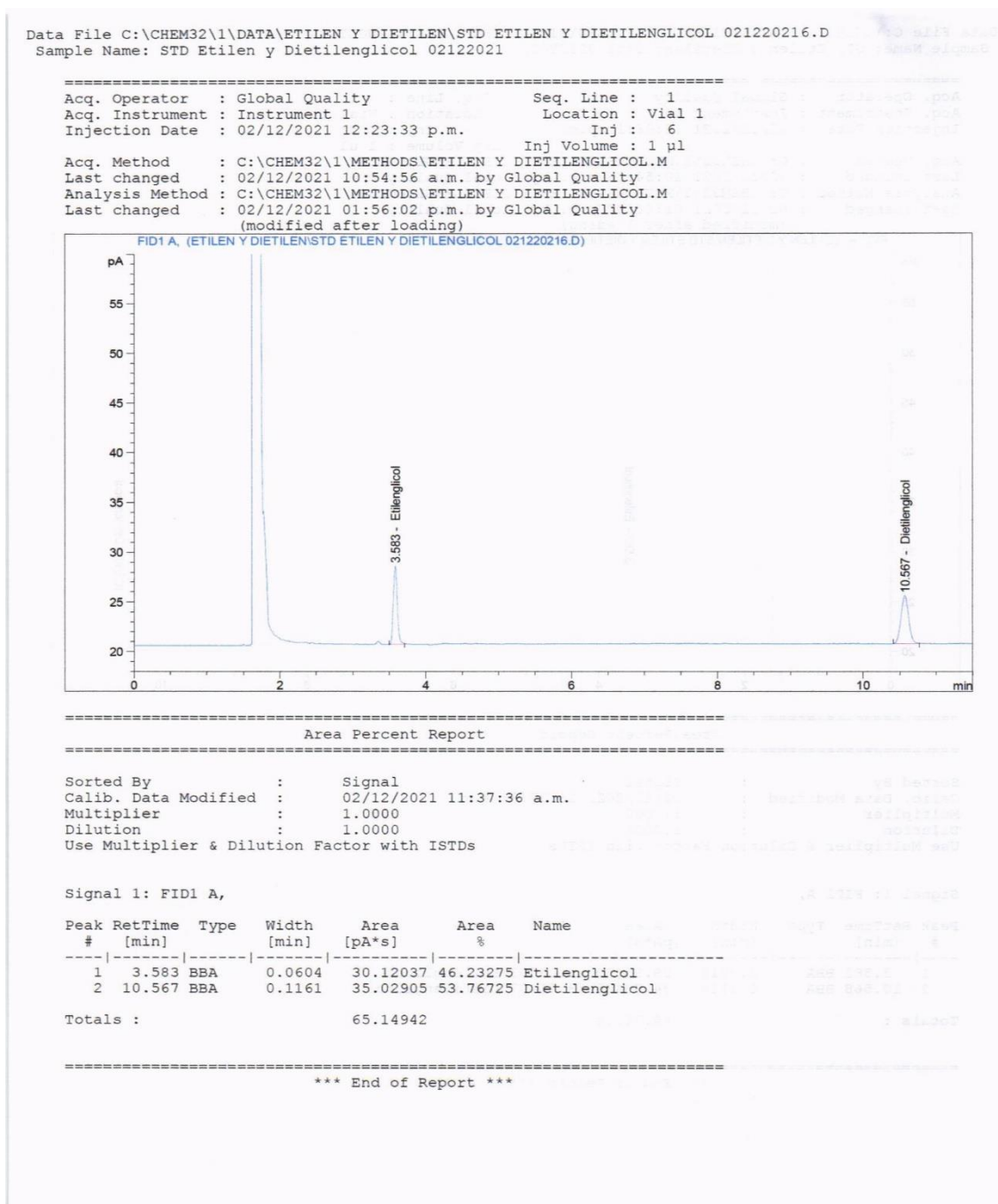
Fuente: elaboración propia, empleando CompassCDS.

Apéndice 8. Estándar mixto etilenglicol y dietilenglicol, repetición 5



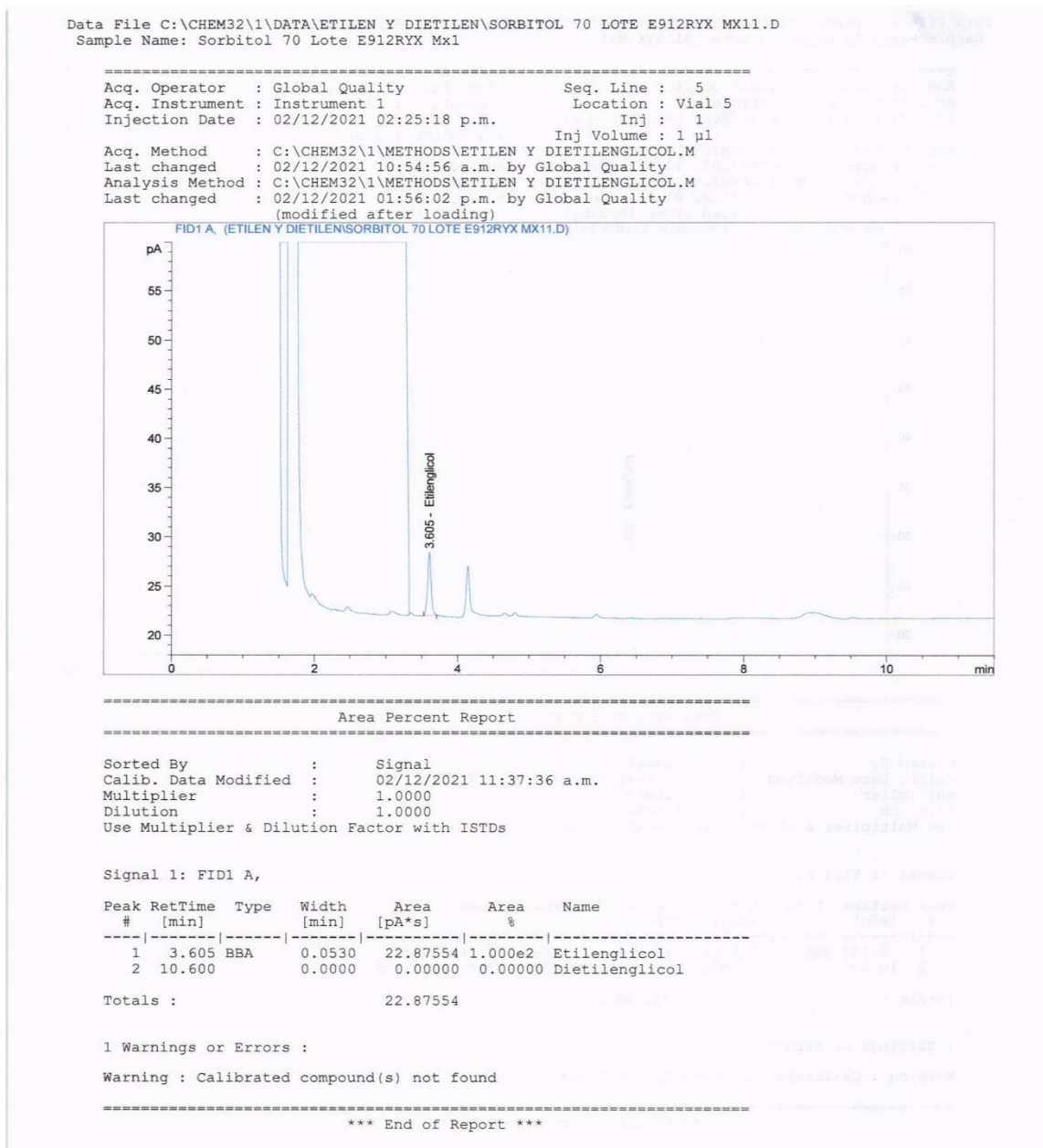
Fuente: elaboración propia, empleando CompassCDS.

Apéndice 9. Estándar mixto etilenglicol y dietilenglicol, repetición 6



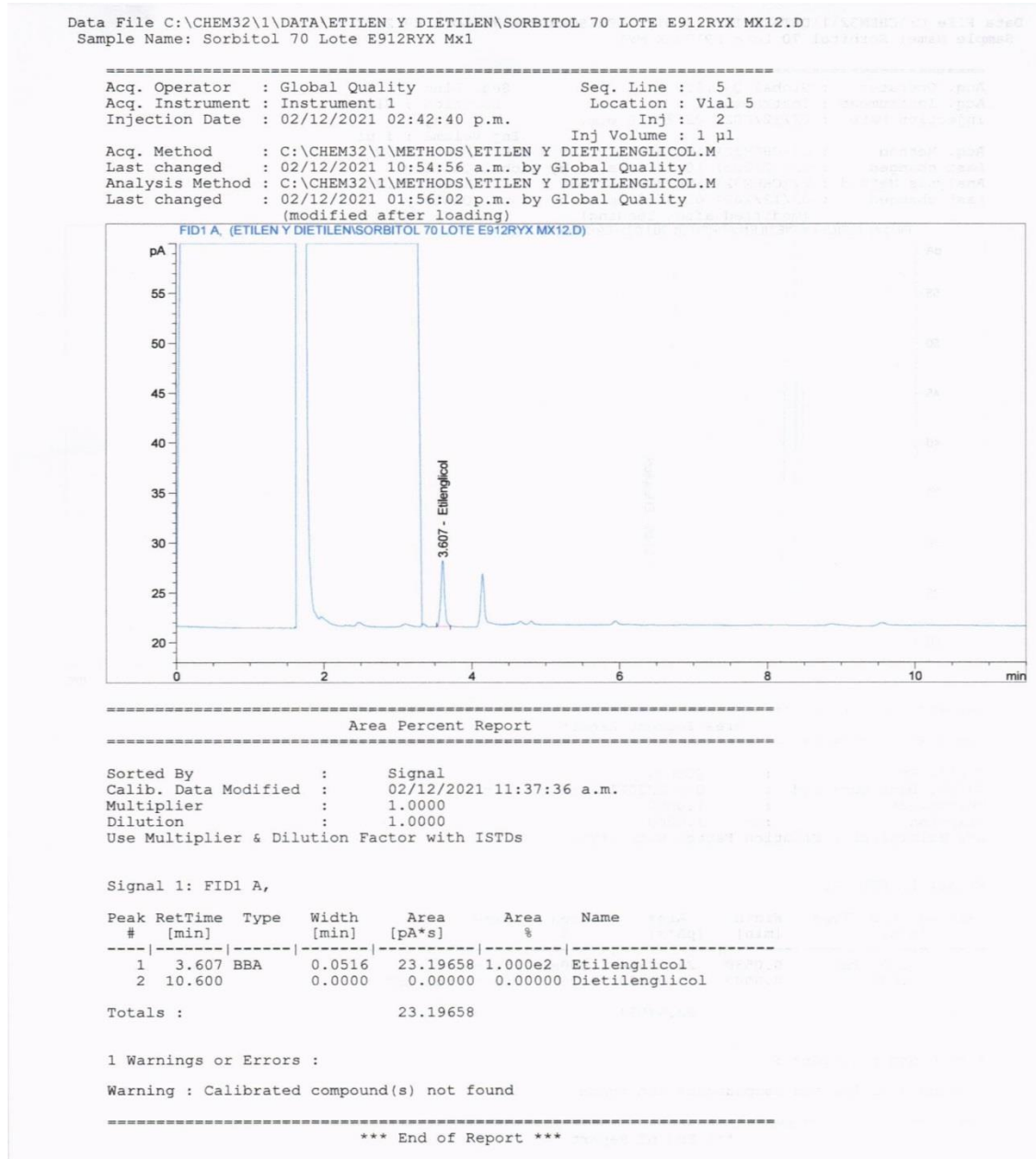
Fuente: elaboración propia, empleando CompassCDS.

Apéndice 10. Muestra 1 de sorbitol 70 %, repetición 1



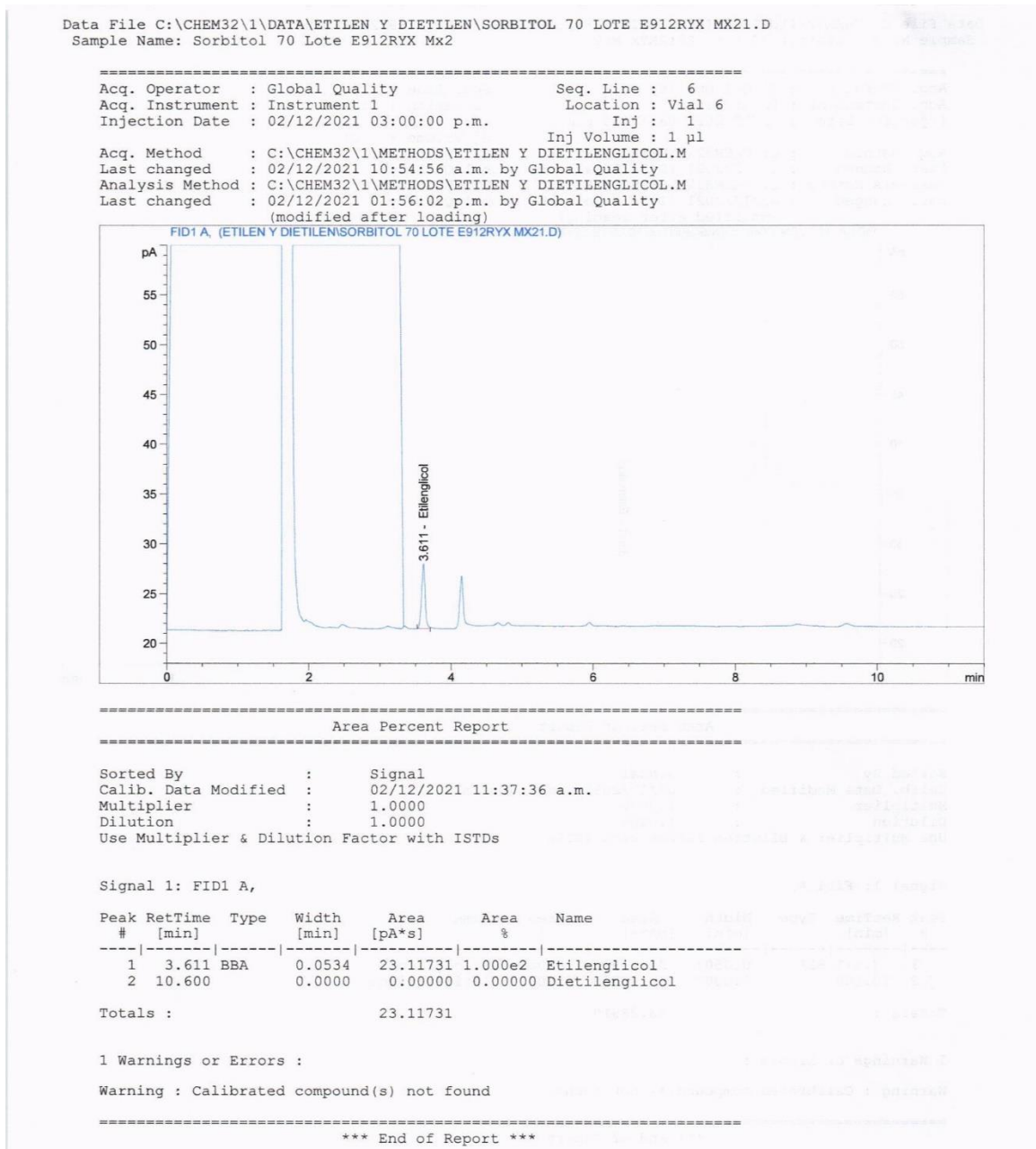
Fuente: elaboración propia, empleando CompassCDS.

Apéndice 11. Muestra 1 de sorbitol 70 %, repetición 2



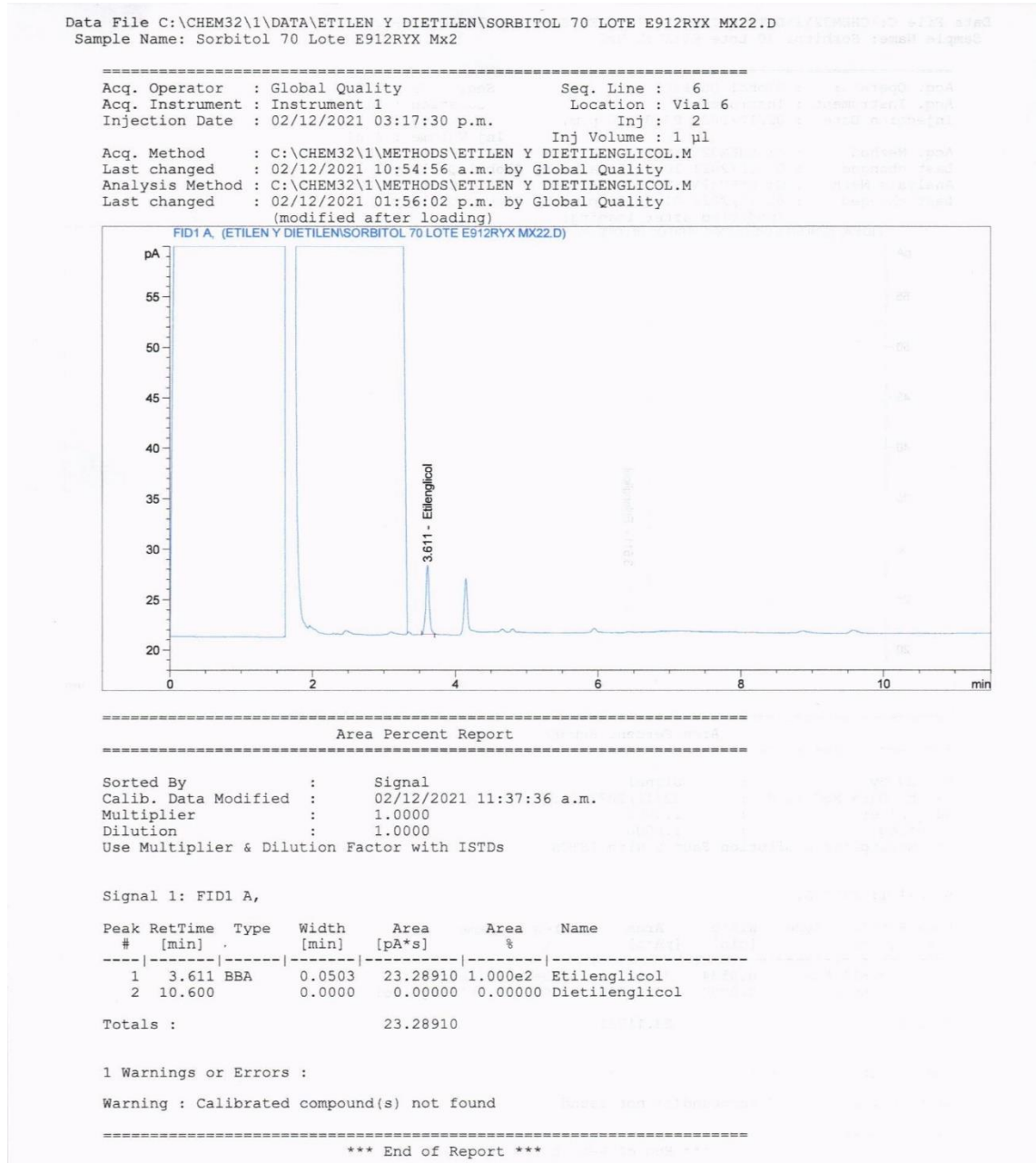
Fuente: elaboración propia, empleando CompassCDS.

Apéndice 12. Muestra 2 de sorbitol 70 %, repetición 1



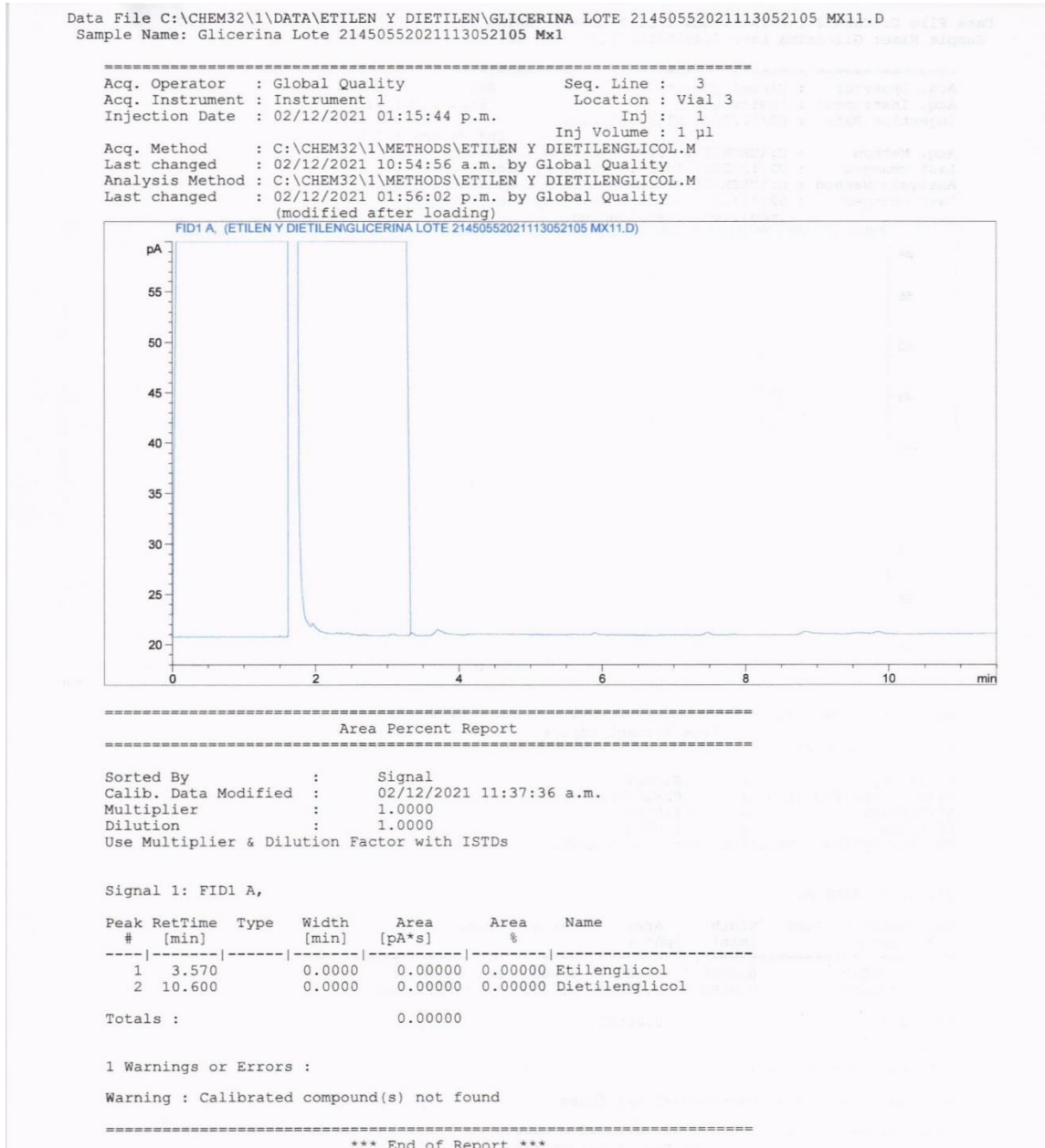
Fuente: elaboración propia, empleando CompassCDS.

Apéndice 13. Muestra 2 de sorbitol 70 %, repetición 2



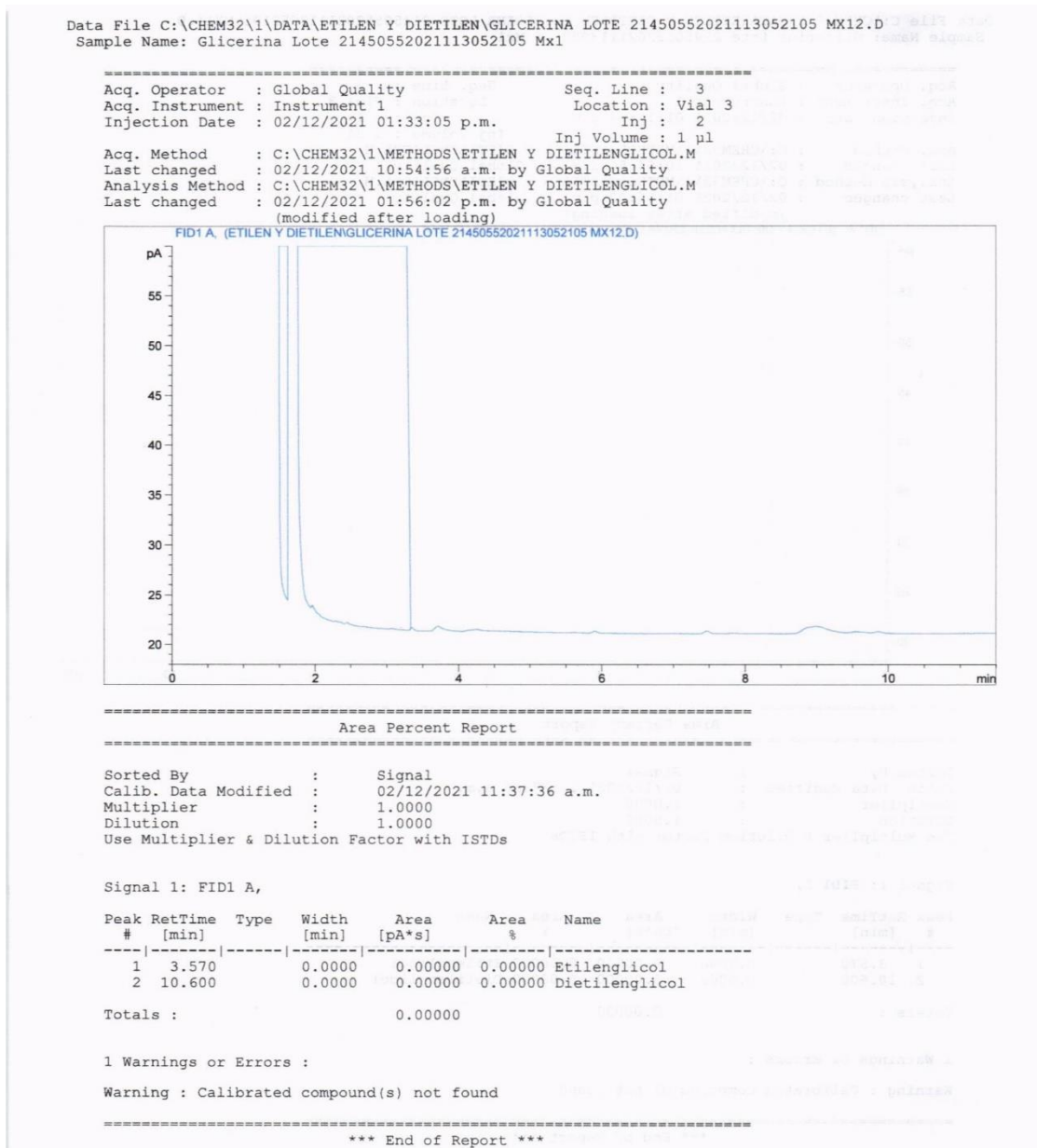
Fuente: elaboración propia, empleando CompassCDS.

Apéndice 14. Muestra 1 de glicerina, repetición 1



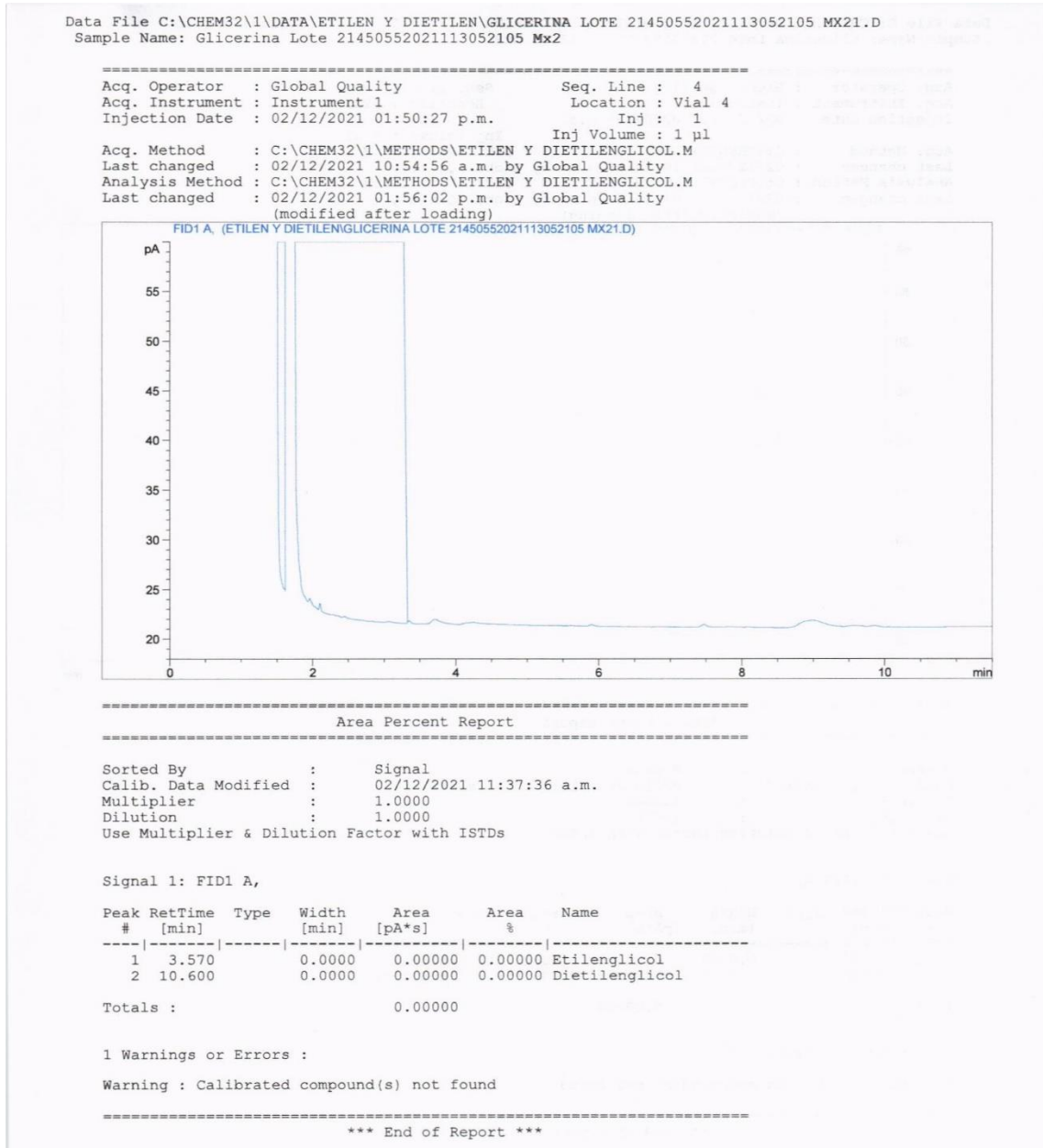
Fuente: elaboración propia, empleando CompassCDS.

Apéndice 15. Muestra 1 de glicerina, repetición 2



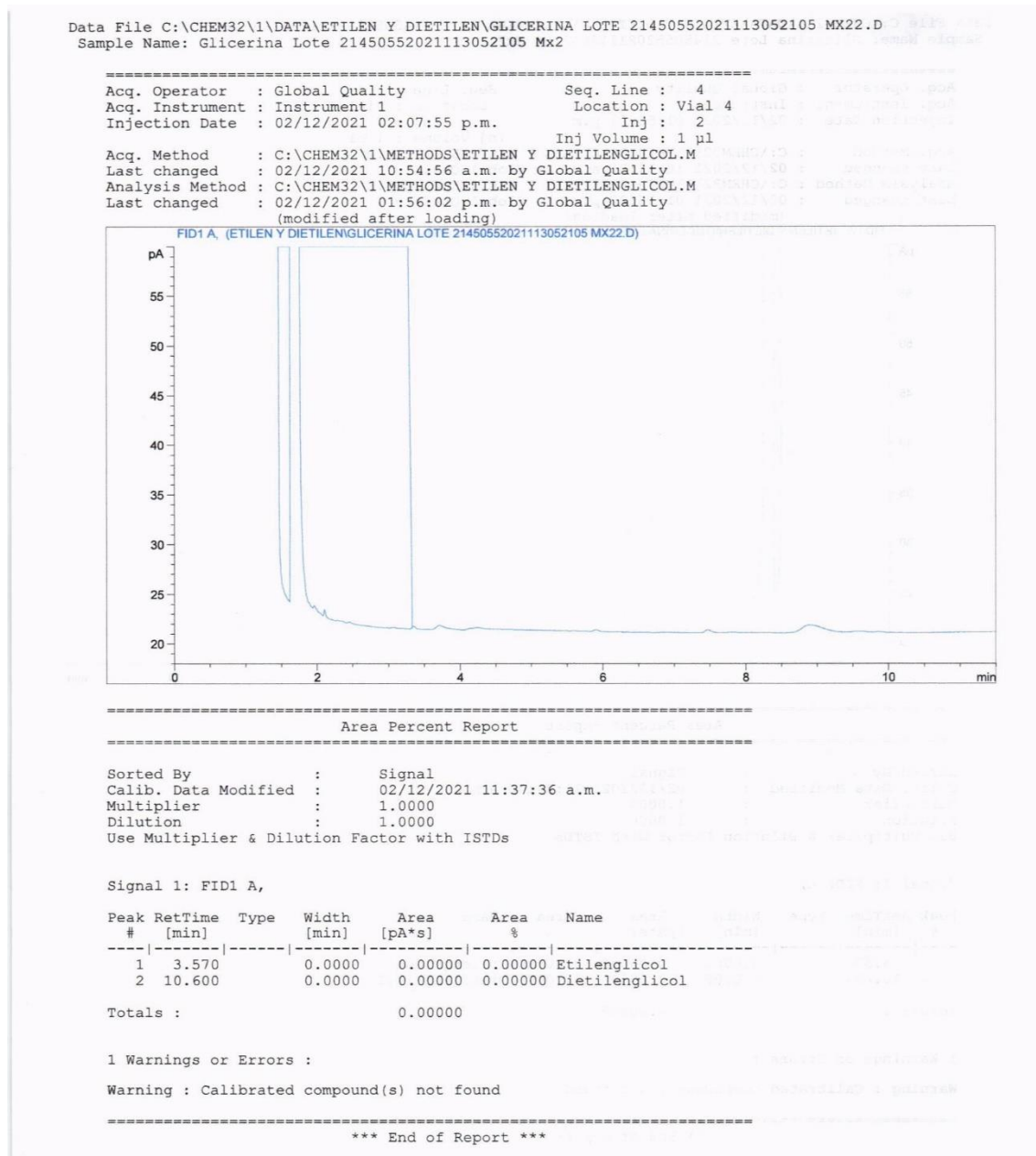
Fuente: elaboración propia, empleando CompassCDS.

Apéndice 16. Muestra 2 de glicerina, repetición 1



Fuente: elaboración propia, empleando CompassCDS.

Apéndice 17. Muestra 2 de glicerina, repetición 2



Fuente: elaboración propia, empleando CompassCDS.

ANEXO

Anexo 1. Serie de Informes Técnicos de la OMS

823

COMITE DE EXPERTOS DE LA OMS EN ESPECIFICACIONES PARA LAS PREPARACIONES FARMACÉUTICAS

32_ Informe

Organización Mundial de la Salud

Ginebra

Continuación del anexo 1.

La Organización Mundial de la Salud es un organismo especializado de las Naciones Unidas que se ocupa fundamentalmente de asuntos sanitarios internacionales y salud pública. Por conducto de esta organización, creada en 1948, los profesionales de la salud de unos 170 países intercambian sus conocimientos y experiencias con el objeto de que todos los ciudadanos del mundo puedan alcanzar en el año 2000 un grado de salud que les permita llevar una vida social y económicamente productiva.

Mediante la cooperación técnica directa de sus Estados Miembros y el fomento de dicha cooperación entre éstos, la OMS promueve el establecimiento de servicios completos de salud, la prevención y la lucha contra las enfermedades, el mejoramiento de las condiciones ambientales, la formación y el perfeccionamiento de los recursos humanos para la salud, la coordinación y el desarrollo de las investigaciones biomédicas y sobre servicios de salud, y la planificación y ejecución de programas de salud.

Un programa tan vasto comprende actividades muy variadas, entre las que cabe destacar el establecimiento de sistemas de atención primaria de salud que alcancen a todas las poblaciones de los Estados Miembros; el mejoramiento de la salud materno infantil; la lucha contra la desnutrición; la lucha contra el paludismo y otras enfermedades transmisibles, como la tuberculosis y la lepra; la coordinación de la estrategia mundial de prevención y lucha contra el SIDA; conseguida ya la erradicación de la viruela, el fomento de la inmunización en masa contra cierto número de otras enfermedades evitables; el mejoramiento de la salud mental; el abastecimiento de agua potable; y la formación de personal de salud de todas las categorías.

El mejoramiento de la salud en todo el mundo requiere también la colaboración internacional en ciertas actividades como el establecimiento de patrones internacionales para sustancias biológicas y de normas sobre plaguicidas y preparaciones farmacéuticas; la formulación de criterios de higiene del medio; la recomendación de denominaciones comunes internacionales para medicamentos; la administración del Reglamento Sanitario Internacional; la revisión de la Clasificación Internacional de Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud; y la compilación y difusión de estadísticas de salud.

De acuerdo con los intereses y prioridades de la Organización y sus Estados Miembros, las publicaciones de la OMS ofrecen información autorizada y orientación destinada a promover la salud y prevenir y controlar la enfermedad.

Continuación del anexo 1.

La Serie de Informes Técnicos de la OMS contiene las observaciones de diversos grupos internacionales de expertos que asesoran a la OMS, proporcionándole la información técnica y científica más reciente sobre una amplia gama de problemas médicos y de salud pública. Los miembros de estos grupos de expertos, que no perciben remuneración alguna, prestan servicio a título personal y no como representantes de gobiernos o de otros organismos. El precio de la suscripción anual a esta serie, que comprende de 12 a 15 informes, es de 120 francos suizos (84 francos suizos en los países en desarrollo).

ANEXO DE LA RESOLUCIÓN No. 339-2014 (COMIECO-LXVII)

**REGLAMENTO
TÉCNICO
CENTROAMERICANO**

RTCA 11.03.42:07

**PRODUCTOS FARMACEUTICOS MEDICAMENTOS DE USO HUMANO
BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA PARA LA INDUSTRIA
FARMACEUTICA**

Correspondencia: Este reglamento tiene correspondencia con el informe 32 elaborado por el Comité de Expertos de la Organización Mundial de la Salud.

ICS 11.000 RTCA 11.03.42:07

Reglamento Técnico Centroamericano editada por:

- Ministerio de Economía, MINECO
- Organismo Salvadoreño de Reglamentación Técnica, OSARTEC
- Ministerio de Fomento, Industria y Comercio, MIFIC
- Secretaria de Industria y Comercio, SIC
- Ministerio de Economía, Industria y Comercio, MEIC

Continuación del anexo 1.

INFORME

Los respectivos Comités Técnicos de Normalización a través de los Entes de Normalización de los Estados Miembros que Integran la Región Centroamericana, y sus sucesores, son los organismos encargados de realizar el estudio o la adopción de los Reglamentos Técnicos. Están integrados por representantes de la Empresa Privada, Gobierno, Organismos de Protección al Consumidor y Académico Universitario.

Este documento fue aprobado como Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.42:07 PRODUCTOS FARMACEUTICOS. MEDICAMENTOS DE USO HUMANO. BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA PARA LA INDUSTRIA

FARMACEUTICA, por los Subgrupos de Medidas de Normalización y Medicamentos y Productos Afines de la Región Centroamericana. La oficialización de este Reglamento Técnico, conlleva la aprobación por el Consejo de Ministros de Integración Económica (COMIECO).

MIEMBROS PARTICIPANTES DEL COMITÉ

Por Guatemala:

Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social

Por El Salvador:

Dirección Nacional de Medicamentos

Por Nicaragua:

Ministerio de Salud

Por Honduras:

Secretaria de Salud Pública

Por Costa Rica

Ministerio de Salud

Continuación del anexo 1.

**NORMA
TÉCNICA GUATEMALTECA**

**NTG/ISO/IEC
17025:2017**

Tercera Edición
2017-11

Traducción oficial
corregida 2018-03

Sustituye a la Norma
COGUANOR
NGR/ISO/IEC 17
025:2006.

**Requisitos generales para la competencia
de los laboratorios de
ensayo y calibración**

*General requirements for the competence of testing and
calibration laboratories*

*Publicado por la Secretaría Central de ISO en Ginebra, Suiza,
como traducción oficial en español avalada por el Translation
Management Group, que ha certificado la conformidad en
relación con las versiones inglesa y francesa.*

Adoptada Consejo Nacional de Normalización: 2018-03-23



Edificio CentroReferencia:
Nacional de
Metrología
Calzada AtanasioISO/IEC
Azul 27-32, zona 1217025:
2017
Teléfonos: (502)(traducción
2476-6784 al 87 oficial)
Fax: (502) 2476-ICS:
6777 03.120.20

Comisión Guatemalteca de Normas
Ministerio de Economía
www.mineco.gob.gt

Continuación del anexo 1.

Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración

1 Objeto y campo de aplicación

Este documento especifica los requisitos generales para la competencia, la imparcialidad y la operación coherente de los laboratorios.

Este documento es aplicable a todas las organizaciones que desarrollan actividades de laboratorio, independientemente de la cantidad de personal.

Los clientes del laboratorio, las autoridades reglamentarias, las organizaciones y los esquemas utilizados en evaluación de pares, los organismos de acreditación y otros utilizan este documento para confirmar o reconocer la competencia de los laboratorios.

2 Referencias normativas

Los siguientes documentos se referencian en el texto de tal forma que parte o la totalidad de su contenido constituyen requisitos de este documento. Para las referencias con fecha, sólo aplica la edición citada. Para las referencias sin fecha se aplica la última edición del documento de referencia (incluyendo cualquier modificación).

Guía ISO/IEC 99, *International vocabulary of metrology — Basic and general concepts and associated terms (VIM)*¹⁾

ISO/IEC 17000, *Evaluación de la conformidad — Vocabulario y principios generales*

Fuente: OMS. *Comité de expertos de la OMS en especificaciones para las preparaciones farmacéuticas*. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42320>. Consulta: 25 de mayo de 2021.