



**Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

TESIS:

**ESPECTROFOTOMETRÍA DERIVADA PARA EL ANÁLISIS
DE MEDICAMENTOS**

PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Químico Farmacéutico

BACHILLER:

RIVADENEYRA ALCANTARA, LINA DEL PILAR MELANY

ASESOR:

Q.F. GRANDE ORTIZ, MIGUEL ÁNGEL

LIMA – PERÚ

2016

DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo a mis padres y todas aquellas personas que de una u otra forma me brindaron su apoyo en forma incondicional.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por la fortaleza que me brindo durante los años de estudios y a todos nuestros docentes que con ahínco y dedicación nos brindaron todos sus conocimientos y experiencias

RESUMEN

El uso de la Espectrofotometría constituye una herramienta fundamental en el control de calidad de productos farmacéuticos, ya que al cumplir con los parámetros establecidos garantiza que los medicamentos comercializados cumplan con los estándares de calidad, eficacia y seguridad, por esto en el presente trabajo se propone un método simple y directo para identificar y cuantificar dos o más principios activos en un solo fármaco haciendo uso de la Espectrofotometría Derivada que es una técnica instrumental sencilla, económica y fácil de implementar en cualquier laboratorio de control de calidad.

Como se podrá apreciar en el desarrollo del trabajo se tomó en cuenta la técnica analítica obtenida de estudios realizados anteriormente y confirmando que los valores obtenidos para nuestras muestras problemas de dos productos farmacéuticos en forma de tabletas procedentes de marcas diferentes conteniendo cafeína y acetaminofén, por lo que al aplicar la técnica de espectrofotometría derivada de primer orden cumplen con lo establecido en la USP 39 y con lo declarado por el fabricante en el rotulado e inserto de los fármacos.

Palabras Claves: Espectrofotometría, USP, Técnica instrumental, estándares, calidad.

ABSTRACT

The use of spectrophotometry is a fundamental tool in quality control of pharmaceuticals, because by complying with the established parameters ensures that marketed drugs meet standards of quality, efficacy and safety, so in this paper it is proposed a simple and straightforward method to identify and quantify two or more active ingredients in a single drug using the Derivative spectrophotometry is a simple, inexpensive and easy to implement instrumental technique in any laboratory quality control.

As can be seen in the development of work took into account the analytical technique obtained from previous studies and confirming that the values obtained for our samples problems of pharmaceutical dos products in tablets from different brands containing caffeine and acetaminophen, so to apply the technique first order derivative spectrophotometry comply with the provisions of USP 39 and stated by the manufacturer on the labeling and insert the drugs.

Keywords: spectrophotometry, USP, instrumental technique, standards, quality.

ÍNDICE

| | |
|---|------------|
| CARÀTULA..... | I |
| DEDICATORIA | II |
| AGRADECIMIENTO | III |
| RESUMEN..... | IV |
| ABSTRAC..... | V |
| ÍNDICE DE TABLAS..... | IX |
| ÍNDICE DE GRÀFICOS..... | X |
| | |
| INTRODUCCIÒN | XII |
| | |
| CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 15 |
| | |
| 1.1 Descripción de la Realidad Problemática | 15 |
| 1.2 Formulación del Problema | 16 |
| 1.3 Objetivos de la Investigación | 16 |
| 1.3.1 Objetivo General..... | 16 |
| 1.3.2 Objetivos Específicos..... | 16 |
| | |
| 1.4 Hipótesis de la Investigación..... | 17 |
| 1.4.1 Hipótesis General | 17 |
| 1.4.2 Hipótesis Específica | 17 |
| | |
| 1.5 Justificación e Importancia de la Investigación | 17 |
| 1.5.1 Justificación | 17 |
| 1.5.2 Importancia..... | 18 |

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO II: MARCO TEÒRICO | 19 |
| 2.1 Antecedentes de la Investigación | 19 |
| 2.1.1 A nivel Nacional | 19 |
| 2.1.2 A nivel Internacionales..... | 20 |
| 2.2 Bases Teóricas | 21 |
| 2.2.1 Control de calidad de medicamentos..... | 21 |
| 2.2.2 Espectrofotometría | 22 |
| 2.2.3 Espectro Electromagnético..... | 22 |
| 2.2.4 Longitud de Onda | 23 |
| 2.2.5 Frecuencia..... | 23 |
| 2.2.6 Transmitancia y Absorbancia | 23 |
| 2.2.7 Ley de Lambert y Beer | 23 |
| 2.2.8 Espectrofotómetro | 25 |
| 2.2.9 Partes del Espectrofotómetro | 26 |
| 2.2.10 Tipos del Espectrofotometría..... | 29 |
| 2.2.11 Curva de Calibración | 33 |
| 2.2.12 Espectrofotometría Derivada..... | 35 |
| 2.2.13 Acetaminofén..... | 35 |
| 2.2.14 Cafeína..... | 37 |
| 2.3 Definición de Términos Básicos..... | 41 |
| 2.3.1 Cromatografía..... | 41 |
| 2.3.2 HPLC | 41 |
| 2.3.3 USP | 41 |
| 2.3.4 Sensibilidad | 41 |
| 2.3.5 Selectividad | 41 |
| 2.3.6 Validación | 41 |
| 2.3.7 FDA | 41 |
| 2.3.8 Especificaciones | 41 |

| | |
|--|-----------|
| 2.3.9 Técnica Analítica | 42 |
| CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN..... | 43 |
| 3.1 Tipo de Investigación..... | 43 |
| 3.1.1 Método..... | 43 |
| 3.1.2 Técnicas | 43 |
| 3.1.3 Diseño | 43 |
| 3.2 Población y Muestreo de la Investigación | 44 |
| 3.2.1 Población..... | 44 |
| 3.2.2 Muestra..... | 44 |
| 3.3 Variables e Indicadores | 44 |
| 3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos | 45 |
| 3.4.1 Técnicas | 45 |
| 3.4.2 Instrumentos..... | 48 |
| CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS..... | 49 |
| 4.1 Resultados | 49 |
| 4.2 Análisis e Interpretación de Resultados..... | 52 |
| DISCUSIÓN..... | 53 |
| CONCLUSION..... | 55 |
| RECOMENDACIONES..... | 56 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 57 |
| ANEXOS..... | 59 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| TABLA N° 1 Datos de la curva de calibración | 49 |
| TABLA N° 2 Determinación de pesos promedio | 50 |
| TABLA N° 3 Absorbancia de cafeína y acetaminofén al aplicar la primera Derivada..... | 51 |
| TABLA N° 4 Cuantificación de acetaminofén y cafeína en muestras analizadas..... | 52 |

ÍNDICE DE GRÁFICOS

| | |
|---|----|
| GRÁFICO Nº 1 Espectro Electromagnético..... | 22 |
| GRÁFICO Nº2 Ley de Lambert..... | 24 |
| GRÁFICO Nº 3 Ley de Beer | 24 |
| GRÁFICO Nº 4 Esquema de Espectrofotómetro | 26 |
| GRÁFICO Nº 5 Espectro de intensidad de la lámpara de deuterio | 27 |
| GRÁFICO Nº 6 Espectro de la intensidad de la lámpara de wolframio | 28 |
| GRÁFICO Nº 7 Tipos de Espectrofotometría..... | 30 |
| GRÁFICO Nº 8 Curva de calibración | 33 |
| GRÁFICO Nº 9 Interpolación gráfica | 34 |
| GRÁFICO Nº 10 Fórmula estructural del acetaminofén..... | 36 |
| GRÁFICO Nº 11 Fórmula estructural de la cafeína..... | 38 |
| GRÁFICO Nº 12 Preparación del Standar..... | 46 |

ANEXOS

| | |
|--|----|
| ANEXO N° 1: Matriz de Consistencia | 60 |
| ANEXO N° 2: Preparación de Estándares de Acetaminofén y Cafeína..... | 61 |
| ANEXO N° 3: Preparación de la Muestra | 62 |
| ANEXO N° 4: Curva de Calibración de Acetaminofén en Orden Cero | 63 |
| ANEXO N° 5: Curva de Calibración de Cafeína en Orden Cero..... | 64 |
| ANEXO N° 6: Curva de Calibración de Acetaminofén y Cafeína de Orden Cero | 65 |
| ANEXO N° 7: Curva de Calibración de Acetaminofén en Orden Uno | 66 |
| ANEXO N° 8: Curva de Calibración de Cafeína en Orden Uno..... | 67 |
| ANEXO N° 9: Identificación y Contenido de Acetaminofén y Cafeína de Orden Cero | 68 |
| ANEXO N° 10: Identificación y Contenido de Acetaminofén y Cafeína de Orden Uno..... | 69 |
| ANEXO N° 11: Cálculos de la Cuantificación..... | 70 |

INTRODUCCIÓN

La química analítica puede definirse como la ciencia que desarrolla y mejora métodos e instrumentos para obtener información sobre la composición y naturaleza química de la materia. Dentro de la química analítica se incluye el análisis químico que es la parte práctica que aplica los métodos de análisis para resolver problemas relativos a la composición y naturaleza química de la materia. ¹

Para que se pueda llevar a cabo el análisis cuantitativo hacemos usos de métodos como los métodos clásicos o químicos: Gravimétrico, donde se determina la masa o algún compuesto relacionado químicamente al analito en estudio, Volumétrico, mide el volumen de una disolución de una concentración conocida que reaccionara completamente con el analito. Existen además los métodos de separación como la cromatografía, método que permite separar gases de líquidos, de una mezcla, produciendo unas manchas coloreadas que se producen por absorción.

Los métodos más modernos de análisis se conocen con el nombre de métodos instrumentales:, aquí tenemos a los electro analíticos, que mide algunas propiedades eléctricas como potencial, intensidad de corriente, cantidad de electricidad y resistencia y los espectrofotométricos, que significa medida del espectro de la luz, este método se basa en la medida de la radiación electromagnética luego de la interacción con los átomos o moléculas del analito, o bien la medición de la radiación electromagnética a partir del analito cuando la materia ha sido sometida a algún tipo de excitación.

Con el transcurrir de los años los métodos de análisis se han ido perfeccionando como en el caso de la espectrofotometría, este método se comienza a desarrollar en el año 1940 con la aparición de primer espectrofotómetro creado por Arnol J. Beckman, el cual ofrecía un 99.99% de exactitud en los análisis, logrando con esto tener gran acogida en laboratorios de química, bioquímica,

industrial, entre otros, dejando de ser así un simple instrumento y pasando a ser un método de análisis altamente difundido y perfeccionado con el transcurrir de los años, desarrollándose tipos de espectrofotometría como el caso de la Espectrofotometría Derivada que comenzó a ser difundida por los años 50, y tiene como ventaja resolver ciertos problemas analíticos; sin embargo no fue muy aceptado debido a las limitaciones que existían por el alto costo de los instrumentos de aquella época y a que solo se limitaba a la obtención de la primera derivada.² En los últimos años se vienen realizando trabajos de investigación que demuestran la gran utilidad al implementar este método en los campos de Farmacia y Bioquímica, para el análisis de fármacos, debido a su sensibilidad y selectividad para detectar diferentes analitos capaces de diferenciar espectros de absorción de diferentes compuestos. Una de las utilidades que le damos en el campo de la Bioquímica es garantizar la calidad de los medicamentos comercializados en nuestro país haciendo uso de un método seguro, eficaz y económico ya que, de acuerdo a lo señalado por la Asociación Nacional de Laboratorios Farmacéuticos (LAFARPE), el mercado farmacéutico Peruano creció 8% en el 2015 equivalente a US\$2 mil millones 4; este crecimiento exige el desarrollo de nuevas drogas de uso masivo y con ello la necesidad de disponer de métodos eficaces y efectivos, para la determinación de compuestos activos de diversas formulaciones farmacéuticas, garantizando con esto que los medicamentos comercializados en nuestro país cumplan con los estándares de calidad. Si bien es cierto que actualmente contamos con una gran variedad de técnicas analíticas instrumentales para la determinación de fármacos, en la Espectrofotometría Derivada podemos encontrar un método exacto, preciso, reproducible, además brinda la facilidad de trabajar en fármacos asociados sin la necesidad de realizar operaciones adicionales de separación, lo que genera ahorro en tiempo y dinero.

La asociación de principios activos en algunos medicamentos como el caso de cafeína y acetaminofén viene siendo fabricada y comercializada por una gran

cantidad de laboratorios farmacéuticos nacionales y extranjeros debido a la alta demanda por su acción analgésica para el tratamiento de cefaleas principalmente, por lo que su análisis no se podría efectuar en aquellos laboratorios que no contasen con un equipo de alta tecnología, como el de cromatografía líquida HPLC , sin embargo una alternativa de análisis muchos más rápido y menos costoso es espectrofotometría derivada.

El acetaminofén, muy utilizado desde la antigüedad para el tratamiento del dolor moderado, agudo y crónico; actúa inhibiendo la ciclooxigenasa en el sistema nervioso central, enzimas que participan en la síntesis de prostaglandinas, además de tener acción antipirética ya que bloquea el pirógeno exógeno del centro hipotalámico (es el que regula la temperatura), inhibiendo la síntesis de prostaglandinas. La temperatura será disipada por vasodilatación, aumento del flujo sanguíneo periférico y sudoración.

Cafeína, es un estimulante del sistema nervioso central, aumentando el 3,5-AMP-cíclico por inhibición de la fosfodiesterasa, es así como aumenta la sensibilidad del centro respiratorio bulbar, estimula el impulso respiratorio central y aumenta la contracción de la musculatura esquelética. La acción de la cafeína tiene diversos objetivos moleculares³

Se sabe que la cafeína acelera la absorción del acetaminofén, debido a que esta aumenta el flujo sanguíneo en la mucosa gástrica, además de ser ambos sustratos del citocromo P450, consiguiendo así la acción analgésica óptima.

CAPÍTULO I:

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la Realidad Problemática

De acuerdo a lo señalado por la Asociación Nacional de Laboratorios Farmacéuticos (LAFARPE), el mercado farmacéutico Peruano creció 8% en el 2015 equivalente a US\$2 mil millones;⁴ de además de la comercialización de medina ilegal que hasta la actualidad no ha podido ser erradicada del país, tal como lo publica el diario La República en su edición del 22 de marzo 2015, que en el año 2014, un 59.4% de las medicinas incautadas fueron realizadas en establecimientos farmacéuticos y un 52.98% de las muestras analizadas por el Instituto Nacional de Salud (INS) carecían de principio activo. Este crecimiento del mercado farmacéutico y la comercialización ilícita de medicamentos en el Perú exige el desarrollo de nuevas drogas de uso masivo y con ello la necesidad de disponer de métodos eficaces y efectivos; para la determinación de compuestos activos de diversas formulaciones farmacéuticas, garantizando con esto que los medicamentos comercializados en nuestro país cumplan con los estándares de calidad. Si bien es cierto que actualmente contamos con una gran variedad de técnicas analíticas instrumentales para la determinación de fármacos, en la Espectrofotometría Derivada podemos encontrar un método exacto, preciso, reproducible, además brinda la facilidad de trabajar en fármacos asociados sin la necesidad de realizar operaciones adicionales de separación, lo que genera ahorro en tiempo y dinero.

La asociación de principios activos en algunos medicamentos como el caso de cafeína y acetaminofén viene siendo fabricada y comercializada por una gran cantidad de establecimientos farmacéuticos nacionales y extranjeros debido a la alta demanda por su acción analgésica para el tratamiento de

cefaleas principalmente, por lo que su análisis no se podría efectuar en aquellos laboratorios que no contasen con un equipo de alta tecnología, como el de cromatografía líquida de alta performance (HPLC) , sin embargo una alternativa de análisis muchos más rápido y menos costoso es espectrofotometría derivada. Lo cual no brinda la facilidad de poder implementar este método en laboratorios de educación superior y de control de calidad.

1.2 Formulación del Problema

¿El método de Espectrofotometría Derivada permitió identificar y cuantificar acetaminofén y cafeína en muestras de tabletas comercializadas en el centro comercial Capón Center entre junio y agosto de 2016?

1.3 Objetivos de la Investigación

1.3.1 Objetivo General

Determinar si el método de Espectrofotometría Derivada permite el análisis de Acetaminofén y cafeína en tabletas conteniendo acetaminofén y cafeína.

1.3.2 Objetivos Específicos

O.E.1: Identificar los principios activos acetaminofén y cafeína por Espectrofotometría Derivada en tabletas conteniendo acetaminofén y cafeína.

O.E.2: Cuantificar los principios activos acetaminofén y cafeína por Espectrofotometría Derivada en tabletas conteniendo acetaminofén y cafeína.

O.E.3: Verificar si las tabletas que contienen acetaminofén y cafeína cumplen con los límites permisibles según las especificaciones registradas en la USP 39.

1.4. Hipótesis de la Investigación

1.4.1 Hipótesis General

Mediante el método de Espectrofotometría Derivada se pudo realizar el análisis de acetaminofén y cafeína en tabletas conteniendo acetaminofén y cafeína.

1.4.2 Hipótesis Específicas

H.E.1: El método de Espectrofotometría Derivada fue capaz de identificar los principios activos acetaminofén y cafeína en tabletas conteniendo acetaminofén y cafeína.

H.E.2: El método de Espectrofotometría Derivada fue capaz de cuantificar los principios activos acetaminofén y cafeína en tabletas conteniendo acetaminofén y cafeína

H.E.3: Las tabletas que contienen acetaminofén y cafeína cumplen con las especificaciones registradas en la USP 39.

1.5 Justificación e Importancia de la Investigación

1.5.1 Justificación

Mediante el método de Espectrofotometría Derivada es posible lograr diferenciar los analítos mediante espectros ultravioleta y visible, lo

cual garantiza una medición a la longitud de onda de máxima Absorbancia con una perfecta resolución de los espectros, brindando una información más completa y exacta de la sustancia a analizar, sin tener que efectuar separaciones disminuyendo el tiempo y el costo de los análisis, en comparación con el método estándar de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), el cual es el más utilizado hasta la fecha por la industria farmacéutica y laboratorios de análisis de control de calidad, el cual requiere de una mayor inversión de dinero para su desarrollo; es por ello que se propone la Espectrofotometría Derivada como método alternativo para ser implementado no solo en laboratorios de control de calidad, sino también en centros de formación académica logrando cumplir dos aspectos básicos que se debe contemplar al momento de realizar cualquier técnica analítica: la sensibilidad y la selectividad, lo que garantiza un análisis confiable, en un menor tiempo y aun menor costo.

Por lo que se propone un método que permitirá identificar y cuantificar una mezcla de medicamentos a un menor costo facilitando su implementación

1.5.2 Importancia

El presente trabajo permite implementar un método alternativo rápido y económico para la identificación y cuantificación de medicamentos en establecimientos farmacéuticos y en centros de educación superior.

CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la Investigación

2.1.1 Antecedentes Nacionales

1. De la investigación realizada por; Rodríguez B. Angélica. **Determinación de cafeína en bebidas oscuras y determinación de caseína en leche. Aplicación de la espectrofotometría de segunda derivada**, Quím. Ing. Quím.2001; 4(2): 72-77. ⁵ se determinó cafeína en bebidas oscuras y de caseína en leche turbia utilizándose el método de espectrofotometría Derivada debido a que no es posible su determinación directa, en el trabajo se desarrolló además mediante la técnica llamada Adición de Patrón que consiste en tomar alícuotas iguales de la muestra y luego se adiciona a tres de ellas diferentes concentraciones del analito. Estos análisis se realizaron por triplicado, observándose mediante los gráficos anexados al trabajo que los resultados no presentaron desviaciones apreciables, garantizando con esto la fiabilidad de los procesos.

Los resultados que se obtuvieron de la experiencia para el análisis de la caseína en la leche fue del 3% que corresponde a los valores aceptados para la muestra, mientras que el resultado para cafeína en bebidas gasificadas oscuras fue de 3% no pudo ser confrontada por no encontrar referencias bibliográficas.

Tomando como referencia el análisis realizado a este tipo de muestras se puede considerar la aplicación del método de Espectrofotometría Derivada para otros campos diferentes a la determinación de fármacos.

2. De la investigación de: José Estrada; Rodolfo Pumachagua. **Determinación de nicotina en cigarrillos aplicando la técnica de la segunda derivada.** Revista de la Sociedad Química del Perú 2007. ⁶ Se determinó nicotina en muestras de tabaco, que corresponden a marcas de cigarrillos comercializados en Perú, utilizando la determinación por arrastre y luego determinación por espectrofotometría derivada, aplicando la técnica de segunda derivada.

La espectrofotometría derivada fue utilizada para la determinación cuantitativa, debido a su simplicidad y eficacia. Al momento de efectuar el análisis de la nicotina se llevó a cabo entre 250 y 265 nm, la curva de calibración se obtuvo de diez diferentes concentraciones de estándar y cada una con diez repeticiones.

Se llegó a la conclusión que la técnica de la segunda derivada es apropiada para el análisis de nicotina contenida en muestras de tabaco, ya que permitió una lectura clara y precisa sin necesidad de realizar ningún ajuste.

2.1.2 Antecedentes Internacionales

1. En el trabajo de investigación realizado por: Erdal Dinc, Feyyaz Onur **Application of a New Spectrophotometric Method for the Analysis of a Ternary Mixture Containing Metamizol, Paracetamol and Caffeine in Tablets**, 1997, Ankara Turkey. Se aplicó el método de Espectrofotometría Derivada para cuantificar acetaminofén, cafeína y metamizol, luego de aplicado el análisis los autores llegaron a la conclusión que la Espectrofotometría Derivada es un método apropiado para cuantificar farmacos multicomponentes.⁷

2.-Del artículo elaborado por: Donato, E.M.1; Canedo, N.A.; Adams, A.I.; Fröhlich, P.E; Bergold, A.M. **Espectrofotometría Derivada: Una Contribución Práctica para Desarrollar Métodos**, Rev Cienc Farm Básica Apl., 2010; 31 (2):125-130. Se describe a la Espectrofotometría Derivada como una herramienta muy importante en el control de calidad de fármacos que contienen más de un principio activo, resaltando en el los beneficios al utilizar este método como el hecho de que no se requiere separación previa de los componentes a analizar, lo accesible a la mayoría de los laboratorios de análisis, el bajo costo, describiendo además la técnica de punto de cancelación, teniendo como objetivo promover la implementación de este método para el control de calidad; y para esto se tuvo en cuenta el análisis de un fármaco que combina Lopinavir y Ritonavir que es un inhibidor de la proteasa del virus de inmunodeficiencia humana.

En este análisis se utilizó la derivada de primer cero. Al finalizar el análisis se pudo demostrar la efectividad del método, respaldando la importancia y factibilidad para implementar el uso de este método.⁸

2.2 Bases Teóricas

2.2.1 Control de calidad de los medicamentos

Todas las medidas tomadas, incluyendo el establecimiento de especificaciones, muestreo, análisis e informe de análisis, para asegurar que las materias primas, productos intermedios, materiales de envase y productos farmacéuticos terminados cumplan con las especificaciones establecidas para identidad, contenido, pureza y otras características.⁹

2.2.2 Espectrofotometría

Deriva de “medida del espectro de la luz”, Es una de las técnicas experimentales que más se utiliza para la determinación y cuantificación de compuestos, haciendo uso de un equipo llamado espectrofotómetro, el cual aprovecha la propiedad del compuesto al absorber o emitir radiación electromagnética.

2.2.3 Espectro Electromagnético

Se define la luz como un conjunto de radiaciones capaces de mover por todo el espacio, algunas capaces de ser observadas por el ojo humano (luz visible), pero la gran mayoría no es posible observarla.

Estas radiaciones pueden describirse como ondas se basa en que la luz son campos eléctricos y magnéticos que oscilan perpendicularmente a la dirección de traslación por el campo dando lugar a ondas transversales.

La radiación electromagnética (cualquier fenómeno ondulatorio) se define por dos parámetros.

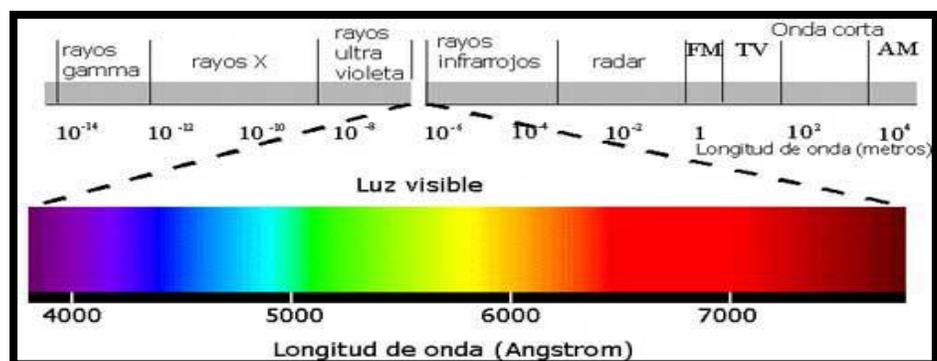


GRÁFICO N° 1: Espectro Electromagnético

Fuente: Espectro Electromagnético de Aguacatillo.

2.2.4 Longitud de onda (λ),

Distancia recorrida por un ciclo completo de cresta a cresta en una onda.

2.2.5 Frecuencia (ν),

Número de oscilaciones que realiza la onda por segundo.¹⁰

2.2.6 Transmitancia y Absorbancia,

La Transmitancia es la cantidad de luz que atraviesa un cuerpo, en una determinada longitud de onda. El valor de la Transmitancia se puede determinar por la siguiente formula.

$$T = \frac{I}{I_0} \quad \text{En porcentaje} \quad T\% = \frac{I}{I_0} \cdot 100\%$$

Donde I es la cantidad de luz transmitida e I_0 es la cantidad total de luz incidente.

La absorbancia, hace referencia a la cantidad de luz que absorbe un cuerpo. La absorbancia a una determinada longitud de onda se define como:

$$A_\lambda = -\log_{10} \left(\frac{I}{I_0} \right)$$

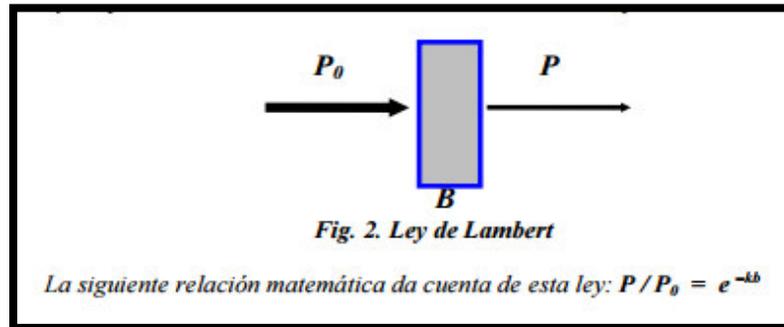
Donde I es la intensidad de la luz que pasa por la muestra (luz transmitida) y I_0 es la intensidad de la luz incidente.

2.2.7 Ley de Lambert y Beer

Ley de Lambert.: Esta ley establece que cuando pasa luz monocromática por un medio homogéneo, la disminución de la intensidad del haz de luz incidente es proporcional al espesor del medio, lo que equivale a decir que la intensidad de la luz transmitida

disminuye exponencialmente al aumentar aritméticamente el espesor del medio absorbente

GRÁFICO N° 2: Ley de Lambert



Fuente: Fundamentos de Espectrofotometría.

Po: Intensidad de la luz incidente P: Intensidad de la luz transmitida b: Espesor del medio absorbente k: Constante, cuyo valor depende de la naturaleza del soluto, de la longitud de onda de la luz incidente, del espesor del medio absorbente y de la naturaleza del medio.

Ley de Beer: La intensidad de un haz de luz monocromática disminuye exponencialmente al aumentar aritméticamente la concentración de la sustancia absorbente, cuando este haz pasa a través de un medio homogéneo

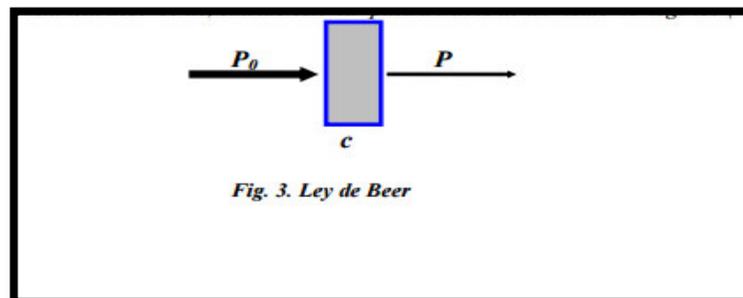


GRÁFICO N° 3: Ley de Beer

Fuente: Fundamentos de Espectrofotometría.

La relación matemática que da cuenta de esta ley se muestra a continuación:

$$P / P_0 = e^{-k'c}$$

Donde:

P₀: Intensidad de la luz incidente P: Intensidad de la luz transmitida c: Concentración de la solución k: Constante, cuyo valor depende de la naturaleza del soluto, de la longitud de onda de la luz incidente, de la concentración de la solución, y frecuentemente, de la naturaleza del medio.

Ambas leyes se combinan en una sola, generando la Ley de Lambert-Beer

$$\log P_0 / P = a b c \text{ ó } A = a b c$$

$$A = \log P_0 / P = - \log T$$

Donde:

a : Absortividad

b : Longitud o espesor del medio (longitud de la cubeta)

c : Concentración de la solución

P/P₀=T: Transmitancia¹¹

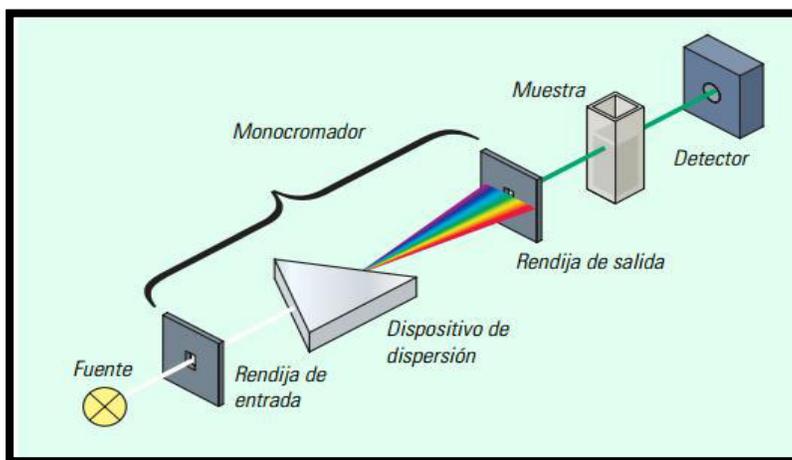
2.2.8 Espectrofotómetro

El espectrofotómetro es un instrumento que se utiliza para medir la Transmitancia y absorbancia de una muestra, en función de la

longitud de onda de la radiación electromagnética. Consta de las siguientes partes¹²

- ❖ Fuente de luz
- ❖ Dispositivos de dispersión.
- ❖ Área de muestra
- ❖ Detectores
- ❖ Componentes ópticos: lentes y espejos.

GRÁFICO N° 4: Esquema de un Espectrofotómetro convencional



Fuente: Fundamentos de Espectrofotometría UV-Visible Moderna de Tony Owen.

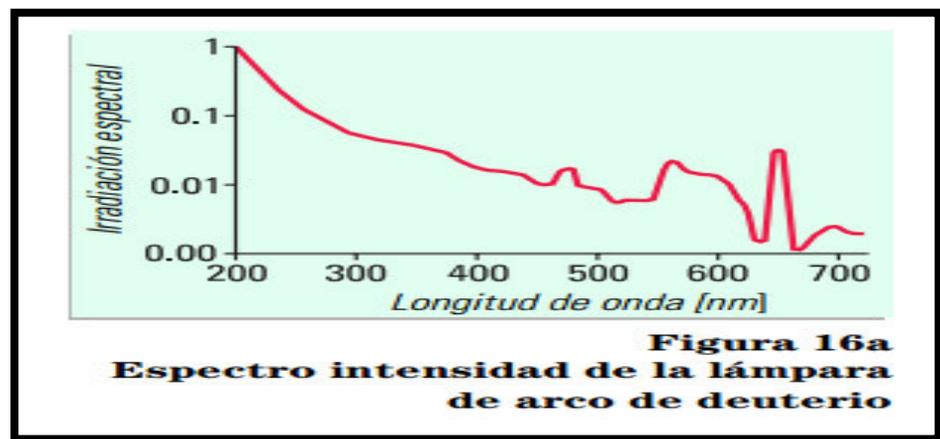
2.2.9 Partes del Espectrofotómetro

- ❖ **Fuente de Luz:** se trata de la luz que incide sobre la muestra que se va a analizar, la cual debe cumplir con ciertas condiciones como es la estabilidad, direccionalidad, distribución de energía continua, en los espectrofotómetros UV-Visible se utilizan lámpara de arco de deuterio que ofrece una intensidad útil en la región UV-Visible, estas lámparas tienen una vida media (el tiempo requerido para que la intensidad caiga a la mitad de su valor inicial) de

aproximadamente, 1000 horas, también se utiliza lámpara halógena de wolframio que posee una vida útil de 10000 horas. En la actualidad la mayoría de espectrofotómetros utilizan ambas lámparas para el rango de UV-Visible, alternando cada una de ellas según corresponda o bien se mezcla la luz procedente de las dos fuentes para dar lugar a una sola banda ancha.

La lámpara de arco de Deuterio, produce un buen continuo de intensidad en la región UV y ofrece una intensidad útil en la región visible, tal como se muestra en el gráfico 5.

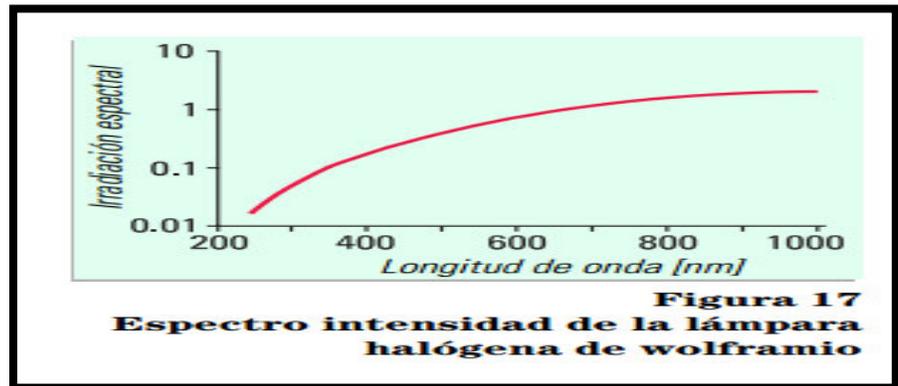
GRÁFICO Nº 5: Espectro de Intensidad de la Lámpara Deuterio



Fuente: Fundamentos de Espectrofotometría UV-Visible Moderna de Tony Owen.

La lámpara halógena de Wolframio, ofrece buena intensidad en parte del espectro UV y sobre el rango visible completo

GRÁFICO N° 6: Espectro de Intensidad de la Lámpara Halógena de Wolframio



Fuente: Fundamentos de Espectrofotometría UV-Visible Moderna de Tony Owen.

Dispositivos de dispersión: estos dispositivos son los encargados de dispersar en ángulos diferentes las distintas longitudes de onda, si se desea seleccionar una longitud de onda específica se hará uso de una rejilla adecuada.

Existen dos tipos de dispositivos de dispersión; prismas y redes holográficas.

Los prismas utilizados en el espectrofotómetro proyectan los colores que tiene un arcoíris. Los prismas son económicos y más simples, produce una dispersión resultante no lineal y el ángulo de dispersión depende de la temperatura.

Las redes holográficas son de cristal, en los que se realizan hendiduras muy estrechas. Las dimensiones de las hendiduras son del mismo orden que las longitudes de onda que se va a dispersar, luego se coloca un recubrimiento de aluminio para que de esta forma la luz que incide sobre la red se refleje en diferentes ángulos dependiendo de la longitud de onda. Estas redes holográficas no son sensibles a la temperatura.

El monocromador está constituido por una rendija de entrada, un dispositivo de dispersión y una rendija de salida.

❖ **Área de la muestra:** aquí encontramos las celdas, donde se depositan las muestras líquidas que se va a analizar, el material varía de acuerdo a la región donde se va a trabajar, las cuales pueden ser de vidrio o plástico si se trabaja en la región visible o de cuarzo si se trabaja en la región ultravioleta.

❖ **Detectores:** es el encargado de convertir una señal de luz en una señal eléctrica; los espectrofotómetros pueden contener un tubo fotomultiplicador o un tubo fotodiodo como detector.

El tubo fotomultiplicador combina la conversión de la señal con varias etapas de amplificación, este detector ofrece alta sensibilidad a bajos niveles de luz.

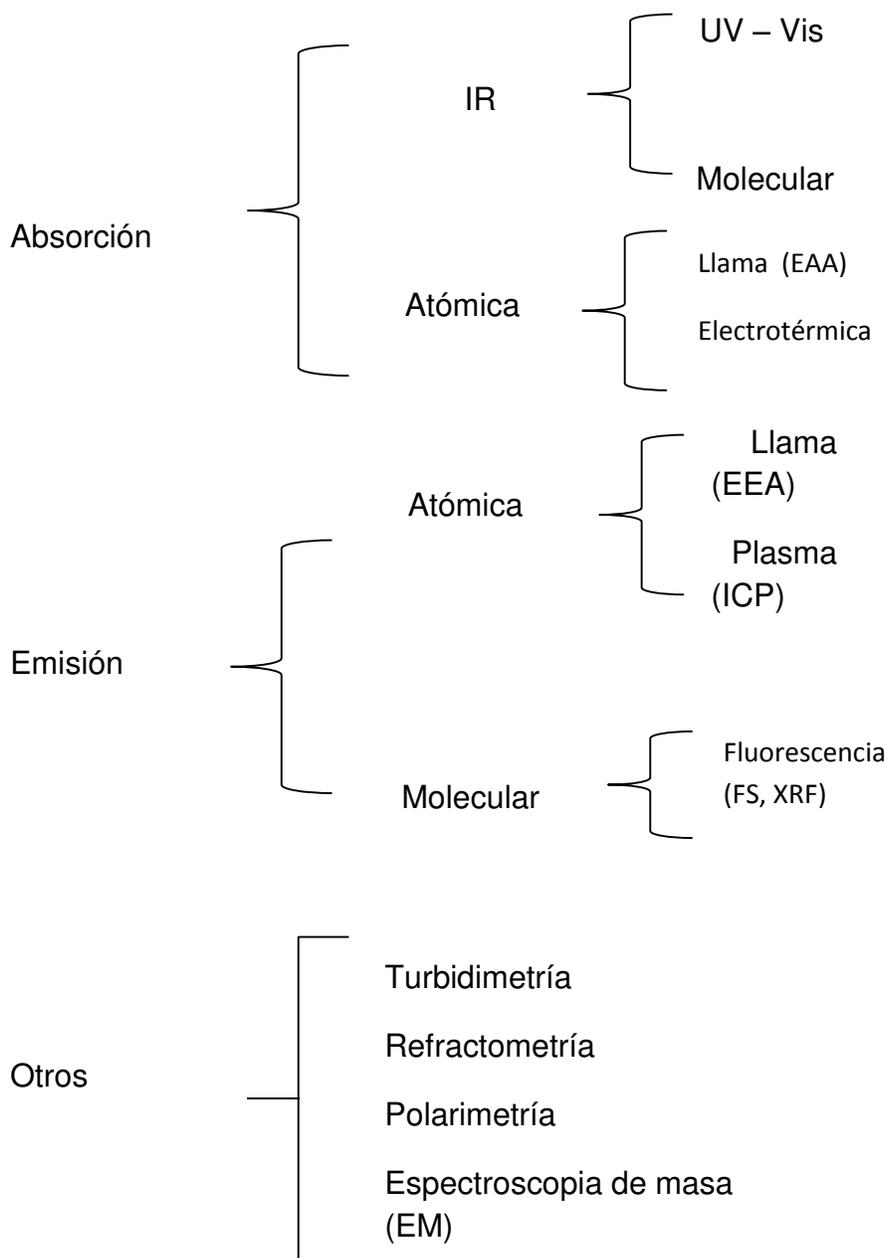
Los fotodiodos poseen un rango dinámico más ancho y son más robustos que los fotomultiplicadores.

❖ **Componentes Ópticos:** aquí encontramos lentes o espejos cóncavos para transmitir y enfocar la luz. Se combinan múltiples lentes de diferentes cristales con distintos índices de refracción, ofreciendo un alto rendimiento.

2.2.10 Tipos de espectrofotometría

De acuerdo al tipo de interacción luz-molécula (absorción o emisión) se ha clasificado de la siguiente manera:

GRÁFICO Nº 7: Tipos de Espectrofotometría



Fuente: Apuntes de Espectrofotometría de Florencio de la Torre.

De Absorción, en este tipo de espectrofotometría se compara la intensidad de un haz de luz medida antes y después de la interacción con la muestra.

La espectrofotometría UV- Visible; hace referencia cuando se mide cuanta luz de una longitud de onda en particular (la que se determina por diferentes colores), es absorbida por la muestra.

La espectrofotometría IR (Infrarrojo), La absorción en esta zona de espectro produce transición rotacional y vibracional, por lo tanto todas las moléculas absorben en IR. Esta técnica nos proporciona una identificación idónea, no siendo tan eficiente para la cuantificación.

De absorción y emisión atómica, este tipo de espectrofotometría permite la determinación (cuantificación) de unos 70 elementos químicos en concentraciones que oscilan entre ppb a ppm. La medida de los compuestos se hace en estado atómico mediante una atomización de la muestra en estado gaseoso (proceso por el cual la muestra se introduce en un mechero, junto con el combustible y se quema a elevada temperatura. Las moléculas del analito se rompen totalmente liberando los elementos químicos en estado atómico. Según el sistema de atomización y la temperatura a la que se produce se tiene espectrofotometría atómica: llama, electrotérmica y plasma.

Espectrofotometría de absorción atómica con llama, es el más utilizado, útil para la determinación de ppm de Fe, Cd, Au, Pb, Zn, Cu, Mn en disoluciones acuosas de aguas, fertilizantes, suelos, etc.

Espectrofotometría de emisión atómica con llama, es una técnica muy utilizada para determinar alcalinos y alcalinos terrosos: Na, K, Li, Ca, etc. En concentraciones de ppm. El instrumento utilizado EEA (espectrofotómetro de emisión atómica) no tiene fuente de radiación.

Espectrofotometría de emisión de plasma, aquí se utiliza temperatura muy alta que transforma la muestra a un estado de

plasma (mezcla gaseosa con una concentración muy alta de cationes y electrones), esto mejora la eficacia de la atomización permitiendo la identificación de una gran cantidad de elementos químicos metálicos y algunos no metales.

Espectrofotometría de fluorescencia molecular, se basa en el fenómeno que experimentan algunas moléculas de absorber una radiación determinada y en el proceso de relajación, libera parte de la energía como calor (radiación térmica) y por otra parte radiación electromagnética de una longitud de onda mayor al incidente. Este fenómeno permite una técnica muy sensible ya que no todas las moléculas fluorescen y las longitudes de onda pueden cambiar según las condiciones, los límites de detección son inferiores al de absorción molecular UV-Vis.

Resonancia magnética nuclear (RMN), la absorción se produce por la radiación electromagnética por los núcleos atómicos, el tipo de radiación que se utiliza en esta técnica es de gran longitud de onda y la absorción depende de la configuración electrónica que rodea al núcleo y de las interacciones intermoleculares, es por esto que da información sobre los enlaces que tiene el átomo. Esta técnica tiene una gran aplicación en medicina para el estudio de tejidos.

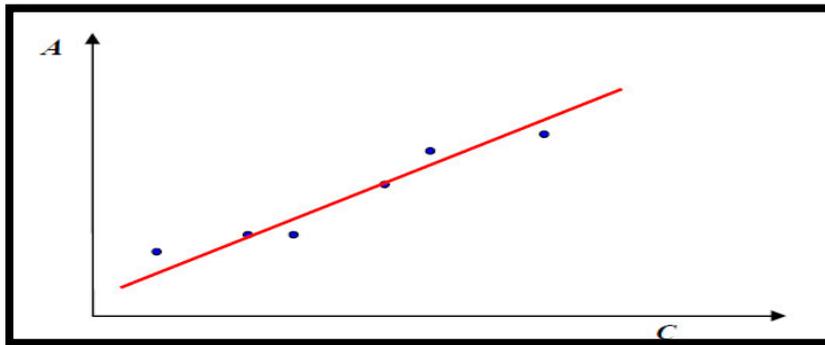
Espectroscopia de masas (MS), no es netamente una técnica espectroscópica pero se utilizan los instrumentos propios de esta. Se basa en obtener una nube de moléculas gaseosas ionizadas, de manera que quedan los elementos químicos en forma iónica (cationes) en estado gaseoso. Esta nube se acelera y pasa mediante un campo eléctrico y pasa por un potente imán que separa los iones según su masa y finalmente choca sobre un detector sensible a todos los iones.¹³

2.2.11 Curva de Calibración

Uno de los métodos más utilizados para determinar la concentración de una muestra problema, es el método de la curva de calibración. Esta curva de calibración es una gráfica que relaciona la concentración de al menos cinco soluciones de estándar de concentraciones conocidas, con la absorbancia de cada uno de ellos a la longitud de onda máxima (λ máx.).

GRÁFICO Nº 8: Curva de Calibración.

Fuente: Fundamentos de espectrofotometría.



Una vez obtenida la gráfica se determina la función matemática que presenta dicha recta a través del tratamiento estadístico de regresión de los mínimos cuadrados, la cual relaciona la absorbancia y la concentración de un analito. La siguiente ecuación matemática corresponde a dicha función:

$$A = m c + n \text{ (Ecuación 1)}$$

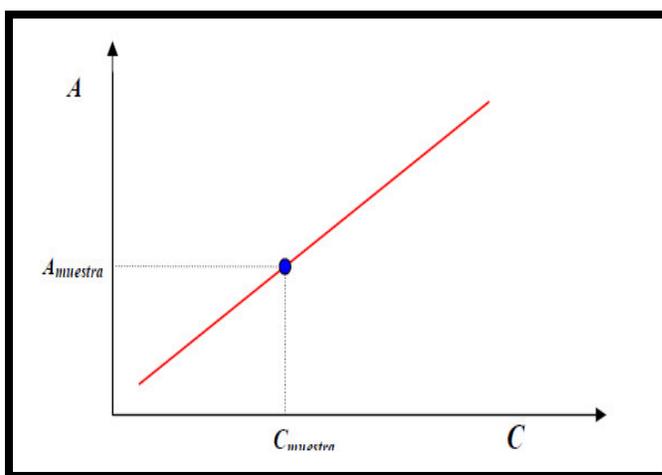
A: Absorbancia. m Intercepto de la recta

m: Pendiente de la recta y que corresponde al producto entre Absortividad a de la muestra y el espesor b de la cubeta.

Luego se mide la absorbancia de la solución problema y se interpola su valor en la gráfica o se reemplaza en la ecuación (1), para obtener el

valor de concentración del analito. La concentración de la solución problema debe estar comprendida en el rango de concentración que comprende la curva de calibración. Si la concentración de la solución problema es menor que la concentración del estándar más diluido, debe usarse el método de adición estándar, que consiste en adicionar un volumen determinado de un estándar concentrado a la solución problema, antes de realizar la lectura y que permite que esta lectura este dentro de las obtenidas para la curva de calibración. En el caso contrario, si la concentración del analito es mayor que la concentración del estándar más concentrado la solución problema deberá ser diluida.

GRÁFICO N° 9: Interpolación Grafica.



Fuente: Fundamentos de espectrofotometría.

Al hacer la curva de calibración, se debe emplear la longitud de onda de máxima absorbancia (λ máx.), para obtener una recta con la máxima pendiente y así tener mayor sensibilidad y precisión al hacer las mediciones.

La medición de la absorbancia de la solución problema debe hacerse a la misma longitud de onda que fue hecha la curva de calibración.

2.2.12 Espectrofotometría derivada, la espectrofotometría derivada es una técnica empleada para aumentar la estructura fina de las curvas espectrales, consiste en calcular la primera, segunda o derivada de orden superior de la intensidad o absorbancia respecto a la longitud de onda.

Puede ser utilizada en todos aquellos casos en que el tratamiento cuantitativo de los espectros de orden cero es difícil o incluso imposible.¹⁴

$$MP = \frac{Abs MP}{Abs ST} \times [ST] \times Pot [ST] \times T - dMP$$

Para obtener la derivada hacemos uso de la siguiente fórmula matemática:

Amp: Absorbancia de la muestra problema.

Ast: Absorbancia del estándar.

[St]: concentración del estándar.

T-dMP: Factor de dilución de la muestra.

2.2.13 Acetaminofén

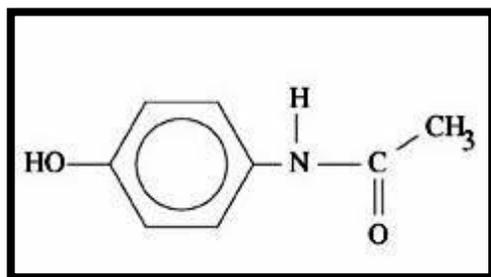
❖ Descripción

El paracetamol es un metabolito de la fenacetina, un analgésico muy utilizado, posee propiedades analgésicas y antipiréticas parecidas a las de la aspirina pero no tiene actividad antiinflamatoria ni ejerce acción

antiplaquetaria. Se utiliza en tratamiento del dolor moderado, agudo y crónico.

❖ **Características químicas:**

GRÁFICO N° 10: Formula Estructural del Acetaminofén.



Fuente: Ficha de Datos de Seguridad ACOFARMA Conforme al Reglamento (CE) N° 1907/2006

C₈H₉NO₂

(N-acetil-para-amonifenol ó para-acetil-aminofenol).

Denominación de la IUPAC: N-(4-hydroxyphenyl) ethanamide, N-(4-hydroxyphenyl) acetamide

Masa molar: 151,163 g/mol

Densidad: 1,26 g/cm³

❖ **Farmacología**

Mecanismo de acción; el Acetaminofén inhibe la síntesis de prostaglandina en el Sistema Nervioso Central (SNC). Esto explica sus propiedades antipiréticas y analgésicas. Tiene menos efecto sobre la ciclooxigenasa en los tejidos periféricos, lo que da cuenta de su actividad antiinflamatoria débil. El acetaminofén no afecta la función

plaquetaria ni aumenta el tiempo de coagulación de la sangre, y además carece de muchos de los efectos adversos de la aspirina.

❖ **Farmacocinética**

El acetaminofén se absorbe con rapidez por el conducto gastrointestinal. Experimenta un metabolismo de primer paso importante en las células luminales del intestino y los hepatocitos. Las concentraciones máximas en el plasma comúnmente se alcanzan a los 30 a 60 min. El acetaminofén se une ligeramente a las proteínas plasmáticas y se metaboliza a través de las enzimas microsomales hepáticas para convertirse en sulfato de acetaminofén y glucurónido, que son farmacológicamente inactivos. Menos de 5% del medicamento se excreta sin cambios. La vida media del acetaminofén es de 2 a 3 horas y se afecta poco por la insuficiencia renal.

❖ **Efectos adversos**

El acetaminofén está casi libre de efectos adversos importantes a las dosis terapéuticas normales. Las erupciones cutáneas y las reacciones alérgicas menores son poco frecuentes. Puede ocasionar trastornos menores de la cuenta de leucocitos, pero en general éstos son transitorios. La necrosis tubular renal y el coma hipoglucémico son complicaciones raras del tratamiento prolongado con grandes dosis.

2.2.14 Cafeína

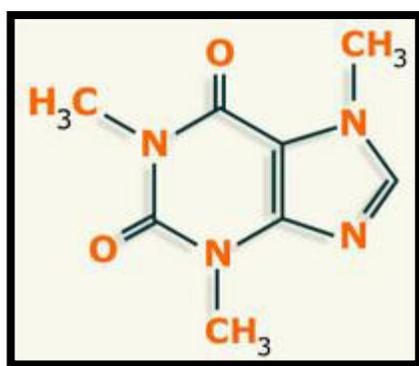
❖ **Descripción**

La cafeína fue aislada en 1820, pero la estructura correcta de esta metilxantina quedó establecida en la última década del siglo XIX. Los efectos no fueron claramente reconocidos hasta el año 1981, cuando

el bloqueo de los receptores adenosina se correlacionó con las propiedades estimulantes de la cafeína y de sus análogos 1. Probablemente la cafeína sea una de las sustancias psicoactivas más utilizadas en el mundo, generando efectos en innumerables funciones fisiológicas, incluyendo la resistencia física, el humor, el sueño y el dolor. Además de ser consumida como bebida (café y otras bebidas que contienen cafeína) diversos medicamentos analgésicos principalmente para la cefalea, contienen cafeína asociada con el paracetamol o con los antiinflamatorios no hormonales.

❖ Características químicas:

GRÁFICO N° 11: Formula Estructural de la cafeína.



Fuente: Ficha de Datos de Seguridad ACOFARMA Conforme al Reglamento (CE) N° 1907/2006 C₈H₁₀N₄O₂

Denominación de la IUPAC: 1, 3,7-Trimethylpurine-2,6-dione

Masa molar: 194,19 g/mol

Densidad: 1,23 g/cm³

❖ Farmacología

Después de la administración por vía oral, la concentración plasmática máxima ocurre de 30 minutos a 2 horas y puede ser prolongado con la ingesta de alimentos 6. La cafeína es absorbida por el tracto intestinal

de forma rápida y total, presentando una biodisponibilidad del 100% y una alta solubilidad, tanto en el agua como en los solventes orgánicos no polares 6. Su vínculo con las proteínas plasmáticas, principalmente con la albúmina, es de un 10% a un 35% y el volumen de distribución es de 0,6 a 0,7 L.kg. La cafeína atraviesa rápidamente las membranas celulares, como también la barrera hematoencefálica y placentaria, alcanzando grandes concentraciones en todo el cuerpo, inclusive en el encéfalo. Hasta ahora, ya se han descrito metabolitos de la cafeína, ocurriendo un metabolismo en el hígado por desmetilación por la CYP1A2. Las grandes diferencias observadas en la concentración plasmática de la cafeína en cada individuo, después de la administración de la misma dosis, están relacionadas principalmente con las variaciones del metabolismo. Esas variaciones dependen de cuatro factores: polimorfismos genéticos, inducción e inhibición metabólica del citocromo P450, alteraciones individuales (sexo y peso), y la existencia de hepatopatía. La subfamilia CYP1A2 de la isoenzima citocromo P450, metaboliza por desmetilación la mayor parte de la cafeína (95%) transformándola en paraxantina (85%), teobromina (10%) y teofilina (5%). Parte de la cafeína es metabolizada por la CYP1A2 en monoxantinas, que serán sustrato de la xantino-oxidasa. La N-acetiltransferasa-2 metaboliza la paraxantina a la AFMU. Participan de forma minoritaria otras enzimas, tales como CYP2E1 y CYP3A3. La cinética de eliminación de la cafeína es del tipo Michaelis-Menten no lineal en altas dosis por saturación enzimática. La eliminación ocurre después del metabolismo de la cafeína para compuestos más polares, como la paraxantina y la teofilina, que también generan una actividad biológica similar a la cafeína. Solamente entre el 1% y el 2% de la dosis ingerida de cafeína se expulsa sin alteración en la orina. En los adultos, la vida media de eliminación de la cafeína es de 3 a 5 horas y sus metabolitos son expulsados por la orina. No es necesario un ajuste de la dosis en la insuficiencia renal.

En los recién nacidos, tanto el metabolismo como la tasa de depuración de la cafeína están reducidos y solamente llegan a los niveles encontrados en los adultos a partir de los 6 y 3 meses respectivamente, y la vida media puede ser de hasta 100 horas. En los recién nacidos el metabolismo de la teofilina forma la cafeína. En los fumadores la vida media es dos veces mayor que en los no fumadores. En los individuos que no toman café, la vida media de la cafeína es dos veces mayor, lo que explica la mayor incidencia de intoxicación en esos pacientes. La cafeína se segrega en la leche materna, en la saliva, en la bilis y en el semen.¹⁶

❖ **Efectos adversos**

Debido a la gran variabilidad interindividual, una misma dosis de cafeína puede provocar reacciones adversas en una persona y presentar una buena tolerabilidad en otra persona. Los efectos adversos más comunes son la palpitación, la taquicardia, las alteraciones gástricas, el temblor, el nerviosismo y el insomnio. Grandes dosis pueden provocar ansiedad intensa, miedo y crisis de angustia. Se ha descrito casos de psicosis aguda inducida por la cafeína en pacientes sin psicopatología y el empeoramiento de los síntomas psicóticos en pacientes esquizofrénicos. Tanto el café como el té pueden formar compuestos insolubles con medicaciones psiquiátricas, reduciendo su eficacia cuando se administran en conjunto.

También pueden ocurrir efectos cardiovasculares (angina, arritmia, dolor torácico, palpitación, rubor y vasodilatación), gastrointestinales (gastritis, reducción del tono del esfínter esofágico), neuromusculares y esqueléticas (fasciculaciones), oculares (aumento de la presión intraocular con dosis > 180 mg de cafeína y miosis), renales (aumento de la diuresis), y en el sistema nervioso central (agitación,

alucinaciones, cefalea, delirio, inquietud, insomnio, irritabilidad, mareos y psicosis.

2.3 Definición de Términos Básicos

2.3.1 Cromatografía; técnica que separa sustancias disueltas en una mezcla, produciendo manchas de diferentes colores.

2.3.2 HPLC; son las siglas del método de la cromatografía líquida de alta eficacia, es una técnica que sirve para separar componentes de unas mezclas en una columna cromatografía.

2.3.3 USP; son las siglas de la Farmacopea de Estados Unidos (United States Pharmacopeia)

2.3.4 Sensibilidad; hace referencia a percibir con facilidad algo de nuestro entorno.

2.3.5 Selectividad; es la capacidad del método para determinar analitos específicos.

2.3.6 Validación; confirmación que el procedimiento analítico utilizado es adecuado para su uso.

2.3.7 FDA; Food and Drug Administration, es la agencia de alimentos y medicamentos de Estados Unidos, responsable de la regulación de medicamentos y alimentos.

2.3.8 Especificaciones; recopilación de disposiciones y requisitos para realizar un procedimiento.

2.3.9 Técnica analítica; se refiere a los métodos que se utiliza para llevar a cabo un análisis.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Tipo de Investigación

3.1.1 Método

Científico; porque sigue el método científico, para llevar a cabo la determinación y cuantificación por espectrofotometría derivada.

Inductivo; por que tomamos una muestra representativa del producto ya terminado, para poder determinar y cuantificar cada uno de los analitos que contiene.

Cuantitativo; ya que los datos obtenidos de las muestras fueron sometidos a diferentes procesos matemáticos.

3.1.2 Técnica

Observacional; porque se interpretó, analizo y elaboro las conclusiones en base a los datos obtenidos de la lectura del espectrofotómetro

3.1.3 Diseño

No Experimental; Debido a que el análisis de Espectrofotometría Derivada solo se aplicó el método para cuantificar y analizar.

Transversal: Por que las muestras de tabletas de acetaminofén más cafeína fueron recolectadas entre junio a setiembre de 2016.

3.2 Población y Muestreo de la Investigación

3.2.1 Población

Tabletas de acetaminofén más cafeína comercializadas en el centro comercial Capón Center

3.2.2 Muestra

20 tabletas de acetaminofén más cafeína con dos nombres comerciales diferentes.

3.3 Variables e Indicadores

Variable Independiente (X)

Identificación de contenido de Acetaminofén más cafeína por Espectrofotometría Derivada.

| VARIABLE (X) | INDICADORES |
|---|-------------|
| Identificación de contenido de Acetaminofén más cafeína por Espectrofotometría Derivada | Positivo |
| | Negativo |

Variable Dependiente (Y)

Cuantificación de contenido de Acetaminofén más Cafeína por Espectrofotometría Derivada.

| VARIABLE (Y) | INDICADORES |
|---|---|
| Cuantificación de contenido de Acetaminofén más Cafeína por Espectrofotometría Derivada | Cumple (90-110% de la cantidad rotulada) |
| | No cumple (90-110% de la cantidad rotulada) |

3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos

3.4.1 Técnicas

Técnicas espectrofotométricas y de pesaje

Elaboración de Curva de Calibración; Se efectuaron una curva de calibración para los analitos acetaminofén y cafeína en orden cero y posteriormente aplicando la segunda derivada, se determinó la longitud de onda máxima (λ máx.), donde se cuantificaron los principios activos sin que interfiera uno con otro.

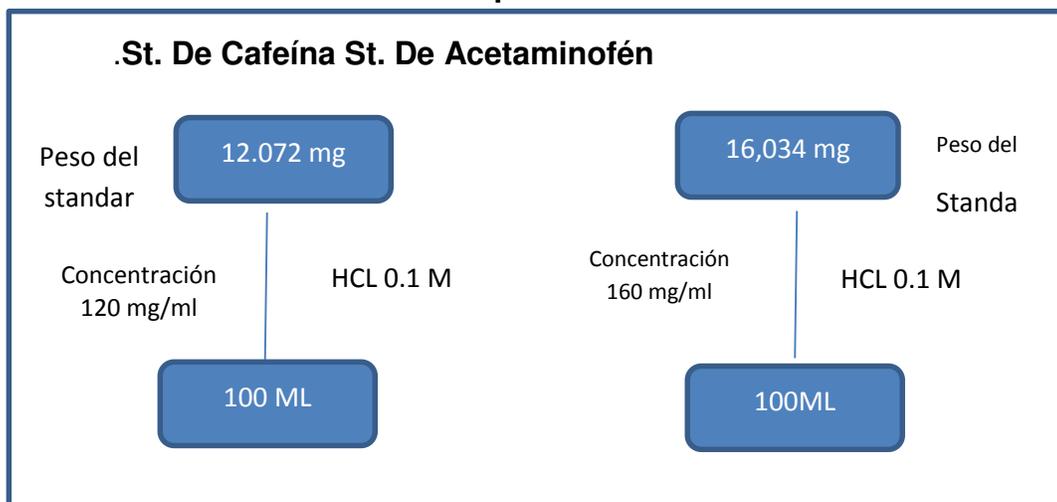
Solución Estándar Stock Cafeína: se pesaron aproximadamente 12 mg de cafeína patrón de referencia en una fiola de 100 mL y se disolvieron a volumen con HCl 0.1M.

Solución Estándar Stock Paracetamol: se pesaron aproximadamente 16 mg de paracetamol patrón de referencia en una fiola de 100 mL y se disolvieron a volumen con HCl 0.1M.

Para la elaboración de la curva de calibración de ambos analitos se tuvieron en cuenta las siguientes diluciones:

- ❖ **1ra dilución:** Se toman 0.4 mL del estándar stock y se diluye con 10 ml de HCL 0.1M.
- ❖ **2ra dilución:** Se toman 0.84 mL del estándar stock y se diluye con 10 ml de HCL 0.1M.
- ❖ **3ra dilución:** Se toman 1.0 mL del estándar stock y se diluye con 10 ml de HCL 0.1M.
- ❖ **4ta dilución:** Se toman 2.0 mL del estándar stock y se diluye con 10 ml de HCL 0.1M.
- ❖ **5ta dilución:** Se toman 4.0 mL del estándar stock se diluye con 10 ml de HCL 0.1M.

GRÁFICO N° 12: Preparación de los Estándares



Fuente: Elaboración propia

Preparación de la Muestra Problema:

Se empleó como muestra problema dos fármacos que contienen acetaminofén más cafeína con nombres comerciales diferentes (Miolene y Migradin Forte)

Se toma 10 tabletas de cada marca comercial que contiene acetaminofén y cafeína; haciendo uso de la balanza analítica se pesa una a una las tabletas para luego obtener el peso promedio de estas, y triturarlas en un mortero.

Se pesó el polvo de las tabletas aproximadamente 350mg y se llevó a una fiola de 50 ml, se añadió HCL 0.1M y homogenizo por 30 minutos, luego se filtró atreves papel Whatman N°42 para, del filtrado se tomó 0.5 ml a una fiola de 50 mL y se llevó a volumen con HCl 0.1 M.

Una vez que se tienen las soluciones preparadas (los estándar y las muestras problemas) se procede a la lectura en el espectrofotómetro primero a orden cero y luego aplicando la primera derivada donde se determinaran las longitudes de onda de máxima absorción para cada compuesto al no existir interferencias entre ambos haciendo un barrido espectral de 200 nm –400nm.

Cálculos:

Se calcula la concentración de cada uno de los principios activos para muestra problema, haciendo uso de la siguiente formula:

$$MP = \frac{\text{Abs MP}}{\text{Abs ST}} \times [\text{ST}] \times \text{Pot} [\text{ST}] \times T - dMP$$

Abs MP : Absorbancia de la muestra problema

Abs ST : Absorbancia del Estándar

[ST] : Concentración del estándar

Pot [ST] : Potencia del Estándar

T -dMP : Factor de dilución de la muestra

La lectura espectrofotométrica se realizó en el Instituto Nacional de Salud (INS)

3.4.2 Instrumentos

Instrumentos: Espectrofotómetro Hewlett Packard 8453

Reactivo: Ácido clorhídrico 0.1 M.

Materiales:

- Balanza analítica.
- Mortero
- Pipeta 5ml
- Fiola 50 ml
- Papel filtro Whatman N°42
- Espátula

CAPÍTULO IV

PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Resultados

De las lecturas espectrofotométricas realizadas en los laboratorios del Instituto Nacional de Salud (INS), se obtuvo los siguientes resultados:

Tabla N° 1: Curva de Calibración de Cafeína y Paracetamol.

| Solución. Madre (ml) | HCL 0.1M | Concentración de Cafeína (mg) | Concentración de Paracetamol (mg) |
|---------------------------------|---------------------|--|--|
| 0.4 | 10 | 4.8 | 6.4 |
| 0.8 | 10 | 9.6 | 12.8 |
| 1.0 | 10 | 12 | 16 |
| 2.0 | 10 | 24 | 32 |
| 4.0 | 10 | 40 | 64 |

Fuente y elaboración propia

Al observar los espectros de absorción de orden cero y uno de ambos principios activos se determinó la longitud de onda máxima (λ máx.) de cuantificación para cafeína es de 286 nm y para acetaminofén es de 258 nm por no interferir uno con otro.

En la tabla 2: Determinación de Peso Promedio

| N° de Tabletas. | Miolene | Migradin Forte |
|------------------------|----------------|-----------------------|
| Tableta N° 1 | 692.8 mg | 776.10 mg |
| Tableta N° 2 | 700.4 mg | 779.50 mg |
| Tableta N° 3 | 712.6 mg | 753.1 mg |
| Tableta N° 4 | 707.9 mg | 771.2 mg |
| Tableta N° 5 | 698.4 mg | 778.5 mg |
| Tableta N° 6 | 697.7 mg | 751.3 mg |
| Tableta N° 7 | 696.6 mg | 762.7 mg |
| Tableta N° 8 | 703.4 mg | 758.7 mg |
| Tableta N° 9 | 705.40 mg | 792.3 mg |
| Tableta N° 10 | 698.30 mg | 763.0 mg |
| Peso Promedio | 701.35 mg | 768.64 mg |

Fuente y elaboración propia

Se muestra los pesos de cada una de las muestras y el peso promedio: 701.35 mg para la Miolene y 768.64 mg para Migradin Forte,

En la tabla 3: Absorbancia de Cafeína y Paracetamol al Aplicar Primera Derivada.

| Muestra | d1 Abs 258 nm (acetaminofén) | d1 Abs 286 nm (Cafeína) |
|-----------------------|---|------------------------------------|
| Estándar | -2.7213 | -4.2282 |
| | -5.6384 | -4.2261 |
| | -7.2667 | -4.2234 |
| | -1.4499 | -4.2308 |
| | -3.1023 | -4.2279 |
| Promedio | -4.03572 | -4.22728 |
| MP: MIOLENE | -5.0349 | -2.1245 |
| | -5.0501 | -2.1338 |
| | -5.0558 | -2.1365 |
| | -5.0682 | -2.1353 |
| | -5.0114 | -2.1422 |
| | -5.0425 | -2.1477 |
| | -5.059 | -2.1478 |
| -5.0471 | -2.144 | |
| Promedio | -5.046125 | -2.138975 |
| MP: Migradin Forte | -5.0368 | -2.142 |
| | -5.0478 | -2.144 |
| | -5.0701 | -2.1479 |
| | -5.0614 | -2.1489 |
| | -5.0216 | -2.1216 |
| | -5.0177 | -2.1156 |
| | -5.0166 | -2.1251 |
| | -5.0287 | -2.1109 |
| Promedio | -5.0375875 | -2.132 |

Fuente y elaboración propia

Tabla 4: Se muestra la cuantificación de acetaminofén y cafeína para cada una de las muestras analizadas

| Principio Activo | Miolene mg/tab | % | Migradin Forte mg/tab | % |
|-------------------------|-----------------------|----------------|------------------------------|----------------|
| Cafeína | 61.15 | 93.85 % | 60.75 | 93.46 % |
| Acetaminofén | 566 | 113.2% | 570.44 | 114.1 % |

Fuente y elaboración propia

4.2 Análisis e interpretación de Resultados

De los resultados obtenidos en los laboratorios del Instituto Nacional de Salud (INS), aplicando el método de Espectrofotometría Derivada de primer orden a las dos muestras de medicamentos que contienen acetaminofén y cafeína; adquiridos en el centro comercial capón, se pudo determinar que:

1) De la cuantificación de Cafeína:

Para la muestra Miolene se obtuvo 61.15 mg/tab equivalente a 93.85% de cafeína presente en cada tableta lo que nos indica que el producto Miolene cumple con las especificaciones de calidad según USP 39.

Para la muestra Migradin Forte se obtuvo 60.75 mg / tab, equivalente a 93.46 % de cafeína presente en cada tableta, lo que no cumple con las especificaciones de calidad según USP 39.

2) Para la cuantificación de Acetaminofén:

Para la muestra Miolene se obtuvo 566 mg/tab equivalente a 113.2 % de acetaminofén lo que cumple con las especificaciones de calidad según USP 39.

Para la muestra Migradin Forte se obtuvo 570.44 mg / tab equivalente a 114.1%, el cual cumple con las especificaciones de calidad según USP 39.

DISCUSIÓN

1. Mediante Espectrofotometría derivada fue posible realizar la identificación y cuantificación de las dos especies químicas en un solo producto farmacéutico, al igual que lo efectuado por Rodríguez B. Angélica. **Determinación de cafeína en bebidas oscuras y determinación de caseína en leche. Aplicación de la espectrofotometría de segunda derivada**, Quím. Ing. Quím.2001, en donde se evidencio la efectividad del método al poder analizar sustancias con alta interferencia (como turbidez, color intenso de la muestra, concentración, etc.) Sin la necesidad de realizar procesos adicionales de separación, lo que genera ahorro en tiempo y costo. Respalando su importancia y factibilidad para cuantificar los analitos presentes en su formulación.

Por otra parte en la curva de calibración se pudo observar una linearidad, lo que indica que los sistemas obedecen a la ley de Lambert-Beer, respaldando los resultados.

2. Los resultados conforme en relación a la aplicación de espectrofotometría derivada para la cuantificación de principios activos en mínimas concentraciones, por mejorar la resolución de un espectro de absorción; se respalda en lo evidenciado por J. Estrada, R. Pumachagua (2007) en el estudio **Determinación de Nicotina en Cigarrillos Aplicando la Técnica de la Segunda Derivada**, donde se determinó concentraciones de nicotina (que posee un contenido menor de 2%) en muestras de tabaco obtenida de marcas de cigarrillos light, utilizando la destilación por arrastre de vapor y posterior determinación mediante espectrofotometría de segunda derivada.

3. Los resultados conforme en relación a la cuantificación de acetaminofén, cafeína por espectrofotometría derivada; obtenidos en el análisis realizado, respalda lo evidenciado por Erdal Dinc, Feyyaz Onur en el estudio

Application of a New Spectrophotometric Method for the Analysis of a Ternary Mixture Containing Metamizol, Paracetamol and Caffeine in Tablets (1997), donde concluyeron que el método de espectrofotometría derivada es un método útil para la cuantificación de fármacos multicomponentes.

4. Del análisis por Espectrofotometría Derivada de primer orden efectuados a dos fármacos que contienen acetaminofén y cafeína, resultado satisfactoria dentro de los límites permitidos en la USP 39, lo que nos permitiría respaldar su importancia en laboratorios de control de calidad, tal como se describe por E. Donato, N. Canedo, A. Adams, P. Froehlich, A. Bergold en el artículo **Espectrofotometría Derivada: una Contribución Práctica para Desarrollar Métodos** (2010). Donde se realiza el análisis óptimo de Lopinavir y Ritonavir haciendo uso de la Espectrofotometría Derivada, demostrando su importancia en el control de calidad, además de los beneficios que produce el no tener que realizar separaciones previas para analizar este tipo de fármacos.

CONCLUSIÓN

1. Los resultados obtenidos en el presente estudio de investigación nos permiten concluir que la Espectrofotometría Derivada es un método óptimo para la identificación y cuantificación de dos principios activos en un fármaco, siendo además respaldado por la linealidad obtenida en la elaboración de la curva de calibración.
2. Se verificó que los medicamentos Miolene y Migradin Forte cumplen con los estándares de calidad en cuanto a concentración de principio activo declarado. (Acetaminofén 500 mg y Cafeína 65 mg) según lo especificado por la USP 39.
3. También se pudo confirmar que el método de Espectrofotometría Derivada es un método sencillo y de fácil aplicación

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda a las autoridades responsables del control de calidad y vigilancia sanitaria de medicamentos la implementación del método de Espectrofotometría Derivada para el control de calidad de medicamentos +por tratarse de un método sencillo y eficaz que acortaría el tiempo de entrega de resultado de análisis para aquellos farmacos pesquisados en lugares de dudosa procedencia.
2. La Espectrofotometría Derivada demostró ser un método eficaz, por lo que se puede recomendar su aplicación en otras áreas donde se requiera identificación y cuantificación de más de un compuesto, como por ejemplo: en determinación cuantitativa en muestras turbias, determinación de trazas de compuestos aromáticos en hidrocarburos saturados, espectros de gases.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Baeza J. **La Química Analítica y su Metodología**. Octubre 1997.
2. López de Alba, López Martínez. **Una Introducción a la Espectrofotometría Derivada**. Instituto de Investigaciones Científicas de la Universidad de Guanajuato 1993: 160-169.
3. Alafarpe: el mercado farmacéutico peruano creció 8% en el 2015. El Comercio 2016 julio 19; economía.
4. Rodríguez B. Angélica. **Determinación de Cafeína en bebidas oscuras y Determinación de Caseína en Leche. Aplicación de la espectrofotometría de segunda derivada**, Quím. Ing. Quím. 2001; 4(2): 72-77.
5. Estrada J. Pumachagua R. **Determinación de Nicotina en Cigarrillos Aplicando la Técnica de la Segunda Derivada**. Rev. Soc. Quim. 2007,73 (2).
6. Erdal Dinc, Feyyaz Onur **Application of a New Spectrophotometric Method for the Analysis of a Ternary Mixture Containing Metamizol, Paracetamol and Caffeine in Tablets**, 1997, Ankara Turkey..
7. Donato, E.M.1; Canedo, N.A.; Adams, A.I.; Fröhlich, P.E; Bergold, A.M. **Espectrofotometría Derivada: Una Contribución Práctica para Desarrollar Métodos**, Rev Cienc Farm Básica Apl., 2010; 31 (2):125-130.
8. Serie de Informes Técnicos de la OMS, 2010 N° 957.
9. Florencia de la Torre. **Apuntes de Espectrofotometría**. Fonaments Quimic. Univ. Girona. Pag. 3.13-20
10. **Fundamentos de la Espectrofotometría**. Disponible en [Guia_TP_2_Quimica_II_2010%20\(1\).pdf](#).
11. Tony Owen. **Fundamentos de la Espectroscopia UV. Visible Moderna**. Alemania; Copyright Angilent Technologies 2000: 2000.
12. Navas Jauregui D. **Ampliación de la Verificación del Método Analítico de Cuantificación de Acetaminofén Solución Oral por Cromatografía**

Líquida de Alta Resolución y Disolución de Acetaminofén Tabletas Masticables por Espectrofotometría UV/VIS, según la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 32) [Tesis de pre grado] Guatemala Agt. 2009.

13. Tavares C, Kimiko Sakata R. **Cafeína para el Tratamiento del Dolor**. Rev. Bras Anesthesiol. 2012; (62); 3: 387-401.

ANEXOS

Anexo:

Matriz de Consistencia

Título del proyecto: Espectrofotometría Derivada para el Análisis de Tabletas Conteniendo Cafeína y Acetaminofén

Presentado por: Lina Rivadeneyra Alcántara.

| Problema General | Objetivo General | Hipótesis General | Tipo y Nivel de Investigación | Método y Diseño de Investigación | Variables | Población y Muestra |
|---|---|--|---|--|---|---|
| ¿El método de Espectrofotometría Derivada permitirá identificar y cuantificar paracetamol y acetaminofén en tabletas que contiene acetaminofén y cafeína comercializadas en el centro comercial Capón Center entre junio y setiembre de 2016? | Determinar si el método de Espectrofotometría Derivada permite el análisis de Acetaminofén y cafeína en tabletas que contiene acetaminofén y cafeína. | Mediante Espectrofotometría Derivada se puede realizar el análisis de tabletas que contiene acetaminofén y cafeína. | Tipo de Investigación - Aplicativa - Correlacional | Método de Investigación Científico - Inductivo - Cuantitativo | Variable Independiente (X) X1: Identificación de acetaminofén y cafeína. Indicadores: X1.1: Positivo X1.2: Negativo X2: Cuantificación de acetaminofén y cafeína. Indicadores: X2.1: Cumple X2.2: No cumple Variable dependiente (Y) Y: Análisis de tabletas de acetaminofén y cafeína | Población: Tabletas de acetaminofén más cafeína comercializadas en el centro comercial Capón Center Muestra: 20 tabletas de acetaminofén más cafeína con dos nombres comerciales diferentes. |
| Problemas Específicos | Objetivos Específicos | Hipótesis Específicas | Nivel de Investigación | Diseño de Investigación | Y1: Cumple Y2: No cumple | |
| PE1: ¿Se podrá identificar acetaminofén y cafeína por Espectrofotometría Derivada? | O.E.1: Identificar acetaminofén y cafeína por Espectrofotometría Derivada en tabletas que contiene acetaminofén y cafeína | H.E.1: La Espectrofotometría Derivada es capaz de identificar acetaminofén y cafeína en tabletas que contiene acetaminofén y cafeína. | - Descriptivo - Correlacional | - No Experimental - Transversal | | |
| PE2: ¿Se podrá cuantificar acetaminofén y cafeína por Espectrofotometría Derivada? | O.E.2: Cuantificar acetaminofén y cafeína por Espectrofotometría Derivada en tabletas que contiene acetaminofén y cafeína | H.E.2: La Espectrofotometría Derivada es capaz de cuantificar acetaminofén y cafeína en tabletas que contiene acetaminofén y cafeína | | | | |

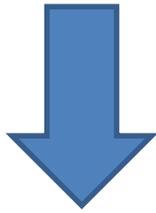
Preparación del Estándar de acetaminofén y Cafeína

Estándar de Cafeína

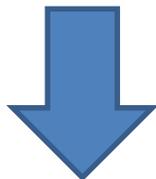


Peso teórico: 12 mg

Peso Real: 12.3 mg



Se lleva a una Fiola de 50 ml y enrasa con HCL 0.1N



Estándar de Acetaminofén

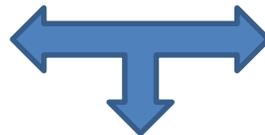
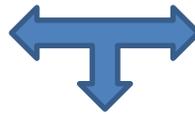


Peso teórico: 16 mg

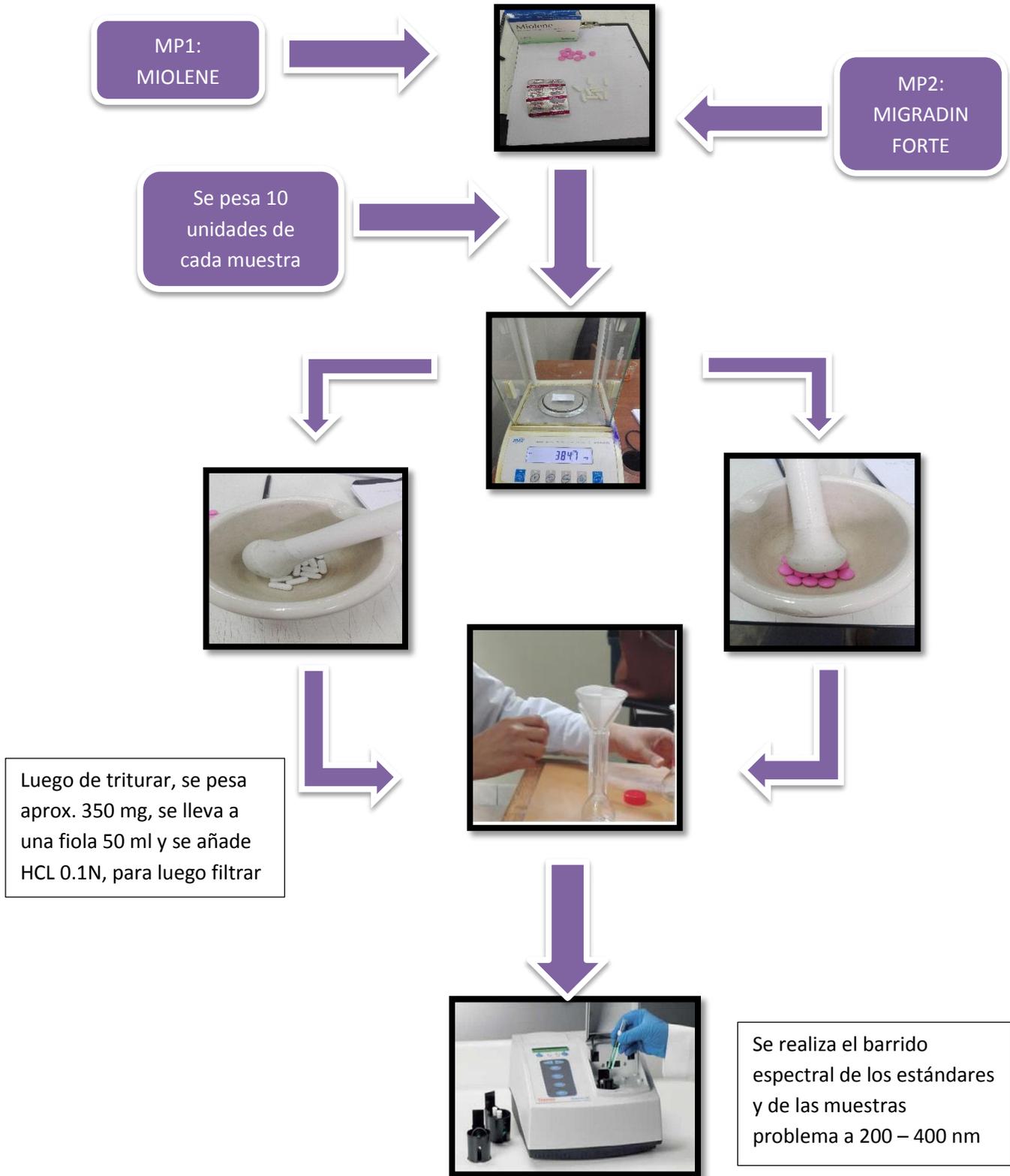
Peso practico: 16,2



Se lleva a una Fiola de 50 ml y enrasa con HCL 0.1N



Preparación de las Muestras Problema

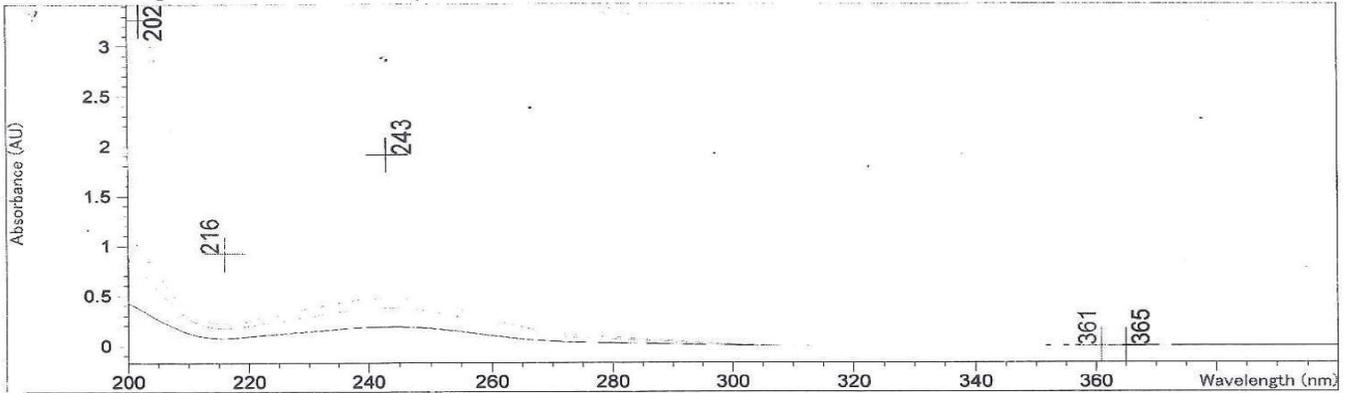


CURVA DE CALIBRACIÓN DE PARACETAMOL (ACETAMINOFEN) ORDEN CERO

Spectrum/Peak Report Date 17/10/2016 Time 13:42:38 Page 1 of 1
 CURVA DE CALIBRACION PARACETAMOL ORDEN CERO

Method file : C:\Chem32\1 2016\Septiembre\VERIF OPER LBB 09-A.M (modified)
 Last update: Date 17/10/2016 Time 01:42:26 p.m.
 Information : CURVA DE CALIBRACION PARACETAMOL ORDEN CERO
 Data File : <data not saved>

Overlaid Spectra:



| # | Name | Peaks (nm) | Abs (AU) | Valleys (nm) | Abs (AU) |
|---|-----------------|------------|------------|--------------|------------|
| 1 | ST1 PARACETAMOL | 243.0 | 0.18477 | 216.0 | 7.8117E-2 |
| 1 | | *** | *** | *** | *** |
| 1 | | *** | *** | *** | *** |
| 2 | ST2 PARACETAMOL | 243.0 | 0.37739 | 216.0 | 0.17255 |
| 2 | | *** | *** | *** | *** |
| 2 | | *** | *** | *** | *** |
| 3 | ST3 PARACETAMOL | 243.0 | 0.47630 | 216.0 | 0.22146 |
| 3 | | *** | *** | *** | *** |
| 3 | | *** | *** | *** | *** |
| 4 | ST4 PARACETAMOL | 200.0 | 2.14730 | 216.0 | 0.46447 |
| 4 | | 243.0 | 0.97673 | *** | *** |
| 4 | | *** | *** | *** | *** |
| 5 | ST5 PARACETAMOL | 202.0 | 3.25960 | 361.0 | -6.3510E-3 |
| 5 | | 243.0 | 1.91090 | 216.0 | 0.92255 |
| 5 | | 365.0 | -5.5609E-3 | *** | *** |

Report generated by : MGO

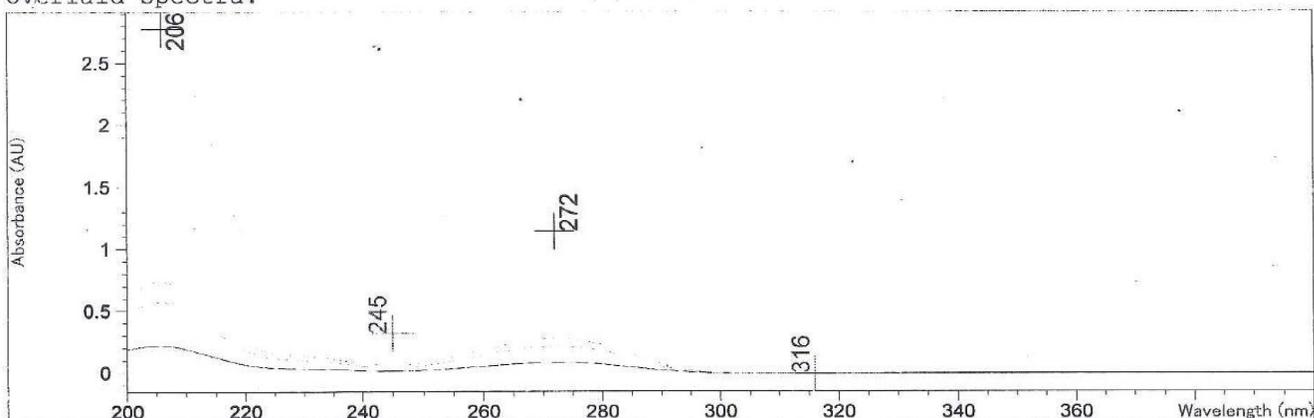
Signature:

CURVA DE CALIBRACIÓN DE CAFEÍNA ORDEN CERO

=====
 Spectrum/Peak Report Date 17/10/2016 Time 13:32:56 Page 1 of 1
 ECURVA DE CALIBRACION CAFEINA ORDEN CERO
 =====

Method file : C:\Chem32\1 2016\Septiembre\VERIF OPER LBB 09-A.M (modified)
 Last update: Date 17/10/2016 Time 01:32:43 p.m.
 Information : CURVA DE CALIBRACION CAFEINA ORDEN CERO
 Data File : C:\CHEM32\1 2016\SEPTIEMBRE\CAFSCAN.SD Created : 10/17/16
 13:15:27

Overlaid Spectra:



| # | Name | Peaks (nm) | Abs (AU) | Valleys (nm) | Abs (AU) |
|---|-------------|------------|-----------|--------------|------------|
| 1 | ST1 CAFEINA | 206.0 | 0.22124 | 308.0 | -5.2629E-3 |
| 1 | | 272.0 | 8.2800E-2 | 245.0 | 1.2424E-2 |
| 1 | | *** | *** | *** | *** |
| 2 | ST2 CAFEINA | 206.0 | 0.57593 | 310.0 | -8.2874E-3 |
| 2 | | 272.0 | 0.21477 | 245.0 | 4.6149E-2 |
| 2 | | *** | *** | *** | *** |
| 3 | ST3 CAFEINA | 206.0 | 0.73679 | 309.0 | -8.6989E-3 |
| 3 | | 272.0 | 0.27508 | 245.0 | 6.4937E-2 |
| 3 | | *** | *** | *** | *** |
| 4 | ST4 CAFEINA | 205.0 | 1.55000 | 312.0 | -8.6722E-3 |
| 4 | | 272.0 | 0.56654 | 245.0 | 0.15258 |
| 4 | | *** | *** | *** | *** |
| 5 | ST5 CAFEINA | 206.0 | 2.77480 | 316.0 | -1.0226E-2 |
| 5 | | 272.0 | 1.13920 | 245.0 | 0.31734 |
| 5 | | *** | *** | *** | *** |

Report generated by : MGO

Signature:

=====
 *** End Spectrum/Peak Report ***
 =====

CURVA DE CALIBRACIÓN DE ACETAMINOFÉN Y CAFEÍNA ORDEN CERO

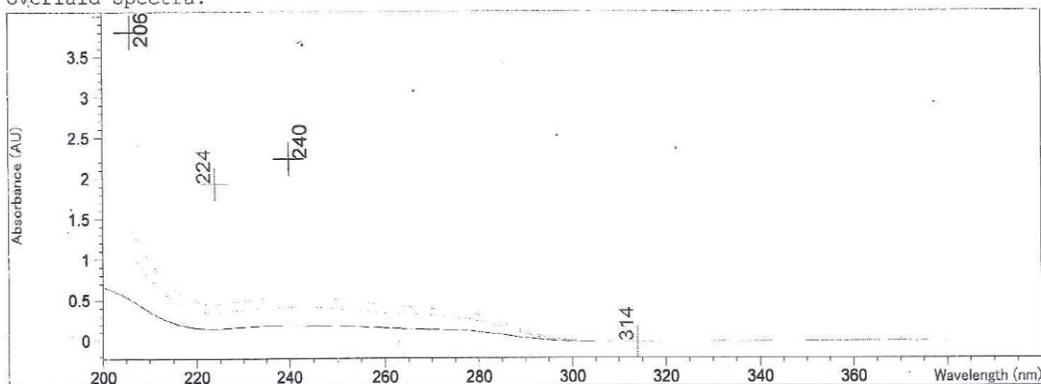
=====

Spectrum/Peak Report Date 17/10/2016 Time 14:52:42 Page 1 of 1
 CURVA DE CALIBRACION CAFEINA Y PARACETAMOL ORDEN CER

=====

Method file : C:\CHEM32\1 2016\SEPTIEMBRE\1858IBUD.M (modified)
 Last update: Date 17/10/2016 Time 02:52:31 p.m.
 Information : CURVA DE CALIBRACION CAFEINA Y PARACETAMOL ORDEN CERO
 Data File : C:\CHEM32\1 2016\SEPTIEMBRE\CAFPARSCAN.SD Created : 10/17/16
 14:38:48

Overlaid Spectra:



| # | Name | Peaks (nm) | Abs(AU) | Valleys (nm) | Abs(AU) |
|---|------|------------|------------|--------------|------------|
| 1 | ST1 | 200.0 | 0.65731 | 308.0 | -2.1853E-2 |
| 1 | | 241.0 | 0.18770 | 223.0 | 0.14887 |
| 1 | | *** | *** | *** | *** |
| 2 | ST2 | 200.0 | 1.35290 | 310.0 | -2.1659E-2 |
| 2 | | 240.0 | 0.41456 | 364.0 | -1.5009E-2 |
| 2 | | 359.0 | -1.4343E-2 | 223.0 | 0.34558 |
| 3 | ST3 | 200.0 | 1.69950 | 311.0 | -2.2175E-2 |
| 3 | | 240.0 | 0.53304 | 223.0 | 0.44800 |
| 3 | | *** | *** | *** | *** |
| 4 | ST4 | 202.0 | 2.90290 | 313.0 | -2.3575E-2 |
| 4 | | 240.0 | 1.09320 | 223.0 | 0.93502 |
| 4 | | *** | *** | *** | *** |
| 5 | ST5 | 206.0 | 3.80530 | 314.0 | -2.2798E-2 |
| 5 | | 240.0 | 2.23900 | 224.0 | 1.93800 |
| 5 | | *** | *** | *** | *** |

Report generated by : MGO

Signature:

*** End Spectrum/Peak Report ***

CURVA DE CALIBRACIÓN DE PARACETAMOL (ACETAMINOFEN) ORDEN UNO

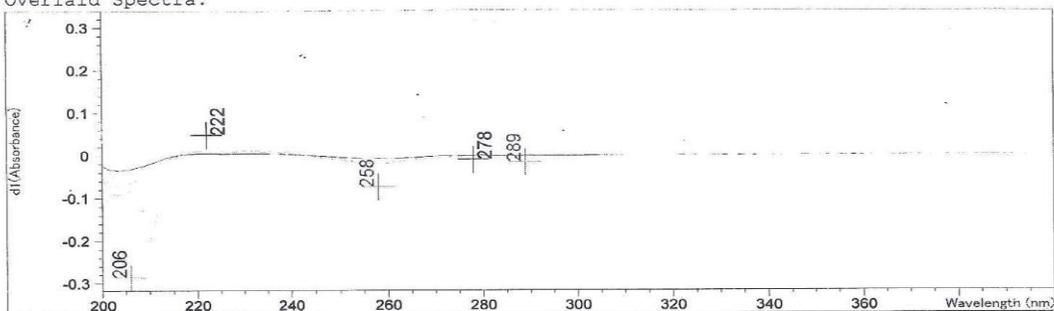
=====

Spectrum/Peak Report Date 17/10/2016 Time 13:43:27 Page 1 of 1
 CURVA DE CALIBRACION PARACETAMOL ORDEN UNO

=====

Method file : C:\Chem32\1 2016\Septiembre\VERIF OPER LBB 09-A.M (modified)
 Last update: Date 17/10/2016 Time 01:43:12 p.m.
 Information : CURVA DE CALIBRACION PARACETAMOL ORDEN UNO
 Data File : <data not saved>

Overlaid Spectra:



| # | Name | Peaks (nm) | dI(Abs) (AU) | Valleys (nm) | dI(Abs) (AU) |
|---|-----------------|------------|--------------|--------------|--------------|
| 1 | ST1 PARACETAMOL | 222.0 | 5.1938E-3 | 203.0 | -3.4561E-2 |
| 1 | | 280.0 | -8.2819E-4 | 258.0 | -7.6292E-3 |
| 1 | | *** | *** | *** | *** |
| 2 | ST2 PARACETAMOL | 222.0 | 9.9771E-3 | 203.0 | -7.0193E-2 |
| 2 | | 232.0 | 9.3277E-3 | 258.0 | -1.5033E-2 |
| 2 | | 279.0 | -1.9464E-3 | 228.0 | 8.9557E-3 |
| 3 | ST3 PARACETAMOL | 222.0 | 1.2332E-2 | 203.0 | -9.0509E-2 |
| 3 | | 232.0 | 1.1711E-2 | 258.0 | -1.8991E-2 |
| 3 | | 278.0 | -2.5740E-3 | 289.0 | -3.8279E-3 |
| 4 | ST4 PARACETAMOL | 222.0 | 2.4843E-2 | 204.0 | -0.17569 |
| 4 | | 232.0 | 2.3784E-2 | 258.0 | -3.8304E-2 |
| 4 | | 278.0 | -5.3745E-3 | 289.0 | -8.1778E-3 |
| 5 | ST5 PARACETAMOL | 222.0 | 4.8406E-2 | 206.0 | -0.28603 |
| 5 | | 278.0 | -1.0659E-2 | 258.0 | -7.4472E-2 |
| 5 | | *** | *** | 289.0 | -1.6331E-2 |

Report generated by : MGO

Signature:

*** End Spectrum/Peak Report ***

CURVA DE CALIBRACIÓN DE CAFEÍNA ORDEN UNO

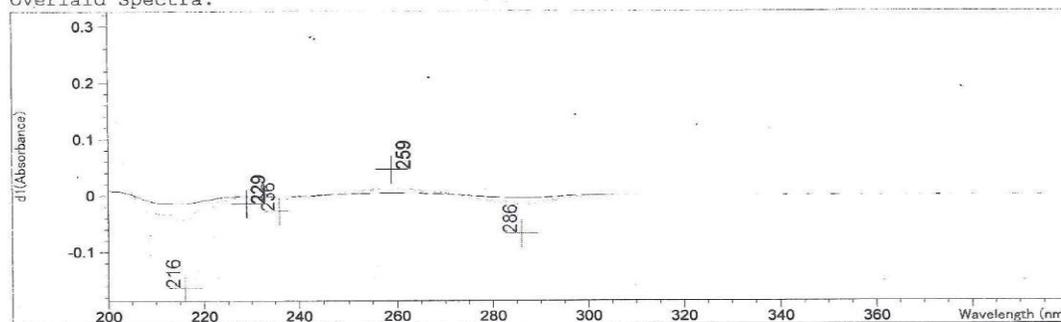
=====

Spectrum/Peak Report Date 17/10/2016 Time 13:33:39 Page 1 of 1
 ECURVA DE CALIBRACION CAFEINA ORDEN UNO

=====

Method file : C:\Chem32\1 2016\Septiembre\VERIF OPER LBB 09-A.M (modified)
 Last update: Date 17/10/2016 Time 01:33:20 p.m.
 Information : CURVA DE CALIBRACION CAFEINA ORDEN UNO
 Data File : C:\CHEM32\1 2016\SEPTIEMBRE\CAFSCAN.SD Created : 10/17/16 13:15:27

Overlaid Spectra:



| # | Name | Peaks (nm) | d1(Abs) (AU) | Valleys (nm) | d1(Abs) (AU) |
|---|-------------|------------|--------------|--------------|--------------|
| 1 | ST1 CAFEINA | 260.0 | 3.8142E-3 | 216.0 | -1.3443E-2 |
| 1 | | 229.0 | -1.0328E-3 | 287.0 | -5.2460E-3 |
| 1 | | *** | *** | 237.0 | -2.1141E-3 |
| 2 | ST2 CAFEINA | 259.0 | 9.2110E-3 | 215.0 | -3.3963E-2 |
| 2 | | 230.0 | -2.6644E-3 | 286.0 | -1.3243E-2 |
| 2 | | *** | *** | 236.0 | -5.3315E-3 |
| 3 | ST3 CAFEINA | 259.0 | 1.1497E-2 | 215.0 | -4.2948E-2 |
| 3 | | 230.0 | -3.4766E-3 | 286.0 | -1.6831E-2 |
| 3 | | *** | *** | 237.0 | -6.7128E-3 |
| 4 | ST4 CAFEINA | 259.0 | 2.2872E-2 | 215.0 | -8.7667E-2 |
| 4 | | 229.0 | -7.8364E-3 | 286.0 | -3.3873E-2* |
| 4 | | *** | *** | 236.0 | -1.3784E-2 |
| 5 | ST5 CAFEINA | 259.0 | 4.5493E-2 | 216.0 | -0.16306 |
| 5 | | 229.0 | -1.4535E-2 | 286.0 | -6.8107E-2 |
| 5 | | *** | *** | 236.0 | -2.7533E-2 |

Report generated by : MGO

Signature:

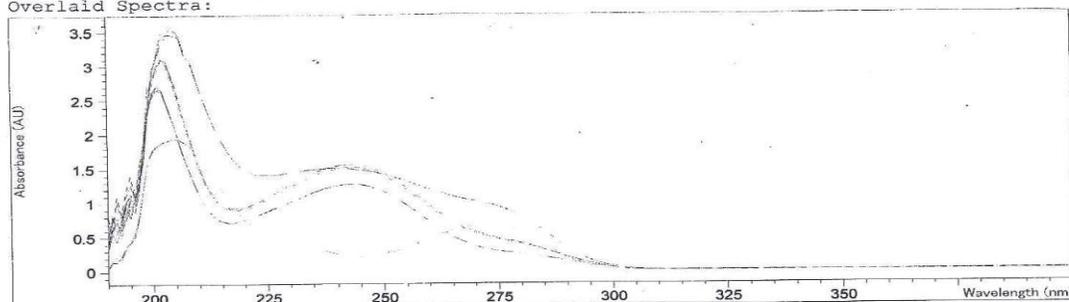
*** End Spectrum/Peak Report ***

IDENTIFICACIÓN Y CONTENIDO DE ACETAMINOFÉN Y CAFÉINA ORDEN CERO

Fixed Wavelength Report Date 23/09/2016 Time 16:56:55 Page 1 of 1
 IDENTIFICACION Y CONTENIDO DE CAFEINA Y PARACETAMOL ORDEN CERO

Method file : C:\Chem32\1 2016\Septiembre\VERIF OPER LBB 09-A.M (modified)
 Last update: Date 23/09/2016 Time 04:56:44 p.m.
 Information : IDENTIFICACION Y CONTENIDO DE CAFEINA Y PARACETAMOL ORDEN CERO
 Data File : <data not saved>

Overlaid Spectra:



| # | Name | Abs<225nm> | Abs<259nm> |
|----|----------------|------------|------------|
| 1 | ST CAFEINA | 0.55805 | 0.45038 |
| 2 | ST CAFEINA | 0.55789 | 0.45009 |
| 3 | ST CAFEINA | 0.55848 | 0.45041 |
| 4 | ST CAFEINA | 0.55910 | 0.45074 |
| 5 | ST CAFEINA | 0.55955 | 0.45102 |
| 6 | ST PARACETAMOL | 0.88351 | 0.76579 |
| 7 | ST PARACETAMOL | 0.88373 | 0.76619 |
| 8 | ST PARACETAMOL | 0.88413 | 0.76659 |
| 9 | ST PARACETAMOL | 0.88413 | 0.76665 |
| 10 | ST PARACETAMOL | 0.88445 | 0.76674 |
| 11 | STW | 1.40680 | 1.21360 |
| 12 | STW | 1.40610 | 1.21350 |
| 13 | STW | 1.40660 | 1.21400 |
| 14 | STW | 1.40650 | 1.21410 |
| 15 | STW | 1.40720 | 1.21470 |
| 16 | MP1 MIOLENE | 1.08610 | 1.00540 |
| 17 | MP1 MIOLENE | 1.08700 | 1.00580 |
| 18 | MP2 MIOLENE | 1.08790 | 1.00570 |
| 19 | MP2 MIOLENE | 1.08830 | 1.00590 |
| 20 | MP1 MGRADIN F | 1.05870 | 0.97928 |
| 21 | MP1 MGRADIN F | 1.05920 | 0.97972 |
| 22 | MP2 MGRADIN F | 1.05910 | 0.97982 |
| 23 | MP2 MGRADIN F | 1.05930 | 0.97944 |

Report generated by : MGO

Signature:

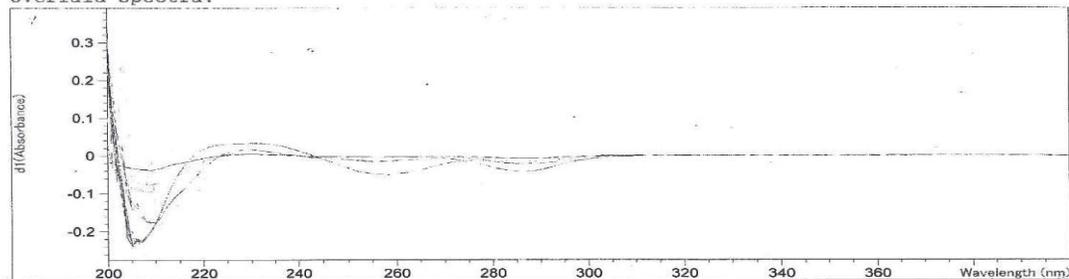
*** End Fixed Wavelength Report ***

IDENTIFICACIÓN Y CONTENIDO DE ACETAMINOFÉN Y CAFEÍNA ORDEN UNO

Fixed Wavelength Report Date 17/10/2016 Time 15:09:48 Page 1 of 1
 CUANTIFICACION DE CAFEINA Y PARACETAMOL TAB ORDEN UNO

Method file : C:\CHEM32\1 2016\SEPTIEMBRE\1858IBUD.M (modified)
 Last update: Date 17/10/2016 Time 03:09:38 p.m.
 Information : CUANTIFICACION DE CAFEINA Y PARACETAMOL TAB ORDEN UNO
 Data File : <data not saved>

Overlaid Spectra:



| # | Name | d1 (Abs) <258nm> | d1 (Abs) <286nm> | d1 (Abs) <230nm> |
|----|----------------|------------------|------------------|------------------|
| 1 | ST1 | -2.7213E-3 | -8.1407E-3 | 3.6789E-3 |
| 2 | ST2 | -5.6384E-3 | -1.6735E-2 | 6.7959E-3 |
| 3 | ST3 | -7.2667E-3 | -2.0846E-2 | 8.3734E-3 |
| 4 | ST4 | -1.4499E-2 | -4.1767E-2 | 1.6052E-2 |
| 5 | ST5 | -3.1023E-2 | -8.3296E-2 | 3.1768E-2 |
| 6 | MP1 MIOLENE | -5.0349E-2 | -2.1245E-2 | 3.3462E-2 |
| 7 | MP1 MIOLENE | -5.0501E-2 | -2.1338E-2 | 3.3228E-2 |
| 8 | MP1 MIOLENE | -5.0558E-2 | -2.1365E-2 | 3.3179E-2 |
| 9 | MP1 MIOLENE | -5.0682E-2 | -2.1353E-2 | 3.3620E-2 |
| 10 | MP2 MIOLENE | -5.0114E-2 | -2.1422E-2 | 3.3527E-2 |
| 11 | MP2 MIOLENE | -5.0425E-2 | -2.1477E-2 | 3.3039E-2 |
| 12 | MP2 MIOLENE | -5.0590E-2 | -2.1478E-2 | 3.3387E-2 |
| 13 | MP2 MIOLENE | -5.0471E-2 | -2.1440E-2 | 3.3596E-2 |
| 14 | MP1 MIGRADIN F | -5.0368E-2 | -2.1420E-2 | 3.3420E-2 |
| 15 | MP1 MIGRADIN F | -5.0478E-2 | -2.1440E-2 | 3.3649E-2 |
| 16 | MP1 MIGRADIN F | -5.0701E-2 | -2.1479E-2 | 3.3631E-2 |
| 17 | MP1 MIGRADIN F | -5.0614E-2 | -2.1489E-2 | 3.3472E-2 |
| 18 | MP2 MIGRADIN F | -5.0216E-2 | -2.1216E-2 | 3.3135E-2 |
| 19 | MP2 MIGRADIN F | -5.0177E-2 | -2.1156E-2 | 3.3163E-2 |
| 20 | MP2 MIGRADIN F | -5.0166E-2 | -2.1251E-2 | 3.3494E-2 |
| 21 | MP2 MIGRADIN F | -5.0287E-2 | -2.1109E-2 | 3.3042E-2 |
| 22 | STW | -1.4818E-2 | -4.2282E-2 | 1.6263E-2 |
| 23 | STW | -1.4722E-2 | -4.2261E-2 | 1.6522E-2 |
| 24 | STW | -1.4784E-2 | -4.2234E-2 | 1.6068E-2 |
| 25 | STW | -1.4815E-2 | -4.2308E-2 | 1.6252E-2 |
| 26 | STW | -1.4962E-2 | -4.2279E-2 | 1.6560E-2 |

Report generated by : MGO

Signature:

*** End Fixed Wavelength Report ***

CUANTIFICACIÓN DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS

Primera Derivada de la MP 1: Miolene tabletas

$$\text{MP1} = \frac{0.02133}{0.04227} \times \frac{12.072}{100} \times \frac{100}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{50}{350.3} \times \frac{50}{0.5} \times 701.35$$

| | |
|-------|----------------|
| MP1 = | 60.98 mg / tab |
|-------|----------------|

$$\text{MP2} = \frac{0.02145}{0.04227} \times \frac{12.072}{100} \times \frac{100}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{50}{350.3} \times \frac{50}{0.5} \times 701.35$$

| | |
|-------|----------------|
| MP1 = | 61.32 mg / tab |
|-------|----------------|

Promedio de cuantificación : $(60.98+61.32)/2 = 61.15 \text{ mg / tab}$

Cuantificaci3n de Acetaminofen

$$MP1 = \frac{0.05052}{0.01482} \times \frac{16.034}{100} \times \frac{100}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{50}{350.3} \times \frac{50}{0.5} \times 701.35$$

| | |
|-------|--------------------|
| MP1 = | 547.17 mg / tab |
|-------|--------------------|

$$MP2 = \frac{-0.054}{0.01482} \times \frac{16.034}{100} \times \frac{100}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{50}{350.3} \times \frac{50}{0.5} \times 701.35$$

| | |
|-------|--------------------|
| MP1 = | 584.86 mg / tab |
|-------|--------------------|

Promedio de cuantificaci3n: (547.17+584.86)/2 = 566.015 mg / tab

Primera Derivada de la MP 1: Migradin Forte tabletas

$$MP1 = \frac{0.02146}{0.04227} \times \frac{12.072}{100} \times \frac{100}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{50}{385} \times \frac{50}{0.5} \times 768.34$$

| |
|----------------------|
| MP1 = 61.16 mg / tab |
|----------------------|

$$MP2 = \frac{0.02118}{0.04227} \times \frac{12.072}{100} \times \frac{100}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{50}{385} \times \frac{50}{0.5} \times 768.34$$

| |
|----------------------|
| MP1 = 60.36 mg / tab |
|----------------------|

Promedio de cuantificación: (61.15 + 60.36)/2 = 60.75 mg / tab

$$\text{MP1} = \frac{-0.054}{0.01482} \times \frac{16.034}{100} \times \frac{99.8}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{50}{385} \times \frac{50}{0.5} \times 768.34$$

| | |
|-------|--------------------|
| MP1 = | 581.81 mg / tab |
|-------|--------------------|

$$\text{MP2} = \frac{-0.0521}{0.01488} \times \frac{16.034}{100} \times \frac{99.8}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{50}{385} \times \frac{50}{0.5} \times 768.34$$

| | |
|-------|--------------------|
| MP1 = | 559.07 mg / tab |
|-------|--------------------|

Promedio de cuantificaciòn: (581.81 + 559.07) / 2 = 570.44mg / tab