

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
FACULTAD DE INGENIERIA QUIMICA
UNIDAD DE INVESTIGACION

IF
SEP 2018



**"INVESTIGACION ANALITICA INSTRUMENTAL DE LA
CLARITROMICINA"**

AUTOR: WALTER ARMANDO TAPIA CHACALTANA

Callao, 2018

PERÚ

I. INDICE	página
I. Índice	01
1.1 Índice de Tablas	03
1.2 Índice de Figuras	04
1.3 Índice de Gráficos	05
II. Resumen	07
Abstract	08
III. Introducción	09
3.1 Exposición del problema de investigación	09
3.1.1 Objetivo general	09
3.1.2 Importancia y justificación de la investigación	09
IV. MARCO TEÓRICO	11
4.1 Claritromicina	11
4.1.1 Estudios de las interacciones con el citocromo P-450A (CYP 3A4) de la Claritromicina.	11
4.1.2 Farmacocinética de la Claritromicina	12
4.1.3 Datos epidemiológicos de la Claritromicina	14
4.1.4 La Claritromicina y el embarazo	14
4.2. La cromatografía	15
4.3 Espectroscopia u.v - visible	20
4.4 Espectrofotometría infrarroja	25
V. MATERIALES Y MÉTODOS	35
5.1. Materiales y equipos	35
5.2 Población y muestra	35
5.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	36
5.3.1 Cromatografía de capa fina	37

5.3.2 Espectrofotometría ultravioleta- visible	37
5.3.3.Determinación de la claritromicina por espectrofotometría infrarrojo	38
5.4 Técnicas para el tratamiento de datos	38
VI. RESULTADOS	40
6.1 Cromatografía de capa fina	40
6.1.1 Reveladores cromogénicos	40
6.1.2 Determinación del Rf	40
6.2 Espectroscopia ultravioleta	41
6.3 Espectrofotometría infrarrojo	43
6.4 Resultados del análisis estadístico	45
6.4.1 La cromatografía de capa fina	45
6.4.2 Espectrofotometría infrarroja con transformada de Fourier	45
6.4.3 Espectrofotometría ultravioleta	46
VII. DISCUSIÓN	58
VIII. REFERENCIALES	60
IX. APÉNDICES	63
X. ANEXOS	65
10.1. Matriz de consistencia	65
10.2. Tablas y gráficos	67

Índice de Tablas

	Página
Tabla N° 4.1 Clasificación de la cromatografía	17
Tabla N° 6.1 Resultados comparativos de la cromatografía de capa fina	41
Tabla N° 6.2 Resultados comparativos de la longitud de onda de máxima absorbancia en el U.V.	42
Tabla N° 6.3 Concentración de Claritromicina (%p/p)	43
Tabla N° 6.4 Resultados comparativos del estándar y los analitos por Espectrofotometría infrarroja.	44
Tabla N° 6.5 Claritromicina CCF- HCNDC	47
Tabla N° 6.6 Cromatografía de capa fina-gráfico de control (CCF-GC)	48
Tabla N° 6.7 .Cromatografía de capa fina-línea ajustada (ccf-la)	49
Tabla N° 6.8 Claritromicinas – FTIR – HCNDC	50
Tabla N° 6.9 Claritromicinas – Espectrofotometría infrarroja. Gráfico de Control (FTIR-GC).	51
Tabla N° 6.10 Claritromicinas – Espectrofotometría infrarroja. Gráfico de Control (FTIR-GC).	52
Tabla N° .6.11 Claritromicinas – Espectrofotometría infrarroja – línea ajustada (FTIR-LA)	54
Tabla N° 6.12 Claritromicinas – Espectrofotometría infrarroja – línea ajustada (FTIR-LA)	55
Tabla N° 6.13 Claritromicinas - UV-HCNDC	57

Índice de Figuras

	Página
Figura N°4.1. Equipos de cromatografía	17
Figura N°4.2 Fenómeno de adsorción	21
Figura N°4.3 Espectro de absorción de una mezcla	25
Figura N°4.4 Zonas del espectro infrarrojo	26
Figura N° 4.5 Equipo básico de un Espectrómetro Infrarrojo	27
Figura N° 4.6 Espectrofotómetro Infrarrojo de Transformada de Fourier	28
Figura N° 4.7 Espectro infrarrojo por FTIR del Ibuprofeno	29
Figura N° 4.8 Reflectancia difusa	34
Figura N° 5.1 Espectrofotómetro UV – VISIBLE	38
Figura N° 6.1 Cálculo del Rf en cromatografía de capa fina	40
Figura N° 6.2 Espectro UV de la Claritromicina en H ₂ SO ₄ (0.2M)	41
Figura N° 6.3 Curva de calibración de la Claritromicina	42
Figura N° 6.4 Espectro infrarrojo del estándar Claritromicina	43
Figura N° 9.1 Cromatograma de capa fina: Claritromicina y muestras	63
Figura N° 9.2 Equipo de cromatografía de capa fina	64
Figura N° 9.3 Espectro U.V. Claritromicina	64

Índice de Gráficos

		Página
Gráfico N° 6.1	CCF-HCNDC-St	47
Gráfico N° 6.2	CCF-HCNDC-N° 1	47
Gráfico N° 6.3	CCF-HCNDC-N° 2	47
Gráfico N° 6.4	CCF-HCNDC-PG	47
Gráfico N° 6.5	CCF-GC-ST	48
Gráfico N° 6.6	CCF-GC-N° 1	48
Gráfico N° 6.7	CCF-GC-N° 2	48
Gráfico N° 6.8	CCF-GC-N° PG	48
Gráfico N° 6.9	CCF-LA-St	49
Gráfico N° 6.10	CCF-LA-N° 1	49
Gráfico N° 6.11	CCF-LA-N° 2	49
Gráfico N° 6.12	CCF-LA-PG	49
Gráfico N° 6.13	FTIR-HCNDC-St	50
Gráfico N° 6.14	FTIR-HCNDC-N° 1	50
Gráfico N° 6.15	FTIR-HCNDC-N°2	50
Gráfico N° 6.16	FTIR-HCNDC-PG	50
Gráfico N° 6.17	FTIR-LA-St	51
Gráfico N° 6.18	FTIR-LA-N° 1	51
Gráfico N° 6.19	FTIR-LA-N° 2	52
Gráfico N° 6.20	FTIR-LA-PG	52
Gráfico N° 6.21	FTIR-LA-St	53
Gráfico N° 6.22	FTIR-LA-N° 1	53
Gráfico N° 6.23	FTIR-LA-N° 2	53
Gráfico N° 6.24	FTIR-LA-PG	53
Gráfico N° 6.25	UV-HCNDC-St	54

Gráfico N° 6.26	UV-HCNDC-N° 1	54
Gráfico N° 6.27	UV-HCNDC-N° 2	55
Gráfico N° 6.28	UV-HCNDC-PG	55
Gráfico N° 6.29	UV-GC-St	56
Gráfico N° 6.30	UV-GC-N°1	56
Gráfico N° 6.31	UV-GC-N° 2	56
Gráfico N° 6.32	UV-GC-PG	56
Gráfico N° 6.33	UV-LA-St	57
Gráfico N° 6.34	UV-LA-N°1	57
Gráfico N° 6.35	UV-LA-N° 2	57
Gráfico N° 6.36	UV-LA-PG	57

II. RESUMEN

El presente trabajo de investigación consiste en investigar la presencia del principio activo Claritromicina en comprimidos de 500 mg, que es administrado para tratar las infecciones a nivel estomacal, intestinal, de la piel, así como a nivel de las vías respiratorias, combatiendo a los microorganismos que son causantes de estas enfermedades.

En consecuencia el objetivo principal para demostrar que la acción farmacológica se debe a la estructura química de la Claritromicina, es necesario recurrir a los análisis químicos especiales como la espectrofotometría infrarroja, la espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-Visible), cromatografía de capa fina entre otros, motivo por el cual se realizaron estos exámenes en los Laboratorios de Química de la Facultad de Ingeniería Química aplicando esta metodología.

Con los resultados obtenidos y utilizando los estadísticos, histogramas, curva normal, gráficos de control en relación a los métodos instrumentales indicados anteriormente se concluyó que el medicamento comercial N° 01 cumple con lo indicado en las normas oficiales de análisis químicos señalados en las Farmacopeas (no menos del 90% ni más del 110% en comprimidos de 500 mg), el resto de analitos (medicamento comercial N° 02 y producto genérico no cumplen con dichas especificaciones).

Palabras claves: espectrofotometrías: Infrarroja con Transformada de Fourier y ultravioleta-visible, Cromatografía de capa fina, principio activo, analito

ABSTRACT

The present research work consists of investigating the presence of the active principle Clarithromycin in 500 mg tablets, which is administered to treat infections at the stomach, intestinal, skin, as well as at the level of the respiratory tract, combating microorganisms that are causing these diseases.

Consequently the main objective to demonstrate that the pharmacological action is due to the chemical structure of Clarithromycin, it is necessary to resort to special chemical analyzes such as infrared spectrophotometry, ultraviolet-visible spectrophotometry (UV-Visible), thin layer chromatography between others, which is why these exams were carried out in the Chemistry Laboratories of the Faculty of Chemical Engineering applying this methodology.

With the results obtained and using the statistics, histograms, normal curve, control charts in relation to the instrumental methods indicated above, it was concluded that the commercial drug No. 01 complies with that indicated in the official standards of chemical analysis indicated in the Pharmacopoeias (no less than 90% nor more than 110% in 500 mg tablets), the rest of analytes (commercial drug No. 02 and generic product do not meet these specifications).

Keywords: spectrophotometry's, Infrared with Fourier Transform and ultraviolet-visible, Thin layer chromatography, active ingredient, analyte

III. INTRODUCCIÓN

3.1 Exposición del problema de investigación

Ante el problema de que la Claritromicina si fuera adulterada o en menor concentración a lo indicado en el blíster y que son expendidos al público en lugares de procedencia dudosa, entonces ¿Se necesita realizar análisis químicos para demostrar su identidad y pureza en medicamentos?

3.1.1 Objetivo general

Identificar y cuantificar el fármaco Claritromicina para demostrar su identidad y pureza.

3.1.2. Objetivos específicos

- Realizar en base a sus propiedades físico químicas, pruebas para su identificación.
- Aplicar técnicas analíticas instrumentales para demostrar la pureza de la Claritromicina

3.2 Importancia y justificación de la investigación

Para el desarrollo del presente trabajo de investigación se ha tomado como referencia lo desarrollado por Tapia (2017). Este aspecto es importante porque presenta diversos aportes que se indican a continuación:

- a. **TÉCNICA:** Los procesos de análisis químico permiten identificar y cuantificar la claritromicina empleando equipos de laboratorio.
- b. **SALUD:** Se pretende contribuir a la salud de la Comunidad Universitaria y personas en general que utilizan este medicamento en su tratamiento farmacológico.
- c. **ECONÓMICO:** Si bien es cierto estas técnicas analíticas todavía no son rutinarias y son costosas; sin embargo aseguran en forma fehaciente identificar y cuantificar de forma rápida al componente

activo, también permite analizar muchas muestras, por consiguiente también sería un beneficio económico.

Se justifica el presente trabajo de investigación considerando que a través de los medios de información (periódicos, TV) se ha informado que se venden medicamentos adulterados, razón por la cual se ha tenido por conveniente tomar muestras en lugares de dudosa procedencia de Lima metropolitana, para verificar la dosificación correcta del medicamento conforme está indicado en el blíster del mencionado medicamento.

IV. MARCO TEÓRICO

4.1 Claritromicina

La claritromicina es un medicamento que se utiliza como antibiótico y que es administrado para combatir los microorganismos especialmente para las vías respiratorias cuya presentación es en tabletas, suspensión (líquido), tabletas de liberación prolongada (acción prolongada) para ser consumidos por vía oral. La tableta se administra, generalmente, con o sin los alimentos cada 8 horas (tres veces al día) a 12 horas (dos veces al día) durante 7 a 14 días. La tableta de acción prolongada se toma regularmente con los alimentos cada 24 horas (una vez al día) durante 7 a 14 días.

De otra parte según la US National Library of Medicine (2014), la Claritromicina se usa para prevenir la infección ocasionada por el complejo Mycobacterium avium (Mycobacterium avium complex, MAC) (un tipo de infección pulmonar que a menudo afecta a las personas con virus de inmunodeficiencia humana (VIH)

También se usa en combinación con otros medicamentos para eliminar *el H. pylori*, una bacteria que causa úlceras

4.1.1 Estudios de las interacciones con el citocromo P-450A (CYP 3A4) de la Claritromicina.

Jean Frederic Wesphal (2000) estudió las interacciones de este fármaco para determinar la interacción de este antibiótico macrólido en su proceso de biotransformación; Sin embargo estos metabolitos son derivados de la oxidación metabólica a el grupo N-demetilamino a su correspondiente grupo nitroso. Subsecuentemente los nitrosoalcanos forman complejos inactivos CYP3A-1 de fierro.

4.1.2 Farmacocinética de la Claritromicina

Considerando la investigación terapéutica por los investigadores Muñiz, Gonzales (2018) se indica que la Claritromicina es absorbida por vía oral, siendo su biodisponibilidad del 50%. Se difunde a nivel tisular alcanzando concentraciones superiores a las plasmáticas a nivel de los pulmones riñón, amígdalas, bazo e hígado. Más de la mitad es metabolizada a nivel del hígado mediante la oxidación y la hidrólisis, siendo el principal metabolito la 14-hidroxiclaritromicina y de carácter activo.

Cuando se administra el fármaco de liberación retardada la concentración máxima se retrasada de 2 a 5 horas.

Según Rodvold Keith (1999) La claritromicina es un antibacteriano macrólido que difiere en la estructura química de la eritromicina por la metilación del grupo hidroxilo en la posición 6 del anillo de lactona. Las ventajas farmacocinéticas de la claritromicina sobre la eritromicina incluyen una mayor biodisponibilidad oral (52 a 55%), concentraciones plasmáticas elevadas (las concentraciones máximas oscilaron entre 1,01 y 1,52 mg / L y 2,41 a 2,85 mg /L después de dosis múltiples de 250 y 500 mg, respectivamente) y una vida media de eliminación más prolongada (3,3 a 4,9 horas) para permitir la administración dos veces al día. Además, la claritromicina tiene una amplia difusión en saliva, esputo, tejido pulmonar, líquido de revestimiento epitelial, macrófagos alveolares, neutrófilos, amígdalas, mucosa nasal y líquido del oído medio.

La claritromicina se biotransforma especialmente gracias a las isoenzimas del citocromo P450 (CYP) 3A generando un metabolito activo, la 14-hidroxiclaritromicina, cuyos valores medios de depuración corporal total, de aclaramiento renal en adultos es en rango de 29.2 a 58.1 L/h y de 6.7 a 12.8 L/h, respectivamente. En pacientes con insuficiencia renal grave, se ha

detectado un aumento de las concentraciones plasmáticas y una semivida de eliminación prolongada para la claritromicina y su metabolito. Si un paciente presenta un ajuste de la dosis de claritromicina es en función del aclaramiento de creatinina de $<1.8 \text{ L / h}$.

En los regímenes de dosificación de claritromicina, el objetivo es garantizar que el tiempo en que las concentraciones de fármaco no unido en la sangre permanezcan sobre la concentración inhibidora mínima en el rango del 40 a 60% del intervalo de dosificación. No obstante las concentraciones y la actividad in vitro de 14-hidroxiclaritromicina deben ser para patógenos para el *Haemophilus influenzae*. Adicionalmente, la claritromicina logra concentraciones significativamente más altas en el líquido de revestimiento epitelial y en los macrófagos alveolares, aparte de los sitios potenciales de patógenos de vías respiratorias intracelulares y extracelulares. Se requiere otros estudios para conocer las concentraciones de claritromicina en el lugar de la infección.

Si se asocia la Claritromicina con los fármacos Astemidole, cisaprida, pimizida, midazolam y triazolam), se observa un aumento de las concentraciones del estado estacionario de estos fármacos; puesto que dependen principalmente del metabolismo del CYP3A (p. Ej., en aquellos medicamentos donde clínicamente se observa que tienen un índice terapéutico reducido, como, la digoxina, teofilina, warfarina ciclosporina, y carbamazepina. Además los inhibidores potentes de CYP3A (p. Ej., ritonavir y el Omeprazol también pueden alterar la biotransformación de la claritromicina y sus metabolitos. Ahora en el caso de la rifabutina y la rifampicina potentes inductores enzimáticos se asume que estos agentes pueden disminuir significativamente las concentraciones de claritromicina a nivel sérico. Por lo que se podría señalar que, los estudios farmacocinéticos y farmacodinámicos producen menos interacciones

medicamentosas graves de la claritromicina con otros macrólidos de la generación de la troleandomicina y la eritromicina.

4.1.3 Datos epidemiológicos de la Claritromicina

Según Winkel P, Hilden J, Fischer Hansen J et al. (2015) aconseja tener cuidado cuando se administra la Claritromicina a pacientes con cardiopatías, considerando que se produce un mayor riesgo de sufrir este mal o la muerte que se podría ocasionar años después. Posteriormente se efectuó otra investigación por 10 años con pacientes con cardiopatía coronaria en el cual se observó este tipo de problemas por primera vez. Por consiguiente se ha agregado una nueva evidencia sobre este mayor riesgo de muerte en este tipo de pacientes y se sugiere que se administre otros antibióticos con estos pacientes. De otra parte se señala que los resultados del estudio a las etiquetas del fármaco Claritromicina, está a cargo de la Food and Drugs Administration (FDA) para este tipo de pacientes, dado que es parte integrante del Control de Seguridad de Medicamentos

4.1.4 La Claritromicina y el embarazo

De acuerdo a los investigadores Vallano y Arnau, (2009), las infecciones son uno de los problemas más frecuentes durante el embarazo (p. ej., infecciones urinarias) y los antimicrobianos son medicamentos utilizados a menudo en el tratamiento de las infecciones en las mujeres embarazadas, donde se producen una serie de cambios fisiológicos en la mujer. Los cambios farmacocinéticos que ocurren durante el embarazo (aclaramiento renal, metabolismo hepático, volumen de distribución), pueden alterar los efectos farmacológicos, además la toxicidad de los medicamentos y el posible riesgo teratogénico en el embrión y en el feto. En líneas generales, se diría que hay escasa información farmacocinética respecto a la administración y dosificación



de los antibióticos en las mujeres embarazadas. Generalmente se han utilizado los antimicrobianos para el tratamiento de este tipo de pacientes, pero sin ensayos clínicos que hayan evaluado previamente su seguridad y eficacia en las embarazadas. Aunque es poco probable que los antimicrobianos eficaces en el tratamiento de mujeres no embarazadas no lo sean en las embarazadas, de allí que los cambios fisiológicos en el embarazo hacen difícil definir la dosificación óptima de los antimicrobianos en ausencia de datos empíricos. Además, los cambios fisiológicos durante el embarazo varían mucho del primer al tercer trimestre del embarazo. Por otra parte, la mayoría de antimicrobianos cruzan la barrera hemato-placentaria, pero los datos relacionados con el potencial teratogénico y la toxicidad embrionaria, fetal y neonatal de estos fármacos son limitados. Por ello continúa Vallano (2009) que dada la escasa información que ofrezcan una fiabilidad variable, la información empírica acerca de los efectos teratogénicos de los antimicrobianos en las mujeres embarazadas proviene de los análisis de una serie de casos; o de estudios de casos (cohortes) y controles anteriores, por lo que existe un bajo valor estadístico. Adicionalmente, en algunos casos la única información disponible sólo proviene de estudios en animales. Por consiguiente, por todos estos estudios realizados en las mujeres embarazadas, se consideraría desde un punto de vista terapéutico, una población vulnerable.

4.2 Cromatografía

Según los autores Mauri, Llobat, y Herráez (2010) para los análisis de una muestra se requiere de un procedimiento analítico adecuado y selectivo además de que está constituido de varias etapas como el muestreo, la preparación de la muestra, el calibrado, la evaluación de los resultados para finalizar con el informe correspondiente.

De otra parte existen diversas técnicas analíticas como las que se indica a continuación: la cromatografía y sus diversas técnicas, la espectrometría la espectrofotometría U.V. – visible, infrarroja, espectrometría de masa entre otros. Iniciaremos con una de ellas.

Mediante un ejemplo se explicará cómo es un proceso cromatográfico mediante un ejemplo. Si se quisiera analizar la aspirina C cuyos componentes está constituido a base de dos sustancias activas, el ácido ascórbico y el ácido acetilsalicílico.

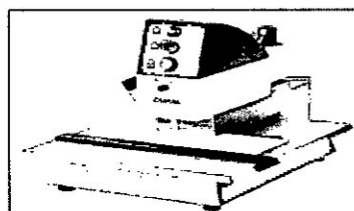
Entonces se procederá a la separación de sus dos componentes para luego identificar cada uno de ellos, tomando en cuenta que cada uno presenta diferentes características físico químicas (específicas) y es por ello que cada uno de ellos se puede separar..

Pues bien, en un proceso cromatográfico de acuerdo a Tapia (2017) donde se realiza la separación también es en base a su fase estacionaria, constituida por un material adsorbente contenido en una columna o depositado sobre una superficie plana (papel o placa); a su fase móvil donde el analito se desplaza respecto a la estacionaria. La fase móvil puede estar formada por una mezcla de diferentes solventes, que se denomina el sistema eluyente. En este caso, la denominamos fase móvil líquida. Por otra parte, si se utilizara una fase móvil gaseosa, este gas inerte es el que se desplaza por encima de la fase estacionaria transportando los componentes de la muestra, puesto que la esencia de la cromatografía es siempre la misma, identificar mediante cualquier técnica de separación: cromatografía de gases (GC), cromatografía de capa fina de alto rendimiento (HPTLC), etc. (véase figura N°4.1, en la página 17).

Figura N°4.1
Equipos de cromatografía



Fuente: GC-Shimadzu 2016



Fuente: HPTLC Camag 2017

Se trata de separar e identificar los diferentes analitos de una muestra, en función a la competencia de interacciones que éstos presentan entre las dos fases: móvil y estacionaria.

Cada sustancia se “distribuirá” entre ellas, de acuerdo a su afinidad respectiva, dependiendo de fenómenos como la solubilidad, las interacciones químicas, la presión de vapor, etc.

La clasificación de las diferentes técnicas cromatográficas se hace en función a la relación de estas dos fases, según sea sólido/líquido, sólido/gas, líquido/líquido o líquido/gas (véase tabla N°4.1).

Tabla N° 4.1
Clasificación de la cromatografía

	Fase móvil	Soporte de la fase estacionaria	Tipo cromatografía
Cromatografía Sólido / líquido	Líquida	Columna	Cromatografía de columna HPLC
		superficie plana	Cromatografía de papel Cromatografía de capa fina
Cromatografía Sólido / gas	Gas	Columna	Cromatografía de gas (GC)

Fuente: unicum.cat/es/2011

4.2.1. Cromatografía de capa fina

De acuerdo a Kirchner J. (1990) este método cromatográfico se basa en :

- a. En un proceso de cromatografía líquida participa por lo menos, tres elementos principales: el adsorbente, el sistema eluyente, finalmente la muestra a analizar y su naturaleza química.
- b. De acuerdo a Kirchner (1990) el soporte de la TLC son placas de máximo 20 x 20 cm de vidrio, aluminio o plástico, recubiertas por una cara de una fina capa de material adsorbente, que tradicionalmente ha sido celulosa, gel de sílice, óxido de aluminio o poliamida, y que últimamente se ha ampliado la gama de posibilidades a sílices químicamente modificados.
- c. El número de sistemas eluyentes son casi infinitos. En su mayoría son combinaciones de disolventes de diferentes polaridades, con presencia ocasional de ácidos o bases. El único requisito que se exige a estos reactivos químicos, es que los productos sean de calidad PA (para análisis), como mínimo.
- d. Continúa Kirchner (1990) señalando, cuando se "siembra" una gota de una disolución del Standard y de la muestra cerca del extremo de una placa cromatográfica, para luego, sumergir en un determinado sistema eluyente contenido en un recipiente luego, éste empieza a ascender por capilaridad por encima de la placa (fase estacionaria) arrastrando la muestra problema.
- e. Lo que sucederá, después de unos minutos, es que cada componente diferente de la muestra, se quedará a una distancia concreta del origen, según presente más o menos afinidad por los disolventes de la fase móvil, "formado" una mancha. El conjunto de todas estas manchas y su distribución relativa en la fase

estacionaria, constituye una denominada huella digital de la muestra, y por consiguiente su posterior identificación .

- f. La interrogante que aparece ahora, es cómo el analista, sabe que éste conjunto de “manchas” corresponden precisamente al analito y no a ningún otro tipo de analito. Por lo que se indica que la positividad está en la comparación con los patrones utilizados.
- g. Por ejemplo en una mezcla de (03) medicamentos diferentes como el diclofenaco, la aspirina, el meloxicam , nunca presentarán la misma composición química, y por lo tanto, siempre se puede encontrar un sistema eluyente y unas condiciones cromatográficas concretas que nos permitan obtener distribuciones de manchas propias y perfectamente distinguibles para cada uno de los analgésicos.
- h. El procedimiento consiste, en sembrar el patrón junto con la muestra problema que queremos analizar, y que está en función a lo que se asume quien podría ser el analgésico de la muestra.
- i. Una vez realizado este proceso cromatográfico comparativo de las “huellas digitales” obtenidas, podremos señalar, sin duda, quién es el “principio activo” presente en la muestra analizada.
- j. Es estrictamente necesario, para obtener buenos resultados, sembrar los patrones junto a la muestra que se quiere analizar, para que se desarrollen exactamente con las mismas condiciones y no utilizar resultados de antiguas cromatografías. También considerar variables como el grado de saturación de la cubeta, la temperatura que influyen en el proceso, provocando pequeñas distorsiones en la distribución de las diferentes manchas de los “analitos”.
- k. Es cierto, tal y como dijera Kirchner Justus, que la cromatografía en capa fina o TLC presenta el inconveniente de requerir un trabajo prolongado de puesta a punto de las condiciones operativas;

encontrar qué composición debe tener el sistema eluyente, determinar el tipo de adsorbente a utilizar y concretar otras condiciones cromatográficas, todo para la resolución de un problema analítico muy concreto. Ahora bien, una vez que han sido establecidas las condiciones óptimas, la cromatografía de capa fina se convierte en uno de los mejores métodos de análisis químico.

4.3 Espectroscopia UV- Visible

La espectrofotometría UV-Visible es un método óptico analítico que se basa en la transmisión o absorción de la energía radiante emitida por una fuente de luz en contacto con la sustancia a analizar.

De acuerdo a Kenneth Rubinson y Judith Rubinson, (2000) este método implica la medida de la fracción de luz de una longitud de onda dada que pasa a través de una muestra es espectroscópico porque se basa en la medida de la intensidad y de la longitud de onda de la energía radiante.

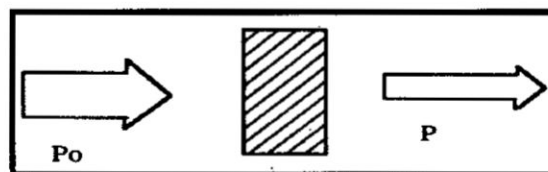
De acuerdo a Hesse y Maier (2005) tanto las moléculas como los átomos tienen un número limitado de niveles o estados energéticos cuantizados. Para que se produzca absorción de radiación, la energía del fotón excitante (incidente) debe igualar a la diferencia de energía entre el estado fundamental y uno de los estados excitados de la especie absorbente. Estas diferencias de energía (ΔE) son únicas, por lo tanto permiten caracterizar los constituyentes de una muestra. Para este objeto se obtiene experimentalmente una representación gráfica de la variación de la absorbancia en función de la longitud de onda.

La Figura 4.2, nos muestra como es el fenómeno de absorción, donde el haz de radiación monocromático, pasa a través de una capa de solución de "b" cm de espesor y que contiene una especie molecular absorbente cuya concentración está en función de las interacciones entre los fotones y las

partículas del analito, la potencia del haz disminuye de P_0 a P . Por lo que la transmitancia T de la solución es la fracción de radiación incidente transmitida por la solución.

Figura N°4.2

Fenómeno de adsorción



Fuente: Giant. T.J. 2010

El investigador Valladares S. (15) indica que según la Ley de Beer, la absorción A estará determinada por:

$$A = \log \frac{P_0}{P} = \log_{10} T = \xi \cdot b \cdot c$$

(4.2.2.1)

Dónde:

- ξ absortividad molar
- b longitud de paso óptico
- c concentración en moles/l

Según Hesse y Maier (2005), la absorción es directamente proporcional a la longitud (b) de la trayectoria de la radiación a través de la solución y a la concentración (c) del absorbente:

$$A = a \cdot b \cdot c$$

(4.2.2.2)

(**a**: constante de proporcionalidad).

Si **c** se expresa en moles por litro y **b** en cm, entonces la absorptividad (ξ).
Luego **A** se denomina *absorptividad molar*.

$$A = \xi \cdot b \cdot c$$

(4.2.2.3)

La Ley de Beer se cumple igualmente en soluciones que contienen varias especies absorbentes, siempre que no haya interacción entre estas especies. Por tanto, para un sistema multicomponente la relación será:

$$A_T = A_1 + A_2 + \dots + A_n \quad (4.2.2.4)$$

$$A_T = \xi_1 b \cdot c_1 + \xi_2 b \cdot c_2 + \dots + \xi_n b \cdot c_n \quad (4.2.2.5)$$

Se observan frecuentemente desviaciones de la proporcionalidad entre **a** y **c** (cuando **b** es constante). Algunas de estas desviaciones son importantes y representan limitaciones reales de la ley. Estas son de tipo:

- Químico;
- Instrumental.

La Ley de Beer es sólo aplicable a soluciones en las que las interacciones dependientes de la concentración de las moléculas o iones son mínimas. Concentraciones "altas" alteran las absorptividades molares y por lo tanto conducen a una relación no lineal entre **a** y **c**.

Cuando las especies absorbentes experimentan reacción química con el solvente, asociación, disociación entonces se obtiene productos con características absorbentes diferentes a las del analito.

Continua Hesse y Maier (2005) señalando mediante ejemplo típico en el que se observa en el caso de soluciones de dicromato potásico no amortiguadas, donde existen los siguientes equilibrios:





A casi todas las longitudes de onda los valores de ξ del ion dicromato y las dos especies de cromatos son muy diferentes.

El requisito básico para el cumplimiento de la Ley de Beer es que la radiación incidente sea *monocromática*. Dependiendo de las características tecnológicas del sistema óptico del instrumento será más o menos accesible poder utilizar en forma práctica una radiación confinada a una sola longitud de onda.

Según Valladares S. (15), en las técnicas de espectrofotometría UV-Vis se emplean las técnicas cualitativas y de naturaleza cuantitativa.

Las técnicas cualitativas nos ofrecen una herramienta muy útil, ya que con estos espectros existe un número relativamente escaso de máximos y mínimos. Sin embargo el análisis cualitativo es una excelente herramienta cuando va precedido de algún método de separación.

Las técnicas cuantitativas se aplican para los análisis de los compuestos:

- Compuestos orgánicos: ácidos carboxílicos, aldehídos – cetonas, alcaloides, compuestos aromáticos, vitaminas etc.
- Compuestos inorgánicos: a las especies absorbentes como nitratos, sulfatos, carbonatos etc.

Los Tipos de técnicas cuantitativas son:

a) *Recopilación de antecedentes:*

- Referencias bibliográficas.
- Métodos normalizados.

b) *Preparación y/o tratamiento de la muestra:*

Separación del compuesto de interés (precipitación, extracción por solvente, cromatografía, etc.)

c) *Selección de la longitud de onda de trabajo (λ máx.):*

según Valladares (15), la obtención del espectro de absorción señala:

- En el *espectro de un sólo haz*, se va alternando la medida de la absorbancia entre el disolvente (blanco) y la solución que contiene la muestra en función de la variación de la longitud de onda.
- En el *espectro de doble haz*, constituida por el analito y la referencia colocadas simultáneamente.

Para ello los instrumentos disponen de sistemas con microprocesador que permiten una fácil y expedita obtención de la información. Mediante estos instrumentos es posible hacer barrido de longitudes de ondas en determinadas zonas del espectro y a diferentes velocidades.

En el caso de los espectrofotómetros de Arreglo de diodos su configuración es diferente por lo que es posible obtener el espectro de absorción en un amplio rango de longitudes de onda (200–800 nm) en fracción de segundos.

Una vez establecida la longitud de λ (Máxima sensibilidad) se prepara la curva de calibración.

Para la obtención de la curva de calibración se emplea un juego de soluciones de concentraciones crecientes del analito, cumpliendo la Ley de Lambert & Beer.

«No es tan cierto presuponer que para una determinada concentración se cumpla la Ley de Beer por lo que se debe utilizar un patrón único como referencia».

Una vez obtenidos los distintos puntos (o niveles de calibración) se debe determinar la ecuación de la recta mediante análisis de regresión lineal (o ajuste de la curva por mínimos cuadrados). Los instrumentos automatizados traen estas funciones ya incorporadas en su sistema de cálculo, lo cual permite obtener el resultado final directamente.

Continua Valladares (15), que en el caso del análisis de mezclas (véase figura N°4.3, 26) se considera sus absorbancias (máxima absorción de cada componente) a una misma longitud de onda puesto que las absorbancias son aditivas. Por consiguiente es posible conocer los componentes en una mezcla en función de sus respectivas absorbancias a diferentes longitudes de onda. Se presenta las siguientes ecuaciones:

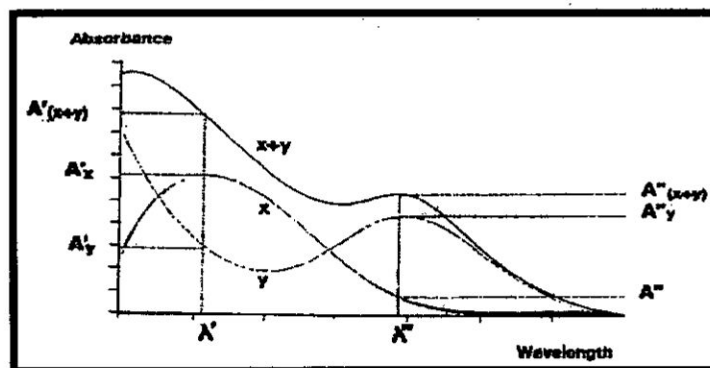
$$A_1 = C_x \xi_x + C_y \xi_y \text{ a } \lambda_1$$

$$A_2 = C_x \xi_x + C_y \xi_y \text{ a } \lambda_2$$

A partir de los patrones puros de las componentes X e Y se obtienen, por separado los respectivos valores de las absorptividades molares de X e Y . Luego quedan como incógnitas las concentraciones de X e Y a ambas longitudes de onda y se resuelve el sistema de ecuaciones pertinente.

Figura N°4.3

Espectros de absorción en una mezcla



Fuente: Gant T.J. (2010)

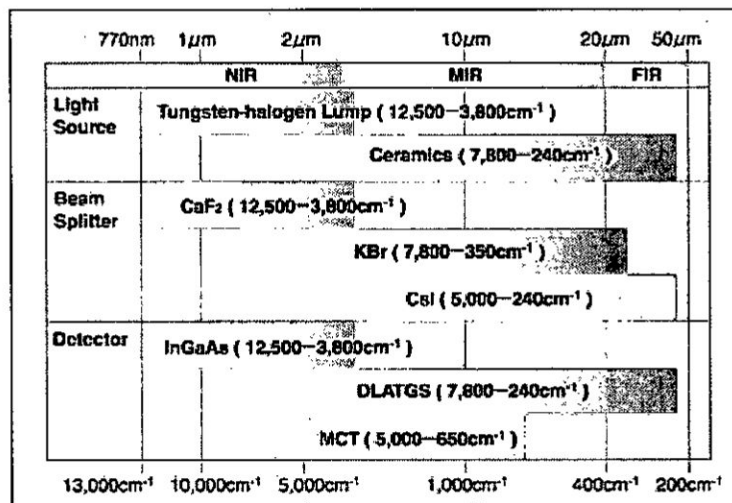
4.4. Espectrofotometría infrarroja

Según esta espectrofotometría se presenta un rango de longitudes de onda (véase figura N°4.4) en el que se puede utilizar dos tipos de espectrofotómetros infrarrojo; (ambos presentan el mismo fundamento).

Según Rubinson (2000) utilizan una fuente de luz IR al emitir una radiación, que disminuye de intensidad al pasar a través de la muestra. La disminución está en función de la frecuencia y que a su vez corresponde a las vibraciones moleculares producidas por la excitación de la sustancia. La radiación residual se mide en un detector y se transforma electrónicamente en un espectro.

El detector más conocido es el DTGS, sulfato de triglicina deuterado.

Figura N°4.4
Zonas del espectro infrarrojo



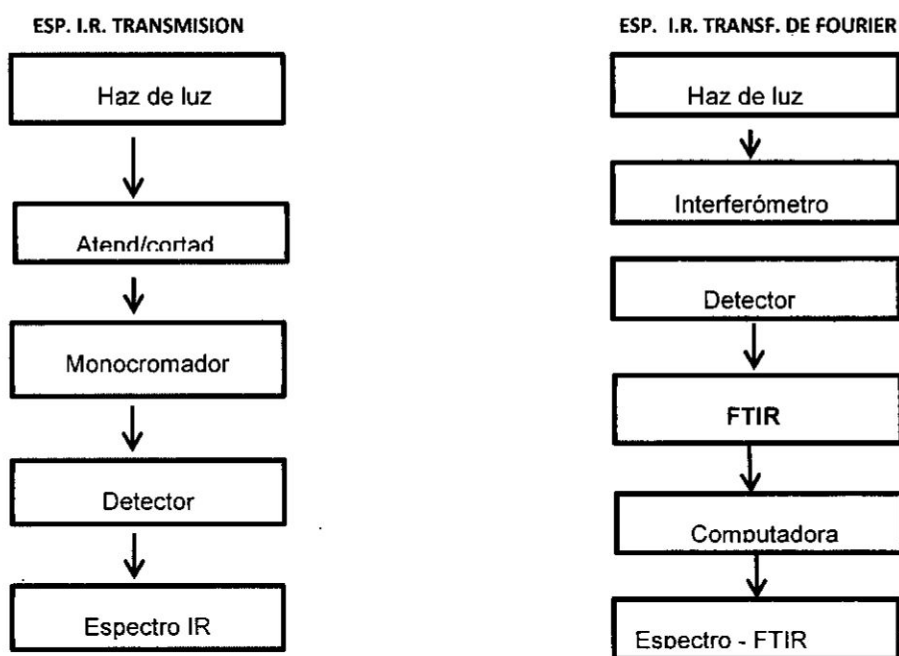
Fuente: Catalogo Shimadzu IR Prestige 21- Columbia. U.S.A.2015

Según Hesse M, Maier H (15), el Espectrofotómetro clásico de barrido, opera de acuerdo al principio de doble haz, lo que nos indica un separador de haz (chopper) que divide la radiación continua de la fuente de luz en dos haces de luz de igual intensidad. Uno de los haces pasa a través de la muestra, y el otro sirve de radiación de referencia en el que atraviesa



generalmente el aire, aunque en soluciones también puede atravesar una celda con solvente puro. Luego en el fotómetro se reunifican dichos haces. El monocromador, prisma o red de difracción descompone la radiación resultante, de tal forma que se puede registrar el espectro con el detector en función a la longitud de onda (barrido) por lo que se registra en una unidad de tiempo una única longitud de onda (véase figura N° 4.5)

Figura N° 4.5
Esquema básico de un espectrofotómetro infrarrojo



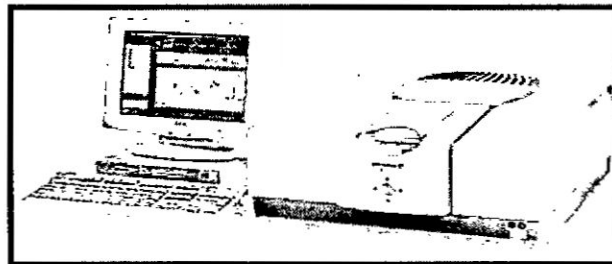
Fuente: Métodos espectroscópicos en Química Orgánica
Hesse et. al. (2005)

El espectrofotómetro de transformada de Fourier, de acuerdo a los autores Hesse, Maier, y Zeeh (2005) se basa en el registro simultáneo de todas las frecuencias del espectro IR. y que se realiza en un período de tiempo sumamente corto en relación al método "Clásico de barrido"; esto es

posible si la luz poli cromática de la fuente luminosa del IR con la misma intensidad y banda de frecuencias, se transforma en un interferograma, gracias al uso del interferómetro que significa que no es en función de la frecuencia sino del tiempo, ósea la transformación del dominio de **frecuencias**, al dominio del **tiempo**. Luego del paso de la radiación así obtenida a través de la muestra se vuelve a convertir el interferograma en un espectro mediante el recurso matemático, la transformada de Fourier.

El Espectrofotómetro infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) se caracteriza por presentar un interferómetro y el ordenador que permite realizar la transformación del dominio de frecuencias al dominio del tiempo entre otras partes importantes (véase figura N°4.6).

Figura N° 4.6
Espectrofotómetro infrarrojo de transformada de Fourier



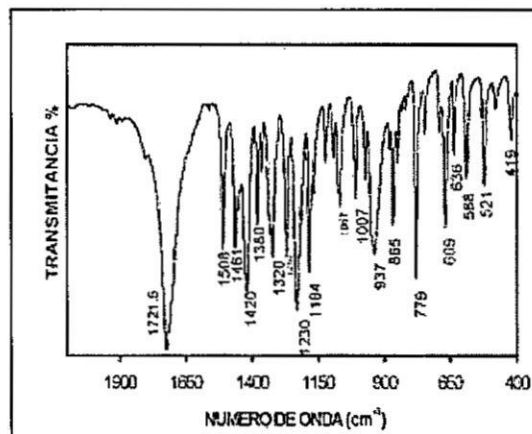
Fuente: Catalogo Shimadzu IRU.S.A. (2016)

Hesse, Meier, y Zeeh (2005) señalan que esta tecnología necesita del interferómetro de Michelson, en que la radiación se dirige al interferómetro a través de una placa de KBr o de Cs (recubierto con Ge) que funciona como separador de haz. La mitad del haz luminoso incide en un espejo fijo, la otra mitad incide sobre el espejo móvil, cuya distancia al espejo móvil se puede variar.

Ambos espejos reflejan la radiación hacia la placa, donde se produce la interferencia. La señal producida es comparada con la información obtenida con un emisor de radio de una determinada frecuencia de transmisión. Como la radiación IR es poli cromática, el interferograma obtenido es una superposición o suma de interferogramas correspondientes a todas las frecuencias individuales. Luego la radiación modulada atraviesa la muestra, donde se absorbe selectivamente de acuerdo a las vibraciones del analito. El detector registra la luz IR emergente como interferograma, transformando las señales ópticas en eléctricas y las almacena en la computadora y a través de la transformada de Fourier (véase figura N°4.7) se obtiene el espectro IR para su interpretación .

Figura N° 4.7

Espectro IR por FTIR del Ibuprofeno



Fuente: Acta Farm. Bonaerense. 2005

Rubinson señala que las técnicas de preparación de muestras por reflectancia total atenuada (ATR), tiene como componente principal el equipo de ATR que es el componente de reflectancia interna, que es generalmente un prisma o un material que transmita en el infrarrojo con un

alto índice de refracción. La luz se focaliza en una de las caras del prisma y penetra en el material. La luz llega con un ángulo tal que impida la reflexión de la luz, de modo que llega a la interface con un ángulo predeterminado (q_i).

Se denomina q_c al *ángulo crítico*. Donde q_c es:

$$Q_c = \text{sen}^{-1}(n_2/n_1) \quad (n_1 > n_2)$$

n_2 : Índice de refracción de alrededor del medio

n_1 : Índice de refracción del material.

Cuando $q_c < q_i$ la reflexión interna ocurre de forma completa y se puede decir que la luz está atrapada en el interior del prisma; después de un número de reflexiones la luz deja el prisma. Aunque en alguna de estas reflexiones internas algo de luz puede salir del prisma al medio e interactuar con ese medio, de manera que se produce una atenuación de la luz reflejada cuando ocurre la absorción. Este es el mecanismo por el cual el ATR se utiliza para generar un espectro infrarrojo.

La longitud de paso efectiva para cada celda de ATR depende de la profundidad de penetración de cada reflexión (l) y del número de dichas reflexiones. La última es determinada por q_i y las dimensiones del prisma.

Vemos que hay una dependencia de la longitud de penetración con los índices de refracción lo que da lugar a diferencias entre el método de ATR y los espectros de transmisión.

Según Rubinson los valores más frecuentes para la longitud de paso están entre 0.25 y 4 mm, por lo tanto la celda de ATR equivale a una celda de transmisión con una longitud de paso muy pequeña.

Un paso importante para obtener un buen espectro de ATR es que debemos favorecer el contacto físico entre la muestra y el cristal. Aquellos materiales maleables o que estén húmedos o incluso líquidos dan muy buenos espectros. Sin embargo las muestras en forma de polvo o

finamente divididas no dan buenos resultados.

En cualquier caso la intensidad absoluta del espectro dependerá del contacto entre la muestra y el cristal, por ello aparecerán problemas a la hora de la reproducibilidad, ya que es muy difícil.

La elección del material del prisma es crucial para el buen desarrollo del método. Se requiere uno que tenga un alto índice de refracción y el material debe ser inerte desde el punto de vista químico y que presente buenas propiedades mecánicas.

Para la mayoría de las aplicaciones la resistencia al agua es muy importante.

El muestreo y geometría de los accesorios de ATR cuando se analiza las soluciones estas deben ser preparadas usando una variación denominada *Reflectancia interna cilíndrica* (CIR) de cuya forma la celda toma el nombre de celda circular. El prisma presenta terminaciones cónicas y se monta de modo que la solución rodea al cristal. La luz se focaliza mediante lentes de modo que llegue a las terminaciones cónicas.

Estas celdas se usan para tamaños de muestra que van desde 5 ml a 120 ml, usando para ello un prisma pequeño.

Esta técnica (CIR) que presenta una longitud de paso muy pequeña es utilizada muy frecuentemente para soluciones acuosas.

Hesse M, Maier indican que en el caso de pastas y seno-sólidos como muestras se examinan utilizando lo que se denomina ATR horizontal (HATR). El prisma es ahora un paralelogramo con espejos en las terminaciones. La muestra se extiende sobre el cristal y se obtiene el espectro. La muestra se quita fácilmente con un trapo.

La muestra se fija al prisma por una serie de láminas. Hay algunos instrumentos poseen un mayor número de láminas para aumentar la presión de la muestra sobre el prisma y a la vez mejorar el contacto. Esto

es usado generalmente para muestras finamente divididas.

Como la longitud de penetración depende del ángulo de incidencia (θ_i), podemos variar esta distancia variando el ángulo.

Esto se puede llevar a cabo con un accesorio que nos permite variar el ángulo entre 30 y 60 grados. Para ello se utilizan espejos situados verticalmente (ATR vertical).

Aunque estas técnicas son muy flexibles presentan una serie de desventajas que se indican a continuación:

- a. No tienen mucho éxito con muestras en forma de polvo.
- b. Es muy sensible al contacto eficiente muestra-cristal.

De acuerdo a Hesse M, Maier, las técnicas de preparación de muestras por Reflectancia Difusa (DRIFT) se ha convertido en una de las más utilizadas para el análisis de sólidos y de muestra divididas en forma de partículas, y es generalmente no requiere preparación de muestra o esta es mínima. Sin embargo el espectro producido puede exhibir picos inusuales cuando se compara con los espectros de transmisión. En ciertos casos el espectro puede estar tan distorsionado que sea imposible determinar los componentes de la muestra. Para comprender estos fenómenos es necesario conocer en que se basa esta técnica.

Consideremos un rayo de luz que llega a la superficie de un medio particular en la interface las caras de los cristales están puestas al azar, luego hay un gran número de ángulos de incidencia con las caras. Algunos rayos llegaran con un ángulo tal que se produzca la reflexión en la superficie (r_1); lo más significativo es que este rayo no tiene interacción con la muestra. Otro rayo (r_2) llegará con un ángulo tal que se produzca la refracción y por tanto entre en el cristalito. Este rayo puede salir o que se produzcan sucesivas refracciones en el interior. En general el rayo será reflectado y refractado en varios cristales antes de salir del sólido (véase

figura N°4.8, en la página 34).

Continúa Hesse, que el ángulo de salida puede tomar cualquier valor. Son estos rayos los que interactúan con la muestra y contienen por lo tanto información espectral. Es necesario tener en cuenta que aunque el ángulo de salida es igual al ángulo de entrada, esto es solo cuando la superficie son perpendiculares al rayo, sino se produce esto, no tiene por qué cumplirse esta ley.

Esta mezcla de rayos que se reflejan y otros que se refractan no pueden ser separados, y siempre se va a producir. Por lo tanto la energía que mide el detector será la suma de las energías de los rayos que han sido reflejados y aquellos que si han interactuado con la materia. La presencia del efecto especular que es producido por la reflexión tiene importantes consecuencias en el espectro, y aunque se cuente con filtros no siempre se puede discriminar los rayos reflejados de los refractados. Aunque en ciertas circunstancias se puede mejorar la información espectral.

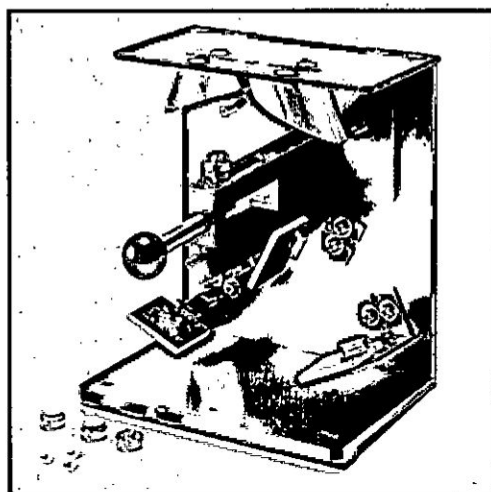
De acuerdo a Hesse (2015), la reflectancia difusa difiere de la transmisión en que la luz reflejada en la superficie no vuelve a incidir de nuevo y la información espectral depende de la dispersión de la luz por la muestra.

La reflectancia difusa tiene como desventajas:

- Si la muestra contiene agua y debido al calentamiento producido por el rayo de luz infrarrojo, esta se puede evaporar dando lugar a vapor de agua, causa fuertes interferencias en el espectro.
- El llenado de la celda es poco reproducible sobre todo cuando se quiere trabajar en análisis cuantitativo.

Figura N° 4.8

Reflectancia difusa



Fuente : Shimadzu (2007)

Handwritten mark

V. MATERIALES Y MÉTODOS

Según Tapia (2017) se ha tomado como referencia los materiales, equipos, reactivos; población, así como los resultados y lo relacionado al capítulo V en mención.

5.1. Materiales y equipos

- * Fiola de 10 ml
- * Tanque cromatográfico
- * Embudos
- * Papel de filtro
- * Pera de decantación
- * Soporte universal
- * Vasos x 250 ml
- * Balón de nitrógeno
- * Placas cromatográficas de 20 x 20 cm.
- * Equipo de cromatografía de capa fina
- * Equipo de espectrofotometría UV-Visible
- * Equipo de espectrofotometría infrarrojo
- * Aro
- * Pipeta x 1 ml
- * Viales
- * Regla
- * Capilares
- * Fiola de 50 ml
- * Pulverizador
- * Balanza

5.2 Población y muestra

Tratándose de una investigación experimental, la muestra está constituida por el principio activo claritromicina, cuyo tamaño de muestra se ha determinado de acuerdo a formula abajo indicada.

Para determinar el tamaño de muestra se aplica la siguiente fórmula:

$$n = \frac{Z^2 N (p) (q)}{e^2 (N-1) + Z^2 (p) (q)} \quad (5.2.1)$$

Dónde:

n = Muestra inicial

N = tamaño de la población

Z = Límite de confianza

pq = Campo de variabilidad, donde p representa aciertos y q a los errores.

e = Nivel de error o precisión.

Los valores a considerarse son:

Z= 1.96 (de tablas estadísticas)

p = 0.5 (elegida)

q = 0.5

e = 0.10

Reemplazando valores se obtiene, 12 muestras, de los cuales se procedió a su análisis químico de los productos comerciales, N° 01, N° 02 y del producto genérico claritromicina

5.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Para analizar el principio activo se utilizaron las técnicas instrumentales de cromatografía de capa fina, la espectrofotometría infrarroja, y la espectrofotometría ultravioleta – visible.

La cromatografía de capa fina se utiliza para separar dos o más compuestos con la finalidad de identificarlos

La espectrofotometría ultravioleta – visible se utiliza para identificar y fundamentalmente para cuantificar una sustancia química.

La espectrofotometría infrarroja se utiliza para identificar en forma fehaciente un compuesto químico especialmente un compuesto orgánico.

5.3.1 Cromatografía de capa fina

Se ha tomado como referencia el trabajo de Tapia (13) y se ha preparado las siguientes soluciones :

a) Solución de referencia (patrón):

Preparada a una concentración de 1 mg/ml de una solución de Claritromicina.

b) Preparación de la fase móvil:

Se han utilizado un sistema de fase móvil con la finalidad de elegir el solvente adecuado que permita obtener una mejor resolución de los analitos a investigar, siendo su fase móvil el Cloroformo -, metanol (1:3)

c) Preparación de la fase estacionaria:

Se han utilizado láminas de silicagel HF254 Merck de 10 x 20 cm, en soporte de aluminio para luego ser activadas mediante el calor a una temperatura de 60°C.

d) Revelador cromatográfico:

Reactivo de ácido fosfomolibdico al 5% en metanol (Kirchner 1990)

e) Tratamiento de la muestra:

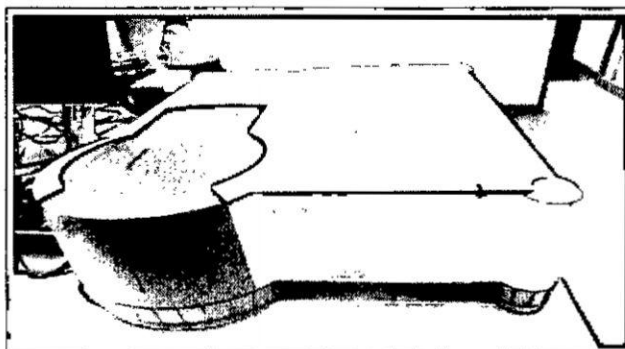
Las muestras de los productos comerciales 1 y 2 y el producto genérico se colocan en un tubo de ensayo y se procede a la filtración en un vial para la siembra correspondiente.

5.3.2 Espectrofotometría ultravioleta- visible

Determinación de la claritromicina:

Se utilizó el espectrofotómetro ultravioleta – visible marca Varian, y de modelo Cary 50 para su lectura en el que se determinó su λ máxima en metanol (véase figura N°5.1, página 38).

Figura N°5.1
Espectrofotómetro UV - VISIBLE



Fuente: Varian 2015

5.3.3. Determinación de la claritromicina por espectrofotometría infrarrojo

Se utilizó el Espectrofotómetro Infrarrojo con Transformada de Fourier modelo Prestige 21, mediante la técnica ATR. Luego de la extracción del analito y homogenizando se procede a la lectura del mismo.

5.4 Técnicas para el tratamiento de datos

Para el tratamiento de datos se usó la estadística descriptiva en base a los resultados analíticos de los productos que contienen Claritromicina como el producto N°1, N°2, el producto genérico y el standard, para lo cual se han realizado 3 lecturas de cada medicamento por los métodos de cromatografía de capa fina, de espectrofotometría ultravioleta y de la espectrofotometría infrarroja.

Los resultados obtenidos en los métodos por cromatografía de capa fina, espectrofotometría ultravioleta y espectrofotometría infrarroja se indican

mediante histograma, curva normal, ajuste de la línea recta y gráfico de control del standard, así como también de los productos N°1, N°2 y el producto genérico.

En la cromatografía de capa fina los resultados obtenidos se expresan como la relación de la distancia de soluto en relación a la distancia del eluyente (R_f).

En el método de espectrofotometría ultravioleta la longitud de onda se expresa en nanómetros (nm) y para el método de espectrofotometría infrarroja se expresan en número de onda (cm^{-1}).

VI. RESULTADOS

En la presente investigación se elaboró un diseño experimental aplicando los métodos de cromatografía de capa fina, espectrofotometría UV-Visible y FTIR, utilizando el estándar Claritromicina, los productos N° 1, N° 2 y el producto genérico.

6.1 Cromatografía de capa fina

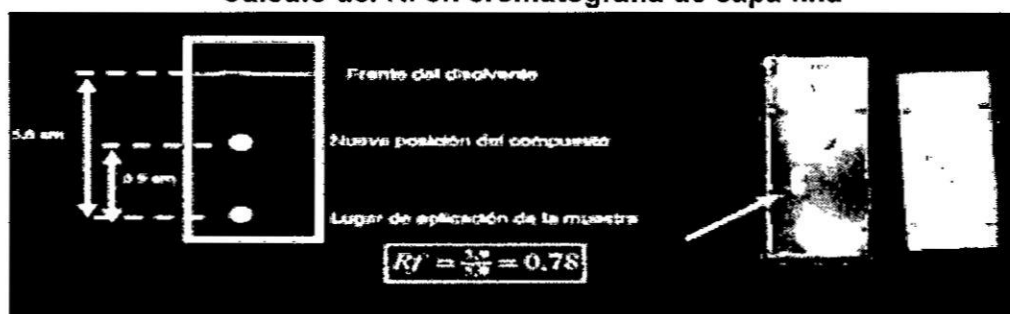
6.1.1 Reveladores cromogénicos

Con el reactivo ácido fosfomolibdico al 5% en metanol se obtuvieron manchas de color amarillento.

6.1.2 Determinación del Rf

Por este método se determinó la relación Rf en la cromatografía de capa fina para la sustancia química analizada (véase figura N°6.1).

Figura N° 6.1
Cálculo del Rf en cromatografía de capa fina



Fuente: Camag 2003

En el presente trabajo se utilizó el estándar Claritromicina, los productos comerciales 1, 2 y el producto genérico estableciéndose el Rf de cada producto (véase la tabla N°6.1, en la página 40).

Tabla N° 6.1
Resultados comparativos de la cromatografía de capa fina

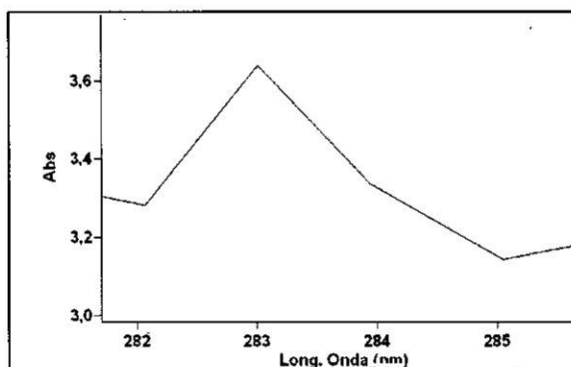
N° de	Estándar	Distancia soluto/Distancia eluyente		
		N° 1	Genérico	N° 2
1	0.96	0.96	0.95	0.95
2	0.94	0.97	0.94	0.97
3	0.98	0.98	0.96	0.97

Fuente: Elaboración propia. 2017

6.2 Espectroscopia ultravioleta

Utilizando una solución metanólica de Claritromicina se realizó un barrido en la zona ultravioleta (200 a 400 nm) con el cual se observa que se obtiene una máxima de absorbancia a la longitud de onda media de 283 nm con la Claritromicina estándar, productos N°1, N°2 y el producto genérico que contienen Claritromicina (véase figura N°6.2) y los resultados comparativos de la longitud de onda de máxima absorbancia en el rango UV (véase tabla N° 6.2, página 41).

Figura N° 6.2
Espectro UV de la Claritromicina
en H₂SO₄ (0.2M)



Fuente: Elaboración propia.(2017)

↷

Tabla N°6.2

Resultados comparativos de la longitud de onda de máxima absorbancia en el UV

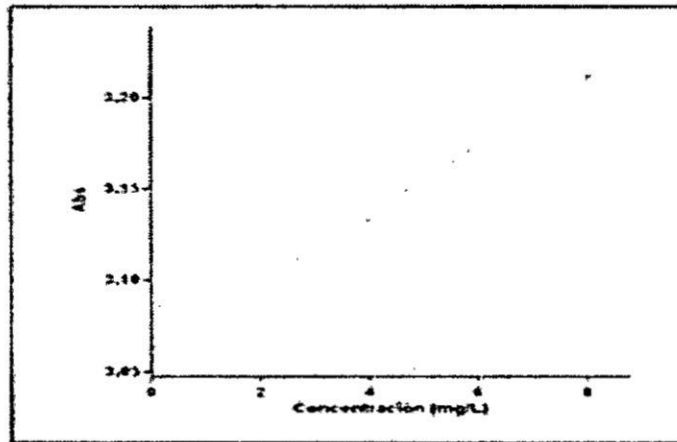
N° de muestras	St.	Longitud de onda (nm)		
		N° 1	Producto genérico	N° 2
1	282	281	284	286
2	283	282	283	284
3	280	281	286	283

Fuente: Elaboración propia (2018)

Para el análisis cuantitativo del analito, se elaboro la curva de calibración con el estándar de claritromicina (véase figura N°6.3).

Figura N° 6.3

Curva de calibración de la claritromicina



Fuente: elaboración propia (2018)

La concentración de claritromicina en cada una de las muestras se determinó mediante espectrofotometría UV, utilizando la curva de calibración y se obtuvo la cantidad de claritromicina expresada en porcentaje en peso/peso (%p/p) (véase tabla N°6.3).

Tabla N°6.3

Concentración de claritromicina (%p/p)

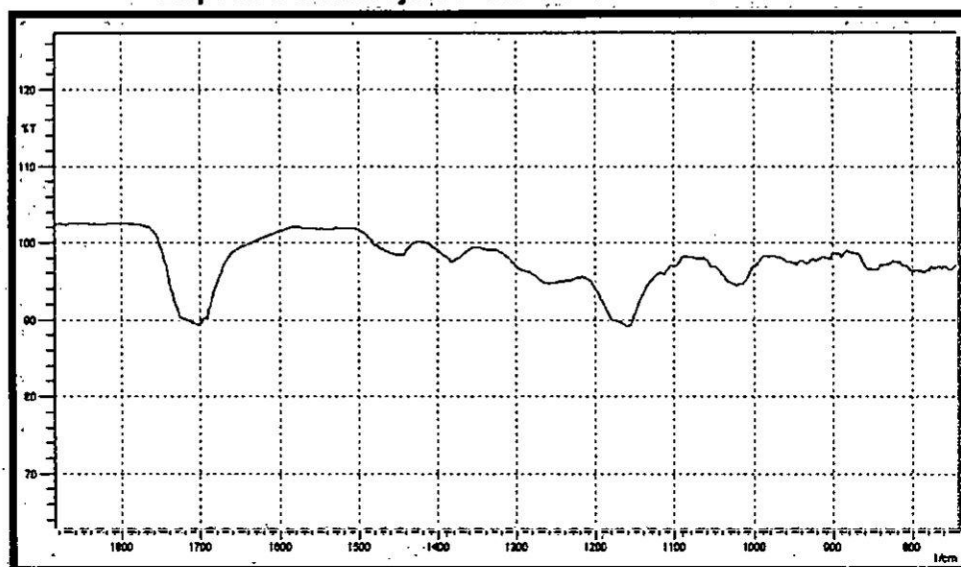
Muestra	(%m/m)
Patrón.	100%
Producto N°1	99.6%
Producto N°2	86%
Producto genérico	88%

Fuente : Elaboración propia

6.3 Espectrofotometría infrarrojo

Se procedió a la identificación del Claritromicina mediante el uso de un Espectrofotómetro Infrarrojo con transformada de Fourier, observándose que dicha molécula presenta picos a un número de onda de 1155 y 1710 cm^{-1} (véase figura N°6.4, en la página 44)

Figura N° 6.4
Espectro infrarrojo del standard Claritromicina



Fuente: Elaboración propia (2017)

Se generó el espectro IR para cada una de las muestras y se determinó el número de onda característico de la claritromicina (véase tabla N°6.4).

Tabla N°6.4
Resultados comparativos del estándar y los analitos por espectrometría infrarroja

N° Muestra	Estándar	Número de onda (cm ⁻¹)		
		N° 1	Producto genérico	N° 2
1	1710	1715	1714	1716
2	1714	1712	1715	1714
3	1712	1714	1713	1713

Fuente: Elaboración propia (2018)

6.4. Resultados del análisis estadístico

6.4.1 La cromatografía de capa fina (CCF)

El método de cromatografía de capa fina cuyo resultado se expresa con el denominado "Rf" (distancia soluto/distancia eluyente), presenta los estadísticos de la media, desviación estándar de las muestras Claritromicina estándar (St), productos comerciales (N° 1 y N° 2) y producto genérico (PG) aplicando el programa estadístico Minitab versión 16. Se elaboraron gráficos de Histograma, curva normal y diagrama de cajas en base a los resultados obtenidos en el método de cromatografía de capa fina (véase tabla N° 6.5, página 45) y se ha colocado como título para cada gráfico la sigla HCNDC (representación de los estadísticos indicados anteriormente).

También se indica el método estadístico Gráfico de control (GC), "Línea ajustada" por "LA". La secuencia utilizada para el título de cada gráfico es la siguiente: 1° se coloca la sigla que corresponde al método analítico, luego el nombre del estadístico utilizado y finalmente el N° de muestra analizada. Ejemplo : con la sigla "CCF-HCNGC-N°1", la primera expresión "CCF" significa que se ha utilizado el método analítico de cromatografía de capa fina, el "HCNGC" que se ha utilizado los estadísticos histograma, curva normal, gráfico de control y que corresponde a la muestra N° 1, analizada (ver tablas 6.5 al 6.7, página 47 al 49)

6.4.2. Espectrofotometría infrarroja con transformada de Fourier

El método de Espectrofotometría con transformada de Fourier (FTIR) cuyo resultado se expresa en cm^{-1} (véase tabla N°6.8), se utilizó los estadísticos de la media, desviación estándar de las muestras Claritromicina estándar (St), productos comerciales (N° 1 y N° 2) y producto genérico (PG) aplicando el programa estadístico Minitab versión 16. Los gráficos: Histograma, curva normal, diagrama de cajas han sido representados con la sigla HCNDC.

También se indica el método estadístico “Gráfico de control” por la sigla “GC” y el de la “Línea ajustada” por “LA”. La secuencia utilizada para el título del gráfico es la siguiente: 1° se coloca la sigla que corresponde al método analítico. Luego del estadístico utilizado y finalmente el N° de muestra analizada (ver tablas 6.8 al 6.10, páginas 50 al 53)

6.4.3 Espectrofotometría ultravioleta

El método ultravioleta – visible (UV-Vis) cuya Longitud de onda”, se expresa en “nanómetros” (nm), presenta los estadísticos de la desviación estándar, la media, de las muestras Claritromicina estándar (St) , productos comerciales (N° 1 y N° 2) y producto genérico (PG) aplicando el programa estadístico Minitab versión 16. Los gráficos: Histograma, curva normal, diagrama de cajas han sido representados con la sigla HCNDC, cuyos datos fueron obtenidos de la tabla 6.11.

También se indica el método estadístico “Gráfico de control” con la sigla “GC” y el de la “Línea ajustada” por “LA”. La secuencia utilizada para el título del gráfico es la siguiente : 1° se coloca la sigla que corresponde al método analítico. Luego del estadístico utilizado y finalmente el N° de muestra analizada (ver tablas 6.11 al 6.13, páginas 54 al 57)

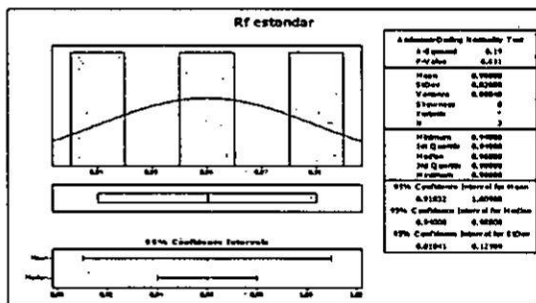


Tabla N°6.5
Claritromicina CCF- HCNDC

	Rf-St	Rf- N° 1	RF- N° 2	Rf-PG
	Gráfico 6.1	Gráfico 6.2	Gráfico 6.3	Gráfico 6.4
1	0.96	0.96	0.94	0.95
2	0.94	0.97	0.96	0.94
3	0.98	0.98	0.96	0.96
\bar{x}	0.96	0.97	0.953	0.95
σ	0.02	0.01	0.011	0.01

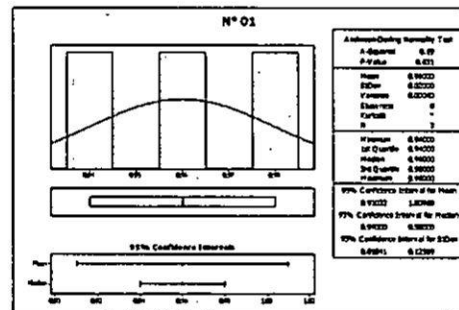
Fuente: Elaboración propia

Gráfico 6.1.
CCF-HCNDC-St



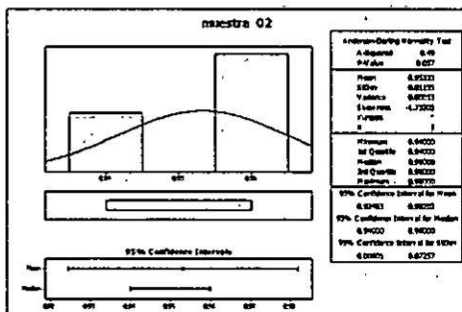
Fuente : Minitab 16

Gráfico 6.2.
CCF-HCNDC-N°1



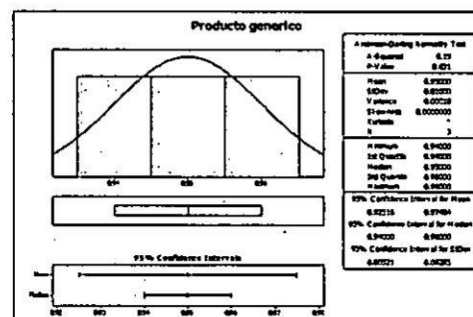
Fuente : Minitab 16

Gráfico 6.3
CCF-HCNDC-N°2



Fuente : Minitab 16

Gráfico 6.4
CCF-HCNDC-PG



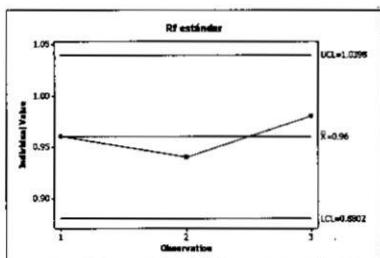
Fuente : Minitab 16

Tabla N° 6.6
Cromatografía de capa fino-gráfica de control (CCF-GC)

Muestras	Rf			
	St Gráfico 6.5	N° 01 Gráfico 6.6	N° 02 Gráfico 6.7	PG Gráfico 6.8
1	0.96	0.96	0.94	0.95
2	0.94	0.97	0.96	0.94
3	0.98	0.98	0.96	0.96

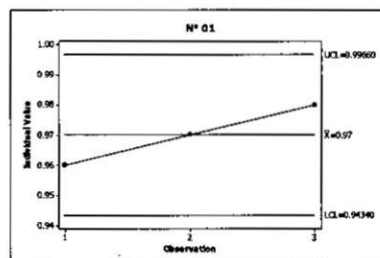
Fuente: Elaboración propia

Gráfico N° 6.5
CCF-GC-St



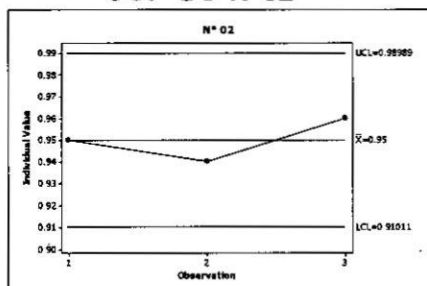
Fuente : Minitab 16

Gráfico N° 6.6
CCF-GC-N°1



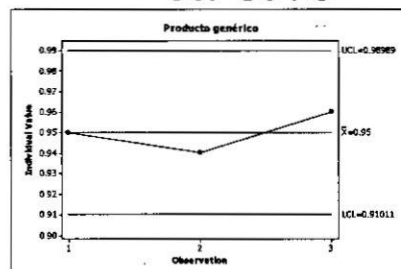
Fuente: Minitab 16

Gráfico N° 6.7
CCF-GC-N°02



Fuente: Minitab 16

Gráfico N°6.8
CCF-GC-PG



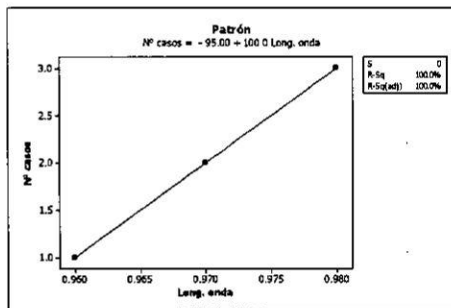
Fuente: Minitab 16

Tabla N° 6.7
Cromatografía de capa fina-
línea ajustada (CCF-LA)

Muestras	Rf			
	St Gráfico 6.9	N° 01 Gráfico 6.10	N° 02 Gráfico 6.11	PG Gráfico 6.12
1	0.96	0.96	0.94	0.95
2	0.94	0.97	0.96	0.94
3	0.98	0.98	0.96	0.96

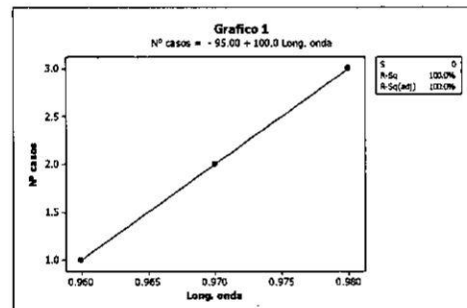
Fuente: Elaboración propia

Gráfico N° 6.9
CCF-LA-St



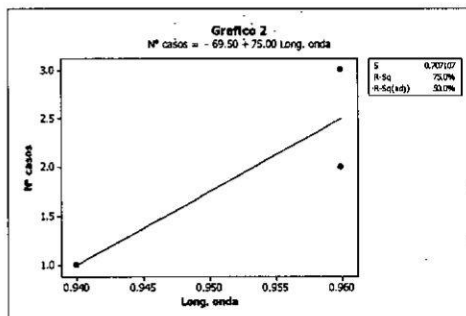
Fuente : Minitab 16

Gráfico N° 6.10
CCF-LA -N°1



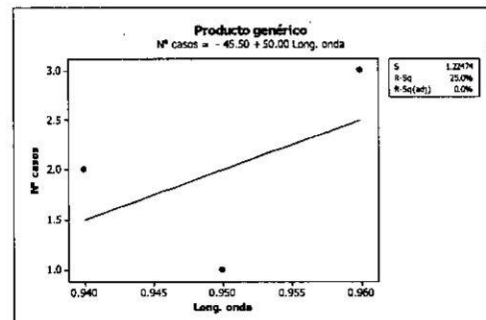
Fuente : Minitab 16

Gráfico N° 6.11
CCF- LA-N° 02



Fuente : Minitab16

Gráfico N° 6.12
CCF-LA-PG



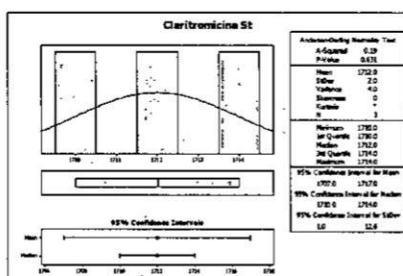
Fuente: Minitab 16

Tabla N° 6.8
Claritromicinas – FTIR - HCNDC

Muestra	LONGITUD DE ONDA (cm ⁻¹)			
	St Gráfico 6.13	N° 1 Gráfico 6.14	N° 2 Gráfico 6.15	PG Gráfico 6.16
1	1710	1715	1716	1714
2	1714	1712	1714	1715
3	1712	1714	1713	1713
\bar{x}	1712	1712	1714	1714
σ	2	1	1	1

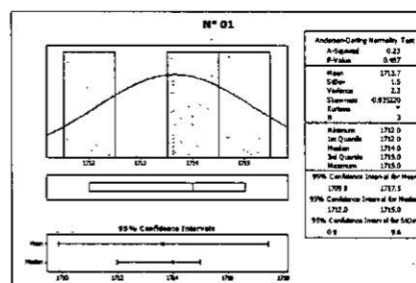
Fuente : Elaboración propia (2018)

Gráfico N° 6.13
FTIR-HCNDC-St



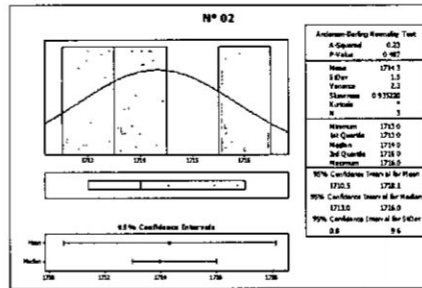
Fuente :Elaboración propia

Gráfico N° 6.14
FTIR-HCNDC-N°1



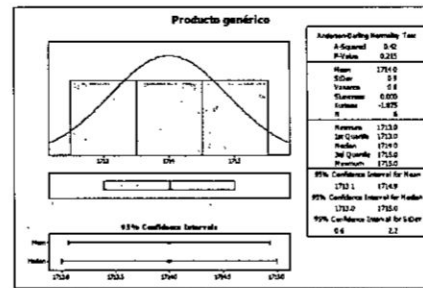
Fuente :Elaboración propia

Gráfico N°6.15
FTIR-HCNDC-N° 2



Fuente : Elaboración propia

Gráfico N°6.16
FTIR-HCNDC-PG



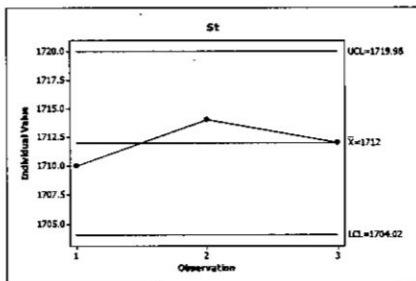
Fuente : Elaboración propia

Tabla N° 6.9
Claritromicinas – Espectrofotometría infrarroja
Gráfico de Control (FTIR-GC)

LONGITUD DE ONDA (cm ⁻¹)				
N° casos	St	N° 1	N° 2	PG
	Gráfico 6.17	6.18	Gráfico 6.19	Gráfico 6.20
1	1710	1715	1716	1714
2	1714	1712	1714	1715
3	1712	1714	1713	1713

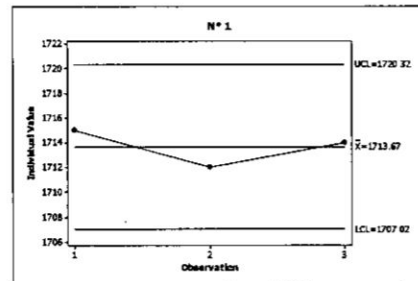
Fuente : Elaboración propia

Gráfico 6.17
FTIR-GC-St



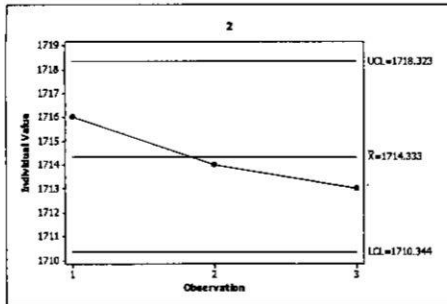
Fuente: Elaboración propia

Gráfico 6.18
FTIR-GC- N°1



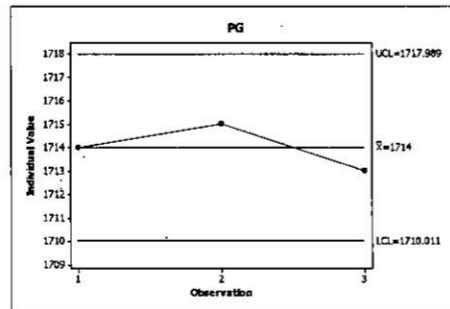
Fuente: Elaboración propia

**Gráfico 6.19
FTIR-GC-N° 2**



Fuente: Elaboración propia

**Gráfico 6.20
FTIR-GC-PG**



Fuente: Elaboración propia

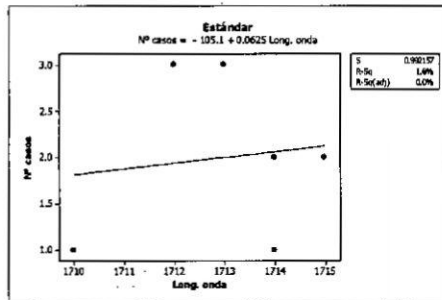
Tabla N° 6.10

**Claritromicinas – Espectrofotometría infrarroja – línea ajustada
(FTIR-LA)**

N° casos	LONGITUD DE ONDA (cm ⁻¹)			
	Claritromicina St Gráfico 6.21	N° 1 6.22	N° 2 Gráfico 6.23	PG Gráfico 6.24
1	1710	1715	1716	1714
2	1714	1712	1714	1715
3	1712	1714	1713	1713
\bar{X}	1712	1712	1714	1714
σ	2	1	1	1

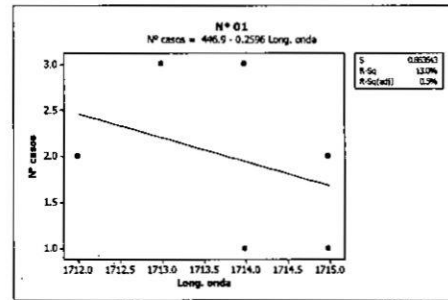
nte : Elaboración propia

**Gráfico N° 6.21
FTIR-LA- St**



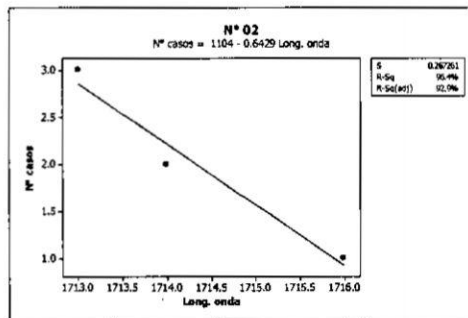
Fuente : Elaboración propia

**Gráfico N° 6.22
FTIR-LA- N° 01**



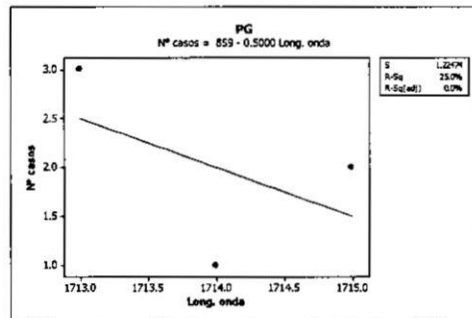
Fuente : Elaboración propia

**Gráfico N° 6.23
FTIR-LA-N° 2**



Fuente : Elaboración propia

**Gráfico N° 6.24
FTIR-LA- PG**



Fuente : Elaboración propia

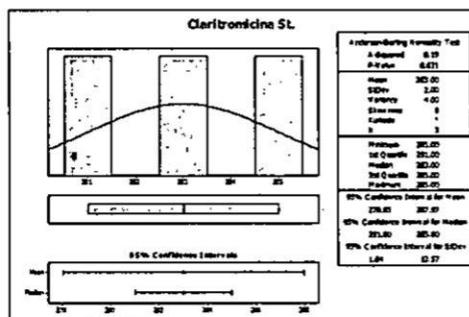
S

Tabla N° 6.11
Claritromicinas - UV-HCNDC

N° Muestras	Longitud de onda (nm)			
	St. Gráfico 6.25	N° 01 Gráfico 6.26	N° 02 Gráfico 6.27	PG Gráfico 6.28
1	285	278	286	281
2	283	282	284	283
3	281	281	283	284
\bar{X}	283	280.33	282.67	284.33
σ	2.00	2.08	1.53	1.53

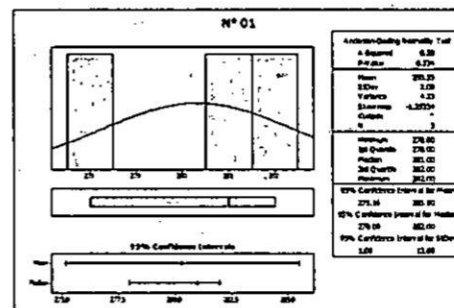
Fuente : Elaboración propia (2018)

Gráfico N° 6.25
UV-HCNDC-St



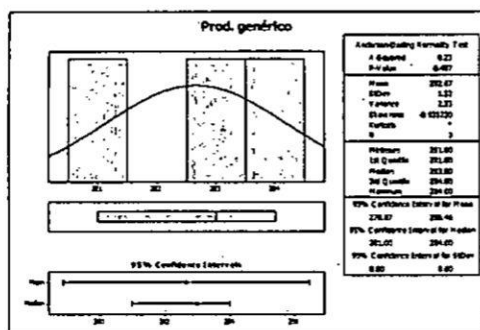
Fuente : Elaboración propia

Gráfico N° 6.26
UV-HCNDC-N° 1



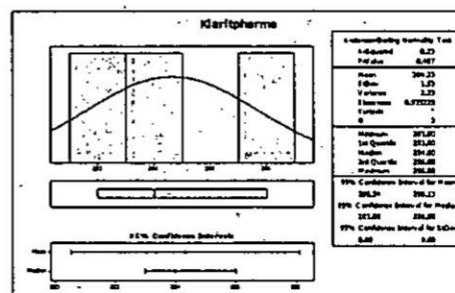
Fuente : Elaboración propia

Gráfico N° 6.27
UV-HDCNDC-N° 2



Fuente : Elaboración propia

Gráfico N° 6.28
UV-HDCNDC-PG



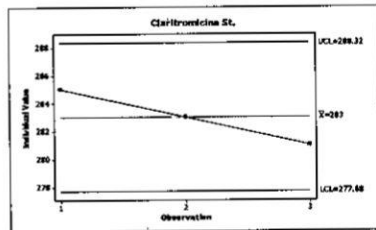
Fuente : Elaboración propia

Tabla N° 6.12
Claritromicinas- Ultravioleta visible-gráfico de control
(UV-GC)

N° muestras	Longitud de onda			
	St	N° 1	PG	N° 2
1	285	278	281	286
2	283	282	283	284
3	281	281	284	283

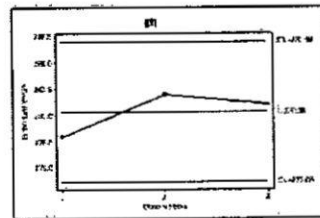
Fuente : Elaboración propia (2018)

Gráfico N° 6.29
UV- GC- St



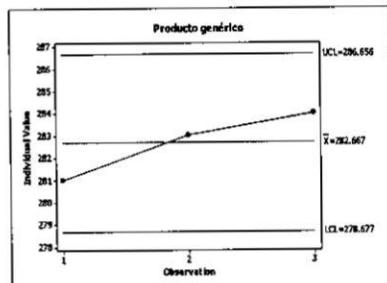
Fuente : Elaboración propia

Gráfico N° 6.30
UV - GC - N° 1



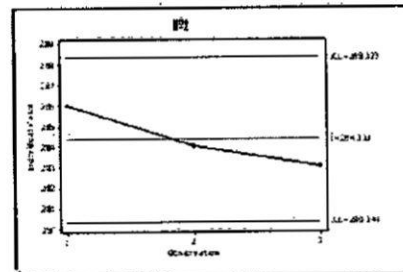
Fuente : Elaboración propia

Gráfico N° 6.31
UV-GC-N°2



Fuente : Elaboración propia

Gráfico N° 6.32
UV-GC- PG



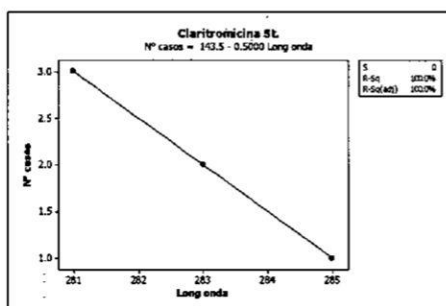
Fuente : Elaboración propia

TABLA N° 6.13
Claritromicinas- UV - LA

N° de muestras	St.	Longitud de onda		PG
		N° 1	N° 2	
1	285	278	286	281
2	283	282	284	283
3	281	281	283	284

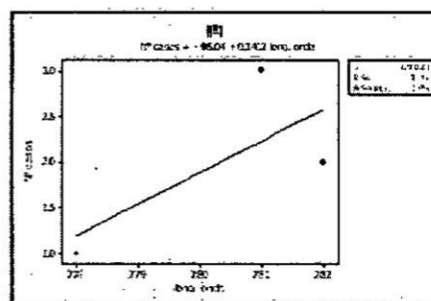
Fuente : Elaboración propia. 2018

Gráfico N°6.33
UV-LA-St



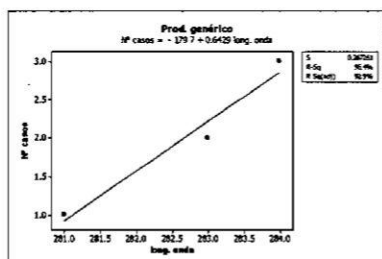
Fuente : Elaboración propia

Gráfico N°6.34
UV-LA-N° 1



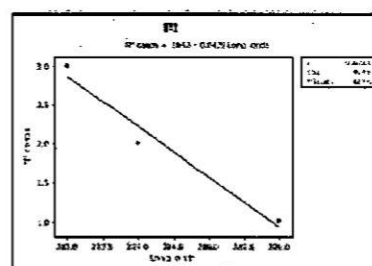
Fuente : Elaboración propia

Gráfico 6.35
UV-LA- N° 2



Fuente : Elaboración propia

Gráfico 6.36
UV-LA-PG



Fuente : Elaboración propia

b

VII. DISCUSIÓN

En el presente capítulo se ha tomado como referencia el trabajo de investigación desarrollado por Tapia (2017) donde se detalla los apéndices, tablas, figuras relacionadas dado que es un trabajo de carácter experimental y se utiliza los materiales de laboratorio y equipos similares.

- **Cromatografía de capa fina**

Mediante éste método se ha obtenido como resultados que los Rf de las muestras N° 1, N° 2, y producto genérico; son concordantes en relación al Rf (0.96) del estándar (véase tablas 6.5 al 6.7, gráficos N° 6.1 al 6.12,; páginas 47 al 49), dada su capacidad de separación de los analitos en función a la fase estacionaria con la fase móvil.

- * **Espectrofotometría Infrarroja**

Mediante éste método se ha obtenido como resultado que los número de onda de las muestras N^a 1, N° 2, y producto genérico; son concordantes en relación al número de onda (1712 cm⁻¹) del estándar (véase tablas 6.8 al 6.10, gráficos N° 6.13 al 6.24; páginas 50 al 55), debido a que presentan un número de onda característico entre ellos.

- **Espectrofotometría ultravioleta**

Mediante la técnica U.V. cualitativa se ha obtenido como resultado que las muestras N^a 1, N° 2, y producto genérico, sus longitudes de onda son concordantes en relación a la longitud de onda (283 nm) del estándar (véase tablas 6.11 al 6.13, gráficos N° 6.25 al 6.36; páginas 54 al 57), dado que presentan una estructura molecular característica.

Mediante la técnica U.V. cuantitativa se ha obtenido como resultado que la muestras N^a 1, se obtuvo el 99.6%, la muestra N° 2 se obtuvo el 86%, y el producto genérico; 88% en relación al estándar (100%). (véase tabla 6.3,



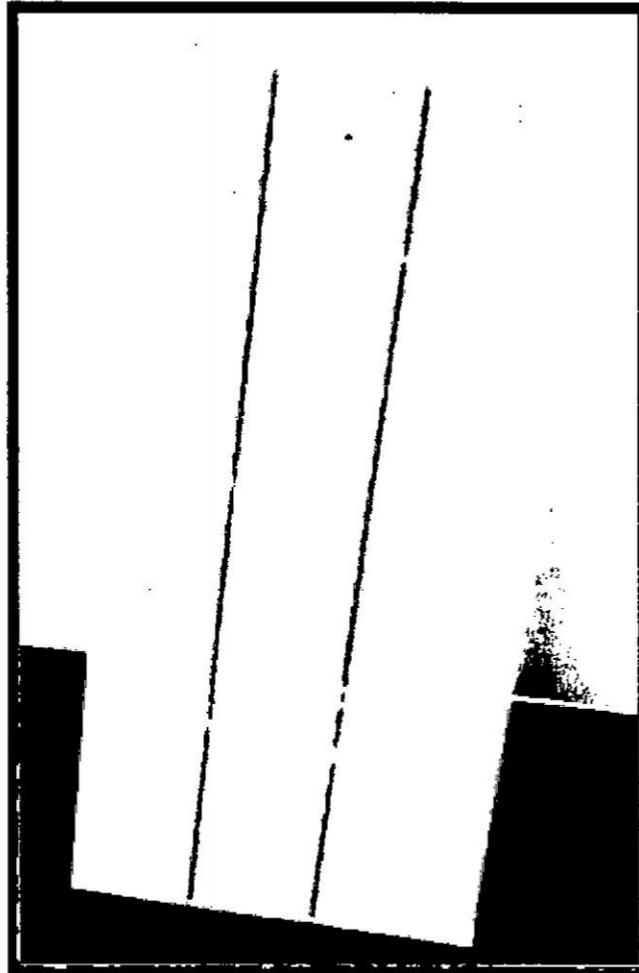
página 43) en base a lo indicado en los blíster de los comprimidos de Claritromicina analizados.

Finalmente con todos los resultados indicados anteriormente; el medicamento N°1 contiene el principio activo, Claritromicina con una concentración de 498 mg (99.6%) en el análisis por espectrofotometría ultravioleta cumpliendo con lo expresado en la Farmacopea americana, (técnica oficial que indica no menos del 90%, ni más del 110% para comprimidos de Claritromicina de 500 mg). El medicamento N°2, y el producto genérico no cumple con lo expresado en dicha técnica oficial.

- 20) WINKEL P, HILDEN J, FISCHER HANSEN J. **Clarithromycin for stable coronary heart disease increases all-cause and cardiovascular mortality and cerebrovascular morbidity over 10 years in the clarico randomised, blinded clinical trial**, *International Journal of Cardiology*. Vol.(182): 459 al 465. Marzo 2015.
- 21) WORKMAN J.WEYER L. **Practical guide and spectral Atlas for interpretaive near-infrared spectroscopy**. Boca Raton. CR Press. 2011
- 22) YAN CHUN FENG et-al. **Construction of identification system for non-invasive analysis of macrolides tablets using near infrared diffuse reflectance spectroscopy**. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. Vol. (51)1: 12 al 17. Enero 2010

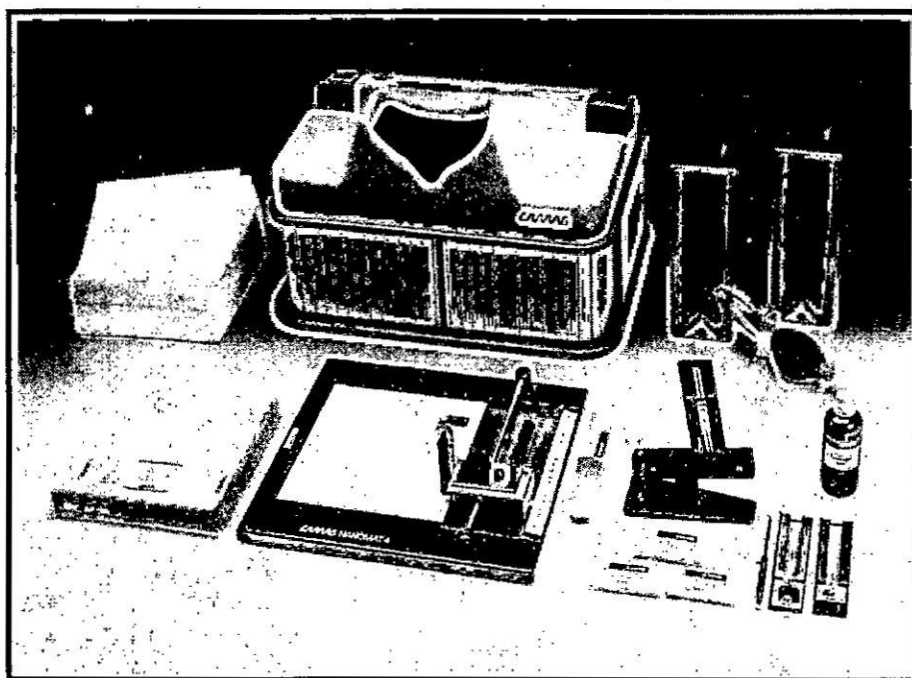
IX. APÉNDICES

Figura N° 9.1
Cromatograma de capa fina: Claritromicina
y muestras



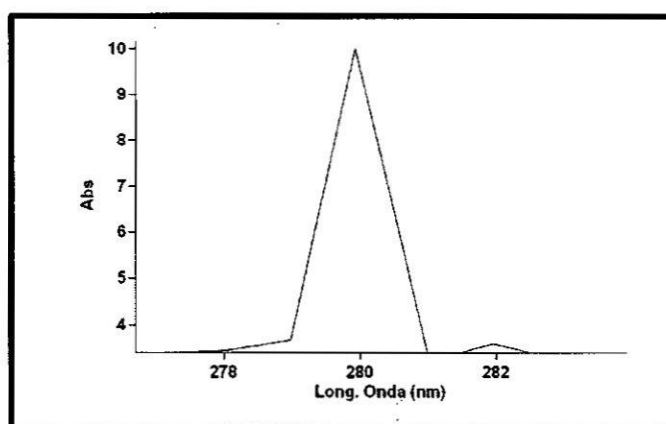
Fuente: Elaboración propia (2017)

Figura N° 9.2
Equipo de cromatografía de capa fina



Fuente: Planar Thin Layer Chromatography. Camag (2003).

Figura N° 9.3
Espectro U.V. claritromicina



Fuente: Elaboración propia (2017)



X. ANEXOS

10.1 Matriz de consistencia

Problemas	Objetivos	Hipótesis	Variables	Metodología	Indicadores
Problema General	Objetivo general	Hipótesis general	Variable Dependiente		
¿La investigación analítica instrumental determinará si la Claritromicina se encuentra en menor concentración a lo establecido en la farmacopea Americana en medicamentos?	Identificar y cuantificar la Claritromicina, mediante las técnicas de espectrofotometría infrarroja con transformada de Fourier, espectrofotometría U.V-visible y cromatografía de capa fina en medicamentos	La Claritromicina en medicamentos no cumple con lo establecido en la farmacopea Americana	Y= concentración de la claritromicina en medicamentos	Análisis químicos en medicamentos	(%)
Problemas específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis específica	Variables Independientes		Indicadores
* Cuáles son las propiedades físico-químicas que presenta la Claritromicina para su identificación?	- Realizar en base a sus propiedades físico-químicas, pruebas para su identificación	- De acuerdo a las propiedades físico-químicas se identifica a la Claritromicina	X1= método espectroscópico Infrarrojo	Espectrofotometría - Picos característicos	Transmitancia (cm ⁻¹)
¿Qué técnicas analíticas químico instrumentales se requieren para demostrar la pureza de la Claritromicina?	Aplicar técnicas analíticas instrumentales para demostrar la pureza de la Claritromicina	-Las técnicas analíticas instrumentales permiten determinar la pureza de la Claritromicina	X2= método espectrofotométrico UV-Visible	Espectrofotometría - Picos característicos	Absorbancia (nm)
			X3= método cromatográfico de capa fina	Distancia del soluto/distancia del eluyente	(Rf)

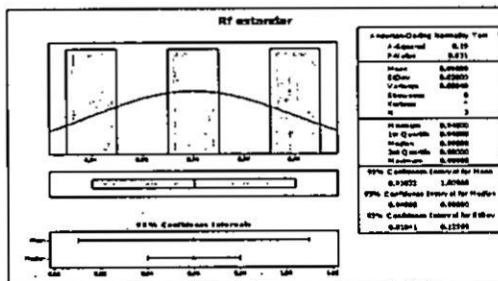
10.2. TABLAS Y GRAFICOS

Tabla N° 10.2.1
Claritromicina CCF- HCNDC

	Rf-St	Rf- N° 1	RF- N° 2	Rf-PG
	Gráfico 1	Gráfico 2	Gráfico 3	Gráfico 4
1	0.96	0.96	0.94	0.95
2	0.94	0.97	0.96	0.94
3	0.98	0.98	0.96	0.96
\bar{x}	0.96	0.97	0.953	0.95
σ	0.02	0.01	0.011	0.01

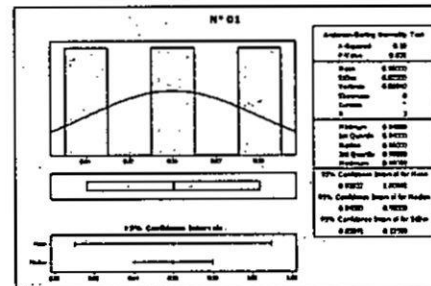
Fuente: Elaboración propia

Gráfico 1
CCF-HCNDC-St



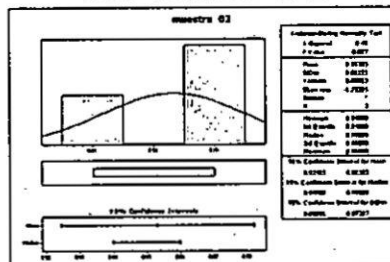
Fuente.: Minitab 16

Gráfico 2
CCF-HCNDC- N°1



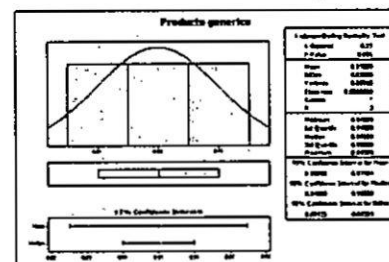
Fuente : Minitab 16

Gráfico 3
CCF-HCNDC- N°2



Fuente : Minitab 16

Gráfico 4
CCF-HCNDC- PG



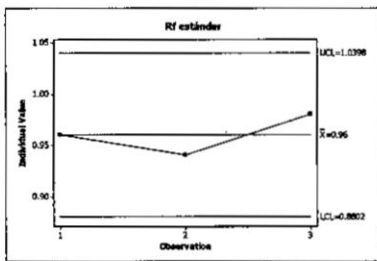
Fuente : Minitab 16

Tabla N° 10.2.2
Cromatografía de capa fino-gráfica de control (CCF-GC)
 Rf

Muestras	St Gráfico 5	N° 01 Gráfico 6	N° 02 Gráfico 7	PG Gráfico 8
1	0.96	0.96	0.94	0.95
2	0.94	0.97	0.96	0.94
3	0.98	0.98	0.96	0.96

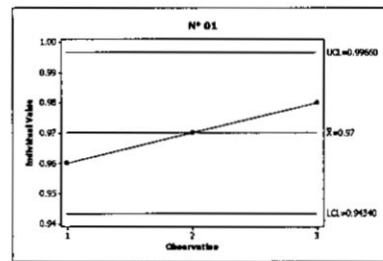
Fuente: Elaboración propia

Gráfico N° 5
CCF-GC-St



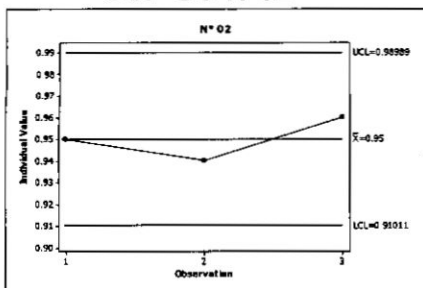
Fuente : Minitab 16

Gráfico N° 6
CCF-GC-N°1



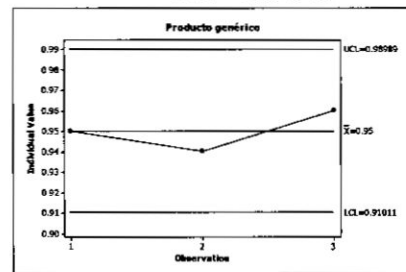
Fuente: Minitab 16

Gráfico N° 7
CCF-GC-N°02



Fuente: Minitab 16

Gráfico N° 8
CCF-GC-PG



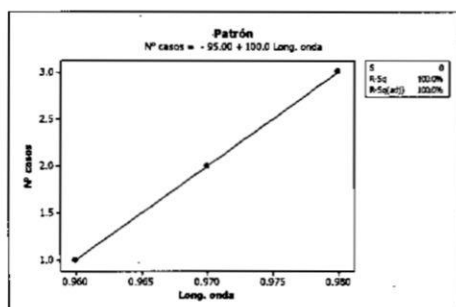
Fuente: Minitab 16

Tabla N° 10.2.3
Cromatografía de capa fina-
línea ajustada (CCF-LA)

Muestras	St Gráfico 9	Rf		
		N° 01 Gráfico 10	N° 02 Gráfico 11	PG Gráfico 12
1	0.96	0.96	0.94	0.95
2	0.94	0.97	0.96	0.94
3	0.98	0.98	0.96	0.96

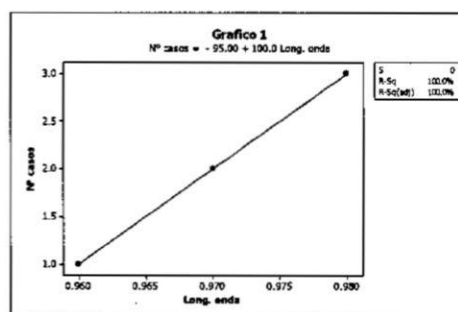
Fuente: Elaboración propia

Gráfico N° 9
CCF-LA-St



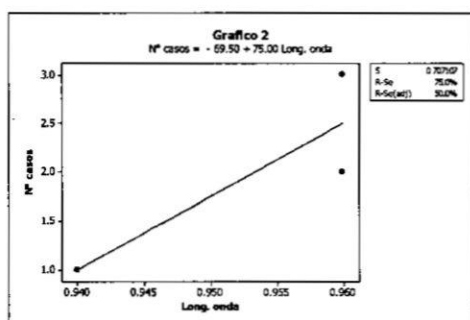
Fuente : Minitab 16

Gráfico N° 10
CCF-LA -N°1



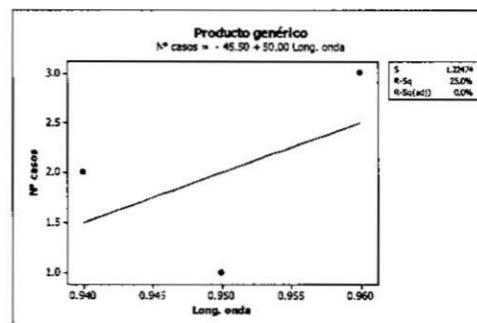
Fuente : Minitab 16

Gráfico N° 11
CCF- LA-N° 02



Fuente : Minitab16

Gráfico N° 12
CCF-LA-PG



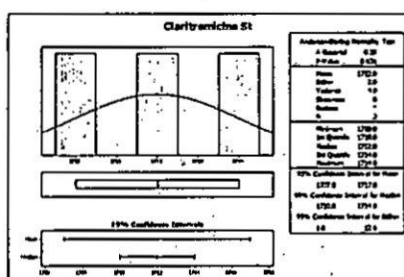
Fuente: Minitab 16

Tabla N° 10.2.4
Claritromicinas – FTIR - HCNDC

Muestra	LONGITUD DE ONDA (cm ⁻¹)			
	St Gráfico 13	N° 1 Gráfico 14	N° 2 Gráfico 15	PG Gráfico 16
1	1710	1715	1716	1714
2	1714	1712	1714	1715
3	1712	1714	1713	1713
\bar{x}	1712	1712	1714	1714
σ	2	1	1	1

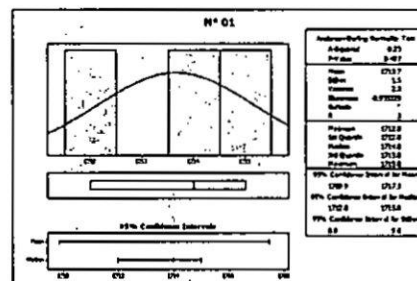
Fuente : Elaboración propia (2018)

Gráfico N° 13
FTIR-HCNDC-St



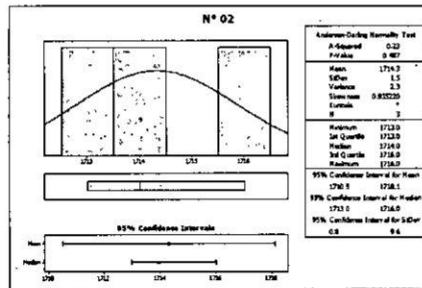
Fuente :Elaboración propia

Gráfico N° 14
FTIR-HCNDC-N°1



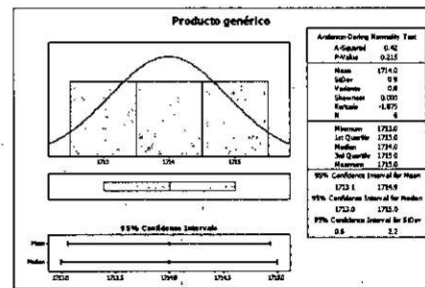
Fuente :Elaboración propia

Gráfico N° 15
FTIR-HCNDC-N° 2



Fuente : Elaboración propia

Gráfico N° 16
FTIR-HCNDC-PG



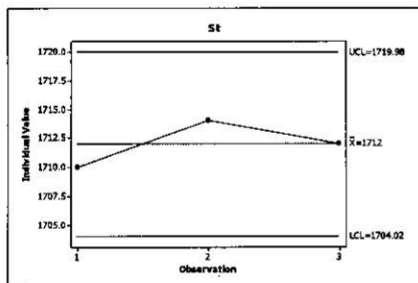
Fuente : Elaboración propia

Tabla N° 10.2.5
Claritromicinas – Espectrofotometría infrarroja
Gráfico de Control (FTIR-GC)

N° casos	LONGITUD DE ONDA (cm ⁻¹)			
	St Gráfico 17	N° 1 Gráfico 18	N° 2 Gráfico 19	PG Gráfico 20
1	1710	1715	1716	1714
2	1714	1712	1714	1715
3	1712	1714	1713	1713

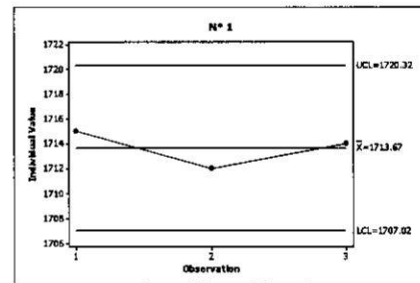
Fuente : Elaboración propia

Gráfico 17
FTIR-GC-St

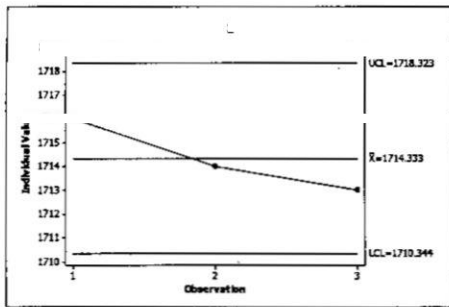


Fuente: Elaboración propia

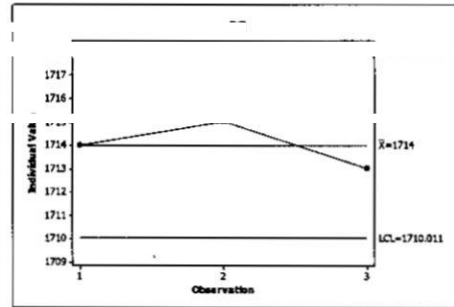
Gráfico 18
FTIR-GC- N°1



Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia

Tabla N° 10.2.6

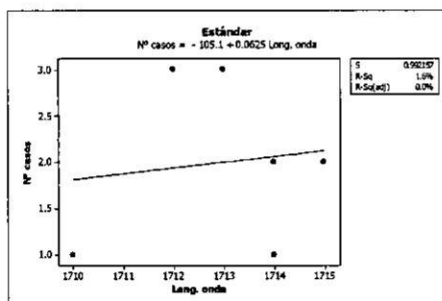
Claritromicinas – Espectrofotometría infrarroja – línea ajustada (FTIR-LA)

N° casos	LONGITUD DE ONDA (cm ⁻¹)			
	Claritromicina St Gráfico 21	N° 1 22	N° 2 Gráfico 23	PG Gráfico 24
1	1710	1715	1716	1714
2	1714	1712	1714	1715
3	1712	1714	1713	1713
\bar{X}	1712	1712	1714	1714
σ	2	1	1	1

Fuente : Elaboración propia

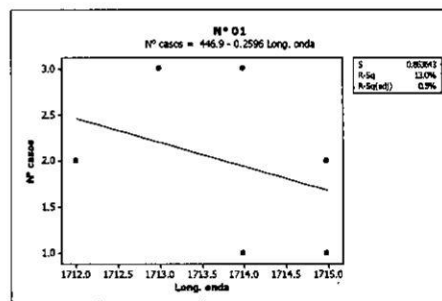


**Gráfico N° 21
FTIR-LA- St**



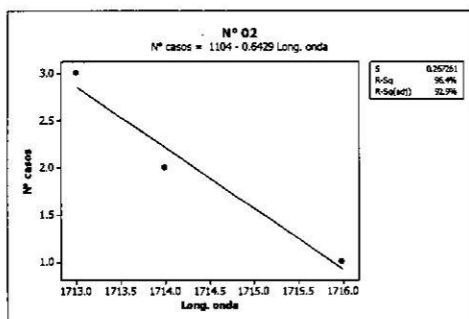
Fuente : Elaboración propia

**Gráfico N° 22
FTIR-LA- N° 01**



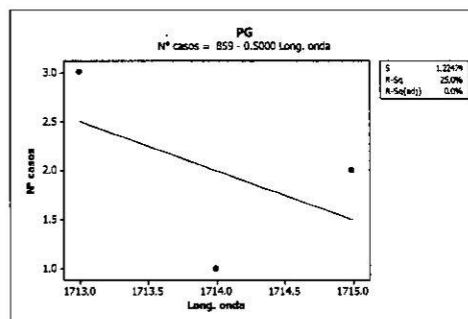
Fuente : Elaboración propia

**Gráfico N° 23
FTIR-LA-N° 2**



Fuente : Elaboración propia

**Gráfico N° 24
FTIR-LA- PG**



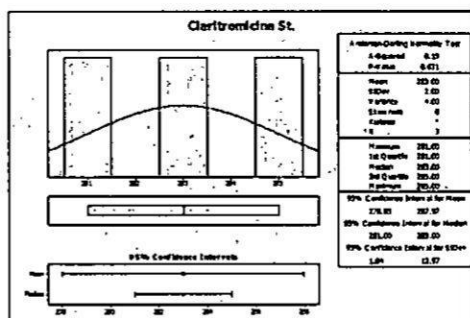
Fuente : Elaboración propia

**Tabla N° 10.2.7.
Claritromicinas - UV-HCNDC**

N° Muestras	Longitud de onda (nm)			
	St. Gráfico 25	N° 01 Gráfico 26	N° 02 Gráfico 27	PG Gráfico 28
1	285	278	286	281
2	283	282	284	283
3	281	281	283	284
\bar{X}	283	280.33	282.67	284.33
σ	2.00	2.08	1.53	1.53

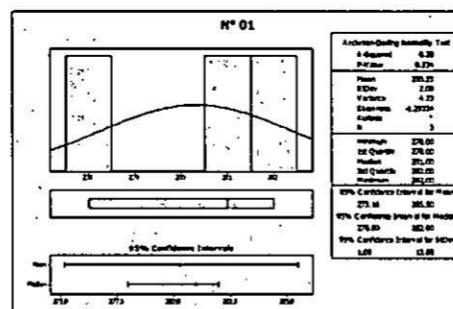
Fuente : Elaboración propia (2018)

**Gráfico N° 25
UV-HCNDC-St**



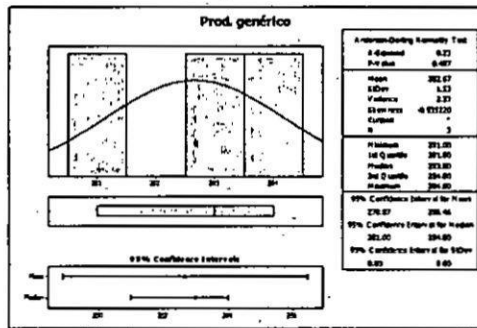
Fuente : Elaboración propia

**Gráfico N° 26
UV-HCNDC-N° 1**



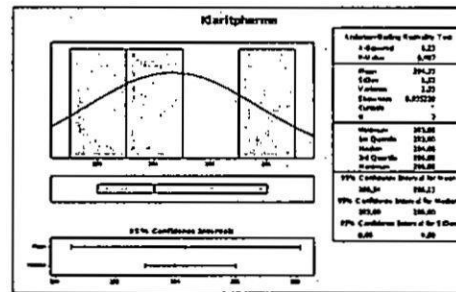
Fuente : Elaboración propia

Gráfico N° 27
UV-HDCNDC-N° 2



Fuente : Elaboración propia

Gráfico N° 28
UV -HDCNDC-PG



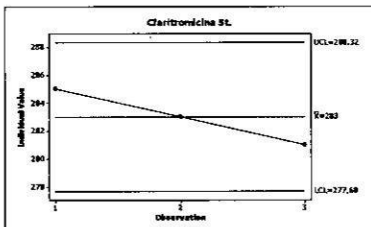
Fuente : Elaboración propia

Tabla N° 10.2.8
Clarithromicinas- Ultravioleta visible-gráfico de control
(UV-GC)

N° muestras	Longitud de onda			
	St	N° 1	PG	N° 2
1	285	278	281	286
2	283	282	283	284
3	281	281	284	283

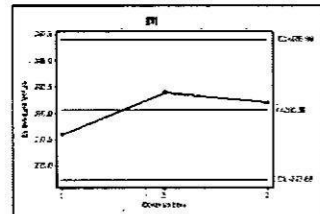
Fuente : Elaboración propia (2018)

Gráfico N° 29
UV- GC- St



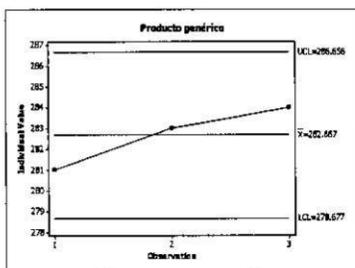
Fuente : Elaboración propia

Gráfico N° 30
UV - GC - N° 1



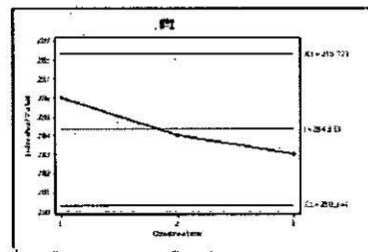
Fuente : Elaboración propia

Gráfico N° 31
UV-GC-N° :



Fuente : Elaboración propia

Gráfico N° 32
UV-GC-PG



Fuente : Elaboración propia

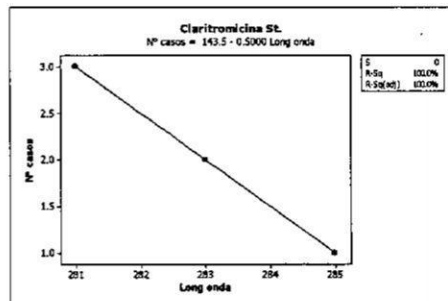
b

Tabla N° 10.2.9
Claritromicinas- Ultravioleta visible-gráfico de control
(UV-LA)

N° de muestras	St.	Longitud de onda		PG
		N° 1	N° 2	
1	285	278	286	281
2	283	282	284	283
3	281	281	283	284

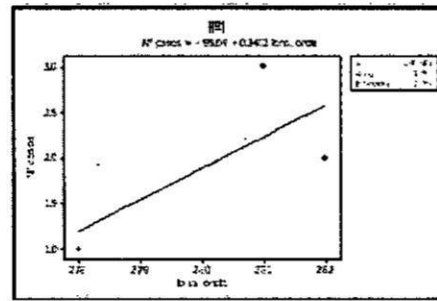
Fuente : Elaboración propia. 2018

Gráfico N° 33
UV-LA-St



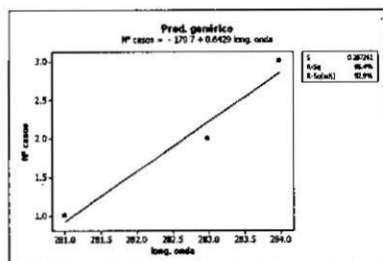
Fuente : Elaboración propia

Gráfico N° 34
UV-LA-N° 1



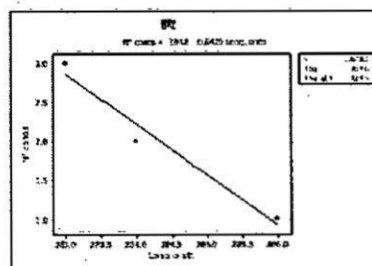
Fuente : Elaboración propia

Gráfico 35
UV-LA- N° 2



Fuente : Elaboración propia

Gráfico 36
UV-LA-PG



Fuente : Elaboración propia