

# Medidas rápidas, sencillas y fiables de muestras líquidas mediante FTIR de transmisión

Comparación del módulo DialPath con una celda de líquidos tradicional para la cuantificación de simeticona con el sistema FTIR Agilent Cary 630

## Autores

Fabian Zieschang  
Wesam Alwan  
Agilent Technologies, Inc.



## Introducción

La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) es una técnica muy usada en la industria farmacéutica, donde desempeña una importante función en el control de calidad de los productos farmacéuticos finales. Sin embargo, conseguir medidas exactas y precisas de muestras farmacéuticas líquidas es habitualmente difícil mediante FTIR de transmisión si se emplean celdas desmontables o de flujo. Existen diversas dificultades que hacen que el uso de estas celdas para el análisis de líquidos resulte complicado, propenso a errores y laborioso:

- Las celdas son frágiles; los espaciadores y las ventanas pueden ser difíciles de ensamblar.
- El diseño de la celda dificulta conseguir una longitud del camino reproducible.
- Las celdas tienden a sufrir fugas.
- Las burbujas de aire pueden interferir con el análisis.
- La limpieza y el ensamblado de las celdas son tareas laboriosas.
- Las muestras pegajosas y viscosas son difíciles de medir.
- Se requieren cantidades significativas de volúmenes de muestras y de disolventes de lavado.

El exclusivo módulo de muestreo Agilent DialPath para el espectrómetro FTIR Agilent Cary 630 elimina la necesidad de usar las tradicionales celdas de líquidos de flujo o desmontables y simplifica el análisis de muestras líquidas. Se coloca una pequeña gota de la muestra líquida entre dos ventanas dispuestas en posición horizontal del módulo DialPath, como se indica en la Figura 1 (centro) y en la Figura 2. La distancia entre las dos ventanas define la longitud del camino óptico.



**Figura 1.** Tres sencillos pasos permiten el análisis de muestras líquidas mediante el espectrómetro FTIR Agilent Cary 630 equipado con el módulo DialPath.

El módulo DialPath permite la selección instantánea de tres longitudes del camino predefinidas, que se pueden seleccionar girando el cabezal del módulo. El módulo Agilent TumbllR, que utiliza la misma tecnología que el módulo DialPath, tiene una longitud del camino disponible en lugar de tres. Ambos módulos están alineados permanentemente y se acoplan con facilidad a la parte delantera del sistema FTIR Cary 630. El software Agilent MicroLab detecta automáticamente qué módulo está acoplado al sistema FTIR Cary 630 y aplica el ajuste correcto, permitiendo que incluso los usuarios sin experiencia puedan cambiar de un módulo a otro en cuestión de segundos.

En este estudio se utilizó un sistema FTIR Cary 630 equipado con un módulo DialPath para la cuantificación de simeticona en un medicamento antiácido disponible comercialmente. Para establecer una comparación, también se adquirieron datos con el planteamiento de FTIR tradicional, con una celda desmontable en un compartimento de la muestra de transmisión. La cuantificación de simeticona está descrita en la monografía USP-NF, USP43-NF38, página 4044 (1). De acuerdo con la monografía, la cantidad de simeticona en la formulación de un fármaco se determina como la concentración porcentual de la muestra comparada con una solución patrón de simeticona de 2 mg/ml (2 mg/ml equivale a una concentración porcentual del 100 %).

## Experimento

### Preparación de soluciones en blanco, patrón y de la muestra de control

USP43-NF38 describe la cuantificación de simeticona como concentración porcentual relativa a un patrón de simeticona conocido. Se preparó una solución patrón con 2 mg/ml (100 %) de simeticona utilizando un patrón de referencia USP de simeticona. Se pesaron con exactitud alrededor de 25 mg de simeticona USP (CAS 8050-81-5) y se transfirieron a un tubo de centrífuga de 50 ml con tapón de rosca. Se añadieron al tubo 12,5 ml de tolueno con calidad para espectroscopia, seguidos de 25 ml de HCl 4,8 M. El tubo se agitó a mano durante 5 minutos, tras lo cual se agitó de nuevo durante 5 minutos en un mezclador de vórtex. A continuación, el tubo se centrifugó a 1500 rpm durante 30 minutos. Aproximadamente 5 ml de la capa orgánica superior se transfirió a un tubo de centrífuga con tapón de rosca de 50 ml que contenía aproximadamente 1 g de sulfato sódico anhidro para eliminar el agua residual de la capa orgánica. El tubo se agitó vigorosamente a mano durante 1 minuto y se centrifugó durante 10 minutos hasta obtenerse una capa transparente. Se preparó un blanco siguiendo el mismo procedimiento, pero sin la adición de simeticona USP. Para probar el método utilizando muestras de contenido alto, bajo y dentro del rango, también se prepararon tres muestras de control que contenían una concentración porcentual del 81,2, 114,0 y 100,7 % de simeticona.

### Preparación de cápsulas de simeticona

Se adquirió en una farmacia local un tipo de cápsulas de simeticona disponible comercialmente. La etiqueta indicaba que cada cápsula contenía 100 mg de simeticona. Cada cápsula se disolvió en 100 ml de HCl 4,8 M y 50 ml de tolueno para obtener una solución con una concentración nominal de 2 mg/ml (concentración porcentual del 100 %). Para la extracción se siguió el mismo procedimiento descrito para la solución patrón de simeticona.



**Figura 2.** La muestra líquida se colocó en la ventana de muestras del módulo DialPath acoplado al espectrómetro FTIR Agilent Cary 630.

## Instrumentos

En este estudio se emplearon espectrómetros FTIR Agilent Cary 630. El primer FTIR Cary 630 estaba equipado con un módulo de transmisión diseñado para una celda de líquidos desmontable con ventanas de fluoruro de calcio y un espaciador de 500 micras (Omni-cell, Specac Ltd., Reino Unido). El segundo FTIR Cary 630 estaba equipado con un módulo Agilent DialPath con una longitud del camino de 500 micras (Figura 2).

Las muestras se dividieron en dos lotes para su análisis paralelo con los dos espectrómetros FTIR utilizando la celda de líquidos y el módulo DialPath. Con el fin de minimizar los residuos o el arrastre entre muestras, la celda de líquidos se lavó con grandes cantidades de tolueno. Se necesitaron tan solo unas gotas de isopropanol en un paño para limpiar las dos ventanas de muestras del módulo DialPath. Se utilizó el software MicroLab para la adquisición de datos y para crear un método que permitiera el cálculo directo de la concentración de la muestra. Con el fin de compensar la absorbancia de los disolventes de la muestra, se midió el fondo frente al blanco de la celda de líquidos y del módulo DialPath. Los parámetros de adquisición de datos se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Parámetros de adquisición de datos de FTIR usados para las medidas de cuantificación utilizando tanto la celda de líquidos tradicional como el módulo DialPath.

Parámetro	Ajuste
Rango espectral (cm <sup>-1</sup> )	de 4000 to 650
Barridos del fondo	64
Barridos de la muestra	64
Resolución espectral (cm <sup>-1</sup> )	2
Adquisición del fondo	Se usó un blanco
Longitud del camino (micras)	500*

\*Especificado en USP43-NF38

## Resultados y comentarios

### Análisis cuantitativo: celda de transmisión desmontable tradicional frente a DialPath

El análisis cuantitativo de las muestras de simeticona se realizó con los dos espectrómetros FTIR Cary 630, uno con la tradicional celda de líquidos desmontable y otro con un módulo DialPath. Para la cuantificación se empleó la absorbancia máxima de la banda situada aproximadamente a 1260 cm<sup>-1</sup>. De acuerdo con la monografía USP43-NF38, se puede usar los valores de absorbancia para el patrón y las muestras con el fin de calcular la concentración porcentual de simeticona según la ecuación 1 (1):

Ecuación 1:

$$\text{Concentración porcentual} = \frac{A_U}{A_S} \cdot \frac{C_S}{C_U} \cdot 100\%$$

Con mayor detalle:

$$\text{Concentración porcentual} = A_U \cdot \frac{1}{A_S} \cdot \frac{C_S}{C_U} \cdot 100\% \equiv A_U \cdot \left( \frac{1}{A_S} \cdot \frac{C_S}{C_U} \cdot 100\% \right)$$

$$\equiv A_U \cdot (\text{factor de multiplicación})$$

**A<sub>U</sub>** = absorbancia de la solución de la muestra

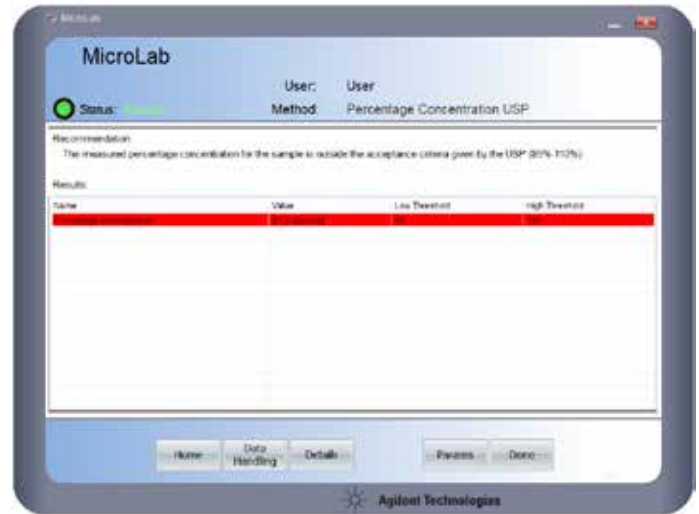
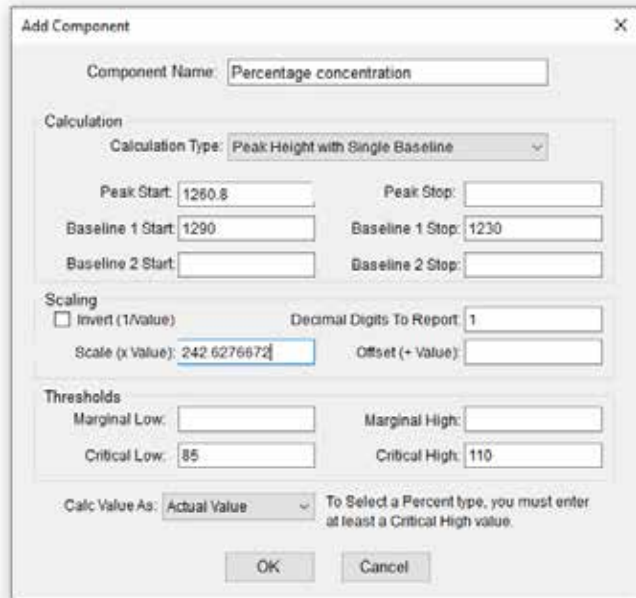
**A<sub>S</sub>** = absorbancia de la solución patrón

**C<sub>S</sub>** = concentración de simeticona en la solución patrón

**C<sub>U</sub>** = concentración nominal de simeticona en la solución de la muestra

### Cálculo automático de la concentración porcentual

El software MicroLab guía a los usuarios durante todo el flujo de trabajo analítico utilizando imágenes indicativas y un diseño sencillo de usar. Ambos métodos de FTIR para el análisis de rutina de las soluciones de simeticona empleando tanto el módulo DialPath como la celda de líquidos se crearon en el software MicroLab. Los métodos determinan automáticamente la absorbancia máxima a ~1260 cm<sup>-1</sup> (utilizando la altura de pico con un solo componente de línea base) y el software aplica automáticamente el cálculo según la ecuación 1 (consulte la Figura 3).



**Figura 4.** Se empleó el software MicroLab para determinar la concentración porcentual para las muestras de control y la cápsula comercial. Tras la adquisición de datos se notifican directamente resultados útiles, codificados en color, según la configuración de umbral del método.

**Figura 3.** En el software MicroLab, se emplean los “componentes” para calcular los resultados cuantitativos a partir de los espectros medidos. El componente mostrado arriba determina automáticamente el valor de absorbancia ( $A_{\lambda}$ ) en el máximo de la banda; en este ejemplo, aproximadamente a  $1260,8 \text{ cm}^{-1}$ . La escala (valor x) aplica a continuación un factor de multiplicación al valor de la absorbancia para dar el resultado final: Concentración porcentual = valor de absorbancia ( $A_{\lambda}$ ) x factor de multiplicación (explicado en la ecuación 1). En este estudio, el factor de multiplicación para DialPath es 242.6276672.

La concentración porcentual de simeticona en una muestra se comunica directamente tras la adquisición de datos. Si hay resultados fuera de los criterios de aceptación especificados según la USP de 85–110 %, se marcarán en rojo, como se muestra en la Figura 4 para la muestra de control 1, que contiene un 81,2 % de simeticona.

Se emplearon los dos métodos de FTIR Cary 630 para determinar la concentración porcentual de las muestras de control 1, 2 y 3 con la celda de líquidos y el módulo DialPath. Los resultados de la Tabla 2 muestran que se obtuvieron unos resultados más precisos con el accesorio DialPath que con la celda de líquidos.

**Tabla 2.** Concentración porcentual de simeticona en las tres muestras de control medidas con un sistema FTIR Cary 630 con DialPath y en otro sistema FTIR Cary 630 con una celda de transmisión.

Muestra de control	Concentración porcentual teórica de simeticona (%)	Sistema FTIR Cary 630 con DialPath		Sistema FTIR Cary 630 con celda de transmisión	
		Concentración porcentual medida (%)	Exactitud (%)	Concentración porcentual medida (%)	Exactitud (%)
1	81,2	81,2	100	80,3	98,8
2	114,0	113,1	99,2	111,1	97,4
3	100,7	102,6	98,1	103,1	97,7

Las concentraciones porcentuales de simeticona en las cápsulas comerciales que se midieron con los dos sistemas FTIR Cary 630 con el módulo DialPath y con la celda de líquidos estuvieron dentro del rango de aceptación del 85,0 al 110,0 % que se especifica en la USP (Tabla 3) (1). Los resultados sugieren que el módulo DialPath es una técnica de muestreo adecuada para la determinación de las concentraciones porcentuales de simeticona en formulaciones líquidas de fármacos de acuerdo con los requisitos de la USP.

**Tabla 3.** Concentraciones porcentuales de cápsulas comerciales de simeticona obtenidas empleando FTIR con un módulo DialPath y con una celda de transmisión.

	Concentración porcentual medida con DialPath (%)	Concentración porcentual medida con la celda de transmisión (%)
Muestra comercial 1	101,3	103,8
Muestra comercial 2	101,7	101,8
Muestra comercial 3	102,4	102,6

También se evaluó el rendimiento del sistema FTIR Cary 630 con el módulo DialPath en cuanto a exactitud, precisión, linealidad y rango de concentraciones.

### Exactitud de la medida

Para comprobar la exactitud de las medidas con DialPath, se llevó a cabo un método de adiciones patrón. Se marcaron tres alícuotas de una muestra que presentaba una concentración porcentual nominal del 97,3 % de simeticona con un 5, 10 y 15 % de simeticona añadiendo volúmenes exactos de una solución patrón de simeticona de alta concentración. Cada muestra marcada se midió tres veces y se calculó la recuperación media de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{Ecuación 2: \% recuperación} = (C_1/C_2) \times 100$$

$C_1$  = concentración porcentual medida

$C_2$  = concentración porcentual calculada

Todos los resultados de recuperación que se muestran en la Tabla 4 estuvieron dentro del 100,5 %, lo que sugiere que se pueden conseguir medidas de elevada exactitud con el sistema FTIR Cary 630 equipado con el módulo DialPath.

**Tabla 4.** Análisis de una muestra de simeticona marcada con tres concentraciones porcentuales de simeticona empleando el sistema FTIR Cary 630 con el módulo DialPath para determinar la exactitud del método, n=3.

Concentración porcentual de la muestra (%)	Concentración porcentual marcada (%)	Concentración porcentual calculada (%)	Concentración porcentual medida (%)	Recuperación media (%)
97,3	5,0	102,3	102,4	100,1 ± 0,2
97,3	10,0	107,3	107,8	100,5 ± 0,4
97,3	15,0	112,3	112,7	100,4 ± 0,1

### Precisión medida

La precisión de las medidas del sistema FTIR Cary 630 con DialPath se evaluó llevando a cabo un estudio de reproducibilidad. Se dividió una solución de simeticona en seis porciones y cada una de ellas se analizó por separado. Se evaluó la reproducibilidad de los resultados calculando la media y la desviación estándar de la absorbancia y la concentración porcentual de simeticona (Tabla 5). El sistema FTIR Cary 630 con el módulo DialPath presentó una precisión excelente, con una desviación estándar de tan solo 0,0013 en absorbancia y del 0,34 % de las medidas de concentración.

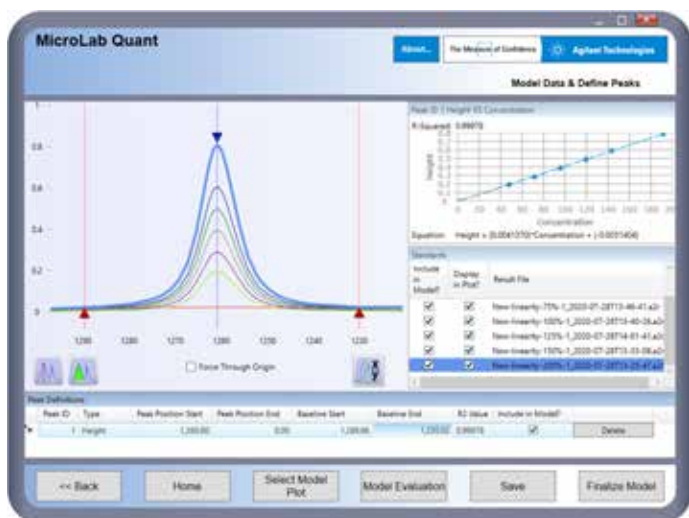
**Tabla 5.** Estudio de reproducibilidad del sistema FTIR Cary 630 con DialPath en seis medidas de la misma muestra.

	Absorbancia	Concentración porcentual de la muestra (%)
Porción de muestra 1	0,4154	100,8
Porción de muestra 2	0,4144	100,5
Porción de muestra 3	0,4137	100,4
Porción de muestra 4	0,4167	101,1
Porción de muestra 5	0,4158	100,9
Porción de muestra 6	0,4178	101,4
Media	0,4156	100,9
Desviación estándar	0,0013	0,34

### Linealidad de la calibración y rango de concentración

Para demostrar la linealidad entre la concentración de analito y la lectura de absorbancia con el módulo DialPath, se creó una curva de calibración y se evaluó esta mediante una regresión por mínimos cuadrados. Se prepararon patrones de calibración para cinco concentraciones de simeticona diferentes en el rango de 0 a 190 % de concentración porcentual mediante las diluciones correspondientes. Se empleó la altura de pico correspondiente a simeticona ( $1260.8 \text{ cm}^{-1}$ ) para evaluar la linealidad de la respuesta espectral de DialPath. Estas medidas se utilizaron para obtener la curva de calibración, así como para calcular el coeficiente de correlación ( $R^2$ ) de la curva de calibración. Se creó la curva de calibración y se efectuaron todos los cálculos estadísticos con el software MicroLab Quant.

El gráfico de altura de pico de simeticona (a  $1260,8 \text{ cm}^{-1}$ ) en función de la concentración indica que la respuesta espectral de DialPath presenta una excelente linealidad, con un coeficiente de correlación  $R^2 = 0,9997$  (Figura 5).



**Figura 5.** Evaluación de la linealidad de DialPath con el software MicroLab Quant. Los cálculos de la curva de calibración y del coeficiente de correlación se realizaron automáticamente en el software. Los usuarios pueden comunicar los resultados obtenidos para su documentación.

### Número de muestras analizadas y consumo de recursos

La cuantificación de simeticona empleando el sistema FTIR Cary 630 con el módulo DialPath proporciona un número de muestras analizadas significativamente superior, minimiza el volumen de muestra y reduce los residuos de disolventes en comparación con el análisis empleando la celda de líquidos de transmisión (consulte la Figura 6).

Con un tiempo de análisis de una hora, DialPath permitió el análisis de 40 extractos de muestras, el doble de muestras que la celda de líquidos. El tiempo de adquisición de datos fue de aproximadamente 1 minuto para ambas técnicas de muestreo. Además, DialPath solo precisó 20  $\mu\text{l}$  de solución de la muestra de simeticona, mientras que la celda de líquidos precisó 5 ml de cada muestra.

Con el fin de evitar el arrastre, es necesario lavar la celda de líquidos varias veces antes de inyectar la siguiente muestra. DialPath se puede limpiar con un paño y unas gotas de disolvente, lo que permite reducir los residuos de disolvente y ahorrar tanto en disolventes como en eliminación de residuos. DialPath es una técnica de muestro simple y fácil de usar que evita la complejidad asociada con la celda de líquidos de transmisión (p. ej., limpieza entre las introducciones de muestras, asegurarse de que no queden atrapadas burbujas de gas y correcta manipulación de las placas con aberturas). DialPath ofrece considerables reducciones en muestras, tiempo y costes.



**Figura 6.** Resultados tras 60 minutos de análisis de extractos de simeticona empleando el sistema FTIR Cary 630 con el módulo DialPath y el mismo sistema con una celda tradicional de líquidos de transmisión.

## Conclusión

En esta nota de aplicación se ha empleado el sistema FTIR Cary 630 acoplado con un accesorio de muestreo de transmisión de alta eficiencia (DialPath) para el análisis cuantitativo rápido de muestras farmacéuticas líquidas.

El rendimiento, la velocidad de análisis y el innovador muestreo del sistema FTIR Agilent Cary 630 con el módulo DialPath permitió desarrollar e implementar rápidamente un método cuantitativo para la medida de simeticona.

La calidad de los datos cuantitativos generados por el sistema FTIR Cary 630 con DialPath fue comparable o mejor que los resultados proporcionados por el mismo sistema con una celda tradicional. Sin embargo, la usabilidad de DialPath ofreció importantes ahorros de tiempo y costes en comparación con el uso de las tradicionales celdas de líquidos, por lo que resulta idóneo para aplicaciones farmacéuticas.

El sistema FTIR Cary 630 con DialPath proporcionó una calibración muy lineal, hasta el 190 % de simeticona, con una excelente reproducibilidad. Las excelentes exactitud y precisión de los datos analíticos obtenidos para la medida de simeticona demostraron la eficacia de los instrumentos, del método y de los resultados analíticos.

El sistema FTIR Cary 630 cumplen los requisitos de rendimiento de farmacopeas internacionales tales como la europea, la estadounidense, la india y la japonesa. El software opcional MicroLab Pharma facilita la conformidad según se define en 21 CFR Parte 11 de la FDA de EE. UU., en el anexo 11 de la UE y en normativas nacionales similares sobre registros electrónicos.

## Referencias

1. Simethicone Emulsion. United States Pharmacopeia and National Formulary (USP43-NF38-4044). DocID: GUID-4965A93F-3617-485C-87B4-1DFBDF33EC3F\_4\_en-US.

[www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem)

DE44297.9470717593

Esta información está sujeta a cambios sin previo aviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2021  
Impreso en EE. UU., el 14 de abril de 2021  
5994-3046ES