

**OBTENCIÓN DE UN MODELO DE CUANTIFICACIÓN DE SALES DE  
EUDRAGIT MEDIANTE ESPECTROSCOPIA INFRARROJO**



**MARYURI DELGADO LOAIZA**

**UNIVERSIDAD ICESI  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES  
PROGRAMA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA  
SANTIAGO DE CALI  
2015**

**OBTENCIÓN DE UN MODELO DE CUANTIFICACIÓN DE SALES DE  
EUDRAGIT MEDIANTE ESPECTROSCOPIA INFRARROJO**

**MARYURI DELGADO LOAIZA**

**Proyecto de Grado para optar al título de Química Farmacéutica**

**TUTORES**

**GIOVANNI ROJAS JIMENEZ, PhD.**

**CONSTAIN HUGO SALAMANCA MEJIA, PhD.**

**UNIVERSIDAD ICESI  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES  
PROGRAMA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA  
SANTIAGO DE CALI  
2015**

## CONTENIDO

ABREVIATURAS .....	8
RESUMEN.....	9
ABSTRACT.....	10
INTRODUCCIÓN .....	11
DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO .....	12
Pregunta de investigación y justificación.....	12
MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE.....	14
Estado del arte.....	14
Marco Teórico.....	14
Polímeros de uso farmacéutico.....	14
Eudragit E-100.....	16
Potenciometría.....	16
Espectroscopia infrarrojo .....	18
Quimiometría y modelos estadísticos .....	20
OBJETIVOS.....	23
Objetivo General .....	23
Objetivos Específicos .....	23
METODOLOGÍA.....	24
Modificación y obtención del material polimérico .....	24
Determinación de grupos DMAE ionizables.....	24
Modificación del material polimérico .....	24
Liofilización de los materiales poliméricos .....	25
Desarrollo Instrumental y Quimiométrico.....	25
Adquisición de los valores primarios.....	27
Determinación de Grupos DMAE libres .....	27
Determinación de Grupos AMC generados .....	27
Colección de espectros de NIR y MIR.....	28
Creación de curvas de calibración.....	28
Validación cruzada y comprobación de los modelos generados.....	29
Determinación del porcentaje de ionización e hidrólisis en muestras desconocidas.....	30

MATRIZ MARCO-LÓGICO .....	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	32
Obtención de materiales poliméricos .....	32
Desarrollo instrumental y quimiométrico .....	36
Calibración, modelos de predicción y validación cruzada.....	41
Análisis estadístico .....	45
Prueba de igualdad de varianzas .....	47
Prueba t pareada .....	49
Regiones espectrales de modelamiento .....	51
Otras consideraciones .....	55
Análisis de agrupación por componentes. ....	56
CONCLUSIONES .....	58
RECOMENDACIONES .....	59
REFERENCIAS. ....	60

## CONTENIDO DE ILUSTRACIONES.

Ilustración 1. Estructuras químicas de Eudragit FS (a), E 100 (b) y RL (c) respectivamente.....	12
Ilustración 2. Representación de los diferentes tipos de copolímeros (York, 2015). .....	15
Ilustración 3. Estructura del Eudragit E -100.....	16
Ilustración 4. Representación del fenómeno de intercambio iónico en un electrodo indicador de vidrio (D.A. Skoog et al., 1997).....	17
Ilustración 5. Representación esquemática de los componentes de un espectrómetro IR, señalando en amarillo las partes principales que cambian de acuerdo a la medida de la región (MIR o NIR).....	19
Ilustración 6. Representación de los factores generados por APC como vectores dentro de un plano. ....	21
Ilustración 7. Algoritmo para desarrollo de un modelo de calibración por NIR (Burns & Ciurczak, 2008).....	26
Ilustración 8. Fotografía del montaje experimental para la realización de valoraciones potenciométricas.....	32
Ilustración 9. Determinación de Grupos DMAE en el Eudragit E 100. A la izquierda representación de una curva promedio de titulación potenciométrica, a la derecha representación del método de la primera derivada promediado. ....	33
Ilustración 10. Determinación de Grupos hidrolizables AMC en el Eudragit E 100. A la izquierda representación de una curva promedio de titulación potenciométrica, a la derecha representación del método de la primera derivada promediado. ....	34
Ilustración 11. Fotografía al inicio de la adición de HCl para llevar a cabo la modificación del Eudragit E 100 y obtención de las sal clorhidrato de Eudragit E 100 (Cl Eu).....	35
Ilustración 12. Fotografía de la etapa de congelamiento de uno de los materiales poliméricos obtenidos. ....	35
Ilustración 13. Fotografías en el estereoscopio a un objetivo de 6x de diferentes 3 de los materiales poliméricos obtenidos. ....	36
Ilustración 14. Determinación de Grupos ionizables DMAE en las diferentes sales de Eudragit E 100. A la izquierda representación de una curva promedio de titulación potenciométrica, a la derecha representación del método de la primera derivada promediado. ....	37
Ilustración 15. Determinación de Grupos hidrolizables en las diferentes sales de Eudragit E 100. A la izquierda representación de una curva promedio de titulación potenciométrica, a la derecha representación del método de la primera derivada promediado.....	38
Ilustración 16. Graficas de comportamiento de la ionización y la Hidrólisis del clorhidrato de Eudragit a diferentes volúmenes de ácido clorhidrico adicionado...39	
Ilustración 17. Graficas de las colecciones de espectros de NIR (izquierda) y MIR (derecha). ....	40

Ilustración 18. Graficas de las colecciones de espectros de NIR y MIR respectivamente con el tratamiento de primera derivada. ....	40
Ilustración 19. Graficas de las colecciones de espectros de NIR (izquierda) y MIR (derecha) con el tratamiento de segunda derivada.....	41
Ilustración 20. Gráfica de calibración para el modelo de predicción NIR (modelo 1), valores primarios %DMAE. ....	42
Ilustración 21. Gráfica de calibración para el modelo de predicción NIR (modelo 4), valores primarios %AMC. ....	42
Ilustración 22. Gráfica de calibración para el modelo de predicción MIR (modelo 1), valores primarios %DMAE. ....	42
Ilustración 23. Gráfica de calibración para el modelo de predicción MIR (modelo 4), valores primarios %AMC. ....	42
Ilustración 24. Grafica de la prueba de Ryan Joiner para la evaluación de normalidad de datos por medio de la técnica primaria (valoración potenciométrica) del % DMAE en los materiales poliméricos CI Eu 100, valor $p > 0,1$ valor alfa utilizado 0,05. Minitab ®16.....	46
Ilustración 25. Grafica de la prueba de Ryan Joiner para la evaluación de normalidad de datos por medio de la técnica primaria (valoración potenciométrica) del % AMC en los materiales poliméricos CI Eu 100, valor $p > 0,1$ valor alfa utilizado 0,05. Minitab ®16.....	46
Ilustración 26. Grafica de la prueba para evaluación de homogeneidad de varianzas entre la valoración potenciométrica y el modelo 2 para el porcentaje DMAE de cada material polimérico CI Eu. Valor alfa 0,05. ....	48
Ilustración 27. Grafica de la prueba para evaluación de homogeneidad de varianzas entre la valoración potenciométrica y el modelo 2, para el porcentaje AMC de cada material polimérico CI Eu. Valor alfa 0,05. ....	48
Ilustración 28. Gráfica obtenida de la prueba T-Student, para la comparación de la media de los resultados del % ionización del modelo 4 frente a los valores de referencia de la valoración potenciométrica. Valor alfa 0,05. Minitab ® 16.....	50
Ilustración 29. Grafica obtenida de la prueba T-Student, para la comparación de la media de los resultados del % Hidrólisis del modelo 4 frente a los valores de referencia de la valoración potenciométrica. Valor alfa 0,05. Minitab ® 16.....	50
Ilustración 30. Expansión en la zona de interés de la colección de espectros de la primera derivada en el infrarrojo medio. ....	52
Ilustración 31. Expansión en la zona de interés de la colección de espectros de la primera derivada en el infrarrojo cercano .....	54
Ilustración 32. Gráfica de puntaje de componentes principales en 3D (izquierda), y representación en el plano 2D de la agrupación de las categorías (derecha) .....	57

## CONTENIDO DE TABLAS.

Tabla 1. Cantidad de ácido adicionado para alcanzar el grado de ionización deseado. ....	25
Tabla 2. Representación del diseño aplicado para la creación de los modelos de predicción. ....	29
Tabla 3. Resultados obtenidos de las valoraciones potenciométricas para la determinación de grupos DMAE en los materiales poliméricos obtenidos. ....	38
Tabla 4. Resultados obtenidos de las valoraciones potenciométricas para la determinación de grupos AMC generado en los materiales poliméricos obtenidos. ....	39
Tabla 5. Resultados de los parámetros estadísticos de calibración y validación cruzada encontrados en los modelos de predicción escogidos. ....	43
Tabla 6. Resultados de porcentaje DMAE y AMC mediante la valoración potenciométrica y los modelos escogidos. ....	45
Tabla 7. Resultados de la prueba de normalidad para los datos de las diferentes modelos seleccionados. El valor alfa utilizado es de 0,05. ....	47
Tabla 8. Resultados de la prueba de igualdad de varianzas para los datos de las diferentes modelos seleccionados. El valor alfa utilizado es de 0,05. ....	49
Tabla 9. Resultados de la prueba t pareada para la comparación de la media de los valores primarios respecto a la media de los valores arrojados por los modelos de predicción. El valor alfa utilizado es de 0,05. ....	51
Tabla 10. Regiones importantes que modelan los parámetros %DMAE y %AMC en los materiales poliméricos CI Eu, determinados por espectroscopia de infrarrojo medio. ....	53
Tabla 11. Regiones importantes que modelan los parámetros %DMAE y %AMC en los materiales poliméricos CI Eu, determinados por espectroscopia de infrarrojo cercano. ....	55

## ABREVIATURAS

DMAE:	Dimetilaminoetil
AMC:	Ácido metacrílico
MIR:	Medium Infrared.
NIR:	Near infrared
VP:	Valoración potenciométrica
VB:	Valor básico
VA:	Valor ácido
APC:	Análisis por componentes principales
PCR:	Partial components regression
PLS:	Partial least square
CLS:	Classic least square
Eu 100:	Eudragit 100
Cl Eu 100:	Clorhidrato de Eudragit 100
RMSEC	Root Mean Square Error of Calibration
RMSECV	Root Mean Square Error of Cross-Validation
$R_C^2$	Coefficiente de determinación de calibración
$R_V^2$	Coefficiente de determinación de validación
SEP	Standard Error of Prediction
RPD	Ratio of standard error of Performance to standard Deviation
RER	Range Error Ratio

## RESUMEN

Se utilizó espectroscopia de infrarrojo medio (MIR) e infrarrojo cercano (NIR) junto con la ayuda de análisis multivariado para encontrar un modelo de predicción, donde se cuantificó simultáneamente el porcentaje de grupos dimetilaminoetil (DMAE) y el porcentaje de grupos de ácido metacrílico (AMC), relacionados con el grado de ionización e hidrólisis respectivamente, que se da durante la modificación del polímero comercial Eudragit E 100 con ácido clorhídrico. El objetivo principal de este proyecto fue plantear una metodología alterna al método primario de determinación por medio de valoraciones potenciométricas. Para el desarrollo de esto se realizaron calibraciones con 7 espectros de muestras preparadas de clorhidrato de Eudragit E 100 a diferentes grados de ionización en un rango de 0 a 100%, utilizando diferentes métodos de regresión como Partial Components Regression (PCR), Classic Least Square (CLS) y Partial Least Square (PLS), y una validación cruzada con 3 espectros de muestras con porcentajes de ionización dentro de este mismo rango. Se trabajó con diferentes pretratamientos de los espectros como primera y segunda derivada. Posteriormente, se obtuvo coeficientes de determinación ( $R^2$ ) y errores cuadráticos medios de calibración y validación (RMSEC y RMSECV) para establecer la validez de los modelos. Los resultados obtenidos de los diferentes modelos fueron evaluados por medio de una prueba t pareada frente a los resultados del método primario o de referencia. Finalmente, la comparación de ventajas y desventajas de ambas técnicas, junto con los resultados estadísticos, permitió determinar que el mejor modelo para cuantificar estas variables fue el que utilizó la primera derivada de la colección de espectros en la región MIR y una regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS). Para la metodología planteada se obtuvo los siguientes parámetros: RMSEC de 0,6250 %DMAE y 4,0200 %AMC, y coeficientes de determinación de 0,9841 y 0,9971, respectivamente.

Palabras claves: NIR, MIR, Análisis Multivariante, Validación cruzada

## ABSTRACT

Mid-infrared (MIR), near infrared (NIR) spectroscopy and multivariate analysis were used to find a prediction model for the percentage of dimethylaminoethyl groups (DMAE) and the percentage of methacrylic acid groups (AMC) in one simple analysis. Samples were obtained by hydrochloric acid modification of Eudragit E 100, a commercial polymer. The main objective of this project was to propose an alternative methodology for the determination of degree of ionization in modified polymer samples; such methodology would replace the primary method, a potentiometric titration. The calibration was developed with 7 samples obtained from acidification of Eudragit E 100 with hydrochloric acid at different degrees of ionization ranging from 0-100%. Different statistical models were employed Partial regression as components regression (PCR), Classic least square (CLS) and Partial Least Square (PLS). A cross-validation with 3 spectra of samples with percentages of ionization within this same range was used. All statistical models were employed after working the data with a first and second derivative. Subsequently, determination coefficients ( $R^2$ ) and mean square errors of calibration and validation (RMSEC and RMSECV) were obtained to establish the validity of the models. The results of the different models were evaluated by a paired t test versus the results of the primary or reference method. Finally, a comparison of advantages and disadvantages of both techniques together with statistical results, revealed that the best model to quantify these variables was used by the first derivative of the collection of spectra in the MIR region and a least squares regression partial (PLS). RMSEC of 0.6250% and 4.0200% DMAE AMC, and determining coefficients of 0.9841 and 0.9971, respectively: the proposed methodology for the following parameters were obtained.

Keywords: NIR, MIR, Multivariate Analysis, Cross-Validation

## INTRODUCCIÓN

Debido a la falta de información sobre los mecanismos por los cuales ciertos polímeros tienen aplicación en la industria farmacéutica, se empieza la investigación de ciertas propiedades de interés en polímeros modelo como el Eudragit E 100, a los cuales se les han realizado modificaciones estructurales simples, con el fin de poder relacionar estas propiedades como el porcentaje de hidrólisis y de ionización con sus aplicaciones, estabilidad fisicoquímica y nuevos usos posibles.

A raíz de continuar los estudios en esta área surge la necesidad de implementar técnicas alternativas de análisis para cuantificar dichas propiedades, que sean de bajo costo, fáciles de usar y más rápidas en comparación con las técnicas tradicionales. Las técnicas espectroscópicas como el infrarrojo cercano (NIR) y el infrarrojo medio (MIR) adquieren especial interés, debido a que son rápidas, no destructivas, no requieren preparación de muestra, son un poco menos costosas que los métodos convencionales y generalmente son más amigable con el medio ambiente.

La combinación de este tipo de técnicas con el análisis multivariado proveniente de la estadística y quimiometría, ha permitido que se pueda cuantificar fácilmente variables de interés en muestras tan complejas como las biológicas, sin necesidad de realizar una preparación previa de las muestras, debido a esto diferentes tipos de industrias como la agrícola, materias primas, materiales y, recientemente, la industria farmacéutica se han interesado en la implementación de estas dentro de sus procesos de control de calidad como una forma de caracterización rápida.

La idea de este proyecto es ampliar el panorama y mostrar que la aplicación de este tipo de técnicas no es exclusivo para la industria, sino que se puede utilizar para la investigación en cualquier campo de las ciencias básicas, en donde se necesite cuantificar alguna propiedad de interés, resaltando que en la universidad Icesi existe el personal, instalaciones y equipos adecuados para llevar a cabo este tipo de proyectos.

## DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

### Pregunta de investigación y justificación.

Uno de los principales enfoques trabajados en las ciencias farmacéuticas en las últimas décadas ha sido el desarrollo de sistemas que permitan el transporte y liberación de fármacos (Sáez , Hernández, Sanz, & Katime, 2004), de tal manera que se puedan realizar cambios a propiedades como solubilidad y permeabilidad de los principios activos, con el fin de modificar su absorción y sitio de liberación (Qiu & Zhou, 2011). Una de las propuestas a la solución de este problema ha sido el desarrollo de sistemas de liberación modificada a base de polímeros, tanto naturales como sintéticos y semisintéticos, que han traído múltiples beneficios entre los que se encuentran: mayor eficacia, reducción de efectos adversos, aumento de la comodidad y cumplimiento de los pacientes, mayor selectividad y nuevas indicaciones para fármacos ya existentes. (Qiu, 2009).

Unos de los materiales polimericos utilizados en la industria farmacéutica para lograr sistemas de liberación modificada, son los derivados de polimetacrilatos conocidos comercialmente como Eudragit, y disponibles en varias presentaciones de acuerdo al tipo de aplicación que se desee. La particularidad de estos polímeros es su similitud estructural y la variedad de aplicaciones que se les puede dar, por ejemplo, para formulaciones de recubrimiento entérico (Eudragit FS), protección frente agentes medioambientales como humedad o luz ( Eudragit E 100), y para liberación sostenida (Eudragit RL), ver Ilustración 1 ("Eudragit Productos y servicios," 2015). Este último es considerado como un polielectrolito por su capacidad de disociación en medios polares como el agua (Salamanca, 2007). Esto los hace polímeros de interés para incorporación de principios activos poco solubles en formulaciones farmacéuticas de liberación modificada.

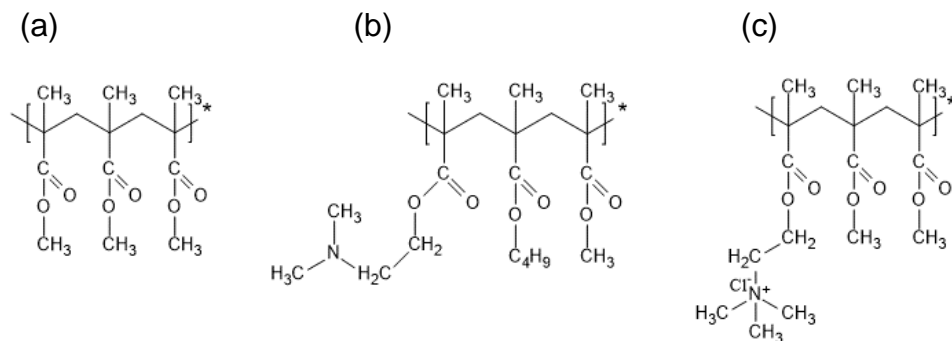


Ilustración 1. Estructuras químicas de Eudragit FS (a), E 100 (b) y RL (c) respectivamente.

Al revisar la literatura acerca de la utilización de polímeros en el desarrollo de formas farmacéuticas y sistemas de liberación controlada, se encuentra información referente a diferentes métodos de síntesis (Yoshida, 2001), caracterización estructural (Holmes, Bohrer, & Kohn, 2008) y sus aplicaciones (Bajpai, Shukla, Bhanu, & Kankane, 2008). Sin embargo, existe muy poca información de los mecanismos por los cuales se controla la liberación de los principios activos (Salamanca, 2007).

A partir de lo anterior, el grupo de investigación de fisicoquímica farmacéutica de la Universidad Icesi, ha estado desarrollando la línea de investigación en modificación de polielectrolitos ya existentes de una forma sencilla y económica, con el fin de estudiar los mecanismos de liberación de los fármacos que contienen estos polímeros dentro de sus formulaciones.

No obstante, para el estudio de estos mecanismos se debe empezar por estudios de pre-formulación donde se evalúan las características estructurales y propiedades fisicoquímicas de los materiales modificados, lo que ha llevado a que el equipo de investigación haya desarrollado trabajos anteriores relacionados con: la síntesis de sales de clorhidrato de Eudragit E-100 (Agredo & Florez, 2013) y su caracterización estructural (Villada Morales, 2015), que contribuyen con resultados importantes para la recopilación de información que a futuro permitirá proponer mecanismos de liberación de fármacos con matrices de polielectrolitos modificados.

Durante el desarrollo de los trabajos anteriores, se ha encontrado que las metodologías para evaluar estas propiedades demandan mucho tiempo y consumen gran cantidad de reactivos químicos (Villada Morales, 2015). Por lo cual este trabajo busca proveer una metodología alterna más rápida y fácil de implementar, en comparación con la técnica potenciométrica utilizada para evaluar propiedades fisicoquímicas de este tipo de polímeros, empleando como modelo el clorhidrato de Eudragit E-100. Dicha técnica será la espectroscopia infrarroja (IR), que permite predecir el grado de hidrólisis que se produce durante su síntesis, la cual traería como ventajas un menor tiempo de experimentación, menor consumo de reactivos químicos y disminución en la producción de desechos contaminantes.

## MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

### Estado del arte.

En trabajos anteriores se ha evaluado las características estructurales de diferentes polielectrolitos modificados como: clorhidrato, formiato y acetato de Eudragit E-100, y se ha encontrado una mayor tendencia de hidrólisis en los ionómeros sintetizados a partir de ácidos fuertes (Villada Morales, 2015). Esto sirvió como base para determinar que el porcentaje de hidrólisis es la variable de interés a cuantificar, tomando como modelo el clorhidrato de Eudragit E-100.

### Marco Teórico.

#### Polímeros de uso farmacéutico.

El entendimiento del papel que juegan los polímeros como ingredientes de formulaciones farmacéuticas y el mecanismo por el cual proveen ciertas propiedades, es la base para familiarizarse con el funcionamiento de los productos farmacéuticos, desarrollo de nuevas formulaciones o el mejoramiento de los sistemas de liberación (Martin, Sinko, & Singh, 2011).

Los polímeros son un subconjunto de macromoléculas formadas a partir de unidades repetitivas unidas entre sí, llamadas monómeros (Martin et al., 2011). La flexibilidad en sus pesos moleculares y la variedad en sus estructuras químicas, les permite tener propiedades únicas como: temperaturas de transición vítrea de sólidos cristalinos y materiales amorfos, resistencia mecánica, capacidad de deformación, plasticidad, biocompatibilidad y biodegradabilidad, lo que les permite ser incorporados dentro de formulaciones farmacéuticas.

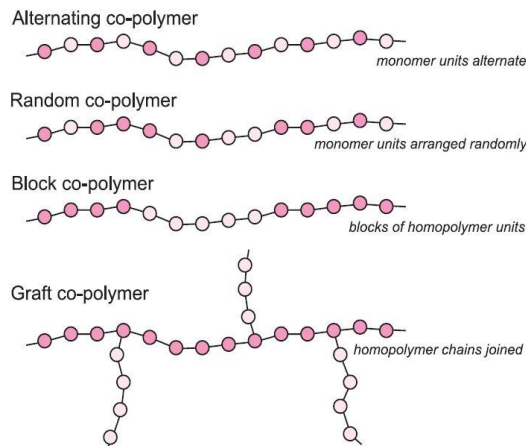


Ilustración 2. Representación de los diferentes tipos de copolímeros (York, 2015).

Los polímeros pueden ser clasificados de diferentes formas, por ejemplo, de acuerdo a su origen se encuentran los naturales, sintéticos o semi-sintéticos, que a su vez pueden subclasificarse de acuerdo a los monómeros que los conforman, si son unidades idénticas se conocen como homopolímeros y si tienen 2 o más unidades diferentes se les denominan copolímeros. De acuerdo al ordenamiento de sus unidades se les puede encontrar en bloque, al azar o alternados (Bruice, 2008) Ver Ilustración 2. También dentro de las múltiples clasificaciones de los polímeros se encuentran unos de mucho interés para el desarrollo de este proyecto conocido como polielectrolitos.

Los polielectrolitos son un tipo de polímeros que llevan grupos ionizables a lo largo de su cadena principal, y que en disolventes polares como el agua pueden contrarrestar cargas de las cadenas, macroiones y pequeños contraiones en solución (Ciferri, Perico, & Ebooks Corporation., 2012). La importancia de estos para la aplicación en sistemas de liberación modificada radica en que pueden presentar propiedades anfipáticas en sistemas acuosos, idénticas a las exhibidas por agentes tensoactivos convencionales, esto se debe a que contienen cadenas laterales hidrófobas dentro de sus estructuras, lo que les confiere la capacidad autoorganizarse y formar sistemas microheterogéneos similares a las micelas (Salamanca, 2007).

Dentro de una subclasificación de los polielectrolitos se puede encontrar los catiónicos y aniónicos, que pueden obtenerse mediante reacciones de neutralización o ionización hidrólisis de los principales grupos ionizables presentes en las moléculas, por ejemplo grupos carboxílicos y aminas (Young & Lovell, 2011).

## Eudragit E-100.

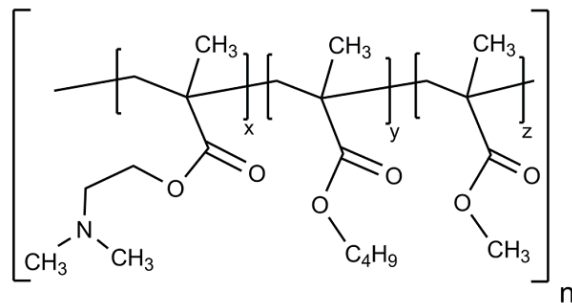


Ilustración 3. Estructura del Eudragit E -100 (EVONIK, May 2014).

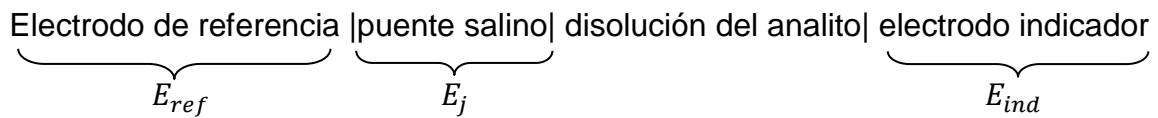
De acuerdo a la clasificación mencionada anteriormente, el polímero que se utilizará como modelo (Eudragit E-100) es un copolímero con monómeros distribuidos aleatoriamente. Se deriva de la combinación de metacrilato de dimetilaminoetil, metacrilato de butilo y metacrilato de metilo, como se muestra en la Ilustración 3 (EVONIK, 2015). Debido a su estructura tienen la capacidad de ionizarse según el pH del medio, lo que le permite generar interacciones en medios acuosos y aumentar su solubilidad a pH ácido.(Goddard & Ananthapadmanbhan, 1993); sin embargo, a pH fisiológico es poco soluble. Por lo cual se aprovechan sus características ácido-base para realizar modificaciones en su estructura, y poder obtener sales de mayor solubilidad, para evaluarlos como posibles matrices poliméricas.

Sin embargo, se ha encontrado que durante la modificación de este polímero se promueve la hidrólisis no selectiva de los grupos esterificados de la molécula y que a su vez, presenta una tendencia mayor cuando se utilizan ácidos fuertes, lo que conduce a un aumento de la temperatura de transición vítrea de los materiales.(Villada Morales, 2015). Para la evaluación, de esta característica se utilizó una técnica potenciométrica, la cual se explicara a continuación.

### Análisis Potenciométrico.

Los métodos potenciométricos de análisis se basan en la medida del potencial de electrodos indicadores, frente a electrodos de referencia de celdas electroquímicas. Desde hace más de un siglo se ha utilizado esta técnica para la detección de puntos finales de valoraciones en cuantificación de analitos o especies químicas de interés (D.A. Skoog, West, & Holler, 1997).

Una celda electroquímica típica para un análisis potenciométrico se representa de la siguiente forma:



Los dos componentes principales de la celda son: el electrodo de referencia y el electrodo indicador. El primero debe tener un potencial conocido, estable e insensible a la composición de la disolución del analito, el más utilizado es el electrodo estándar de hidrógeno; el segundo, generalmente es muy selectivo y responde a la actividad del analito (D.A. Skoog et al., 1997).

El electrodo indicador de interés para medida de pH está compuesto de una membrana de vidrio porosa e higroscópica, sintetizada a partir de materiales especiales como óxidos de sodio (Na<sub>2</sub>O), óxidos de calcio (CaO) y salicilatos (SO<sup>-4</sup>), que permiten un intercambio de iones monovalentes con los hidrogeniones en la interface membrana/ disolución del analito, como se muestra en la Ilustración 4. y en la reacción 1. (Douglas A Skoog, Holler , & Crouch, 2008)

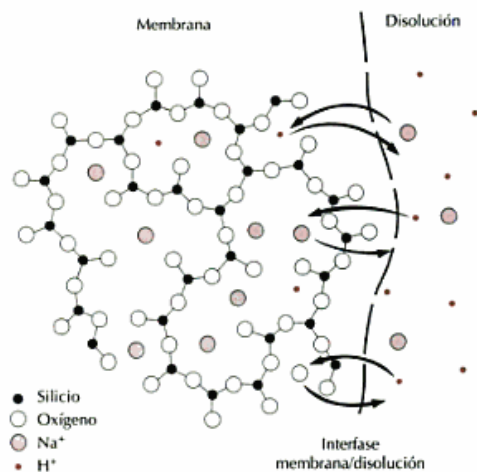
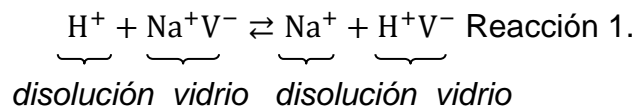
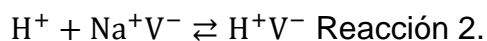


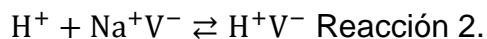
Ilustración 4. Representación del fenómeno de intercambio iónico en un electrodo indicador de vidrio (D.A. Skoog et al., 1997).

Después de que se genera el intercambio iónico, debe darse un proceso de conducción eléctrica que genere una diferencia de potencial proporcional a la actividad de iones hidronio en el medio. Esta diferencia de potencial se genera por

los desplazamientos de los equilibrios químicos llevados a cabo a cada lado de la membrana, como se muestra en las reacciones 2 y 3. Donde los subíndices 1 y 2 indican la parte interna y externa de la membrana de vidrio. (Douglas A Skoog et al., 2008)



*Disolución<sub>1</sub> vidrio<sub>1</sub>      vidrio<sub>1</sub>*



*Disolución<sub>2</sub> vidrio<sub>2</sub>      vidrio<sub>2</sub>*

Basándose en el principio anterior y por medio de la medida de pH en una titulación en solvente no acuoso, se pudo cuantificar la cantidad de grupos ionizables y de ácido carboxílico proveniente de los grupos metacrílicos de la molécula de polímero y de su respectiva sal. Con esto se pudo cuantificar el porcentaje de Hidrólisis que se produjo después de la síntesis del clorhidrato de Eudragit (Villada Morales, 2015).

La técnica analítica propuesta como alternativa es la espectroscopia de infrarrojo cercano, que se explicará a continuación.

### Espectroscopia infrarrojo

Espectroscopia es el término general que se utiliza para designar el estudio de la interacción de la radiación con la materia. Dentro de la espectroscopia existen diferentes clasificaciones dependiendo la zona de interés del espectro electromagnético, por ejemplo para el desarrollo de es la comprendida entre 12800 y 10  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente al infrarrojo, sin embargo también existe la absorción atómica, UV/Vis, de emisión, Raman, etc (Douglas A Skoog et al., 2008).

Dentro de las técnicas espectroscópicas de infrarrojo se pueden encontrar de absorción, emisión y reflexión de la radiación, y también estas se pueden clasificar de acuerdo a la zona del espectro que cubren. Para el infrarrojo cercano va desde 12,800 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , para el medio de 4000 a 200  $\text{cm}^{-1}$  y el lejano de 200 a 10  $\text{cm}^{-1}$  (Douglas A Skoog et al., 2008).

La característica de la radiación infrarroja es que no es lo suficientemente energética como para producir transiciones electrónicas, como en el caso de los rayos X, Uv y visible; por lo tanto, para observar una señal espectroscópica las moléculas deben sufrir un cambio neto en su momento dipolar, debido a la vibración y rotación que produce la radiación IR en las moléculas, en el caso del

infrarrojo medio. Por el contrario, el infrarrojo cercano se basa en la medida de combinación de sobretonos que se generan por las bandas de tensión y flexión de las moléculas (D.A. Skoog et al., 1997) (Dardenne & Baeten, 2002).

Las características instrumentales de los equipos para medición en el infrarrojo son función de la región en la que se quiera llevar a cabo la medición y del tipo de muestra a trabajar, es así que para la toma de un espectro de infrarrojo medio las fuentes generalmente utilizadas son emisores de Nerst, fuentes globulares o filamentos incandescentes; el divisor de haz es de KBr y detectores como los piroeléctricos compuestos de glicerina deuterada y sulfatada (DTGS). Mientras que para la medición en infrarrojo cercano se utilizan lámparas de luz blanca, divisores de cuarzo y detectores de Arsenuro de galio indio (InGaAs). En la siguiente ilustración se señalan las partes mencionadas anteriormente que se deben tener en cuenta para la correcta toma de espectros en el infrarrojo.

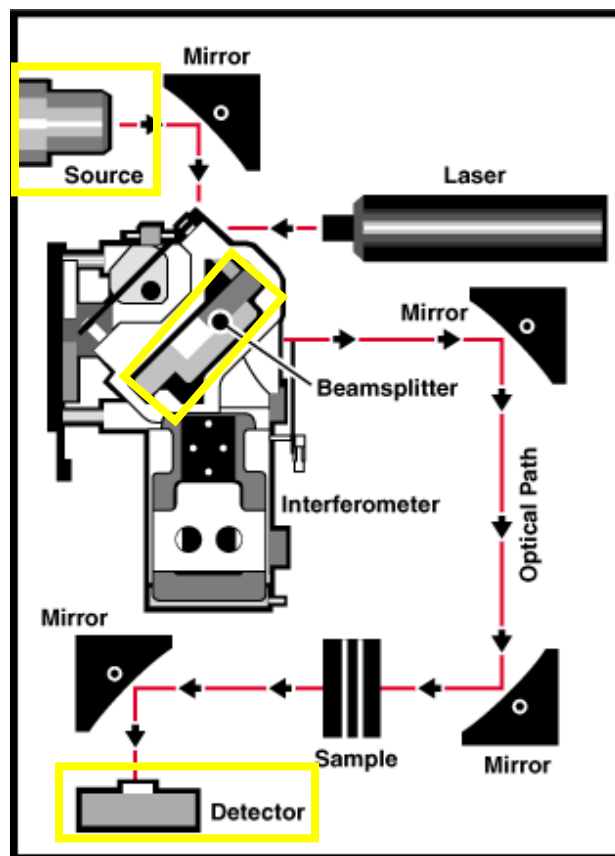


Ilustración 5. Representación esquemática de los componentes de un espectrómetro IR, señalando en amarillo las partes principales que cambian de acuerdo a la medida de la región (MIR o NIR).

Al comparar los aspectos teóricos que rigen la detección de moléculas en la región media y cercana del infrarrojo se tiene que: la detección en el infrarrojo medio se basa en el cambio en el momento dipolar de las moléculas, para el infrarrojo cercano se basa en la combinación de sobretonos generados por las vibraciones fundamentales de flexión y tensión, en enlaces X-H principalmente. Además de lo anterior, se detectan con mayor facilidad grupos funcionales de tipo C-O, C-N, C=O, C=C en el MIR, debido a que su mayor absorción se encuentra a más de los  $2000\text{ cm}^{-1}$ , mientras que en el NIR se detectan grupos funcionales como C-H, O-H y N-H por su absorción a menos de  $2000\text{ cm}^{-1}$ . También, se debe resaltar que la detección en el infrarrojo medio es de gran selectividad estructural, por lo que su principal aplicación es para el análisis cualitativo; sin embargo, se puede cuantificar tanto en MIR como en NIR haciendo uso de herramientas quimiométricas y del análisis multivariado, como se explicara a continuación (Burns & Ciurczak, 2007).

### Quimiometría y modelos estadísticos

La quimiometría se puede entender como la disciplina que maneja la adquisición, procesamiento y aprovechamiento de la información de aplicaciones analíticas, por medio de métodos estadísticos (Fernández, 2011).

Con la aplicación de herramientas quimiométricas se puede recolectar datos asociados a diferentes variables de una muestra, lo que se conoce como sistemas multivariados, y a partir de ello se pueden aplicar modelos de calibración multivariantes para la evaluación del mejor modelo ajustado a los resultados que se obtengan.

Los principales modelos descritos en la literatura acerca de calibración multivariante son: la regresión por componentes principales (PCR, por sus siglas en inglés Principal Components Regression) y la regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS), por sus siglas en inglés Partial Least Square Regression) (Burns & Ciurczak, 2008).

Ambos modelos de regresión se basan en un análisis preliminar de componentes principales (ACP), en el cual se busca encontrar factores que describan una muestra y un menor volumen a los datos iniciales. Estos factores se expresan en términos de vectores en un plano (ver Ilustración 6), y los puntos de este corresponden a las variables que se quieren relacionar en el modelo, por ejemplo 2 longitudes de onda frente a 30 espectros.

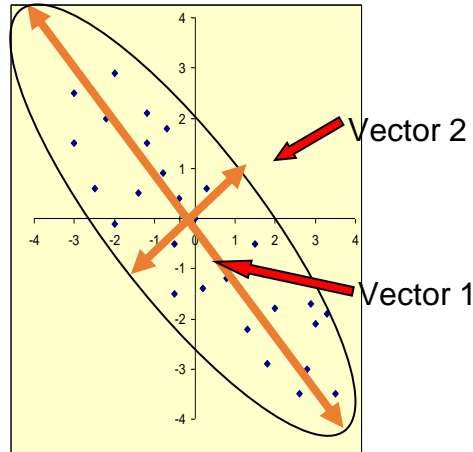


Ilustración 6. Representación de los factores generados por APC como vectores dentro de un plano.

Cada uno de los vectores que se encuentren están ubicados ortogonalmente unos a otros formando un espacio elíptico, por medio de una reducción de algebra lineal que se pueden encontrar combinaciones lineales de variables que generan los parámetros de calibración. La redundancia debida a la co-linearidad de los datos permite disminuir el volumen de estos, debido a que pocos factores pueden describir la muestra (Miller & Miller, 2002).

La diferencia entre los métodos de regresión PCR y PLS radica en que, el primero solo utiliza información espectral para encontrar dichos factores, mientras que en el segundo caso se tiene en cuenta tanto la información espectral como la información de la concentración para hallar los factores; debido a este hecho, PLS corre menos riesgo de correlacionar información irrelevante.

Por último, se debe tener en cuenta el concepto de pruebas de significancia, las cuales se utilizan para establecer si existe diferencia significativa entre las metodologías propuestas. Para este caso se utilizará la comparación de dos medias experimentales por medio de una prueba t pareada, en donde los datos analíticos de un método nuevo se pueden contrastar con unos de un método de referencia. Se toma como hipótesis nula que los dos métodos proporcionan el mismo resultado (Miller & Miller, 2002).

El estadístico  $t$  que se utiliza se define a través de la siguiente ecuación

$$t = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{s \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

**Ecuación 1.** Estadístico  $t$  en una prueba pareada.

Donde  $n$  es el número de datos y  $s$  es la estimación conjunta de la desviación estándar que se calcula mediante la siguiente ecuación.

$$s^2 = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{(n_1 + n_2 - 2)}$$

**Ecuación 2.** Varianza en una prueba t pareada.

También, se debe tener en cuenta previo a la realización de esta prueba la comprobación de los supuestos de homogeneidad de varianzas y de normalidad. Que al igual que la prueba de significancia, se realizarán a través del software estadístico Minitab.

## OBJETIVOS

### Objetivo General

Generar un método por espectroscopia infrarrojo para la cuantificación del porcentaje de hidrólisis del clorhidrato de Eudragit E-100.

### Objetivos Específicos

- Determinar el porcentaje de hidrólisis que se produce en el proceso de modificación del Eudragit E 100 a diferentes grados de ionización por medio de potenciometría.
- Asociar los porcentajes de hidrólisis obtenidos potenciométricamente, con los espectros infrarrojos del clorhidrato de Eudragit E 100 modificado.
- Generar un modelo estadístico que permita calcular el porcentaje de hidrólisis mediante espectroscopia de infrarrojo.

## METODOLOGÍA.

### Modificación y obtención del material polimérico

Para poder sintetizar el clorhidrato de Eudragit E 100 (Cl Eu 100) al grado de ionización deseado, se debía conocer la cantidad de grupos ionizables del polímero, en este caso la cantidad de grupos dimetilaminoetil (DMAE) ionizables.

### Determinación de grupos DMAE ionizables

Se determinó la cantidad de DMAE presentes en el polímero usando la metodología reportada por el fabricante EVONIK y sustentada en la farmacopea americana (<541> *Titulación Potenciométrica*, 2014). Para esto se tomaron 0,2 g del polímero Eudragit E-100 (Eu-100), se disolvieron en 96 mL de ácido acético glacial y 4 mL de agua. Para titular se utilizó una solución 0,1 N de ácido perclórico y un pH-metro marca Ultrabasic de Denver Instruments con electrodo de cuerpo de vidrio.

### Modificación del material polimérico

Se pesó 5 g de polímero Eu-100 en frascos Schott de 500 mL y se mezcló con las cantidades exactas de ácido clorhídrico para lograr una ionización del 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100% de los grupos DMAE, determinados por la valoración potenciométrica. En la tabla 1 se describen los valores de ácido al 1M que se adicionaron. Posteriormente, se agregó la cantidad suficiente de agua destilada para alcanzar 100 mL. Las soluciones se mantuvieron bajo agitación constante hasta alcanzar una disolución completa. Una vez disuelto el polímero se procedió a liofilizar.

Tabla 1. Cantidad de ácido adicionado para alcanzar el grado de ionización deseado.

<b>Porcentaje de ionización</b>	<b>Polímero (g)</b>	<b>Solución de HCl 1M (mL)</b>
<b>100%</b>	5	8,3
<b>90%</b>	5	7,4
<b>80%</b>	5	6,6
<b>70%</b>	5	5,8
<b>60%</b>	5	5,0
<b>50%</b>	5	4,1
<b>40%</b>	5	3,3
<b>30%</b>	5	2,5
<b>20%</b>	5	1,7
<b>0%</b>	5	0,8

### Liofilización de los materiales poliméricos

Las soluciones obtenidas se distribuyeron en balones de fondo redondo de 500 mL y fueron enfriados a  $-28^{\circ}\text{C}$ , en el equipo de congelación Low Temperature Circulation Bath PFR-1000 EYELA de la Universidad Icesi. Posteriormente, se realizó la liofilización en el equipo Freeze Dryer FDU-1110 de EYELA por un tiempo de 6 horas.

### Desarrollo Instrumental y Quimiométrico

Para esto se siguió como modelo el algoritmo de validación de calibración para NIR de la Ilustración 7 (Burns & Ciurczak, 2008) y se tomó como referencia la metodología propuesta por el grupo de investigación en análisis químico e instrumental de la Universidad Icesi, para la determinación de micro y macronutrientes en tejido foliar (Yarce & Rojas, 2012), que comprende los siguientes pasos.

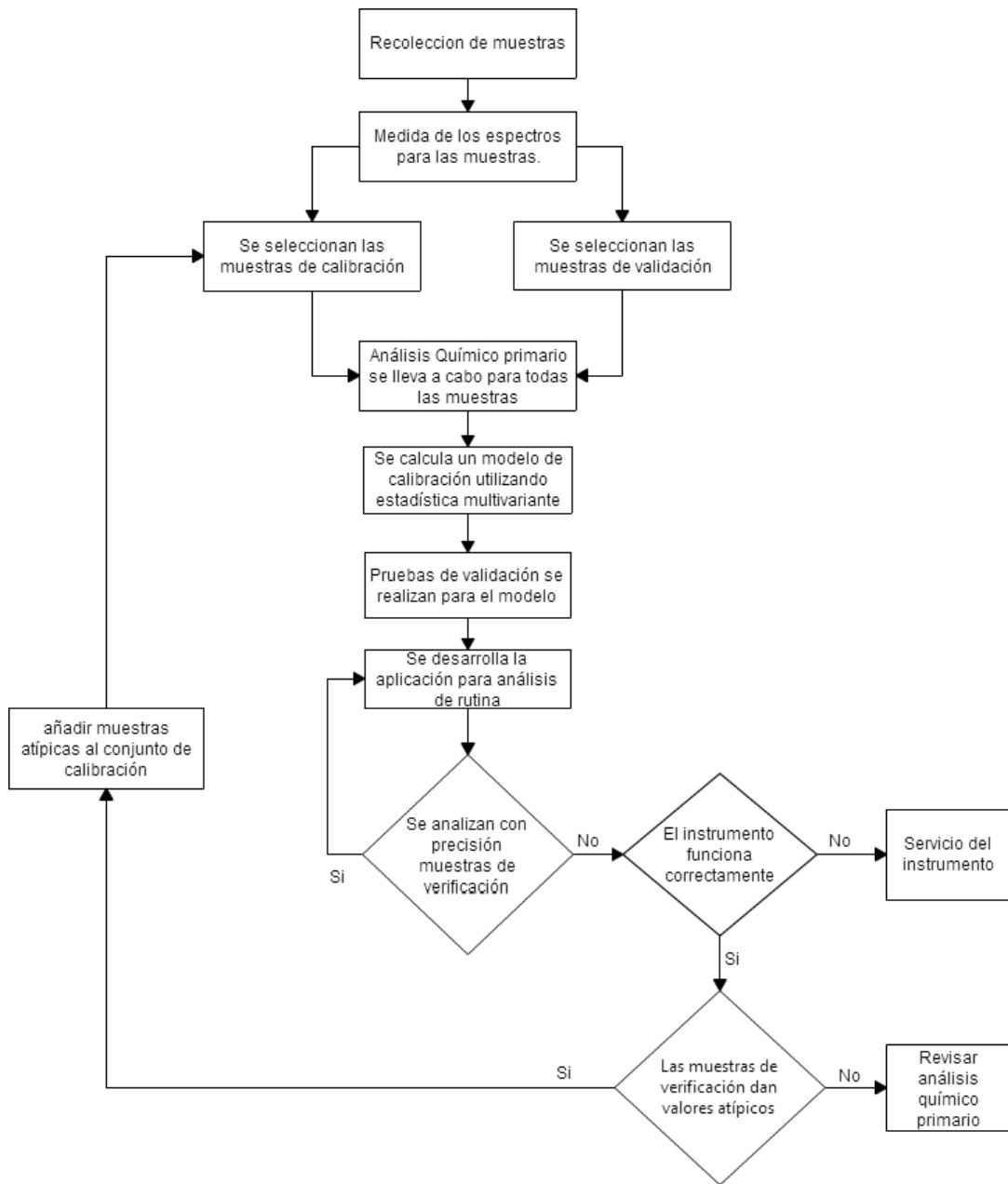


Ilustración 7. Algoritmo para desarrollo de un modelo de calibración por NIR (Burns & Ciurczak, 2008).

Adquisición de los valores primarios

Determinación de Grupos DMAE libres

Se realizó nuevamente la titulación potenciométrica para la determinación de los grupos DMAE que no se ionizaron durante el proceso de modificación, siguiendo el método reportado por el fabricante y basado en farmacopea estadounidense vigente (<541> *Titulación Potenciométrica*, 2014). Para esto se tomó 50 mg de cada material polimérico obtenido (CI Eu 100) y se disolvieron en 29 mL de ácido acético glacial y 1 mL de agua. Para titular se utilizó una solución 0,1 N de ácido perclórico en ácido acético glacial y un pH-metro marca Ultrabasic de Denver Instruments con electrodo de cuerpo de vidrio.

Posteriormente, se utilizó las siguientes ecuaciones para determinar el porcentaje de grupos DMAE por gramo de polímero (*Eudragit E100, Eudragit E PO and Eudragit E 12,5 Technical Information Specification and Technical Methods*, 2012).

$$\text{Valor básico (mg KOH/g de DS)} = \frac{\text{mL de 0,1N HClO}_4 \times 561}{\text{peso de la muestra} \times \% \text{ de DS}}$$

**Ecuación 3.** Valor Básico (VB) (DS=Sustancia Seca).

$$\% \text{ de grupos dimetilaminoetil} = \text{VB} \times 0,1286$$

**Ecuación 4.** Porcentaje de grupos DMAE.

Para los cálculos se determinó un porcentaje de materia seca del 98% en concordancia con los parámetros de calidad del excipiente (*Eudragit E100, Eudragit E PO and Eudragit E 12,5 Technical Information Specification and Technical Methods*, 2012). Las titulaciones se realizaron por quintuplicado.

Determinación de Grupos AMC generados

Se realizó una titulación potenciométrica reportada por el fabricante y basada en la farmacopea americana (<541> *Titulación Potenciométrica*, 2014) para la determinación de los grupos hidrolizados del material, por medio de la cuantificación de la cantidad de ácido metacrílico generado. Para esto se tomó 50 mg de cada material polimérico (CI Eu 100), se disolvió en 50 mL de una mezcla alcohol isopropílico/agua (3:2) y se usó como titulante una solución de NaOH 0,5 N. Para la determinación se utilizó la siguiente ecuación.

$$\% \text{ unidades de ácido metacrílico (AV)} = \frac{mL \text{ 0,5N NaOH} * 430,45}{\text{peso de la muestra (g)} * \% \text{ de DS}}$$

$$AV \text{ (mg KOH / g DS)} = \% \text{ de ácido metacrílico} \times 6.517$$

**Ecuación 5.** Porcentaje de ácido metacrílico (DS=sustancia seca)

El valor de ácido (AV) indica los mg de KOH necesarios para neutralizar los grupos ácidos contenido en 1 g de sustancia seca.

Para los cálculos se determinó un porcentaje de materia seca del 98% en concordancia con los parámetros de calidad del excipiente (*Eudragit E100, Eudragit E PO and Eudragit E 12,5 Technical Information Specification and Technical Methods*, 2012). Las titulaciones se realizaron por quintuplicado.

Colección de espectros de NIR y MIR

Para la hacer la colección de espectros tanto de MIR como de NIR se utilizó el espectrómetro FT-IR 6500 de marca Nicolet™- Thermo Scientific disponible en la Universidad y el software de recolección de datos, visualización y procesamiento de herramientas de análisis, Thermo Scientific™ OMNIC™. Sin embargo, para la toma de los espectros en las dos regiones se utilizó una técnica diferente.

Espectros MIR.

Se tomó aproximadamente 5,0 mg de cada material polimérico y se mezcló en una relación 1:10 de KBr. Posteriormente, por medio de una prensa hidráulica se formó una pastilla, que fue leída en el rango de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , esto con el fin de disminuir el efecto de concentración en los espectros.

Espectros NIR

Para la toma de estos espectros se utilizó la técnica de reflectancia por medio del accesorio Smart integration sphere disponible en la universidad. No se necesitó un tratamiento previo de la muestra, cada material polimérico se distribuyó en viales de vidrio de fondo plano y puestos sobre el accesorio. Se realizó la lectura de los espectros en una región de 4000 a 10000  $\text{cm}^{-1}$ .

Desarrollo de curvas de calibración

Para la creación de las curvas de calibración y los modelos de predicción se utilizó el software TQ Analyst™ Pro Edition Software. Se estableció un diseño para lograr realizar los experimentos de forma más eficientes, los parámetros a modelar

fueron:

- La región del infrarrojo en la que se quiere medir los espectros, esta incluye infrarrojo medio y cercano.
- La propiedad de interés que se desea calcular, en este caso el porcentaje de ionización y el porcentaje de hidrólisis.
- Tipo de análisis cuantitativo, este incluye los tipos de modelos de regresión con los que cuenta el software y que fueron evaluados CLS, PLS, PCR.
- Y por último, el tipo de tratamiento numérico que se le realizó a los espectros para utilizarlos en el modelamiento, estos incluyen primera y segunda derivada.

Con este diseño se logró realizar un total de 18 modelos.

Tabla 2. Representación del diseño aplicado para la creación de los modelos de predicción.

Región	Propiedad de interés	Modelo de predicción aplicado	Tipo de tratamiento numérico
NIR	% Ionización	CLS	Sin tratamiento
			Primera derivada
	Segunda derivada		
	% Hidrólisis	PLS	Sin tratamiento
			Primera derivada
	Segunda derivada		
MIR	% Ionización	CLS	Sin tratamiento
			Primera derivada
	Segunda derivada		
	% Hidrólisis	PLS	Sin tratamiento
			Primera derivada
	Segunda derivada		

#### Validación cruzada y comprobación de los modelos generados

Para evaluar la validez de los modelos se usó 3 de los mismos 10 estándares de calibración (20,50 y 80%), se determinó los errores estándar de calibración y de validación (RMSEC y RMSECV), y los coeficientes de determinación, tanto para la calibración como para la validación.

## Determinación del porcentaje de ionización e hidrólisis en muestras desconocidas

Para esta etapa se utilizaron los mismos materiales poliméricos, después de haber sido sometidos a condiciones de almacenamiento favorables a la absorción de agua del ambiente durante tres meses. Se les tomó espectros de MIR y NIR a los polímeros sintetizados y se midieron en el software TQanalyst como muestras para cuantificar.

## MATRIZ MARCO-LÓGICO.

<b>Objetivo general</b>			
Generar un método por espectroscopia infrarrojo para la cuantificación del porcentaje de hidrólisis del clorhidrato de Eudragit E-100.			
<b>Objetivo específico</b>	<b>Actividades</b>	<b>Supuestos</b>	<b>Indicador</b>
Determinar el porcentaje de hidrólisis que se produce en el proceso de modificación del Eudragit E 100 a diferentes grados de ionización por medio de una titulación potenciométrica.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Titular potenciométricamente el Eudragit E 100 para determinar la cantidad de grupos ionizables.</li> <li>- Determinar la cantidad de ácido clorhídrico que se debe agregar para obtener el clorhidrato de Eudragit E 100 a diferentes grados de ionización conocida.</li> <li>- Titular potenciométricamente la sal obtenida para determinar el porcentaje real de ionización e hidrólisis de las muestras sintetizadas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Se obtendrá la sal del clorhidrato de Eudragit E 100 a los grados de ionización requeridos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Porcentaje de ionización e hidrólisis de las sales de polímero sintetizadas.</li> </ul>
Asociar los porcentajes de ionización e hidrólisis obtenidos de la titulación, con los espectros infrarrojos del clorhidrato de Eudragit E 100 modificado.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Capacitación en el manejo del equipo IR.</li> <li>- Capacitación en el manejo avanzado del software de adquisición de datos.</li> <li>- Toma de espectros infrarrojo.</li> <li>- Asignación de los valores primarios a los espectros obtenidos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Se logra asociar los espectros colectados con los valores primarios de porcentaje de ionización e hidrólisis.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Espectros infrarrojos asociados con los valores primarios.</li> </ul>
Generar un modelo estadístico que permita calcular el porcentaje de ionización e hidrólisis simultaneo de muestras desconocidas mediante espectroscopia infrarrojo	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Probar varios modelos de calibración multivariante como: PLS y PCR.</li> <li>- Establecer y validar el modelo mediante la aplicación de pruebas de significancia</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Se encontrara un modelo estadístico que se ajuste a los resultados.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Modelo estadístico validado.</li> </ul>

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Obtención de materiales poliméricos

Inicialmente, se realizó la determinación de grupos ionizables e hidrolizables definida como el porcentaje de grupos DMAE y el porcentaje de AMC en el polímero comercial, con el fin de establecer la cantidad de ácido requerido para lograr los porcentajes de ionización deseados.

Para la determinación de los grupos DMAE ionizables en el polímero Eudragit E-100 comercial, se realizó una titulación potenciométrica en solvente no acuoso como se muestra en la metodología; y se utilizó el método de la primera derivada para determinar los volúmenes de equivalencia de cada titulación realizada (ilustración 9). Los resultados se muestran a continuación:



Ilustración 8. Fotografía del montaje experimental para la realización de valoraciones potenciométricas.

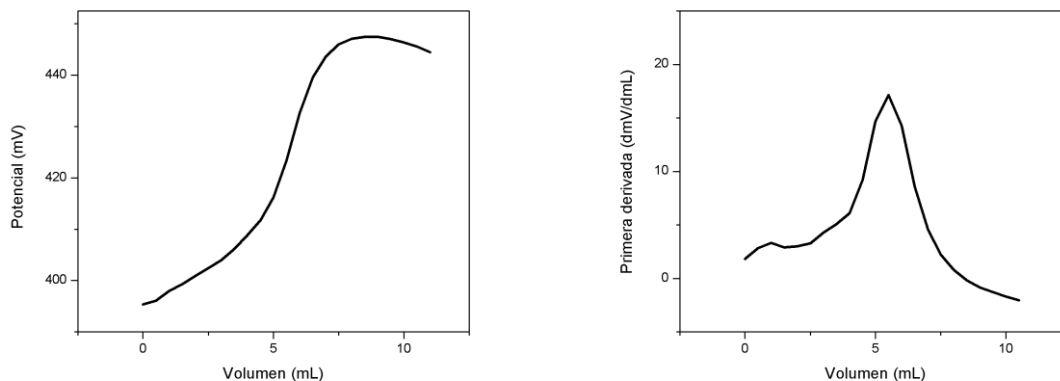


Ilustración 9. Determinación de Grupos DMAE en el Eudragit E 100. A la izquierda representación de una curva promedio de titulación potenciométrica, a la derecha representación del método de la primera derivada promediado.

Se encontró un volumen de equivalencia de 5,5 mL, valor que se reemplazó en las ecuaciones 3 y 4 para calcular el porcentaje de grupos DMAE en sustancia seca.

$$\text{Valor basico} \left( \text{mg} \frac{\text{KOH}}{\text{g de DS}} \right) = \frac{5,5 \text{ mL de } 0,1\text{N HClO} \times 561}{0,2199 \times 98\%} = 149,68 \left( \text{mg} \frac{\text{KOH}}{\text{g de DS}} \right)$$

$$\% \text{ de grupos DMAE} = 149,68 \times 0,1286 = 19,73\%$$

Al comparar este resultado con la especificación del fabricante (20,8-25,5%), se puede plantear que el polímero se ha ido degradando, y por lo tanto la cantidad de grupos DMAE es menor a la esperada.

Posterior a esto se realizó la determinación de los grupos ácido carboxílicos presentes en el polímero, a través del porcentaje de ácido metacrílico (AMC) presente en la muestra, que es el ácido resultante de la hidrólisis de los ésteres que componen la estructura del polímero.

Para esto se realizó una titulación potenciométrica en solvente no acuoso como se muestra en la metodología (Ilustración 8), y se utilizó el método de la primera derivada para determinar los volúmenes de equivalencia de cada titulación realizada. Los resultados se muestran a continuación en la ilustración 10.

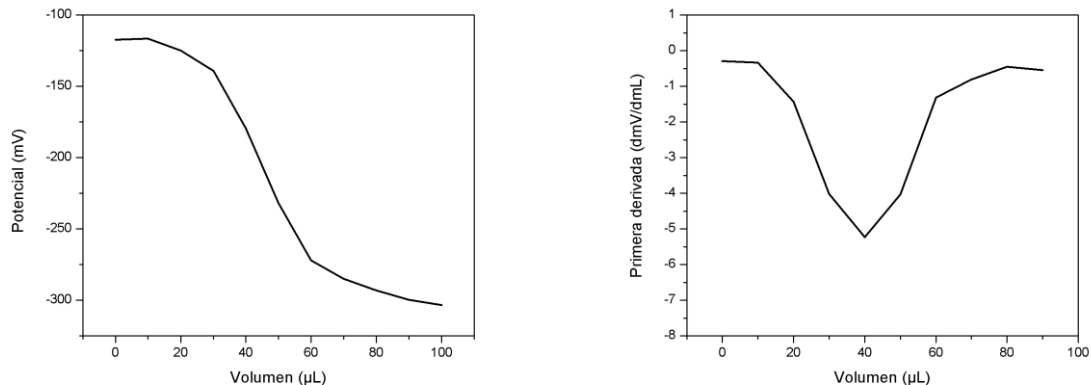


Ilustración 10. Determinación de Grupos hidrolizables AMC en el Eudragit E 100. A la izquierda representación de una curva promedio de titulación potenciométrica, a la derecha representación del método de la primera derivada promediado.

$$\% \text{ unidades de ácido metacrílico (AV)} = \frac{0,04 \text{ mL } 0,5 \text{ N NaOH} * 430,45}{0,0501 \text{ (g)} * \% \text{ de DS}} = 0,35$$

$$\text{AV (mg KOH / g DS)} = 0.35 * 6.517 = 2,28\%$$

Ecuación 5. Porcentaje de ácido metacrílico.

Se pudo determinar que el polímero comercial ya había sufrido un proceso de hidrólisis y esto confirma la hipótesis de que este se ha ido degradando con el tiempo, probablemente por la absorción de agua debido a sus condiciones de almacenamiento.

Posteriormente, se procedió a llevar a cabo la modificación del polímero con los volúmenes de ácido mostrados en la tabla 1 de la metodología. Se observó inicialmente una solución blanca y viscosa (ver Ilustración 11), que luego se tornó traslúcida; sin embargo, al disminuir la cantidad de ácido del medio las soluciones se fueron tornando opacas y más difíciles de disolver.

En trabajos anteriores se pudo establecer que el comportamiento de la solubilidad de este tipo de material, se debe a las interacciones moleculares entre el agua y los grupos ionizables de la molécula. A mayor cantidad de ácido en el medio se potencia más la carga básica del nitrógeno del grupo amino del polímero, lo que ocasiona que cambie el ambiente de la cadena polimérica y su plegamiento, esto permite mayor contacto del solvente acuoso con el grupo iónico de la molécula y mayor solubilidad. Por lo tanto, al disminuir la cantidad de ácido en el medio disminuyen estas cargas, aumenta el ambiente hidrófobo y el polímero es más difícil de disolver (Villada Morales, 2015).



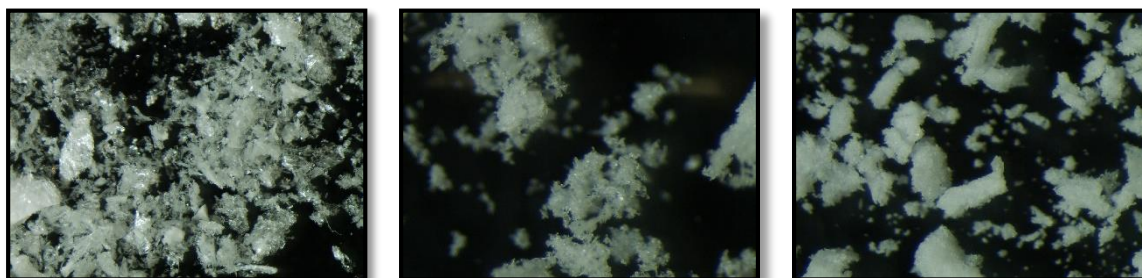
Ilustración 11. Fotografía al inicio de la adición de HCl para llevar a cabo la modificación del Eudragit E 100 y obtención de las sal clorhidrato de Eudragit E 100 (Cl Eu).

Una vez los polimeros estuvieron disueltos se procedió a liofilizarlos, esto con el fin de eliminar el agua mediante congelacion y posterior sublimacion para obtener el material solido y seco. Una de las variables más importante para que este proceso sea efectivo es la temperatura de congelación (ver ilustracion 12), puesto que se debe garantizar que el solvente, en este caso agua, este completamente en fase sólida para poder evacuarlo en forma de gas (GIDOLQUIM, 2015); por esta razón, se utilizó una temperatura mas baja al punto de congelacion del agua para llevar a cabo el proceso.



Ilustración 12. Fotografía de la etapa de congelamiento de uno de los materiales poliméricos obtenidos.

Al finalizar esta etapa que duró aproximadamente 3 semanas, se obtuvo 10 materiales poliméricos a diferentes porcentajes de ionización. La primera observación realizada fue en cuanto a la estructura física de los materiales, encontrándose que a mayor cantidad de ácido adicionado los materiales lucían como cristales finos, a medida que se disminuía la cantidad de ácido, estos lucían compactos y grumosos (ver ilustración 13). Cabe resaltar que la morfología de los polímeros depende de la orientación y organización de sus cadenas, esto a su vez depende directamente de la estructura química del polímero y puede verse afectadas por el medio circundante (York, 2015), lo que explicaría porque al variar la concentración del ácido varía su morfología.



CI Eu 100% Ionización

CI Eu 40% Ionización

CI Eu 10% Ionización

Ilustración 13. Fotografías en el estereoscopio a un objetivo de 6x de diferentes 3 de los materiales poliméricos obtenidos.

### Desarrollo instrumental y quimiométrico

El primer paso para esto, y el más importante, es la adquisición de los valores primarios, a través de un método de referencia. Se considera así porque los resultados obtenidos a partir de éste, suponen un alto grado de exactitud y precisión de las variables a cuantificar, además debe estar sustentado en la literatura (Castorena, 2006); es decir, que si el método de referencia no es el adecuado o no arroja buenos resultados, el modelo de predicción que se encuentre no será el indicado para el propósito requerido.

En este caso la adquisición de estos valores se llevó a cabo por medio del método de referencia reportado por el fabricante (titulación potenciométrica) y sustentado en la farmacopea americana.

Al igual que lo realizado para el polímero comercial, se determinaron los volúmenes de equivalencia para la cuantificación de los grupos DMAE y AMC por medio de las gráficas de primera derivada, como se muestra en las ilustraciones 14 y 15. En estas ilustraciones también se puede observar como varía el volumen de equivalencia requerido dependiendo del material polimérico que se tituló. En el

caso de los grupos DMAE se observó que a mayor grado de ionización menos cantidad de titulante (ácido acético) fue requerido, lo que indica que hay menor cantidad de grupos amino libres para titular y un mayor grado de ionización. Para los grupos AMC se observa que la cantidad de titulante (hidróxido de sodio) es mayor a medida que aumenta el grado de ionización, por lo tanto se generaron más grupos de ácido debido a la hidrólisis de los esteres. Esto concuerda con resultados anteriores donde se proponía que a medida que se aumentaba la cantidad de ácido en el medio, se favorecía tanto la ionización como la hidrólisis de los materiales poliméricos (Villada Morales, 2015). En la tabla 3 y 4 se muestran los resultados de estas dos variables para todos los materiales poliméricos obtenidos.

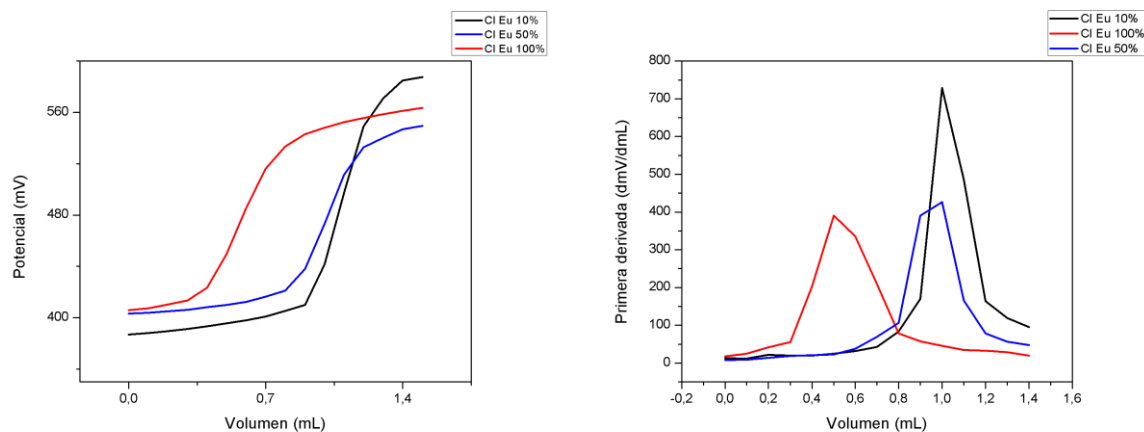


Ilustración 14. Determinación de Grupos ionizables DMAE en las diferentes sales de Eudragit E 100. A la izquierda representación de una curva promedio de titulación potenciométrica, a la derecha representación del método de la primera derivada promediado.

Tabla 3. Resultados obtenidos de las valoraciones potenciométricas para la determinación de grupos DMAE en los materiales poliméricos obtenidos.

Ionización deseada	Volumen de equivalencia (mL)	Porcentaje grupos DMAE libres (%)
10%	1,0	14,53
20%	0,9	13,19
30%	0,9	13,16
40%	0,9	13,10
50%	0,9	13,18
60%	0,9	13,17
70%	0,8	11,68
80%	0,7	10,28
90%	0,6	8,76
100%	0,5	7,31

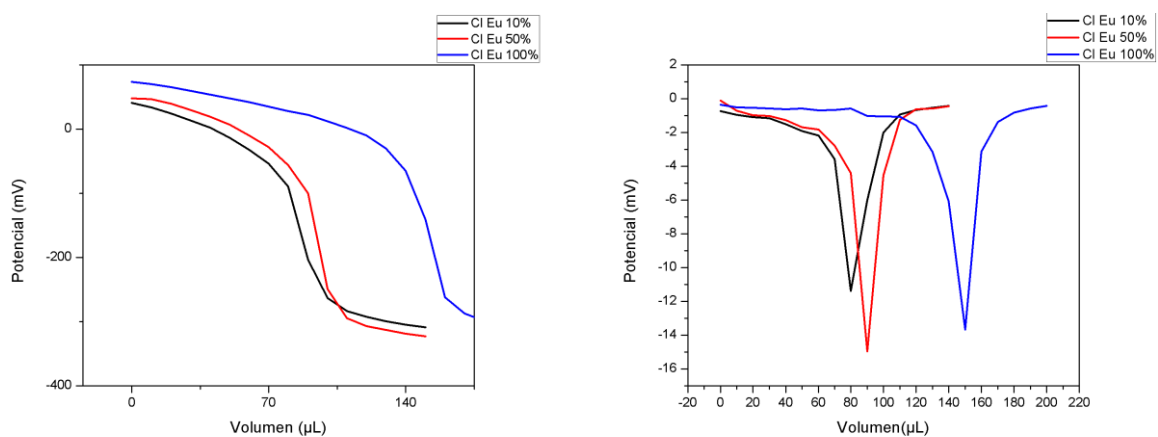


Ilustración 15. Determinación de Grupos hidrolizables en las diferentes sales de Eudragit E 100. A la izquierda representación de una curva promedio de titulación potenciométrica, a la derecha representación del método de la primera derivada promediado.

Tabla 4. Resultados obtenidos de las valoraciones potenciométricas para la determinación de grupos AMC generado en los materiales poliméricos obtenidos.

Ionización deseada	Volumen de equivalencia (μL)	Porcentaje de AMC generado (%)
10%	80	14,53
20%	90	13,19
30%	90	13,16
40%	90	13,10
50%	90	13,18
60%	90	13,17
70%	100	11,68
80%	110	10,28
90%	120	8,76
100%	150	7,31

Al evaluar el comportamiento de los grupos DMAE y AMC de los diferentes materiales con respecto al porcentaje de ionización, se encontró que no seguía una tendencia lineal como lo encontrado en trabajos anteriores, sino que se presentó un estado estacionario aproximadamente entre el 20 y 50% de ionización (ilustración 16), en donde la cantidad de ácido adicionada actuaba en igual proporción tanto ionizando como hidrolizando el material, esto se pudo observar debido a que se amplió el intervalo de concentraciones trabajadas y se logró obtener más materiales poliméricos en el mismo rango de trabajo (0-100%).

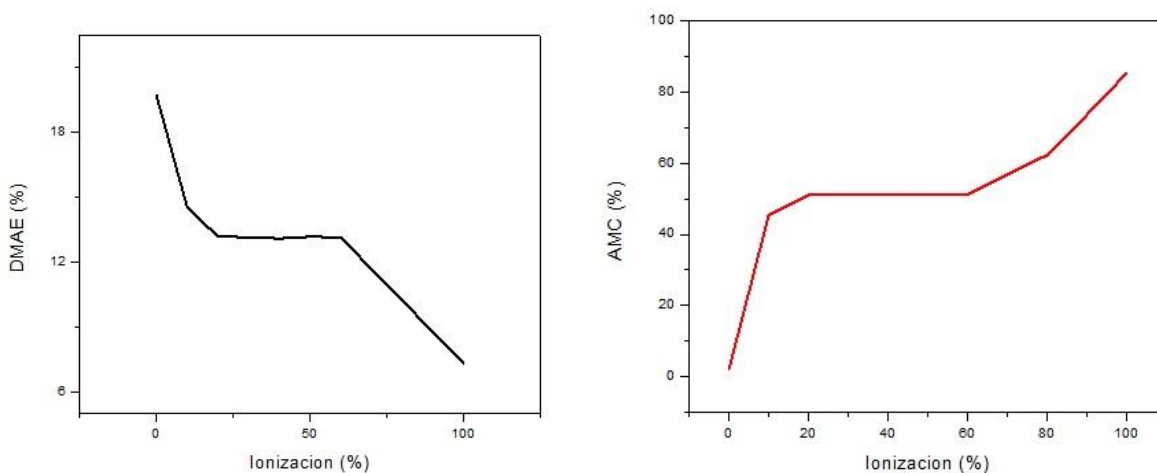


Ilustración 16. Graficas de comportamiento de la ionización y la Hidrólisis del clorhidrato de Eudragit a diferentes volúmenes de ácido clorhídrico adicionado.

Una vez obtenidos los datos primarios de %DMAE y %AMC, se procedió a la toma de espectros en la región del infrarrojo medio y cercano, como se muestra en la ilustración 17, y a la posterior asignación de estos valores a cada uno de ellos.

Además de las colecciones de espectros en estas dos regiones, se realizaron tratamientos numéricos a estos para obtener la primera y segunda derivada, como se muestra en las ilustraciones 18 y 19. Estos permiten la maximización de regiones del espectro que no son observables fácilmente y que pueden representar cambios o tendencias importantes para modelar los parámetros de interés, esto es debido principalmente a dos razones: primero, con estos tratamientos se puede aumentar la resolución del espectro original y se pueden resolver bandas que estén demasiado cerca en el espectro normal, y segundo, permiten discriminar fácilmente bandas finas del espectro de interés para el modelamiento (Universidad Nacional de Colombia, 2001).

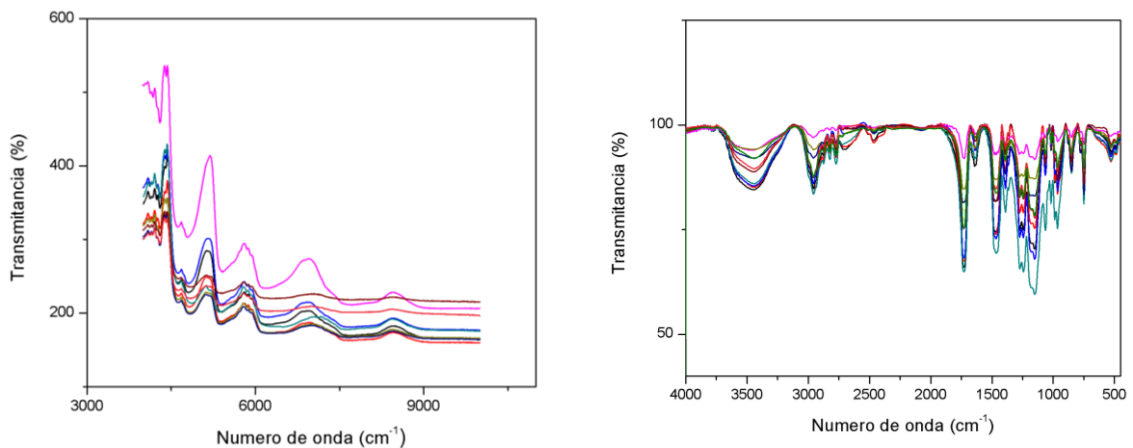


Ilustración 17. Graficas de las colecciones de espectros de NIR (izquierda) y MIR (derecha).

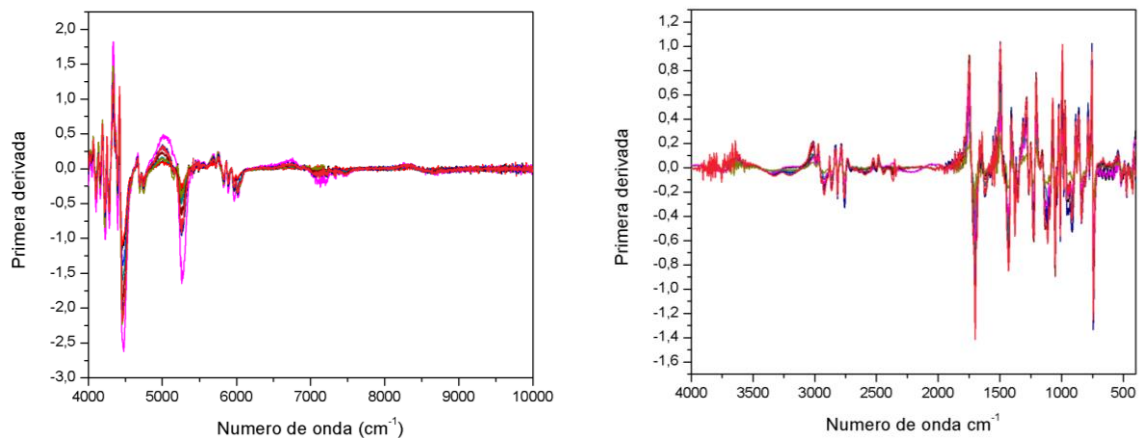


Ilustración 18. Graficas de las colecciones de espectros de NIR y MIR respectivamente con el tratamiento de primera derivada.

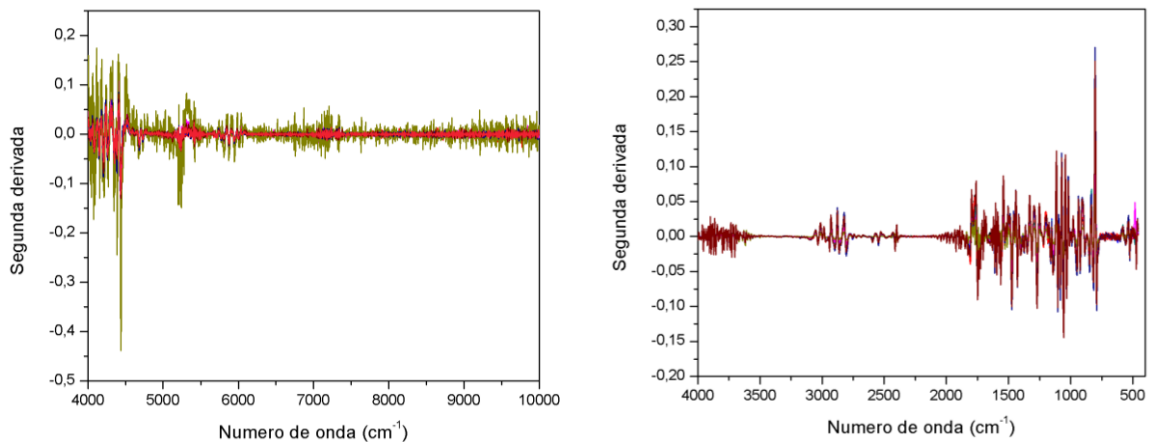


Ilustración 19. Graficas de las colecciones de espectros de NIR (izquierda) y MIR (derecha) con el tratamiento de segunda derivada.

### Calibración, modelos de predicción y validación cruzada

Después de tener asignados los valores primarios se procedió a aplicar los parámetros de regresión en el software quimiométrico del instrumento TQanalyst, este evalúa las relaciones que existen entre las longitudes de onda medidas y los parámetros a modelar, estableciendo unas regiones de longitud de onda dentro de cada colección de espectros, donde se evaluaron las variables de interés y que permitieron establecer los mejores modelos para la cuantificación de estos parámetros, tanto en MIR como en NIR, posteriormente se generaron una curvas de calibración pertinentes a cada modelo evaluado, en las ilustraciones 20,21,22 y 23 se muestran como ejemplo 4 de las gráficas creadas por el software, para ambos componentes mediante dos modelos.

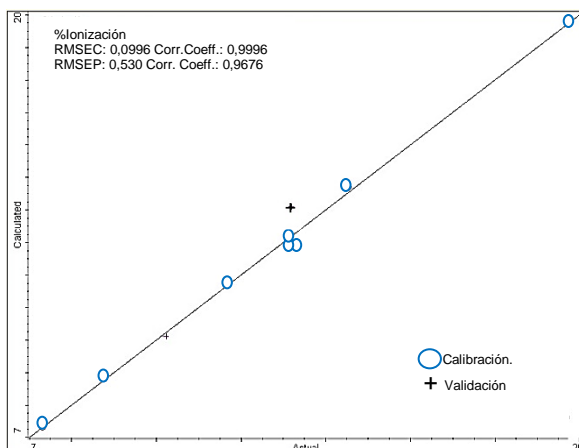


Ilustración 20. Gráfica de calibración para el modelo de predicción NIR (modelo 1), valores primarios %DMAE.

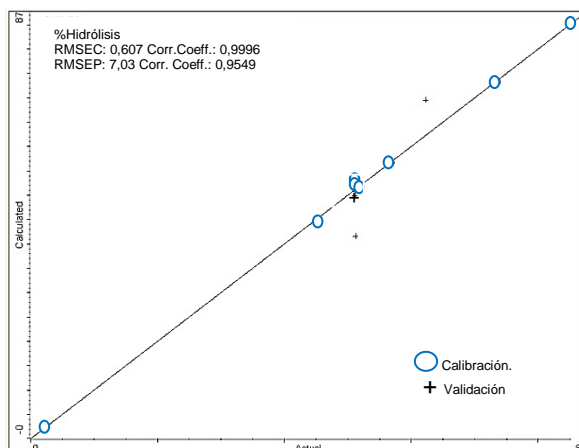


Ilustración 21. Gráfica de calibración para el modelo de predicción NIR (modelo 4), valores primarios %AMC.

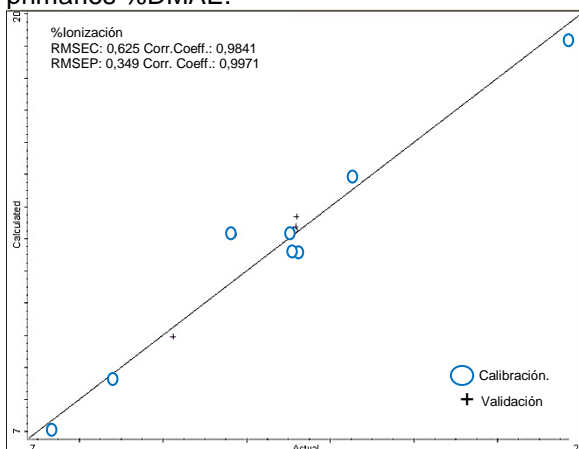


Ilustración 22. Gráfica de calibración para el modelo de predicción MIR (modelo 1), valores primarios %AMC.

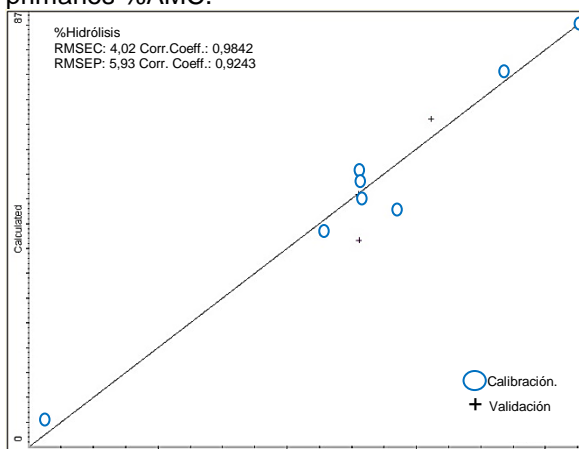


Ilustración 23. Gráfica de calibración para el modelo de predicción MIR (modelo 4), valores primarios %AMC.

En donde el eje  $x$ , designado como: actual indica el valor de referencia y el eje  $y$  designado como: calculated es el valor predicho

Los parámetros estadísticos que se muestran en las gráficas anteriores sirven para demostrar la viabilidad y capacidad predictiva de los modelos, estos son: los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) y el error cuadrático medio tanto de calibración (RMSEC) como de validación cruzada (RMSECV). Cabe resaltar que estos dos parámetros se calculan simultáneamente en el instrumento al seleccionar dentro de los estándares algunos para la validación cruzada. Estos resultados permitieron descartar modelos y escoger solo 4 de los 18 evaluados. Los resultados se observan en la tabla 5.

Tabla 5. Resultados de los parámetros estadísticos de calibración y validación cruzada encontrados en los modelos de predicción escogidos.

	Regresión	Región	Formato del espectro	Componentes	RMSEC (%)	$R_C^2$	RMSECV (%)	$R_V^2$	SEP	RPD	RER
Modelo 1	PCR	NIR	Primera derivada	% Ionización	0,0996	0,9996	0,530	0,9676	1,5	1,6	4,9
				% Hidrólisis	0,6070	0,9996	7,030	0,9549	12,4	1,0	3,2
Modelo 2	PCR	MIR	Espectro	% Ionización	0,5000	0,9898	5,560	0,3389	1,9	0,5	1,5
				% Hidrólisis	2,1700	0,9954	33,40	0,4446	13,2	0,6	1,8
Modelo 3	PCR	MIR	Primera derivada	% Ionización	0,116	0,9995	0,292	0,9970	2,0	0,4	1,1
				% Hidrólisis	1,6200	0,9974	5,090	0,9374	11,2	0,6	1,7
Modelo 4	PLS	MIR	Primera derivada	% Ionización	0,6250	0,9841	0,349	0,9971	2,4	0,5	1,5
				% Hidrólisis	4,0200	0,9842	5,930	0,9243	14,9	0,5	1,4

Como se observa en la tabla 5. La mayoría de los modelos presentan buenos coeficientes de determinación de calibración ( $R_C^2$ ), es decir muy cercanos a 1, para ambos componentes o variables de interés. Estos resultados son buenos, ya que indican qué tan bien los datos se ajustan al modelo estadístico (Rooney, McDowell, Strachan, & Gordon, 2015).

Sin embargo, unos buenos coeficientes de determinación no son suficientes para establecer la validez de los modelos. En general, un buen modelo predictivo debe tener valores de  $R^2$  cercanos a 1 y valores bajos de RMSEC y RMSECV (Infantino et al., 2015) cercanos a cero. Es en este punto donde algunos de los modelos encontrados empiezan a mostrar algunas deficiencias, lo que indica que estos modelos pueden presentar problemas de sobre o subestimación (Bellon-Maurel &

McBratney, 2011) de los componentes %DMAE y %AMC, y una baja robustez (Chavez et al., 2015). Aparte de los parámetros estadísticos arrojados por el software se calculó el SEP (error estándar de predicción), RPD (Relación entre el error estándar de rendimiento para la desviación estándar) y RER (Relación de error del rango) para complementar el análisis sobre la validez de los modelos.

El SEP es un parámetro que indica la precisión de la predicción, se esperaba que el SEP fuera muy cercano a cero para asegurar un sesgo bajo en los resultados (Analytical et al., 2013), sin embargo, se observa que los valores más bajos se dan para el %DMAE en todos los modelos. Lo que indica una baja precisión en el modelamiento de los parámetros.

El siguiente parámetro es el RPD, que matemáticamente es el SEP dividido la desviación estándar de los datos arrojados por el modelo y al igual que el SEP, este brinda información acerca de la precisión del modelo, se incluye este parámetro dentro del análisis debido a que se conocen valores tabulados en la literatura sobre aplicaciones en agricultura que pueden servir de referencia para establecer una clasificación del modelo entre no recomendado, aceptable y bueno para la cuantificación. Estos valores son RPD de 0 a 3 malo, de 3,1- 4,9 aceptable y de 5 en adelante bueno. Como se observa en la tabla 5, se obtienen valores muy cercanos a cero, lo que indica que estos modelos son poco recomendados para la cuantificación de estas variables. Sin embargo, cabe resaltar que estos valores son para aplicaciones en agricultura y los rangos pueden variar para otro tipo de aplicaciones.

El último parámetro es el RER, que matemáticamente es el rango/SEP y al igual que el RPD existen valores tabulados en la literatura de referencia que permiten clasificar que tipo de aplicación se le puede dar al modelo, es decir, si es recomendado para screening (RER de 13 a 20), control de calidad (RER de 21 a 30), control en proceso (RER de 31 a 40), o si no es recomendado para ninguna aplicación (RER por debajo de 6) como es el caso de todos los modelos mostrados en la tabla 5.

A partir de esto, se puede inferir que los modelos encontrados son poco robustos, probablemente debido a la baja cantidad de muestras con las que se trabajó, generalmente para este tipo de metodologías se utilizan entre 100 y 300 muestras para tener la cantidad suficiente y representativa de la variable a cuantificar y en este caso solo se utilizó 10.

Aún con estos resultados, se quiso realizar una evaluación estadística por medio de una prueba de significancia, para establecer si alguno de los modelos no difería estadísticamente de los valores primarios.

## Análisis estadístico

Para la realización de este análisis se tomaron los espectros de MIR y NIR de los mismos 10 polímeros, después de haber sido sometidos a condiciones favorables a la hidrólisis durante un periodo de aproximadamente 3 meses, y se cuantificó el %DMAE y el %AMC por cada uno de los modelos. Los resultados se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Resultados de porcentaje DMAE y AMC mediante la valoración potenciométrica y los modelos escogidos.

Valoración potenciométrica		Modelo 1		Modelo 2		Modelo 3		Modelo 4	
%I	%H	%I	%H	%I	%H	%I	%H	%I	%H
14,5	45,4	13,9	29,2	17,6	12,1	12,8	40,1	11,0	55,6
13,2	51,1	12,7	43,2	17,4	15,1	12,4	44,4	9,1	68,9
13,2	51,1	10,7	47,7	17,6	12,2	11,9	46,0	11,6	53,5
13,1	51,2	11,9	41,0	17,6	12,6	12,9	39,8	11,4	55,4
13,2	51,2	12,9	26,8	17,8	12,9	13,1	40,9	11,6	53,9
13,1	51,2	9,1	37,5	17,4	13,8	12,4	44,1	9,8	70,5
11,7	56,8	9,0	59,0	14,9	35,3	11,2	58,9	11,0	57,9
10,2	62,3	7,3	77,0	16,7	18,9	11,8	46,0	12,2	49,7
8,8	73,6	7,2	83,3	16,2	23,8	10,9	57,4	12,6	54,4
7,3	85,3	10,4	44,5	17,5	12,8	12,3	43,6	9,6	67,1

Previo a la realización de la prueba de significancia se debió comprobar los supuestos de normalidad e igualdad de varianzas a cada uno de los modelos.

### Prueba de normalidad

La realización de esta prueba se llevó a cabo a través del software estadístico Minitab® 16 y se estableció como hipótesis nula que los datos se distribuyen normalmente. La ilustración 24 representa una de las gráficas para la evaluación de la distribución normal del %DMAE por medio de la valoración potenciométrica, donde se muestra que el valor  $p > 0,100$  y mayor al valor alfa de 0,05, por lo tanto la  $H_0$  se acepta, y los datos se distribuyen normalmente.

El mismo procedimiento se realizó para el método de valoración potenciométrica con el % de AMC, como se observa en la ilustración 25. Los resultados de esta prueba para cada uno de los modelos se resumen en la tabla 7.

Se puede observar que todos los modelos cumplen con este supuesto para ambos componentes, debido a que sus valores  $p$  son mayores al valor alfa definido de 0,05.

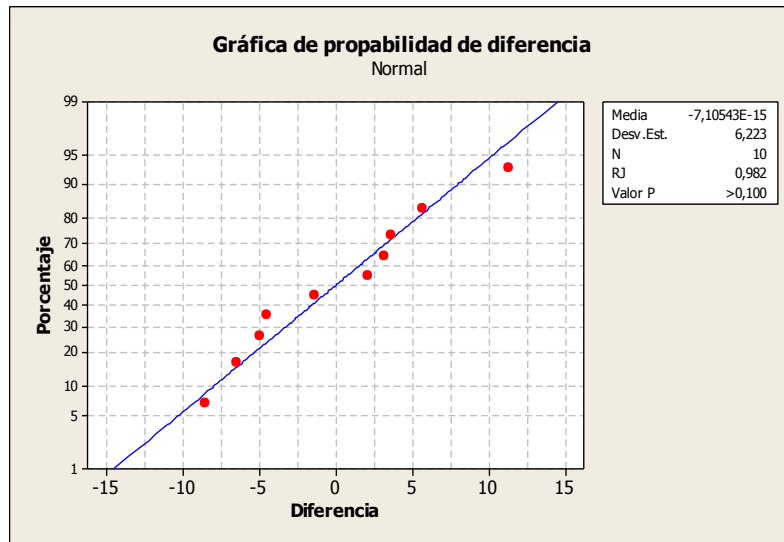


Ilustración 24. Grafica de la prueba de Ryan Joiner para la evaluación de normalidad de datos por medio de la técnica primaria (valoración potenciométrica) del % DMAE en los materiales poliméricos CI Eu 100, valor  $p > 0,1$  valor alfa utilizado 0,05. Minitab ©16.

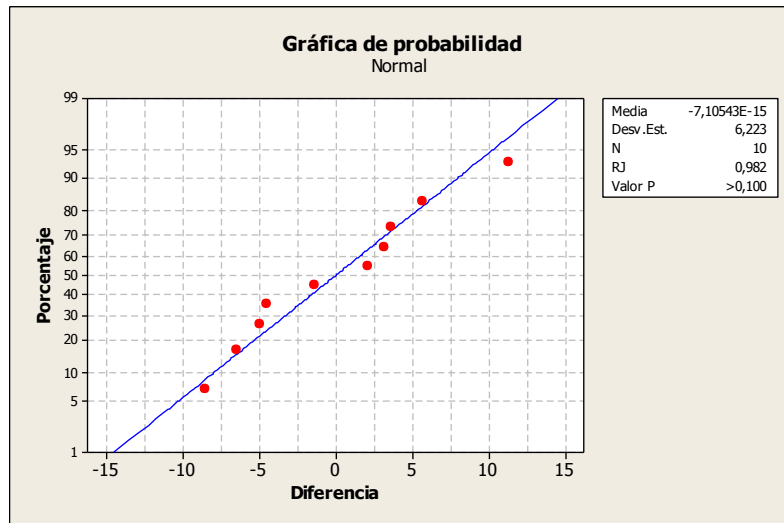


Ilustración 25. Grafica de la prueba de Ryan Joiner para la evaluación de normalidad de datos por medio de la técnica primaria (valoración potenciométrica) del % AMC en los materiales poliméricos CI Eu 100, valor  $p > 0,1$  valor alfa utilizado 0,05. Minitab ©16.

Tabla 7. Resultados de la prueba de normalidad para los datos de las diferentes modelos seleccionados. El valor alfa utilizado es de 0,05.

<b>Componente</b>	<b>Modelo</b>	<b>Valor p</b>
<b>% Ionización</b>	Modelo 1	>0,100
	Modelo 2	0,065
	Modelo 3	>0,100
	Modelo 4	>0,100
<b>%Hidrólisis</b>	Modelo 1	>0,100
	Modelo 2	0,05
	Modelo 3	>0,100
	Modelo 4	0,082

### Prueba de igualdad de varianzas

Al igual que la prueba de normalidad, el supuesto de homogeneidad de varianzas se evaluó a través del software estadístico Minitab® 16 y se estableció como hipótesis nula que los datos tienen varianzas homogéneas,  $H_0: s_1 = s_2$ .

Se comparó cada modelo con respecto a los resultados del método primario. La ilustración 26 representa una de las gráficas para la evaluación del %DMAE por medio de la valoración potenciométrica vs el modelo 2. En la gráfica arrojada por el software se muestra que el valor  $p > 0,100$  y mayor al valor alfa de 0,05, por lo tanto la  $H_0$  se acepta, y los datos cumplen con el supuesto de homogeneidad de varianzas.

El mismo procedimiento se realizó para la evaluación del % de AMC, como se observa en la ilustración 27. Los resultados de esta prueba para cada uno de los modelos se resumen en la tabla 8.

Se puede observar que todos los modelos cumplen con este supuesto para los dos componentes, debido a que sus valores  $p$  son mayores al valor alfa definido de 0,05.

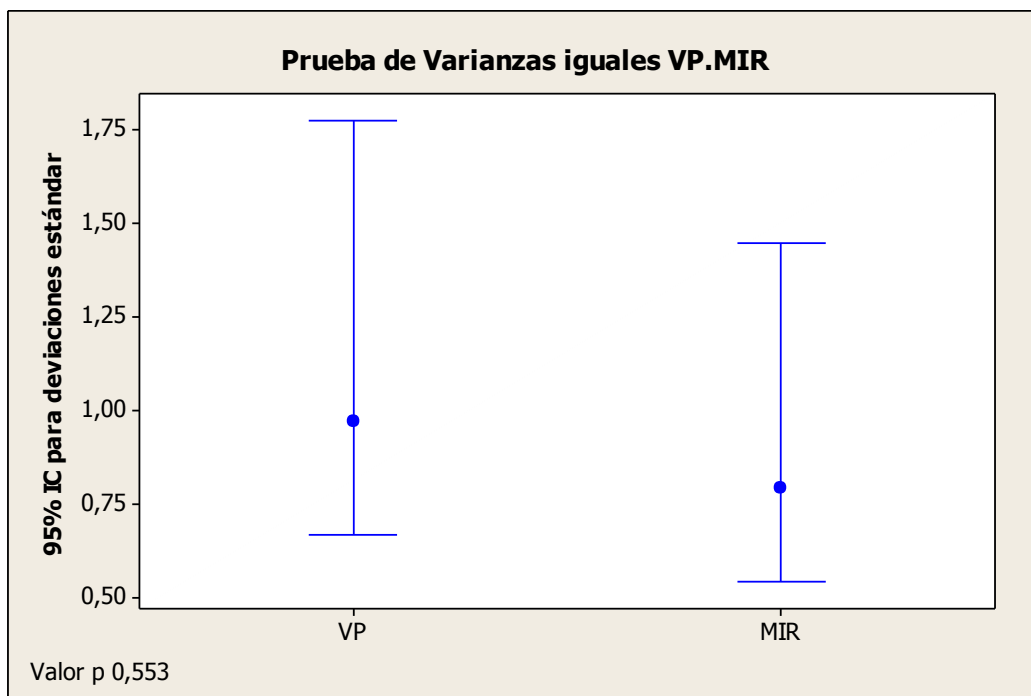


Ilustración 26. Grafica de la prueba para evaluación de homogeneidad de varianzas entre la valoración potenciométrica y el modelo 2 para el porcentaje DMAE de cada material polimérico CI Eu. Valor alfa 0,05.

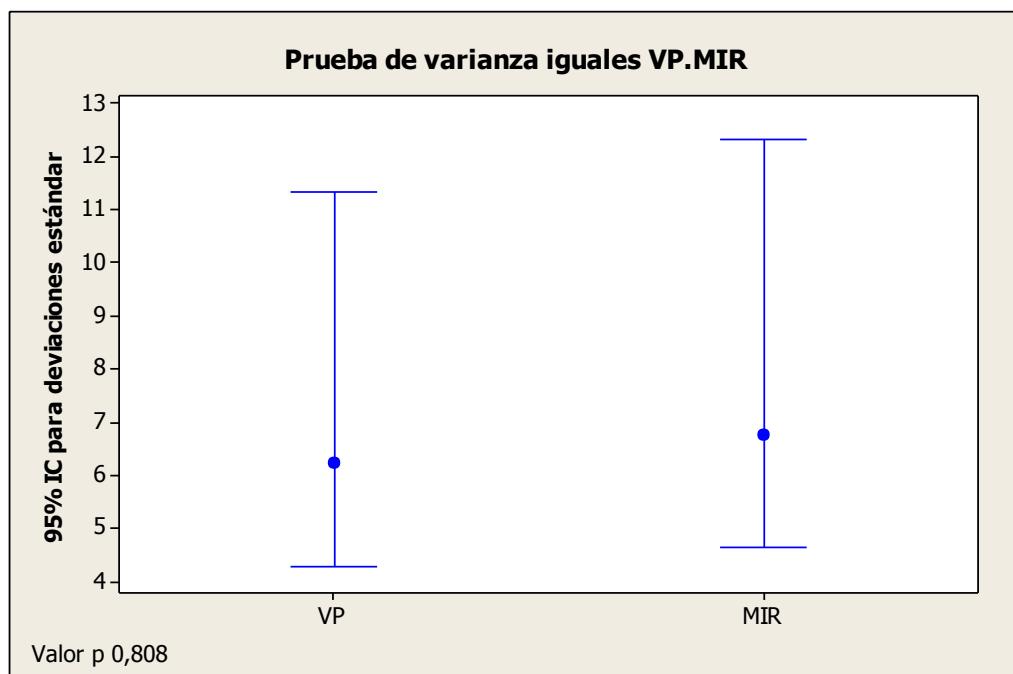


Ilustración 27. Grafica de la prueba para evaluación de homogeneidad de varianzas entre la valoración potenciométrica y el modelo 2, para el porcentaje AMC de cada material polimérico CI Eu. Valor alfa 0,05.

Tabla 8. Resultados de la prueba de igualdad de varianzas para los datos de las diferentes modelos seleccionados. El valor alfa utilizado es de 0,05.

<b>Componente</b>	<b>Modelos comparados</b>	<b>Valor p</b>
<b>% Ionización</b>	VP vs Modelo 1	0,223
	VP vs Modelo 3	0,171
	VP vs Modelo 4	0,673
<b>% Hidrólisis</b>	VP vs Modelo 1	0,808
	VP vs Modelo 3	0,850
	VP vs Modelo 4	0,634

Una vez determinado que se cumplen ambos supuestos, se procedió a realizar la prueba paramétrica de significancia.

#### Prueba t pareada

Al aplicar la prueba t-student pareada (ilustración 28 y 29) para la comparación de los resultados arrojados por los modelos frente a los resultados del método primario, se encontró que no todos los 4 modelos cumplían con la  $H_0$ : la media de los resultados obtenidos del %DMAE y %AMC contenido en las muestras, y evaluados por los modelos predictivos frente al método primario (valoración potenciométrica) es igual a cero. Esto sirvió de criterio para descartar dos de los modelos restantes, pues los resultados presentaron una diferencia significativa entre el método de referencia y los modelos. En las ilustraciones 28 y 29 se muestran las gráficas de caja de diferencias para la comparación del modelo 4 frente al método de referencia, en esta se muestra el valor p mayor al alfa y por lo tanto se aceptó la  $H_0$ .

Los resultados de esta prueba se muestran en la tabla 9, donde se observa que aparte del modelo 4, el modelo 1 es el único que cumple con valores p mayores al alfa para los dos componente modelados %DMAE y %AMC. Esto indica que como alternativas al análisis potenciométrico se tiene: un modelo por infrarrojo cercano y un modelo por infrarrojo medio.

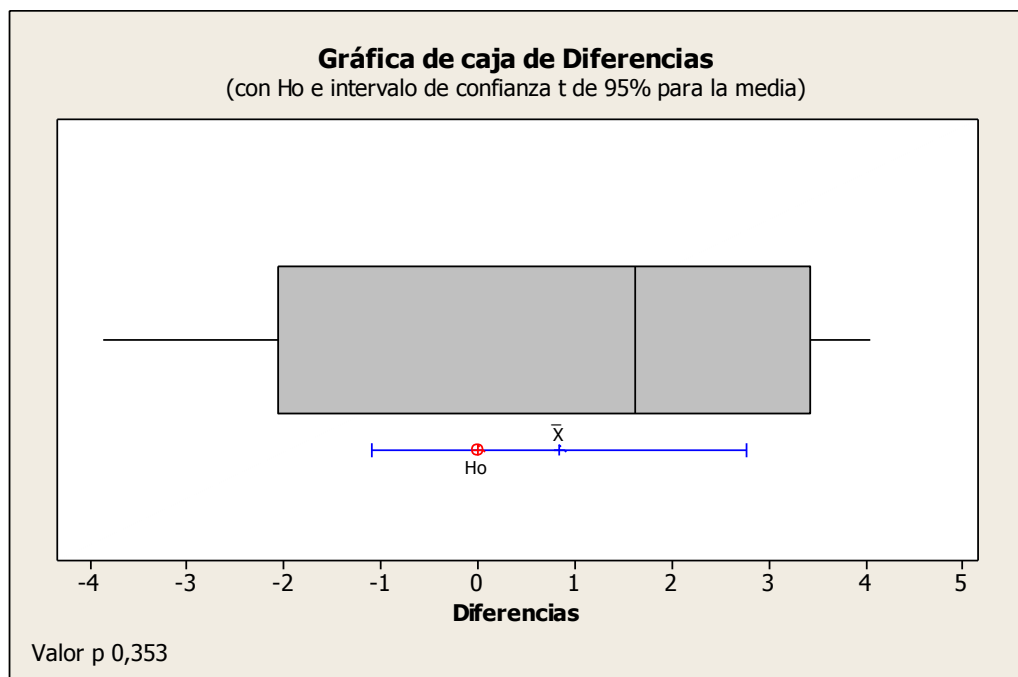


Ilustración 28. Gráfica obtenida de la prueba T-Student, para la comparación de la media de los resultados del % ionización del modelo 4 frente a los valores de referencia de la valoración potenciométrica. Valor alfa 0,05. Minitab ® 16.

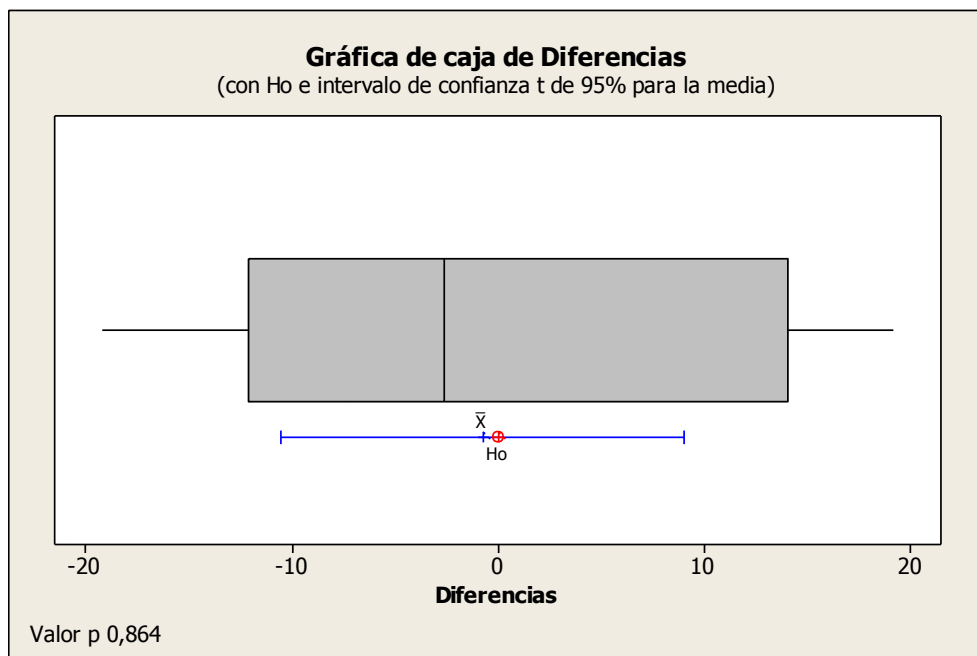


Ilustración 29. Gráfica obtenida de la prueba T-Student, para la comparación de la media de los resultados del % Hidrólisis del modelo 4 frente a los valores de referencia de la valoración potenciométrica. Valor alfa 0,05. Minitab ® 16.

Tabla 9. Resultados de la prueba t pareada para la comparación de la media de los valores primarios respecto a la media de los valores arrojados por los modelos de predicción. El valor alfa utilizado es de 0,05.

<b>Componente</b>	<b>Modelos comparados</b>	<b>Valor p</b>
<b>% Ionización</b>	VP vs Modelo 1	0,064
	VP vs Modelo 2	0,000
	VP vs Modelo 3	0,595
	VP vs Modelo 4	0,353
<b>% Hidrólisis</b>	VP vs Modelo 1	0,115
	VP vs Modelo 2	0,000
	VP vs Modelo 3	0,012
	VP vs Modelo 4	

Ahora se discutirá acerca de las señales o regiones dentro de los espectros que son representativas en los modelos predictivos para el %DMAE y %AMC.

#### Regiones espectrales de modelamiento

El análisis de las señales que correlacionan con los componentes a modelar constituye una parte importante del proyecto, debido a que se establecen regiones dentro de la colección de espectros donde se aplicara la regresión (Bellon-Maurel & McBratney, 2011). Se comenzará por describir las señales encontradas para el modelo 4, llevado a cabo en la región del infrarrojo medio.

Las condiciones en que fue llevado a cabo el desarrollo del modelo 4 fueron: regresión por PLS y colección de espectros de primera derivada en la región MIR, por lo tanto se presenta en la ilustración 30 una expansión de la colección de estos espectros, en donde se resalta en color amarillo las regiones seleccionadas por el software quimiométrico para llevar a cabo el modelamiento.

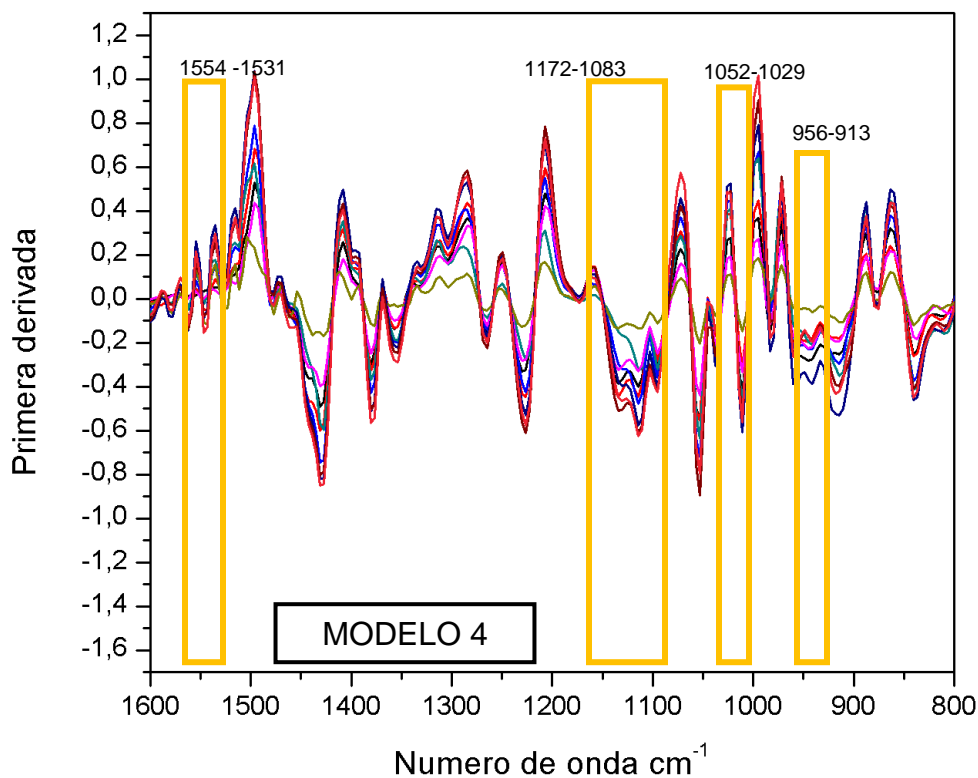


Ilustración 30. Expansión en la zona de interés de la colección de espectros de la primera derivada en el infrarrojo medio.

Como se observa en esta tabla el modelo incluye señales de absorción relacionadas con los dos parámetros que se cuantificaron. Así que las regiones de (956-933  $\text{cm}^{-1}$ ) y (1052-1029) están modelando el %AMC con señales correspondientes a vibraciones de deformación de OH y tensión del enlace C-O-C (Zuluaga, Insuasty, & Yates, 1999), implicadas en el proceso de hidrólisis de los grupos éster de los materiales poliméricos. Mientras que las regiones (1172-1083  $\text{cm}^{-1}$ ) y (1554-1531  $\text{cm}^{-1}$ ) con señales correspondientes a la absorción de estiramientos del enlace C-N (Lin, Yu, & Li, 1999) y deformación del enlace N-H (Zuluaga et al., 1999), que pertenecen a los grupos DMAE de la molécula, implicados en la ionización.

Tabla 10. Regiones importantes que modelan los parámetros %DMAE y %AMC en los materiales poliméricos CI Eu, determinados por espectroscopia de infrarrojo medio.

<b>Regiones (cm-1)</b>	<b>Señales (cm-1)</b>	<b>Característica</b>
956-913	920	Banda de absorción correspondiente a una vibración de deformación fuera del plano OH.
1052-1029	1160-1050	Banda de absorción correspondiente a una vibración de tensión simétrica del enlace C-O-C.
1,172-1083	1250-1020	Banda de absorción correspondiente a una vibración de estiramiento C-N de aminas alifáticas.
1554-1531	1570-1530	Banda de absorción correspondiente a una vibración de deformación del enlace N-H RCONHR.

Ahora se describirán las señales encontradas para el modelo 1. Las condiciones en que fue llevado a cabo el desarrollo de este fueron: regresión por PCR y colección de espectros de primera derivada en la región NIR, por lo tanto se presenta en la ilustración 31 una expansión de la colección de estos espectros, en donde se resalta en color amarillo las regiones seleccionadas por el software quimiométrico para llevar a cabo el modelamiento.

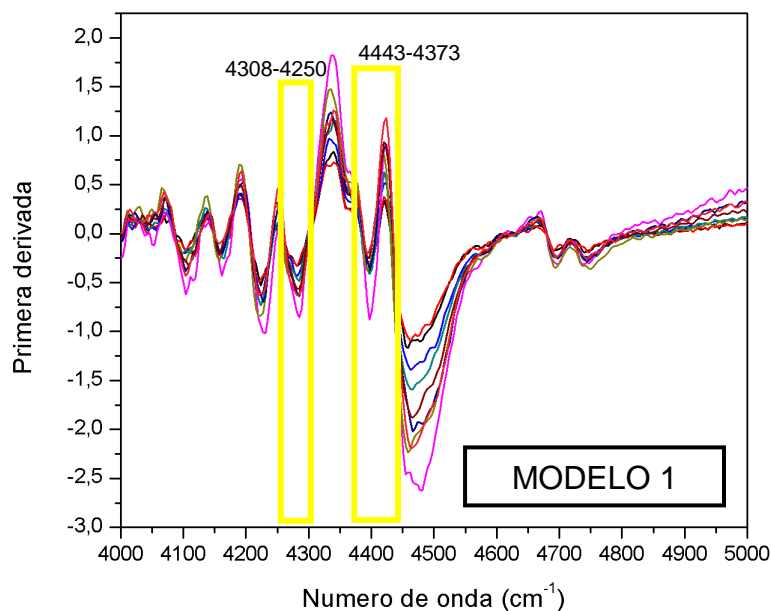


Ilustración 31. Expansión en la zona de interés de la colección de espectros de la primera derivada en el infrarrojo cercano

Como se observa en la tabla 11, no se encontró señales dentro de las regiones que el modelo selecciono, sin embargo se incluyen algunas muy cercanas a estas regiones y que están relacionadas con tan solo uno de los parámetros que se cuantificó. Así que las regiones ( $4308-4250\text{ cm}^{-1}$ ) y ( $4443-4373\text{ cm}^{-1}$ ) están modelando el %AMC con señales debidas a combinaciones de sobretonos, correspondientes al estiramiento del OH y estiramiento del CO ( $4310\text{ cm}^{-1}$ ), estiramiento del C-H y a la flexión COH ( $4160\text{ cm}^{-1}$ ), estiramiento del OH y a la flexión CH ( $4340\text{ cm}^{-1}$ ), estiramiento del CH y a la flexión OH-O ( $4460\text{ cm}^{-1}$ ) (Workman & Lois, 2008), implicadas en el proceso de hidrólisis de los grupos éster de los materiales poliméricos. No se encontró ninguna señal que correlacionara el grupo DMAE dentro del modelo, esto explica, tal vez porque el valor p para este componente dentro del modelo fue tan cercano al valor alfa, y aunque la prueba estadística muestra que no hay diferencia significativa, puede que sí haya una diferencia en la práctica (Bower, 2000).

Tabla 11. Regiones importantes que modelan los parámetros %DMAE y %AMC en los materiales poliméricos CI Eu, determinados por espectroscopia de infrarrojo cercano.

Regiones (cm-1)	Señales (cm-1)	Característica
4308-4250	4310	Banda de combinación debido al estiramiento del OH y estiramiento del CO.
	4160	Banda de combinación debido al estiramiento del C-H y a la flexión COH.
4443-4373	4340	Banda de combinación debido al estiramiento del OH y a la flexión CH.
	4460	Banda de combinación debido al estiramiento del CH y a la flexión OH-O.

#### Otras consideraciones

Ahora, después de analizar los resultados estadísticos y encontrar que no existe diferencia estadística significativa entre el modelo 1 y 4 frente al método de referencia, se analizarán ventajas y desventajas de la cuantificación por ambos modelos para escoger el más ajustado para la determinación conjunta del %DMAE y el %AMC. Para esto se tendrá en cuenta: los tiempos de los análisis, el costo de la toma de los espectros y características propias de ambas técnicas.

Para comenzar, se tiene una diferencia importante en cuanto al tipo de información que brinda cada técnica, es decir en infrarrojo medio se pueden observar bandas de absorción debido a las frecuencias de vibraciones moleculares fundamentales, mientras que en el infrarrojo cercano se tiene información acerca de combinación y sobretonos de las frecuencias de estas mismas vibraciones (de Oliveira, de Castilhos, Renard, & Bureau, 2014), esto confiere ciertas ventajas del NIR frente al MIR como: reducción en la variabilidad de la matriz debido a que la luz puede penetrar más en la materia y favorecer la lectura en muestras sin ningún tipo de tratamiento, se puede tener información sobre la estructura física y la presencia de agua en las muestras, debido a que esta técnica es más sensible a factores que influyen en la difusión de la luz (de Oliveira et al., 2014), los tiempos de análisis son más cortos. En el caso de este proyecto se tomó un tiempo de 3 horas para la toma de los espectros en NIR incluyendo el tiempo de preparación del instrumento, mientras que para el MIR tomó un tiempo aproximadamente del doble, debido a que se tuvo que preparar

pastillas y pesar las muestras en proporciones de 1:10 con KBr, sin embargo este punto puede mejorar en el momento que se cuente con un accesorio como el ATR, pues no se necesitaría preparación de muestra ni pastilla.

Sin embargo, existe una característica fundamental del MIR que permite escogerlo como el mejor modelo predictivo para cuantificar simultáneamente ambos componentes, y es que esta técnica provee una mejor separación de las bandas, utiliza la región de la huella dactilar de las moléculas para cuantificar y es altamente sensible a la composición química de las muestras (Schönbichler et al., 2013), esto hace que sea un modelo más específico, y provea mejores resultados predictivos como se observó con los resultados de la validación cruzada y la evaluación estadística. Como ventaja desde el punto de vista económico, los análisis de muestras por medio de espectroscopia de infrarrojo medio son menos costosos en comparación con el NIR y desde el punto de vista comercial, es mucho más común encontrar en la mayoría de laboratorios colombianos instrumentos para infrarrojo medio que para infrarrojo cercano.

Análisis de agrupación por componentes.

Para terminar y con la idea de que los espectros del NIR pueden ofrecer información acerca de la estructura física de las muestras, se mostrará los resultados de un análisis de puntaje de componentes principales obtenido por medio del software quimiométrico del instrumento FT-IR 6500 de marca Nicolet™- Thermoscientific.

Este es el primer paso para realizar un análisis discriminante, y constituye un método estadístico que sirve para dividir un grupo de datos en una serie de clases de manera que datos similares se encuentren dentro de la misma clase (Miller & Miller, 2002), esto se logra asignando unos puntajes a cada uno de los componentes determinados por APC y agrupándolos de acuerdo a estos. En este caso este análisis se realizó con la información espectral de la región NIR debido a lo expuesto en el párrafo anterior.

En la ilustración 32 se muestra una gráfica en 3D donde se utilizó los espectros NIR de los 10 materiales poliméricos obtenidos y se ensayó dos clases: una, de los materiales de 0 a 50% de ionización (color rojo) y otra que va de 60 a 100% de ionización (color azul), se observa que efectivamente existen diferencias porque los estándares se agruparon dentro de estas clases, si tales diferencias no existieran los materiales se hubiesen agrupado en una sola de las clases.

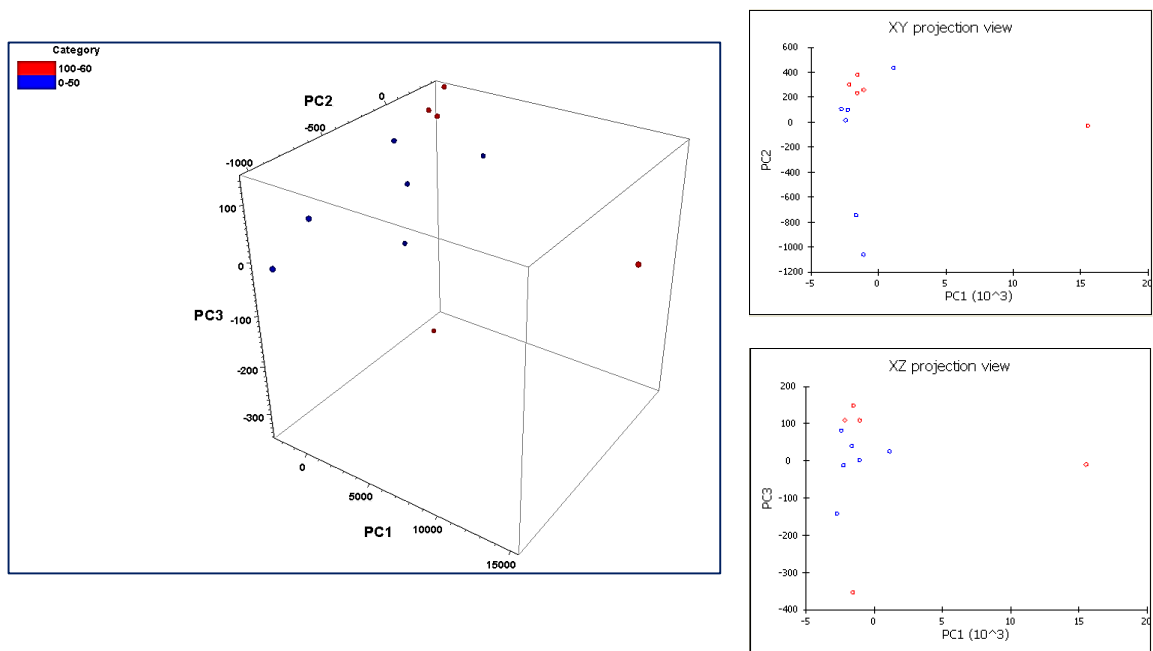


Ilustración 32. Gráfica de puntaje de componentes principales en 3D (izquierda), y representación en el plano 2D de la agrupación de las categorías (derecha)

Por lo tanto, este análisis puede complementar la hipótesis sobre el cambio en la estructura física de los materiales y el comportamiento del %DMAE y %AMC frente a la ionización esperada (ilustración 16), y también, esto podría explicar porque los parámetros SEC y RPD no coinciden con lo esperado, pues si se realizaran modelos con cada una de las categorías arrojadas por este análisis, es decir un modelos para ambas variable dese 0-50% de ionización y 60-100% se encontraría más correlación entre las variables y los espectros NIR, se mejoraría la precisión y por ende el modelo sería mucho más robusto.

Con estos resultados se puede realizar un estudio mucho más amplio acerca del comportamiento de la estructura física de estos materiales poliméricos de acuerdo al cambio con la cantidad de ácido que se utilice para su modificación.

## CONCLUSIONES

- Se demostró que es posible mediante espectroscopia infrarrojo y con ayuda del análisis multivariante generar curvas de calibración para cuantificar Eudragit E 100 en términos de porcentaje de ionización e hidrólisis simultáneamente.
- Se encontró que no existe diferencia significativa entre los valores arrojados por el modelo 1 (NIR) y 4 (MIR) frente a los valores del método primario, aunque los modelos son poco robustos. La elección del modelo a usar queda a pertinencia del investigador.
- Se identificó una tendencia no lineal del comportamiento del porcentaje de grupos funcionales DMAE y AMC frente a la ionización esperada, en comparación con trabajos anteriores donde se observó una tendencia lineal.

## RECOMENDACIONES

- Se recomienda robustecer el método encontrado utilizando más estándares tanto para calibración como para validación e incluir variables como temperaturas de transición vítrea y capacidades caloríficas.
- Se recomienda realizar una comparación por medio de la técnica de ATR e infrarrojo medio por pastilla, con el fin de obtener los mismos o mejores resultados en un tiempo más corto.
- A raíz de los resultados encontrados respecto al cambio de la estructura física de las sales poliméricas, se recomienda ampliar un estudio acerca del cambio en la morfología, propiedades reológicas de estos materiales y la influencia del efecto del proceso de purificación.

## REFERENCIAS.

- <541> *Titulación Potenciometrica*. (2014). Rockville: States Pharmacopeia Convention.
- Agredo, P., & Florez, A. M. (2013). Diseño y formulacion de Potenciales Formas Farmacéuticas de Antibióticos Beta-Lactámicos *Tesis de Grado*. Santiago de Cali.
- Analytical, C. s. l. E. s. f.-s. p., font-family:, "Arial", s.-s., mso-fareast-font-family:Calibri, mso-fareast-theme-font:minor-latin, mso-ansi-language:ES, . . . mso-bidi-language:AR-SA">©. (2013). Espectroscopia de Infrarrojo Cercano. Retrieved from <http://www.celignis.com/NIR.php>
- Bajpai, A. K., Shukla, S. K., Bhanu, S., & Kankane, S. (2008). Responsive polymers in controlled drug delivery. *Progress in Polymer Science*, 33(11), 1088-1118. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2008.07.005>
- Bellon-Maurel, V., & McBratney, A. (2011). Near-infrared (NIR) and mid-infrared (MIR) spectroscopic techniques for assessing the amount of carbon stock in soils – Critical review and research perspectives. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(7), 1398-1410. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.02.019>
- Bower, K. (2000). The Paired T-Test Using MINITAB. Retrieved from [http://www.minitab.com/uploadedFiles/Content/News/Published\\_Articles/paired\\_t\\_test.pdf](http://www.minitab.com/uploadedFiles/Content/News/Published_Articles/paired_t_test.pdf)
- Bruice, P. Y. (2008). *Química Organica* (pp. 1232). Ciudad de Mexico: Pearson Education.
- Burns, D. A., & Ciurczak, E. W. (2007). *Handbook of near-infrared analysis*: CRC press.
- Burns, D. A., & Ciurczak, E. W. (2008). *Handbook of Near-Infrared Analysis*. New York: CRC Press Taylor & Francis Group.
- Castorena, A. (2006). Trazabilidad en las mediciones químicas (pp. 1-20): Centro Nacional de Metrología CENAM.
- Chavez, P.-F., Sacré, P.-Y., De Bleye, C., Netchacovitch, L., Mantanus, J., Motte, H., . . . Ziemons, E. (2015). Active content determination of pharmaceutical tablets using near infrared spectroscopy as Process Analytical Technology tool. *Talanta*, 144, 1352-1359. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2015.08.018>
- Ciferri, A., Perico, A., & Ebooks Corporation. (2012). *Ionic interactions in natural and synthetic macromolecules* (pp. 1 online resource (1 v.)).
- Dardenne, P., & Baeten, V. (2002). Espectroscopía: desarrollo en instrumentación y análisis. *Grasas y aceites*, 53(1), 45-63.
- de Oliveira, G. A., de Castilhos, F., Renard, C. M.-G. C., & Bureau, S. (2014). Comparison of NIR and MIR spectroscopic methods for determination of individual sugars, organic acids and carotenoids in passion fruit. *Food Research International*, 60, 154-162. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.10.051>
- Eudragit E100, Eudragit E PO and Eudragit E 12,5 Technical Information Spefication and Technical Methods*. (2012). k Röhm GmbH, Darmstadt, Germany
- Eudragit Productos y servicios. (2015, 04 27). Retrieved from <http://eudragit.evonik.com/product/eudragit/en/products-services/.aspx>
- EVONIK (Producer). (2015). EUDRAGIT E-100. Retrieved from <http://eudragit.evonik.com/product/eudragit/en/products-services/eudragit-products/protective-formulations/e-100/Pages/default.aspx>
- EVONIK. (May 2014). *Technical Information EUDRAGIT® E 100, EUDRAGIT® E PO and EUDRAGIT® E 12,5*. Retrieved from
- Fernández, C. M. (2011). *Quimiometría*: Publicacions de la Universitat de València.
- GIDOLQUIM, G. (2015). El proceso de la liofilización. Retrieved from <http://www.ub.edu/talq/es/node/261>
- Goddard, E. D., & Ananthapadmanbhan, K. P. (1993). Interactions of Surfactants with Polymers and Proteins. *CRC Press*.

- Holmes, P. F., Bohrer, M., & Kohn, J. (2008). Exploration of polymethacrylate structure–property correlations: Advances towards combinatorial and high-throughput methods for biomaterials discovery. *Progress in Polymer Science*, 33(8), 787-796. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2008.05.002>
- Infantino, A., Aureli, G., Costa, C., Taiti, C., Antonucci, F., Menesatti, P., . . . Mancuso, S. (2015). Potential application of PTR-TOFMS for the detection of deoxynivalenol (DON) in durum wheat. *Food Control*, 57, 96-104. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.03.047>
- Lin, S.-Y., Yu, H.-L., & Li, M.-J. (1999). Formation of Six-Membered Cyclic Anhydride by Thermally Induced Intramolecular Ester Condensation in Eudragit E Film. *Polymer Communication*, 3589-3593.
- Martin, A. N., Sinko, P. J., & Singh, Y. (2011). *Martin's physical pharmacy and pharmaceutical sciences : physical chemical and biopharmaceutical principles in the pharmaceutical sciences* (6. ed.). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Miller, J. N., & Miller, J. C. (2002). *Estadística y quimiometría para química analítica*: Pearson Educación.
- Qiu, Y. (2009). Chapter 20 - Rational Design of Oral Modified-Release Drug Delivery Systems. In Y. Q. C. G. Z. Z. L. R. Porter (Ed.), *Developing Solid Oral Dosage Forms* (pp. 469-499). San Diego: Academic Press.
- Qiu, Y., & Zhou, D. (2011). Understanding Design and Development of Modified Release Solid Oral Dosage Forms. *Journal of Validation Technology*, 23-32.
- Rooney, J. S., McDowell, A., Strachan, C. J., & Gordon, K. C. (2015). Evaluation of vibrational spectroscopic methods to identify and quantify multiple adulterants in herbal medicines. *Talanta*, 138, 77-85. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2015.02.016>
- Salamanca, C. H. (2007). *Estudio de propiedades fisicoquímicas de polieletrólitos aniónicos en solución como potenciales reservorios de sustratos farmacológicos*. Retrieved from Santiago de Chile:
- Schönbichler, S. A., Bittner, L. K. H., Pallua, J. D., Popp, M., Abel, G., Bonn, G. K., & Huck, C. W. (2013). Simultaneous quantification of verbenalin and verbascoside in *Verbena officinalis* by ATR-IR and NIR spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 84, 97-102. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2013.04.038>
- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2008). *Principios de Análisis Instrumental*. Ciudad de Mexico: CENGAGE learning.
- Skoog, D. A., West, D. M., & Holler, F. J. (1997). *Fundamentos de química analítica*: Reverté.
- Sáez, V., Hernández, E., Sanz, L. A., & Katime, I. (2004). Liberación controlada de fármacos. Micropartículas. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 5(2).
- Universidad Nacional de Colombia, U. (2001). Derivación De Espectros O Espectroscopía De Derivadas. Retrieved from [http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/ciencias/2001184/lecciones/Cap14/04\\_01\\_01.htm](http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/ciencias/2001184/lecciones/Cap14/04_01_01.htm)
- Villada Morales, J. D. (2015). Obtención y caracterización estructural por FTIR de los materiales ionoméricos clorhidrato, acetato y formiato de Eudragit E-100 con diferentes grados de ionización. *Tesis de Grado*. Santiago de Cali.
- Workman, J., & Lois, W. (2008). *Practical Guide to Interpretive Near-Infrared Spectroscopy*. New York: CRC Press.
- Yarce, C. J., & Rojas, G. (2012). Near infrared spectroscopy for the analysis of macro and micro nutrients in sugarcane leaves. *Zuckerindustrie-Sugar Industry*, 137(11), 707.
- York, C. P. S. a. t. U. o. (2015). Polymers: an overview. Retrieved from <http://www.essentialchemicalindustry.org/polymers/polymers-an-overview.html>
- Yoshida, T. (2001). Synthesis of polysaccharides having specific biological activities. *Progress in Polymer Science*, 26(3), 379-441. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0079-6700\(00\)00045-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0079-6700(00)00045-9)
- Young, R. J., & Lovell, P. A. (2011). *Introduction to Polymers, Third Edition*: Taylor & Francis.
- Zuluaga, F., Insuasty, B., & Yates, B. (1999). *Análisis Orgánico Clásico y Espectral* (Universidad del Valle, Facultad de ciencias Naturales y Exactas ed.).