

Desenvolupament i validació
d'un nou mètode
espectromètric d'infrarroig per
transformada de Fourier per a
la quantificació d'urea en
cremes i unguents

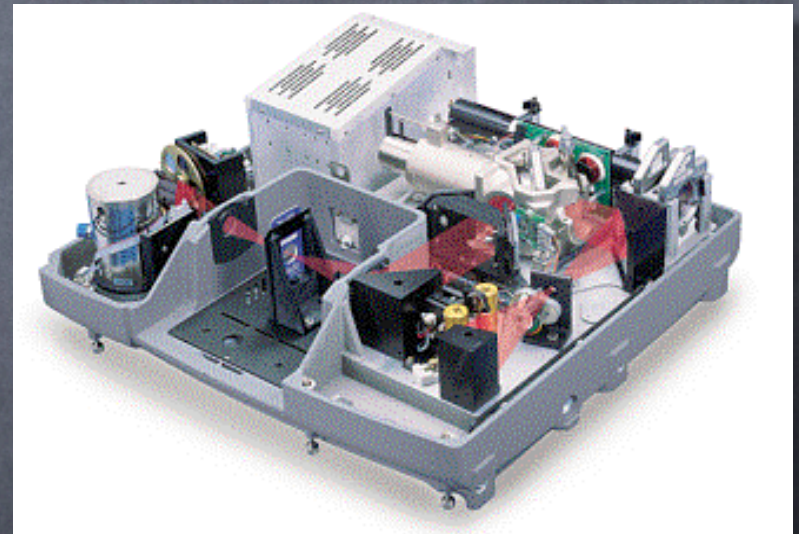
Mètodes

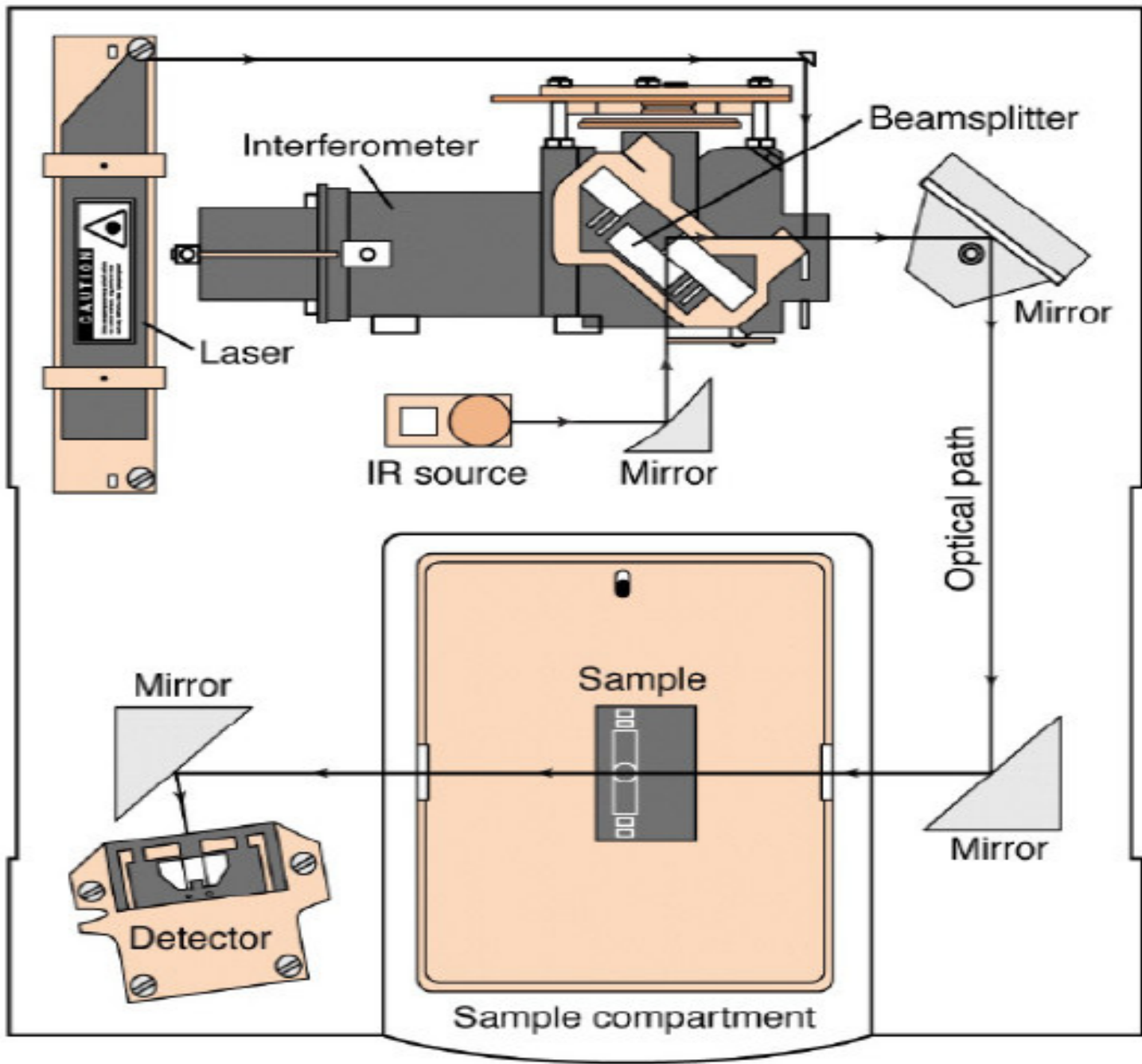
- Biosensors
- Colorimetria
- Cromatografia
- Electroquímica
- Espectrometria d'infrarroig i NIR
- FTIR

FTIR

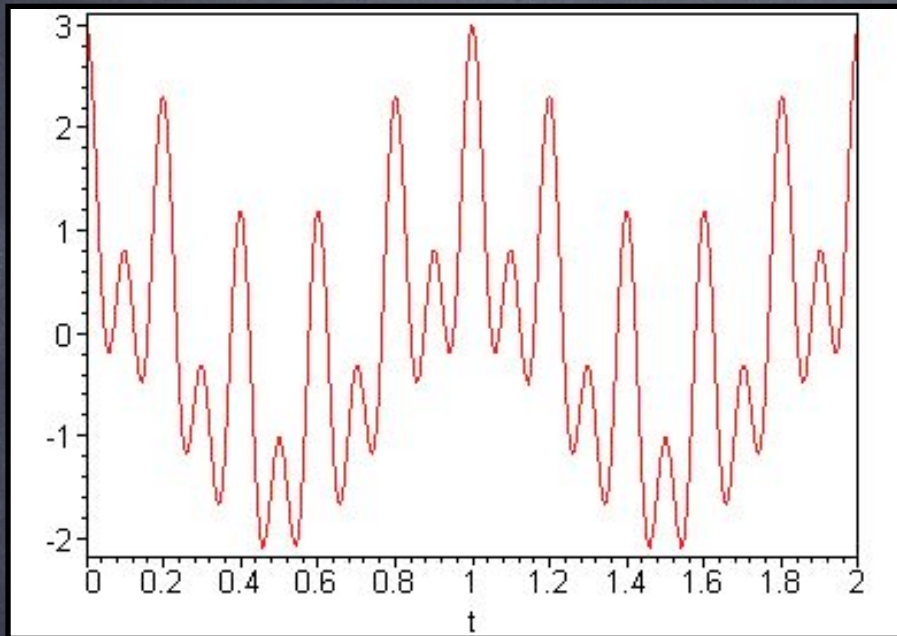
- Les mostres contenen tant urea aquosa com greixosa.
- Ens basarem en absorbància a la freqüència del carbonil (de la urea) en dissolució.
- Farem servir una gràfica de calibració per a la quantificació.

Aparell de FT-IR

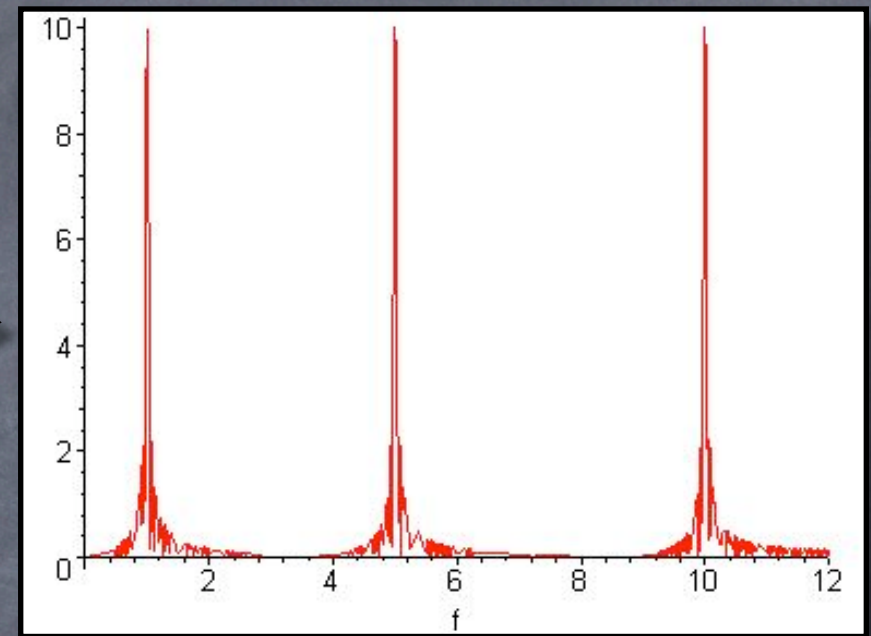
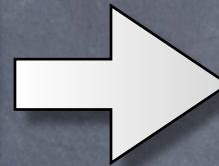




Transformada de Fourier



Interferograma



Espectre

$$V_T(\omega) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\frac{T}{2}}^{\frac{T}{2}} V(\omega) e^{-i\omega t} dt$$

Transforma del domini de temps de l'interferograma en longitud d'ona de l'espectre mitjançant una funció que combina sinus i cosinus.

Avantatges

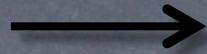
- Rapidesa
- Millor S/N
- Millor calibració de λ

Desavantatges

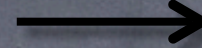
- Càlcul computacional elevat

Procediment

Pesem 20 ± 1 mg de crema o pomada que continga urea



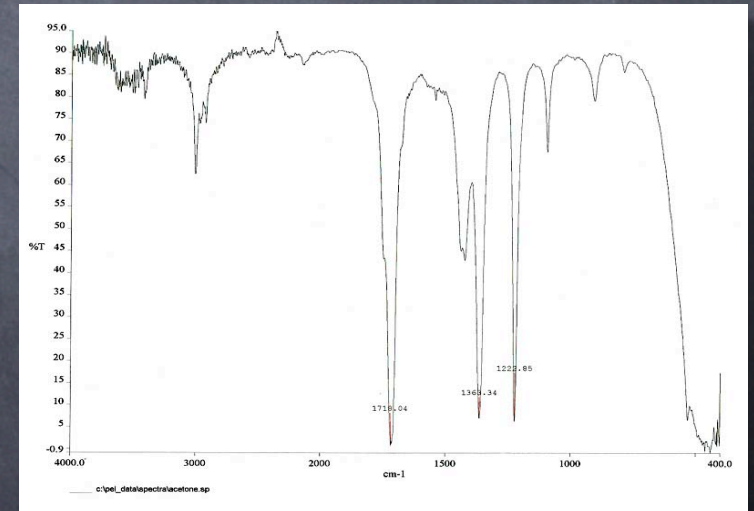
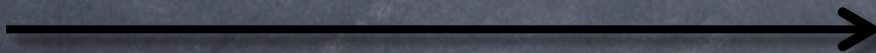
Clorform/
acetonitril
(4ml/4ml)



MOSTRA

Posar dins les cubetes i registrar l'espectre amb espectrofotòmetre FTIR

MOSTRA



Espectre mostra

Dissolució de
Cloroform/Acetonitril

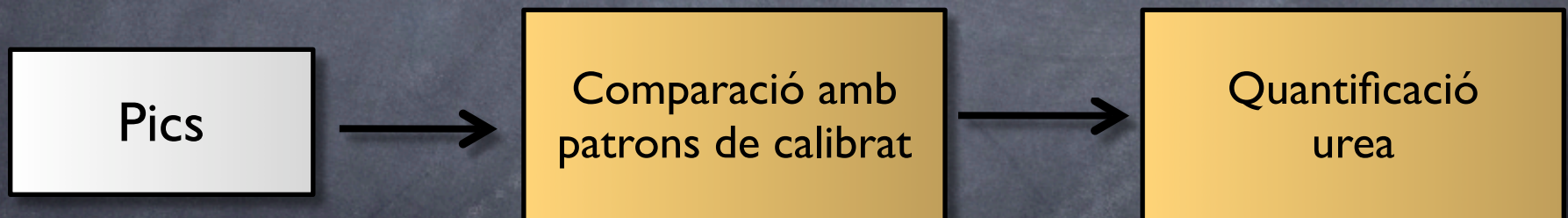
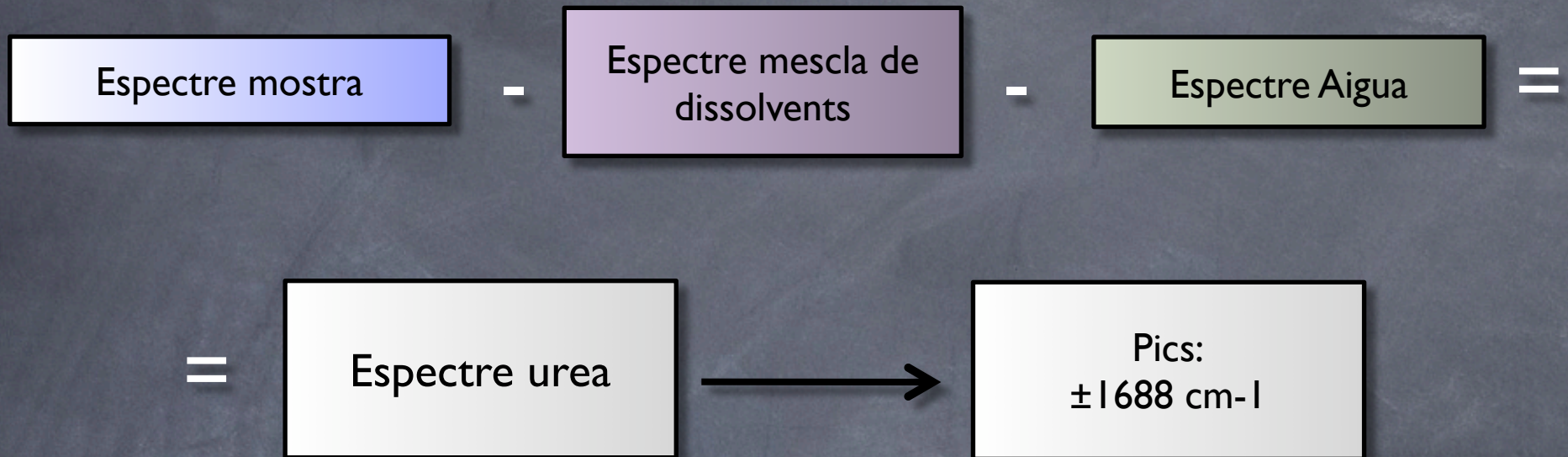
Enregistrar el
espectre FTIR

Espectre mescla de
dissolvents

Aigua (blanc)

Enregistrar el
espectre FTIR

Espectre aigua



La mescla del dissolvent té

LD = 0,0006 cm-1

LQ = 0,0020 cm-1

Table 1

Composition of the standards for calibration for urea with and without cream or ointment

Tube ^a	CHCl ₃ (ml)	CH ₃ CN (ml)	Urea (1 mg ml ⁻¹) (ml)	Urea (mg ml ⁻¹)	Concentration in preparation (%)
1	4.0	3.0	1.0	0.1250	5
2	4.0	2.5	1.5	0.1875	7.5
3	4.0	2.0	2.0	0.2500	10
4	4.0	1.5	2.5	0.3125	12.5
5	4.0	1.0	3.0	0.3750	15

^a The tubes are empty or contain 20 mg of cream or ointment; urea CH₃CN Solution (1 mg ml⁻¹).

Table 2

Linearity between urea concentration (mg ml⁻¹) and absorbance at 1688 cm⁻¹

Parameter	Cream	Ointment
Intercept	0.000027	0.00062
Slope	0.66085	0.66192
Correlation coefficient (<i>r</i> ²)	0.9996	0.9994
Cochran test—homoscedasticity (g)	0.415	0.4390
Reference value (0.95; 5, 2)	0.684	0.684
Significative scope test	32814	20915
Reference value (0.95; 1, 13)	4.67	4.67
Intercept test	0.03	0.51
Reference value	2.16	2.16
Validity test for the calibration linearity	0.52	0.10
Reference value	3.71	3.71

Instrumental

- Espectròmetre
- Finestres NaCl
- Bomba de buit
- Membrana de poli(vinilideno difluorido)



Reactius

- Cloroform
- Acetonitril
- 2-metil-2-buté

Dissolvent alternatiu:

2,2,2-trifluoroetanol / cloroform (2/1) (v/v)

Desavantatges

- No permet cubetes de NaCl (ZnSe).
- Major soroll de fons.
- Menor energia tramesa.

- Menor rang de longitud d'ona

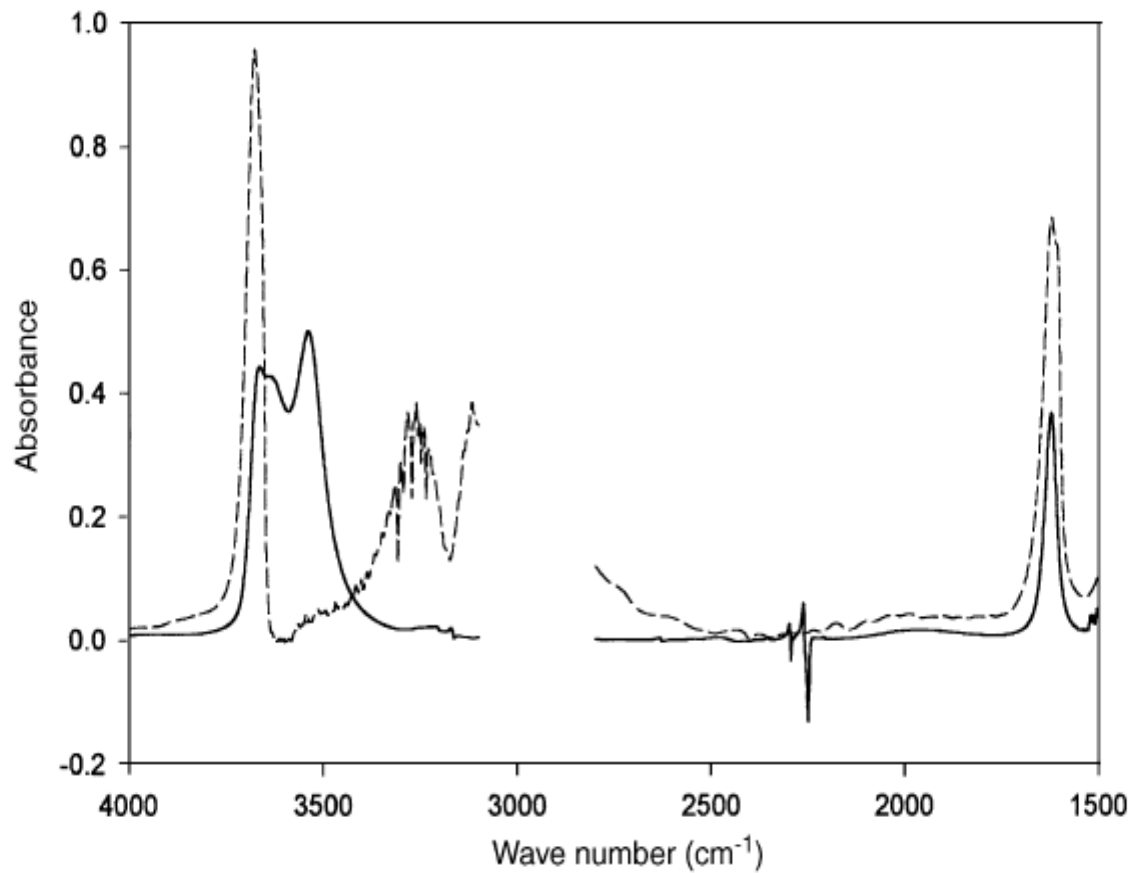


Fig. 1. Spectrum of water in cream and ointment in 2,2,2-trifluoroethanol/chloroform (- - -) and in chloroform/acetonitrile (—).

- Apareix un tercer pic en l'espectre
- Menor nitidesa i separació entre pics

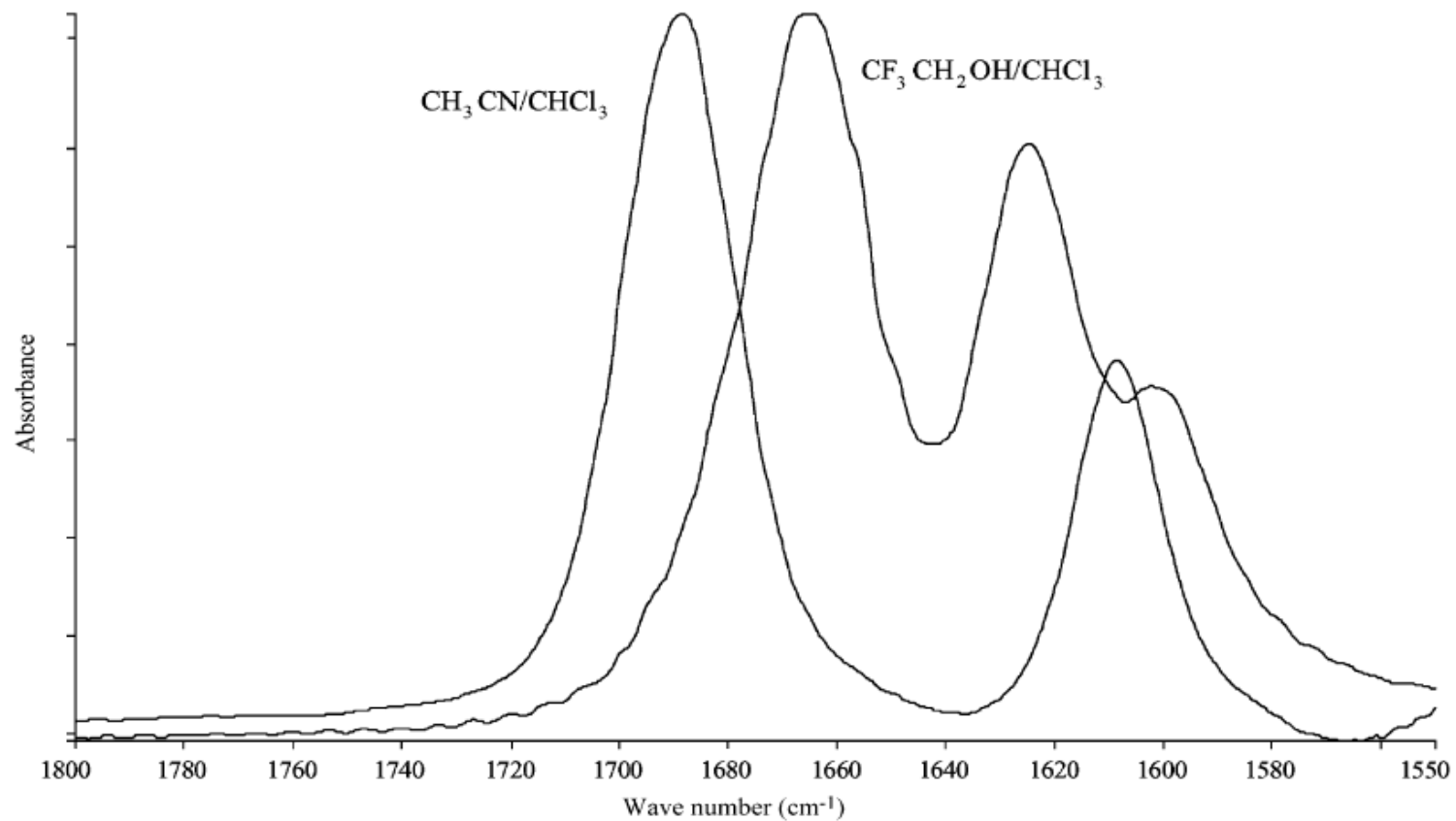
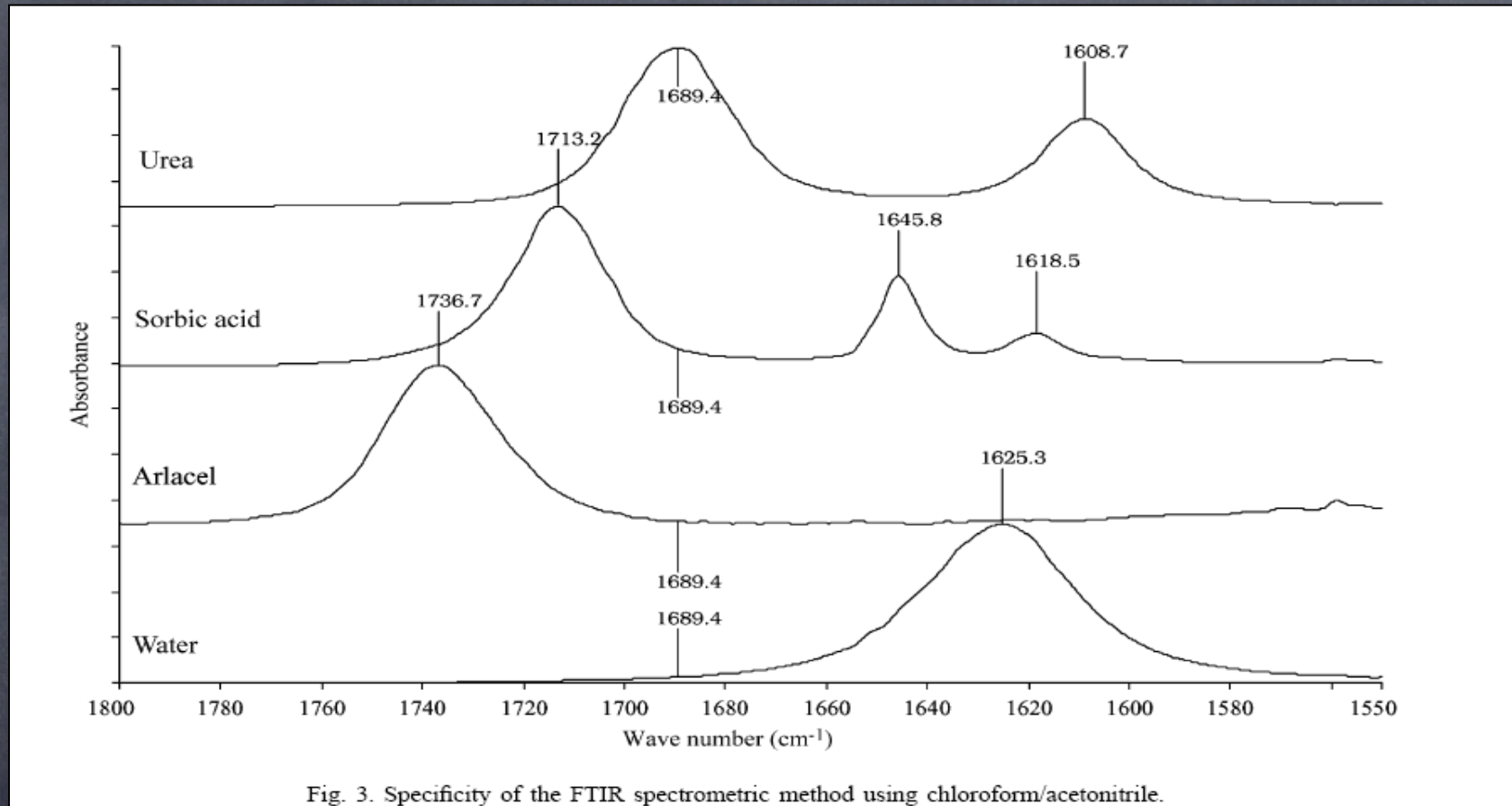


Fig. 2. Spectra of urea in the mixtures of solvents.

Menor separació entre el pic de l'urea i de l'aigua.



Mitjançant les interferències de la crema aquest mètode valida l'exactitud.

Fidelitat del mètode

Els LD i LQ obtinguts mitjançant aquest mètode foren:

$$LD = 0,4 \mu\text{g/ml}$$

$$LQ = 1,3 \mu\text{g/ml}$$

Table 3
Fidelity of the method

	Urea concentration (mg ml ⁻¹)	Coefficient of variation (%)	
		Cream	Vaseline
Repeatability (<i>n</i> = 6)	0.125	0.73	0.49
	0.250	0.26	0.12
	0.375	0.17	0.31
Reproducibility (<i>n</i> = 18)	0.125	3.03	0.79
	0.250	1.01	1.77
	0.375	1.10	1.50

Table 4
Accuracy of recovery (%)

Concentration (mg ml ⁻¹)	Cream		Vaseline	
	From	To	From	To
0.125	97.99	102.42	99.82	100.84
0.250	99.62	101.10	98.45	101.07
0.375	99.09	100.71	98.93	101.14

Table 5

Results of quantification of urea in cream and ointment ($n = 2$)^a

	Batch	Storage temperature (°C)	T_0 day (%)	T_{15} days (%)	T_{30} days (%)	T_{60} days (%)
Cream	A	4	10.57 ± 0.09	10.80 ± 0.12	10.61 ± 0.15	10.94 ± 0.26
	B	4	10.38 ± 0.16	10.91 ± 0.33	10.49 ± 0.18	10.82 ± 0.01
Cream	A	25	10.57 ± 0.09	10.91 ± 0.20	10.28 ± 0.06	10.61 ± 0.09
	B	25	10.38 ± 0.16	10.64 ± 0.05	10.38 ± 0.20	10.52 ± 0.09
Vaseline	A	4	10.35 ± 0.07	10.42 ± 0.01	10.31 ± 0.02	10.72 ± 0.41
	B	4	10.27 ± 0.17	10.35 ± 0.05	10.66 ± 0.25	10.61 ± 0.27
Vaseline	A	25	10.35 ± 0.07	10.44 ± 0.01	10.51 ± 0.04	10.44 ± 0.025
	B	25	10.27 ± 0.17	10.50 ± 0.11	10.24 ± 0.26	10.45 ± 0.30

^a The mean at 4 and 25 °C: cream A, 10.67 ± 0.21; cream B, 10.59 ± 0.19; vaseline A, 10.46 ± 0.13; vaseline B, 10.44 ± 0.15.

- El millor avantatge d'aquest mètode és el curt període de temps utilitzat per a la realització de la pràctica.
- Altre factor positiu és la bona reproduïbilitat i els baixos valors de LD i LQ.

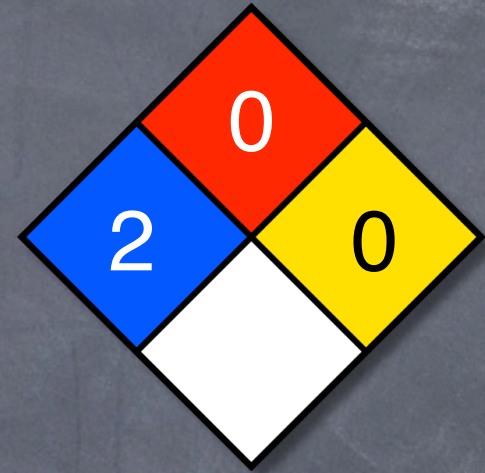
Reactius i perillositat

Urea



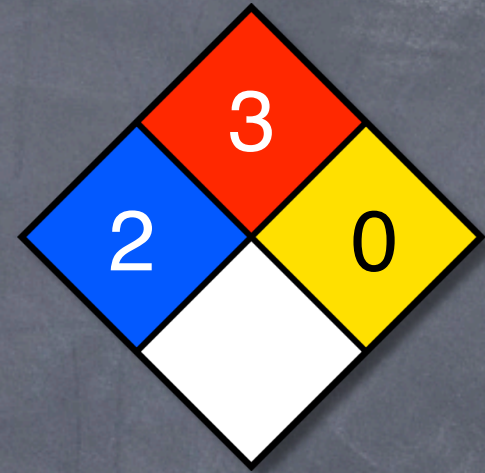
- Danys després d'una exposició continuada
- Inflamable a altes temperatures
- Tractament normal

Cloroform



- Perillós en cas d'ingestió o inhalació
- Perillós en contacte prolongat
- Guardar i utilitzar en llocs segurs

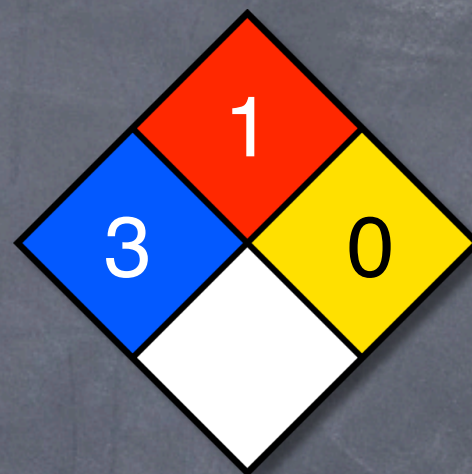
Acetonitril



- Inflamable a temperatura ambient
- Intoxicació per cianur
- Tindre a mà antidots contra el cianur
- Guardar en lloc segur

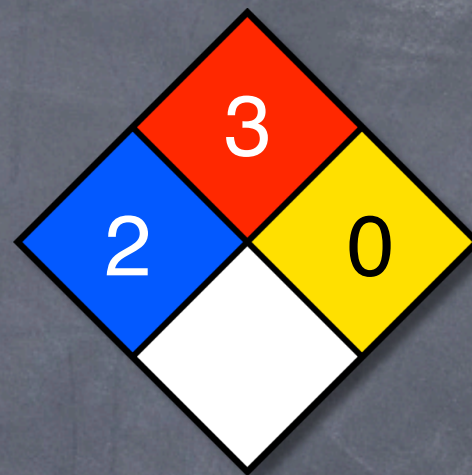
2-Metil-2-Buté

- Curta exposició pot causar danys temporals
- Guardar i utilitzar en llocs segurs



2,2,2-Trifluoroetanol

- Igual de perillós que acetonitril



Caracterització mediambiental del procediment

- Cap dels productes és perjudicial per al medi ambient
- Els productes de degradació no son tòxics

