

Universidad de Costa Rica
Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería Química

Determinación de las condiciones operacionales para la estabilización de etinilestradiol proveniente de residuos de la industria farmacéutica mediante el uso de la tecnología Foto-Fenton.

Bryan Montes Sánchez

B04077

San Pedro de Montes de Oca, 2017

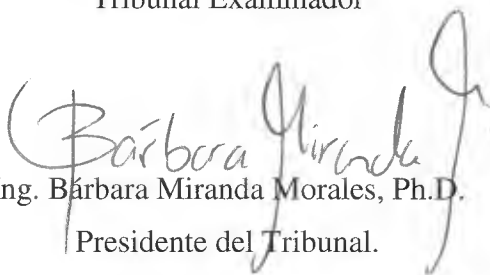
Determinación de las condiciones operacionales para la estabilización de etinilestradiol proveniente de residuos de la industria farmacéutica mediante el uso de la tecnología Foto-Fenton.

Proyecto de graduación sometido a la consideración de la Escuela de Ingeniería Química como requisito final para optar al grado de Licenciatura en Ingeniería Química.

Sustentado por:

Bryan Steven Montes Sánchez

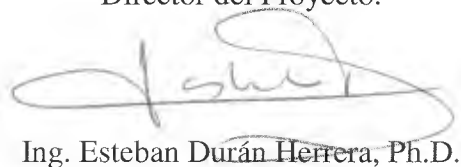
Tribunal Examinador



Ing. Bárbara Miranda Morales, Ph.D.
Presidente del Tribunal.

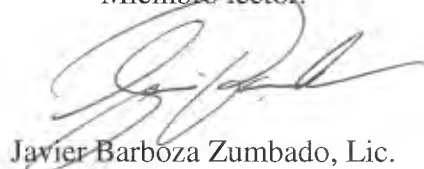
Ing. Bernardo Mora Gómez, M.Sc.

Director del Proyecto.



Ing. Esteban Durán Herrera, Ph.D.

Miembro lector.



Javier Barboza Zumbado, Lic.

Miembro lector.



Renato Murillo Masís, Ph.D.

Miembro invitado

Resumen

En el desarrollo del presente proyecto de graduación se determinaron las condiciones operacionales adecuadas, entre los niveles de las variables estudiados, para llevar a cabo un proceso de estabilización de desechos farmacéuticos que contienen etinilestradiol y levonorgestrel (principios activos de píldoras anticonceptivas) con el uso de la tecnología Foto-Fenton. Esto se llevó a cabo mediante el análisis de un modelo estadístico factorial que evaluó la combinación de diferentes niveles para tres variables consideradas de importancia para este tipo de procesos (pH, concentración de peróxido de hidrógeno y concentración de iones hierro). Dicho estudio se llevó a cabo en los laboratorios de control de calidad de la compañía Gutis Ltda, y a raíz de dicha investigación se obtuvo que las mejores condiciones para estabilizar los principios activos de interés son: pH inicial de las muestras igual a 3, concentración inicial de peróxido de hidrógeno al 30% igual a 4 gotas/100mL de muestra (equivalente a 16 363 $\mu\text{mol/L}$ de peróxido de hidrógeno) y concentración inicial de sulfato de hierro (II) heptahidratado igual a 74,4mg/100mL de muestra (equivalente a 2 675 $\mu\text{mol/L}$ de Fe^{+2}). Tras la evaluación de costos del proceso estudiado se obtiene como valor de referencia para las pruebas de laboratorio estudiadas un valor total de 733 521 ϕ/m^3 de desechos farmacéuticos. Tomando todo esto en cuenta se recomienda llevar a cabo un escalamiento del proceso estudiado, con el fin de evaluar el costo de la aplicación de este a nivel de laboratorio en un tratamiento con capacidad para tratar cargas de desechos acordes con una producción habitual de una industria farmacéutica y así poder evaluar la rentabilidad de este proceso contra otros métodos utilizados en este tipo de industrias para el tratamiento de sus residuos.

Índice

Resumen	i
Introducción.....	1
Capítulo 1 Marco teórico	5
1.1 Entorno legal:	5
1.2 Reglamentación de contaminantes emergentes.	6
1.3 Reglamento de disposición final de medicamentos, materias primas y sus residuos.	8
1.4 Legislación para el manejo, almacenamiento y transporte de residuos de medicamentos.....	8
1.5 Procesos de Oxidación Avanzada.....	9
1.6 Procesos Fenton, Foto-Fenton.	10
1.7 Técnicas de oxidación avanzada estudiadas para degradar principios activos de tipo hormonal como etinilestradiol.....	11
Capítulo 2 Metodología	13
2.1. Planteamiento preliminar de la metodología.	13
2.1.1 Selección de variables y sus niveles de estudio.....	13
2.1.2 Variable respuesta y su método de cuantificación.	17
2.1.3 Definición del plan experimental	17
2.1.4 Caracterización de los desechos farmacéuticos utilizados en el proceso.	21
2.2 Pruebas preliminares y ajustes al plan experimental preliminar.....	23
2.2.1 Ámbito de pH por estudiarse.....	24
2.2.2 Preparación de las muestras y método farmacopéico.....	25
2.2.3 Sistema cromatográfico.....	26
2.3 Metodología final definida para el desarrollo del proyecto.	27
2.3.1 Definición de la metodología para la aplicación de la tecnología Foto-Fenton y para la determinación del nivel de estabilización de los principios activos de interés.....	27
Capítulo 3 Resultados experimentales	33
3.1 Resultados obtenidos de la ejecución del plan experimental.....	33
3.2 Análisis estadístico.	51
3.2.1 Análisis estadístico del ámbito 2 de estudio para el etinilestradiol.	51
3.2.2 Análisis estadístico del ámbito 2 de estudio para el levonorgestrel.	57

3.2.3 Análisis estadístico del ámbito 3 de estudio para el etinilestradiol.	62
3.2.4 Análisis estadístico del ámbito 3 de estudio para el levonorgestrel.....	67
3.3 Condiciones operacionales más favorables para llevar a cabo el proceso de estabilización de los principios activos de interés con el uso de la tecnología Foto-Fenton.....	72
3.3.1 Determinación de las mejores condiciones de operación para el pH inicial de la muestra.....	73
3.3.2 Determinación de las mejores condiciones de operación para la concentración inicial de H ₂ O ₂	73
3.3.3 Determinación de las mejores condiciones de operación para la concentración inicial de Fe ⁺²	74
3.4 Costos de la aplicación del proceso de estabilización por m ³ de residuos farmacéuticos.....	75
Conclusiones y recomendaciones.	79
Conclusiones.....	79
Recomendaciones.	79
Bibliografía.	81
Nomenclatura.	83
Apéndices.....	85
Datos experimentales.....	85
Muestra de cálculo.....	100
Cálculo de la concentración del estándar 1 de etinilestradiol utilizado en la curva de calibración.	100
Cálculo de la concentración de etinilestradiol y levonorgestrel en las muestras utilizando la curva de calibración generada a partir de las mediciones de los estándares.	101
Cálculo para la obtención de las velocidades de estabilización de etinilestradiol para la fase 1 y fase 2.	101
Cálculo de efectos e interacciones del análisis estadístico factorial.	102
Cálculo del intervalo de no significancia para el análisis estadístico.	103
Cálculo de costos de la aplicación del proceso estudiado para el tratamiento de 1m ³ de residuos de la industria farmacéutica del estudio.	103

Índice de cuadros

Cuadro 1.1 Frecuencias mínimas para el muestreo, análisis y presentación de reporte operacional según el flujo de vertido de aguas residuales	5
Cuadro 1.2. Límites máximos permisibles para los parámetros universales de análisis de aguas residuales en alcantarillados sanitarios	6
Cuadro 1.3. Límites máximos permisibles para los parámetros universales de análisis de aguas residuales en cuerpos receptores	6
Cuadro 2.1 Condiciones mínimas y máximas para variables significativas utilizadas en investigaciones consultadas.....	14
Cuadro 2.2 Promedios de las condiciones mínimas y máximas utilizadas en las investigaciones consultadas para la respectiva variable de estudio.	15
Cuadro 2.3 Niveles de las variables de estudio seleccionados para el desarrollo del proyecto.	16
Cuadro 2.4 Ámbitos teóricos determinados para el desarrollo experimental del proyecto.	16
Cuadro 2.5 Ámbitos reales determinados en unidades de masa y volumen por utilizar para un volumen de reacción de 100mL para el desarrollo experimental del proyecto.....	17
Cuadro 2.6 Secuencia experimental para el desarrollo del análisis factorial para el ámbito 1 de estudio.	20
Cuadro 2.7 Secuencia experimental para el desarrollo del análisis factorial para el ámbito 2 de estudio.	20
Cuadro 2.8 Secuencia experimental para el desarrollo del análisis factorial para el ámbito 3 de estudio.	21
Cuadro 2.9. Propiedades fisicoquímicas del etinilestradiol y levonorgestrel	22
Cuadro 2.10 Secuencia experimental para el desarrollo del análisis factorial para el rango 3 de estudio.	31
Cuadro 2.11 Secuencia experimental para el desarrollo del análisis factorial para el rango 2 de estudio.	31
Cuadro 2.12 Secuencia experimental para el desarrollo del análisis factorial para el rango 1 de estudio.	32
Cuadro 3.1. Respuestas obtenidas tras la inyección de estándares de etinilestradiol y levonorgestrel a distintas concentraciones en el HPLC para la elaboración de la curva de calibración.	34
Cuadro 3.5 Concentración de etinilestradiol y levonorgestrel en las muestras del ámbito 2 tras una hora de reacción.....	37
Cuadro 3.6 Concentración de etinilestradiol y levonorgestrel en las muestras del ámbito 3 tras una hora de reacción.....	37
Cuadro 3.7. Velocidades de estabilización de etinilestradiol y levonorgestrel durante la fase 1 de los ámbitos de estudio 2 y 3.	49

Cuadro 3.8 Velocidades de estabilización de etinilestradiol y levonorgestrel durante la fase 2 del ámbito de estudio 2.....	50
Cuadro 3.9 Velocidades de estabilización de etinilestradiol y levonorgestrel durante la fase 2 del ámbito de estudio 3.....	50
Cuadro 3.10 Efectos de variables e interacciones de variables en el ámbito 2 de estudio para el etinilestradiol.....	52
Cuadro 3.11 Varianzas para los resultados obtenidos para cada muestra en el ámbito 2 de estudio para el etinilestradiol.....	53
Cuadro 3.12 Valores experimentales, valores obtenidos del modelo propuesto y valores residuales generados del análisis de residuos para el ámbito 2 de estudio para el etinilestradiol.....	57
Cuadro 3.13 Efectos de variables e interacciones de variables en el ámbito 2 de estudio para el levonorgestrel.....	58
Cuadro 3.14 Varianzas para los resultados obtenidos para cada muestra en el ámbito 2 de estudio para el levonorgestrel.....	59
Cuadro 3.15 Valores experimentales, valores obtenidos del modelo propuesto y valores residuales generados del análisis de residuos para el ámbito 2 de estudio para el levonorgestrel.....	61
Cuadro 3.16 Efectos de variables e interacciones de variables en el ámbito 3 de estudio para el etinilestradiol.....	63
Cuadro 3.17 Varianzas para los resultados obtenidos para cada muestra en el ámbito 3 de estudio para el etinilestradiol.....	64
Cuadro 3.18 Valores experimentales, valores obtenidos del modelo propuesto y valores residuales generados del análisis de residuos para el ámbito 3 de estudio para el etinilestradiol.....	66
Cuadro 3.19 Efectos de variables e interacciones de variables en el ámbito 3 de estudio para el levonorgestrel.....	68
Cuadro 3.20 Varianzas para los resultados obtenidos para cada muestra en el ámbito 3 de estudio para el levonorgestrel.....	69
Cuadro 3.21 Resultados del análisis de la interacción entre las variables 2 y 3 para la determinación de las mejores condiciones para el ámbito 3 de estudio para el levonorgestrel.....	70
Cuadro 3.22 Valores experimentales, valores obtenidos del modelo propuesto y valores residuales generados del análisis de residuos para el ámbito 3 de estudio para el levonorgestrel.....	71
Cuadro 3.22. Costos unitarios para cada factor de relevancia para la aplicación del proceso de estabilización de etinilestradiol mediante la tecnología Foto-Fenton.....	76
Cuadro 3.23. Costos por metro cúbico de desecho farmacéutico de la aplicación del proceso de estabilización de etinilestradiol mediante la tecnología Foto-Fenton.....	76
Cuadro A.1. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 1 del ámbito 2 de estudio.....	85

Cuadro A.2. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 2 del ámbito 2 de estudio.	86
Cuadro A.3. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 3 del ámbito 2 de estudio.	87
Cuadro A.4. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 4 del ámbito 2 de estudio.	88
Cuadro A.5. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 5 del ámbito 2 de estudio.	89
Cuadro A.6. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 6 del ámbito 2 de estudio.	90
Cuadro A.7. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 7 del ámbito 2 de estudio.	91
Cuadro A.8. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 8 del ámbito 2 de estudio.	92
Cuadro A.9. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 1 del ámbito 3 de estudio.	93
Cuadro A.10. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 2 del ámbito 3 de estudio.	94
Cuadro A.11. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 3 del ámbito 3 de estudio.	95
Cuadro A.12. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 4 del ámbito 3 de estudio.	96
Cuadro A.13. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 5 del ámbito 3 de estudio.	97
Cuadro A.14. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 6 del ámbito 3 de estudio.	98
Cuadro A.15. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 7 del ámbito 3 de estudio.	99
Cuadro A.16. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 8 del ámbito 3 de estudio.	100

Índice de Figuras

- Figura 2.1 Estructura química del etinilestradiol. 22
- Figura 2.2 Estructura química del levonorgestrel. 23
- Figura 3.1. Curva de calibración para estándares de etinilestradiol. 35
- Figura 3.2. Curva de calibración para estándares de levonorgestrel. 35
- Figura 3.3. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 1 del ámbito 3 a lo largo de una hora de tratamiento. 38
- Figura 3.4. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 2 del ámbito 3 a lo largo de una hora de tratamiento. 38
- Figura 3.5. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 3 del ámbito 3 a lo largo de una hora de tratamiento. 39
- Figura 3.6. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 4 del ámbito 3 a lo largo de una hora de tratamiento. 39
- Figura 3.7. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 5 del ámbito 3 a lo largo de una hora de tratamiento. 40
- Figura 3.8. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 6 del ámbito 3 a lo largo de una hora de tratamiento. 40
- Figura 3.9. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 7 del ámbito 3 a lo largo de una hora de tratamiento. 41
- Figura 3.10. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 8 del ámbito 3 a lo largo de una hora de tratamiento. 41
- Figura 3.11. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 1 del ámbito 2 a lo largo de una hora de tratamiento. 42
- Figura 3.12. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 2 del ámbito 2 a lo largo de una hora de tratamiento. 42
- Figura 3.13. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 3 del ámbito 2 a lo largo de una hora de tratamiento. 43
- Figura 3.14. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 4 del ámbito 2 a lo largo de una hora de tratamiento. 43
- Figura 3.15. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 5 del ámbito 2 a lo largo de una hora de tratamiento. 44
- Figura 3.16. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 6 del ámbito 2 a lo largo de una hora de tratamiento. 44

Figura 3.17. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 7 del ámbito 2 a lo largo de una hora de tratamiento. 45

Figura 3.18. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 8 del ámbito 2 a lo largo de una hora de tratamiento. 45

Figura 3.19 Fase 1 de estabilización para la muestra 6 del ámbito de estudio 2. 47

Figura 3.20. Fase 2 de estabilización para la muestra 6 del ámbito de estudio 2. 47

Figura 3.21. Fase 1 de estabilización para la muestra 6 del ámbito de estudio 3. 48

Figura 3.22. Fase 2 de estabilización para la muestra 6 del ámbito de estudio 3. 48

Figura 3.23 Distribución de normalidad para los efectos de las variables e interacciones para el ámbito 2 de estudio para el etinilestradiol. 55

Figura 3.24 Distribución de normalidad para el análisis de residuos del ámbito 2 de estudio para el etinilestradiol. 56

Figura 3.25 Indicador de aleatoriedad del análisis de residuos para el ámbito 2 de estudio para el etinilestradiol. 57

Figura 3.26 Distribución de normalidad para el ámbito de estudio 2 para el levonorgestrel. 60

Figura 3.27 Distribución de normalidad para el análisis de residuos del ámbito 2 de estudio para el levonorgestrel. 62

Figura 3.28 Indicador de aleatoriedad del análisis de residuos para el ámbito 2 de estudio para el levonorgestrel. 62

Figura 3.29 Distribución de normalidad para el ámbito de estudio 3 para el etinilestradiol. 65

Figura 3.30 Distribución de normalidad para el análisis de residuos del ámbito 3 de estudio para el etinilestradiol. 66

Figura 3.31 Indicador de aleatoriedad del análisis de residuos para el ámbito 3 de estudio para el etinilestradiol. 67

Figura 3.32 Distribución de normalidad para el ámbito de estudio 3 para el levonorgestrel. 69

Figura 3.33. Distribución de normalidad para el análisis de residuos del ámbito 3 de estudio para el levonorgestrel. 72

Figura 3.34 Indicador de aleatoriedad del análisis de residuos para el ámbito 3 de estudio para el levonorgestrel. 72

Introducción

Los contaminantes emergentes se consideran como compuestos previamente desconocidos o no reconocidos como contaminantes, a pesar de que su presencia en el ambiente no es novedosa. Esto obedece al desarrollo de la tecnología y equipos de medición más sensibles que han logrado evidenciar la presencia de estos compuestos en el ambiente, alertando así sobre sus efectos y generando una reciente preocupación por su correcta eliminación (Barceló, 2008).

Los contaminantes emergentes cuentan con una característica que agrava la situación ambiental que lo rodea; esta es que la producción y consumo de dichas sustancias se da en cantidades masivas, por lo tanto no es necesario que estos compuestos sean persistentes en el ambiente para generar daños, ya que se desechan de una manera continua (Barceló, 2008).

Tal y como se mencionó anteriormente, es necesaria la utilización de equipo muy sensible para identificar la presencia de contaminantes emergentes en el medio ambiente, esto debido a que las concentraciones a las que normalmente se encuentran rondan los niveles de nanogramos o microgramos por litro. A pesar de estas bajas concentraciones, los contaminantes emergentes pueden causar efectos en los organismos como: toxicidad crónica, disrupción endocrina y bioacumulación; por lo cual se consideran muy perjudiciales para la salud humana y para el medio ambiente (Patiño, 2014).

Otros efectos reportados son: variaciones en el metabolismo, desórdenes hormonales, problemas en el crecimiento, fertilidad y feminización en varios organismos. Se destacan casos de plaguicidas, considerados contaminantes emergentes donde se detecta la afectación a la tiroides, próstata y tamaño de testículos, impacto en funciones reproductivas e inmunológicas de focas; disminuyendo así su población (Patiño, 2014; García, 2011).

Los contaminantes emergentes contemplan compuestos de muchos tipos y naturaleza química, de modo que se encuentran en varias categorías que se presentan a continuación (García, 2011; Barceló, 2008; Roig, ND):

- Productos farmacéuticos
- Productos para el cuidado personal
- Aditivos industriales
- Plastificantes
- Retardantes de llama bromados
- Detergentes
- Plaguicidas

Dentro de la clasificación de productos farmacéuticos se considera de suma importancia los fármacos hormonales, ya que la presencia de estos conlleva un peligro considerable para el medio ambiente. Un ejemplo de estas sustancias es el etinilestradiol; estrógeno ampliamente utilizado en la fabricación de anticonceptivos, factor que lo coloca fácilmente en el medio debido a la producción masiva de medicamentos con estos fines (Mendoza, 2008; Rosenfeldt, 2007).

El etinil estradiol es considerado uno de los disruptores endocrinos más potentes existentes (Vogna, 2013; Liu, 2013), a los cuales se les atribuyen efectos adversos para la salud humana, entre los que destacan anormalidades reproductivas, disminución en conteo de espermatozoides y aumento en cáncer de mama y testicular; además se registran efectos en especies salvajes como: peces y osos polares hermafroditas, anormalidades reproductivas en reptiles y descenso en la fertilidad de peces, aves y mamíferos. (Rosenfeldt, 2007; Coleman, 2004a)

Aparte de los considerables efectos de sustancias como el etinilestradiol en humanos y especies salvajes, se ha reportado la presencia de estas sustancias en aguas residuales y múltiples cuerpos de agua en países europeos y Estados Unidos (Coleman, 2004a). La unión de todos estos factores ha despertado la necesidad de afrontar dicha problemática urgentemente, ya que estas sustancias son capaces de generar los efectos comentados aún en concentraciones extremadamente pequeñas y los procesos empleados actualmente en las

plantas de tratamiento de aguas no cumplen exitosamente con la degradación de estos principios activos (Vogna, 2013; Coleman, 2004(a); Rosenfeldt, 2007). Es por esta razón que se impulsa e incentiva la investigación en procesos de oxidación avanzada, considerándose una gran alternativa para degradar compuestos como el etinilestradiol.

A pesar de la existencia de investigaciones en la degradación de etinilestradiol utilizando diversos procesos de oxidación avanzada, como es el caso de la tecnología Foto-Fenton (Feng, 2004), estas se han dirigido a la degradación del etinilestradiol en solución acuosa y no se ha analizado la degradación de esta en presencia de solventes orgánicos como el acetonitrilo, excipientes y otras drogas que se encuentran presentes en anticonceptivos; estas sustancias forman parte de los residuos de los análisis de control de calidad de este tipo de productos farmacéuticos; de aquí surge la importancia de analizar la respuesta del etinilestradiol ante la tecnología foto-Fenton en presencia de estas otras sustancias, con el fin de proveer las condiciones de operación de dicha técnica específicas para el residuo obtenido de los análisis de control de calidad, y de esta manera poder dar un tratamiento controlado y adecuado a los residuos generados de esta actividad. Tomando todo esto en cuenta, se justifica el estudio de la aplicación de la tecnología Foto-Fenton en la degradación de etinilestradiol, con el fin de brindar una alternativa accesible y práctica para tratar los residuos de los análisis de control de calidad de los anticonceptivos producidos en Gutis Ltda, que contienen esta droga y además reducir los costos que actualmente son destinados al desecho de residuos peligrosos mediante la incineración.

Como principal beneficiado se encuentra la empresa Gutis Ltda, ya que este tratamiento se reflejaría en una disminución de la cantidad de desechos peligrosos, por los cuáles la empresa debe destinar fondos para ser incinerados externamente. Además, con la implementación de la tecnología planteada en el estudio, se garantiza que los desechos generados por la empresa se encuentren libres de etinilestradiol, el cual es considerado de gran peligrosidad para animales y seres humanos de acuerdo a lo dicho anteriormente, respaldando así, el compromiso y responsabilidad ambiental de la empresa y repercutiendo positivamente en la imagen de la misma.

De esta forma se plantea como objetivo general del proyecto:

Determinar las condiciones operacionales para la estabilización de etinilestradiol proveniente de residuos de la industria farmacéutica, mediante el uso de la tecnología Foto-Fenton.

Capítulo 1 Marco teórico

1.1 Entorno legal:

En lo que respecta al vertido de aguas residuales en general en el territorio costarricense, ya sean vertidas o reusadas, se cuenta en materia legal con el decreto ejecutivo número 33601 vigente desde el 19 de marzo del 2007 y con el siguiente título: “Reglamento de vertido y uso de aguas residuales”, siendo esta la herramienta legal más importante en cuanto al vertido de estas sin importar la naturaleza de las mismas (Presidencia de la República, 2007)

En este reglamento se establecen los límites permitidos en aguas residuales para ciertos parámetros universales característicos del análisis de estas, así como otros que se consideran importantes según el tipo de actividad que se desarrolla; además se establecen los criterios para la presentación de reportes operacionales según el caudal de agua vertida por el ente generador y el tipo de agua residual.

A continuación, en los Cuadros 1.1, 1.2 y 1.3, se presentan los criterios para el muestreo de las aguas y presentación de reportes operacionales, así como los valores permisibles para dichos parámetros universales según la disposición de estas aguas, ya sea en un cuerpo receptor o en el alcantarillado sanitario.

Cuadro 1.1 Frecuencias mínimas para el muestreo, análisis y presentación de reporte operacional según el flujo de vertido de aguas residuales (Reglamento de vertido y reúso de aguas residuales, 2010)

Acción	Caudal (m ³ /día)	
	</= 100	>100
Mediciones rutinarias	Mensual	Semanal
Análisis periódicos	Semestral	Trimestral
Presentación de reporte operacional	Semestral	Trimestral

Cuadro 1.2. Límites máximos permisibles para los parámetros universales de análisis de aguas residuales en alcantarillados sanitarios (Reglamento de vertido y reúso de aguas residuales, 2010).

Parámetro	Máximo Permissible
DBO 5, 20	300 mg/L
DQO	750 mg/ L
Sólidos suspendidos	300 mg/L
Sólidos sedimentables	5 mL/L
Grasas / aceites	50 mg/L
pH	6-9
Temperatura	15 °C - 40 °C
SAAM	5 mg/L

Cuadro1.3. Límites máximos permisibles para los parámetros universales de análisis de aguas residuales en cuerpos receptores (Reglamento de vertido y reúso de aguas residuales, 2010).

Parámetro	Máximo Permissible
DBO 5, 20	50 mg/L
DQO	150 mg/ L
Sólidos suspendidos	50 mg/L
Sólidos sedimentables	1 mL/L
Grasas / aceites	30 mg/L
pH	5-9
Temperatura	15 °C - 40 °C
SAAM	5 mg/L

1.2 Reglamentación de contaminantes emergentes.

En cuanto a presencia de residuos de sustancias farmacéuticas consideradas contaminantes emergentes, no se encuentran regulados dentro del Reglamento de vertido y uso de aguas

residuales, tal y como se expresa en el informe N° DFOE-AE-IF-01-2013 del 15 de Febrero del 2013 de la Contraloría General de la República, sobre la eficacia del estado para garantizar la calidad del agua en sus diferentes usos; este documento al igual que el XIX informe del Estado de la Nación en desarrollo humano sostenible del año 2013, expresan que los límites de concentración para estas sustancias no se encuentran regulados; a la vez dan un panorama de esta problemática a nivel mundial, ya que se menciona que la única sustancia de esta naturaleza que tiene regulada su presencia en aguas superficiales a nivel mundial es el diclofenaco (antiinflamatorio no esteroide). Esta visión del panorama mundial es respaldada por investigaciones relacionadas donde se establece que en términos generales los contaminantes emergentes se encuentran libres de alguna regulación en la mayoría de los países (García, 2011; Roig, 2013)

A pesar de esto, instituciones como la US EPA considera la incorporación de algunos fármacos a la lista de contaminantes orgánicos prioritarios en el agua potable, además se visualiza en un futuro que la Unión Europea establezca límites máximos para estas sustancias. (Barceló, 2008).

A pesar de la ausencia de regulación específica sobre los límites permisibles para contaminantes emergentes como el etinilestradiol, la comisión europea en un comunicado de prensa emitido en Bruselas el 31 de enero del 2012, propone añadir 15 nuevas sustancias a las llamadas listas de control, donde se agrupan contaminantes considerados de importancia para ser vigilados y controlar su presencia en aguas superficiales de la Unión Europea. Dentro de estas nuevas 15 sustancias añadidas a la lista, se encuentra el etinilestradiol, sobre el cual se comenta, que la propuesta de añadir esta sustancia a la lista no cuestiona su valor médico, sino toma en cuenta los posibles efectos de su presencia en el medio acuático (Comisión Europea, 2012).

Es importante mencionar que el Reglamento de vertido y uso de aguas residuales al no regular específicamente estos contaminantes emergentes presenta síntomas de la necesidad de actualizarse, y tomando en cuenta la creciente toma de consciencia sobre los efectos de estos contaminantes emergentes en el ambiente, es prácticamente un hecho que en los

próximos años estas sustancias como el etinilestradiol deberán ser contempladas en dicho reglamento.

1.3 Reglamento de disposición final de medicamentos, materias primas y sus residuos.

Aunque el Reglamento de vertido y uso de aguas residuales actualmente no regula el vertido de contaminantes emergentes, existe el Reglamento para la disposición final de medicamentos, materias primas y sus residuos, el cual se puede considerar la reglamentación más importante del país en cuanto al tratamiento o eliminación de estos y se encuentra vigente desde el 25 de diciembre del 2010. Este documento surge como respuesta a la necesidad de establecer las directrices para el manejo de desechos de medicamentos de forma controlada y adecuada. Además, cuenta con el siguiente ámbito de aplicación: todo establecimiento donde se encuentren medicamentos y materias primas no utilizables, deteriorados, adulterados, falsificados y decomisados; así como residuos del proceso de fabricación y de los análisis de control de calidad de los mismos.

Dicho reglamento incluye distintos métodos de eliminación de residuos de medicamentos, así como las sustancias que son aptas y a las que se les permite ser dispuestas mediante alguno en específico. De modo que para el tratamiento de residuos hormonales en estado líquido, se proponen los siguientes:

- Inertización química
- Incineración o coprocesamiento
- Descomposición química

1.4 Legislación para el manejo, almacenamiento y transporte de residuos de medicamentos.

Otro aspecto relacionado indirectamente con el tratamiento de los residuos farmacéuticos, es el manejo de estos durante el almacenamiento, como el transporte de los residuos, ya que se encuentra estrictamente regulado en el país por medio del decreto ejecutivo N° 24715-MOPT Reglamento para el transporte terrestre de productos peligrosos que se encuentra vigente desde el 1 de noviembre de 1995. Además la organización del Convenio de Basilea pone a disposición un documento de Directrices Técnicas Sobre el Manejo Ambientalmente Racional de los Desechos Biomédicos y Sanitarios, el cual puede utilizarse como

herramienta de reglamentación cuando el país no cuenta con un mecanismo lo suficientemente específico para reglamentar la actividad, de este modo se siguen las pautas establecidas en dicho documento, en lo que concierne la recolección y almacenamiento de residuos farmacéuticos; así como espacios no contemplados con suficiente especificidad en el decreto ejecutivo N° 24715-MOPT, para el manejo de estas sustancias. El documento de directrices técnicas emitido por la organización del Convenio de Basilea se respalda en materia de transporte de sustancias en el documento realizado por la ONU que lleva como nombre “Recomendaciones relativas al transporte de mercancías peligrosas”, de modo que este último es una herramienta más de reglamentación para la actividad de transporte de los residuos de medicamentos (Secretaría del Convenio de Basilea, 2003; Naciones Unidas, 2011).

1.5 Procesos de Oxidación Avanzada.

Los procesos de oxidación avanzada han venido siendo considerados cada más de mayor importancia para integrarse en sistemas de tratamiento para el manejo de contaminantes emergentes como es el caso de residuos de fármacos, ya que los sistemas de tratamiento convencionales presentan limitaciones al manejar sustancias de este tipo. Al integrar procesos de oxidación avanzada en los sistemas de tratamiento de residuos se puede lograr alcanzar la completa mineralización de los contaminantes a CO_2 , H_2O , compuestos inorgánicos o a compuestos inocuos (Osorio, 2011).

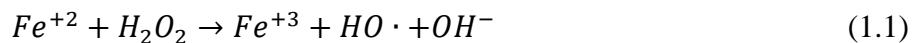
Aunque se encuentran procesos de oxidación avanzada de distintos tipos, todos funcionan bajo el mismo principio químico, la producción de radicales libres, estos se caracterizan por ser altamente reactivos y atacar la gran mayoría de materia orgánica presentando selectividades muy bajas, por lo tanto representan una opción para tratar una gran cantidad de sustancias sin distinción (Osorio, 2011)

A manera de presentar una clasificación general de los procesos de oxidación avanzada se presenta la siguiente división:

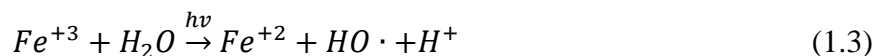
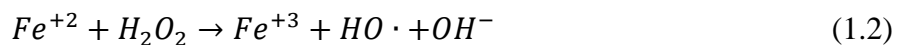
- Procesos homogéneos
 - Energía procedente de radiación ultra violeta.
 - Ozonización y radiación ultra violeta.
 - Peróxido de hidrógeno y radiación ultra violeta.
 - Ozono, peróxido de hidrógeno y radiación ultra violeta.
 - Foto-Fenton.
 - Energía procedente de ultra sonido.
 - Ozonización y ultra sonido.
 - Peróxido de hidrógeno y ultra sonido.
 - Procesos electroquímicos.
 - Oxidación electroquímica.
 - Oxidación anódica.
 - Electro-Fenton.
 - Procesos sin aporte de energía.
 - Ozonización en medio alcalino.
 - Ozonización con peróxido de hidrógeno.
 - Peróxido de hidrógeno y catalizador.
- Procesos heterogéneos.
 - Ozonización catalítica.
 - Ozonización foto catalítica.
 - Fotocatálisis heterogénea.

1.6 Procesos Fenton, Foto-Fenton.

Los procesos Fenton se caracterizan por lograr la oxidación de compuestos orgánicos gracias a la formación de radicales hidroxilo los cuales son oxidantes muy fuertes. La formación de estos se obtiene a partir de la descomposición del peróxido de hidrógeno en medio ácido catalizada por sales de hierro. El paso dominante de esta descomposición se expresa mediante la siguiente reacción; una vez formadas las especies oxidantes, estas reaccionan con la materia orgánica contaminante llevándose a cabo la eliminación de esta última (Osorio, 2011; Homem, 2010; Belgiorno, 2011):



La principal desventaja del proceso Fenton es la formación de lodos de hierro; de este problema surge como solución la implementación del proceso Foto-Fenton, el cual incluye el uso de luz UV o solar para reducir los iones de Fe^{+3} a Fe^{+2} , lo cual genera una reducción considerable de los lodos. Además de esto el uso de radiación UV aumenta la velocidad de reacción, permitiendo una reducción del tamaño del reactor así como una degradación de los contaminantes más eficiente (Osorio, 2011). Los efectos del uso de la luz UV se reflejan en las siguientes reacciones que representan los pasos más determinantes del proceso:



La utilización de procesos Foto-Fenton conlleva el cuidado de condiciones como el pH, ya que a niveles muy bajos se inhibe la interacción entre los iones de hierro y el peróxido; por otro lado con el uso de un pH mayor a 5 los iones Fe^{+3} precipitan como hidróxido de hierro (III) impidiéndose así el propósito del proceso. Por lo tanto, se establece un rango de pH en el cual las condiciones del proceso Foto-Fenton son más adecuadas, este es entre 2,6 y 3 (Osorio, 2011; Belgiorno, 2011).

1.7 Técnicas de oxidación avanzada estudiadas para degradar principios activos de tipo hormonal como etinilestradiol.

En cuanto a la eliminación de estrógenos como el etinilestradiol se reportan varias investigaciones en el campo de los procesos de oxidación avanzada; tal es el caso del estudio de la degradación de 17β -estradiol, 17α -etinilestradiol (etinilestradiol) y estrona, con una concentración inicial en el reactor de 10 microgramos por litro, mediante fotólisis utilizando UVA (rayos ultravioleta de longitud de onda larga que comprende entre los 320 y 400 nm) y fotocátalisis haciendo uso de TiO_2 ; entre los resultados más relevantes se obtiene que para alcanzar una degradación total del 17α -etinilestradiol se necesita de 50 min y 120 min respectivamente para la fotólisis y la fotocátalisis con TiO_2 (Coleman 2004b). Bajo condiciones similares se desarrolló otro estudio con la diferencia de que se

variaron las concentraciones iniciales de la concentración de 17β -estradiol, así como la intensidad de luz; para esto se utilizaron valores entre 0,1 y $3\mu\text{mol/L}$, además se ubicó el reactor a distintas distancias de la lámpara repercutiendo en las distintas intensidades de luz utilizadas (265mW-2509mW) (Coleman, 2004a).

Mediante el uso de la tecnología Foto-Fenton se reporta el estudio de la degradación de estrona, para el cuál se analizaron diversas condiciones de pH inicial, concentraciones iniciales de Fe(III), H_2O_2 , y estrona. Las condiciones de pH inicial se variaron entre 3 y 8, mientras que las concentraciones iniciales se estudiaron para los siguientes rangos: 208-1664 $\mu\text{mol/L}$, 5,2-41,6 $\mu\text{mol/L}$ y 9,2-37 $\mu\text{mol/L}$ para H_2O_2 , Fe(III) y estrona respectivamente. La degradación de estrona se incrementó para los valores más elevados de H_2O_2 y Fe(III), y para los valores más bajos de concentración del estrógeno y de pH; además se concluyó que el efecto más importante en la cinética química de la degradación lo tiene la concentración de Fe(III). En la misma investigación se estudió la degradación de 17α -etinilestradiol obteniéndose una degradación de aproximadamente el 84% utilizando un pH inicial de 3 y las siguientes concentraciones: 832 $\mu\text{mol/L}$, 10,4 $\mu\text{mol/L}$ y 5 mg/L, para H_2O_2 , Fe(III) y 17α -etinilestradiol respectivamente (Feng, 2004). Otra investigación llevada a cabo mediante fotólisis en presencia de H_2O_2 muestra que al utilizar una concentración para este último de 15mg/L y una irradiación de 1000mJ/cm^2 proporcionada por una lámpara UV de presión media se logra desintegrar cerca del 99% del 17α -etinilestradiol presente al inicio de las pruebas (Rosenfeldt, 2004)

Capítulo 2 Metodología

El desarrollo de este capítulo se divide en tres partes principales: un planteamiento preliminar de la metodología por utilizarse basándose en la investigación bibliográfica, ejecución de pruebas preliminares para verificar el funcionamiento de la metodología propuesta en el primer punto, así como los puntos que presentan deficiencias y por último la definición de la metodología final por utilizarse basándose en los dos puntos anteriores.

2.1. Planteamiento preliminar de la metodología.

2.1.1 Selección de variables y sus niveles de estudio.

Para lograr una selección de las variables de estudio y los niveles de estas por analizar se tomaron en cuenta varias investigaciones relacionadas con la estabilización de principios activos hormonales mediante procesos de oxidación avanzada, así como procesos de Foto-Fenton.

El criterio utilizado para esta selección se centró en determinar las variables que mostraron una significancia en los procesos descritos en las investigaciones mencionadas y además tomar en cuenta la condición mínima y máxima para cada variable considerada de interés en cada investigación, esto se realizó con la finalidad de obtener un valor promedio mínimo y máximo para cada variable de importancia para la investigación, de esta forma determinar el ámbito de estudio para las mismas en la ejecución del proyecto.

A partir de las referencias consultadas, se observó que en siete de las ocho investigaciones se consideran como variables con influencia significativa en los procesos estudiados, la concentración inicial de peróxido de hidrógeno, la concentración inicial de iones hierro (catalizador), la concentración inicial de la sustancia que se pretende estabilizar y el pH inicial de reacción. (Homem, 2010; Elmolla 2009a). Caso contrario se observó en otras variables como la temperatura de reacción, la intensidad de la luz UV irradiada y las revoluciones por minuto de la agitación del medio de reacción, las cuales fueron consideradas como variables de estudio solamente en una investigación de las ocho evaluadas para este fin; por lo tanto se determina que estas últimas no presentan influencia

significativa en este tipo de procesos y se descartan para ser utilizadas en la presente investigación (Coleman, 2005; Homem, 2010).

Tomando esto en cuenta y considerando que la concentración de droga en los desechos farmacéuticos por tratarse es un valor fijo y por lo tanto no es una variable para la investigación; se seleccionaron como variables de estudio la concentración inicial de peróxido de hidrógeno, concentración inicial de iones hierro y el pH inicial del medio de reacción.

En el cuadro 2.1 se muestran las referencias de las investigaciones consultadas con los respectivos valores mínimos y máximos utilizados para cada variable significativa, además en el Cuadro 2.2 se presentan los valores promedios mínimos y máximos para estas, los cuales indican los ámbitos de estudio seleccionados para la ejecución del proyecto.

Cuadro 2.1 Condiciones mínimas y máximas para variables significativas utilizadas en investigaciones consultadas.

Referencia	Concentración H ₂ O ₂ (μmol/L)		Concentración Fe ⁺² (μmol/L)		pH	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
Ay, F. 2010	294,11	14706	0	901,14	-	-
Homem, V. 2010	12,35	125,9	0,54	6,31	2,9	6,5
Trovó, A. 2011	3529,4	3529,4	50	50	2,5	2,8
Elmolla, E. 2009(a)	15000	40000	160	2400	2	4
Rozas, O. 2010	300	500	60	80	3	5
Elmolla, E. 2009(b)	15000	54000	320	24300	2	4
Coleman, H. 2005	-	-	-	-	3,75	3,75
Feng, X. (2004)	206	1664	5,2	41,6	3	8

Cuadro 2.2 Promedios de las condiciones mínimas y máximas utilizadas en las investigaciones consultadas para la respectiva variable de estudio.

Variable de estudio	Promedio	
	Mínimo	Máximo
Concentración H ₂ O ₂ (μmol/L)	4906	16361
Concentración Fe ⁺² (μmol/L)	85,11	3968,4
pH	2,8	5,0

Con respecto a la definición de los niveles de las variables seleccionadas se consideró preferible estudiarlas en varios niveles con el fin de obtener resultados más certeros, ya que se mitiga la posibilidad de incurrir en un error en la definición de las mejores condiciones para el proceso por la utilización de un ámbito único y muy amplio para las variables de estudio. Por esta razón se tomaron los promedios mínimos y máximos para cada variable seleccionada, los cuales se observan en el Cuadro 2.2, como los límites inferiores y superiores globales y se dividió cada ámbito comprendido en estos límites en tres partes iguales.

De esta forma se obtienen tres ámbitos más pequeños para cada variable con el objetivo de obtener resultados más puntuales para cada uno de estos y así proporcionar conclusiones más acertadas tras la realización del proyecto.

Con base en esto se definen cuatro niveles para cada variable, los cuales a su vez determinan los tres ámbitos que se utilizan para el desarrollo experimental del proyecto. En los Cuadros 2.3 y 2.4 se puede observar dicha información respectivamente.

Cuadro 2.3 Niveles de las variables de estudio seleccionados para el desarrollo del proyecto.

Variable de estudio	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 4
Concentración H ₂ O ₂ (μmol/L)	4906	8725	12544	16363
Concentración Fe ⁺² (μmol/L)	85	1380	2675	3970
pH	2,8	3,5	4,3	5,0

Cuadro 2.4 Ámbitos teóricos determinados para el desarrollo experimental del proyecto.

Variable de estudio	Rango 1	Rango 2	Rango 3
Concentración H ₂ O ₂ (μmol/L)	4906-8725	8725-12544	12544-16363
Concentración Fe ⁺² (μmol/L)	85-1380	1380-2675	2675-3970
pH	2,8-3,5	3,5- 4,3	4,3-5,0

Para efectos prácticos se tomaron los valores mostrados en el Cuadro 2.3 y se transformaron a unidades de masa y volumen correspondientes a las mediciones que se deben hacer por corrida en un volumen de reacción de 100 mL, por la misma razón se definieron valores aproximados a los teóricos mostrados en el Cuadro 2.4, pero que sean representativos a cada nivel de estudio definido. Tras este manejo de datos se obtienen los valores presentados en el Cuadro 2.5, los cuales representan las condiciones seleccionadas para el desarrollo experimental.

Cuadro 2.5 Ámbitos reales determinados en unidades de masa y volumen por utilizar para un volumen de reacción de 100mL para el desarrollo experimental del proyecto.

Variable de estudio	Ámbito 1	Ámbito 2	Ámbito 3
Volumen de H ₂ O ₂ (gotas)	1-2	2-3	3-4
Masa de FeSO ₄ (mg)	2,4-38,4	38,4-74,4	74,4-110,4
pH	2,8-3,5	3,5- 4,3	4,3-5,0

2.1.2 Variable respuesta y su método de cuantificación.

Para la ejecución del presente proyecto se define como variable de respuesta el porcentaje de estabilización de etinilestradiol y de levonorgestrel al transcurrir un tiempo de reacción de una hora, el cual se obtiene mediante la relación entre las áreas obtenidas para cada principio activo en el tiempo final definido y en las muestras sin someterse al tratamiento, en los sistemas cromatográficos, la metodología en detalle para el sistema cromatográfico utilizado se detalla posteriormente.

2.1.3 Definición del plan experimental

Con la finalidad de estudiar el efecto de variables e interacciones entre estas, se consideró adecuada la elección de un análisis factorial como herramienta estadística para el desarrollo del proyecto.

Un análisis factorial es una técnica estadística utilizada para describir las interrelaciones existentes entre un número de variables (Moncada, 2005). Estos análisis presentan una forma que describe la cantidad de combinaciones distintas entre las variables de estudio que deben de realizarse para ejecutarlos, dicha estructura se muestra a continuación en la ecuación 2.1

$$A^B = n \quad (2.1)$$

Donde,

A: Cantidad de niveles para cada variable de estudio.

B: Cantidad de variables de estudio.

n: Cantidad de combinaciones entre las variables de estudio requeridas para el análisis factorial.

Tal y como quedó especificado en la ecuación 2.1, A representa la cantidad de niveles de análisis para cada variable de estudio, generalmente para este tipo de análisis estadísticos se utilizan dos niveles para cada variable, de modo tal que se escoge un valor bajo y uno alto que comprenden el ámbito de estudio para la variable por analizarse. Es importante mencionar que las conclusiones obtenidas tras la ejecución de este análisis factorial, se centran en estos valores altos y bajos para cada variable, de forma tal que los resultados generados van dirigidos hacia la utilización de uno de los dos valores definidos y no hacia la escogencia de un valor intermedio entre los mismos; por lo tanto si se desea profundizar aún más sobre el comportamiento detallado del sistema en puntos intermedios de un ámbito previamente definido, se aconseja segmentar este último en varios ámbitos más pequeños con el fin de obtener más resultados y mayor claridad para concluir acerca del sistema analizado (Verdoy, 2006).

Con base en la definición de los niveles de las variables de estudio, se cuenta con cuatro niveles para cada variable, de forma tal que se generan 3 ámbitos distintos para evaluar el comportamiento de la estabilización de etinilestradiol mediante la aplicación del proceso de Foto-Fenton con análisis factoriales de la forma 2^3 . Esta segmentación se realizó con el fin de evaluar cada uno de estos ámbitos individualmente con un análisis factorial de la forma recién mencionada y de esta manera se permite observar un comportamiento más detallado de la estabilización de etinilestradiol, gracias a la evaluación en 4 puntos equidistantes del ámbito global; caso contrario se hubiera presentado si se utilizaba este último, ya que dadas las características expuestas previamente sobre los análisis factoriales y tomando en cuenta

que el ámbito global es considerablemente amplio, no identificaría un posible punto intermedio del mismo que podría generar mejores resultados, sino se obtendría un solo resultado tras la evaluación de solamente dos puntos del ámbito para cada variable (Verdoy, 2006).

De esta forma se propone para el plan experimental el desarrollo de tres análisis factoriales de 2^3 ; tomando esto en cuenta, el tiempo de análisis por muestra y la condición de que debe someterse al proceso de Foto-Fenton solamente una muestra a la vez, es fácilmente apreciable que la ejecución de estos análisis factoriales por triplicado significan un gran requerimiento de tiempo que no es compatible con la disposición de equipos y materiales de laboratorio suministrados por el departamento de Control de Calidad de Gutis Ltda, es por esto que se decide desarrollar las pruebas por duplicado, por lo tanto, por cada análisis factorial se preparan y someten al proceso de estabilización de etinilestradiol mediante Foto-Fenton 16 muestras, necesiándose en total el análisis de 48 muestras contemplando la ejecución de los 3 análisis factoriales totales.

Por último, se debe definir el orden de las muestras por estudiarse mediante la metodología experimental propuesta, el cual debe de cumplir con la característica de aleatoriedad. Para esto y con ayuda de un generador de números aleatorios del 1 al 8, se estableció el orden del estudio de las muestras para cada análisis factorial por aparte.

La secuencia de muestras obtenida para cada análisis y los niveles de las variables correspondientes para cada muestra quedan detallados en los Cuadros 2.6, 2.7 y 2.8.

Cuadro 2.6 Secuencia experimental para el desarrollo del análisis factorial para el ámbito 1 de estudio.

Secuencia para las muestras	Volumen de H ₂ O ₂ (gotas)	Masa de FeSO (mg)	pH
4	1	2,4	3,5
7	1	38,4	2,8
5	2	38,4	2,8
3	1	38,4	3,5
8	1	2,4	2,8
2	1	2,4	3,5
6	2	2,4	2,8
1	2	38,4	3,5

Cuadro 2.7 Secuencia experimental para el desarrollo del análisis factorial para el ámbito 2 de estudio.

Secuencia para las muestras	Volumen de H ₂ O ₂ (gotas)	Masa de FeSO ₄ (mg)	pH
1	3	74,4	4,3
6	3	38,4	3,5
5	3	74,4	3,5
8	2	38,4	3,5
4	2	38,4	4,3
3	2	74,4	4,3
2	3	38,4	4,3
7	2	74,4	3,5

Cuadro 2.8 Secuencia experimental para el desarrollo del análisis factorial para el ámbito 3 de estudio.

Secuencia para las muestras	Volumen de H ₂ O ₂ (gotas)	Masa de FeSO ₄ (mg)	pH
7	3	110,4	4,3
4	3	74,4	5,0
6	4	74,4	4,3
2	4	74,4	5,0
5	4	110,4	4,3
1	4	110,4	5,0
8	3	74,4	4,3
3	3	110,4	5,0

2.1.4 Caracterización de los desechos farmacéuticos utilizados en el proceso.

Tal y como establece el Reglamento para la disposición final de medicamentos, materias primas y sus residuos, los desechos de productos farmacéuticos procedentes de los análisis de control de calidad, deben de tratarse de la forma adecuada para asegurarse que tanto los principios activos como otras sustancias presentes en los residuos de esta actividad de la industria no tengan un efecto en el ambiente; a raíz de esto es evidente la importancia del tratamiento de los residuos generados de los análisis de control de calidad de los productos hormonales. Precisamente, esta es la procedencia de los residuos y por lo tanto de las muestras por utilizarse en el proyecto (Presidencia de la República de Costa Rica, 2010),

El medicamento seleccionado para la investigación, consiste en una tableta anticonceptiva que contiene dos principios activos; el primero de ellos es un estrógeno llamado etinilestradiol con un contenido de 30µg por tableta, el segundo consiste en una progesterona llamada levonorgestrel con un contenido de 150µg por tableta, sus correspondientes fórmulas moleculares y propiedades fisicoquímicas se observan en el

Cuadro 2.9, junto a esto, en las Figuras 2.1 y 2.2 se observan las estructuras químicas de etinilestradiol y levonorgestrel respectivamente (pubchem.ncbi.nlm.nih.gov, 2017), además cuenta con los siguientes excipientes: Lactosa monohidrato, polivinilpirrolidona 30, croscarmelosa sódica tipo A, magnesio de estearato, alcohol industrial, hidroxipropilcelulosa E-5, dióxido de titanio, poliglicol 400 y polisorbato 80. La concentración de estos últimos no se detalla por motivos de confidencialidad de la empresa Gutis Ltda, ya que describiría en gran detalle la receta utilizada para la fabricación del producto (Gutis Ltda, 2017).

Cuadro 2.9. Propiedades fisicoquímicas del etinilestradiol y levonorgestrel (pubchem.ncbi.nlm.nih.gov, 2017; Shareef, 2006)

Principio activo	Fórmula molecular	Masa molar (g/mol)	Punto de fusión (°C)	Solubilidad en agua (mg/L)
Etinilestradiol	C ₂₀ H ₂₄ O ₂	296,4	183	9,20
Levonorgestrel	C ₂₁ H ₂₈ O ₂	312,5	206	2,05

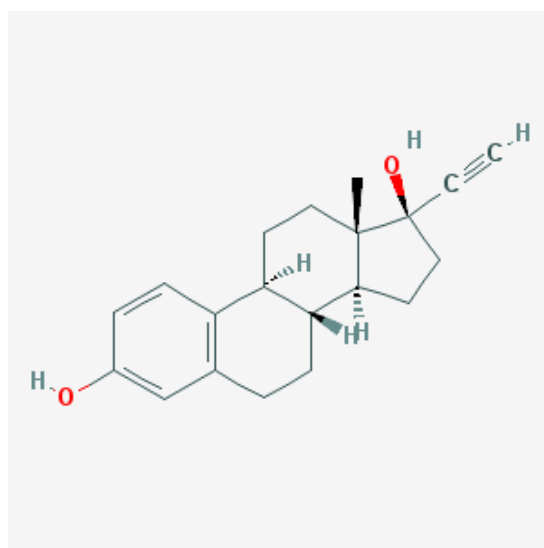


Figura 2.1 Estructura química del etinilestradiol.

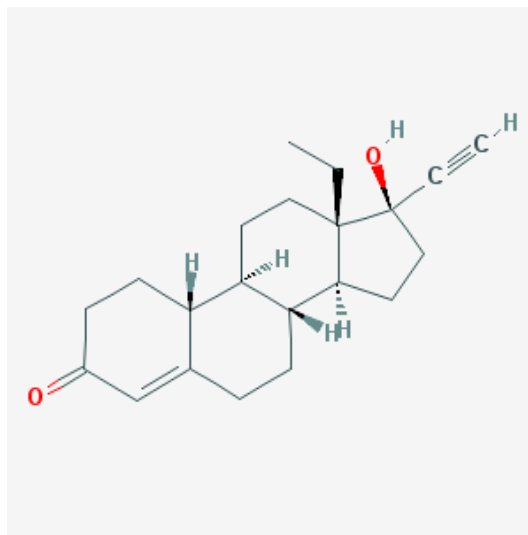


Figura 2.2 Estructura química del levonorgestrel.

Tras la preparación de las muestras que posteriormente deben de ser tratadas con el proceso de Foto-Fenton, se cuenta con una solución prácticamente acuosa con una concentración de 0,12 μ g/mL para el etinilestradiol y una concentración de 0,6 μ g/mL para el levonorgestrel; cabe destacar que no se detalla en la concentración de cada excipiente en la solución utilizada como muestra para el proyecto, ya que excede los alcances determinados en los objetivos para la presente investigación.

2.2 Pruebas preliminares y ajustes al plan experimental preliminar.

El desarrollo de pruebas preliminares se lleva a cabo con la finalidad de poner a prueba el correcto funcionamiento de la metodología experimental y poder apreciar comportamientos adversos a la realización correcta de las pruebas que puedan afectar la obtención de resultados reales y de calidad para concluir sobre los alcances del proyecto. De esta forma se pueden tomar medidas e implementar cambios que beneficien el desarrollo de las pruebas y obtener los resultados esperados de la metodología experimental.

Al aplicarse estas pruebas se observaron varios hallazgos y por lo tanto se tuvo que tomar medidas para ajustar la metodología y el plan experimental; a continuación se presentan los

temas que mostraron problemas en la ejecución de las pruebas preliminares, así como la metodología utilizada y la propuesta de cambio para solventarlos.

2.2.1 Ámbito de pH por estudiarse.

Inicialmente en el ámbito global se propuso estudiar valores de hasta 5 para el pH, pero durante la ejecución de las pruebas preliminares se encontró la limitante que, para el sistema en estudio, el pH del medio de reacción se vuelve muy inestable para valores más altos a 3,5, por lo tanto la tarea de ajustar el pH de las muestras a valores de 4,3 y 5,0, como estaba propuesto en el diseño experimental y los niveles de estudio para la variable pH inicial de reacción, presenta una gran dificultad, ya que para valores mayores a 3,5 cambia súbitamente a valores cercanos a 10.

Es por esto que se decide modificar los niveles de estudio de la variable pH, tomando el mayor valor que es posible obtener sin mostrarse inestable (3,5) como límite superior del ámbito global y se disminuye el límite inferior del mismo (de 2,8 a 2,0); la razón para lo anterior se centra en obtener 4 puntos equidistantes, como se hizo con las demás variables anteriormente, pero que presenten una separación de al menos 0,5 entre cada nivel.

Por lo tanto se proponen los siguientes 4 niveles y ámbitos de estudios por utilizarse en la metodología y plan experimental:

Niveles de estudio para el pH

- Nivel 1: 2,0.
- Nivel 2: 2,5.
- Nivel 3: 3,0.
- Nivel 4: 3,5.

Ámbitos de estudio para el pH por evaluarse en cada análisis factorial

- Ámbito 1: 2,0 a 2,5.
- Ámbito 2: 2,5 a 3,0.
- Ámbito 3: 3,0 a 3,5.

2.2.2 Preparación de las muestras y método farmacopéico

Durante la preparación de las muestras se pretendió seguir el método de valoración propuesto por la USP, este establece que las muestras se diluyen en una mezcla de solventes que presentan la siguiente proporción: H₂O:ACN:MeOH (45:35:15). Al realizarse de esta forma y ejecutarse el proceso de estabilización mediante la tecnología de Foto-Fenton, se muestreó según lo establecido, pero tras la cuantificación mediante el uso de HPLC no se apreció una degradación de las drogas presentes en la muestra.

Tomando en cuenta la estructura química del ACN que cuenta con un triple enlace y que se considera un agente reductor importante, esto justifica que los radicales hidroxilo tengan una alta afinidad con la molécula del ACN, considerando además que la presencia de este es significativa en la muestra, se determinó la probabilidad de un acaparamiento de los radicales hidroxilo por parte del ACN, repercutiendo así en una pobre oxidación de la materia que se desea estabilizar; por esto se decidió trabajar diluyendo la muestra con H₂O, lo cual obedece al método de disolución propuesto por la USP, factor que también presenta relevancia para solucionar el problema obtenido con el sistema cromatográfico, tal y como se detallará más adelante.(USP 40, 2017) (Douglas, 1994)

A pesar del cambio indicado en la preparación de las muestras, se presentó un nuevo problema al utilizar solamente H₂O para diluirlas, ya que debido a la solubilidad en agua de los principios activos presentes en la píldora anticonceptiva utilizada para la preparación de las muestras (0,00920mg/mL para el etinilestradiol y 0,00205mg/mL para el levonorgestrel), no se obtiene una disolución adecuada de las muestras madre debido a que la concentración de levonorgestrel (0,030mg/mL) excede la solubilidad de esta en agua (pubchem.ncbi.nlm.nih.gov, 2017) (Shareef, 2006).

Como propuesta final, para solucionar esta serie de problemas que se generaron en la preparación de las muestras en la metodología inicial planteada, se determinó preparar las muestras madre de acuerdo al método analítico para la valoración propuesto por la USP, es decir disolver las 5 píldoras en un balón de 25 mL con un diluyente de la

siguiente composición: H₂O:ACN:MeOH (45:35:15), este diluyente si permite una correcta solución de los principios activos. Luego se toma una alícuota de 2 mL en un balón de 100mL y se diluye con H₂O, volviendo así a lo establecido por el método analítico para la disolución propuesto por la USP; ya que el medio en el que está disuelta la muestra es prácticamente agua.

De esta forma se evita una precipitación de los principios activos, ya que en la muestra diluida la concentración de estos es mucho menor y ya no presenta el inconveniente de superar los límites de solubilidad en agua de estas drogas.

2.2.3 Sistema cromatográfico.

El último inconveniente presentado en la metodología experimental tomó lugar luego de aplicar los cambios previamente mencionados a la hora de obtener una cromatografía adecuada para la cuantificación. Ya que hasta el momento se había optado por tomar como referencia el método de disolución propuesto por la USP para la preparación de las muestras, pero no para la configuración del sistema cromatográfico, para esto último se continuó utilizando el método propuesto para la prueba de valoración. Este último está desarrollado para la cuantificación de muestras con una concentración mayor de principio activo con respecto al método de disolución, además estos métodos han sido elaborados para determinar concentraciones de acuerdo al etiquetado del producto farmacéutico y no para valores cercanos al 0% de ese valor teórico representado por el etiquetado del producto.

Debido a esto al analizar las muestras de acuerdo al sistema cromatográfico propuesto en el método de valoración de la USP, se obtuvieron áreas muy pequeñas en la cromatografía, incluso para las muestras iniciales (sin haberse sometido al proceso de estabilización de los principios activos).

Como solución a este problema se determinó utilizar el sistema cromatográfico establecido por la USP en el método para la prueba de disolución, además se agregó como cambio adicional aumentar el volumen de inyección de las muestras de 50 µL a 100µL, para obtener una cromatografía más clara y con menos problemas al alcanzarse

niveles altos de estabilización de los principios activos. Cabe destacar que los aumentos en los volúmenes de inyección no están limitados por la USP, por lo tanto pueden realizarse a gusto con el fin de mejorar la cromatografía (USP,2017).

2.3 Metodología final definida para el desarrollo del proyecto.

2.3.1 Definición de la metodología para la aplicación de la tecnología Foto-Fenton y para la determinación del nivel de estabilización de los principios activos de interés.

Para cuantificar la estabilización de etinilestradiol a lo largo del proceso de Foto-Fenton se propone la siguiente metodología experimental para garantizar una alta calidad de los resultados por obtenerse, cabe destacar que en todo momento en que se menciona el método para valoración y disolución definido por la USP se hace referencia a la metodología experimental validada para los análisis de control de calidad de la empresa Gutis Ltda.

Preparación de las muestras y estándares:

El proceso de preparación de muestras y estándares obedece a lo establecido en el método para la valoración y la disolución del contenido de etinilestradiol de la USP; por lo tanto es un método analítico validado y que da certeza de guiar el análisis por una ruta correcta y confiable para la obtención de resultados de calidad (USP 40, 2017)

Debido a la concentración tan baja de las muestras por tratarse, además de que los métodos analíticos para el control de calidad son elaborados para una determinación del principio activo cercana al 100%, a diferencia del procedimiento por realizarse en el presente proyecto donde se espera que la concentración del principio activo vaya en descenso hasta valores cercanos al 0% del valor inicial, se determinó guiarse en el método analítico establecido para la disolución (elaborado para cuantificar concentraciones de principio activo mucho más bajas) y se realizaron cambios en la concentración de estándares y muestras establecidas por el método, así como el volumen de inyección en el HPLC, esto con el fin de obtener cromatografías más claras aún, para concentraciones tan bajas como las esperadas.

A pesar de esto, el primer paso de la preparación de la muestra se lleva a cabo de acuerdo al método establecido en la USP para la valoración de etinilestradiol y levonorgestrel, ya que en dicho método se disuelve la muestra directamente en un diluyente con la siguiente composición: Agua:Acetonitrilo:Metanol ($H_2O:ACN:MeOH$; 45:35:15) lo cual permite que las tabletas se disuelvan completamente para obtener una solución de la concentración deseada; esto no se lograría de usarse solamente agua para disolver la muestra, ya que el levonorgestrel presenta una solubilidad muy baja en esta (2,05mg/L). (pubchem.ncbi.nlm.nih.gov, 2017; Shareef, 2006; USP 40, 2017)

Tomando esto en cuenta se establecen los siguientes pasos para la preparación de las muestras y los estándares:

Preparación de muestras:

1. Disolver 5 tabletas anticonceptivas con el diluyente de $H_2O:ACN:MeOH$ (45:35:15) en un balón aforado de 25mL, con ayuda de un baño ultrasónico (30 min) y un agitador para los balones (15min).
2. Se toma una alícuota de 2mL de la solución anterior en un balón aforado de 100mL y se lleva a la línea de aforo con H_2O .

Preparación de estándares:

1. Se colocan 8mg de estándar de Etil estradiol y 38mg de estándar de Levonorgestrel en un balón aforado de 250mL, se disuelven con el diluyente de $H_2O:ACN:MeOH$ (45:35:15) y con ayuda de un baño ultrasónico (30 min).
2. Se toma una alícuota de 1mL de la solución anterior en un balón de 250mL y se lleva a la línea de aforo con H_2O ; esta solución corresponde al estándar 1(Concentración aproximada a la concentración inicial de las muestras sin someterse al proceso de estabilización)
3. Se toma una alícuota de 7mL del estándar 1 en un balón de 10mL y se lleva a la línea de aforo con H_2O ; esta solución corresponde al estándar 2(Concentración

aproximada al 70% de la concentración inicial de las muestras sin someterse al proceso de estabilización)

4. Se toma una alícuota de 5mL del estándar 1 en un balón de 10mL y se lleva a la línea de aforo con H₂O; esta solución corresponde al estándar 3(Concentración aproximada al 50% de la concentración inicial de las muestras sin someterse al proceso de estabilización)
5. Se toma una alícuota de 2mL del estándar 1 en un balón de 10mL y se lleva a la línea de aforo con H₂O; esta solución corresponde al estándar 4(Concentración aproximada al 20% de la concentración inicial de las muestras sin someterse al proceso de estabilización)

Proceso de Foto-Fenton:

1. Se coloca la masa respectiva de FeSO₄*7H₂O (catalizador) en un beaker de 200mL.
2. Se trasvasa el contenido de la muestra preparada, de acuerdo a la metodología detallada previamente, en el beaker de 200mL que contiene el catalizador requerido y se agita hasta disolver completamente el catalizador.
3. Se agrega la cantidad de H₂O₂ necesaria y se ajusta el pH inicial de la solución según lo requerido con NaOH 0,1M o H₂SO₄ 0,1M.
4. Inmediatamente tras ajustar el pH de la muestra, se coloca la muestra en la cámara de irradiación UV, la cual consiste en una estructura que mantiene la muestra aislada de la irradiación externa, asegurándose así que solo está siendo irradiada por la lámpara ultra violeta que emite a una longitud de onda de 254nm y cuenta con 115 V y 0,20 A; todo esto sobre una plantilla de agitación, para garantizar la agitación constante durante el proceso de Foto-Fenton, y se comienza a registrar el tiempo de reacción y tomar muestras a los tiempos deseados directamente en un vial.
5. Para cada muestreo se agrega 1 gota de una solución de MnO₂ en el vial para la muestra que se inyectará en el HPLC, con el fin de consumir el H₂O₂ remanente y de esta forma detener la reacción de oxidación de la muestra.

6. Se coloca la muestra en el HPLC para ser inyectada y determinar el porcentaje de Etinil estradiol estabilizado.

Preparación de la suspensión de MnO₂:

1. Se mide una masa de 9,5g de MnO₂ en un beaker de 200mL.
2. Se agrega 100mL de H₂O para suspender el sólido y llevarlo a la concentración deseada.

Sistema cromatográfico:

- Fase móvil: ACN:H₂O (60:40).
- Temperatura de la columna: 25°C.
- Temperatura de las muestras: 20°C.
- Volumen de inyección 100µL.
- Especificación de la columna: C8 150mm*4,6mm 5µm
- Longitud de onda en UV: 247nm
- Longitud de onda en detector de Fluorescencia: $\lambda_{\text{excitación}}$: 285nm, $\lambda_{\text{emisión}}$: 310nm

Tomando en cuenta los factores desarrollados en las fases previas de la definición de la metodología, las cuales han sido recién explicadas, se logra definir la metodología final para el desarrollo del proyecto.

De esta forma en los Cuadros 2.10 al 2.12 se muestran las condiciones por analizarse en cada uno de los ámbitos de estudios, así como el orden y combinación de niveles para cada variable según se determinó definitivamente, tras las pruebas experimentales previamente mencionadas.

Cuadro 2.10 Secuencia experimental para el desarrollo del análisis factorial para el rango 3 de estudio.

Secuencia para las muestras	Volumen de H ₂ O ₂ (gotas)	Masa de FeSO ₄ (mg)	pH
7	3	110,4	3,0
4	3	74,4	3,5
6	4	74,4	3,0
2	4	74,4	3,5
5	4	110,4	3,0
1	4	110,4	3,5
8	3	74,4	3,0
3	3	110,4	3,5

Cuadro 2.11 Secuencia experimental para el desarrollo del análisis factorial para el rango 2 de estudio.

Secuencia para las muestras	Volumen de H ₂ O ₂ (gotas)	Masa de FeSO ₄ (mg)	pH
1	3	74,4	3,0
6	3	38,4	2,5
5	3	74,4	2,5
8	2	38,4	2,5
4	2	38,4	3,0
3	2	74,4	3,0
2	3	38,4	3,0
7	2	74,4	2,5

Cuadro 2.12 Secuencia experimental para el desarrollo del análisis factorial para el rango 1 de estudio.

Secuencia para las muestras	Volumen de H ₂ O ₂ (gotas)	Masa de FeSO ₄ (mg)	pH
4	1	2,4	2,5
7	1	38,4	2,0
5	2	38,4	2,0
3	1	38,4	2,5
8	1	2,4	2,0
2	2	2,4	2,5
6	2	2,4	2,0
1	2	38,4	2,5

Capítulo 3 Resultados experimentales

3.1 Resultados obtenidos de la ejecución del plan experimental.

Previo a las corridas correspondientes a las muestras por analizar, se llevó a cabo una curva de calibración de 5 puntos tanto para el etinilestradiol como para el levonorgestrel, para esto se utilizaron estándares de estas sustancias y se prepararon diluciones correspondientes al 100%, 70%, 50%, 25% y 0% de la concentración que presentan teóricamente las muestras sin tratarse, esto obedece a la metodología de preparación de estándares descrita previamente.

Para la preparación de los estándares se hizo uso de un estándar secundario trazado de etinilestradiol y un estándar primario de levonorgestrel de la USP, las masas registradas durante la preparación de los mismos fueron de: 0,0081g para el etinilestradiol y de 0,0392 g para el levonorgestrel, el contenido de humedad respectivo para cada uno de estos estándares fue: 0,99% y 0,00%; por último las potencias registradas para los mismos fueron: 1015mg/g para el etinilestradiol y 998mg/g para el levonorgestrel. A continuación se detalla la expresión matemática utilizada para el cálculo de las concentraciones de cada droga usada para la elaboración de las curvas de calibración respectivas; además, en el Cuadro 3.1 se muestran a manera de resumen las respuestas obtenidas en la cromatografía tras las correspondientes corridas.

$$C_n = \frac{m * P * \left(\frac{100 - \%humedad}{100} \right)}{FDE} \quad (3.1)$$

Donde,

Cn: Concentración del principio activo, mg/mL.

m: Masa del estándar del principio activo utilizado, g.

P: Potencia del estándar del principio activo utilizado, mg/g.

%humedad: Contenido de humedad presente en el estándar del principio activo, %.

FDE: Factor de dilución del estándar, mL.

Cuadro 3.1. Respuestas obtenidas tras la inyección de estándares de etinilestradiol y levonorgestrel a distintas concentraciones en el HPLC para la elaboración de la curva de calibración.

Principio activo	Concentración (mg/mL)	Área obtenida en cromatografía
Etinilestradiol	0,00013024	22776198,6EU
Etinilestradiol	0,00009117	15149015,6EU
Etinilestradiol	0,00006512	11124537,3EU
Etinilestradiol	0,00002605	4407239,4EU
Levonorgestrel	0,0006259	185372,7AU
Levonorgestrel	0,0004382	136983,8AU
Levonorgestrel	0,0003130	91979,1AU
Levonorgestrel	0,0001252	34332,2AU

Tras llevarse a cabo la inyección y lectura de los estándares en el sistema cromatográfico, se pretende observar un comportamiento lineal en cuanto a la respuesta de la cromatografía y la concentración de la droga presente en el estándar, además de obtener una ecuación de la recta que se ajuste al comportamiento de los datos, dichas características se pueden apreciar en la Figura 3.1 y Figura 3.2 para el etinilestradiol y el levonorgestrel respectivamente.

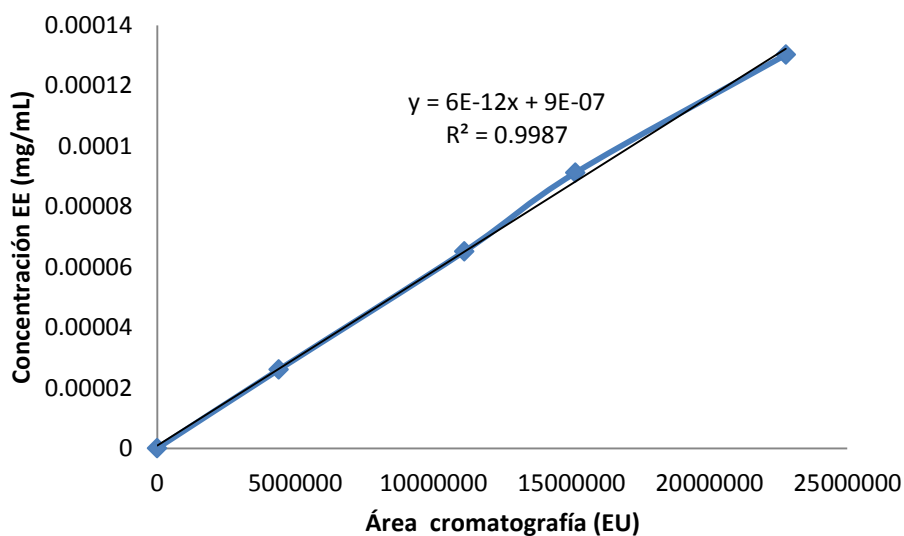


Figura 3.1. Curva de calibración para estándares de etinilestradiol.

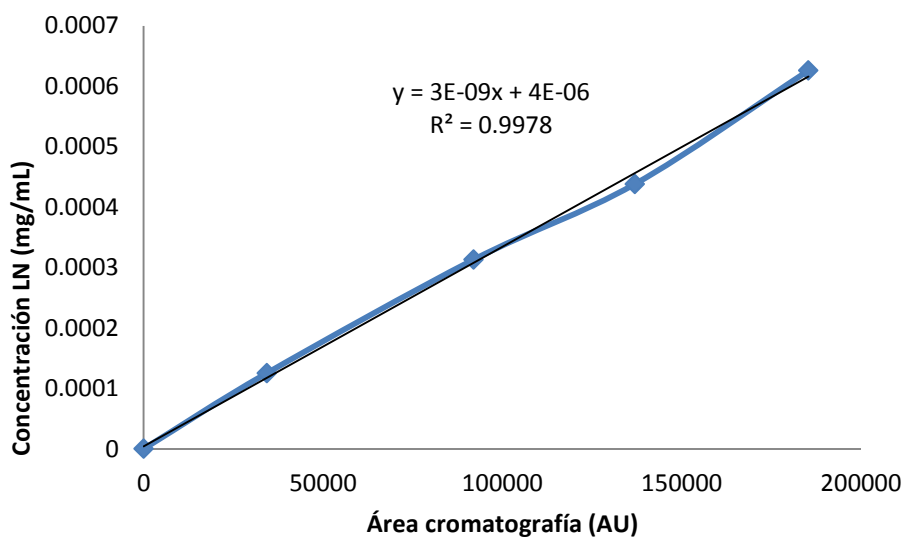


Figura 3.2. Curva de calibración para estándares de levonorgestrel.

En cuanto a la ejecución del plan experimental se inició con el estudio del ámbito 3, seguido del ámbito 2 y por último se llevaron a cabo las pruebas correspondientes al ámbito 1. Durante la ejecución de estas últimas se presentó un problema, ya que los resultados obtenidos no mostraron repetibilidad alguna a pesar de realizarse varias veces, se propone como justificación a esto, un error asociado al equipo de detección en el HPLC, ya que es apreciable que los resultados que presentan una mayor irregularidad son los

correspondientes al etinilestradiol (droga analizada con una lámpara de fluorescencia), además, otro factor de relevancia para justificar esto es la concentración tan baja de etinilestradiol que presenta la muestra, que si bien es cierto se había puesto a prueba la capacidad de detección del sistema cromatográfico en la cuantificación de los estándares utilizados, la repetibilidad de los resultados en condiciones de este tipo se podía comprobar hasta el duplicado de la muestra; como último factor se toma en cuenta que para las condiciones tan extremas definidas por utilizar en el rango, el equipo cromatográfico no respondió de la manera adecuada para obtener datos de calidad.

Debido a esto y tomando en cuenta que se tienen dos ámbitos más para ser analizados, y según las investigaciones consultadas, serían los dos ámbitos propuestos con mayor tendencia a ser los más adecuados para el proceso. Se decide obviar los resultados obtenidos para el ámbito 1, ya que no se consideran resultados de calidad para tomar decisiones a partir de ellos; y se consideran suficientes las conclusiones generadas a partir del análisis del proceso en los ámbitos 2 y 3.

Después de someter las 8 muestras por duplicado al tratamiento de estabilización de etinilestradiol propuesto, se obtienen los siguientes comportamientos para los principios activos presentes en las muestras a lo largo de un tiempo de tratamiento total de una hora, estos comportamientos que se observan en los siguientes gráficos se expresan como el porcentaje de drogas remanente con respecto al área obtenida en la cromatografía para las muestras antes de someterse al proceso, es decir en el tiempo de análisis igual a cero. Estos resultados se observan a continuación en las figuras 3.3 a la 3.10, para las muestras 1 a la 8 del ámbito de estudio 3 respectivamente. Los resultados de las muestras 1 a la 8 del ámbito de estudio 2 se observan en las figuras 3.11 a la 3.18 respectivamente. Paralelo a esto se determina la concentración de cada droga remanente en la muestra a partir de las áreas obtenidas en la cromatografía para el tiempo igual a 1 hora y las expresiones matemáticas obtenidas en la Figura 3.1 y Figura 3.2 que describen la relación entre las áreas obtenidas en las cromatografías con respecto a la concentración de cada droga presente en la muestra. De esta forma se obtienen los resultados presentados a continuación en el Cuadro 3.5 y el Cuadro 3.6 referentes a los ámbitos de estudio 2 y 3 respectivamente.

Cuadro 3.5 Concentración de etinilestradiol y levonorgestrel en las muestras del ámbito 2 tras una hora de reacción

Número de muestra	Concentración de etinilestradiol (mg/mL)	Concentración de levonorgestrel (mg/mL)
1	0,00003357	0,0001234
2	0,00003555	0,0001635
3	0,00005073	0,0002083
4	0,00003383	0,0002141
5	0,00003455	0,0001352
6	0,00002226	0,0001366
7	0,00004601	0,0001892
8	0,00004459	0,0001804

Cuadro 3.6 Concentración de etinilestradiol y levonorgestrel en las muestras del ámbito 3 tras una hora de reacción

Número de muestra	Concentración de etinilestradiol (mg/mL)	Concentración de levonorgestrel (mg/mL)
1	0,00002365	0,0001400
2	0,00002162	0,0001223
3	0,00003073	0,0001553
4	0,00003592	0,0001774
5	0,00001609	0,0001067
6	0,00001406	0,0001061
7	0,00002818	0,0001384
8	0,00002680	0,0001637

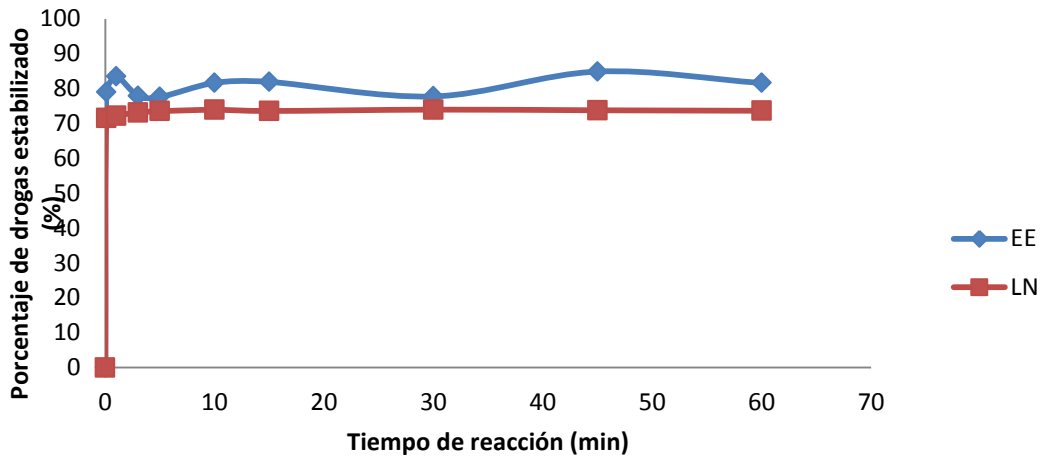


Figura 3.3. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 1 del ámbito 3 a lo largo de una hora de tratamiento.

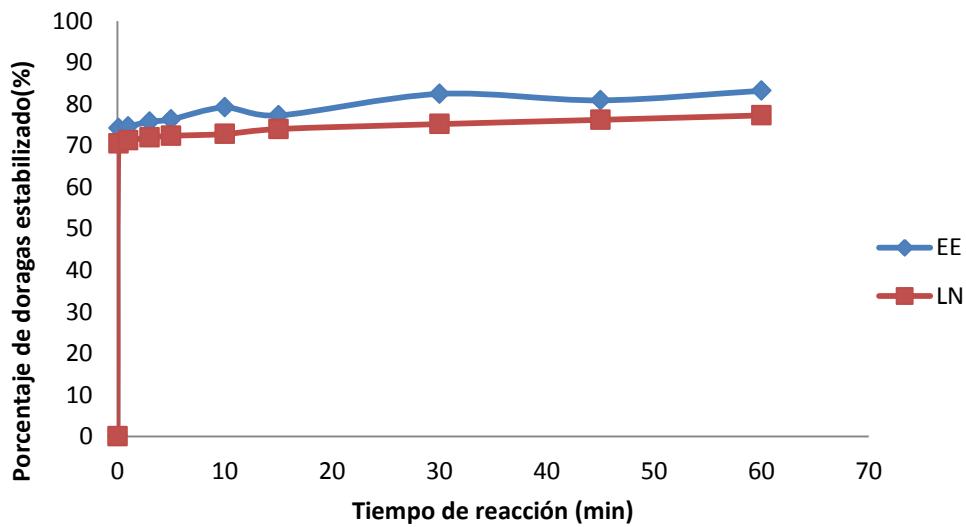


Figura 3.4. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 2 del ámbito 3 a lo largo de una hora de tratamiento.

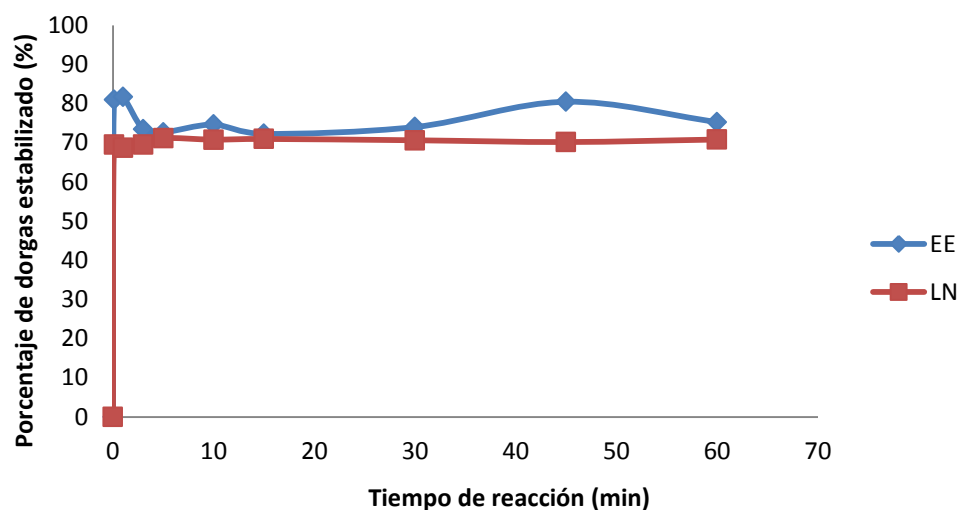


Figura 3.5. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 3 del ámbito 3 a lo largo de una hora de tratamiento.

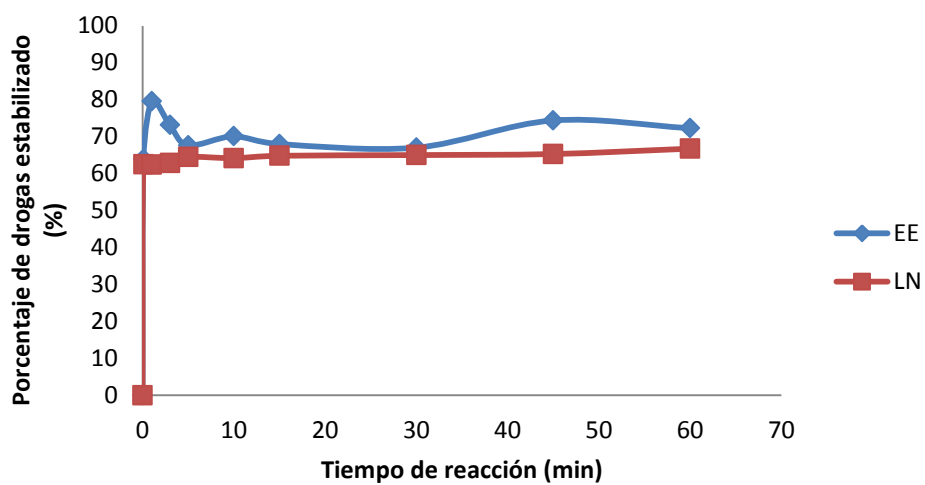


Figura 3.6. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 4 del ámbito 3 a lo largo de una hora de tratamiento.

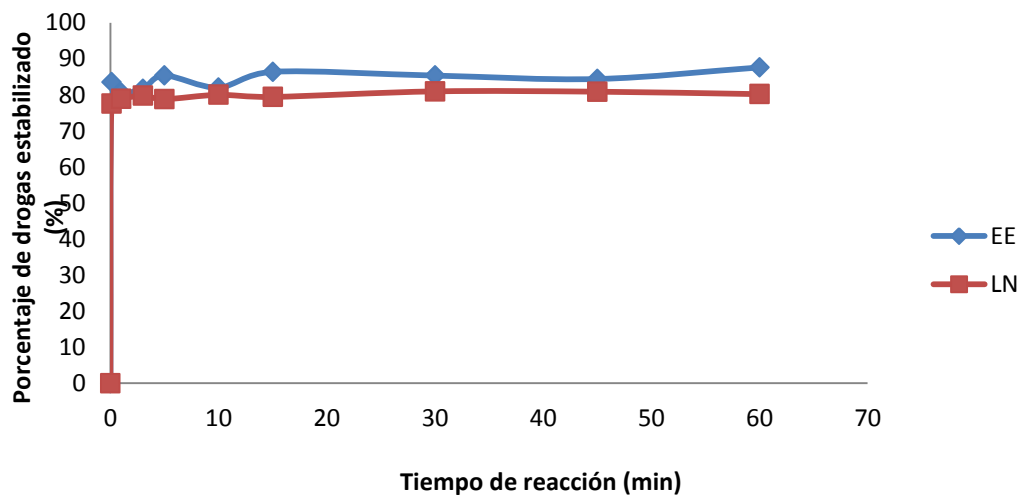


Figura 3.7. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 5 del ámbito 3 a lo largo de una hora de tratamiento.

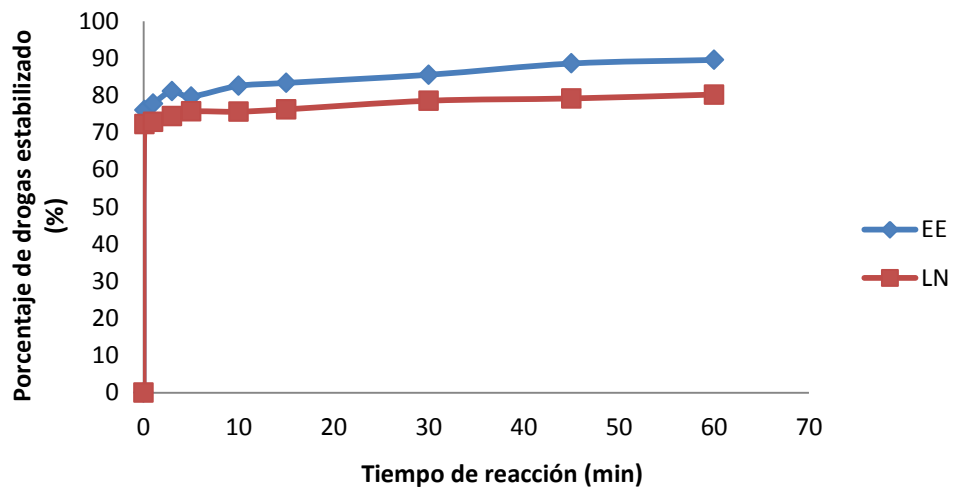


Figura 3.8. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 6 del ámbito 3 a lo largo de una hora de tratamiento.

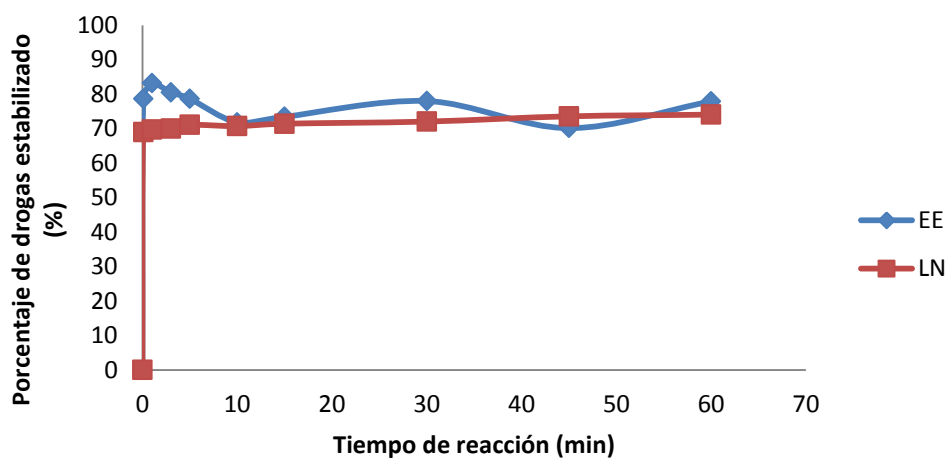


Figura 3.9. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 7 del ámbito 3 a lo largo de una hora de tratamiento.

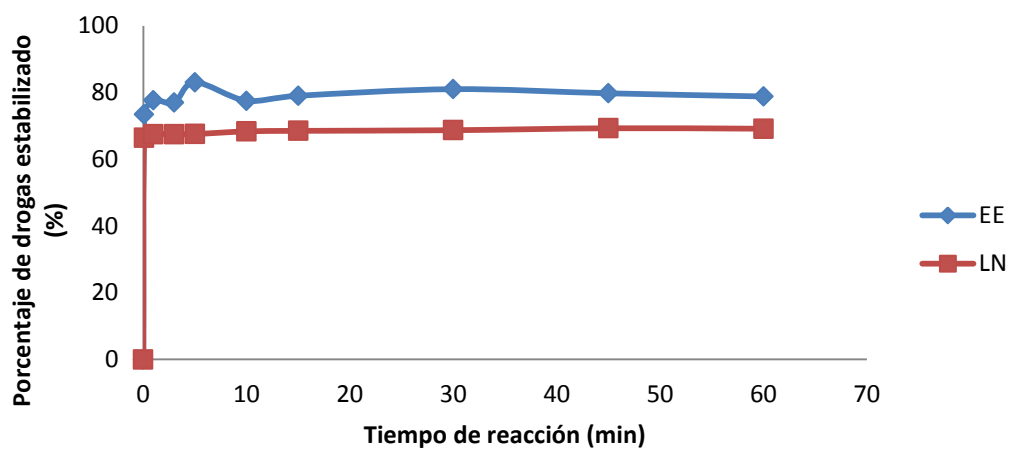


Figura 3.10. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 8 del ámbito 3 a lo largo de una hora de tratamiento.

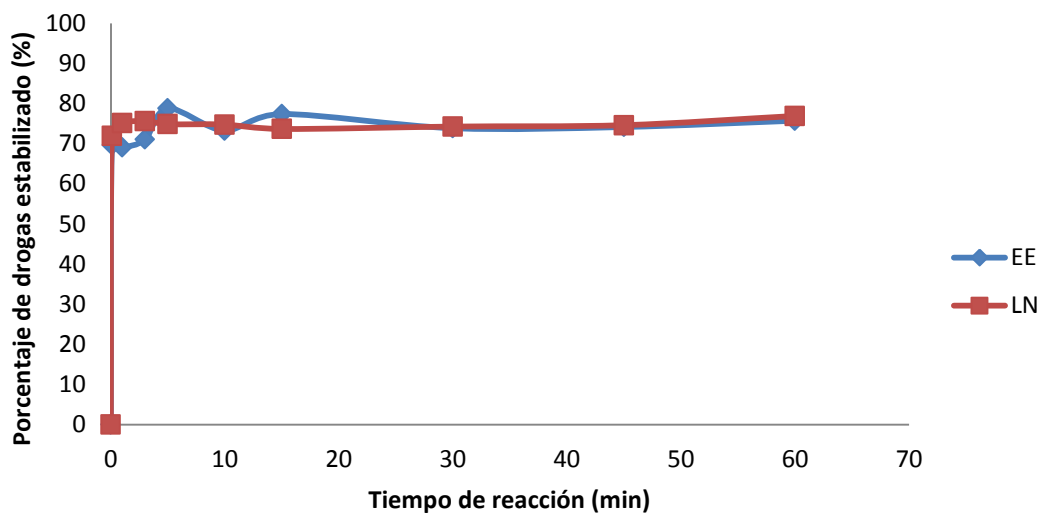


Figura 3.11. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 1 del ámbito 2 a lo largo de una hora de tratamiento.

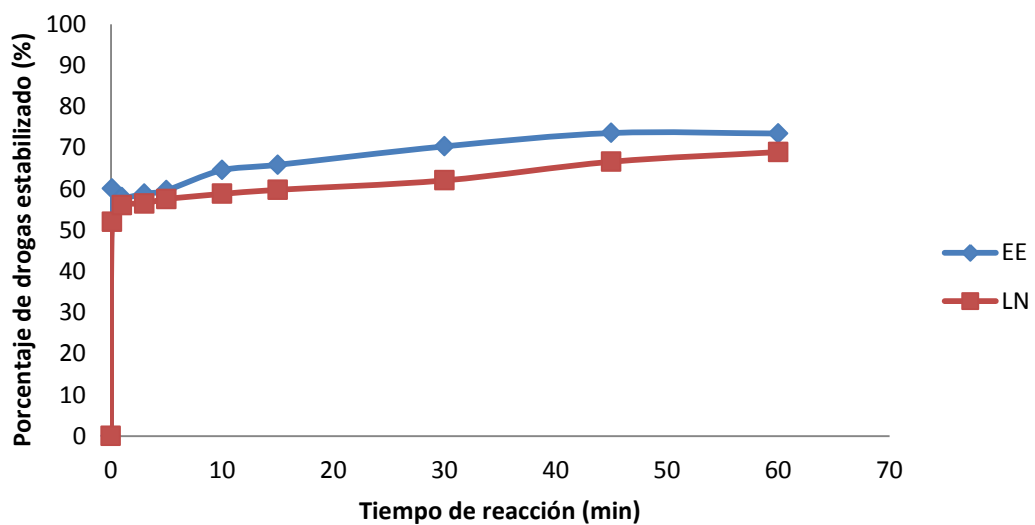


Figura 3.12. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 2 del ámbito 2 a lo largo de una hora de tratamiento.

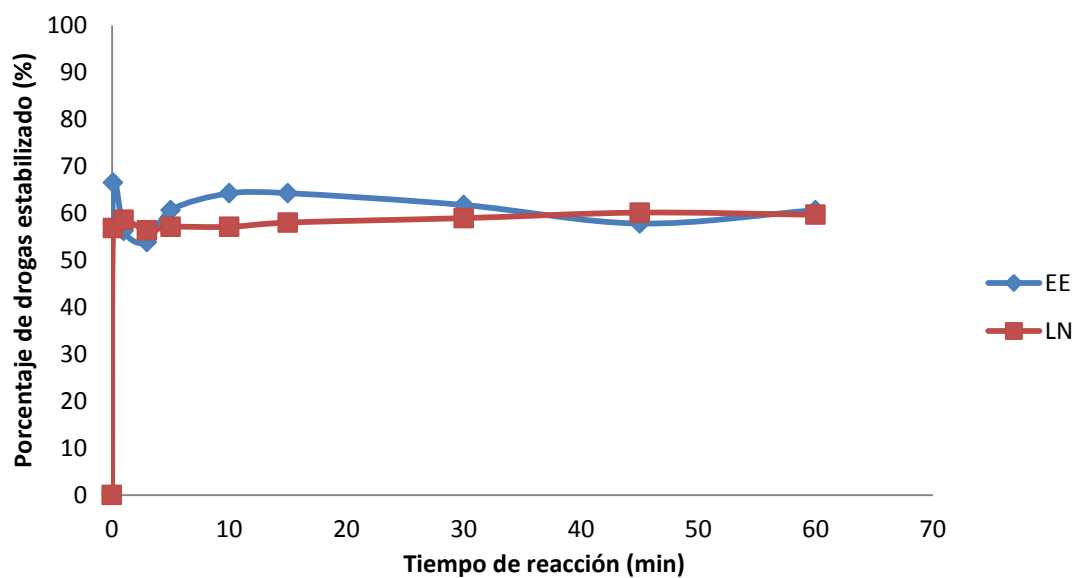


Figura 3.13. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 3 del ámbito 2 a lo largo de una hora de tratamiento.

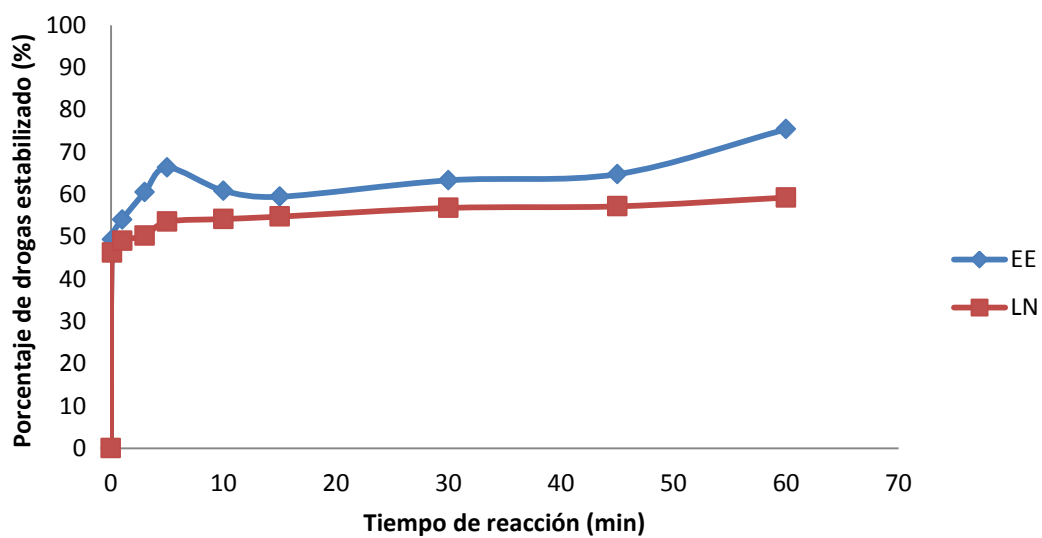


Figura 3.14. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 4 del ámbito 2 a lo largo de una hora de tratamiento.

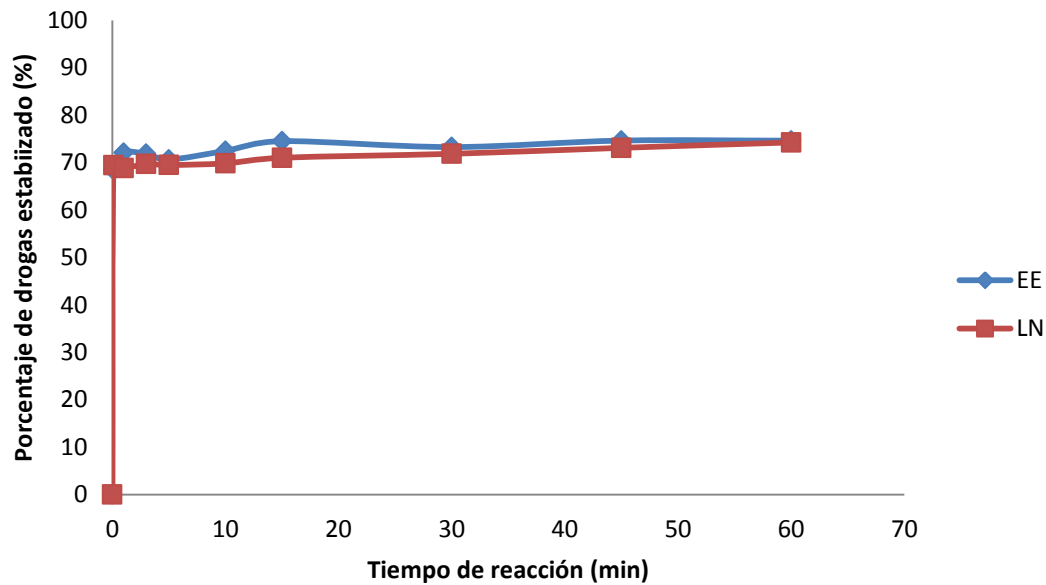


Figura 3.15. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 5 del ámbito 2 a lo largo de una hora de tratamiento.

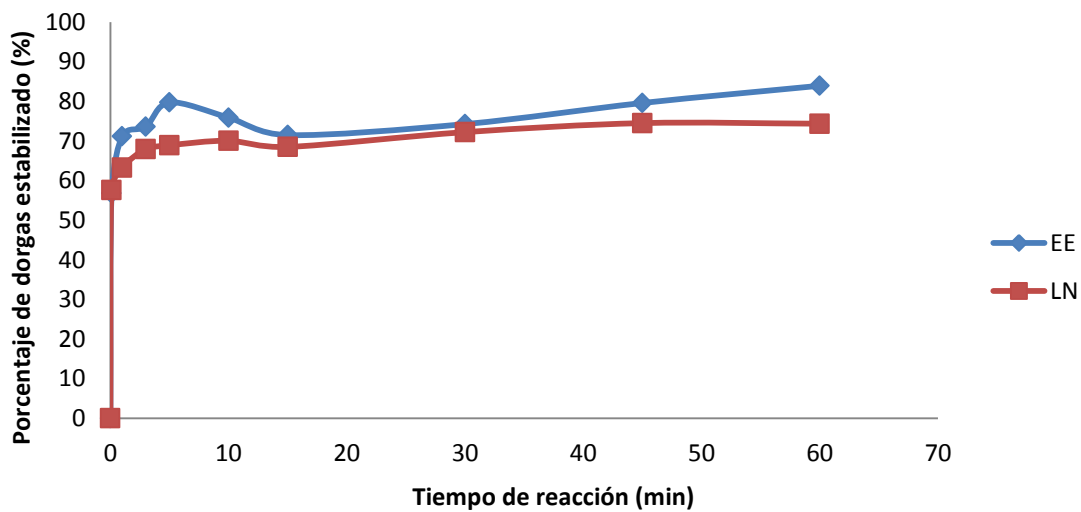


Figura 3.16. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 6 del ámbito 2 a lo largo de una hora de tratamiento.

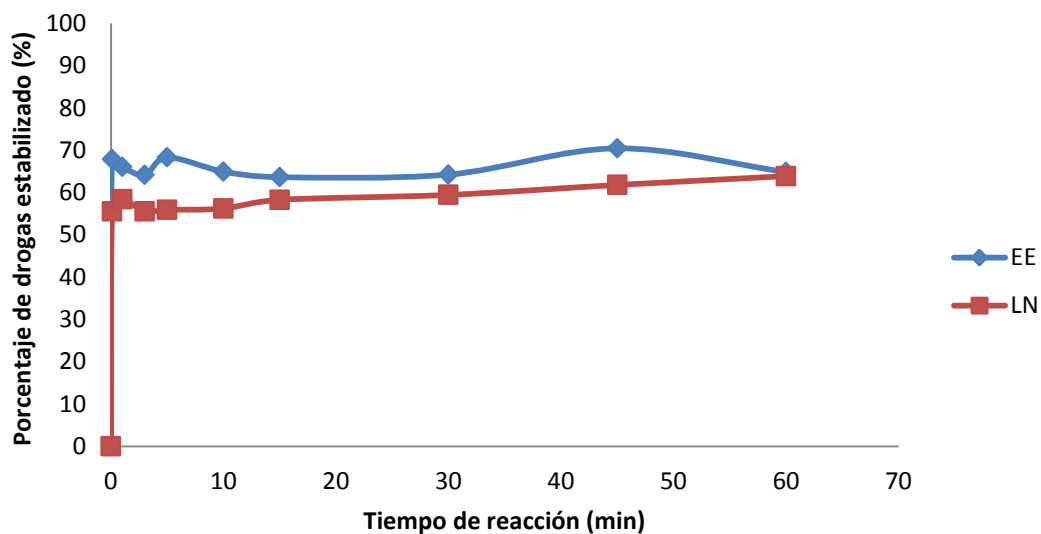


Figura 3.17. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 7 del ámbito 2 a lo largo de una hora de tratamiento.

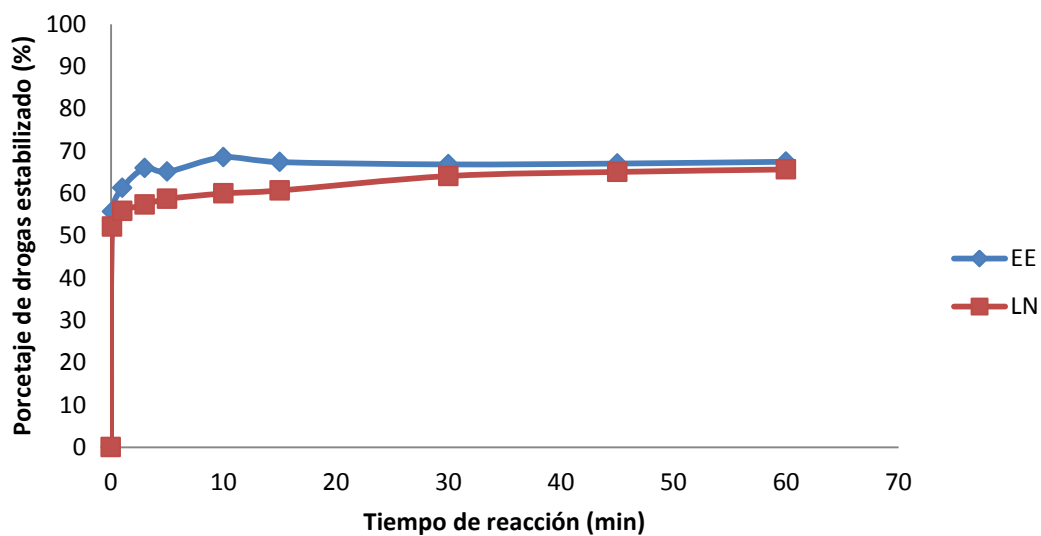


Figura 3.18. Porcentaje estabilizado de etinilestradiol y levonorgestrel en la muestra 8 del ámbito 2 a lo largo de una hora de tratamiento.

A partir de estos datos, es de destacar que tanto en el ámbito 2 como en el ámbito 3, la muestra 6 es la que presenta los mejores resultados; desde el punto de vista de las variables

y los niveles estudiados de estas, se traduce en que en el ámbito 2 de estudio las mejores condiciones se obtuvieron al utilizarse 3 gotas de H_2O_2 por cada 100mL de muestra, 38,4mg de FeSO_4 por cada 100mL de muestra y un pH inicial de reacción de 2,5. En cuanto al ámbito 3 los niveles de variable estudiados que generan mejores resultados son: 4 gotas de H_2O_2 por cada 100mL de muestra, 74,4 mg de FeSO_4 por cada 100mL de muestra y un pH inicial de reacción de 3,0. Estas observaciones se respaldan en lo presentado en el Cuadro 3.5 y Figura 3.16 para el ámbito 2 y en el Cuadro 3.6 y Figura 3.8 para el ámbito 3.

Además de presentar el porcentaje de estabilización para ambos principios activos obtenido para cada muestra y en ambos rangos de estudio, se pretendió determinar una velocidad de reacción para el proceso en cada muestra estudiada. Para esto se debe observar que en todas las pruebas realizadas se dio un cambio muy rápido y pronunciado de la concentración de los principios activos de interés en un tiempo transcurrido de la reacción muy pequeño, y luego de esta fase se observa que la concentración de etinilestradiol y levonorgestrel tiende a mantenerse constante; es por esta razón que es difícil ajustar el comportamiento global observado en todas las muestras a algún modelo, y más bien se denotan dos fases muy distintas durante el proceso.

Debido a lo anterior se determinó una velocidad de reacción para cada una de estas fases en todas las muestras analizadas y para ambos principios activos de interés, esto se desarrolló obteniendo la pendiente o derivada de las expresiones matemáticas que se ajustan al comportamiento de los datos; en cada una de estas fases para cada una de ellas; este comportamiento para las pendientes de cada fase de las muestras que presentaron los mejores resultados en cada rango de estudio se muestran en la Figura 3.19 y Figura 3.20 para el ámbito 2 de estudio y en la Figura 3.21 y Figura 3.22 para el ámbito 3 de estudio.

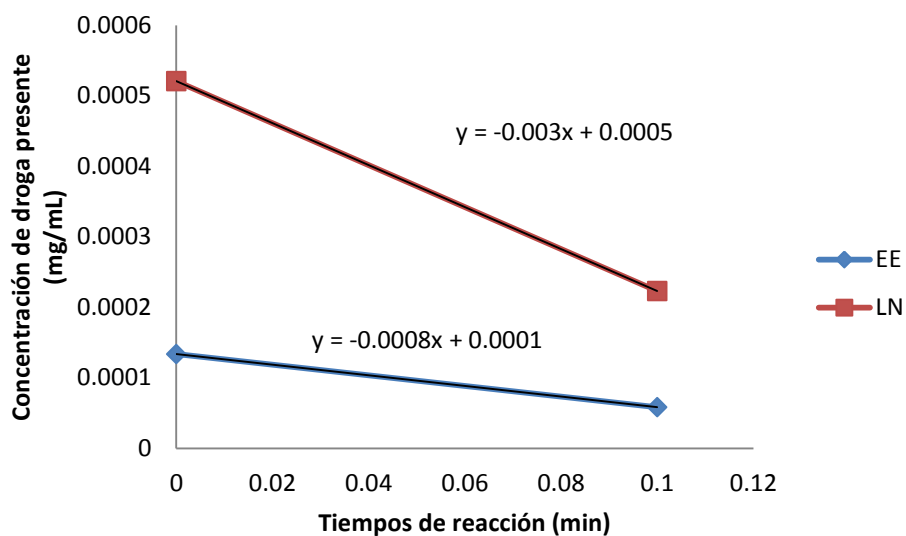


Figura 3.19 Fase 1 de estabilización para la muestra 6 del ámbito de estudio 2.

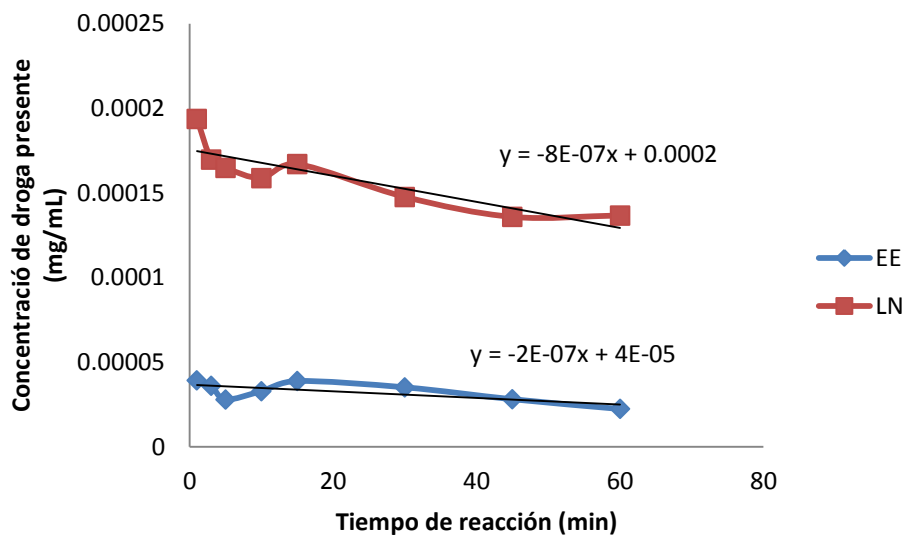


Figura 3.20. Fase 2 de estabilización para la muestra 6 del ámbito de estudio 2.

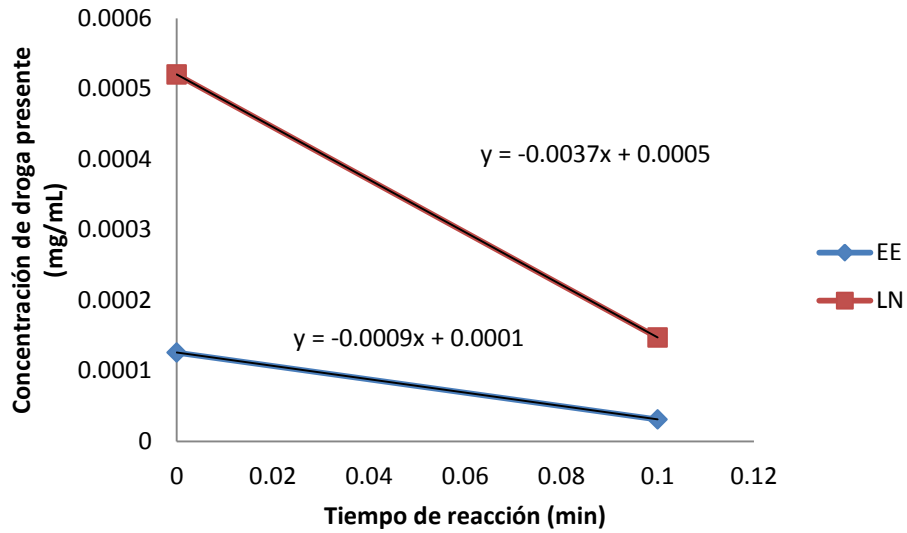


Figura 3.21. Fase 1 de estabilización para la muestra 6 del ámbito de estudio 3.

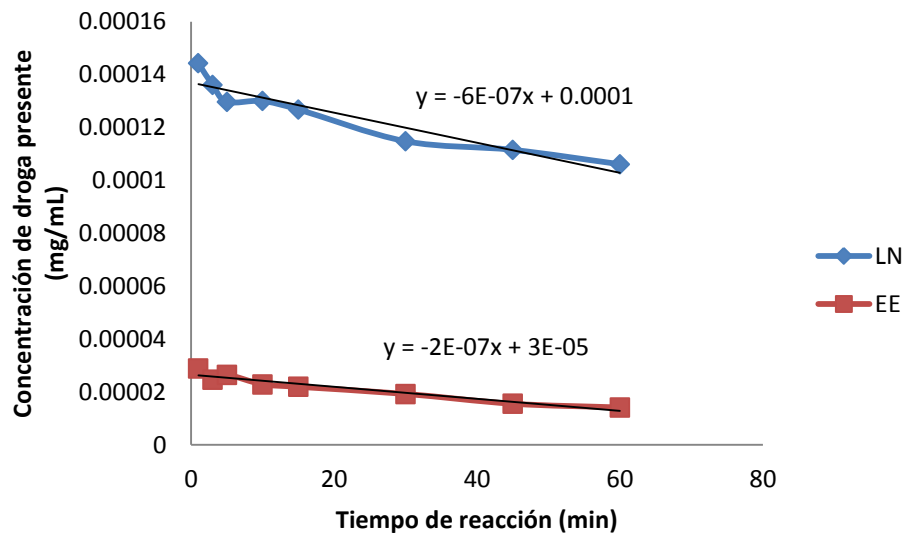


Figura 3.22. Fase 2 de estabilización para la muestra 6 del ámbito de estudio 3.

Tanto en la Figura 3.19 como en la Figura 3.21 se observa que el comportamiento de la estabilización de ambas sustancias de interés responde a una línea recta y por lo tanto la derivada corresponde a la pendiente de las rectas; de esta forma se observa que para la

muestra 6 del ámbito 2 de estudio se obtiene un velocidad de estabilización para la fase 1 de estabilización de 0,003mg/min para el etinilestradiol y de 0,0008mg/min para el levonorgestrel; en la muestra 6 del ámbito 3 de estudio para la fase 1 de estabilización, por otro lado, se obtiene una velocidad de estabilización de 0,0037mg/min para el etinilestradiol y de 0,0009mg/min para el levonorgestrel.

Para el análisis de la fase 2 de estabilización se obtiene para la muestra 6 del ámbito 2 de estudio que la velocidad de estabilización para el etinilestradiol corresponde a: $-2E-7$ mg/min y para el levonorgestrel a: $-8E-7$ mg/min. En cuanto a la muestra 6 del ámbito 3 de estudio se obtiene una velocidad de estabilización para el etinilestradiol de $-2E-7$ mg/min y para el levonorgestrel de $-6E-7$ mg/min. De la misma forma se obtienen los resultados para las demás muestras que se muestran en el Cuadro 3.7 para las velocidades de estabilización obtenidas para la fase 1 de los ámbitos de estudio 2 y 3; el Cuadro 3.8 y el Cuadro 3.9 para las velocidades de estabilización obtenidas para la fase 2 de los mismos.

Cuadro 3.7. Velocidades de estabilización de etinilestradiol y levonorgestrel durante la fase 1 de los ámbitos de estudio 2 y 3.

Muestra	Ámbito de estudio 2 (mg/min)		Ámbito de estudio 3 (mg/min)	
	LN	EE	LN	EE
1	0,0037	0,0009	0,0037	0,001
2	0,0027	0,0008	0,0037	0,0009
3	0,0029	0,0008	0,0036	0,001
4	0,0024	0,0007	0,0033	0,0008
5	0,0035	0,0009	0,0040	0,001
6	0,0030	0,0008	0,0037	0,0009
7	0,0028	0,0009	0,0036	0,001
8	0,0027	0,0007	0,0034	0,0009

Cuadro 3.8 Velocidades de estabilización de etinilestradiol y levonorgestrel durante la fase 2 del ámbito de estudio 2.

Muestra	Levonorgestrel (mg/min)	Etinilestradiol (mg/min)
1	-9E-8	-5E-8
2	-1E-6	-4E-7
3	-3E-7	-4E-8
4	-7E-7	-3E-7
5	-4E-7	-7E-8
6	-8E-7	-2E-7
7	-6E-7	-3E-8
8	-8E-7	-7E-8

Cuadro 3.9 Velocidades de estabilización de etinilestradiol y levonorgestrel durante la fase 2 del ámbito de estudio 3.

Muestra	Levonorgestrel (mg/min)	Etinilestradiol (mg/min)
1	-7E-8	-5E-8
2	-5E-7	-2E-7
3	-7E-8	-4E-8
4	-3E-7	-1E-7
5	-1E-7	-9E-8
6	-6E-7	-2E-7
7	-4E-7	-8E-8
8	-2E-7	-1E-8

3.2 Análisis estadístico.

Tal y como se planteó en la definición del plan experimental se desarrolla un análisis estadístico factorial de tipo 2^3 para cada ámbito de estudio utilizando la variable respuesta definida en el capítulo de la metodología (porcentaje de estabilización de etinilestradiol y porcentaje de estabilización de levonorgestrel al haber transcurrido una hora de reacción). Como primer punto del análisis se proceden a calcular los efectos de cada variable y las interacciones entre estas, seguido se calcula el intervalo de no significancia para el estudio; de esta forma se señala cuales variables o interacciones presentan efectos que se encuentran fuera del intervalo; las variables o interacciones que presenta esta característica son aquellas que afectan significativamente el proceso.

Además se presentan gráficos de normalidad y de análisis de residuos para complementar y dar validez a los resultados obtenidos del análisis de los efectos de las variables, garantizando así, datos de calidad para tener confianza a la hora de concluir.

Se presenta el análisis de cada ámbito y para cada principio activo por separado con el fin de mostrar la información de una forma más ordenada, finalmente se muestran conclusiones globales de los resultados obtenidos de ambos ámbitos de estudio.

3.2.1 Análisis estadístico del ámbito 2 de estudio para el etinilestradiol.

Los valores obtenidos para los efectos de variable e interacciones en el ámbito 2 de estudio para el etinilestradiol se muestran en el Cuadro 3.10 y se calculan de acuerdo a la siguiente expresión matemática.

$$E = \left(\frac{x_1 + x_2 + x_3 + x_4}{4} \right) - \left(\frac{y_1 + y_2 + y_3 + y_4}{4} \right) \quad (3.1)$$

Donde,

E: Efecto de la variable o interacción de variables, adimensional.

x: Promedio del resultado obtenido en muestra que utiliza el nivel alto de la variable o interacción, %.

y: Promedio del resultado obtenido en muestra que utiliza el nivel bajo de la variable o interacción, %.

En cuanto al cálculo del intervalo de no significancia se obtiene inicialmente una varianza de los resultados obtenidos para cada muestra del plan experimental, estos datos se muestran en el Cuadro 3.11. A partir de estos se calculan los parámetros: s_y^2 , S_E y GL , necesarios para determinar el intervalo de no significancia, obteniéndose respectivamente los siguientes valores: 29,78, 2,7288 y 8; las expresiones matemáticas para llegar a dichos resultados se muestran a continuación.

Cuadro 3.10 Efectos de variables e interacciones de variables en el ámbito 2 de estudio para el etinilestradiol.

Variable o interacción	Efecto
V1 (pH)	-1,4087
V2 (Concentración H ₂ O ₂)	9,8413
V3 (Concentración Fe ⁺²)	-6,1020
I12	-3,2708
I13	-0,1300
I23	2,5894
I123	5,9165

$$s_y^2 = (p - 1) * \frac{\sum S_y^2}{k * (p - 1)} \quad (3.2)$$

Donde,

s_y^2 : Varianza global, adimensional.

p: Número de repeticiones, adimensional.

k: Número de muestras, adimensional.

S_y^2 : Varianza de muestra, adimensional

$$S_E = \sqrt{\frac{4}{N} * s_y^2} \quad (3.3)$$

Donde,

S_E : Desviación estándar para el análisis factorial, adimensional.

N: Número total de pruebas adimensional.

S_y^2 : Varianza global, adimensional.

Cuadro 3.11 Varianzas para los resultados obtenidos para cada muestra en el ámbito 2 de estudio para el etinilestradiol.

Muestra	Observación 1(%)	Observación 2(%)	Promedio(%)	S_y^2
8	65,69	69,26	67,47	6,36
4	73,10	77,67	75,38	10,44
6	83,78	84,04	83,91	0,03
2	76,07	70,81	73,44	13,81
7	64,96	64,70	64,83	0,03
3	51,37	69,91	60,64	171,81
5	78,03	71,20	74,61	23,36
1	78,21	73,22	75,72	12,45

$$GL = k * (p - 1) \quad (8.4)$$

Donde,

GL: Grados de libertad, adimensional.

k: Número de muestras, adimensional.

p: Número de repeticiones, adimensional.

Finalmente, se hace uso de una tabla estadística de t de student para dos colas donde se obtiene el valor de t para 8 grados de libertad con 95% de confianza (2,31), con todo esto se determina que el intervalo de no significancia para el ámbito 2 de estudio para el etinilestradiol comprende los valores entre -6,30 y 6,30. El cálculo para lo obtención del mismo se muestra a continuación:

$$INS = \pm T * S_E = \pm 2,31 * 2,7288 = \pm 6,30 \quad (8.5)$$

Donde,

INS: Intervalo de no significancia, adimensional.

T: t de student, adimensional.

S_E: Desviación estándar para el análisis factorial, adimensional.

A partir del intervalo de no significancia obtenido y los valores de los efectos de cada variable e interacciones de las mismas, se aprecia que el único efecto que está fuera del INS, es el de la variable 2, la cual corresponde a la concentración inicial de H₂O₂, además como se puede apreciar en el Cuadro 3.10 el efecto de la variable 2 presenta un valor positivo, lo cual se interpreta como que al utilizar el nivel alto de esta variable se obtiene un efecto positivo en el resultado final, es decir una mayor estabilización del principio activo; por lo tanto se determina que a partir del análisis factorial para el ámbito 2 de estudio para el etinilestradiol la única variable que tiene un efecto significativo sobre el proceso es la concentración inicial de H₂O₂ y se recomienda utilizar el nivel alto del ámbito estudiado, es decir 3 gotas de H₂O₂ al 30% por cada 100 mL de muestra por tratarse.

Con el fin de mostrar la normalidad entre los datos obtenidos para los efectos de las variables y las interacciones de estas se realiza un gráfico de normalidad; en este se debe observar que los efectos no significativos se comportan de acuerdo a una distribución lineal de los datos en el gráfico, mientras que los efectos significativos deben de presentar una desviación apreciable con respecto a dicha distribución. Esta información se muestra en la Figura 3.23, donde se puede observar que efectivamente los efectos de las variables e interacciones siguen un comportamiento de linealidad, y aunque el efecto de la variable 2 (significativo) que presenta un valor de 9,8413 se observa cerca de ese comportamiento lineal, muestra una ligera desviación que verifica la significancia de la variable en el proceso.

Paralelo a esto en el análisis de residuos se verifica el principio de normalidad entre los datos obtenidos mediante el modelo definido para describir el comportamiento de los resultados analizados y se verifica la aleatoriedad de las pruebas, ambos son principios que deben de cumplirse para ejecutar un análisis factorial con validez.

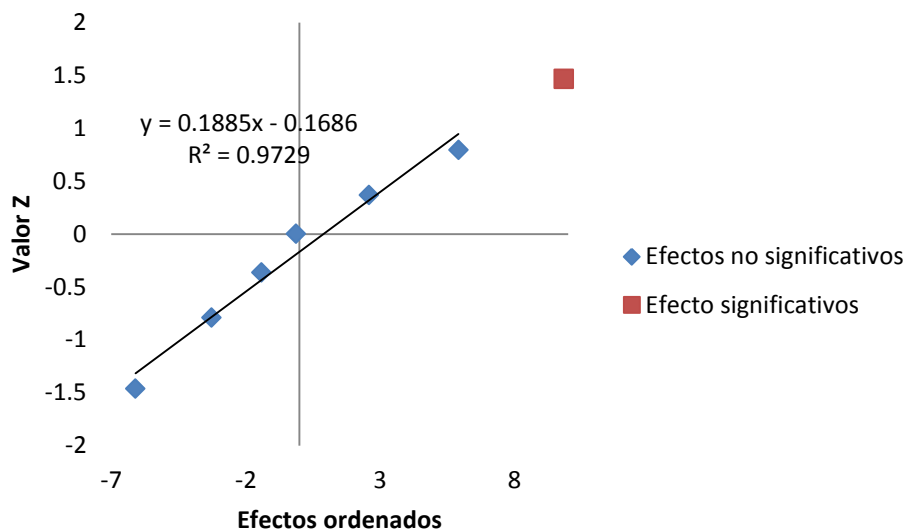


Figura 3.23 Distribución de normalidad para los efectos de las variables e interacciones para el ámbito 2 de estudio para el etinilestradiol.

El modelo mencionado anteriormente obtenido para el ámbito 2 de estudio para el etinilestradiol responde a la siguiente expresión matemática general, donde se debe aclarar que se omiten los efectos no significativos para el proceso.

$$y = \bar{y} + \frac{E_1}{2}x_1 + \frac{E_2}{2}x_2 + \frac{E_3}{2}x_3 + \frac{I_{12}}{2}x_{12} + \frac{I_{13}}{2}x_{13} + \frac{I_{23}}{2}x_{23} + \frac{I_{123}}{2}x_{123} \quad (8.6)$$

Los valores obtenidos de la aplicación del modelo para cada muestra se presentan en el Cuadro 3.12, junto a los valores experimentales y la diferencia entre ambos datos, la cual recibe el nombre de residuos.

Tal y como se observa en la Figura 3.24 los datos obtenidos con el modelo propuesto se agrupan de acuerdo a un comportamiento lineal, lo cual verifica el supuesto de normalidad, además en la Figura 3.25 se aprecia que no existe un patrón específico al graficar los residuos contra el resultado obtenido con el modelo para cada muestra, por lo tanto se comprueba el principio de aleatoriedad de las corridas de las muestras.

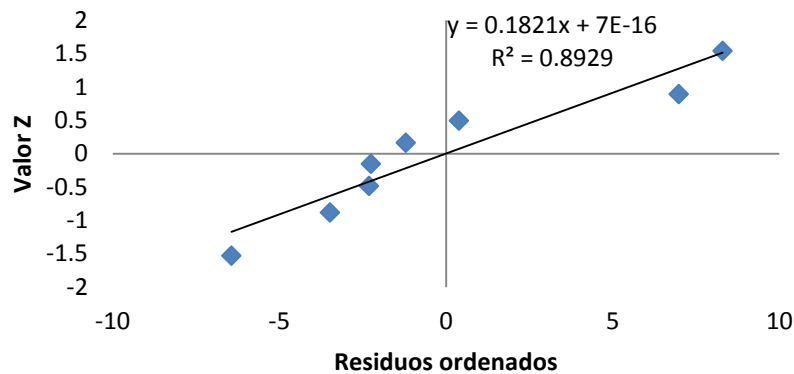


Figura 3.24 Distribución de normalidad para el análisis de residuos del ámbito 2 de estudio para el etinilestradiol.

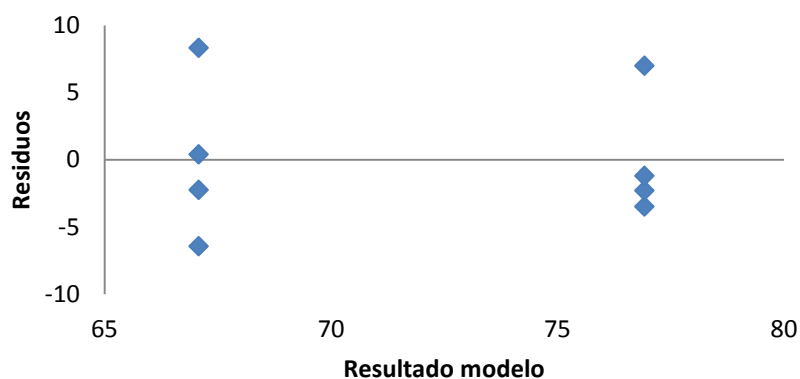


Figura 3.25 Indicador de aleatoriedad del análisis de residuos para el ámbito 2 de estudio para el etinilestradiol.

Cuadro 3.12 Valores experimentales, valores obtenidos del modelo propuesto y valores residuales generados del análisis de residuos para el ámbito 2 de estudio para el etinilestradiol.

Número de muestra	Valor experimental (%)	Valor calculado (%)	Residuo (%)
8	67,47	67,08	0,39
4	75,38	67,08	8,30
6	83,91	76,92	6,99
2	73,45	76,92	-3,48
7	64,83	67,08	-2,25
3	60,64	67,08	-6,44
5	74,61	76,92	-2,31
1	72,00	76,92	-1,20

3.2.2 Análisis estadístico del ámbito 2 de estudio para el levonorgestrel.

En lo que respecta al análisis estadístico correspondiente al ámbito 2 de estudio para el levonorgestrel se sigue la misma metodología mostrada anteriormente para el

etinilestradiol. Los valores resultantes del cálculo de los efectos de las variables y de la interacción de las mismas se presentan en el Cuadro 3.13 y los valores obtenidos para s_y^2 se muestran en el Cuadro 3.14; además los resultados para S_y^2 , S_E y GL son respectivamente: 10,54, 1,6230 y 8, a partir de esto y con la utilización de un valor de t de student de 2,31 (95% de confianza) se obtiene un intervalo de no significancia que abarca los valores entre -3,75 y 3.75. Tomando todo esto en cuenta se observa que, al igual que para el etinilestradiol, al analizarse el ámbito 2 de estudio la única variable que tiene significancia en el proceso desde el punto de vista estadístico es la concentración inicial de H_2O_2 presente en la muestra y se recomienda utilizar esta variable en el nivel alto del ámbito, el cual corresponde a 3 gotas de H_2O_2 al 30% por cada 100 mL de muestra por tratarse.

Cuadro 3.13 Efectos de variables e interacciones de variables en el ámbito 2 de estudio para el levonorgestrel

Variable o interacción	Efecto
V1 (pH)	-3,3315
V2 (Concentración H_2O_2)	11,5049
V3 (Concentración Fe^{+2})	1,6223
I12	1,9725
I13	2,5634
I23	2,3107
I123	1,4584

Cuadro 3.14 Varianzas para los resultados obtenidos para cada muestra en el ámbito 2 de estudio para el levonorgestrel.

Muestra	Observación 1(%)	Observación 2(%)	Promedio(%)	s ² y
8	64,19	67,11	65,65	4,28
4	54,83	63,65	59,24	38,89
6	74,38	74,28	74,33	0,01
2	68,52	69,38	68,95	0,37
7	61,18	66,54	63,86	14,39
3	56,91	62,40	59,66	15,06
5	75,02	73,46	74,24	1,21
1	79,15	74,66	76,90	10,09

El comportamiento de normalidad para los efectos de las variables en estudio para el proceso se comprueba con el gráfico que se muestra en la Figura 3.26 donde se aprecia el comportamiento lineal entre los datos para los efectos no significativos, mientras que el efecto 2, el cual presenta significancia en el proceso se desvía considerablemente del comportamiento lineal, lo cual es un indicador de la significancia del efecto de dicha variable en el proceso. También es importante denotar que el efecto de la variable 1 (pH) se encuentra bastante cerca del límite de significancia, es por esta razón que se desvía considerablemente del resto de efectos no significativos, pero no lo suficiente para tener un efecto importante en el proceso desde el punto de vista estadístico.

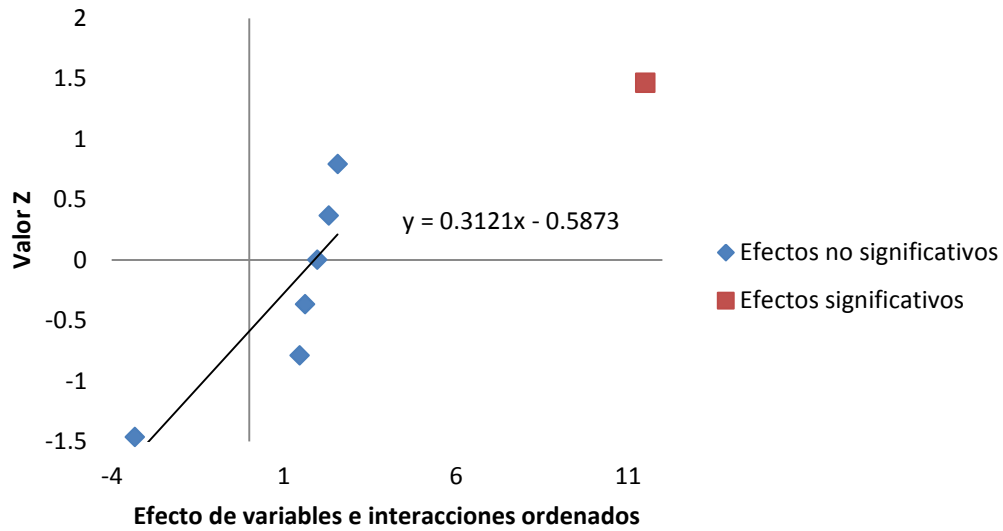


Figura 3.26 Distribución de normalidad para el ámbito de estudio 2 para el levonorgestrel.

Tras la aplicación del modelo para el proceso obtenido, utilizando la expresión matemática para este fin descrita anteriormente, se obtienen los valores mostrados en el Cuadro 3.15 y se aplica el análisis de residuos respectivo, esto con el fin de comprobar que los residuos se ajustan a una línea de tendencia lineal (presentan un comportamiento normal) y que las pruebas cuentan con la característica de aleatoriedad.

Cuadro 3.15 Valores experimentales, valores obtenidos del modelo propuesto y valores residuales generados del análisis de residuos para el ámbito 2 de estudio para el levonorgestrel.

Número de muestra	Valor experimental (%)	Valor calculado (%)	Residuo (%)
8	65,65	62,10	3,55
4	59,24	62,10	-2,86
6	74,33	73,61	0,72
2	68,95	73,61	-4,65
7	63,86	62,10	1,76
3	59,66	62,10	-2,44
5	74,24	73,61	0,63
1	76,90	73,61	3,30

Con el propósito de verificar el cumplimiento de dichas premisas para la ejecución del análisis factorial se muestra la Figura 3.27 donde se observa el comportamiento lineal entre los datos, verificándose así el principio de normalidad. En cuanto al principio de aleatoriedad de las muestras analizadas se verifica observando la Figura 3.28 donde es evidente que no se presenta ningún patrón entre la información graficada.

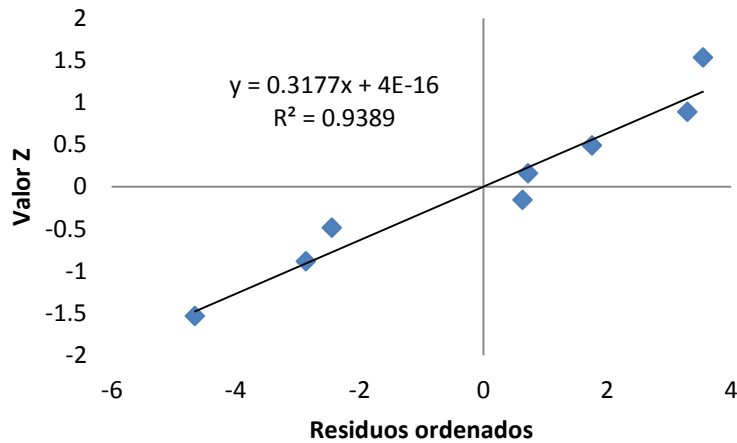


Figura 3.27 Distribución de normalidad para el análisis de residuos del ámbito 2 de estudio para el levonorgestrel.

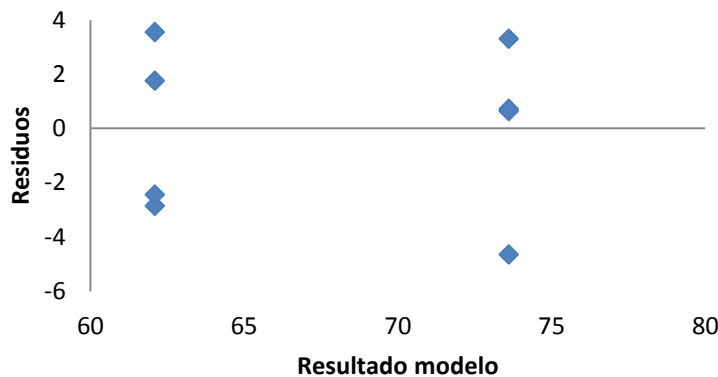


Figura 3.28 Indicador de aleatoriedad del análisis de residuos para el ámbito 2 de estudio para el levonorgestrel.

3.2.3 Análisis estadístico del ámbito 3 de estudio para el etinilestradiol.

Tal y como se desarrolló en los casos anteriores, se determinó el intervalo de no significancia para los efectos de las variables e interacciones analizadas, dentro del cual las variables o interacciones no representarían una influencia importante en el proceso. Para esto se presentan los datos obtenidos para los efectos de las variables e interacciones de las mismas en el Cuadro 3.16, mientras que los parámetros de relevancia para la determinación del intervalo de no significancia del respectivo análisis estadístico se muestran en el Cuadro

3.17. Tras el desarrollo de los cálculos se obtiene como resultados: $s^2_y = 18,28$, $S_E = 2,14$ y $GL = 8$, con estos datos y el uso de un valor de t de student de 2,31 correspondiente a un análisis de dos colas con un 95% y 8 grados de libertad, se obtiene un intervalo de no significancia que comprende los valores entre: -4,94 y 4,94.

Cuadro 3.16 Efectos de variables e interacciones de variables en el ámbito 3 de estudio para el etinilestradiol.

Variable o interacción	Efecto
V1 (pH)	-5,3686
V2 (Concentración H ₂ O ₂)	9,4356
V3 (Concentración Fe ⁺²)	-0,3578
I12	-0,7998
I13	1,0572
I23	-1,4074
I123	-0,8954

Con base en el intervalo de no significancia determinado y los valores para los efectos de las variables e interacciones de estas se denota que las variables que presentan significancia en el proceso el ámbito 3 de estudio para etinilestradiol son el pH inicial del proceso y la concentración inicial de H₂O₂; como el efecto del pH inicial del proceso presenta un valor negativo, se interpreta como que el uso del nivel alto de la variable provoca una respuesta negativa en el resultado final, es decir una estabilización del etinilestradiol más baja, mientras que la concentración inicial de H₂O₂ presenta un efecto positivo, es decir, al utilizar el nivel alto de la variable se ve reflejada una estabilización mayor del etinilestradiol. Tomando esto en cuenta se puede concluir que de acuerdo al análisis estadístico realizado para el ámbito 3 de estudio para etinilestradiol las únicas variables o interacciones que afectan significativamente al proceso son: el valor de pH inicial, el cual se recomienda utilizar en su nivel bajo (3,0) y la concentración inicial de H₂O₂, la cual se define como beneficioso utilizar el nivel alto (4 gotas de H₂O₂ al 30% por cada 100 mL de muestra por tratarse con el proceso)

Cuadro 3.17 Varianzas para los resultados obtenidos para cada muestra en el ámbito 3 de estudio para el etinilestradiol.

Muestra	Observación 1(%)	Observación 2(%)	Promedio(%)	s ² y
8	79,54	78,07	78,81	1,08
4	70,87	73,70	72,29	4,00
6	87,74	91,37	89,55	6,62
2	88,68	77,77	83,22	59,54
7	72,71	83,10	77,90	54,03
3	78,42	72,15	75,29	19,63
5	86,91	88,34	87,63	1,02
1	82,01	81,23	81,62	0,31

El comportamiento de normalidad entre los efectos de las variables e interacciones no significativas en el proceso para el ámbito 3 de estudio de etinilestradiol se observa en la Figura 3.29 donde se logra apreciar que dichos efectos se mantienen agrupados de forma tal que podrían responder a un modelo lineal, comportamiento que tal y como se observa, no se aprecia con los efectos de las variables 1 y 2 que presentan una desviación más notable, tal y como es esperado por tratarse de las variables significativas para el proceso en el ámbito específico de estudio.

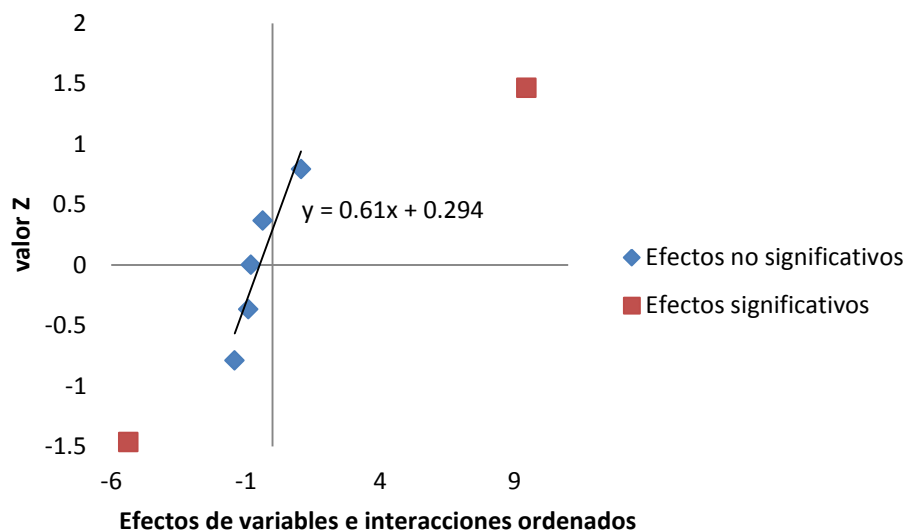


Figura 3.29 Distribución de normalidad para el ámbito de estudio 3 para el etinilestradiol.

Con el fin de verificar los principios de normalidad y aleatoriedad de los resultados obtenidos mediante el modelo generado del análisis de los efectos de las variables significativas, se procede a calcular los resultados que brinda el modelo para cada combinación de niveles de las variables de estudio, dichos datos se observan en el Cuadro 3.18 y se realiza el respectivo análisis de residuos con el fin de comprobar dichas premisas para la ejecución del análisis estadístico factorial, lo cual da validez a los resultados obtenidos del mismo

A partir del análisis de residuos se generan la Figura 3.30 y la Figura 3.31 donde se observa respectivamente, que los residuos se comportan de acuerdo a una distribución normal y que la ejecución de las pruebas presenta evidencia de aleatoriedad, ya que no se observa ningún patrón entre los residuos y los resultados calculados con el modelo determinado. De esta forma se cumple con las premisas y se da validez a los resultados obtenidos en el respectivo análisis estadístico.

Cuadro 3.18 Valores experimentales, valores obtenidos del modelo propuesto y valores residuales generados del análisis de residuos para el ámbito 3 de estudio para el etinilestradiol.

Número de muestra	Valor experimental (%)	Valor calculado (%)	Residuo (%)
8	78,81	78,76	0,05
4	72,29	73,39	-1,10
6	89,55	88,19	1,36
2	83,22	82,82	0,40
7	77,90	78,76	-0,85
3	75,29	73,39	1,90
5	87,63	88,19	-0,56
1	81,62	82,82	-1,20

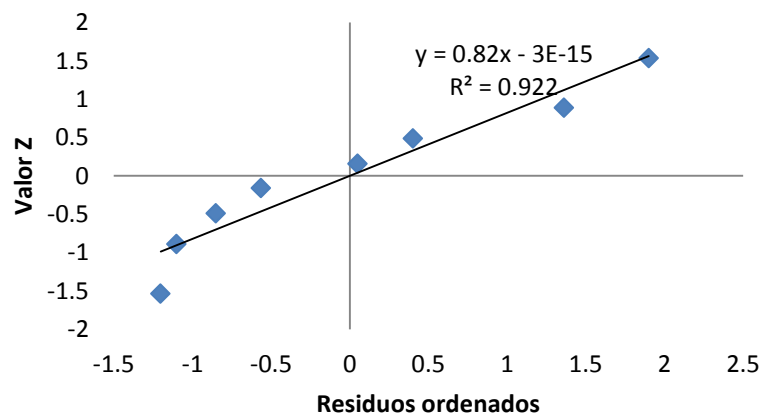


Figura 3.30 Distribución de normalidad para el análisis de residuos del ámbito 3 de estudio para el etinilestradiol.

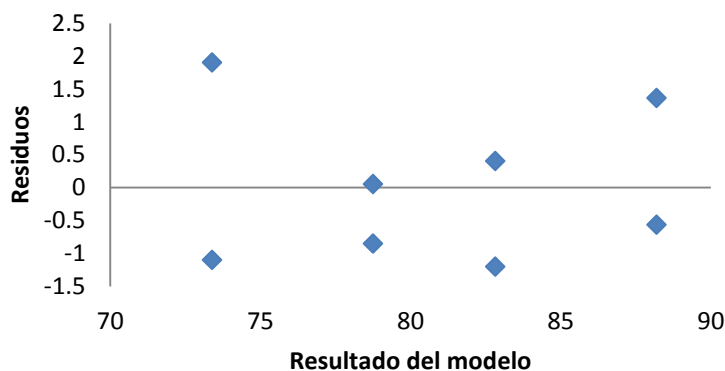


Figura 3.31 Indicador de aleatoriedad del análisis de residuos para el ámbito 3 de estudio para el etinilestradiol.

3.2.4 Análisis estadístico del ámbito 3 de estudio para el levonorgestrel.

En este caso se obtuvieron como resultados para el s^2_y , S_E y GL ; 6,78, 1,30 y 8 respectivamente; al igual que en los casos anteriores se utiliza un valor de t de student de 2,31 que obedece a un análisis de dos colas para 8 grados de libertad y un 95% de confianza; con estos datos se determina el intervalo de no significancia, el cual está comprendido por los valores entre: -3,01 y 3,01. Los parámetros de relevancia para el cálculo de este intervalo se muestran en el Cuadro 3.19

En cuanto a los efectos de cada variable así como los efectos de las interacciones entre varias variables se muestran los valores obtenidos en el Cuadro 3.20. Al observar estos datos junto con el intervalo de no significancia se determina que los variables e interacciones fuera del intervalo, por lo tanto significativas para el proceso son: el pH inicial de la muestra al someterse al tratamiento, esta variable presenta un efecto con un valor negativo, por lo tanto los mejores resultados en la estabilización del principio activo se obtienen al utilizar el nivel bajo de esta variable (3,0); la segunda variable significativa identificada es la concentración inicial de H_2O_2 , para esta el efecto obtenido es un valor positivo, por esto se determina que se debe utilizar el nivel alto de la misma para obtener los resultados más ventajosos (4 gotas de H_2O_2 al 30% por cada 100mL de muestra por tratarse); por último se determina que la interacción entre la concentración inicial de H_2O_2 y

la concentración inicial de Fe^{+2} presenta un efecto significativo en el proceso; al tratarse de una interacción entre dos variables se determinan las condiciones más favorables mediante un análisis distinto al que se ha mostrado en los casos anteriores para efectos de variables, el cual se comentará más adelante.

La significancia de estas variables e interacciones se puede apreciar en el gráfico de normalidad de los efectos ordenados Figura 3.32, en el cual se observa que la variable 1 y 2 se desvían bastante del comportamiento lineal que muestran los demás datos, mientras que la interacción entre las variables 2 y 3 se mantiene ligeramente desviado pero muy cercana al comportamiento de los demás efectos no significativos, esto se justifica porque el efecto que presenta dicha interacción se encuentra muy cercano al límite del intervalo de no significancia.

Cuadro 3.19 Efectos de variables e interacciones de variables en el ámbito 3 de estudio para el levonorgestrel.

Variable o interacción	Efecto
V1 (pH)	-3,7832
V2 (Concentración H_2O_2)	7,6555
V3 (Concentración Fe^{+2})	1,3334
I12	-0,9585
I13	-1,1114
I23	-3,1654
I123	-0,6931

Cuadro 3.20 Varianzas para los resultados obtenidos para cada muestra en el ámbito 3 de estudio para el levonorgestrel.

Muestra	Observación 1(%)	Observación 2(%)	Promedio(%)	s ² y
8	68,35	69,94	69,15	1,27
4	68,43	65,05	66,70	5,71
6	79,34	81,13	80,23	1,61
2	80,51	74,08	77,30	20,62
7	76,68	71,46	74,07	13,62
3	69,79	71,86	70,82	2,15
5	81,32	79,10	80,21	2,48
1	75,50	71,83	73,66	6,75

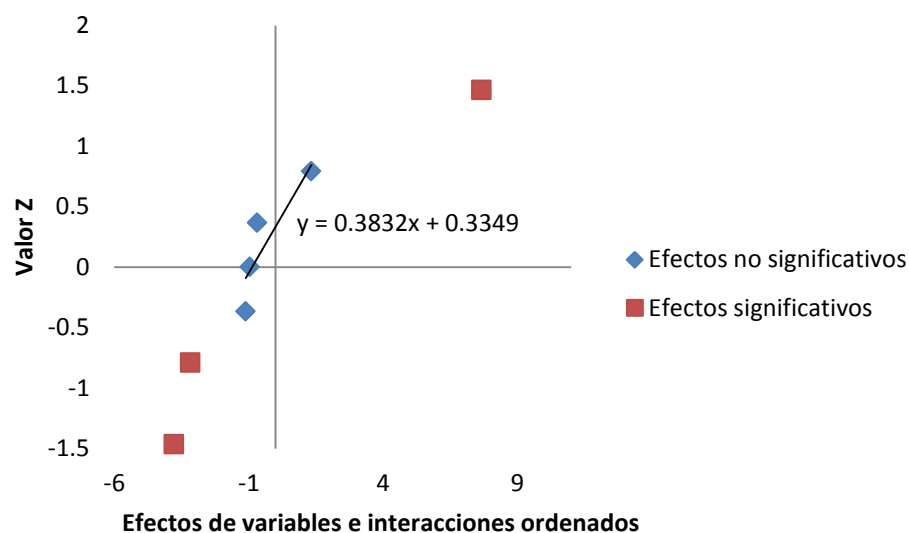


Figura 3.32 Distribución de normalidad para el ámbito de estudio 3 para el levonorgestrel.

Tal y como se mencionó anteriormente para determinar cuáles son las mejores condiciones por utilizar para cada variable cuando se obtiene que el efecto de una interacción de dos

variables es significativo, conlleva un procedimiento distinto. Este consiste en realizar un análisis de los resultados tomando en cuenta las variables de la interacción en cuestión; para este caso la variable 2 y 3, de modo que se calcula el promedio de la variable respuesta para cada combinación entre los niveles de cada variable posible, es decir, para las muestras donde se utilizaron, ambas variables en nivel alto, ambas variables en nivel bajo, variable 2 en nivel alto con variable 3 en nivel bajo y por último, variable 2 en nivel bajo con variable 3 en nivel alto. Los resultados obtenidos para estas combinaciones se muestran a continuación en el Cuadro 3.21, donde se representa el nivel alto de cada variable con un signo de + y el nivel bajo de cada variable con un signo de -.

Cuadro 3.21 Resultados del análisis de la interacción entre las variables 2 y 3 para la determinación de las mejores condiciones para el ámbito 3 de estudio para el levonorgestrel.

Nivel de variable 2	Nivel de variable 3	Promedio de estabilización de levonorgestrel (%)
+	+	75,48
+	-	78,77
-	+	72,45
-	-	67,95

Ya que para el proceso lo más beneficioso es obtener el mayor porcentaje de estabilización del principio activo, se observa y determina que las mejores condiciones se obtienen al utilizar la variable 2 (concentración inicial de H_2O_2) en el nivel alto, tal y como se había determinado del análisis del efecto simple de la variable; mientras que la variable 3 (Concentración inicial de Fe^{+2}) es beneficioso utilizarse en su nivel bajo.

De esta forma, en términos generales de los resultados obtenidos del análisis estadístico del ámbito 3 de estudio para el levonorgestrel, las mejores condiciones determinadas son: pH inicial de la muestra al tratarse igual a 3,0, concentración inicial de H_2O_2 igual a 4 gotas de H_2O_2 al 30% por cada 100mL de muestra por tratarse y por último concentración inicial de Fe^{+2} equivalente a 74,4mg de $FeSO_4$ heptahidratado.

Por último, a modo de verificación de las premisas para ejecutar un análisis factorial con validez estadística se lleva a cabo el análisis de residuos. Para esto, al igual que en los casos anteriores, se verifica que los residuos ordenados presenten un comportamiento lineal al graficarse contra el valor Z de distribución normal, esta información se aprecia en la Figura 3.33. Además se muestran los resultados obtenidos para cada muestra según el modelo generado con los efectos de cada variable tras la aplicación del análisis factorial en el Cuadro 3.22

La última premisa que restaría por verificar es la de aleatoriedad de la ejecución de las corridas, para esto se observa que al graficarse los residuos contra los resultados obtenidos en el modelo para el proceso, generado tras la ejecución del análisis factorial, no presenta ningún patrón, esta información se presenta a continuación en la Figura 3.34. De esta forma se cumple con las premisas para ejecutar un análisis factorial con validez estadística.

Cuadro 3.22 Valores experimentales, valores obtenidos del modelo propuesto y valores residuales generados del análisis de residuos para el ámbito 3 de estudio para el levonorgestrel.

Número de muestra	Valor experimental (%)	Valor calculado (%)	Residuo (%)
8	69,15	70,51	-1,35
4	66,74	66,72	0,02
6	80,24	81,33	-1,09
2	77,30	77,54	-0,24
7	74,07	73,67	0,40
3	70,82	69,89	0,94
5	80,21	78,16	2,05
1	73,66	74,38	-0,71

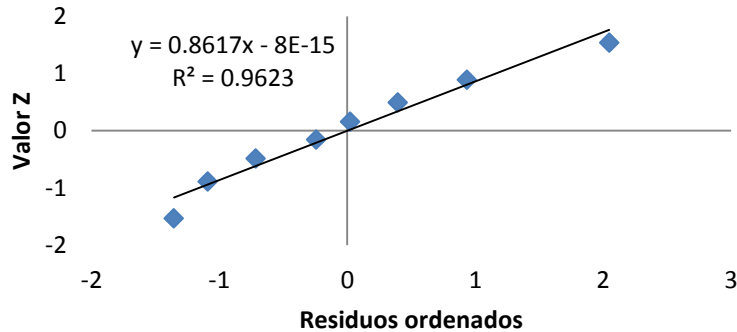


Figura 3.33. Distribución de normalidad para el análisis de residuos del ámbito 3 de estudio para el levonorgestrel.

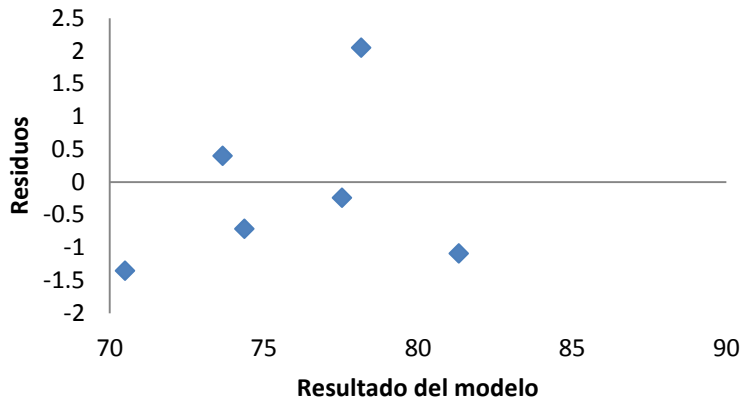


Figura 3.34 Indicador de aleatoriedad del análisis de residuos para el ámbito 3 de estudio para el levonorgestrel.

3.3 Condiciones operacionales más favorables para llevar a cabo el proceso de estabilización de los principios activos de interés con el uso de la tecnología Foto-Fenton.

Recapitulando los resultados obtenidos en la ejecución de los análisis factoriales para los ámbitos de estudio 2 y 3 y para los principios activos etinilestradiol y levonorgestrel se definen cuáles son las condiciones operacionales para la ejecución del proceso de estabilización de etinilestradiol más favorables, dentro de los niveles para las variables que formaron parte del estudio.

Para definir estas condiciones más favorables para ejecutar el proyecto, se parte del hecho que los niveles bajos para las variables del ámbito de estudio 3, son los mismos que los niveles altos para las variables del ámbito 2, es decir al unir ambos ámbitos para las distintas variables se obtiene un solo ámbito más amplio y continuo.

3.3.1 Determinación de las mejores condiciones de operación para el pH inicial de la muestra.

Con base en la determinación de las variables significativas para el proceso obtenida en el análisis factorial para el ámbito 2 de estudio, tanto para el etinilestradiol como para el levonorgestrel, se define que el pH inicial de la muestra por tratarse no tiene un efecto significativo por lo tanto al seleccionar un valor entre 2,5 y 3,0 no representa una diferencia significativa la escogencia de un valor sobre otro. A diferencia de esto, para el ámbito 3 en el estudio de la estabilización de ambos principios activos, se obtiene como resultado que los mejores resultados para el proceso se generan al utilizar el nivel bajo del estudio, el cual corresponde a 3,0.

Por lo tanto, tomando en cuenta que no hay diferencia significativa entre un pH inicial igual a 2,5 y un pH inicial igual a 3, pero si la hay al comparar los resultados obtenidos con un pH inicial igual a 3,0 y otro igual a 3,5. Se determina que las mejores condiciones por utilizar para la variable pH inicial de la muestra por tratarse, es un valor de 3,0

3.3.2 Determinación de las mejores condiciones de operación para la concentración inicial de H₂O₂

Al observar el ámbito 2 de estudio se determinó que la única variable significativa para la estabilización de ambos principios activos considerados en este proyecto es la concentración de H₂O₂ y presenta mejores resultados cuando se utiliza en el nivel alto (3 gotas de H₂O₂ al 30% por cada 100mL de muestra por tratarse), mientras que el análisis del ámbito 3 demostró que los mejores resultados obtenidos para el proceso concuerdan con la utilización del nivel alto de la variable (4 gotas de H₂O₂ al 30 % por cada 100mL de muestra por tratarse). Por lo tanto se determina que las mejores condiciones para la concentración inicial de H₂O₂ se obtienen al utilizarse 4 gotas de H₂O₂ al 30% por cada 100mL de muestra por tratarse, ya que al compararse los resultados entre la utilización de 2

gotas y 3 gotas de H_2O_2 , es preferible utilizar 3 gotas, pero en el momento en que se compara este valor con la utilización de 4 gotas de H_2O_2 al 30% por cada 100mL de muestra por tratarse, se obtiene que los mayores porcentajes de estabilización de principio activo se registran al utilizarse 4 gotas de H_2O_2 al 30% por cada 100mL

Es decir, en términos globales de los dos ámbitos de estudio analizados se determina que la concentración inicial de H_2O_2 más favorable para el proceso se obtiene al utilizarse 4 gotas de H_2O_2 al 30% para cada muestra por tratarse. Esta conclusión se respalda con los datos obtenidos tanto del análisis del efecto de la variable simple, como del análisis de una interacción entre dos variables como fue el caso del análisis del ámbito 3 para el levonorgestrel, donde el efecto de la interacción entre las variables 2 y 3 resultó significativo.

3.3.3 Determinación de las mejores condiciones de operación para la concentración inicial de Fe^{+2} .

Con base en el análisis factorial para el ámbito 2 de estudio para ambos principios activos de relevancia para el proyecto, la concentración inicial de Fe^{+2} utilizada para la ejecución del proceso no afecta significativamente a los resultados obtenidos, por lo tanto es indiferente la utilización del nivel alto o bajo en este rango de estudio. Por otro lado al observar los resultados obtenidos del análisis factorial del ámbito 3 de estudio, se aprecia que para la estabilización del etinilestradiol esta variable tampoco tienen un efecto significativo en este rango; mientras que para la estabilización del levonorgestrel, la concentración inicial de Fe^{+2} es de relevancia para el proceso por la interacción de esta con la concentración inicial de H_2O_2 .

Por lo tanto, tras el análisis de la interacción entre estas variables recién mencionadas, se obtiene que la mejor condición para la concentración inicial de Fe^{+2} en la ejecución del proceso de estabilización de estos principios activos se obtiene al utilizarse 74,4mg de FeSO_4 heptahidratado por cada 100mL de muestra por tratarse.

A manera de síntesis, se determinó tras la evaluación de los resultados obtenidos en los análisis factoriales de los ámbitos 2 y 3 para el etinilestradiol y el levonorgestrel y al

contemplar que ambos ámbitos de estudio comparten límites, de forma tal que al unirlos generan un ámbito global continuo, que permite concluir de manera general utilizando la información obtenida de ambos ámbitos de estudio, que las mejores condiciones para llevar a cabo el proceso de estabilización de etinilestradiol y levonorgestrel son las siguientes:

- pH inicial de las muestras por tratarse: 3,0
- Concentración inicial de H_2O_2 : 4 gotas de H_2O_2 al 30% por cada 100mL de muestra por tratarse.
- Concentración inicial de Fe^{+2} : 74,4 mg de $FeSO_4$ heptahidratado por cada 100mL de muestra por tratarse.

3.4 Costos de la aplicación del proceso de estabilización por m^3 de residuos farmacéuticos.

Con base en las condiciones más favorables para el proceso seleccionadas anteriormente se obtiene que por cada 100mL de desechos por tratarse se tiene un consumo de 0,0000744kg de sulfato de hierro (II) heptahidratado, 0,002L de peróxido de hidrógeno al 30%, 0,004g de hidróxido de sodio y 0,00053mL de ácido sulfúrico concentrado. Estos dos últimos son utilizados para la regulación del pH y se estima que por muestra (100mL) se utiliza en promedio 1mL de una solución con una concentración de 0,1M para cada sustancia.

A partir de estos resultados y tomando en cuenta que cada muestra analizada consta de un volumen de 100mL, se proyecta la cantidad de cada reactivo para tratar $1m^3$ de desechos en cuestión (equivalente al volumen de 10 000 muestras de las estudiadas). Cabe destacar que la proyección para el manejo de $1m^3$ responde simplemente a una estimación para contar con un dato de referencia del costo de las pruebas de laboratorio utilizando este volumen como base de cálculo, pero no se considera someter $1m^3$ de los desechos del estudio al proceso estudiado, ya que esto sería sumamente ineficiente al tratarse de un proceso a nivel de laboratorio. De esta forma se obtiene que se necesita de: 0,744kg de sulfato de hierro (II) heptahidratado, 2L de peróxido de hidrógeno al 30%, 40g de hidróxido de sodio y 5,3mL de ácido sulfúrico concentrado, además de la utilización de la lámpara ultravioleta por 10 000 horas, la cual tiene un consumo de potencia eléctrica de 23 W, equivalente a un

consumo total de 828 MJ para el tratamiento de 1m^3 de desechos farmacéuticos que por ende genera un costo de gasto de electricidad.

De esta forma solo falta mostrar los costos de cada uno de estos factores para poder determinar un costo total del proceso a nivel de laboratorio utilizando como base de cálculo 1m^3 de los desechos de origen farmacéutico que contienen principios activos propios de productos farmacéuticos hormonales.

Dichos costos unitarios así como el valor total para cada factor que forma parte de los costos de la aplicación el proceso, se muestra en el Cuadro 3.22. y Cuadro 3.23 respectivamente. (Gutis Ltda, 2017) (Instituto Costarricense de Electricidad, 2017).

Cuadro 3.22. Costos unitarios para cada factor de relevancia para la aplicación del proceso de estabilización de etinilestradiol mediante la tecnología Foto-Fenton.

FeSO ₄ (¢/kg)	H ₂ O ₂ (¢/L)	NaOH (¢/g)	H ₂ SO ₄ (¢/mL)	Electricidad (¢/kWH)
126 400	306 240	0,63	16,5	116,9

Cuadro 3.23. Costos por metro cúbico de desecho farmacéutico de la aplicación del proceso de estabilización de etinilestradiol mediante la tecnología Foto-Fenton.

FeSO ₄ (¢/m ³)	H ₂ O ₂ (¢/m ³)	NaOH (¢/m ³)	H ₂ SO ₄ (¢/m ³)	Electricidad (¢/m ³)
94 042	612 480	25,2	87	26887

De esta manera se obtiene que el costo total del proceso a nivel de laboratorio, utilizando como base de cálculo 1m^3 de los desechos de origen farmacéutico con presencia de etinilestradiol y levonorgestrel, basado en la metodología estudiada es de ¢733 521. A pesar de que este dato representa el costo de llevar a cabo un proceso a nivel de laboratorio, se compara con los costos actuales que asume la empresa Gutis Ltda para manejar los desechos generados de los análisis químicos efectuados en el laboratorio de Control de

Calidad; los cuales alcanzan unos 400L mensuales y con base en la información proporcionada por la empresa encargada del manejo de estos residuos, el costo por tonelada métrica (aproximadamente 1 m³ de los residuos utilizados para el estudio del proceso) es de 1 000 \$ además se agrega un cargo de 250 \$ por transporte de los residuos, equivalente a un total de 712 500 ¢/m³ de acuerdo al tipo de cambio para el día 20 de noviembre del año 2017.

Al comparar los costos del manejo de desechos mediante una compañía externa y el proceso estudiado a nivel de laboratorio, se observa que son muy similares; por lo tanto, es de esperarse que al escalarse el proceso y diseñar una planta de tratamiento capaz de manejar la gran carga de desechos generados, se logren reducir los costos considerablemente con respecto al proceso a nivel de laboratorio, significando una mejor opción en relación con el manejo de los residuos que se está llevando a cabo actualmente con una empresa externa.

Conclusiones y recomendaciones.

Conclusiones.

- Se comprueba que la tecnología Foto-Fenton es útil para llevar a cabo un tratamiento de residuos que contienen etinilestradiol y levonorgestrel.
- Se verifica que la presencia de excipientes y solventes utilizados durante los análisis de control de calidad no interfieren de tal forma que bloqueen totalmente el efecto de estabilización sobre los principios activos de interés.
- Se determinó que las mejores condiciones para la aplicación del proceso de estabilización de etinilestradiol y levonorgestrel presentes en residuos del laboratorio de Control de Calidad propios de los análisis químicos realizados son: pH inicial de las muestras igual a 3, concentración inicial de peróxido de hidrógeno al 30% igual a 4 gotas/100mL de muestra y concentración inicial de sulfato de hierro heptahidratado igual a 74,4mg/100mL de muestra.
- Se obtiene un costo total de ¢733 521 para estabilizar 1m³ de residuos farmacéuticos mediante el uso del proceso estudiado con las mejores condiciones de operación definidas en el presente proyecto.

Recomendaciones.

- Evaluar la aplicación del proceso estudiado a residuos procedentes del área de la planta de producción de Gutis Ltda.
- Estudiar la aplicabilidad del proceso estudiado en la estabilización de residuos de otros productos farmacéuticos que cuenten en su composición con etinilestradiol y/o levonorgestrel.
- Analizar el comportamiento del proceso analizado en la estabilización de residuos farmacéuticos de otros fármacos que cuenten con principios activos distintos a los hormonales.

- Valorar y estudiar el escalamiento del proceso estudiado para que el mismo cuente con una capacidad para la estabilización de flujos comunes de una industria farmacéutica y determinar los costos de la inclusión de este proceso en una planta de tratamiento de residuos de origen farmacéuticos.

Bibliografía.

Ay, F. (2010). *Advanced oxidation of amoxicillin by Fenton's reagent treatment*. Turquía. Journal of Hazardous Materials. 622-627.

Belgiorno, V. (2011). *Water, wastewater and soil treatment by Advanced Oxidation Processes*. Salerno. Edizioni ASTER.

Coleman, H. (2004a). *Photocatalytic degradation of 17 β -oestradiol, oestriol and 17 α -ethinyloestradiol in water monitored using fluorescence spectroscopy*. Irlanda del Norte. Applied Catalysis. 23-30.

Douglas, B; McDaniel, D; Alexander, J. (1994) *Conceptos y modelos de química inorgánica*. Barcelona. Editorial Reverté

Elmolla, E; Chaudhuri, M. (2009a). *Degradation of the antibiotics amoxicillin, ampicillin and cloxacillin in aqueous solution by the photo-Fenton process*. Malasia. Journal of Hazardous Materials. 1476-1481.

Elmolla, E; Chaudhuri, M. (2009b). *Optimization of Fenton process for treatment of amoxicillin, ampicillin and cloxacillin antibiotics in aqueous solutions*. Malasia. Journal of Hazardous Materials. 666-672.

Feng, X. (2004). *Degradation of estrone in aqueous solution by photo-Fenton system*. China. Science of the total environment. 229-237.

Homem, V; Alves, A; Santos, L. (2010). *Amoxicillin degradation at ppb levels by Fenton's oxidation using design of experiments*. Portugal. Science of the Total Environment. 6272-6280.

Homem, V. (2013). *Microwave-assisted Fenton's oxidation of amoxicillin*. Porto. Chemical Engineering Journal. 35-44.

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/13109#section=Top>. Accesado el 02 de septiembre del 2017.

Moncada, J. (2005). *Estadística para las ciencias del movimiento humano*. Costa Rica.

Editorial de la Universidad de Costa Rica.

Osorio, F., & Torres, J. (2011). *Tratamiento de aguas para la eliminación de microorganismos y agentes contaminantes*. Madrid: Ediciones Díaz de Santos.

Presidencia de la República de Costa Rica. (2010). *Reglamento para la disposición final de medicamentos, materias primas y sus residuos N°36039-S*. Presidencia de la República de Costa Rica.

Rozas, O; Contreras, D; Mondaca, M; Pérez-Moya, M; Mansilla, H. (2010). *Experimental design of Fenton and Photo-Fenton reactions for the treatment of ampicillin solutions*. Chile. *Journal of Hazardous Materials*. 1025-1030.

Shareef, A; Angove, M; Wells, J; Johnson, B. (2006). *Aqueous solubilities of estrone, 17beta-estradiol, 17alfa-ethynylestradiol and bisphenol A*. Australia. *Journal of Chemical Engineering Data*, 879-881.

Trovó, A; Pupo, R; Agüera, A; Fernandez-Alba, A, Malato, S. (2011). *Degradation of the antibiotic amoxicillin by photo-Fenton process-Chemical and toxicological assessment*. Brasil. *Water Research*. 1394-1402.

Verdoy, P; Mateu, J; Sagasta, S; Sirvent R. (2006). *Manual de Control Estadístico de calidad: teoría y aplicaciones*. España. Universitat Jaume I.

Nomenclatura.

ACN Acetonitrilo, adimensional.

C_n Concentración (mg/mL).

EE Etilnil estradiol, adimensional.

FDE Factor de dilución del estándar, mL..

GL Grados de libertad, adimensional.

LN Levonorgestrel, adimensional.

MeOH Metanol, adimensional.

N Número total de pruebas, adimensional.

P Potencia del estándar, mg/g.

T t de student, adimensional.

USP Farmacopea de los Estados Unidos (United States Pharmacopeia), adimensional.

k Número de muestras para análisis estadístico, adimensional.

m Masa, g.

p Número de repeticiones para análisis estadístico, adimensional.

t Tiempo, minApéndices

Apéndices.

Datos experimentales.

Cuadro A.1. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 1 del ámbito 2 de estudio.

Tiempo (s)	Repetición 1		Repetición 2	
	EE (EU)	LN (AU)	EE (EU)	LN (AU)
0	22925744,0	175251,6	22017200,2	169836,6
0,1	7038501	44687,2	6622447,8	51895,1
1	7050009,4	42905,6	6856240,9	42963,0
3	6514383,8	40491,9	6484399,0	43503,7
5	3391106,1	40741,8	6092961,9	45870,7
10	6221157,6	40537,4	5805129,5	46469,5
15	4225181,9	45509,5	5903640,3	45356,9
30	5641536,3	44495,4	6098060,4	44312,3
45	5974816,4	43235,9	5643370,9	44360,6
60	4994567,4	36537,8	5895108,5	43039,6

Cuadro A.2. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 2 del ámbito 2 de estudio.

Tiempo (s)	Repetición 1		Repetición 2	
	EE (EU)	LN (AU)	EE (EU)	LN (AU)
0	22322699,0	170927,1	21273201,0	171429,2
0,1	9001497,2	85070,0	8422457,2	79256,8
1	9181816,4	72485,3	9145967,3	78123,3
3	9163658,3	71643,9	8789840,4	77463,7
5	8971377,4	70100,0	8613801,1	75292,1
10	8211113,2	66581,6	7251562,5	74539,8
15	8085790,0	65191,3	6826714,2	72518,3
30	7571365,6	63414,1	5411458,2	66475,2
45	5967878,1	56994,2	5559449,5	57387,5
60	5341141,0	53811,2	6207893,7	52488,6

Cuadro A.3. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 3 del ámbito 2 de estudio.

Tiempo (s)	Repetición 1		Repetición 2	
	EE (EU)	LN (AU)	EE (EU)	LN (AU)
0	20704883,0	168782,8	21744478,1	168893,2
0,1	4725190,5	73697,3	9606931,6	72168,2
1	9694172,2	68781,1	8875753,9	70936,7
3	10572656,0	72957,1	8973100,8	74385,1
5	8405234,7	72346,4	6146606,5	72583,1
10	8501549,8	74039,0	6730921,2	70869,7
15	8732827,2	70732,6	6613127,9	71076,7
30	9435209,5	69465,2	7466536,3	69173,3
45	10067827,0	67735,7	8443376,8	66920,1
60	4994567,4	72720,9	6542530,1	63500,6

Cuadro A.4. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 4 del ámbito 2 de estudio.

Tiempo (s)	Repetición 1		Repetición 2	
	EE (EU)	LN (AU)	EE (EU)	LN (AU)
0	22263872,0	171261,2	22323964,8	172494,4
0,1	11835708,0	101161,8	10749411,7	83690,6
1	11075770,0	91653,1	9428792,3	83443,7
3	10191568,0	91511,0	7403139,9	79404,9
5	8715843,0	86021,8	6287755,2	73700,3
10	9744044,5	84460,5	7708452,6	73038,8
15	9579070,8	82573,5	8505026,6	72979,4
30	9092233,8	79863,9	7259933,0	68625,8
45	8598547,2	81090,4	7104004,6	66101,4
60	5989959,8	77355,0	4985715,0	62699,6

Cuadro A.5. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 5 del ámbito 2 de estudio.

Tiempo (s)	Repetición 1		Repetición 2	
	EE (EU)	LN (AU)	EE (EU)	LN (AU)
0	22681412,0	172884,0	21635969,5	166942,5
0,1	7318797,1	48654,9	6691736,2	55005,4
1	6924150,1	52324,7	5483342,8	53634,1
3	5917201,5	50185,0	6541449,1	52718,7
5	6263460,9	51080,8	6734046,7	52564,3
10	6600091,3	51185,5	5619207,1	51290,6
15	5411014,8	50190,4	5866958,3	48329,2
30	6167531,8	47273,8	5684303,6	48362,1
45	6165404,5	45241,5	5094961,9	46109,9
60	4983109,5	43184,0	6232212,6	44302,2

Cuadro A.6. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 6 del ámbito 2 de estudio.

Tiempo (s)	Repetición 1		Repetición 2	
	EE (EU)	LN (AU)	EE (EU)	LN (AU)
0	22463825,0	174433,8	21788719,0	170023,4
0,1	9894566,0	71357,7	9214591,0	64267,8
1	6322093,6	62215,6	6424458,3	56891,9
3	4974581,7	53547,1	6684076,2	55199,2
5	4843837,9	51930,4	4151547,4	52557,9
10	4149262,1	50575,9	6486287,6	52514,2
15	6003703,9	56109,8	6614670,1	47777,7
30	5332894,0	47941,8	6053050,1	45530,4
45	4244057,7	42312,7	4789736,3	43734,1
60	3643124,1	44683,2	3477249,1	43039,6

Cuadro A.7. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 7 del ámbito 2 de estudio.

Tiempo (s)	Repetición 1		Repetición 2	
	EE (EU)	LN (AU)	EE (EU)	LN (AU)
0	22336446,0	172795,3	20424474,5	168514,2
0,1	7692385,2	79945,3	6092030,6	71915,5
1	7828308,3	70864,6	6727701,2	71017,2
3	8069782,1	78478,6	7270897,7	73415,6
5	9263423,9	79464,9	4482642,2	71224,6
10	8600518,9	78740,2	6464556,8	70857,4
15	8725523,5	75021,2	6883217,1	67524,7
30	8212991,0	74209,2	7103323,1	64374,1
45	6811681,2	69117,2	5853192,7	61449,1
60	7826966,5	67087,7	7210555,0	56385,9

Cuadro A.8. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 8 del ámbito 2 de estudio.

Tiempo (s)	Repetición 1		Repetición 2	
	EE (EU)	LN (AU)	EE (EU)	LN (AU)
0	22631844,0	172738,0	22114155,0	169523,6
0,1	10671050,0	84782,3	9176386,3	79070,6
1	8884062,5	78469,8	8444483,3	72771,6
3	8398965,9	75193,5	6860268,4	70950,4
5	8024427,3	74257,6	7592199,4	67198,0
10	7350009,0	72339,8	6734775,8	64705,4
15	7339086,5	69994,2	7249566,5	64642,3
30	8018744,1	64161,9	6828679,5	58764,8
45	7901582,9	64234,8	6853632,7	55395,0
60	7765207,9	61860,8	6798793,9	55750,9

Cuadro A.9. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 1 del ámbito 3 de estudio.

Tiempo (s)	Repetición 1		Repetición 2	
	EE (EU)	LN (AU)	EE (EU)	LN (AU)
0	21941900,0	174470,2	19380026,2	170135,5
0,1	3296446,2	46597,1	5218293,5	51312,9
1	2500362,4	46158,2	4191659,7	49484,7
3	5869909,0	44531,9	3380440,6	47874,5
5	4737078,8	45438,4	4497715,1	45728,5
10	3840809,1	44766,7	3709712,5	45038,8
15	2753839,4	44756,9	4565051,6	46188,3
30	4545774,0	42837,3	4603208,8	46754,6
45	2850237,9	43418,7	3333861,7	46825,6
60	3946512,2	42744,4	3638033,5	47934,6

Cuadro A.10. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 2 del ámbito 3 de estudio.

Tiempo (s)	Repetición 1		Repetición 2	
	EE (EU)	LN (AU)	EE (EU)	LN (AU)
0	21787936,0	173718,7	19968254,6	173705,4
0,1	4616983,0	45451,6	6047250,7	56898,9
1	4134353,0	42651,4	6337453,8	57162,3
3	4502784,0	39015,7	5547446,1	58325,1
5	3390935,0	39686,5	6343669,5	56272,1
10	3886122,0	37869,0	4736290,2	56582,5
15	3457932,0	37471,5	5901473,1	52805,5
30	1629876,0	35296,4	5504903,2	50840,6
45	3013524,0	34970,5	4854798,5	47602,5
60	2466292	33857,0	4439343,9	45009,0

Cuadro A.11. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 3 del ámbito 3 de estudio.

Tiempo (s)	Repetición 1		Repetición 2	
	EE (EU)	LN (AU)	EE (EU)	LN (AU)
0	21720767,0	171231,7	18876005,4	174535,9
0,1	5080023,3	54106,7	2764343,8	51328,1
1	5888680,2	53299,2	1794517,7	54768,6
3	5278281,9	52586,6	5444534,5	52758,9
5	6136675,0	51555,9	4996513,4	48051,0
10	5671766,0	51082,3	4641359,1	49874,9
15	6457934,9	51573,8	4854663,1	48770,2
30	5707684,6	50563,6	4849978,6	50984,5
45	3090019,6	53845,6	4690820,3	49196,9
60	4687110,5	51731,9	5256104,7	49113,0

Cuadro A.12. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 4 del ámbito 3 de estudio.

Tiempo (s)	Repetición 1		Repetición 2	
	EE (EU)	LN (AU)	EE (EU)	LN (AU)
0	22008219,0	175508,5	20003914,7	172306,7
0,1	8450866,5	64452,4	6780849,8	66008,7
1	348169,1	64562,7	5028130,5	66215,6
3	7928700,2	59527,8	3535653,8	69616,3
5	6784419,8	58840,3	6776007,4	64557,7
10	7439660,1	58163,0	5196961,7	66372,7
15	7624167,1	58374,6	5873986,8	63927,3
30	7382651,3	59126,2	6486534,5	62528,9
45	4995551,0	57915,5	5710668,6	62746,0
60	6410728,6	55399,8	5261014,9	60215,1

Cuadro A.13. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 5 del ámbito 3 de estudio.

Tiempo (s)	Repetición 1		Repetición 2	
	EE (EU)	LN (AU)	EE (EU)	LN (AU)
0	21713922,0	172327,0	19059904,6	173448,0
0,1	3344670,1	38321,8	3340046,8	39271,2
1	3786218,8	35908,4	4056654,1	37119,3
3	3529939,0	34092,0	3880257,9	35748,3
5	2151393,7	37030,4	3682876,1	36194,5
10	3001071,7	33501,1	4230080,2	35535,0
15	2664094,8	34494,3	2840567,4	36586,9
30	3245105,6	32056,2	2730955,2	33699,0
45	2699164,7	32298,9	3569512,0	33756,5
60	2841300,9	32185,6	2222383,4	36258,1

Cuadro A.14. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 6 del ámbito 3 de estudio.

Tiempo (s)	Repetición 1		Repetición 2	
	EE (EU)	LN (AU)	EE (EU)	LN (AU)
0	21893300,0	173819,5	19721100,7	170313,7
0,1	5699519,4	48881,5	4297213,1	46494,6
1	5655958,3	49108,0	3663755,9	44382,5
3	4625680,7	50216,4	3266152,5	37817,9
5	5023293,7	47517,1	3480375,7	36261,9
10	4409488,8	47925,1	2894050,8	36065,2
15	4275721,3	46459,5	2710953,4	35386,4
30	4002015,1	41240,5	2092257,9	32591,6
45	3594365,7	38162,6	1261321,8	33499,7
60	2685148,5	35913,3	1701211,4	32129,8

Cuadro A.15. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 7 del ámbito 3 de estudio.

Tiempo (s)	Repetición 1		Repetición 2	
	EE (EU)	LN (AU)	EE (EU)	LN (AU)
0	20018920,0	174244,9	21481093,1	171618,1
0,1	4750078,8	47982,1	4069922,0	59111,3
1	3092607,8	46109,6	3902199,3	58379,1
3	2308986,4	44196,7	5882544,8	59369,9
5	4100655,4	43705,6	4756319,1	56080,4
10	6346267,8	45600,7	5304845,9	55479,3
15	4952217,2	43386,7	6095104,1	55304,1
30	4796985,7	43612,8	4296748,2	52960,7
45	6839903,3	41088,9	5478464,5	50212,8
60	5463885,2	40639,1	3629954,7	48983,0

Cuadro A.16. Respuestas obtenidas de las corridas en HPLC para la muestra 8 del ámbito 3 de estudio.

Tiempo (s)	Repetición 1		Repetición 2	
	EE (EU)	LN (AU)	EE (EU)	LN (AU)
0	21656645,0	171485,3	19162686,1	173617,0
0,1	5124385,9	61798,3	5627756,7	53837,2
1	4269528,5	58623,6	4775706,3	53559,5
3	4727933,9	60141,6	4637671,7	51853,5
5	4120981,8	58840,1	2841040,6	53138,4
10	4886210,3	56357,0	4296818,0	52841,3
15	4624599,8	56758,7	3948004,9	51868,8
30	4524534,7	54706,6	3279016,5	53285,4
45	4822015,6	54353,7	3489689,0	51615,8
60	4430402,5	54268,4	4202055,8	52177,2

Muestra de cálculo.**Cálculo de la concentración del estándar 1 de etinilestradiol utilizado en la curva de calibración.**

Para este cálculo se hace uso de la siguiente expresión:

$$C_n = \frac{m * P * \left(\frac{100 - \%humedad}{100} \right)}{FDE}$$

Introduciendo el valor de la masa utilizada (0,0081g), porcentaje de humedad obtenido (0,99%), potencia del estándar utilizado (1015mg/g), además del factor de dilución del

estándar obtenido del uso de dos balones aforados de 250 mL y una alícuota de 1 mL se obtiene el siguiente resultado:

$$C_n = \frac{0,0081g * 1015mg/g * \left(\frac{100 - 0,99}{100}\right)}{\frac{250mL * 250mL}{1mL}} = 0,00013024mg/mL$$

Dato que se encuentra tabulado en el Cuadro 7.1 columna 2 y fila 1. Las demás concentraciones para los estándares de etinilestradiol y levonorgestrel se calcularon de la misma forma.

Cálculo de la concentración de etinilestradiol y levonorgestrel en las muestras utilizando la curva de calibración generada a partir de las mediciones de los estándares.

Para esto debe utilizar la expresión correspondiente a la curva de calibración obtenida de la lectura de los estándares, la cual se observa en la Figura 7.1 para el etinilestradiol, se sustituye la variable “ x_1 ” y “ x_2 ” por los valores correspondientes a las áreas obtenidas en la cromatografía. Para efectos de la muestra se utiliza la muestra 6 del rango 3 en el tiempo igual a 60 minutos, de modo tal que se utiliza el valor ubicado en la columna 2 y columna 4 en la fila 10 del Cuadro A.14, de esta forma se tiene la siguiente expresión matemática:

$$\begin{aligned} 6x10^{-12} * \frac{(x_1 + x_2)}{2} + 9x10^{-7} &= 6x10^{-12} * \frac{(2685148,5 + 1701211,4)}{2} + 9x10^{-7} \\ &= 0,0000170109mg/mL \end{aligned}$$

Para las demás muestras de ambos rangos de estudio y para los dos principios activos estudiados se sigue la misma metodología para realizar el cálculo.

Cálculo para la obtención de las velocidades de estabilización de etinilestradiol para la fase 1 y fase 2.

Para la determinación de la velocidad de estabilización de etinilestradiol en la fase 1 del ámbito 3 de estudio para la muestra 6 se hace uso de la ecuación de la recta obtenida en la

Figura 3.21 y se procede a derivarla, de tal forma que se obtiene el siguiente resultado que se encuentra tabulado en el Cuadro 3.7 en la columna 5 y fila 6.

$$\frac{d(-0,0009x + 0,0001)}{dx} = -0,0009mg/s$$

Para las demás muestras tanto del ámbito 2 de estudio como del ámbito 3 de estudio se desarrolla el cálculo de la misma forma en la determinación de la fase 1 de estabilización y en la fase 2 de estabilización.

Cálculo de efectos e interacciones del análisis estadístico factorial.

En cuanto a la determinación de los valores correspondientes a los efectos e interacciones de las variables en los análisis estadísticos factoriales se hace uso de la siguiente expresión:

$$E = \left(\frac{x_1 + x_2 + x_3 + x_4}{4} \right) - \left(\frac{y_1 + y_2 + y_3 + y_4}{4} \right)$$

Los valores que se sustituyen en “x” son los resultados de las muestras en las cuales se utilizó el nivel alto para la variable a la cual se le está calculando el efecto, mientras que los valores que se sustituyen en “y” son aquellos resultados de las muestras en las cuales se utilizó el nivel bajo de dicha variable. De esta forma para el efecto de la variable 2 en el ámbito de estudio 3 para el etinilestradiol, se sustituyen los siguientes valores ubicados en el Cuadro 3.17: x_1 (columna 4 y fila 4), x_2 (columna 4 y fila 3), x_3 (columna 4 y fila 7), x_4 (columna 4 y fila 8), y_1 (columna 4 y fila 1), y_2 (columna 4 y fila 2), y_3 (columna 4 y fila 5) y y_4 (columna 4 y fila 6) y se obtiene un valor de 9,4356 que se muestra en el Cuadro 3.16, columna 2 y fila 2.

$$E = \left(\frac{83,22 + 89,55 + 87,63 + 81,62}{4} \right) - \left(\frac{78,81 + 72,29 + 77,90 + 75,29}{4} \right) = 9,4356$$

Para llevar a cabo el cálculo de los demás efectos e interacciones utilizados en el desarrollo del proyecto se siguió la misma forma de cálculo.

Cálculo del intervalo de no significancia para el análisis estadístico.

La guía para la obtención del intervalo de no significancia inicia con el cálculo de la desviación estándar de la totalidad de resultados que forman parte del análisis estadístico, para efectos de la muestra de cálculo se toman los datos del análisis factorial del ámbito 2 para el etinilestradiol y para esta primera parte del cálculo se hace uso de la siguiente expresión, donde p y k son valores fijos y S_y^2 se toma de los datos mostrados en la columna 5 del Cuadro 3.11.

$$s_y^2 = (p - 1) * \frac{\sum S_y^2}{k * (p - 1)} = (2 - 1) * \frac{238,3}{8 * (2 - 1)} = 29,79$$

Haciendo uso del dato que se ha obtenido con la expresión anterior se calcula una desviación para el análisis factorial que se obtiene utilizando la siguiente fórmula

$$S_E = \sqrt{\frac{4}{N} * s_y^2} = \sqrt{\frac{4 * 29,79}{16}} = 2,73$$

Luego se obtienen los grados de libertad para el sistema analizado de la siguiente forma:

$$GL = k * (p - 1) = 8 * (2 - 1) = 8$$

Por último, de una tabla de una distribución normal de dos colas se obtiene el valor de t student apropiado para los GL y el nivel de confianza utilizado (95%), sustituyendo el valor de t student y los datos obtenidos anteriormente se obtiene lo siguiente:

$$INS = \pm T * S_E = \pm 2,31 * 2,73 = \pm 6,30$$

Cálculo de costos de la aplicación del proceso estudiado para el tratamiento de 1m³ de residuos de la industria farmacéutica del estudio.

Para efectos de todos los cálculos siguientes debe de tomarse en cuenta que el volumen de cada muestras estudiada es de 100mL.

Cálculo del costo de peróxido de hidrógeno al 30% necesario para el tratamiento de 1m³ de residuos.

Con el fin de realizar el cálculo respectivo se hace uso de la siguiente expresión matemática:

$$\frac{\text{costo}}{m^3} = \frac{\frac{\text{costo}}{L_{H_2O_2}} * \frac{\text{consumo}}{\text{muestra}} * \frac{\text{muestra}}{100mL} * 1\,000\,000ml}{1m^3}$$

Utilizando el costo unitario del peróxido de hidrógeno al 30% mostrado en el Cuadro 3.22, columna 2 y fila 1, además del consumo por muestra definido en el desarrollo del objetivo 9 del presente documento (4 gotas/100mL), se obtiene el siguiente resultado, el cual se muestra en el Cuadro 3.23 en la columna 2 y fila 1:

$$\frac{\text{costo}}{m^3} = 306240 \frac{\text{¢}}{L} * \frac{4\text{gotas} * 1mL_{H_2O_2} * 1L_{H_2O_2} * 1\,000\,000mL}{20\text{gotas} * 1000mL_{H_2O_2} * 100mL * 1m^3} = 612\,480\text{¢}/m^3$$

Cálculo del costo de sulfato de hierro heptahidratado necesario para el tratamiento de 1m³ de residuos.

Con el fin de realizar el cálculo respectivo se hace uso de la siguiente expresión matemática:

$$\frac{\text{costo}}{m^3} = \frac{\frac{\text{costo}}{kg_{FeSO_4}} * \frac{\text{consumo}}{\text{muestra}} * \frac{\text{muestra}}{100mL} * 1\,000\,000ml}{1m^3}$$

Utilizando el costo unitario del sulfato de hierro heptahidratado mostrado en el Cuadro 3.22, columna 1 y fila 1, además del consumo por muestra definido en el desarrollo del objetivo 9 del presente documento (0,0000744kg/100mL), se obtiene el siguiente resultado, el cual se muestra en el Cuadro 3.23 en la columna 1 y fila 1:

$$\frac{\text{costo}}{m^3} = 126400 \frac{\text{¢}}{kg_{FeSO_4}} * \frac{0,0000744kg * 1\,000\,000mL}{100mL * 1m^3} = 94042\text{¢}/m^3$$

Cálculo del costo de hidróxido de sodio necesario para el tratamiento de 1m³ de residuos.

Con el fin de realizar el cálculo respectivo se hace uso de la siguiente expresión matemática:

$$\frac{\text{costo}}{m^3} = \frac{\frac{\text{costo}}{kg_{NaOH}} * \frac{\text{consumo}}{\text{muestra}} * \frac{\text{muestra}}{100mL} * 1\,000\,000ml}{1m^3}$$

Utilizando el costo unitario del hidróxido de sodio mostrado en el Cuadro 3.22, columna 3 y fila 1, además del consumo por muestra definido en el desarrollo del objetivo 9 del presente documento (0,004g/100mL), se obtiene el siguiente resultado, el cual se muestra en el Cuadro 3.23 en la columna 3 y fila 1:

$$\frac{\text{costo}}{m^3} = 0,63 \frac{\text{¢}}{g_{FeSO_4}} * \frac{0,004g * 1\,000\,000mL}{100mL * 1m^3} = 25,2\text{¢}/m^3$$

Cálculo del costo de ácido sulfúrico necesario para el tratamiento de 1m³ de residuos.

Con el fin de realizar el cálculo respectivo se hace uso de la siguiente expresión matemática:

$$\frac{\text{costo}}{m^3} = \frac{\frac{\text{costo}}{kg_{NaOH}} * \frac{\text{consumo}}{\text{muestra}} * \frac{\text{muestra}}{100mL} * 1\,000\,000ml}{1m^3}$$

Utilizando el costo unitario del ácido sulfúrico mostrado en el Cuadro 3.22, columna 4 y fila 1, además del consumo por muestra definido en el desarrollo del objetivo 9 del presente documento (0,00053mL/100mL), se obtiene el siguiente resultado, el cual se muestra en el Cuadro 3.23 en la columna 4 y fila 1:

$$\frac{\text{costo}}{m^3} = 16,5 \frac{\text{¢}}{mL_{H_2SO_4}} * \frac{0,00053mL * 1\,000\,000mL}{100mL * 1m^3} = 87\text{¢}/m^3$$

Cálculo de la electricidad utilizada con la lámpara UV para la irradiación de la muestra.

El costo de electricidad consumida para el tratamiento de 1m^3 de residuos estudiados en el proyecto con una lámpara de 115 Voltios y 0,2 Amperios se expresa de la siguiente forma:

$$\frac{\text{costo}}{\text{m}^3} = \frac{V * I * \text{horas por muestra} * 1\,000\,000\text{mL} * 3600\text{s} * \text{colones}/\text{KWh}}{100\text{mL} * 1\text{m}^3 * 3,6\text{MJ}}$$

Reemplazando el valor del costo de la electricidad mostrado en el Cuadro 3.22, columna 5 y fila 1 y las condiciones de la lámpara, así como el tiempo de irradiación por muestra definido en la metodología experimental (1h) se obtiene el siguiente resultado que se muestra en el Cuadro 3.23 en la columna 5 y fila 1.

$$\frac{\text{costo}}{\text{m}^3} = \frac{115\text{V} * 0,2\text{A} * 1\text{h} * 1\,000\,000\text{mL} * 3600\text{s} * 116,9 \text{¢}/\text{kWh}}{1000000\text{J} * 100\text{mL} * 1\text{m}^3 * 3,6\text{MJ}/\text{kWh}} = 26887\text{¢}/\text{m}^3$$

