



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**"DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA DE
GLICEROL POR UN METODO QUIMICO."**

TESIS

Que para obtener el Título de
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

presenta

MARIA ESTHER REYES ROBLES

1982



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUÍMICA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

I N D I C E :

1.- Introducción.

2.- Objetivo

3.- Generalidades

a) Historia.

b) Propiedades Físicas y Químicas.

c) Concepto de la Norma de Calidad.

d) Obtención.

e) Usos y Aplicaciones.

f) Norma Oficial de Calidad para la Glicerina.

g) Métodos encontrados, en la literatura, para la determinación de pureza de la glicerina.

4.- Parte Experimental:

METODO I.- Determinación de Pureza de Glicerina de la Norma Oficial.

METODO II.- Determinación de Pureza de Glicerina de la U.S.P. XX .

METODO III.- Determinación Enzimática de la pureza de Glicerina, hecha con el uso de reactivos para la Determinación de Triglicéridos en Suero y Plasma.

METODO IV.- Determinación Espectrofotométrica de Glicerol por un Metodo Químico.

5.- Analisis estadístico de los métodos experimentados.

6.- Ventajas que presenta el método propuesto, con respecto a los métodos encontrados en la literatura para la determinación de la glicerina.

7.- Aplicación del Método Propuesto.

8.- Conclusiones.

9.- Bibliografía.

I N T R O D U C C I O N

Debido a la gran importancia que ha alcanzado la Glicerina en el mercado nacional, tanto en la manufactura de lubricantes, plásticos, explosivos, cigarros y en la industria farmacéutica y de cosméticos.

Ha provocado que actualmente existan varios métodos para su determinación (Método Enzimático, Método Radioenzimático, Método por Cromatografía a alta presión, Método de la U.S.P. XIX, Método de la Norma Oficial, Método de la U.S.P. - XX,). Todos estos métodos presentan ciertas desventajas para la determinación de Glicerina en los diferentes productos.

Por ello se ha visto la necesidad de estudiar un nuevo método analítico, que sea reproducible y sencillo, para la determinación cuantitativa de Glicerol.

El método que se propone para la determinación del Glicerol, esta basado en las diferentes experiencias, que se han tenido, para la determinación de diferentes productos que han sido oxidados para formar el formaldehído.

En la literatura se ha encontrado, que el formaldehído, tiene una óptima detección espectrofotométrica, al reaccionar con el ácido cromotrópico, en presencia de una concentración adecuada de ácido sulfúrico.

Por lo que este método esta basado en la oxidación del Glicerol a formaldehído; reaccionando el formaldehído, con el ácido cromotrópico en presencia de ácido sulfúrico, teniendo como resultado la formación de un complejo color violeta. Este complejo es determinado cuantitativamente, por medio de la es

pectrofotometría, a una longitud de onda de 570 nm.

Tales reacciones son efectuadas en muestras de Glicerol R.A. de concentración conocida, haciendose una curva de calibración.

Además se mencionan las ventajas de este método, con respecto a los encontrados para la determinación del glicerol en las diferentes literaturas.

O B J E T I V O :

- 1.- Proponer un método espectrofotométrico, reproducible y sencillo, para determinar cuantitativamente el Glicerol, mencionando sus ventajas con respecto a los métodos encontrados en la literatura.
- 2.- Comparar el método propuesto experimentalmente con el de la Norma Oficial, con el de la U.S.P. XI, con el enzimático - hecho con el uso, de reactivos para la Determinación de Triglicéridos en Sueros y Plasmas.
- 3.- Sugerir el método de la DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA DE GLICEROL POR EL METODO QUIMICO, para incluirlo en la - F.N.B.U.K.

GENERALIDADES

El término de Glicerina, también llamada Glicerol, está determinada por la nomenclatura química como el 1,2,3-propano triol, cuya fórmula condensada es $C_3 H_8 O_3$ y su fórmula desarrollada es:



y cuyo peso molecular es 92.09 CH_2-OH

HISTORIA

La Glicerina fué descubierta en el año de 1779 por Shee le y más tarde fué ampliamente investigada por Chevreul quién la llamo "Glicerina".

Hasta el año de 1846 fué introducida en el campo de la medicina y la farmacia.

Actualmente el uso de la Glicerina en el mercado, se ha incrementado grandemente, en los diversos campos de manufactura de lubricantes, plásticos, explosivos, cigarros, cosméticos, drogas y por sus propiedades farmacológicas.

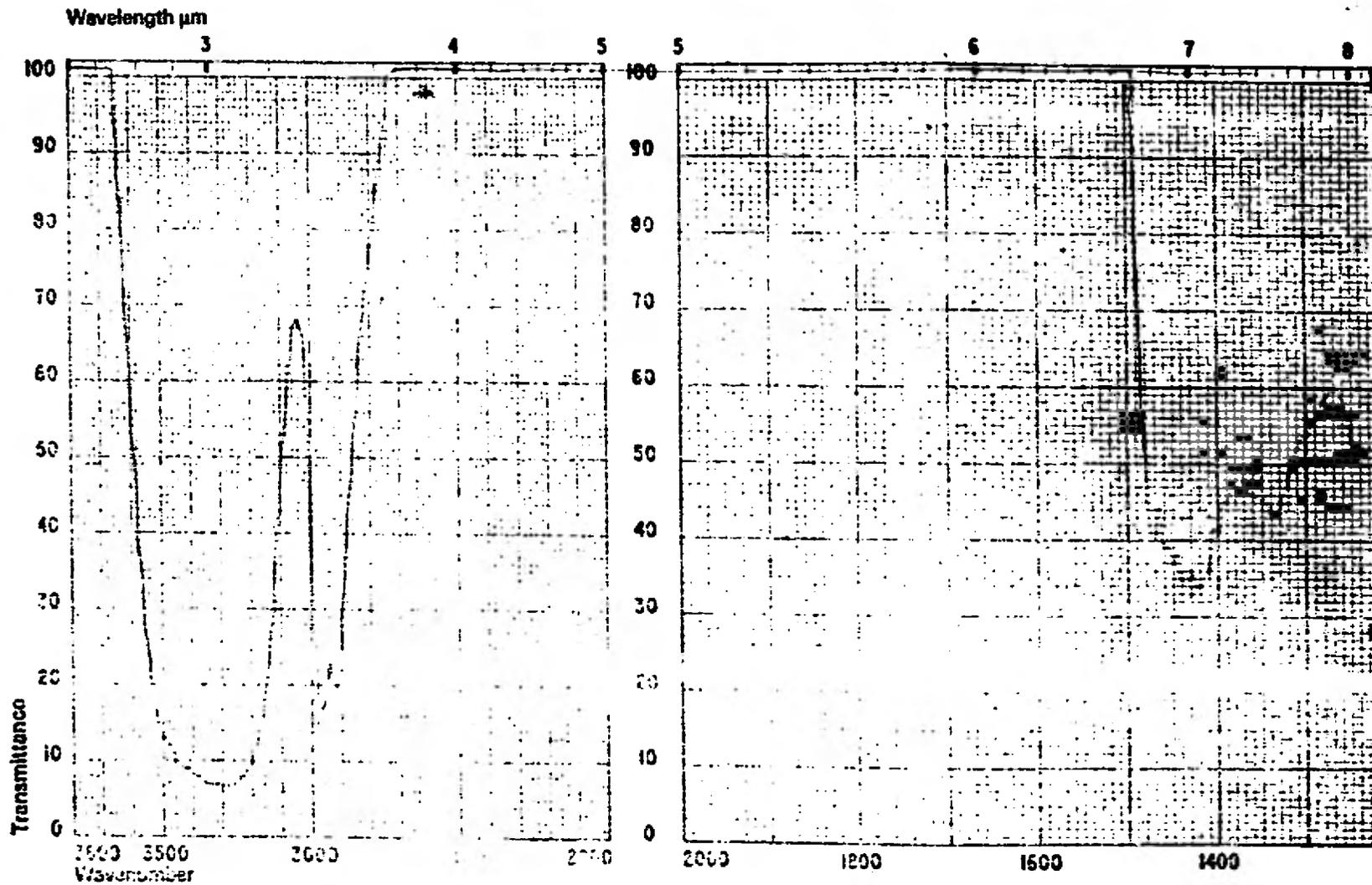
PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS

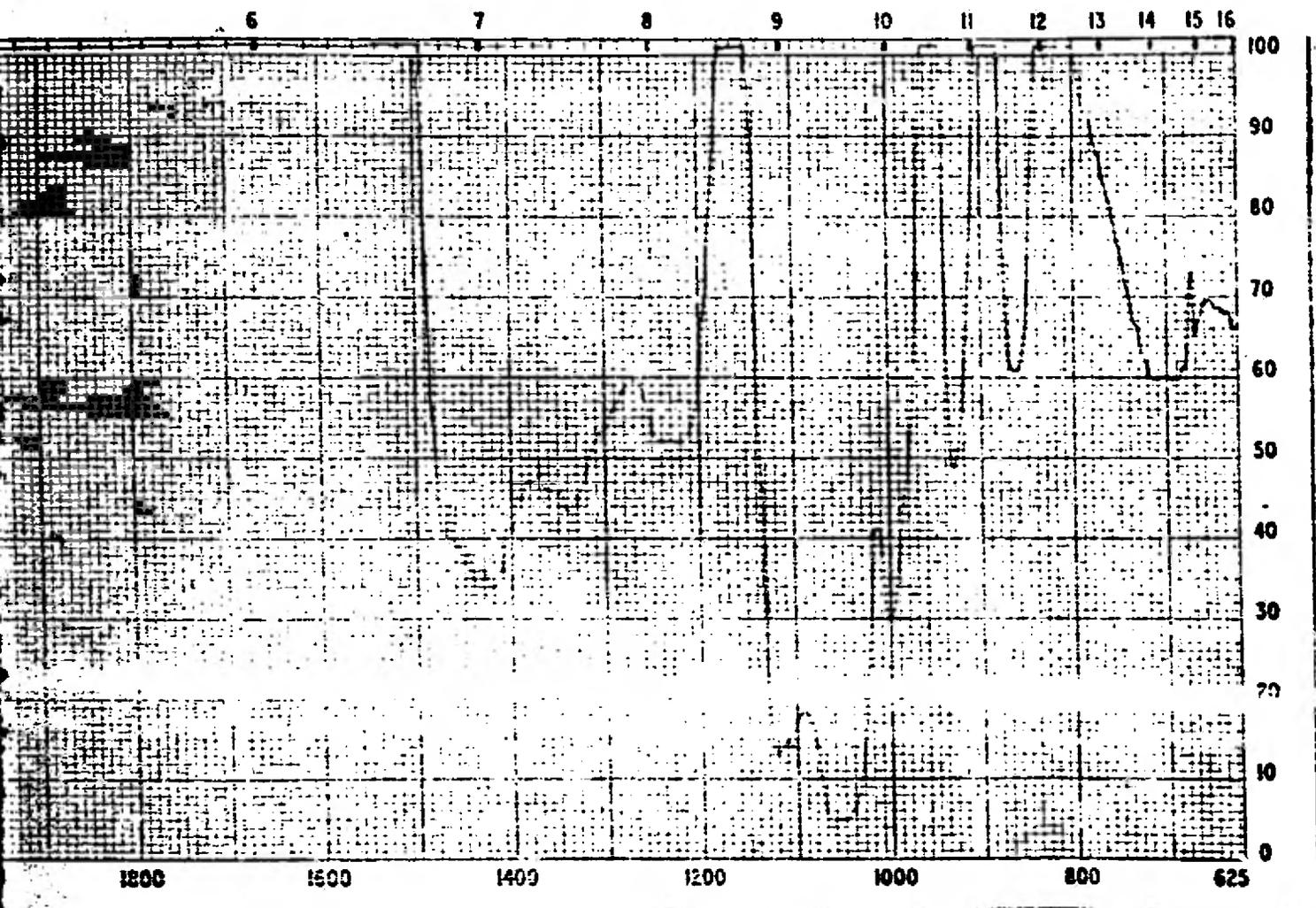
DESCRIPCION

Es un líquido siruposo, claro y poco colorido, no es desagradable, ni áspero, cuando se expone al aire húmedo absorbe agua; si es expuesto a H_2S y a SO_2 , también los absorbe.

IDENTIFICACION

El espectro de absorción infrarroja de una película fina de glic rina, exhibe una fuerte y ancha banda en $2.7\mu\text{m}$ a $3.3\mu\text{m}$, un fuerte doblete cerca de los $3.4\mu\text{m}$, a un máximo de cerca de $6.1\mu\text{m}$ (hay una región de fuerte absorción entre $6.7\mu\text{m}$ y $8.3\mu\text{m}$, habiendo un máximo en cerca de $7.1\mu\text{m}$, $7.6\mu\text{m}$, y $8.2\mu\text{m}$), y una región con una fuerte absorción de bandas en cerca de $9.0\mu\text{m}$, $9.6\mu\text{m}$, $10.1\mu\text{m}$, y $11.8\mu\text{m}$.





TABLAS DE ASORCIÓN CARACTERÍSTICAS EN EL INFRARROJO

(Símbolos de la intensidad de absorción: f = fuerte, m = media, d = débil, v = variable, s = ancho, b = aguda)

Región del espectro	Clasificación de la vibración	Grupo y su vecindad	Margen de la banda de absorción	Intensidad de la banda de absorción	Región del espectro	Clasificación de la vibración	Grupo y su vecindad	Margen de la banda de absorción	Intensidad de la banda de absorción
λ (cm ⁻¹)			$\lambda(\mu)$ (cm ⁻¹)		λ (cm ⁻¹)			$\lambda(\mu)$ (cm ⁻¹)	
27-30 (3700-3333)	O-H longitudinal	Alcoholes y fenoles a) O-H libre b) OH con puente de hidrógeno intermolecular (varía por dilución) 1) compuesto con un puente 2) asociación polimérica c) OH con puente de hidrógeno intramolecular, compuesto con un puente	2.74-2.79 (3670-3590)	(v, b)	6.5-7.5 (1538-1333)	C-H	Alcano a) -CH ₃ - (de cadera) b) C-CH ₃ c) átomos gem (isopropilo) d) bencilo terciario e) C-H	6.74-6.92 (1465-1449) 6.80-7.00 (1470-1430) y 7.25-7.30 (1380-1360) 7.22-7.25 (1385-1380) y 7.30-7.33 (1370-1365) 7.17-7.22 (1395-1385) y ~ 7.33 (~ 1365) 7.96 (~ 1140)	(f) (m) (s) (s) (s) (s) (s)
30-35 (3000-2857)	O-H longitudinal	Alcoholes y fenoles a) Compuesto que tienen un puente de hidrógeno intramolecular	2.80-2.90 (3570-3450)	(v, b)	7.5-9.5 (1333-1057)	O-H de deformación y C-O longitudinal	Alcoholes y fenoles Dos bandas de longitud de onda menor debida a la vibración de deformación de O-H y de longitud de onda mayor originada por la vibración longitudinal armónica de C-OH		
3.5-4.0 (2857-2500)	C-H longitudinal	Alcános (parafinicos) (2 bandas)	3.65-3.55 (2740-2820) y 3.60-3.70 (2775-2700)	(d) (d)			a) alcános parafinicos b) alcános ramificados c) alcános cíclicos d) fenoles	7.4-7.9 (1350-1260) y 8.30-8.60 (1205-1150) 7.4-7.9 (1350-1260) y 8.95-9.25 (1120-1080) 7.1-7.6 (1400-1300) y 8.55-8.60 (1170-1160) 7.1-7.6 (1400-1300) y 8.15-8.77 (1220-1140)	(d) (d) (d) (d) (d) (d)
	O-H longitudinal	Ácidos carboxílicos sencillos, bandas múltiples	3.70-4.00 (2700-2500)	(d)					

Su gravedad específica no es menor a 1.249 correspondiendo a no menor de 95 % de $C_3H_8O_3$, y de 1.255 a 1.26 que corresponde a 99% a 100% de $C_3H_8O_3$.

MISCIBILIDAD

Miscible en agua, alcohol, metanol, 1g en cerca de 12 ml de acetato de etilo y en cerca de 15 ml de acetona.

Insoluble en éter mineral volátil o aceites vegetales, cloroformo y otros hidrocarburos halogenados.

Un 10 % w/v de solución en agua es neutro al litmus, a un 2.6 % de solución es iso-osmótico con el suero.

Puede ser esterilizado por calentamiento a 150 ° C por una hora.

Si se guarda a bajas temperaturas, el glicerol se solidifica formandose cristales y estos se funden a una temperatura cerca de los 20 °C.

INCOMPATIBILIDAD

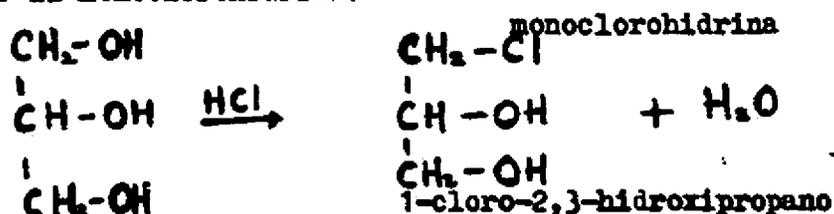
Puede ocurrir una explosión, si la Glicerina es tratada con agentes oxidantes fuertes, como trióxido de cromo, clorato de potasio y permanganato de potasio. En soluciones diluidas la reacción procede a una baja evaluación formandose varios productos de oxidación.

El fierro es un contaminante ocasional, este puede ser causa del oscurecimiento de la Glicerina.

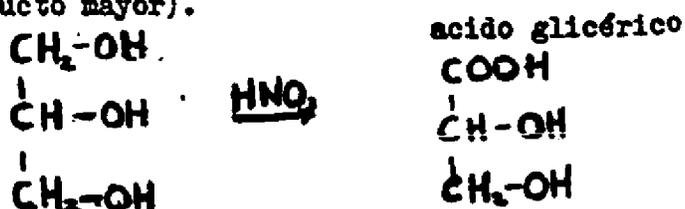
Con el ácido bórico o borato de sodio, la Glicerina forma un complejo generalmente llamado glicero-bórico, el cual es un ácido más fuerte que el bórico.

REACCIONES QUÍMICAS

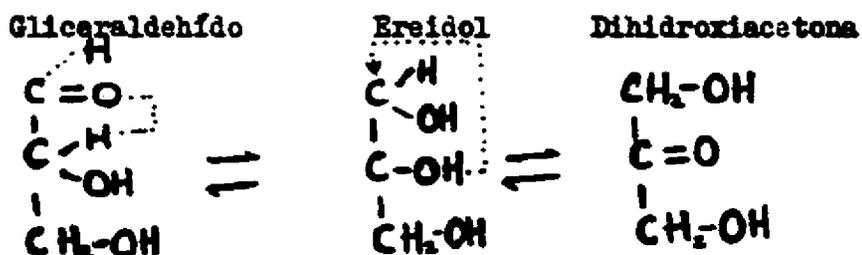
1.- Con ácido clorhídrico, la Glicerina reacciona para formar la monoclorohidrina.



2.- Oxidación con ácido nítrico, dando ácido glicérico (como producto mayor).



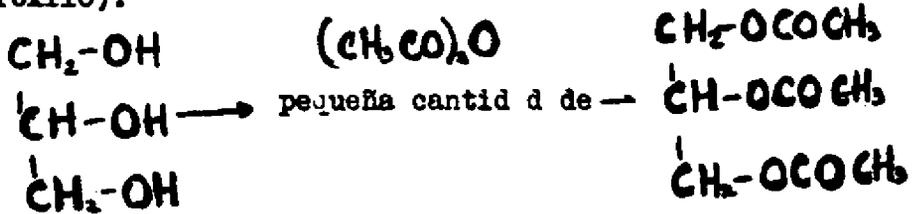
3.- Oxidación, bajo condiciones suaves, como H_2O_2 y sales ferrosas como catalizadores o como hipobromito de sodio. Hay un equilibrio de mezclas de gliceraldehído y el isómero de la hidroxiacetona.



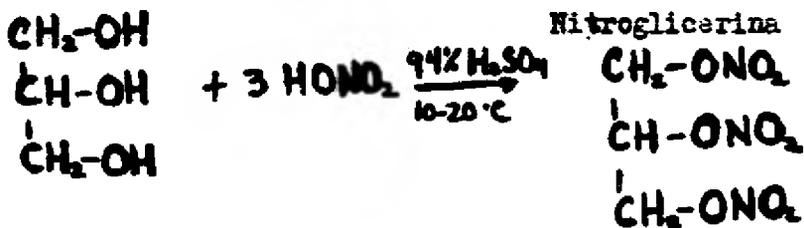
4.- Por fermentación se obtiene el Trimetilenglicol, con un rendimiento de 45 %.



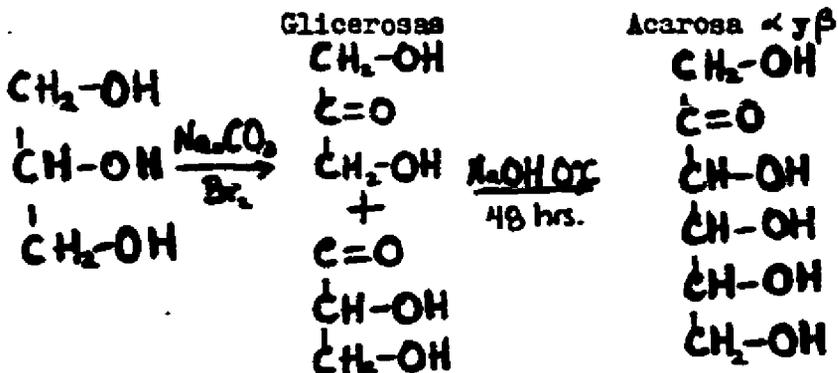
5.- Acetilación de la glicerina (se acetilan los grupos hidroxilo).



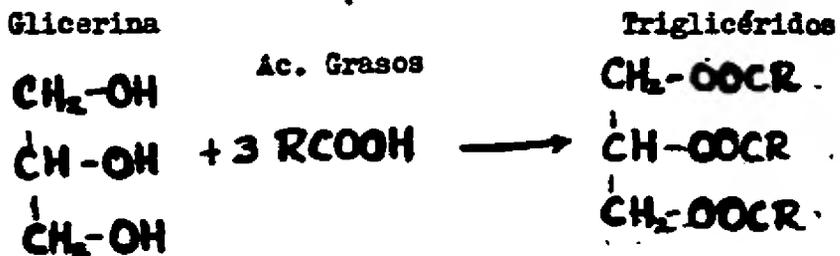
6.- Para la obtención de nitroglicerina



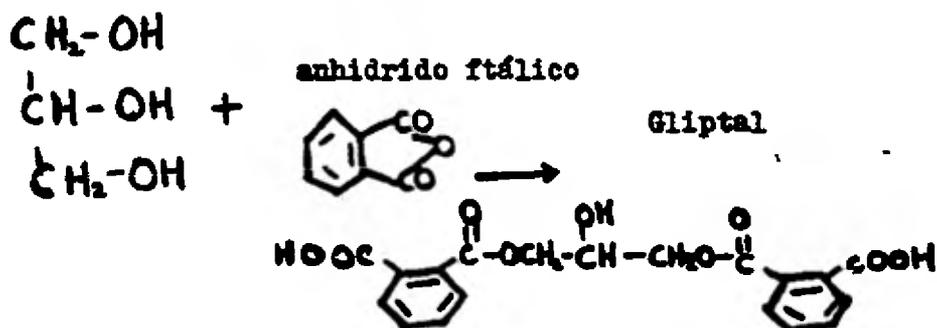
7.- La oxidación con $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ y Br_2 como catalizador



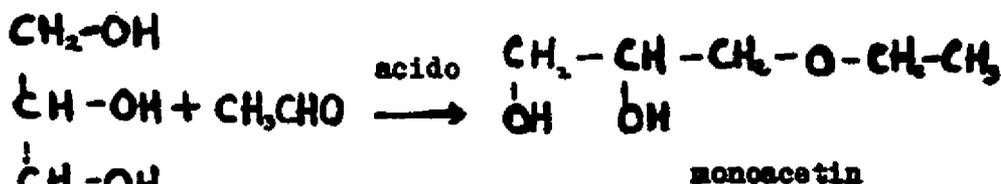
8.- Obtención de Triglicéridos, esterificados con ácidos grasos.



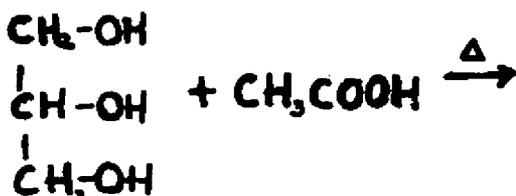
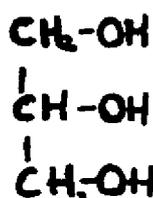
9.- Glicerina con anhídrido ftálico, para dar ftalato - conocido como gliptal



10.- Acetales y cetales de glicerina, se forman por condensación de glicerina con aldehído y cetona en presencia de ácido.



monoacetin



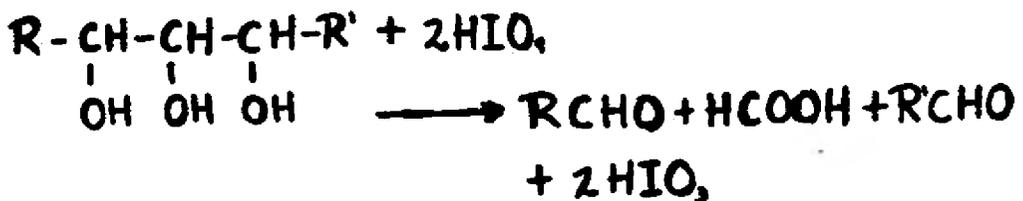
diacetin



triacetin



11.- La reacción de Malaprade, usada en el análisis de - gliceroles, para compuestos con 2 o más grupos -OHu=O unidos a carbonos adyacentes. Su oxidación es por escisión de enlaces carbono-carbono, al ser tratados con ácido peryódico. Es usada para la determinación de estructuras.



Relación entre tantos por cientos, peso específico, índice de refracción y viscosidad de la glicerina.

Porcentaje glicerina Por 100	Peso específico según Gerlach a 15/15° C	Índice de refracción n_D a 15° (St. Jevitt)	Viscosidad según Kellner Engler a 20°
100	1.2653	1.4742	105.00
99	1.2639	1.4728	77.00
98	1.2622	1.4712	64.76
97	1.2577	1.4698	51.75
96	1.2532	1.4684	45.60
95	1.2526	1.4670	39.00
94	1.2501	1.4655	32.35
93	1.2476	1.4640	27.65
92	1.2452	1.4625	25.50
91	1.2425	1.4610	29.00
90	1.2400	1.4595	17.00
89	1.2373	1.4580	14.70
88	1.2346	1.4565	12.85
87	1.2319	1.4550	11.30
86	1.2292	1.4535	10.90
85	1.2265	1.4520	8.90
84	1.2238	1.4505	7.90
83	1.2211	1.4490	7.30
82	1.2184	1.4475	6.50
81	1.2157	1.4460	5.90
80	1.2130	1.4444	5.40
75	1.1980	1.4380	3.65
70	1.1830	1.4315	2.64
65	1.1771	1.4250	—
60	1.1570	1.4144	—
55	1.1430	1.4030	—
50	1.1290	1.3916	—
45	1.1155	1.3804	—
40	1.1020	1.3694	—
35	1.0885	1.3585	—
30	1.0750	1.3475	—
25	1.0615	1.3367	—
20	1.0480	1.3261	—
15	1.0345	1.3156	—
10	1.0210	1.3052	—
5	1.0075	1.2949	—
0	1.0000	1.2830	—

PROPIEDADES FISICAS

Pto. de fusión 18.17 °C (Si se guarda a bajas temperaturas, el glicerol se solidifica formandose cristales).

Pto. de ebullición b, 147.9 °C
 b₁₀ 166.1 °C
 b₂₀ 222.4 °C
 b₃₀ 290.0 °C

Densidad d₂₀ 1.2617

Indice de Refracción Nd_D 1.47399

Presión de Vapor	50°C	0.0025 mm
	100°C	0.195 mm
	150°C	4.30 mm
	200°C	46.00 mm

Calor Especifico 0.5795 cal/ g a a 26°C

Calor de Vaporización 21.060 cal/ mol a 55 °C

Calor de Solución a Dilución Infinita 1381 cal/mol

Calor de Formación 159.6 Kcal/ g - mol

Conductividad Térmica 0.00068 cal•cm²•°C/seg cm

Pto. de Inflamación 177 °C

Pto. de Incendio 204 °C

CONSERVACION

La glicerina se almacena en recipientes herméticos, protegidos del aire.

CONCEPTO DE LA NORMA DE CALIDAD

Nuestro país determina la calidad de las sustancias a través de un departamento especializado, el cual marca las Normas que deben cumplirse.

Las normas establecen con precisión, el reconocimiento de un nivel de calidad y permiten las bases para desarrollar firmemente mercados nacionales o internacionales, así como el fincar un legítimo prestigio como fabricante.

Las normas hacen posible el intercambio local o internacional de montajes, medidas, servicios o patentes.

Las normas facilitan la actualización, al incorporar a tiempo los más recientes resultados alcanzados por el desarrollo y la investigación.

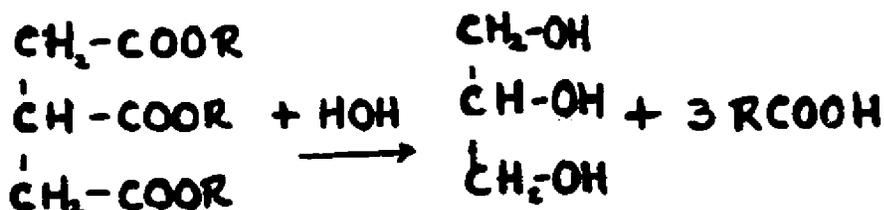
Las normas estimulan la confianza y respaldo que persigue el consumidor, ampliándose notablemente la demanda.

Las normas ofrecen protección al comprador o usualmente a través de la certificación oficial.

OBTENCION

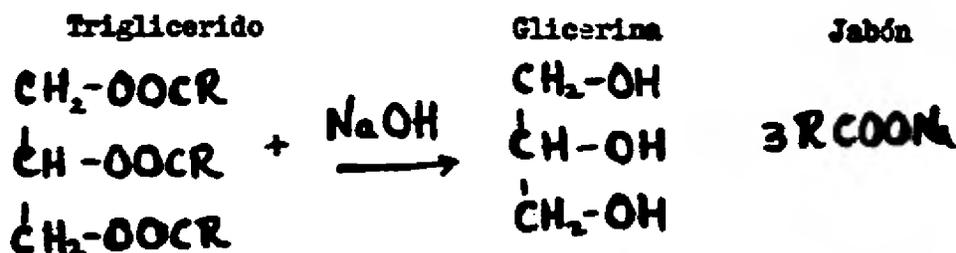
La Glicerina fué obtenida por primera vez a escala comercial en Filadelfia por Shoemaker, calentando una mezcla de litargirio (óxido de plomo fundido en láminas o escamas amarillentas) y aceite de oliva, extraída con agua y posteriormente sometida a evaporación, obteniéndose una solución con cierta viscosidad y de sabor dulce.

Otra forma de obtención es a partir de la hidrólisis de los ésteres de los ácidos grasos del alcohol Glicerina (estos constituyen la mayor parte de las grasas neutras) y reciben el nombre de triglicéridos. Esta hidrólisis puede ser ácida, alcalina o bien por acción de las lipasas.



FORMAS ACTUALES DE LA OBTENCION DE GLICERINA

1.- La saponificación de grasas y aceites en la manufactura de jabones, teniendo una hidrólisis alcalina.



En cada uno de los pasos que sigue esta saponificación, se encuentran diferentes concentraciones de Glicerol.

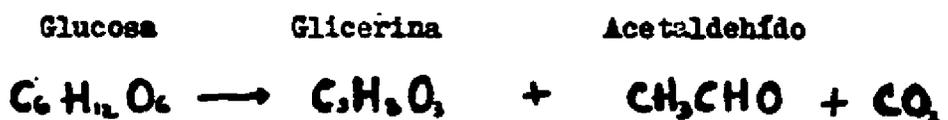
a) Corte de Sal: Se verifica en este la mayor saponificación de grasas (aprox. 90 %), en este se encuentra la mayor parte de glicerina obtenida, recuperandose el 89 % de la glicerina disponible.

b) Corte de Fuerza: Se encuentra un 5.5% de glicerina, no se recomienda su recuperación debido a su alta alcalinidad y bajo contenido.

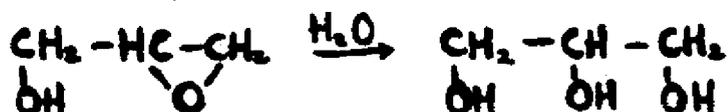
c) Afinación: No hay recuperación de glicerina, ya que se encuentra muy contaminada.

2.- Por hidrolisis de grasas y aceites a presión continua y calor de vapor.

3.- Por fermentación del azúcar de remolacha, con grandes cantidades de sulfito de sodio. En estas condiciones, la reacción que se efectúa es la siguiente:



4.- Recientemente la Glicerina es preparada en grandes cantidades con propileno. Siendo este, un producto del petróleo. Este hidrocarburo es clorinado, a una temperatura de -400°C para formar el alil cloruro, el cual se convierte a alcohol. El tratamiento de un alcohol insaturado con ácido hipoclorhídrico, produce un derivado clorinado. La extracción del ácido clorhídrico, con una mezcla de cal y sosa produce el 2,3-epoxipropanol, el cual se hidrata para dar Glicerina.



Las Principales Plantas Productoras de Glicerina en el País, lo hacen por Saponificación, para obtener Jabón, estas son:

- 1.- Colgate y Balmolive
- 2.- La Corona
- 3.- La Luz

Las Principales Compañías Consumidoras de Glicerina son:

- 1.- Nacional de Aromas
- 2.- Laboratorios Merck Mexico S.A.
- 3.- Parque Davis y Cía de Mex.
- 4.- Avón Cosméticos
- 5.- Pond's de México

- 6.- Mead Johnson de Mexico S.A.
- 7.- Dupont Comp. Mex. de Explosivos
- 8.- The Sydney Ross Co. S.A.

Los Grados de Glicerina que se encuentran en el Mercado.

GLICERINA CRUDA

Fijada por la British Standard Specification of Saponification y contiene no menos del 88 % siendo una sustancia - comercial. Esta es un producto basico para la obtención de la glicerina comercial.

GLICERINA INDUSTRIAL O COMERCIAL

Tiene una concentración del 89 % o más, es recuperada por destilación, clarificada por decoloración con sustancias de superficie activa. Como se recupera, generalmente se encuentran residuos orgánicos con 1 % maximo y con residuos inorgánicos de 0.4 %. La calidad de este grado depende de la glicerina cruda.

GLICERINA DESTILADA

Es la que tiene el mayor grado de pureza, comprendiendo los grados de: Tecnico o Industrial, Dinamita y Quimicamente Pura.

USOS Y APLICACIONES DE LA GLICERINA

EN LA INDUSTRIA TABACALERA

La glicerina, junto con otros ingredientes, es aplicada en un rango de 3 % en peso del tabaco, para prevenir que se desmembrice. Durante el proceso de fabricación del tabaco, la glicerina contribuye a la retención de humedad previendo que se seque este.

EN LA INDUSTRIA ALIMENTICA

La glicerina no es tóxica, es fácilmente digerible, es usada como condimento, producto alimenticio y como solvente además de que proporciona cuerpo, debido a su viscosidad.

En dulces y helados es empleada para prevenir la cristalización del azúcar, las coberturas, los medios de transferencia de calor (un contacto directo con comida rápidamente congelante), lubricante de máquinas, durante el proceso y empaque de alimentos.

EN LA INDUSTRIA EXPLOSIVA

El trinitrato de glicerina (derivado de la glicerina), es popularmente conocido como nitroglicerina, que es un explosivo poderoso.

Su preparación esta reportada en 1846, su manufactura comercial fué hecha por Alfred Nobel, en Suiza en 1860.

Usado como propelente para rifle y granadas de mano.

EN LA INDUSTRIA DE PLASTICOS

La glicerina es empleada para preparar plasticidas. Estos plasticidas imparten buenas propiedades físicas como: baja volatilidad, baja migración de las características de los productos plásticos, como ejemplo de estos esta el Celofán.

EN CUBIERTAS AISLANTES

Los poliesteres del ácido glicerín-tereftálico, son muy usados en la industria de la aislación eléctrica, exhibiendo estos una aislación eléctrica y propiedades mecánicas buenas.

EN CUBIERTAS DE URETANO Y ESPUMAS

La glicerina es un poliol popular para formulaciones de uretano, el cual es usado en empaques y cubrimientos, sirviendo para proteger a los productos que se almacenan en ellos de la humedad.

Usada en los fluidos para embalsamar, enmascarar y resguardar compuestos, soldaduras, productos fotográficos.

PROPIEDADES FARMACOLOGICAS

La Glicerina absorbe agua y en grandes concentraciones, es deshidratante e irritante al tejido desnudo, por esta razón las soluciones concentradas son lentamente bactericidas. Debido a su acción irritante, se explica la eficacia para efectuar la evacuación del intestino, cuando es usada por vía rectal en supositorios (supositorios de glicerina).

La Glicerina se absorbe fácilmente, actuando como fuente de calorías, se absorbe rápidamente por el intestino y se metaboliza en el hígado, sin necesidad de la insulina, produciéndose CO_2 y glucógeno, o bien es usada en la síntesis de grasas del cuerpo. La Glicerina eleva la concentración en plasma de insulina en sujetos sanos, por lo que es de tomarse en cuenta para que pueda ser administrado a sujetos diabéticos.

La cetosis y la glicosuria, se reduce en pacientes dependientes de insulina "diabéticos" cuando la glucosa es reemplazada isocalóricamente por glicerol (25 a 50 g cuatro veces por día).

En dosis de 1 a 1.5 g/Kg es usada para combatir la presión intraocular en el glaucoma, para reducir la presión intracraneal antes de la intervención en la cirugía de cataratas.

En concentraciones del 20 %, en inyecciones de soluciones de NaCl (cantidad de glicerol de 70 a 80 g) reduce la presión intracraneal, aunque esta respuesta está asociada a una hemólisis y a una hemoglobinuria.

Cuando se administra 1g/ Kg de peso de glicerol, cada 6 horas, se observa una alta osmolaridad.

Es irritante en la mucosa gástrica de perros y ratas a concentraciones de 40 % v/v.

A dosis altas por vía oral, produce dolor de cabeza, sed y náuseas.

A dosis altas por vía parenteral produce convulsiones, parálisis y hemólisis.

Se usa además como vehículo para almacenar eritrocitos

humanos durante largos períodos de tiempo a temperaturas bajas (de congelación).

APLICACION DE LA GLICERINA EN EL CAMPO FARMACEUTICO

Función Eutrófica.

Es la propiedad que tienen ciertos cosméticos de conservar el estado de los tejidos sobre los cuales se aplican, en las mejores condiciones anatómicas y funcionales. Esta función distingue los productos cosméticos de los medicamentos o fármacos que, en determinada forma o dosis, sirven para restablecer el alterado equilibrio de las funciones orgánicas. Sin embargo las acciones que determinan la evidencia de la función eutrófica son de origen farmacoterapéutico. Por otra parte, como en los fármacos, en los cosméticos puede intervenir también la toxicología y ocasionar, bien por dosis o forma no apropiadas, efectos deletéreos sobre los tejidos que sufran su acción.

La naturaleza y las propiedades de los productos químicos orientan su elección en los cosméticos, de acuerdo con las propiedades y la estructura química de los órganos o de los tejidos sobre los cuales deben ser aplicados, para valorar exactamente las acciones de los cosméticos, no es posible separar las propiedades de los primeros de los segundos, y esto tanto en el caso en que el cosmético actúe sobre la superficie, como si lo hace en el fondo de los tejidos.

La naturaleza de la acción cosmética depende de las acciones farmacológicas de los constituyentes químicos, si estos son absorbidos en las células de los tejidos.

Una vez conseguido el efecto eutrófico, es preciso apurar los efectos farmacológicas positivas de la sustancia utilizada y evitar las negativas. Esto presupone el conocimiento de las propiedades de las primeras: materias empleadas, - así como también del substrato individual, sobre el cuál se aplican los preparados cosméticos.

Se supone que la acción eutrófica es debida a que los cosméticos, o algunos de sus componentes, son absorbidos y - que el tratamiento se inicia sobre tejidos aún reactivados - o tonificados.

DEMULCENTES

Los demulcentes tienen la propiedad de cubrir las superficies de un modo mecánico, protegiendo las células adyacentes de los estímulos que se producen al contacto con el aire o con los irritantes del ambiente. Se aplican en la piel en forma de loción, pomada o apósitos húmedos, en el aparato digestivo en forma de bebidas, demulcentes o enemas, en la faringe como gargarismos, Son ingredientes de muchas tinturas y elixires.

La Glicerina forma parte de los principales demulcentes.

La Glicerina Para Que Sea de Uso Farmacéutico Tiene Que Reunir Ciertas Especificaciones

Debe estar exenta de glucosa, substancias grasas, azucares goma, dextrina y privada de sustancias minerales (metales pesados, sulfatos, cloruros, sales cálcicas, arsénico, sales de amonio, etc.) así como de ácido, ácido fórmico y acroleína, que representa uno de sus productos de descomposición oxida-

trival. Especialmente desagradables al olfato son el alcohol etílico y tal vez ácido láctico, pueden formarse por obra de varios fermentos. (*B. Aethilicus*, *B. Butylicus*, *B. Amylobacter*, etc.) en las soluciones diluidas a la temperatura de 40°C. La mejor y más pura calidad procede de la descomposición de productos grasos en autoclave, mientras que la glicerina de saponificación obtenida de las lejías es de calidad inferior y no siempre se encuentra en estado de producto perfectamente inodoro aunque haya sufrido una doble destilación, contiene además un contenido de cenizas mayor.

La Glicerina Farmacéutica, tiene una concentración en Glicerol del 84-87% y un contenido de agua de 13 a 16 % aproximadamente.

La naturaleza del alcohol trivalente confiere a la glicerina débiles propiedades antisépticas; impide el desarrollo y proliferación de los microorganismos, pero no los mata.

En concentraciones del 10 a 15 % conserva varios zumos orgánicos y sustancias proteicas.

Aplicada exteriormente sobre el cutis y la mucosa desarrolla una importante acción deshidratante sobre los tejidos y resulta irritante; por el contrario diluida con agua ejerce una función protectora cutánea y de medio antiflogístico.

DEBIDO A SUS PROPIEDADES FARMACOLOGICAS, LA GLICERINA ES EMPLEADA EN DIFERENTES PRODUCTOS. Unos de ellos:

COSMETICOS PARA LAS MANOS

Se pide de ellos una acción modificadora de la hidrata-

ción en la piel.

Algunos productos deshidratantes: Po vos absorbentes, al cohol etflico absoluto o glicerina concentrada.

Algunos productos hidratantes, estos suavizan la piel te niendo un efecto emoliente como: glicerina dilufda, lociones acuosas, mucilagos fluídos, jugos de vegetales (pino y limón).

La sustancia más efectiva es la Glicerina, ya que extrae el agua de las capas superficiales, pero ya isotónica por el contrario, bombea la humedad atmosférica hacia la superficie cutánea y difunde con facilidad aumentando la viscosidad de los líquidos fisiológicos y la tungensia celular.

EMULSIONES TIPO ACEITE EN AGUA

La mayoría de los cosméticos de este tipo son cremas es tearicas; con alto contenido de Glicerina o sustancias semejan tes.

Los lípidos lubrican la superficie y la glicerina al 10% u otros glicoles a cierta proporción actúan como hidratantes de la capa córnea.

LOCIONES CUTANEAS

Son cosméticos tonificantes que aplicados sobre partes descubiertas de la epidermis actúan como soluciones apropiadas para mejorar la funcionalidad y la apariencia estética del - organo.

De acuerdo a la clasificación de pieles propuesta por - Poissons dividimos las lociones en:

- a) Lociones para pieles finas
- b) Lociones para pieles gordas y carnosas
- c) Lociones para pieles duras
- d) Lociones para usos especiales

Las lociones cutáneas cuando están bien preparadas y usadas oportunamente, no poseen acciones tóxicas y no dan lugar a intolerancias alérgicas.

Químicamente las lociones cutáneas comprenden los componentes comunes de los hidrolatos, de los hidrolitos de las diversas soluciones acuosas, de los alcoholatos y de los alcoholitos.

Contienen además principios orgánicos e inorgánicos de diferente naturaleza y procedencia, dotadas de acciones biológicas y fármacos dinámicos específicamente adaptados para cada tipo de piel.

Así esta especificidad de acción caracteriza fundamentalmente las lociones para la piel y la diferencia de los otros cosméticos de prevalente efecto tónico precedentemente tratados.

Generalmente comprenden un vehículo hidroalcohólico-glicérico y algunas veces un vehículo hidro-glicérico.

El alcohol etílico entra en las lociones en una proporción de 5 a 20 % y la glicerina se usa en la de 5 a 15 %.

JABONES

Los jabones según su acción preponderante comprenden:

- a) Productos de acción disolvente
- b) Productos de acción perfumadora

- c) Productos de acción colorante
- d) Productos de acción estabilizante
- e) Productos de acción antioxidante

Uno de los ingredientes de los jabones, son los disolventes, en los que se encuentra: el agua, el alcohol etílico y la Glicerina.

Glicerina

La Glicerina no entra corrientemente en la composición de los jabones de tocador, pero existen vestigios como impurezas en los jabones licuados con un tanto por ciento inferior al 0.5 % y en proporción considerablemente más elevada en los jabones de empaste líquidos y pastosos. Los jabones transparentes, llamados también de Glicerina, no contienen en realidad corrientemente una cantidad de Glicerina integrante más que la que se produce por efecto de la saponificación de las grasas neutras; a veces algun preparador añade un tanto por ciento comprendido entre el 5% y el 20 %. En tales casos la glicerina actúa sobre el jabón obstaculizando la cristalización normal, y además hace aumentar la higroscopicidad de los productos acabados que presentan una superficie pegajosa y opaca estéticamente desagradable. En los jabones líquidos o en pasta la Glicerina puede adjuntarse en ocasiones, para aumentar la viscosidad de los productos, pero tiene la propiedad de disminuir notablemente la espumabilidad en los jabones.

La Glicerina es un alcohol trivalente, límpido y denso de reacción neutra y muy higroscópico. Esta dotado de una ligera acción antiséptica y actúa como antifermmento y preserva

por cuando se encuentra en los productos en una cantidad de 10-15 %.

Resee así mismo, acción protectora sobre la piel cuando se utiliza en forma diluida, mientras que en dosis concentradas, deshidrata e irrita.

Cuando se emplea en los jabones más solubles protege la epidermis de su acción irritante y excesivamente desengrasante.

La Glicerina se usa extensamente en muchos productos — cosméticos y puede sustituirse en diversas preparaciones por varios sucedáneos. Entre estos, alguno como el etilenglicol encuentra empleo en los jabones cosméticos, ejerciendo las mismas funciones que la Glicerina.

LA NORMA OFICIAL DE CALIDAD PARA LA GLICERINA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS

La clasificación es la siguiente:

Comprende dos tipos: la A y la B

Tipo A Glicerina Destilada

Tipo B Glicerina Cruda

El Tipo A comprende tres grados de calidad.

A Glicerina Químicamente Pura 98 %

A Glicerina Químicamente Pura 95 %

A Glicerina para Dinamita

El Tipo B comprende dos grados de calidad.

B Glicerina Cruda de Saponificación

B Glicerina Cruda de Sub-lejías

Las especificaciones que definen la calidad de la glicerina en sus diferentes grados se encuentran en la Tabla # 1

TABLA NUM. 1

	TIPO "A"			TIPO "B"	
	Grado A1	Grado A2	Grado A3	Grado B1	Grado B2
	Químicamente pura.	Químicamente pura.	Para Dinamita.	Cruda de Saponificación.	Cruda de Sub-lías
Glicerina %	98 deducido de la densidad.	95 deducido de la densidad.	98.7 deducido de la densidad.	88 base de contrato. 86 mínimo. % corregido (Método de la acetina)	80 base de contrato. 78 mínimo. % corregido (Método de la acetina)
Color máximo.	testigo	testigo	15.0 R (Lavi - bond)		
Densidad 15. 6°/16.6°.	1.262	1.2534	1.2619		
Acidez o alcalinidad.	Neutra al papel tornasol en solución al 5%	Neutra al papel tornasol en solución al 5%	No deben gasarse más de 0.3 c.c. de HCl, N o NaOH para 50 c.c. de glicerina.		
Cenizas, % máximo.	0.007	0.007	0.10	base de contrato 0.50 máximo 2.00	base de contrato 10.00 máximo 11.00
Residuo carbonoso % máximo	0.015	0.015		Base de contrato 1.00 máximo 2.00	Base de contrato 3.00 máximo 3.75
Residuo orgánico a 160°C. %					
Cloruros (Cl), % Mx.	0.001	0.001	0.01		
Sulfatos (SO ₄), %	negativo	negativo	negativo		
Arsénico (As ₂ O ₃) % máximo	0.001	0.001			
Metales pesados % máximo.	0.0005	0.0005	negativo.		
Acroleína, glucosa y compuestos de amonio.	negativo	negativo	negativo		
Ácidos grasos y ésteres, -					
c.c. de HCl N/2, máximo.	4.00	4.00	4.65		
Substancias reductoras.	negativo	negativo	negativo		

NORMA OFICIAL DE CALIDAD PARA LA GLICERINA

Las siguientes determinaciones las establece la Norma Oficial de la Glicerina. Los reactivos que se mencionan deben ser reactivos analíticos, a menos que se especifique otra cosa. Cuando se hable de agua se entenderá agua destilada.

RECONOCIMIENTO CUANTITATIVO

Calentando unas gotas de Glicerina, en un tubo con 0.5 g de bisulfato de potasio, se desprenden vapores de acroleína, que se reconoce por su olor picante característico.

DETERMINACION DE ACIDOS GRASOS Y ESTEROS

Reactivos

Sol. de ácido clorhídrico 0.1 N

Sol. de hidróxido de potasio 0.1 N

Sol. de fenolftaleína al 1 % en alcohol al 95 %

Procedimiento

Se pesan 50 g de la muestr. por analizar y se colocan en un matraz Erlenmeyer de 300 ml, que contenga 50 ml de agua. Se agrega 1 ml de solución de fenolftaleína y si la muestra es alcalina, con solución de ácido clorhídrico 0.1N.

Se agregan 25 ml de la solución de hidróxido de potasio 0.1 N y varias cuentas de vidrio, se conecta el condensador en posición de reflujo y se calienta a ebullición suave durante cinco minutos. Se deja enfriar, se lavan las paredes del condensador con agua y se titula el contenido del matraz con

la solución de ácido clorhídrico 0.1 N.

Al mismo tiempo se prepara un testigo en las mismas cantidades de reactivos siguiendo el mismo procedimiento, pero sin agregar la muestra.

Cálculos y Resultados

El contenido de ácidos grasos y ésteres, expresados en tanto por ciento de Na_2O se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{Na}_2\text{O} \% = \frac{(V_2 - V_1) \times N \times 0.031 \times 100}{G}$$

V_2 = ml de solución de ácido clorhídrico empleados en la titulación del testigo.

V_1 = ml de solución de ácido clorhídrico empleados en la titulación de la muestra.

N = normalidad de la solución de ácido clorhídrico.

G = peso de la muestra en gramos.

Reproducción de la Prueba

La diferencia máxima permisible entre las determinaciones efectuadas, por duplicado no debe ser mayor de 0.01 %, - en caso contrario se recomienda repetir la determinación.

DETERMINACION DE SUSTANCIAS FACILMENTE CARBONIZABLES

Reactivos

Líquido patrón de comparación.

Procedimiento

Se miden en un tubo de comparación limpio y seco, 5 ml

de la muestra por analizar y 5 ml de ácido sulfúrico. Se tapa y se agita vigorosamente durante un minuto a temperatura ambiente. Se deja reposar durante una hora y se compara con los patrones preparados. Cada una de las comparaciones debe efectuarse observando transversalmente a través de la solución patrón, teniendo como fondo una placa de porcelana blanca.

Resultados

Los resultados de la comparación se informan según la siguiente "más clara que", "igual" o "más oscuro que" el patrón de comparación.

Observaciones.

El líquido de comparación debe prepararse cada mes y debe quedarse tapado herméticamente, en lugar oscuro. Este se prepara a partir de las soluciones, tomando alícuotas según se indica en la tabla I de la norma DGN-K-312-1970.

DETERMINACION DE CLORUROS

Reactivos

Solución de nitrato de plata 0.05 N

Solución de cromato de potasio K_2CrO_4 . Se disuelven 62 g de K_2CrO_4 en 100 ml de agua y se agregan varias gotas de solución de nitrato de plata. Se agita, se deja en reposo de 1 a 2 horas y se filtra.

Principio

El método consiste en la precipitación de los cloruros-

con la solución de nitrato de plata, empleando cromato de potasio como indicador.

Procedimiento

Se pesan 50 g de la muestra por analizar y se transfiere a un Erlenmeyer de 600 ml que contenga 30 ml de agua. Se agrega un ml de la solución de cromato de potasio, se agita y se titula con la solución de nitrato de plata.

Se prepara un testigo con 30 ml de agua y se procede en forma análoga a la que se indica.

Cálculos y Resultados

El contenido de cloruros, en tanto por ciento se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{Cl } \% = \frac{(V_1 - V_2) \times N \times 3.5457}{g}$$

V_1 = ml de solución de nitrato de plata gastados en la titulación del testigo.

V_2 = ml de la solución de nitrato de plata gastados en la titulación de la muestra.

N = normalidad de la solución de nitrato de plata.

g = peso de la muestra en gramos.

Reproducción de la Muestra.

La diferencia máxima permisible entre las determinaciones efectuadas por duplicado no debe ser mayor de 0.001 %, en caso contrario se recomienda repetir la determinación.

DETERMINACION DEL RESIDUO ORGANICO

El residuo orgánico esta representado por la diferencia entre el residuo a 160 °C y las cenizas.

Calculos

A = % del residuo total a 160°C.

B = % de cenizas.

R = % del residuo orgánico a 160 °C.

$R = A - B$.

DETERMINACION DE ACIDEZ Y ALCALINIDAD

Reactivos

Fenolftaleína solución indicadora

Solución de ácido clorhídrico 1 N.

Solución de hidróxido de sodio 1 N.

Procedimiento

Midanse en probeta 50 ml de muestra y colóquese en un erlenmeyer de 200 ml, lávese la probeta en que se midió la muestra con 100 ml de agua destilada recién hervida y fría (libre de CO₂) y pásese el agua del lavado al matraz que contiene la muestra. Titúlese la solución de glicerina con HCl N ó NaOH N usando fenolftaleína como indicador.

Cálculos

ml de HCl N ó NaOH N requeridos para 50 ml de muestra =

CP.

C = ml de HCl N ó NaOH N

F = factor de la solución

DETERMINACION DE CENIZAS O RESIDUOS CARBONOSOS

Procedimiento

Calientese a fuego directo 50 g de muestra en una cápsula de porcelana a peso constante, cuando la combustión — termina, incinerese el residuo al rojo hasta completa carbonización. Enfriese en un desecador y pésese.

Cálculos

Calcúlese el % de cenizas por la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Cenizas} = \frac{100 \times (a - b)}{P}$$

a = peso de la cápsula con cenizas

b = peso constante de la cápsula

P = peso de la muestra

DETERMINACION DE COLOR

Aparato

Tintómetro de Lovibond, escala de vidrios coloridos Lovibond, constituidos por una serie de vidrios rojos y otros amarillos.

Procedimiento

Método de Lovibond. Una probeta del tintómetro llénese con glicerina de la muestra hasta una altura de 12.125 cm y otra con agua hasta la misma altura, hagase la comparación con los vidrios de las escalas hasta obtener el color uniforme en las dos probetas.

El resultado se dará en el número de vidrio de color empleado.

DETERMINACION DE METALES PESADOS

Método Cualitativo

Procedimiento

Acidúlese con 1 ml de HCl diluído , 10 ml de una solución acuosa de glicerina (1 : 50) en un tubo de ensayo de 25 ml y 2 cm de diámetro, calientese a 50 °C, agreguese 10 ml de solución de recientemente preparado. Tépesese y dejese reposar esta mezcla por 10 min. a 35 °C. Después de este tiempo la mezcla debe conservar el olor a H_2S si no es así, saturese con el gas y dejese reposar por 30 min. , el color producido si es que lo hay, no debe ser mayor que el obtenido en la prueba testigo hecha en la misma forma y con la misma cantidad de reactivo.

La solución viéndola a través con una luz reflejad. y contra un fondo blanco, puede presentar un ligero enturbiamiento producido por la separación del azufre en H_2S Filtrese la solución si es necesario y alcalinívese por medio de solución reactiva de amoniaco, se producira un color verdoso, no debiéndose formar precipitado antes de un minuto.

Método cuantitativo

Procedimiento

Pesese 5 g de glicerina y diluyase a completar 10 ml, colóquese la solución en un tubo de Kessler de 25 ml acidúlese con 1 ml de HCl diluído, calientese a 50 °C agreguense 10 ml de solución de H_2S recientemente preparada.

Tépesese y dejese reposar la muestra por 10 min. a 35 °C. Después de este tiempo, la mezcla debe conservar el olor a H_2S sino es así, saturese con el gas y dejese reposar por 30 min., el color producido no debe ser mayor que el observa

do en la prueba testigo, preparada como a continuación se indica.

Soluciones

a) Solución reactivo de plomo. Disuélvase 0.1598g de — nitrato de plomo Q.P. en 100 ml de agua destilada a la cual se ha agregado 1 ml de HNO_3 y diluyase después a 1000 ml con — agua destilada.

b) Solución tipo de plomo. La solución tipo de plomo debe ser preparada en el momento de usarse y se hará de la siguiente manera; midanse 10 ml de la solución anterior y diluyase hasta 100ml con agua destilada.

c) Solución testigo. En un tubo Nessler de 25 ml viertan se 25 ml de solución tipo de nitrato de plomo, agreguense 8.5 ml de agua destilada, acidúlese y continúe el procedimiento.

REACCIONES CUANTITATIVAS DE PUREZA

Substancias Proteicas

A 3 ml de glicerina agreguense 2 ml de S.R. de hidróxido de sodio y una gota de S.R. de sulfato de cobre, no deberá dar coloración violácea o rosada.

Sulfatos

A 10 ml de una solución acuosa de glicerina (1 : 10) agreguense 3 gotas de HCl diluido y 5 gotas de S.R. de cloruro de bario, no debe haber turbidez.

Cloruros

A 10 ml de una solución acuosa de glicerina (1 : 10) agreguense 3 gotas de ácido nítrico diluido y 0.5 ml de S.R.

de nitrato de plata, no debe haber turbidez.

Acroleína, Glucosa y Compuestos de Amonio

Calientense a 60°C durante 5 min. una mezcla de 5 ml de glicerina y 5 ml de solución acuosa de hidróxido de potasio (1 : 10.), la solución no debe tomar color amarillo, ni despedir olor a amoníaco.

Substancias Reductoras

Tratense 10 ml de glicerina con 10 ml de ~~AgNO₃~~ al 10 %. - No debe de formarse ni obscurecerse marcadamente después de 10 min, en la obscuridad.

DETERMINACION DE PUREZA

Se menciona en la parte experimental, por ser uno de los métodos con el cuál se compara el método propuesto.

MÉTODOS ENCONTRADOS EN LA LITERATURA PARA LA DETERMINACIÓN DE PUREZA DE LA GLICERINA

METODO ENZIMATICO

Introducción

Este método es de los más sensibles para la determinación del glicerol.

Fundamento

Esta basado en la fosforilación enzimática del glicerol seguido por la oxidación del glicerol fosfato, por la glicerolesfosfato deshidrogenasa, la cuál es acompañada por la reducción del NAD (Nicotinamida adenin dinucleotido) a NADH. - Este último el NADH₂ es usado para reducir el violeta de iodo nitrotetrazolium, formandose un producto colorido.

Reactivos

1.- ATP (8.9×10^{-3} M) y NAD 1.56×10^{-2} M como mezcla reconstituida con agua destilada, previa a su uso inmediato.

2.- Violeta de iodonitrotetrazolium al 0.003 % y metasulfonato metilfenazolium al 0.005 % siendo suspendidos en solución como reactivo.

3.- Glicerol quinasa (1780 unidades) y glicerol fosfato deshidrogenasa (150 COG unidades) suspendidas en solución y mezcladas con ATP-NAD inmediato a su uso.

Procedimiento

A un tubo de ensayo de $\phi = 100$ mm se adicionan 5 ml del estandar de muestra, 0.5 ml de glicerol quinasa-glicerolesfosfatodeshidrogenasa exactamente medidos. Dicha solución, se pone

en un baño de agua a 37 °C; exactamente después de 10 min. - se retira del baño, para adicionarle 0.5 ml de violeta de io donitrotetrazolium al 0.003 % y N-metasulfonato metilfenazoli im al 0.005 % e inmediatamente se retorna al baño de agua. - Pasados exactamente 10 min. de la segunda adición, se retira del baño de agua y se le adiciona 2 ml de HCl 0.1 N. Se deja estandarizar por 5 min..

Después de 30 min. que la solución ha desarrollado color se lee a 505 nm.

Observaciones

La literatura reporta que el método sigue la Ley de Beer en un rango de 50 a 600 μ g de glicerol/ml.

Para este método enzimático es necesario que se mantenga la temperatura estricta, en este caso a 37 °C.

La adición de los reactivos debe ser en intervalos de - tiempo estrictos.

METODO RADIOENZIMATICO

Introducción

Este método es una modificación del Método Enzimático.

Fundamento

El ensayo depende de la fosforilación cuantitativa de glicerol a glicerol fosfato, por la glicerol quinasa usando (γ - ^{32}P) ATP como sustrato. La cantidad de ^{32}P del glicerolfosfato formado en la reacción, es separada por cromatografía - en capa fina haciéndose su cuantificación, la cuál refleja la cantidad de glicerol original:

Si el glicerol es marcado con ^{14}C o ^3H la relación de estos isotopos a ^{32}P en el glicerolfosfato, da una medida de glicerol con actividad específica, que es esencialmente independiente para la recuperación de la muestra.

Reactivos y Materiales

Todos los reactivos son grado reactivo, los solventes - son redestilados.

Tripalmitin m.p.61a62°C obtenidos por Fisher Chemical - Co, Fairlawn N.J. cromatografía como unica mancha en placas de silica en capa fina, desarrolladas con hexano-eter etilico-acido acético 60:40:15 (v/v/v).

Albúmina de suero bovino, bajo en acidos grasos, obtenida por Sigma Chemical Co, St Louis MO.

Celulosa MN (Brinkmann, west bury N.Y.) y silica gel (Anal. Abs. North Haven, CT) usada en cromatografía en capa fina.

Sentelleador Omnifluor, fabricado por la Corporación Nuclear Boston MA de New England.

Glicerol quinasa (E.coli) obtenida por Worthington Biochemical Co. Freehold, N.J. , se prepara disolviendo 0.2 mg de la enzima en 0.03 ml de etilenglicol 0.1M seguido por la adición de 0.07 ml NaCl saturada de sulfato de amonio. La suspensión resultante contiene 8 μ /ml siendo estable por varios meses bajo refrigeración.

(γ ³²P)ATP, se prepara marcando el ³²P ortofosfato - por el método de Glynn y Chapell, después de la marcación, el ATP es purificado por absorción en charcoal. (La mezcla de reacción se acidifica a un pH = 2 con HCl 4 M, adicionado para activar el charcoal. Después de lavar el charcoal con 5 ml de HCl 0.01 M y 0.001 KH_2PO_4 , el ATP se eluye con 5 porciones de 5 ml de etanol y NH_4OH 1 M 1:1 (v/v) y se seca a vacío, el ATP se redissuelve en 1 mM Tris-HCl con buffer de 7.4) 0.2 μ mol EDTA, 0.5 μ mol MgCl_2 , 1 μ mol β -mercapto-etanol.

Procedimiento

Para correr un ensayo de 0-10 nmol de glicerol.

Se colocan 0.1 ml de la muestra y 0.05 ml de la mezcla enzimática usada para el ensayo.

Cada 0.05 ml de la mezcla enzimática contiene 10 μ mol Tris-HCl buffer pH 7.4, 0.2 μ mol EDTA, 0.5 μ mol MgCl_2 , 1 μ mol β -mercapto-etanol, 0.5 mg de albumina de suero 16 mU de glicerol quinasa, 20 nmol de ATP y suficiente (γ ³²P)ATP, para dar una actividad específica de 1000-2000 cpm/mol (0.5-1.0/nmol).

Observaciones

Para ensayos que vayan de 5 - 300 μ mol, la glicerol quinasa se incrementa a 80 mU por tubo de ensayo, y el ATP se

se incrementa en un mínimo de 2 veces.

En la literatura se reporta su sensibilidad en un rango de 1 - 100 mmol.

METODO POR CROMATOGRAFIA A ALTA PRESION

Introducción

La cromatografía abarca una gran variedad de técnicas de separación sumamente efectivas. La característica común con todas ellas es que los componentes de la muestra se distribuyen en dos fases, una de ellas es estacionaria, mientras que la otra se filtra a través de los intersticios o sobre la superficie de la fase fija. El desplazamiento de la fase móvil se manifiesta en una migración diferencial de los componentes de la muestra.

Los pasos que sigue un proceso cromatográfico son: elución, desplazamiento y análisis frontal.

Fundamento

Los avances en la tecnología en columna, en sistemas de bombeo a alta presión y en detectores, han transformado la cromatografía líquida en columna en un método de separación altamente rápido y eficiente.

Este método se refiere como HPLC (high-performance liquid chromatography).

La tecnología de columna esta basada en el uso de columnas de pequeño calibre (2 a 5 mm ID) y empacadas con partículas pequeñas (3 - 50 μ m) que permiten un rápido equilibrio entre la fase móvil y la fase estacionaria.

Esta tecnología de columna de pequeñas partículas, requiere sistemas de bombeo de alta presión, capaz de liberar la fase móvil a alta presión (tanto como a 300 atm.) y con variación de flujo de varios ml / min.. De ahí que es necesario el uso de cantidades por analizar usualmente inferiores

a 20 μ g).

Con esta tecnología de cromatografía de líquidos en columna , pueden darse separaciones altamente rápidas comparables en muchos casos a las llevadas a cabo por cromatografía de gases.

Las tres formas de HPLC son: intercambio iónico, partición, adsorción.

Reactivos y Materiales

Columna empacada con aminex Q-15-5 (Bio-Rad Labs, Richmond, Calif., U.S.A.), LiChrosorb SI-60, 5 m (Merck Darmstadt, GFR) o en amino propil silicagel.

Cloruro de 4-nitrobenzoil (Fluka, Buchs, Switserland) re-cristalizado con n-pentano (Merck).

Piridina (Fluka) reflujaada por 2 horas

4- Dimetilamino piridina (Fluka)

Carbonato de sodio (Fluka)

Cloroformo puro espectroscopia en UV (Fluka)

n-hexano (Merck)

Acetonitrilo Uvasol (Merck)

Estandares (Los estandares de los alcoholes polihidricos obtenidos en alto grado de pureza por Fluka).

Procedimiento

Los alcoholes polihidricos fueron disueltos en piridina (la concentración de la muestra en solución no debe exceder en 5 mg/ml).

Se coloca en un matraz con tapón esmerilado de 10 ml, - 50 μ l de la solución del alcohol polihidrico y 150 μ l de solución recientemente preparada de 100 mg de cloruro de 4 nitrobenzoil en 1 ml de piridina. La mezcla se agita y se estandariza por 10 min. a una temperatura ambiente. Se remueve la piridina calentando a 80 °C y a vacío, el residuo es secado a vacío (se quita la piridina, porque puede interferir en la separación de los polialcoholes).

El residuo ya libre de piridina se disuelve en 2 ml de solución (250 mg de 4- dimetilamino piridina en 100ml de -

solución al 5 % de carbonato de sodio), esta solución es unu suavemente turbia, se deja estandarizar por 10 min., entonces se extrae con 2 ml de cloroformo, esta extracción se lava con 2 ml de carbonato de sodio al 5 % y dos lavados con 3 ml cada uno de ácido clorhídrico 0.05 en solución de NaCl al 5 %. La porción cloroformica ya tratada es directamente inyectada al cromatografo de líquidos.

Observaciones

Hay una completa separación de los alcoholes polihídricos, teniendo gran sensibilidad.

El rango de sensibilidad es de 2 a 750 μ g.

Aplicaciones

Para la determinación del sorbitol en jugo de manzana.

Para la determinación de humectantes del tabaco (Propilenglicol, etilenglicol, glicerol y sorbitol), se pueden identificar en una única operación.

Determinación de xilol en pastas dentales.

METODO DE LA U.S.P. XIX

Introducción

Esta basada en la determinación de su densidad, reportándose el % de Glicerina, dependiendo de su densidad.

Fundamento

La densidad es la cantidad de materia contenida en una unidad de volumen de cualquier sustancia, es una característica de esa sustancia a temperatura y presión constante.

Reactivos y Materiales

Picnómetro limpio y seco previamente calibrado

Agua recientemente hervida

Glicerina

Procedimiento

Su determinación se basa en la relación del peso de la sustancia en el aire a 25° y el de un volumen igual de agua a la misma temperatura.

Se selecciona un picnómetro limpio y seco que previamente ha sido calibrado por la determinación de su peso y pesándolo con agua recientemente hervida a 25°. Se ajusta la temperatura de la sustancia en cerca de 20° y con esta se llena el picnómetro, ya lleno se ajusta la temperatura a 25°, se quita cualquier sobrante de la sustancia y se pesa. Se resta el peso del picnómetro tarado del peso del picnómetro lleno. La densidad de la sustancia es el cociente obtenido al dividir el peso de la sustancia contenida en el picnómetro entre el peso del agua contenida en el mismo, determinadas ambas a 25°.

Observaciones

La gravedad específica o densidad de la Glicerina no es menor que 1.249, correspondiendo a no menos del 95.0 %.

PARTE EXPERIMENTAL

INTRODUCCION

El método que se propone para la determinación del glicerol, se comparará con 3 métodos, el método de la Norma Oficial para la Determinación de Pureza de la Glicerina, con el de la U.S.P. IX para la Determinación de Pureza de la Glicerina y con el método de la Determinación Enzimática de la Pureza de Glicerina, hecha con el jgo. de reactivos para la Determinación de Triglicéridos en Suero y Plasma.

Tanto el método que se propone, el método de la Norma Oficial como el de la USP IX, están basados en las diferentes experiencias que se han tenido para la determinación de diferentes productos, que han sido oxidados por la reacción de Malaprade.

En cuanto al método enzimático, consiste en la reacción del glicerol con diferentes enzimas y su concentración es proporcional a la disminución de la concentración de una de las enzimas.

El método de la Norma Oficial y el de la USP IX tienen una determinación volumétrica.

El método propuesto como el Enzimático, tienen una determinación espectrofotométrica.

METODO I, Y METODO II. "DETERMINACIONES VOLUMETRICAS"

Fundamento del analisis volumétrico.

En el analisis volumétrico la cantidad de substancia que se busca, se determina de forma indirecta midiendo el volúmen de una solución de concentración conocida, que se necesita para que reaccione con el constituyente que se analiza o con otra sustancia químicamente equivalente.

El proceso de adición de un volúmen medido de la disolución de concentración conocida para que reaccione con el constituyente buscado, se denomina valoración.

La disolución de concentración conocida es una disolución patrón que puede prepararse de forma directa o por normalización mediante reacción con un patrón primario. El punto final de la valoración se aprecia, por un cambio brusco de alguna propiedad del sistema reaccionante, estimado mediante un indicador; este cambio debería presentarse idealmente en el momento en que se haya añadido una cantidad de reactivo equivalente a la de la substancia buscada, es decir en el punto estequiométrico de la reacción.

Requisitos

Para que un proceso sea susceptible de ser aplicado en un método volumétrico debe cumplir con cierto número de exigencias.

1) La reacción entre el constituyente buscado y el reactivo debe ser sencilla; la reacción sirve de base en los cálculos.

2) La reacción debiera ser estequiométrica, los cálculos

a efectuar con los datos exigen una reacción definida.

3) La reacción debe ser rápida, con objeto de que la valoración pueda realizarse en poco tiempo.

4) La reacción debe ser completa en el momento en que se han añadido cantidades equivalentes (estequiométricas) de las sustancias reaccionantes, lo cual permite que puedan realizarse los cálculos.

5) Debe disponerse de una disolución patrón como reactivo valorante.

6) Debe existir un indicador que señale el punto final de la valoración.

7) Deben utilizarse aparatos de medidas exactas (buretas, pipetas, balanzas).

Determinación del Punto Final

El punto final de una valoración se detecta mediante un cambio brusco de alguna propiedad de la mezcla reaccionante o de alguna sustancia que se añade a dicha mezcla, en general consiste en una observación visual del cambio o en la medida de alguna propiedad física del sistema.

Método Visual

Los indicadores de ácido-base. Los indicadores ácido-base, con ácidos o bases débiles, cuyos aniones o cationes respectivamente, tienen color diferente que las formas sin disociar. Los indicadores son ácidos o bases más débiles que las que se valoran o utilizan como valorantes, por tanto dichos indicadores no reaccionan de forma permanente con el reactivo valorante hasta que la reacción principal no es completa.

Deben escogerse en cada caso la forma que indiquen los cambios de pH en las cercanías del punto final de las reacciones de neutralización principal.

Método Eléctrico

Existen distintos métodos de indicación del punto final de las valoraciones por observación de los cambios en las propiedades eléctricas de la muestra. La mayor parte de este tipo de métodos emplea el trazado de una curva, que indica la variación de una magnitud eléctrica en función de la cantidad de reactivo que será añadido; el punto estequiométrico se pone de manifiesto en esta curva por una variación rápida de la propiedad eléctrica que se mide.

Potenciométrico.— Se mide la E_{em} entre dos electrodos colocados en la disolución que se valora. En los alrededores del punto estequiométrico, el potencial cambia rápidamente al añadir pequeñas porciones del reactivo valorante.

En todo análisis volumétrico, sea para la normalización de disoluciones o para el análisis de problemas desconocidos deben observarse los siguientes principios generales.

1) La muestra tomada no deben ser demasiado pequeñas para que los errores de pesada, por ejemplo 0.2 mg den lugar a errores relativamente pequeños.

2) El volumen consumido de reactivo no debe ser demasiado pequeño.

3) La muestra tomada no debe ser tan grande que de lugar

a que haya que volver a llenar la bureta para completar la valoración implicando errores adicionales de lectura y de drenaje.

4) Debe efectuarse la valoración directa hasta el punto final, o sobrepasar este punto y valorar por retroceso con otra disolución patrón es molesto y presenta más posibilidades de error. No obstante en algunos métodos volumétricos es conveniente e incluso necesario por unas y otras razones añadir un exceso de disolución patrón y valorar el exceso por retroceso.

5) Cuando sea posible, debe efectuarse determinaciones en blanco con el indicador y restarse las cantidades de reactivo que en ellos se consume de la cantidad gastada en la valoración.

6) La normalización o el análisis deben fundamentarse - en los resultados de al menos 3 valoraciones con estrecha concordancia, preferiblemente con cantidades algo diferentes de muestra para evitar cualquier perjuicio personal, en la detección del punto final.

M E T O D O I

DETERMINACION DE PUREZA DE GLICERINA ES LA NORMA OFICIAL

Introducción

Este método se establece para la determinación de pureza de glicerina y otros polialcoholes que contengan tres o más grupos hidroxilos adyacentes.

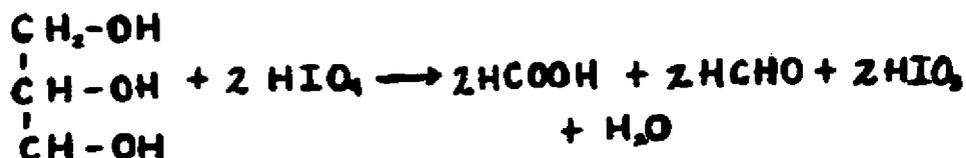
Esta es un método potenciométrico, en el que la glicerina, se pone en condiciones adecuadas para hacer reproducible su detección.

El número de la norma es DGN-K-222-1971

Fundamento

La glicerina reacciona con el peryodato de sodio, en solución acida, formando aldehído y ácido fórmico.

La reacción es la siguiente:



La valoración del ácido fórmico, indica el contenido de la glicerina en la muestra.

Aparatos y Equipo

Potenciometro

Vasos de precipitado de 300 ml

Matraces volumétricos de 250 ml

1 Pipeta volumétrica de 25 ml

Buretas graduadas de 50 ml

Reactivos

Los reactivos que se mencionan, deben ser reactivos analíticos. Cuando se hable de agua deberá ser agua destilada.

Solución de NaIO_3 . - Se disuelven 60 g de peryodato de sodio, en una solución de 120 ml de H_2SO_4 0.1 N y 880 ml de agua. Se afora con la misma solución acida. Se agita hasta que el NaIO_3 se disuelve sin calentar la solución.

Si la solución no esta clara, se filtra a través de un crisol de vidrio poroso y se envasa en un recipiente de color ámbar. Se valora todas las veces que se utilice.

Valoración.- Se mide con una pipeta 10 ml de solución de peryodato de sodio y se vierten en un matraz volumétrico de 250 ml. Se pesan 0.5 a 0.6 g de Glicerina y se diluyen con 50 ml de solución diluida de peryodato de sodio, medidos con una pipeta; se deja en reposo durante 30 min. y se añaden 5 ml de HCl , 10 ml de solución de KI al 15 %, se agita y se deja en reposo 5 min., se añaden 100 ml de agua. Se titula con solución de tiosulfato de sodio agitando continuamente hasta que el color amarillo haya desaparecido casi completamente, se agregan 1 ó 2 ml de solución de almidón y se valora hasta que el color azul desaparezca.

Se prepara un testigo con los mismos reactivos y se procede en forma análoga a la indicada con anterioridad. Se considera que la solución de peryodato de sodio es satisfactoria cuando la relación:

$$\frac{V \text{ Na}_2\text{SO}_3 \text{ para la Glicerina}}{V \text{ Na}_2\text{SO}_3 \text{ para el blanco}} = 0.75 \text{ y } 0.765$$

$$V \text{ Na}_2\text{SO}_3 \text{ para el blanco}$$

Solución de 0.125 N de NaOH .- Se valora con ftalato ácido de potasio empleando fenolftaleína como indicador.

Solución de NaOH aproximadamente 0.05 N.

Solución de ácido sulfúrico aproximadamente 0.2 N.

Solución indicadora de azul de bromotimol al 0.1 %.- Se pesa 0.1 g de indicador en polvo y se coloca en un mortero, se disuelve con 16 ml de NaOH 0.01 N a la cantidad equivalente a la normalidad que se disponga. Se agita con la mano del mortero hasta que se disuelva completamente. La solución se pasa a un matraz volumétrico de 100 ml y se afora con agua.

Solución de etilenglicol al 50 % v/v.

Solución de tiosulfato de sodio 0.1 N .

Solución indicadora de almidón.- Se prepara una mezcla homogénea de 10 g de almidón soluble y agua fría; se añade esta en un litro de agua caliente, se agita rápidamente y se enfría. Se puede añadir ácido salicílico (1.25 g/l).

Solución de KI al 15 %.

Solución reguladora.- Se pesan aproximadamente 50 g de ftalato de potasio previamente desecado en una estufa a $100^{\circ}\text{C} + 5^{\circ}\text{C}$. Del ftalato ácido de potasio seco, se pesan 40.84 g y se colocan en un matraz volumétrico de 1 litro, se disuelve y se afora con agua.

Procedimiento

Para mantener un resultado exacto es necesario homogenar la muestra mediante agitación vigorosa u otro procedimiento que asegure una mezcla eficaz. Si algunas mezclas de Glicerina de elevada viscosidad dificulta esta operación, en estos casos se calienta previamente la muestra y se procede a su homogenización.

En una cápsula de porcelana se pesan rápidamente una cantidad de muestra que contenga entre 0.32 y 0.5 g (ver la tabla# 2) de Glicerina. Inmediatamente se transfiere cuantitativamente a un vaso de precipitados de 600 ml empleando pequeñas porciones de agua. Cuando el volumen de muestra es menor de 50 ml, se agrega suficiente agua para completar este volumen.

Las cantidades de la muestra que deben pesarse se dan en la tabla (según el contenido de Glicerina). Si el contenido de Glicerina en la muestra no es conocido, se procede como si tuviera el porcentaje que se considere más probable, o en todo caso, como si se tratara de Glicerina pura del 100 %. Del resultado que se obtiene en este ensayo se fija el peso adecuado de muestra para la operación definitiva.

Se añaden de 5 a 7 gotas de azul de bromotimol y suficiente cantidad de solución de H_2SO_4 0.2 N hasta que la coloración sea amarilla, se neutraliza con solución de NaOH 0.05 N hasta que el color azul sea permanente. En soluciones coloreadas u oscuras, cuyo color impide ver el viraje del indicador se usa el potenciómetro, el pH a 8.1 ± 0.1 con solución reguladora.

Se prepara un blanco con 50 ml de H_2O y se procede en la forma indicada.

Se agrega c/ una pipeta 50 ml de solución de peryodato de sodio, se agitan suavemente y se deja en reposo durante 30 min. a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se añaden 10 ml de la solución de etilenglicol 50 % y se deja en reposo durante 20 min.

Finalmente se diluye a un volumen aproximado de 300 ml y se titula con solución de hidróxido de sodio 0.125 N. Si se emplea un potenciómetro para determinar el punto final, se lleva el testigo a un pH de 6.5 ± 0.1 y 8.1 ± 0.1 para la muestra.

El contenido de Glicerina en tanto por ciento se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{Glicerina} = \frac{(V_1 - V_2) \cdot N \cdot 9.209}{g} \cdot 100$$

donde:

V_1 = ml de solución de NaOH empleados en la valoración de la muestra.

V_2 = ml de solución de NaOH empleados en la valoración del testigo (V_2 no debe ser inferior a 4.5 ml).

N = normalidad de la solución de NaOH.

g = peso de la muestra en gramos.

TABLA # 2

Contenido aproximado de glicerina Cantidad de muestra que se ha en la muestra que se va a analizar de pesar, en gramos.

X	g
100 o menos	0.40 - 0.53
90 o menos	0.45 - 0.55
80 o menos	0.50 - 0.60
70 o menos	0.55 - 0.75
60 o menos	0.65 - 0.85
50 o menos	0.80 - 1.00
40 o menos	0.90 - 1.20
30 o menos	1.20 - 1.80
20 o menos	1.80 - 2.60
10 o menos	4.00 - 5.00
5 o menos	7.0 - 11.0
2.5 o menos	16.0 - 20.0
1.0 o menos	40.0
0.5 o menos	80.0

Observaciones.

Los resultados más confiables se obtienen cuando el contenido de Glicerina se encuentra entre estos valores. Con cantidades más pequeñas los resultados tienden a ser más elevados y menos precisos.

Si la muestra contiene una cantidad apreciable de solución reguladora el pH se debe ajustar con un potenciómetro.

Se debe evitar el uso de tapones de corcho en los frascos de todas aquellas soluciones que se van a poner en contacto con la solución de periodato.

Para hacer el analisis se trabaja con:

Concentraciones	% de Glicerina (resultados obtenidos)	Promedio del % de Glicerina
99.9 %	99.184	99.169
	99.080	
	99.201	
	99.213	
87.0 %	87.415	87.110
	87.094	
	86.901	
	87.038	
79.8 %	79.120	79.220
	79.371	
	79.260	
	79.161	
62.25 %	62.942	63.13
	63.790	
	62.521	
	63.280	
43.5 %	43.271	42.96
	42.420	
	42.973	
	43.190	

Concentraciones	% de Glicerina (resultados obtenidos)	Promedio del % de Glicerina
39.8 %	39.292	39.38
	39.761	
	39.570	
	38.921	
19.5 %	19.534	19.59
	19.828	
	19.776	
	19.251	
9.72 %	9.381	9.366
	9.323	
	9.401	
	9.361	
1.1 %	1.113	1.117
	1.115	
	1.110	
	1.131	

Se relaciona el promedio del % de Glicoxina de cada -
concentración , para sacar su % con respecto al 100 %.

99.9 %	100.0 %	X = 99.26 %
	99.9 %	99.169 %
87.0 %	100.0 %	X = 100.126 %
	87.0 %	87.11 %
79.8 %	100.0 %	X = 99.273 %
	79.8 %	79.22 %
62.25 %	100.0 %	X = 101.413 %
	62.25%	63.13 %
43.5 %	100.0 %	X = 98.758 %
	43.5 %	42.96 %
39.8 %	100.0 %	X = 98.944 %
	39.8 %	39.38 %
19.5 %	100.0 %	X = 100.461 %
	19.5 %	19.59 %
9.72 %	100.0 %	X = 96.358 %
	9.72%	9.366 %
1.10 %	100.0 %	X = 101.627 %
	1.10%	1.1179 %

NOTA:

El número de elementos de la muestra son el promedio del % de Glicerina de cada concentración. Las concentraciones son de 99.9 % a 1.1 %.

La sensibilidad del método es de 0.4 g de Glicerol.

Para conc. del 100.0 % se requiere una cantidad de 0.4 g y para conc. de 0.5 % se requiere una cantidad de 80.0 g.

No se hace necesario tener un estandar de referencia, par hacer la determinación.

M E T O D O I I

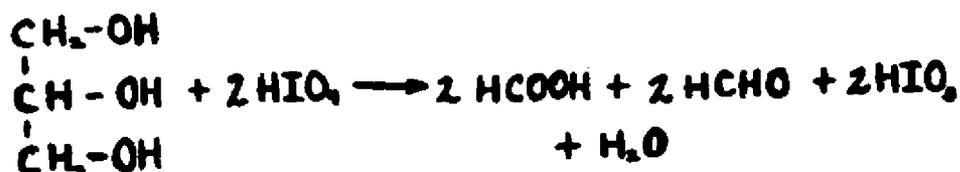
DETERMINACION DE FUERZA DE GLICERINA DE LA U.S.P. XI

Introducción

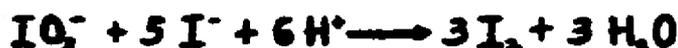
El método de la U.S.P. XI es aplicable para la determinación de la Glicerina y otros polialcoholes que contengan 3 o más grupos hidroxilo adyacentes.

Fundamento

La Glicerina reacciona con el peryodato de potasio formando:



De ahí el IO_3^- , se transforma a I_2 por la siguiente reacción



El yodo formado reacciona con el arsenito.



Para neutralizar el ácido yodhídrico formado y evitar la reversibilidad de la reacción es empleado en la valoración bicarbonato de sodio. Los hidróxidos alcalinos no pueden ser empleados como neutralizantes en este caso, pues daría lugar a la formación de yoduro, yodato e hiperyodato, con el yodo de la solución, obteniéndose por tanto resultados falsos.

Aparatos y Equipo

Bureta de 50 ml graduada en 0.1 ml.

1 Matraz volumétrico de 1000 ml.

1 " " de 500 ml.

Pipetas volumétricas de 3 ml.

Probeta graduada de 100 ml.

Matraces erlenmeyer de 250 ml.

Balanza analítica.

Reactivos

Peryodato de sodio.- Diluya 3 g de KIO_4 en 500 ml de H_2O caliente, enfría y diluya a 1000 ml, con H_2O .

Bicarbonato de sodio

Arsenito de potasio 0.1 N.

Ioduro de potasio

Solución de almidón.

Procedimiento

Transfiera 3 g de glicerina exactamente pesados a un matraz volumétrico de 500 ml, diluya con agua a volumen y mezcle.

Tome 3 ml en un matraz de 250 ml, adicione 100 ml de solución de peryodato de potasio, agite y estandarice por 10 min.

Adicione 4 g de bicarbonato de potasio, 2 g de yoduro de

potasio y titule inmediatamente con arsenito de potasio, a -
dicione 3 ml de almidón TS en el punto final, hasta colora -
ción azul permanente.

El procedimiento describe que se transfieren 3 g de Glicerina a un matraz volumétrico de 500 ml y se afora con agua (conc. 6×10^3 g/ml de Glicerina), de esta se toman 3 ml y se procede a su análisis. La concentración que se analiza es de 18×10^3 g de Glicerina.

Concentraciones	% de Glicerina (resultados obtenidos)	Promedio del % de Glicerina
0.003 g	135.0	135.33
	142.0	
	129.0	
0.006 g	101.7	101.90
	102.5	
	101.5	
0.012 g	100.97	100.726
	100.11	
	101.10	
0.018 g	100.19	100.143
	100.35	
	99.89	
0.024 g	100.01	99.853
	99.98	
	99.57	
0.030 g	98.51	97.943
	98.01	
	97.31	

Concentraciones:	% de Glic. ins. (resultados obtenidos)	Promedio del % de Glicerina
0.045 g	96.13	96.506
	97.04	
	96.35	
0.060 g	93.45	93.30
	92.69	
	93.76	

NOTA:

El número de elementos de la muestra son el promedio del % de Glicerina de cada concentración. Las conc. con que se trabajan son de 0.012 g a 0.024 g.

La sensibilidad del método es de .018 g de Glicerina.

No se hace necesario tener un estándar de referencia, para hacer la determinación.

METODO III Y METODO IV. "DETERMINACIONE, ESPECTROFOTOMETRICAS".

Fundamento del analisis espectrofotométrico.

Cuando un haz de energía radiante monocromática incide sobre una capa homogénea de una sustancia "transparente", - parte de su energía es absorbida y el resto transmitida. Si la energía radiante incidente tiene longitudes de onda de la región visible del espectro y el medio a través del cual tiene que pasar, absorbe selectivamente ciertas longitudes de onda, el color observado corresponderá a las longitudes de onda de la energía transmitida. Estas generalizaciones tienen su base cuantitativa en las leyes de la espectrofotometría.

Ley de Bouguer (durante muchos años esta ley se llamo de Lambert (1760); pero después se supo que había sido enunciada por Bouguer (1629)).

a) La relación entre la energía radiante transmitida, P y la incidente P_0 , es una constante:

$$P / P_0 = T$$

La constante R , es la transmitancia.

b) Capas de igual espesor absorben fracciones iguales de energía de una radiación incidente sobre ellas, o bien -- la energía de la radiación transmitida decrece en progresión geométrica cuando el espesor aumenta en progresión aritmética.

La Ley de Bouguer se expresa matemáticamente así:

$$- \log T = ab$$

$T = \text{Transmitancia} = P / P_0$

$b = \text{espesor de la celda}$

$a = \text{absortividad del medio}$

El término T lleva signo negativo porque la transmitancia decrece cuando aumenta el espesor de la celda. El término absorbancia A , es el logaritmo en base 10 con signo negativo del recíproco de la transmitancia.

$$A = ab = -\log_{10} T = -\log_{10}(P/P_0) = \log_{10}(P_0/P) \\ = \log_{10}(1/T)$$

Como el logaritmo en base 10 es una potencia de 10 que da la cantidad, se podrá escribir también:

$$P = P_0 \cdot 10^{-ab} \quad \text{o} \quad P_0 = P \cdot 10^{ab}$$

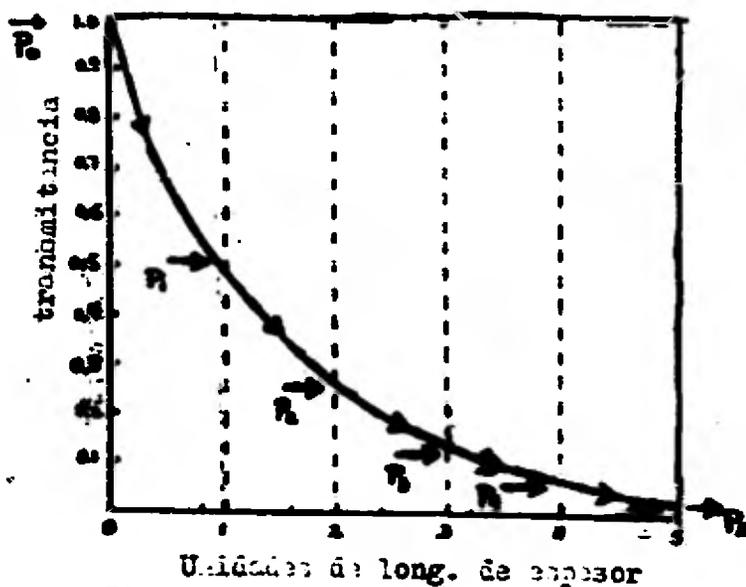


Diagrama representativo de la Ley de Bouguer, suponiendo que $T = P/P_0 = 0.5$ por unidad de longitud de espesor.

Ley de Beer

Expresa la misma relación entre transmitancia y concentración del material absorbente que la ley de Bouguer entre transmitancia y espesor, es decir que para un espesor dado, la transmitancia disminuye en progresión geométrica cuando la concentración aumenta en progresión aritmética.

$$- \log T = ac$$

c = Concentración

a = Absortividad y también absorbancia por unidad de concentración y unidad de espesor de la celda.

La ley de Beer se expresa mediante las siguientes relaciones:

$$\begin{aligned} A = ac &= - \log T = - \log (P/P_0) = \log (P_0/P) \\ &= \log (1/T) \end{aligned}$$

$$P = P_0 \cdot 10^{-ac} \quad \text{y} \quad P_0 = P \cdot 10^{ac}$$

Las Leyes Fundamentales de la Espectrofotometría, se obtienen por combinación de la ley de Bouguer con la de Beer, resultando las siguientes relaciones:

$$\begin{aligned} A = abc &= - \log T = - \log (P/P_0) = \log (P_0/P) \\ &= \log (1/T) \end{aligned}$$

$$P = P_0 \cdot 10^{-abc} \quad \text{y} \quad P_0 = P \cdot 10^{abc}$$

La forma de estas ecuaciones indica que la representación gráfica de la absorbancia A (de una sustancia dada en un espesor constante), en función de la concentración c es una

línea recta de pendiente a , y la representación de $\log T$ contra c es otra línea recta de pendiente $-a$, en la cuál a es la absortividad de la sustancia, con dimensiones de unidades de concentración y espesor de la celda.

Desviaciones de la Ley

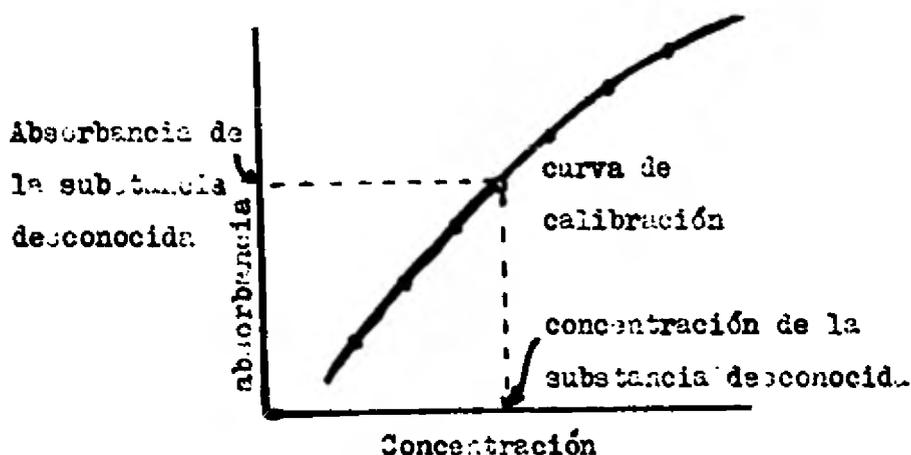
Muchos sistemas absorbentes siguen la Ley de Beer bastante bien en soluciones diluidas, pero en otras las absorbancias varían en forma no lineal respecto a la concentración. Este funcionamiento se conoce como la Ley de Beer. Para manejar estos sistemas se requiere una curva de calibración trazada con valores de muestra de concentraciones conocidas. En esta forma una concentración desconocida se puede determinar a partir de la absorbancia de la solución, en la misma celda y siguiendo el mismo procedimiento empleado para la determinación de las muestras tipo.

Las verdaderas desviaciones de la Ley de Beer se presentan solo en sistemas en los que la concentración de las especies absorbentes es tan alto que el índice de refracción de la radiación absorbida varía.

Consecuentemente, las concentraciones que se requieren en las soluciones para que se siga la Ley de Beer, deben ser inferiores en poder radiante a 10^{-3} M. La posibilidad del aparato para detectar pequeñas diferencias en poder radiante determina el límite inferior que es de orden de 10^{-7} M, aproximadamente.

Las desviaciones aparentes de la Ley de Beer, se deben tanto a las limitaciones de los instrumentos como a los efectos del equilibrio químico asimétrico.

Desviación de la Ley de Beer



Curva de calibración no lineal, de Absorbancia vs concentración a un máximo de absorbancia determinado.

Por tanto este método espectrofotométrico es uno de los métodos físicoquímicos más empleados en análisis, basado en la medida de la absorción o emisión de la energía radiante.

La gran difusión de esta técnica, es consecuencia de los siguientes factores:

- 1) El amplio intervalo de la longitud de onda, o de frecuencias de energía radiante y sus diferentes modos de interacción con la materia.
- 2) La existencia en el mercado de instrumentos de medida cada vez más precisos.
- 3) Las ventajas inherentes al método.
 - a) El análisis es más rápido una vez establecido el método.
 - b) Comodidad para mediciones repetidas de un mismo constituyente.
 - c) Aplicable a la determinación exacta de cantidades

de muestra a mucho menores que con los métodos gravimétricos o volumétricos, por lo que es adecuado para el análisis de -
trams.

MÉTODOS III

DETERMINACIÓN ENZIMÁTICA DE LOS TRIGLICÉRIDOS EN SUERO, HEMOGLOBINA Y URINA. PARA LA DETERMINACIÓN DE TRIGLICÉRIDOS EN SUERO Y URINA.

Introducción

En la literatura se ha reportado que uno de los métodos más sensibles para la determinación de Glicerol es el enzimático (anteriormente de Glicerol).

Por la dificultad de no encontrar los reactivos utilizados en dicha determinación, se basó un método similar, el cual es enzimático y sigue el mismo fundamento.

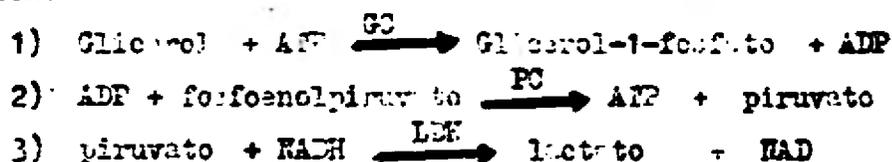
Este método pertenece a un equipo para la determinación enzimática de los Triglicéridos en Suero y Plasma.

Para la determinación exacta de la concentración de grasas neutras ha de determinarse el contenido de glicerol libre en suero y restarse el glicerol total.

Los valores normales de Triglicéridos en suero son de 150 mg / 100 ml. Para las pruebas de rutina es suficiente tener en cuenta la concentración molar del glicerol en suero - (corresponde a 10 mg / 100 ml = 0.11 mmol / l).

Fundamento

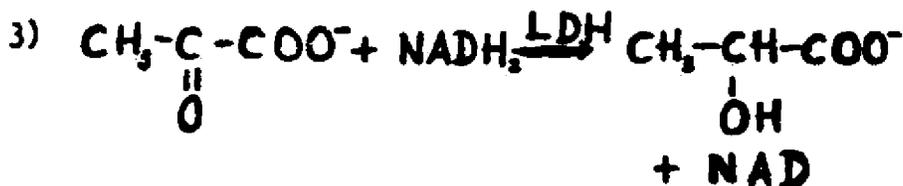
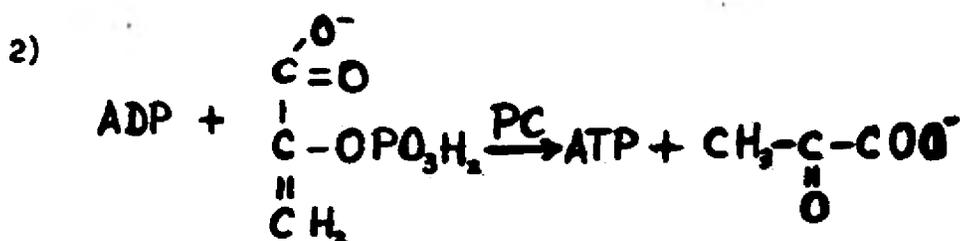
De los triglicéridos se libera Glicerol por hidrólisis alcalina, este se transforma según el siguiente esquema de reacciones:



GC Glicerolquinasa

PC Piruvatoquinasa

LDH Lactatodeshidrogenasa.



Aparatos:

Espectrofotómetro

Baño de Agua

Centrífuga

Reactivos:

1) Solución amortiguadora: Tris(hidroxi)metil amino 104 mmol/l y MgSO_4 4.2 mmol/l a pH 7.6 (a temperatura ambiente se conserva 1 año).

2) Solución de NADE /PEP / ATP : NADH 5.3 mmol/l, - PEP 11.4 mmol/l, ATP 34.3 mmol /l.(Disolver el contenido de un frasco, con 2.5 ml de agua bidestilada a temperatura ambiente de +2° a +8° se conserva 2 semanas).

3) Suspensión de PC/LDH: PC 375 KU/l ; LDH 450 KU/l.

4) Suspensión GC : GC 85 KU/l (Su contenido esta listo par su uso a temperaturas de +2° a +6° C., se conserva 1 año).

5) Solución de Sulfato de Magnesio aprox. 150 mmol/l.

6) Solución etanólica de hidróxido de potasio aprox. - 500 mmol/l.

Procedimiento

Por cada envase se prepara un blanco.

Pipetear en tubos de centrifuga que pueden cerrarse

	P oblaca	Blanco
Suero o Plasma	0.02 ml	—
Agua	—	0.02 ml
Sol. etanolica de hidroxido de potasio	0.50 ml	0.50 ml

Mezclar, cerrar bien los tubos de centrifuga y colocar los durante 30 min. en un baño de agua de 65° a 70 ° C.

Después enfriar a temperatura ambiente, añadir:

Sol. de sulfato de magnesio	1.00 ml	1.00 ml
-----------------------------	---------	---------

Mezclar y centrifugar, utilizar el sobrenadante claro para la determinación.

Determinación en Serie

Solución reactiva

La cantidad reactiva para un día se obtiene mezclando

la solución amortiguadora 1, la solución de NADH / PEP / ATP 2, y la suspensión de PC / LDH 3.

Determinaciones por día.	ml de sol. 1	ml de sol. 2	ml de suspensión
2	4.2	0.2	0.04
5	11.0	0.5	0.1
10	21.0	1.0	0.2
15	31.0	1.5	0.3
20	42.0	2.0	0.4

Pipetear en tubos:

	Problema	Blanco
Solución reactiva	2.00 ml	2.00 ml
Problema hidrolizado	0.50 ml	—
Blanco hidrolizado	—	0.50 ml

Mezclar, dejar en reposo a temperatura ambiente durante 10 min. a continuación medir las extinciones E frente a agua bidestilada.

Suspensión de GC 4	0.02 ml	0.02 ml
--------------------	---------	---------

Mezclar, dejar en reposo a temperatura ambiente durante 15 min., dentro de los 15 min. siguientes medir las extinciones E frente a agua bidestilada.

Longitud de onda: 334, 340 o 365 nm.

Espesor de la celda: 1 cm.

Si las extinciones de extinción son mayores que 0.400 (365 nm) ó 0.800 (334 a 340 nm), se repetirá la prueba utilizando el hidrolizado diluido con solución salina fisiológica a razón de 1 + 10 y se multiplica el resultado por 11.

Calculos

$$E = (E_{1\text{pr}} - E_{2\text{pr}}) - (E_{1\text{b}} - E_{2\text{b}})$$

E_{pr} Extinción de problema.

E_{b} Extinción del Blanco

La concentración de triglicéridos se obtiene aplicando E en la fórmula correspondiente.

Medición efectuada a 334 nm: $E = 632 \text{ mg/ } 100 \text{ ml (} 67.14 \text{ mmol/l)}$

*Medición efectuada a 340 nm: $E = 610 \text{ mg/ } 100 \text{ ml (} 66.89 \text{ mmol/l)}$

Medición efectuada a 365 nm: $E = 1119 \text{ mg/ } 100 \text{ ml (} 12.98 \text{ mmol/l)}$

*Medición Efectuada a 340 nm.

Relación de el promedio de la conc. de Glicerina obteni
da con la conc. de Glicerina con que se trabaja para sacar su
% con respecto al 100 %.

1.08 g/ml 99.99 %

1.12 g/ml $X_1 = 103.73$ %

2.16 g/ml 99.99 %

2.148g/ml $X_2 = 99.44$ %

4.32 g/ml 99.99 %

4.283g/ml $X_3 = 99.133$ %

8.64 g/ml 99.99 %

8.568g/ml $X_4 = 99.15$ %

1.628g/ml 99.99 %

1.614g/ml $X_5 = 99.166$ %

2.04 g/ml 99.99 %

2.022g/ml $X_6 = 99.117$ %

3.256g/ml 99.99 %

3.168g/ml $X_7 = 97.29$ %

De acuerdo a la relación anterior las concentraciones con que se trabajan son las siguientes.

Concentración g/ml 10^x	g/ml de Glicerina (resultados obtenidos) 10^x	% de Glicerina
4.32	4.282	X = 99.110
4.32	4.282	X = 99.110
4.32	4.285	X = 99.179
8.64	8.569	X = 99.168
8.64	8.569	X = 99.168
10^3	10^3	
1.628	1.615	X = 99.191
1.628	1.613	X = 99.058
2.04	2.021	X = 99.058
2.04	2.023	X = 99.156

NOTA:

El número de elementos de la muestra son el % de Glicerina de cada concentración. Las concentraciones son de 4.32×10^4 a 2.04×10^3 g/ml.

La sensibilidad según el método es de 1.5×10^3 g/ml de Glicerina. La sensibilidad encontrada va de 2.0×10^4 a 2.0×10^3 g/ml de Glicerina.

El % de Glicerina para las conc. de X_1, X_2, X_3, X_4 , que es repetitivo, no es del 99.9 % que es la concentración con la que se trabaja.

No se hace necesario tener un estándar de referencia

No se hace necesario tener un estandar de referencia para hacer la d terminación.

M E T O D O I V
(M é t o d o P r o p u e s t o)

DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA QUIMICA DE GLICEROL POR UN -
METODO QUIMICO

Introducción.

En la literatura se ha encontrado, que el formaldehído tiene una óptima detección espectrofotométrica, al reaccionar con el ácido cromotrópico, en presencia de una concentración adecuada de H_2SO_4 .

Por lo que este método propone la oxidación del glicerol a formaldehído con el $NaIO_4$, con la sucesiva reacción del formaldehído con el ácido cromotrópico, en presencia de H_2SO_4 dando como resultado la formación de un complejo de color violeta. El complejo formado se determina cuantitativamente, por medio de la espectrofotometría a una longitud de onda de 570 nm.

Tales reacciones son efectuadas en una muestra de concentración conocida de glicerina R.N., haciendo una curva de calibración.

En esta forma una concentración de conocida se puede determinar a partir de la absorbancia de la solución, en la misma celda y siguiendo el mismo procedimiento empleado para la determinación de las muestras del mismo tipo.

Fundamento

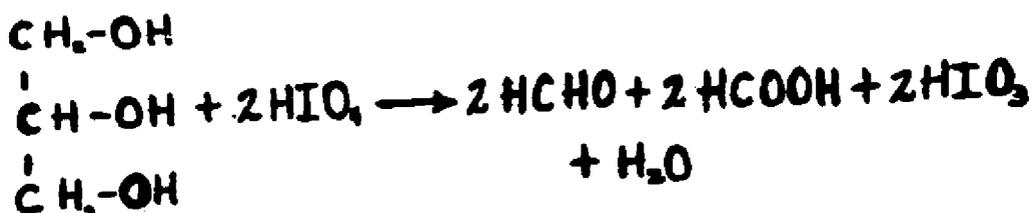
El método propone la oxidación del Glicerol, con $NaIO_4$ para la formación del formaldehído.

Es decir los compuestos que tienen dos ó más grupos -

de $-OH$ u $=O$ unidos a carbonos adyacentes, sufren una oxidación con escisión de enlaces carbono-carbono, al ser tratados con acido peryódico.

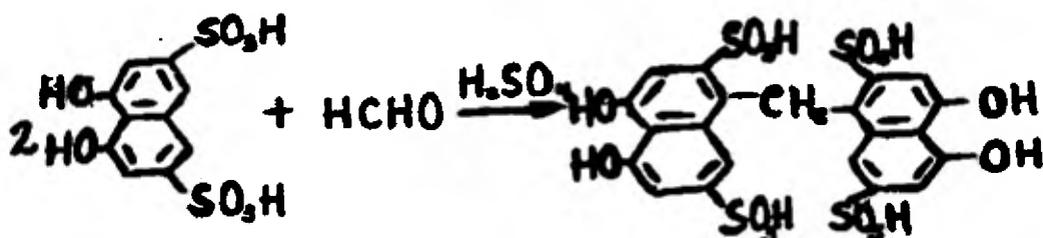
Esta reacción fué descrita en 1928 por L. Malaprade de la Universidad de Nancy (Francia).

En la Glicerina la reacción que ocurre es:

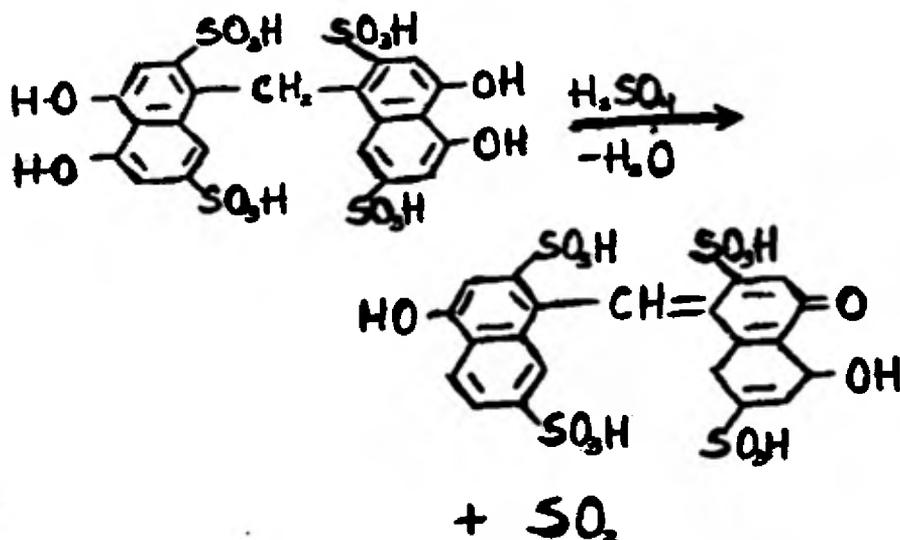


Para verificar que el HIO_4 se ha reducido a HIO_3 es indicada por la formación de un precipitado color blanco ($AgIO_3$) al agregar $AgNO_3$.

El formaldehído que se ha formado, reacciona con el acido cromotrópico en presencia de acido sulfúrico. En esta etapa de la reacción, el acido sulfúrico actua como agente deshidratante, sucediendose la reacción siguiente:



En la etapa posterior, el H_2SO_4 actua como agente oxidante, con su subsecuente reacción a acido sulfuroso y eliminandose H_2O , como lo muestra la reacción siguiente:



El ácido sulfuroso se elimina, dejando burbujear aire aproximadamente 10 min., transformándose a H_2SO_4 (ya que el ácido sulfuroso es un ácido de SO_2 en agua y gradualmente se oxida a H_2SO_4 en presencia de O_2).

El complejo formado de color violeta, se lleva a la dilución adecuada y se lee al espectro, en la región del visible, a 570 nm.

Especificaciones de sus Reactivos

NaIO_4 , meta-peryodato de sodio P.E. 231.91

Cristales tetragonales, de color blanco. Soluble en agua fría, ácido sulfúrico, ácido nítrico. Es un agente oxidante muy efectivo reaccionando en forma rápida y uniforme.

Na_2SO_3 Sulfito de sodio P.M. 126.06

Cristales pequeños o en polvo, color blanco. Soluble - en 3.2 de agua, el glicerol, poco soluble en alcohol.

H_2SO_4 Acido sulfúrico, aceite vitrol P.M. 98.08

Limpio e incoloro, sin olor, líquido aceitoso. Muy corrosivo, tiene gran afinidad por el agua y también por muchas sustancias orgánicas. Miscible con agua y con alcohol, con generación de mucho calor en relación a su concentración.

Acido Cromotrópico (4,5-Dihidroxi-2,7-naftalendisulfónico ácido) P.M. 356.33

Agujas blancas, solubles en agua. Su sal sódica, son a gujas blancas muy solubles en agua.

NaIO_3 Iodato de sodio P.M. 197.9

Polvo cristalino de color blanco. Soluble en 11 partes de agua, 3 partes de agua hirviente, insoluble en alco hol. Su solución acuosa es neutra.

H_2SO_3 Acido sulfuroso. Es una solución formada de SO_2 y agua. Gradualmente se oxida con el O_2 para formar el H_2SO_4 .

Aparatos y Equipo

Espectrofotómetro de doble rayo marca

2 celdas de cuarza de 1 cm.

Perilla

Recipiente que sirva de Baño María

Rejilla

Tubos de ensayo de 20 mm 150 mm.

Matraces volumétricos de 100 ml.

Tanque de O₂.

Reactivos

Los reactivos que se mencionan, deben ser reactivos analíticos. Cuando se hable de agua deberá ser destilada.

Solución de NaIO_3 al 1 % en solución acuosa de HCl al 10 %.

Solución de Na_2SO_4 al 5 % en agua.

Solución de ácido cromotrópico al 10 % en H_2SO_4 . Se procurará que el H_2SO_4 sea del 98 % ya que de lo contrario se modifica la sensibilidad del método.

Procedimiento

Preparar un estándar de concentración conocida de Glicerol.

Pipetear 2 ml de la solución anterior, a un tubo de ensayo, adicionarle 1 ml de NaIO_3 al 1 %, exactamente medidos, dejar estandarizar la mezcla a temperatura ambiente por aproximadamente 15 min., pasado este período de tiempo, se le adiciona a la mezcla 1 ml de Na_2SO_4 al 5 % exactamente medidos; esta nueva mezcla se deja estandarizar a temperatura ambiente

por un tiempo aproximado de 5 min.

Pasado este tiempo, se toma una alícuota de 1 ml de la solución final y se pasa a un matraz volumétrico de 100 ml y se adicionan 0.5 ml de solución de ácido cromotrópico, posteriormente se adicionan 5.0 ml de ácido sulfúrico (se adiciona lentamente), esta solución es calentada a ebullición en un Baño María por aproximadamente 30 min., (retirándola del baño inmediatamente) obteniéndose una mezcla de color violeta.

Esta solución se burbujea con O_2 por 10 min., o bien hasta que no haya desprendimiento de vapores de SO_2 , a esta solución se le adiciona agua destilada hasta un 90 % de su volumen, se deja enfriar y se lleva al volumen del aforo, con agua. La absorbancia de la solución se mide a una longitud de onda de 570 nm.

Se hace un blanco con el mismo procedimiento, excluyendo la solución de Glicerina.

Con cada una de las concentraciones de Glicerina X, se sigue el procedimiento descrito por el método, obteniéndose una serie de absorbencias, que al propagarse dan Y.

Conc. de Glicerina μg/ml " X "	Serie de Absorbencias										Absorbencias a 570 nm " Y "
16.86	0.040	0.041	*0.032	0.042	*0.035	0.040	0.042	*0.036	0.042	0.041	0.0410
33.72	0.062	0.069	*0.050	0.061	0.063	*0.069	*0.052	0.060	0.064	0.062	0.0620
64.518	*0.102	0.111	0.109	0.108	0.112	0.114	*0.106	*0.104	*0.106	0.111	0.1105
67.44	*0.129	0.123	0.119	0.119	0.124	*0.129	0.123	0.123	0.124	0.124	0.1223
128.23	0.225	0.225	0.225	0.224	0.225	*0.219	*0.225	0.222	0.225	*0.218	0.2243
131.006	0.266	0.266	0.267	0.265	*0.260	0.266	0.267	0.266	0.265	0.266	0.2660
161.29	0.279	0.280	*0.272	0.278	0.279	0.279	0.279	0.280	0.279	0.279	0.2789
258.06	0.434	0.436	0.435	*0.444	0.436	0.435	0.435	*0.440	0.436	0.435	0.4350
322.58	*0.542	*0.539	0.54	0.541	0.540	0.540	0.541	0.540	0.540	0.54	0.5450
397.10	0.644	0.643	0.644	0.644	*0.64	0.644	0.644	0.643	0.644	0.643	0.6437
483.83	0.799	0.801	0.801	*0.797	0.799	0.80	0.800	0.799	0.800	0.799	0.7990
645.12	1.061	1.060	*1.051	1.061	1.063	*1.044	1.060	1.060	*1.055	1.063	1.0610

* No se propagó con ya que se hizo por estos valores con respecto a los Jm².

CUADRO ESTADÍSTICO

Se hace con mínimos cuadrados, en lo que la abscisa es "X" (concentración de Glicosa) y la ordenada es "Y" (absorbancias).

X	Y	XY	X ²
16.36	0.041	0.69126	284.2500
33.72	0.062	2.09064	1137.0384
64.518	0.1105	7.12923	4162.5723
67.44	0.1223	8.24791	4548.1536
128.23	0.2243	28.76198	16442.9320
155.04	0.2660	41.24064	24037.4000
161.29	0.2732	44.98378	26014.4640
258.06	0.435	112.2565	66594.9630
322.58	0.545	174.1932	104057.8500
387.10	0.6437	249.1760	149746.4100
483.88	0.7990	386.6200	234139.8500
645.18	1.0610	684.5359	416257.2300

$$\sum X = 2723.896$$

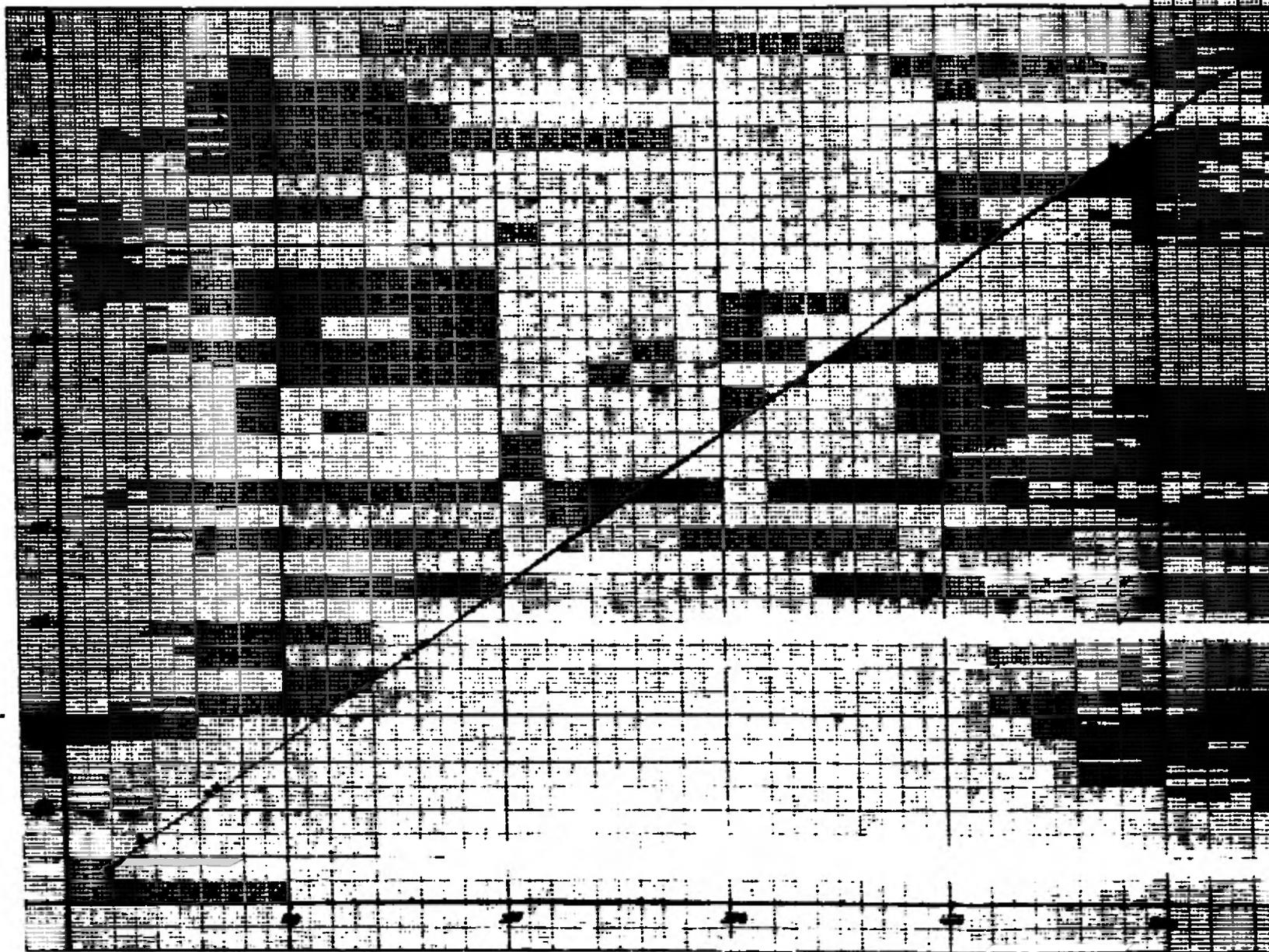
$$\bar{X} = 226.99133$$

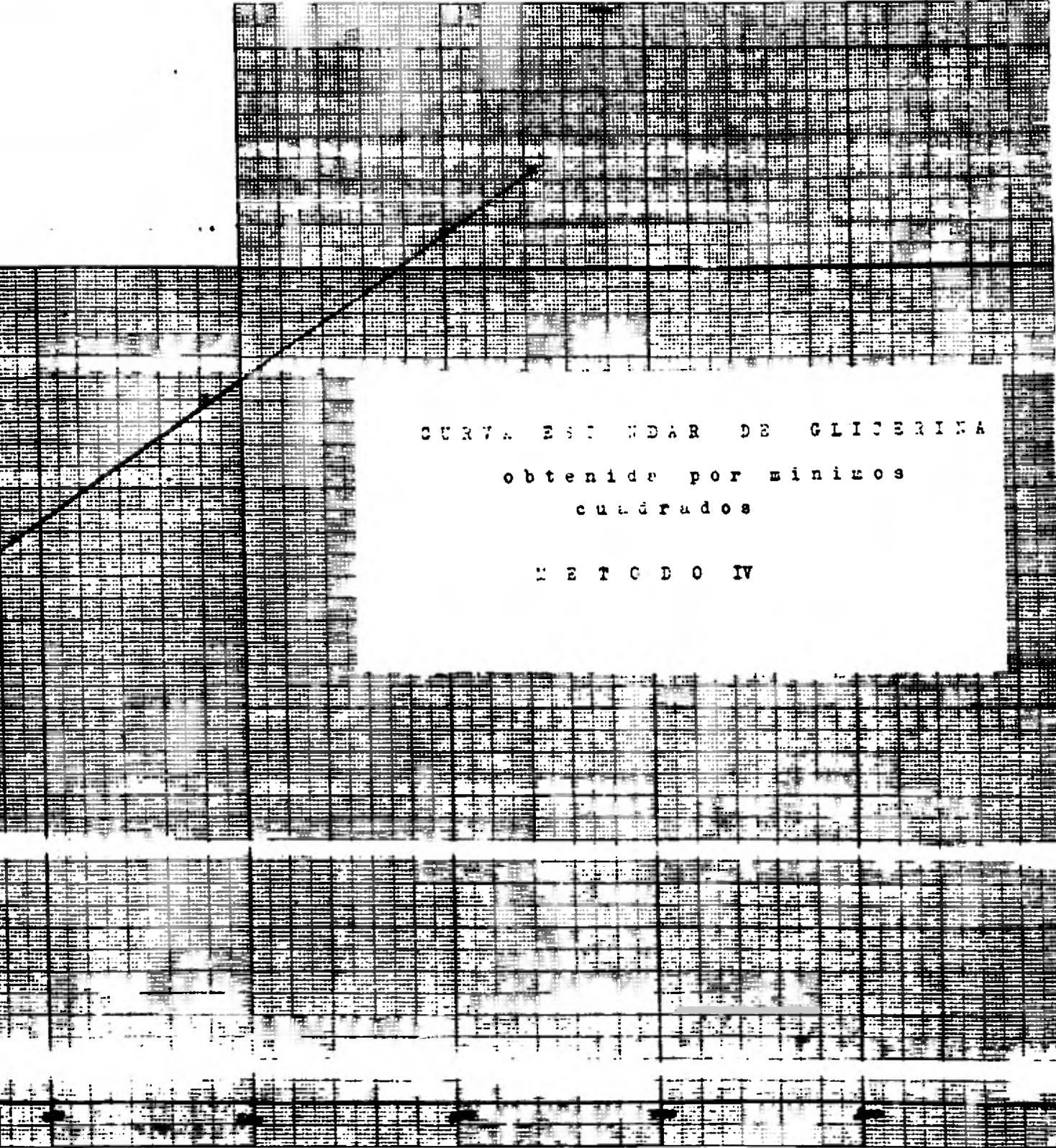
$$\sum XY = 1739.9269$$

$$\sum X^2 = 1047523.0$$

$$\sum Y = 4.584$$

$$\bar{Y} = 0.382$$





CURVA ESTÁNDAR DE GLICERINA
obtenida por mínimos
cuadrados

M E T O D O I V

$$m = \frac{N (\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)}{N (\sum X^2) - (\sum X)^2}$$

m = Pendiente

N = No. de elementos de la muestra

$\sum XY$ = Sumatoria de XY

$\sum X$ = Sumatoria de X

$\sum Y$ = Sumatoria de Y

$\sum X^2$ = Sumatoria de X^2

$$m = \frac{(12)(1739.9269) - (2723.896)(4.584)}{(12)(1047523) - (2723.896)^2}$$

$$m = 1.6294 \quad 10$$

$$n = \frac{(\sum Y)(\sum X) - (\sum X)(\sum XY)}{N (\sum X) - (\sum X)^2}$$

n = Ordenada al origen

$$n = \frac{(4.584)(1047523.0) - (2723.896)(1739.9269)}{12(1047523.0) - (2723.896)^2}$$

$$n = 0.0121276$$

"Y" = Obtenida por mínimos cuadrados

"Y" = Promedio de la serie de absorbancias

"X" = Conc. de Glicerina en $\mu\text{g/ml}$

X	Y	Y*
16.86	0.041	0.03959
33.72	0.062	0.06707
64.518	0.1105	0.11772
67.44	0.1023	0.12201
123.23	0.2243	0.22106
155.04	0.2655	0.26474
161.29	0.2719	0.27493
258.06	0.435	0.43251
322.58	0.545	0.53773
397.10	0.6437	0.64286
483.88	0.7939	0.80056
645.18	1.061	1.06333

Relación de la absorbancia de Glicerina obtenida con la conc. de Glicerina con que se trabajó por sacar su %.

Concentración seleccionada de 322.58 g/ml, con una absorbancia promedio de 0.5377.

Absorbancia	Conc. de Glicerina g/ml	% de Glicerina
0.542	325.14	100.794
0.539	323.34	100.2361
0.540	323.94	100.4221
0.541	324.54	100.6081
0.540	323.94	100.4221
0.546	327.54	101.5379
0.541	324.54	100.6081
0.540	323.94	100.4221
0.540	323.94	100.4221

NOTA:

El número de elementos de la muestra lo integran los % de Glicerina obtenidos a la concentración de 322.50 μ g/ml.

La sensibilidad del método es de 5 a 640 μ g/ml.

Este método necesita un estándar de referencia, con respecto a él se hace una curva estándar, que interpolando en ella nos da el resultado de el análisis.

ANALYSIS OF VARIANCE OF THE DATA OBTAINED IN THE EXPERIMENT ON

EXPERIMENT I

98.20	9852.538
100.126	10025.211
99.27	9854.520
101.413	10284.585
98.758	9753.138
98.944	9789.900
100.461	10092.406
96.350	9281.850
101.627	10328.041

$$n = 9$$

$$n(n - 1) = 72$$

$$n^2(n - 1) = 648$$

$$\sum X = 896.217$$

$$\bar{X} = \frac{\sum X}{n} = 99.579$$

$$\sum X^2 = 89265.183$$

$$d.c. = n \sum X^2 - (\sum X)^2 = 182.44$$

$$S^2 X = \frac{d.c.}{n(n - 1)} = 2.5338$$

$$SX = \sqrt{S^2 X} = 1.5918$$

$$S^2 \bar{X} = \frac{d.c.}{n^2(n - 1)} = 0.28154$$

$$S\bar{X} = \sqrt{S^2 \bar{X}} = 0.5306$$

$$\bar{X} \pm 3S\bar{X} = 99.57 \pm 0.2396 \quad (100.10 - 99.039)$$

$$C.V. = \frac{100 SX}{\bar{X}} = 1.5985$$

M E T O D O II

X	X ²
100.97	10194.928
100.11	10022.007
101.11	10223.227
100.19	10038.026
100.35	10070.108
99.89	9978.000
100.01	10001.998
99.98	9995.988
99.57	9914.170

$$n = 9$$

$$n(n - 1) = 72$$

$$n^2(n - 1) = 648$$

$$\sum X = 902.18$$

$$\bar{X} = \frac{\sum X}{n} = 100.2422$$

$$\sum X^2 = 90438.452$$

$$d.c. = \sum X^2 - (\sum X)^2 = 18.11$$

$$S^2 X = \frac{d.c.}{n(n - 1)} = 0.2515$$

$$SX = \sqrt{S^2 X} = 0.50152$$

$$S^2 \bar{X} = \frac{d.c.}{n^2(n - 1)} = 0.02794$$

$$S\bar{X} = 0.1671$$

$$\bar{X} \pm S\bar{X} = 100.2422 \pm 0.1671 \quad (100.409 - 100.0751)$$

$$C.V. = \frac{100 \cdot SX}{\bar{X}} = 0.5003$$

METHOD III

X	X ²
99.11	9821.782
99.11	9821.782
99.179	9836.462
99.168	9834.278
99.168	9834.278
99.191	9838.840
99.065	9814.459
99.058	9812.474
99.155	9831.900

$$n = 9$$

$$n(n - 1) = 72$$

$$n^2(n - 1) = 648$$

$$\sum X = 892.208$$

$$\bar{X} = \frac{\sum X}{n} = 99.1342$$

$$\sum X^2 = 88448.24$$

$$d.c. = n \sum X^2 - (\sum X)^2 = 0.09$$

$$S^2 X = \frac{d.c.}{n(n - 1)} = 0.00125$$

$$SX = \sqrt{S^2 X} = 0.03535$$

$$S^2 \bar{X} = \frac{d.c.}{n^2(n - 1)} = 1.3888 \times 10^{-4}$$

$$S \bar{X} = \sqrt{S^2 \bar{X}} = 0.01178$$

$$\bar{X} \pm S \bar{X} = 99.1342 \pm 0.01178 \quad (99.1459 - 99.1224)$$

$$C.V. = \frac{100 SX}{\bar{X}} = 0.03565$$

M E T O D O I V

X	X ²
100.794	10159.417
100.2361	10047.269
100.4221	10084.589
100.6081	10121.985
100.4221	10084.589
101.5379	10309.936
100.6081	10121.985
100.4221	10084.589
100.4221	10084.589

$$n = 9$$

$$n(n-1) = 72$$

$$n^2(n-1) = 648$$

$$\sum X = 905.4726$$

$$\bar{X} = \frac{\sum X}{n} = 100.608$$

$$\sum X^2 = 91098.948$$

$$d.c. = n \sum X^2 - (\sum X)^2 = 11.28$$

$$S^2 X = \frac{d.c.}{n(n-1)} = 0.15666$$

$$SX = \sqrt{S^2 X} = 0.39581$$

$$S^2 \bar{X} = \frac{d.c.}{n^2(n-1)} = 0.017407$$

$$S\bar{X} = \sqrt{S^2 \bar{X}} = 0.1319371$$

$$\bar{X} \pm S\bar{X} = 100.608 \pm 0.1319371 \quad (100.73993 - 100.47607)$$

$$C.V. = \frac{100 SX}{\bar{X}} = 0.39341\%$$

PRUEBA DE ESTUDENT Y DE FISHER DEL MÉTODO IV
CON RESPECTO A LOS DEMÁS MÉTODOS

	Método I	Método II	Método III	Método IV
X	896.217	902.10	892.208	905.4726
d.c.	182.440	18.11	0.09	11.28
n	9	9	9	9
S ² X	2.5338	0.2515	0.00125	0.15666
$F_p = \frac{S^2 X}{S^2 \bar{X}}$	16.1738	1.606	125.328	
g.l. = n - 1	8	8	8	
F _p	4.43	4.43	4.43	
	P > F	F < F	P > F	
	Heterogéneo	Homogéneo	Heterogéneo	
t	1.88088	1.71784	11.1264	
g.l.	8	16	8	
P	0.0988	0.10163	0.001	
	No signif.	No signif.	Significativo	

CANTIDADES NECESARIAS PARA SU DETERMINACION

	Método I	Método II	Método III	Método IV
g de Gli cerina	0.4	0.018	0.0015	5.0×10^{-4} a 6.4×10^{-4}

VENTAJAS QUE PRESENTA EL METODO PROPUESTO, CON RESPECTO A LOS METODOS ENCONTRADOS EN LA LITERATURA PARA LA DETERMINACION DE GLICERINA.

Método Enzimático

En la literatura se reporta que el método enzimático sigue la Ley de Beer en un rango de 50 a 600 μg de glicerol/ml.

El método propuesto en la literatura reporta un rango de sensibilidad de 5 a 1000 μg de glicerol/ml, siendo más sensible el método propuesto que el enzimático. Experimentalmente el método propuesto tiene una sensibilidad de 5 a 640 μg /ml.

El método enzimático reporta que se hace necesario mantener la temperatura estricta a 37 ° C durante la reacción y que la adición de los reactivos debe ser en intervalos de tiempo estrictos. En el método propuesto, los factores críticos han sido optimizados, no reportando mayor dificultad.

Se encuentra la dificultad de conseguir los reactivos para la determinación del método enzimático a diferencia de los del método propuesto, repercutiendo en el costo del análisis.

Método Radioenzimático

La literatura reporta una sensibilidad en un rango de 1 a 100 nmol de glicerol.

Experimentalmente el método propuesto tiene una sensibilidad de 5 a 640 μg /ml.

Este método es una modificación del método enzimático. Igual que en el enzimático, es necesario controlar la temperatura durante el curso de la reacción, y la adición de reacti

vos en intervalos estrictos de tiempo. Tener el [^{32}P]ATP como sustrato y un aparato detector de radioactividad (Sente llador Omnifluor).

Por el método propuesto los factores críticos han sido optimizados, no reportando mayor dificultad.

La dificultad para obtener los reactivos y el equipo de este tipo es aún mayor que por el método enzimático, repercutiendo mayormente en el costo del análisis.

Método por Cromatografía

La literatura reporta una sensibilidad de 2 a 750 μg /de glicerol.

Experimentalmente el método propuesto tiene una sensibilidad de 5 a 640 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Por lo que la sensibilidad del Método por Cromatografía es mayor que para el propuesto.

Este es una técnica de separación sumamente efectiva, - haciéndose cuantificaciones simultáneas de varias sustancias en la misma muestra.

El inconveniente que reporta es que el Cromatografo de Líquidos a Alta Presión, no es común en los laboratorios de Control. Sin embargo el espectrofotometro utilizado en el Método Propuesto si lo es.

Método de la U.S.P. XII

La determinación de pureza, esta basado en las densidades que presenta la glicerina a cierta temperatura, solo siendo útil para su determinación en materia prima, pero no como componente de algun producto.

Sin embargo el método propuesto sirve para los dos fines.

Método de la Norma Oficial

El método reporta una sensibilidad de 0.4 g de Glicerina.

Experimentalmente el método propuesto tiene una sensibilidad de 5 a 640 $\mu\text{g/ml}$.

Siendo más sensible el método propuesto.

Para saber la concentración de Glicerina en un producto en el cual se desconoce su %, se toma el análisis como si tuviera el 100 % y con respecto a ella se analiza de nuevo, tomando la cantidad adecuada, no siendo los resultados tan exactos. Sin embargo en el Método Propuesto se hace una dilución del producto a una concentración aproximada de 5 a 640 $\mu\text{g/ml}$ y se puede saber con exactitud su concentración.

Método de la U.S.P. XI

Este método reporta una sensibilidad en un rango de - 12 000 a 24 000 μg de Glicerina. Experimentalmente el método propuesto tiene una sensibilidad de 5 a 640 $\mu\text{g/ml}$ siendo más sensible el Método Propuesto.

Método por la Determinación Enzimática de los Triglicéridos en Suero y Plasma.

Este método está adecuado para reportar cantidades de Glicerol que van de 200 a 2 000 $\mu\text{g/ml}$.

Experimentalmente el Método Propuesto tiene una sensibilidad de 5 a 640 $\mu\text{g/ml}$.

El costo del equipo de reactivos con respecto a los reactivos usados en el Método Propuesto es mayor.

Los resultados son obtenidos por la fórmula que menciona el método, no siendo necesario una curva estándar para interpolar sus resultados (como en Método Propuesto).

La veracidad de sus resultados depende de la capacidad de los reactivos para detectar las cantidades correctas. Ya que trabajando con concentración es de 99.99 %, el equipo detecta 99.1454 %.

El equipo tiene una capacidad de un año, y su reactivo (2), después de reconstituido a temp. +2 a +8 °C, se conserva 2 semanas.

Siendo el Método Propuesto más conveniente para la determinación de Glicerina.

RESUMEN

El Método de la Determinación Espectrofotométrica de Glicerol por un Método Químico (método propuesto), tiene un mayor rango de sensibilidad, que los enunciados a excepción de el de Cromatografía a Alta Presión, que es el más sensible.

De los métodos experimentados, el método propuesto es más preciso que el Método I y el Método II. El Método III es más preciso, aunque la veracidad de sus reactivos no es confiable.

El método propuesto puede ser aplicado para la determinación de la Glicerina en materia prima, como en producto terminado, siendo su cuantificación óptima a diferencia de los enunciados.

APLICACION DEL METODO PROPUESTO

Este método puede ser usado:

a) Para determinar la conc. de Glicerina en los métodos de su obtención (en cada uno de sus pasos).

b) Para su cuantificación en productos industriales, - en los que sirve como materia prima.

c) Para su cuantificación en productos farmacéuticos y cosméticos, en los que sirve como principio activo, conservador o como impureza.

A continuación se mencionan los límites de Glicerina - en algunos productos.

Conc. teórica de Glicerina en lociones: 5 a 15 %.

Conc. teórica de Glicerina en jabones líquidos: 5 a 15 %.

Conc. teórica de Glicerina en jabón de tocador de 0.5 %.

Conc. teórica de Glicerina en jabones llamados de Glicerina es de 5 a 20 %.

C O N C L U S I O N

Debido a la importancia que ha alcanzado la Glicerina en el mercado nacional, tanto en la manufactura de lubricantes, plásticos, explosivos, cigarrillos, en la industria farmacéutica y de cosméticos. Se propone un Método Espectrofotométrico de Glicerol por un Método Químico, que difiere de los encontrados en la literatura, por ser un método que presenta grandes ventajas como son las siguientes: reproducibilidad, sencillez y economía.

Este método puede ser aplicado para la cuantificación de Glicerol, en materia prima como en muy diversos productos elaborados. Además de ser fácil y económica la adquisición de los aparatos y reactivos necesarios para su determinación.

Por lo anterior se sugiere que el método ya mencionado sea incluido en la monografía de la Glicerina en la F.R.E.U.M.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Journal of Pharmaceutical Sciences, 68 (1979) 1064-1066.
- 2.- Journal of Chromatography, 140 (1977) 304-307.
- 3.- Journal Med. Lab. Technol., 27 (1970) 359.
- 4.- Journal of The Pharmaceutical Association Scientific Ed. 583-585.
- 5.- Analitica Chemica Acta, 63 (1976) 241-249.
- 6.- Journal of Lipid Research, 18 (1977) 396-399.
- 7.- United States Pharmacopeia XIX (1975) 222-223.
- 8.- United States Pharmacopeia XX (1980)
- 9.- Paintidia, 29 (1979) 42-48.
- 10.- Ayres G.H. " Analisis Químico Cuantitativo "Harla., Méxi
co (1975) 464-467.
- 11.- Pecsok R.L. " Metodos Modernos de Analisis Químicos", -
Limausa., México (1977) 161.
- 12.- Oroasco P.D. " Analisis Químico Cuantitativo ", Porrúa S.A.
(1977) 343-344, 352-355.

- 13.- Norma Oficial de Método de Prueba para la Determinación de la Pureza de Glicerina. DGN-K-222-1971.
- 14.- Norma Oficial de Calidad para Glicerina. DGN-E-22-1945.
- 15.- Norma Oficial de Método de Prueba para la Determinación de Sustancias Fácilmente Carbonizables en Glicerina. DGN-E-314-1971.
- 16.- Norma Oficial de Método de Prueba para la Determinación de Cloruros en Glicerina. DGN-K-310-1971.
- 17.- Norma Oficial de Método de Prueba para la Determinación de Ácidos Grasos y Esteres en Glicerina. DGN-K-288-1971.
- 18.- Tesis "Control de Calidad y Preservación en Cremas Faciales". 1977.
- 19.- Tesis "Análisis y Evaluación de Pérdidas en un Proceso de Obtención de Glicerina Cruda". 1976.