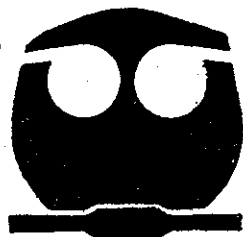


1 00565



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO



FACULTAD DE QUIMICA

SISTEMA EXPERTO PARA DESARROLLO  
DE METODOS ANALITICOS APLICADOS  
A MEDICAMENTOS

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRIA EN FARMACIA  
(CONTROL DE MEDICAMENTOS)  
P R E S E N T A :  
RICARDO RODRIGUEZ SAENZ

MEXICO, D. F.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

2002



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.

**Jurado asignado:**

Presidente: Dr. Mario González de la Parra

Vocal: Dra. Raquel López Arellano

Secretario: Dra. Helgi Jung Cook

Primer suplente: Dra. Adriana Ganem Rondero

Segundo suplente: Dra. Josefa Bernad Bernad

**Sitio donde se desarrollo el tema:** Departamento de Farmacia Facultad de Química UNAM

**Asesor del tema:** M. en C. Juan Manuel Rodríguez

**Sustentante:** QFB Ricardo Rodríguez Sáenz

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

### **Dedicatoria.**

A: mis queridos hijos Yuli y Ricardo, y a mi esposa Margarita

A mis queridos padres: Clementina y Ricardo

A mis hermanos: Pepe, Mary, Marcela, Ernesto, Mario, Carmela y Rosa

A: todos mis sobrinos

### **Agradecimientos.**

Al: Jurado asignado por su apoyo y valiosos comentarios para que este trabajo culmine con éxito

Al: M en C Juan Manuel Rodríguez por su apreciable apoyo para la realización de esta tesis

A: CONACYT por el apoyo económico brindado durante la realización de mis estudios de posgrado en la Facultad de Química de la UNAM

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## Tabla de Contenido

Capítulo	Tema	Página
1	Introducción	5
1.1	Objetivo	7
1.2	Hipótesis	7
2	Generalidades	8
2.1	Desarrollo de métodos analíticos	8
2.2	Sistemas expertos	15
2.3	Propiedades fisicoquímicas	17
2.3.1	Solubilidad	17
2.3.2	Polaridad	17
2.3.3	Fuerzas intermoleculares y enlaces de valencia	20
2.3.4	Tamaño de partícula en soluciones	20
2.3.5	Tipos de soluciones	21
2.3.6	Equilibrio ácido base	22
2.3.6.1	Constantes de disociación ácido – base	23
2.3.6.2	pH	26
2.3.6.3	Soluciones bufer	29
2.3.6.4	Influencia del pH en el grado de disociación de ácidos y bases débiles.	31
2.4	Métodos de separación	32
2.4.1	Cromatografía	33
2.4.2	Extracción	37
2.4.2.1	Coefficiente de reparto	37
2.5	Técnicas analíticas	39
2.5.1	Volumetría	39
2.5.1.1	Titulaciones ácido – base	39
2.5.1.2	Volumetría experimental	39
2.5.2	Titulaciones de precipitación	39
2.5.3	Espectrofotometría uv visible	42
2.6	Diseño factorial	53
2.6.1	Algoritmo de Yates	57
2.6.2	Definiciones diseño factorial	59
2.7	Visual Basic	65
3	Metodología	73
3.1	Hardware y software	73
3.2	Diseño del sistema	73
3.3	Desarrollo del sistema	73
3.3.1	Diseño de la interfase	73

3 3 2	Base de conocimiento	74
3 3 3	Mecanismo de inferencia	74
3 3 4	La ayuda explicativa	74
3 3 5	Validación del sistema	76
4	Resultados	77
4 1	Desarrollo del sistema	77
4.1.1	Diseño de la interfase	77
4 2	Base de conocimiento	79
4 3	Mecanismo de inferencia	84
4 4	La ayuda explicativa	92
4 5	Validación del sistema	95
4 5 1	Matriz de diseño	95
4 5 2	Calculo del contraste	95
4 5 3	Cálculo del efecto	96
4 5 4	Cálculo de los coeficientes de la ecuación	96
4 5 5	Hipótesis de prueba	97
4 5 6	Cálculo del análisis de varianza	97
4 5 6 1	Suma de cuadrados	97
4 5 6 2	Grados de libertad	97
4 5 6 3	Cálculo de F	98
4 5 6 4	Prueba de hipótesis	98
4 5 6 5	Análisis de residuales	98
4 5 7	Diseño con Design ease	101
5	Discusión	104
5 1	Empleo del modelo matemático obtenido	104
5 2	Ventajas del sistema desarrollado	105
6	Conclusiones	106
7	Bibliografía	107

## Lista de figuras

- Figura 2-1 Estructura general de un procedimiento analítico
- Figura 2-2 El procedimiento analítico como una caja negra
- Figura 2-3 El procedimiento analítico como un proceso de comunicación
- Figura 2-4 Diagrama de la estructura del sistema experto
- Figura 2-5 Proceso de separación por cromatografía
- Figura 2-6 Diagrama de un espectrofotómetro.
- Figura 2-7. Experimento factorial sin interacción
- Figura 2-8. Experimento factorial con interacción.
- Figura 2-9. Diseño factorial  $2^3$  representación gráfica.
- Figura 2-10 Prueba de hipótesis representación gráfica
- Figura 2-11. El entorno integrado de desarrollo de Visual Basic.
- Figura 3-1 Diagrama de flujo empleado para el desarrollo del sistema experto
- Figura 4-1 Logotipo empleado en el sistema experto desarrollado
- Figura 4-2 Logotipo y nombre de la aplicación
- Figura 4-3 Ventana propiedades fisicoquímicas
- Figura 4-4 Ventana separaciones y cromatografía
- Figura 4-5 Ventana espectrofotometría ultravioleta visible
- Figura 4-6 Ventana diseño factorial
- Figura 4-7 Ventana bibliografía.
- Figura 4-8 Diagrama de flujo para desarrollar el diseño factorial  $2^3$ .
- Figura 4-9 Ventana para definir el diseño factorial
- Figura 4-10 Matriz del diseño experimental
- Figura 4-11 Ventana interactiva para la captura de la respuesta
- Figura 4-12 Ventana para verificar que los datos de respuesta obtenidos coinciden con los capturados
- Figura 4-13. Ventana tabla de análisis de varianza
- Figura 4-14. Ventana de reporte de la ecuación
- Figura 4-15 Ventana Y estimada
- Figura 4-16 Diagrama de flujo para el diseño experimental
- Figura 4-17 Ventana diagrama de flujo para el diseño experimental
- Figura 4-18 Ventana para describir el cálculo de anadeva y la ecuación del diseño factorial
- Figura 4-19 Gráfica de residuales
- Figura 4-20 Gráfica de probabilidad de los efectos.
- Figura 4-21 Matriz de diseño en la ventana del software design ease
- Figura 4-22 Ventana de resultados de los coeficientes y la suma de cuadrados de design ease
- Figura 4-23 Ventana análisis del diseño de design ease.

## Lista de tablas

- Tabla 2-1 Términos y definiciones básicos de la teoría de sistemas
- Tabla 2-2 Expresiones de solubilidad
- Tabla 2-3 Constantes dieléctricas de algunos líquidos a 20°C.
- Tabla 2-4 Polaridad de disolventes
- Tabla 2-5 Fuerzas intermoleculares y enlace de valencia.
- Tabla 2-6 Tamaño de partícula
- Tabla 2-7 Tipos de soluciones.
- Tabla 2-8 Producto iónico del agua en función de la temperatura
- Tabla 2-9 Constantes de disociación ácida a 25°C
- Tabla 2-10 Espectro electromagnético
- Tabla 2-11 Relación entre la absorción de la luz y color
- Tabla 2-12 Disolventes usados y su longitud de onda de cut-off
- Tabla 2-13 Diseño factorial
- Tabla 2-14 Diseño factorial Interacción.
- Tabla 2-15 Ventajas del diseño factorial.
- Tabla 2-16 Matriz de diseño factorial  $2^3$
- Tabla 2-17 Hipótesis análisis de varianza diseño factorial.
- Tabla 2-18 Probabilidad alfa
- Tabla 2-19 Sistemas de numeración en visual basic
- Tabla 3-1 Objetivos del análisis estadístico
- Tabla 4-1 Definición de los niveles de las variables independientes a controlar.
- Tabla 4-2 Matriz de diseño y respuestas obtenidas para el diseño factorial  $2^3$
- Tabla 4-3 Contrastes calculados del diseño factorial  $2^3$ .
- Tabla 4-4 Efectos calculados del diseño factorial  $2^3$
- Tabla 4-5 coeficientes de la ecuación de regresión
- Tabla 4-6 Hipótesis de trabajo
- Tabla 4-7 Tabla de anadeva
- Tabla 4-8 Tabla de residuales.
- Tabla 5-1 Estimación del volumen  $Y_0$ , al variar la concentración de titulante a pH y temperatura constantes
- Tabla 5-2 Estimación del volumen  $Y_0$ , al variar el pH a concentración y temperatura constantes
- Tabla 5-3 Estimación del volumen  $Y_0$ , al variar la temperatura a pH y concentración constantes



## 1. Introducción

Los sistemas de información orientados al servicio, dan soporte a las operaciones o servicios que las organizaciones realizan para la sociedad. Estos sistemas están orientados verticalmente a sectores e industrias específicos como la manufactura, servicios financieros, publicidad, educación, salud y entretenimiento. En vez de dirigirse a actividades administrativas estos soportan actividades y procesos que son la razón de la existencia de una organización, en la mayoría de los casos algún tipo de actividad manufacturera o de servicio. Los sistemas de este tipo varían grandemente pero tienden a caer en tres tipos: manufactura, transacciones y sistemas expertos.

Una categoría de sistema de información orientada al servicio es: el sistema experto así llamado porque su base de datos almacena una descripción de las habilidades de los expertos humanos para tomar decisiones en algún dominio, como: interpretación de imágenes médicas, impuestos, arquitectura, configuración del hardware de un sistema de computadora, corrección de errores en el funcionamiento de equipo o preparación de cerveza. La motivación para construir sistemas expertos es el deseo de reproducir el escaso, no estructurado y a veces pobremente documentado conocimiento empírico de especialistas, para que pueda ser utilizado por otros.

Los sistemas expertos tienen tres componentes:

1. una interfase a través de la cual el usuario formula consultas, el sistema experto solicita más información del usuario y explica al usuario el proceso de razonamiento empleado para llegar a la respuesta,
2. una base de datos (llamada la base de conocimiento) consistente en axiomas (hechos) y reglas para hacer inferencias de estos hechos y
3. un programa de computadora (el mecanismo de inferencia) que ejecuta el proceso de inferencia.

El conocimiento base es una estructura de reglas enlazadas que el experto humano aplica, a menudo, de una manera intuitiva en la resolución de un problema. El proceso de adquisición de este conocimiento tiene tres fases: un análisis funcional del entorno, usuarios y tareas realizadas por el experto, identificación de los conceptos del dominio del experto y su clasificación de acuerdo a varias relaciones; y una entrevista por otro experto o técnicas automatizadas, del experto o expertos en acción. Los resultados de estas etapas se trasladan en las llamadas reglas de producción (de la forma "Si existe la condición  $x$ , ENTONCES sigue la acción  $y$ ") y se almacenan en la base de conocimiento. Las cadenas de reglas de producción forman la base para las capacidades deductivas de los sistemas expertos y de su habilidad para explicar sus acciones a los usuarios.

Los sistemas expertos son una variedad comercial de una clase de programas de computadora llamados sistemas de base de conocimiento. El conocimiento en el sistema experto está altamente no estructurado (el proceso de solución del problema del dominio, no es manifiesto) y está establecido explícitamente en relaciones o deducciones inferidas de la cadena de proposiciones. Dado que cada condición que se puede encontrar debe estar descrita por una regla, los sistemas expertos basados en reglas no pueden manejar eventos no anticipados (pero puede evolucionar) y permanecen limitado a dominios reducidos de problemas.

Otra variante de sistemas expertos, una que no tiene esta limitación, emplea una base de conocimiento que consiste en descripciones estructuradas de situaciones problema del mundo real y de decisiones tomadas por expertos humanos. Por ejemplo, en medicina, el registro del paciente contiene descripciones de datos personales, análisis físicos y de laboratorio, diagnósticos clínicos, tratamientos propuestos y el resultado de estos tratamientos. Dada una gran base de datos de estos registros en una especialidad médica, un médico puede consultar la base de datos así como las decisiones y eventos que parecen análogos a aquellas que involucran a su paciente, para desplegar la experiencia colectiva, del mundo real relacionada con esta situación. En contraste al sistema experto basado en reglas los cuales son diseñados (idealmente) para reemplazar a un experto humano con una máquina, las bases de conocimiento que contienen descripciones de eventos de problemas actuales solo se pueden emplear

como herramientas de ayuda en la toma de decisiones. Estos sistemas son interesantes porque su desarrollo es un producto intermedio de la información organizacional de un sistema y su utilidad (para practicar, investigar, educación continua y demás) aumenta conforme aumenta la experiencia que adquieren del experto (Britannica, 1995)

En la industria farmacéutica, en general, uno de los aspectos que consumen más tiempo en el laboratorio es el desarrollo de métodos analíticos empleados para la evaluación de la calidad de los productos farmacéuticos, a lo largo de todo su proceso de desarrollo y manufactura; el desarrollo de dichos métodos es una tarea que se lleva a cabo por personal experimentado y altamente especializado, situación que puede limitar la disponibilidad de los recursos humanos en el laboratorio farmacéutico (Cervantes, 1998)

En el caso de los métodos analíticos el primer paso, con frecuencia el más difícil, es el desarrollo de una buena separación de las sustancias que se van a analizar (Gearien, 1969).

La tarea más difícil para el químico analista es el desarrollo de un método para un problema analítico de interés. El software de laboratorio normalmente es algorítmico y determinista así que no es capaz de manejar las "reglas de dedo" que emplea para resolver problemas en su trabajo diario. Un sistema experto usa razonamiento simbólico y es capaz de manejar problemas que no están bien definidos en términos numéricos y permiten soluciones basadas en la experiencia. Normalmente la selección de un método analítico se hace empleando una combinación de las dos aproximaciones. Un sistema experto para el desarrollo de métodos puede consistir por un lado, de una base de conocimientos que contenga reglas y hechos experimentales obtenidos de un experto humano y por otro lado algún programa algorítmico que sea capaz de usar información numérica, este programa puede estar basado en leyes físicas o químicas o en diseños experimentales establecidos. De esta manera se incluye el experto humano en el conocimiento y el sistema resultante se convierte en una herramienta útil para el químico analista con menos experiencia en el desarrollo de métodos (Conti, 1991)

Los sistemas expertos se pueden emplear exitosamente en la planeación de experimentos y el desarrollo de métodos analíticos (van Leeuwen, 1990)

El contar con un sistema experto que facilite la tarea de desarrollo de métodos analíticos nos permitirá resolver más rápido el problema de dar seguimiento a los medicamentos en las etapas de desarrollo, pruebas de estabilidad y control de calidad. Al mismo tiempo, se facilitará el cumplimiento de las buenas prácticas de laboratorio, los requisitos regulatorios y de registro de medicamentos. Por lo que se busca contar en el laboratorio con un sistema que reúna las siguientes características:

- Una base de datos, que incluya definiciones sobre propiedades fisicoquímicas, métodos de separación y técnicas analíticas, definiciones y manejo del diseño factorial
- Mecanismo de inferencia basado en el diseño factorial que sea de utilidad en la construcción de un modelo matemático, el cual se pueda emplear para planear nuevas condiciones analíticas,
- Que cuente con una ayuda explicativa
- y una interfase que le permita al usuario emplear el sistema

En México el desarrollo de información sobre sistemas expertos de aplicación en ciencias farmacéuticas es aun muy incipiente, este trabajo tiene como finalidad desarrollar el algoritmo y la programación de este prototipo de sistema experto para desarrollo de métodos analíticos. El alcance del sistema experto es llegar a la resolución de un problema propuesto, sin embargo, dicho sistema deberá darse a conocer para que pueda ser utilizado en forma general con lo que se esperaría se enriquezca y mejore en forma progresiva y continua

## 1.1. Objetivo

Objetivo general.

Desarrollar una aplicación que sirva como sistema experto para el desarrollo de métodos analíticos, el cual constará de:

- Una base de datos en la cual se incluirá conocimiento básico
- Una base de datos que incluya conocimiento experto
- Una unidad de inferencia basada en el diseño factorial  $2^3$
- Integrar estas unidades en un solo sistema
- Presentar este sistema en una interfase diseñada empleando el software microsoft visual basic 6.0

Objetivos particulares:

- Establecer la presentación final como un software
- Validar el sistema experto.

## 1.2. Hipótesis

Es posible desarrollar un sistema experto basado en visual basic el cual pueda ser utilizado en la resolución de problemas sobre química analítica durante el desarrollo de métodos analíticos aplicados a medicamentos

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## 2. Generalidades

### 2.1. Desarrollo de métodos analíticos

Comúnmente los compuestos químicos se analizan a través de reacciones que son específicas para un grupo funcional, ion, o radical. En el análisis inorgánico por volumetría es común clasificar estas reacciones de acuerdo al tipo de reacción que ocurre durante el proceso de titulación. Para clasificar estas titulaciones se emplean los términos como acidimetría, alcalimetría, oxidación - reducción o precipitación. En el análisis de compuestos orgánicos es más útil considerar al grupo funcional involucrado en la reacción. Muchas reacciones analíticas no son específicas para un solo compuesto pero se pueden utilizar para analizar cualquier compuesto que tenga un grupo funcional, ion o radical parecido, esta falta de especificidad permite ampliar la forma de clasificar los métodos analíticos. Además, permite una clasificación que se puede emplear en la selección de métodos analíticos para compuestos nuevos. No siempre se puede utilizar una sola determinación para el análisis de un grupo funcional, ion o radical específico. La presencia de otros grupos ya sea en el compuesto que se está analizando o en otros compuestos presentes en la preparación farmacéutica pueden interferir la reacción o evitar que sea cuantitativa. Por esta razón, se ha desarrollado un número de reacciones analíticas para cada grupo funcional. Además, de conocer la serie de reacciones aplicables a cada grupo funcional, el analista debe considerar, las limitaciones para seleccionar la reacción más adecuada para la mezcla o el compuesto que está analizando.

Por ejemplo, un analista no solo debe reconocer que los fenoles se pueden determinar midiendo la cantidad de bromo empleado para convertir el fenol a 2, 4, 6 - tribromofenol, sino que también debe contemplar que esta reacción no es de valor para analizar fenol disuelto en aceite vegetal. Este aceite, debido a su insaturación, también reacciona con el bromo e interfiere con la determinación del fenol. Por ello, el analista debe estar familiarizado con las reacciones y métodos disponibles para la determinación cuantitativa y debe ser capaz de seleccionar la mejor reacción y utilizarla en el procedimiento analítico adecuado, para el compuesto que está analizando. El analista no únicamente debe confiar en los procedimientos estandarizados sino que también, debe ser capaz de modificarlos para desarrollar análisis adecuados para compuestos nuevos y mezclas farmacéuticas nuevas.

Para modificar con éxito un procedimiento general para el análisis de un producto dado, el analista debe comprender ampliamente las partes de un procedimiento analítico. La mayoría de estos procedimientos se puede dividir en los siguientes pasos:

1. Muestreo
2. Preparación de la muestra
3. Separación de los compuestos, iones o radicales interferentes
4. Reacción analítica específica para un grupo químico en el compuesto que se está analizando
5. Método de medición del grado al cual se efectúa la reacción específica

Muchos análisis no requieren todos los pasos mencionados. Por ejemplo, unas tabletas de acetanilida (N-fenilacetamida, analgésico antipirético, Merck Index, 1976) se analizan separando y pesando físicamente la cantidad necesaria de acetanilida. No se emplea reacción química. En este caso el problema es simplemente una separación del activo farmacológicamente activo del material biológicamente inerte presente en la tableta. Si se examina cuidadosamente, se puede ver que el análisis consiste de los siguientes pasos: muestreo, preparación de la muestra, separación de los compuestos, iones o radicales interferentes y un método para pesar el producto puro.

Por otro lado, los aceites fijos se determinan midiendo la cantidad de hidróxido de potasio que se requiere para saponificar los ésteres de glicerilo presentes en el aceite. Esto no requiere un proceso de separación, la demanda para el analista es que seleccione una muestra, saponifique los grupos éster con una cantidad medida en exceso de hidróxido de potasio y títule el exceso de álcali para determinar la

cantidad de hidróxido de potasio usado en la saponificación. Este análisis elimina el paso de la separación de los compuestos interferentes. Para desarrollar este procedimiento analítico, el analista no solo necesita conocer los fundamentos de la química analítica sino también debe considerar la reactividad de los ésteres. Estos compuestos no reaccionan inmediatamente con el hidróxido de potasio sino que se hidrolizan solo después de que se calientan con el álcali. De esta manera se ha empleado conocimiento tanto de química orgánica como de química analítica para formular este procedimiento.

No, solo se debe poner atención en las reacciones específicas de los grupos funcionales que se encuentran en los compuestos biológicamente activos, sino que también se debe poner atención en los métodos de medición del grado al cual estas reacciones toman lugar. Normalmente las propiedades químicas o físicas del compuesto que se forma o del compuesto que se analiza determinarán el procedimiento de medición que se usará. Con frecuencia, la selección de un procedimiento de medición adecuado disminuirá una cantidad considerable de trabajo en la realización del análisis. Se debe considerar que además de las reacciones químicas también se pueden emplear otros procedimientos de medición como los espectrofotométricos y las mediciones físicas.

Una reacción química, para ser de utilidad en el análisis cuantitativo, debe cubrir los siguientes requisitos:

1. debe dar un rendimiento cuantitativo de un producto de composición conocida
2. debe ser específica para un grupo funcional, ion o radical dado
3. el grado al cual se lleva a cabo la reacción debe poderse determinar midiendo ya sea, la cantidad de reactivo empleado en su formación o la cantidad de producto obtenido
4. debe proceder con una razonable rapidez bajo condiciones de laboratorio fácilmente alcanzables

Pocas reacciones, sino es que ninguna, cumplen estos requisitos. Por ejemplo, prácticamente ninguna reacción química es completamente específica para cualquier grupo funcional. Cada reacción es útil solo bajo ciertas condiciones. Además, pocas reacciones dan un rendimiento cuantitativo del producto esperado bajo todas las condiciones posibles. Por lo tanto, el analista calificado no solo debe conocer las reacciones químicas útiles sino que debe estar consciente de todos los factores que pueden afectar el curso de estas reacciones (Gearien, 1969)

La química analítica puede ser considerada como una disciplina científica de carácter único. También se puede considerar como la suma de un grupo de disciplinas, entre las que se encuentran, espectroscopia y cromatografía. Otra forma de ver la química analítica, es la opinión de que, no es más que la aplicación de la física, la fisicoquímica, las matemáticas, etc., para llegar a métodos adecuados de abordar problemas analíticos.

En suma se puede establecer que la química analítica es lo que hace el químico analista, y establece que el químico analista debe producir información calificada y relevante sobre los productos y los procesos en forma óptima.

El factor más importante, que debemos tener en mente, es la razón para aplicar métodos analíticos en la resolución de problemas analíticos. Todos los procedimientos analíticos sirven esencialmente al mismo propósito, se usan en la determinación de la identidad y/o la cantidad de compuestos, elementos o iones.

Los procedimientos difieren en la forma en que se efectúa la determinación. La forma de describir la realización es o debería ser la misma para cada procedimiento. El juicio sobre la aplicabilidad es posible solo cuando se proporciona la ejecución en términos de exactitud, precisión e información. La clasificación, comparación, selección, mejora y optimización requieren el uso de criterios generales aceptados bien definidos.

Además del propósito común del desarrollo y aplicación de todos los procedimientos analíticos, el de resolver problemas analíticos, se puede observar que la estructura general de todos los procedimientos analíticos es esencialmente la misma. Se pueden observar cuatro etapas: **1. el muestreo**, **2. la preparación de la muestra**, limpieza requerida, para el siguiente paso, **3. la medición** y finalmente, **4.**

la conversión de resultados de la medición en resultados analíticos. La naturaleza de estas cuatro etapas puede variar de procedimiento a procedimiento pero la función de cada etapa es esencialmente la misma para cada procedimiento.

Los aspectos esenciales se reconocen claramente si el análisis se describe de la siguiente manera: suficiente muestra representativa 1, se va a tratar 2, de tal manera que la medición 3 proporcione resultados analíticos relevantes 4

En la figura 2-1, se puede observar la estructura de un procedimiento analítico en forma esquemática:

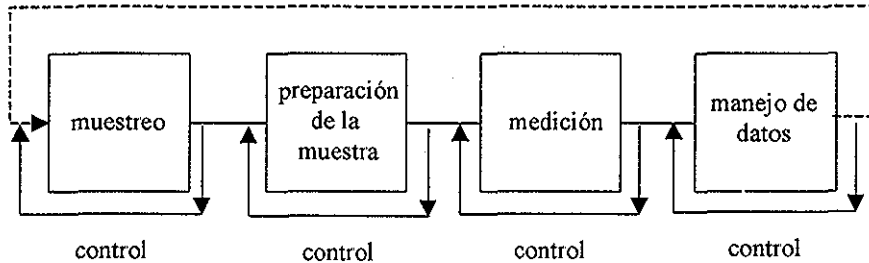


Figura 2-1 Estructura general de un procedimiento analítico

Cada una de las partes del procedimiento o todas las partes juntas, deben estar sujetas a una acción de control para proporcionar resultados analíticos de una calidad dada. Uno de los controles en el laboratorio analítico es una calibración del procedimiento. Este control particular se refiere a uno de los parámetros de calidad: la confiabilidad. Se han desarrollado procedimientos para el control de otras características. Otras acciones de control son, por ejemplo, mantener constantes la presión y la temperatura.

La medición como parte de un procedimiento analítico se puede considerar como el corazón del procedimiento. Por eso no sorprende que la mayoría de la literatura analítica trata de la medición, que en gran parte define las posibilidades y limitaciones de resolver un problema analítico. El estudio de la medición analítica ya sea basado en hechos empíricos o consideraciones teóricas, la llevan a cabo especialistas, cada uno empleando el lenguaje asociado a su propia, subdisciplina. Por eso, no es de sorprender que se hayan obscurecido las similitudes y se hayan aumentado las diferencias.

Sin embargo, las salidas de instrumentos cuyo uso en el laboratorio analítico es muy diferente son idénticas en principio. Y también la transformación de la medición en resultados analíticos muestra un paralelismo entre procedimientos diferentes.

Básicamente la salida aparece como una gráfica del espectro, en de dos dimensiones que muestra picos y valles. Normalmente la posición de los picos en el espectro marca la identidad de los compuestos, elementos o iones presentes en la muestra, mientras que la altura o el área de los picos se correlaciona con la cantidad de esos compuestos. Si se consideran espectros infrarrojos, polarogramas o cromatograma de gases, la información sobre la identidad se obtiene de la localización de los picos. La información sobre las cantidades se obtiene de las áreas o alturas de los picos.

La reducción de una representación bidimensional a resultados analíticos relevantes, sigue algunas líneas generales. Estas similitudes resaltan cuando manejamos técnicas automatizadas de procesamiento de datos como ajuste de curvas, reconocimiento del modelo y son aplicables a

procedimientos que producen gráficas bidimensionales (métodos de dos dimensiones). Si tomáramos en cuenta estas similitudes probablemente se podría ahorrar mucho esfuerzo en investigación y desarrollo ya que la técnica desarrollada para optimizar un método se podría adaptar al uso con otro método analítico.

Observando la similitudes entre diferentes procedimientos analíticos, con la noción de que todos los procedimientos se usarán para resolver problemas, nos lleva a una visión general de la química analítica, procedimientos analíticos y problemas analíticos. La función de los procedimientos analíticos y la formulación del problema analítico se puede dar en términos matemáticos aunque existan grandes diferencias físicas y químicas (Massart, 1978)

### **Teoría de sistemas en química analítica**

La comunicación entre los científicos es fácil cuando su actividad es en la misma disciplina y surge la confusión cuando se reúnen trabajadores de diferentes disciplinas. Las diferencias de lenguaje y las diferencias en la forma de pensar inhiben el progreso de la investigación interdisciplinaria que se requiere para la resolución de muchos problemas en la ciencia moderna. La teoría de los sistemas tiene el objetivo de proporcionar un lenguaje común y ofrecer aproximaciones que se puedan usar en todo el mundo científico.

Se puede evitar la duplicidad de los esfuerzos de investigación si los problemas y soluciones se presentan en lenguaje familiar a todos los científicos.

Un aspecto importante en la teoría de sistemas, ingeniería de sistemas, etc., es la noción de que él todo es más que la suma de las partes. No se puede derivar el comportamiento del sistema del comportamiento de sus elementos componentes a menos que la relación entre los elementos sea conocida.

La teoría de sistemas incluye ingeniería de sistemas e investigación operativa. Las consideraciones en la teoría de sistemas pueden ser un discurso muy largo o matemáticas avanzadas abstractas. En la teoría de sistemas es característico el desarrollo de modelos matemáticos para uso general. Se puede considerar que la ingeniería de sistemas ataca problemas reales y diseña sistemas reales usando tales modelos. El término investigación operativa se reserva a las técnicas aplicables usadas en el proceso de ingeniería de sistemas. La estadística, la teoría de la información, la cibernética, etc., no se consideran como técnicas de investigación operativa, aunque estas teorías y las técnicas asociadas juegan un importante papel en la ingeniería de sistemas (Massart, 1978)

En la tabla 2-1 se resumen los términos y definiciones usados en la teoría de sistemas para los químicos analistas

Tabla 2-1. Términos y definiciones básicos de la teoría de sistemas (Massart, 1978)

sistema	arreglo delimitado de una serie de elementos y una serie de relaciones entre estos elementos
elemento	componente relevante, dado o seleccionado de un sistema específico
relación	unión dada o seleccionada de los elementos de un sistema específico
función	modelo de comportamiento y efectos de un sistema
estructura	relación conocida entre los elementos de un sistema que lleva a una función específica
organización	ruptura de un sistema en subsistemas con relaciones relevantes entre ellos, los subsistemas pueden tener la apariencia de elementos
retroalimentación	función en términos de una secuencia cerrada de relaciones
caja negra	sistema con estructura desconocida en el tiempo, pero con magnitudes dadas de entrada y salida
modelo	sistema que representa en parte, funciones y/o estructura de un sistema original, real o abstracto
análisis de entrada salida	método de elucidación de funciones de un sistema basado en investigación de las relaciones entre la entrada y la salida
método de ensayo y error	método de elucidación paso a paso de las relaciones funcionales en un sistema haciendo uso de hechos establecidos
simulación	copiado de una función específica de un sistema en términos de un modelo funcional

### El procedimiento analítico. La caja negra.

Si nos referimos a un procedimiento analítico o a un instrumento analítico como una caja negra, significa que no se conoce nada sobre los componentes físico, químico, mecánico o electrónico o proceso que convierta la muestra con una composición desconocida en una muestra con una composición conocida. Una parte substancial en los esfuerzos de investigación en química analítica han sido y son dirigidos a elucidar la estructura desconocida de cajas negras o para ponerlo de otro modo, convertir las cajas negras en cajas blancas o al menos cajas grises. Tal elucidación satisface la curiosidad humana y lleva a un procedimiento con mejor funcionalidad. Sin embargo, desde un punto de vista analítico los procedimientos pueden ser y son igualmente útiles cuando el usuario no conoce (completamente) la estructura interna. Más aun, para un químico analista que se enfrenta con procedimientos y problemas muy diferentes, es virtualmente imposible estar (completamente), familiarizado con los principios físicos y químicos del procedimiento y con los detalles del diseño de los instrumentos.

Una caja negra es útil para el analista si y solo si, su salida se puede usar para alcanzar la composición (aproximada) de una muestra desconocida. De otra manera, la relación entrada – salida o la función calibración debe ser conocida. Sin embargo, cada analista debe tener cuidado con la influencia de parámetros como la temperatura, el volumen de reactivos y la longitud de onda en la medición. La caja negra no está descrita adecuadamente por la relación de entrada – salida entre la composición de la muestra y la sola medición. Se deben especificar los parámetros que influyen esta relación y mantenerlos constantes para obtener resultados analíticos útiles.

El procedimiento analítico como una caja negra puede ser una descripción en palabras de lo que se tiene que hacer para determinar la composición de la muestra (la receta analítica). Esta descripción se puede ver en el diagrama de la figura 2-2.



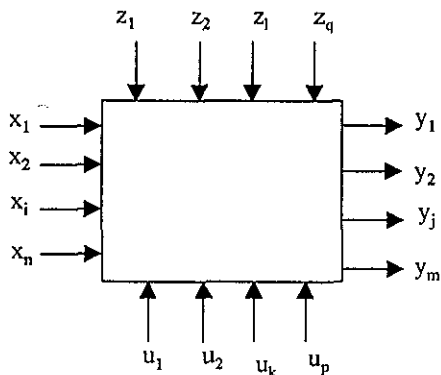


Figura 2-2. El procedimiento analítico como una caja negra.

Esencial para este modelo es la naturaleza (unidades) de las variables de entrada  $x_1, x_i, \dots, x_n$  que representan la composición (concentraciones, cantidades, identidades) y las variables de salida  $y_1, y_i, y_n$  que representan las mediciones (voltajes, lecturas). De mayor importancia son las relaciones de entrada – salida ( $x - y$ ) que se requieren para alcanzar los resultados analíticos de las mediciones. Las variables  $u$  que se tienen que especificar son aquellas que influyen la medición y la relación  $x - y$ . Debido a esta influencia deben ser controladas y se denominan variables controlables.

Las variables de entrada que no se pueden mantener constantes se indican por  $z_1$ . El origen de estas variables no controlables es desconocido, llevan a fluctuaciones en las variables de salida.

La descripción general se reduce a un modelo con una variable  $x$  y una variable  $y$  en un análisis de una dimensión. Tal análisis unidimensional se puede usar solo para un tipo de muestra. El tipo de muestra influye en la función calibración. Puede ser considerado como una variable controlable.

Una inspección del procedimiento analítico como un sistema revela varios tipos de entradas y salidas. Llegamos a grupos de variables de entrada y de salida que son relevantes cuando vemos la función calibración. Por ejemplo, fluyen dentro y fuera del aparato materiales y energía y se requiere de habilidades para producir resultados, estos aspectos son esenciales en el diseño de instrumentos, la organización del laboratorio, etc.

La información obtenida de un procedimiento analítico se define como la diferencia entre la incertidumbre relativa a la composición antes y después del análisis. La incertidumbre antes del análisis es un parámetro de entrada y la incertidumbre remanente después del análisis es un parámetro de salida. Estos parámetros no se refieren a la composición de la muestra sino al número de posibles composiciones. La relación correspondiente entrada – salida, la diferencia entre las incertidumbres, no se puede usar para alcanzar la composición de la muestra. Dependiendo del problema analítico se refiere al número de composiciones diferentes que pueden ser diferenciadas por la aplicación del procedimiento analítico. Corre paralela a la aplicación de la teoría de la información en la teoría de comunicación por ejemplo para distinguir varios posibles mensajes cuando estos se envían a través de un canal con ruido. (teléfono, etc.) En la figura 2-3, se puede representar el proceso analítico con el procedimiento analítico como un canal ruidoso.

La composición se codifica como una propiedad (física). Se mide esta propiedad y se agrega ruido. El descodificado es posible cuando la relación entre  $x$  y  $y$  se conoce y cuando la señal relevante no se ve oscurecida por el ruido (Massart, 1978).

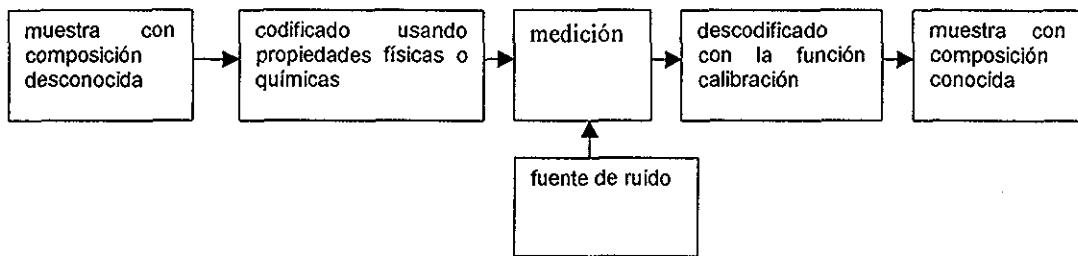


Figura 2-3 El procedimiento analítico como un proceso de comunicación

### Algunas variables de entrada salida y su relación

Las variables de salida que son de interés son las variables  $y$  que representan los resultados de la medición y se pueden usar para obtener la composición de la muestra

Para el análisis cuantitativo la principal relación entrada – salida ( $x$ - $y$ ), es la función calibración; la cual define la aplicabilidad del procedimiento analítico. Para un análisis cuantitativo de un componente esta relación de entrada - salida esta dada como  $s = y/x$  la sensibilidad del procedimiento analítico. Si la sensibilidad es cero el procedimiento no se puede usar, aunque un valor diferente de cero no siempre corresponde a un procedimiento útil. Esto es particularmente cierto si hay influencia de las variables  $z$  sobre la variable  $x$  (ruido).

En el análisis cualitativo la calidad del procedimiento esta determinada por el grado al cual el espectro (o la propiedad física) se puede usar para identificar el compuesto químico. En las instancias en donde compuestos similares tienen espectros similares, se pueden derivar ciertas características estructurales del espectro.

Se introdujeron las variables  $u$  debido a su influencia sobre la medición (para  $x$  constante, y varia con  $u$ ), De hecho las variables  $u$  corresponden a las perillas de los aparatos. El aparato mismo puede ser una variable  $u$ , así como el volumen de una pipeta, la cantidad y la potencia de los reactivos, etc. Cada procedimiento tiene su grupo de variables  $u$ . Todas estas variables controlables especifican las condiciones bajo las cuales se tiene que llevar a cabo el procedimiento. Si la caja es completamente negra existe un gran numero de posibles variables  $u$ .

La variación exacta de las variables  $z$  no se conoce y por consecuencia la relación  $z$ - $y$  permanece indeterminada (Massart, 1978)

### La combinación de cajas negras.

En muchos casos es conveniente dividir la caja negra en un grupo de cajas negras (subsistemas). En la representación esquemática del procedimiento analítico se pueden distinguir cuatro cajas negras: *el muestreo, la preparación de la muestra, la medición y el manejo de datos*. Cada uno de estos subsistemas tiene una entrada y una salida y en consecuencia un grupo de relaciones de entrada – salida. La salida de un cierta caja negra es la entrada de la siguiente. Algunas relaciones de entrada – salida del sistema completo se pueden calcular de las relaciones de entrada – salida de los subsistemas. Esto es especialmente útil para el diseño de procedimientos analíticos de partes con propiedades conocidas o cuando se buscan cuellos de botella en las cadenas de los subsistemas.

### El procedimiento analítico como un subsistema.

El procedimiento analítico se usa para resolver procedimientos analíticos. En general los resultados analíticos se requieren para tomar decisiones. La química analítica ayuda a decidir que acciones se deben tomar. A los resultados analíticos de un laboratorio clínico seguirá o no seguirá una terapia, en el laboratorio de investigación los resultados ayudarán guiando la investigación, etc (Massart, 1978)

## 2.2. Sistemas expertos.

El papel tradicional de las computadoras ha sido el de realizar cálculos numéricos en forma rápida y repetitiva consecuentemente su aplicación en la resolución de problemas se ha limitado a aquellas áreas en las cuales el problema se puede expresar en términos numéricos. La introducción de sistemas de conocimiento básico ha puesto a las computadoras en el umbral de un cambio significativo en el tipo de problemas que se pueden manejar, como sistemas de conocimiento base, tienen la capacidad explícita de manipular hechos e información sin que la información se exprese en forma numérica; sin embargo es probable que se incrementen las aplicaciones en el uso de estos sistemas como herramienta en la resolución de problemas en química analítica (Bridge, 1988)

La forma más común de sistema de conocimiento base, es el sistema experto, el cual contiene en forma codificada, conocimiento experto y es capaz de explotar este conocimiento con propósitos de resolución de problemas.

Un sistema experto contiene un número de características esenciales:

- una base de conocimientos, que contiene módulos de conocimiento organizado relevante al dominio del problema
- un mecanismo de inferencia, el cual emplea la información contenida en la base de conocimiento para proporcionar consejos sobre el dominio del problema
- una facilidad explicativa, que le permite al usuario investigar la cadena de inferencia usada por el sistema experto
- una interfase para el usuario y en algunas aplicaciones a una o mas fuentes externas de datos

Las relaciones entre estos módulos se ilustran en la Figura 2-4

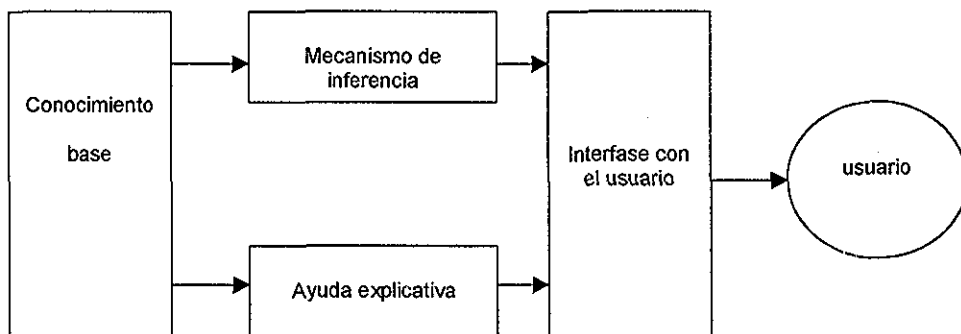


Figura 2-4 Diagrama de la estructura del sistema experto

En los programas convencionales, el proceso de cálculo, normalmente es independiente de los datos numéricos sobre los cuales actúa. En un sistema experto, el mecanismo de inferencia, la ayuda explicativa y la interfase juntas, forman el programa, el cual opera sobre la base de conocimientos, como datos, para resolver un problema. La situación que se enfrenta es desarrollar un sistema para manejar datos, cuyo origen puede ser una cromatografía, un cromatógrafo, etc., el cual involucra la combinación de un procesador numérico con el sistema de inferencia lógica. En este caso la intención es crear un sistema experto hecho a la medida, empleando un lenguaje de computadora adecuado (Bridge, 1988)

Un sistema experto se define como un programa computacional que proporciona asesoría inteligente para la resolución de un problema específico, emulando al proceso de resolución de un experto (Cervantes, 1998)

La aplicación de los sistemas expertos será adecuada donde los expertos dispongan de conocimientos complejos en un área delimitada y donde no existan algoritmos elaborados o donde los existentes no puedan solucionar algunos problemas. Este tipo de problema se caracteriza además por el hecho de que, aunque es posible la existencia de una o más soluciones, la vía de solución no está previamente fijada. Sin embargo, el experto encuentra una solución al problema gracias a la información que posee sobre el problema y a su experiencia. Mientras esta solución sea susceptible de repetición y el planteamiento del problema esté claro, existe un razonamiento que puede ser reproducido por un sistema experto.

Para el desarrollo de un método analítico por HPLC se requiere tanto un químico experto en cromatografía que tenga buen conocimiento en la tecnología de separación y un experto que sepa cómo seleccionar e implementar la estrategia del diseño experimental. La implementación práctica de un sistema experto normalmente la hace un ingeniero experto, el cual tendrá poco conocimiento acerca de los argumentos químicos. Es difícil para la última persona juntar el conocimiento de todos los expertos, que a veces utilizan diferentes convenciones y jerga química. Un experto (químico) humano puede no ser capaz de entender las dificultades que un ingeniero tenga en la materia. El experto emplea sus convenciones y su jerga como un lenguaje natural y subestima la complejidad de la materia que está explicando. A veces necesita ser animado por el ingeniero para ir a fondo en la explicación y formalizar la solución. Esto es fácil si el dominio no es muy grande y se puede juntar el conocimiento de pocos expertos humanos. En este caso también es fácil construir sistemas prototipo que se pueden someter a expertos y pueden ser evaluados y validados con menos esfuerzo de los que requiere el sistema completo.

Normalmente el desarrollo de un método analítico se puede dividir en varias etapas, cada paso representa la optimización de una característica particular del experimento global. El químico optimiza cada paso en forma separada y luego observa el resultado global. Por ejemplo, en cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), primero trata de obtener un cromatograma, luego optimiza la retención y luego la selectividad, esta es una manera de resolver el problema. Una estrategia para desarrollar el sistema experto es enfocarse en pequeñas partes del problema global y desarrollar sistemas expertos para optimizar cada una de estas partes. Después de desarrollar sistemas expertos modulares del sistema, adecuados para cada etapa por separado, después, el siguiente paso es observar el sistema completo, el siguiente paso es enlazar los sistemas expertos individuales (Conti, 1991).

### 2.3. Propiedades fisicoquímicas.

Como se mencionó previamente el sistema en desarrollo debe contar con una base de datos, que incluya definiciones sobre propiedades fisicoquímicas, métodos de separación y técnicas analíticas, definiciones y manejo del diseño factorial, en las siguientes secciones de este capítulo se presenta el conocimiento básico desde el cual se elabora el diseño de esta base

#### 2.3.1. Solubilidad

La solubilidad se define en términos cuantitativos como la concentración de soluto en una solución saturada a cierta temperatura y en forma cualitativa se puede definir como la interacción espontánea de dos o más sustancias para formar una dispersión molecular homogénea (Martin, 1973)

La solubilidad depende de efectos químicos, eléctricos y estructurales que llevan a la interacción mutua entre los solutos y disolventes (Martin, 1973).

La solubilidad de un compuesto depende de las propiedades físicas y químicas del soluto y del disolvente así como de factores como temperatura, presión, pH de la solución y en menor grado del tamaño de partícula

La solubilidad de un fármaco se puede expresar de diferentes maneras p ej. la farmacopea la expresa como el número de mililitros de disolvente en los cuales se disuelve 1g de soluto Para sustancias cuya solubilidad no está establecida definitivamente se describen en al farmacopea empleando ciertos términos generales como los que se muestran en la tabla 2-2 (Martin, 1973; FEUM, 1988)

Tabla 2-2. Expresiones de solubilidad, (FEUM, 1988).

Término	partes de disolvente requeridas por una parte de soluto
Muy soluble	< 1 parte
Fácilmente soluble	1 – 10
Soluble	10 – 30
Escasamente soluble	30 – 100
Ligeramente soluble	100 – 1000
Muy ligeramente soluble	1000 – 10000
Prácticamente insoluble o insoluble	> 10000

#### 2.3.2. Polaridad

La solubilidad de un fármaco se debe en gran medida a la polaridad del disolvente es decir, a su momento dipolo Los disolventes polares disuelven solutos iónicos y otras sustancias polares p ej el agua se mezcla en todas proporciones con el alcohol y disuelve azúcares y otros polihidroxi compuestos (Martin, 1973)

Los disolventes polares pueden disolver solutos polares y actúan como disolventes de acuerdo a los siguientes mecanismos

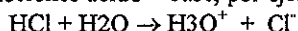
- a) debido a su constante dieléctrica, la del agua es aproximadamente de 80, los disolventes polares reducen la fuerza de atracción entre los iones con cargas contrarias en cristales como el NaCl La constante dieléctrica del cloroformo es de 5 y la del benceno es de 2, por ello los compuestos iónicos son prácticamente insolubles en estos disolventes Los disolventes no polares son incapaces de reducir la atracción entre los iones de electrolitos fuertes y débiles debido a la baja constante dieléctrica de los disolventes (Martin, 1973)

En la tabla 2-3 se pueden ver algunos ejemplos de constantes dieléctricas

Tabla2-3 Constantes dieléctricas de algunos líquidos a 20°C, (Martin, 1973)

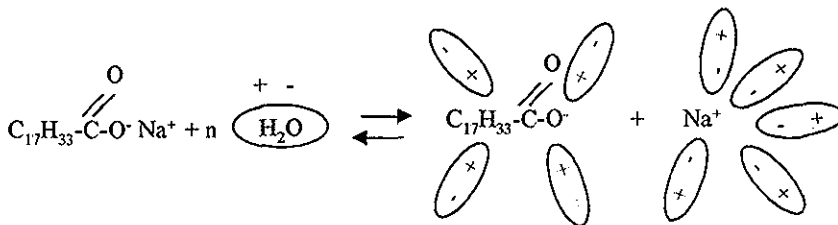
Substancia	Constante dieléctrica
N-metilformamida	190
agua	80.4
glicerina	43
metanol	33.7
etanol	25.7
alcohol n-propílico	21.3
acetona	21.4
benzaldehído	17.8
alcohol amílico	15.8
alcohol benzílico	13.1
fenol	9.7
salicilato de metilo	9.0
acetato de etilo	6.4
cloroformo	4.8
ácido clorhídrico	4.6
éter etílico	4.34
aceite de oliva	3.1
aceite de algodón	3.0
ácido oleico	2.45
tolueno	2.39
benceno	2.28
dioxano	2.26
aceite de limón	2.25
tetracloruro de carbono	2.24
petrolato líquido	2.15

b) Los disolventes polares rompen los enlaces covalentes de potenciales electrolitos fuertes mediante reacciones ácido – base, por ejemplo:



Los ácidos orgánicos débiles no están ionizados en forma apreciable por el agua, su solubilidad parcial se atribuye a la formación de puentes de hidrógeno con el agua.

c) Los disolventes polares son capaces de solvatar moléculas e iones a través de interacciones dipolo, que llevan a la solubilidad del compuesto, el soluto debe ser de naturaleza polar dado que debe competir por los enlaces de las moléculas de disolvente que ya están asociadas si quiere ganar un lugar en la estructura asociada. La interacción ion - dipolo de la sal sódica del ácido oleico y agua se puede representar como:



**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

Disolventes no polares.

- d) Los disolventes no polares no pueden reducir la atracción entre iones de electrolitos fuerte o débiles debido a la baja constante dieléctrica del disolvente. Tampoco puede romper los enlaces covalentes ni ionizar electrolitos débiles ya que no pueden formar puentes de hidrogeno con los no electrolitos. Los solutos iónicos y polares no son solubles o son escasamente solubles en disolventes no polares. Los disolventes no polares pueden disolver solutos no polares a través de interacciones dipolo inducido los solutos se mantienen en solución por la acción de fuerzas de Van der Waals. Los aceites y grasas se disuelven en tetracloruro de carbono, benceno y aceite mineral. Las bases alcaloides y los ácidos grasos también se disuelven en disolventes no polares.
- e) Los disolventes semipolares como cetonas y alcoholes pueden inducir un cierto grado de polaridad en las moléculas de un disolvente no polar así el benceno que se polariza fácilmente se vuelve soluble en alcohol. Los compuestos semipolares pueden actuar como disolventes intermediarios para promover la miscibilidad de líquidos polares y no polares.

En la tabla 2-4 se puede observar la polaridad de algunos disolventes (Snyder, 1979).

Tabla 2-4 Polaridad de disolventes, (Snyder, 1979)

Disolvente	Polaridad
n-heptano	0.2
n-hexano	0.1
n-pentano	0.0
ciclohexano	-0.2
tetracloruro de carbono	1.6
éter etílico	2.8
benceno	2.7
n-octanol	3.4
cloruro de metileno	3.1
1,2 dicloroetano	3.5
n-butanol	3.9
n-propanol	4.0
tetrahidrofurano	4.0
acetato de etilo	4.4
i-propanol	3.9
cloroformo	4.1
metiletilcetona	4.7
dioxano	4.8
acetona	5.1
ácido acético	6.0
acetoniitrilo	5.8
dimetilformamida	6.4
dimetilsulfoxido	7.2
metanol	5.1
agua	10.2

### 2.3.3. Fuerzas intermoleculares y enlaces de valencia

Para que las moléculas existan en agregados en los gases, líquidos y sólidos deben existir fuerzas intermoleculares. La cohesión o atracción de moléculas similares y la adhesión o atracción de moléculas que no son similares son manifestaciones de fuerzas intermoleculares.

**Fuerzas de van der Waals** Las moléculas dipolares tienden a alinearse con su vecindad, de tal modo que, el polo negativo de una molécula apunta hacia el polo positivo de la siguiente. Así, se pueden asociar grandes grupos de moléculas a través de atracciones débiles conocidas como fuerzas *dipolo – dipolo*. Los dipolos permanentes son capaces de inducir un dipolo eléctrico en moléculas no polares para producir un *dipolo – dipolo inducido* y moléculas no polares pueden inducir polaridad en otra por *dipolo inducido – dipolo inducido*.

**Enlace de Hidrógeno** La interacción entre una molécula que contiene un átomo de hidrógeno y un átomo fuertemente electronegativo como flúor, oxígeno o nitrógeno es de interés particular. Debido al pequeño tamaño del átomo de hidrógeno y a su gran campo electrostático, este se puede mover cerca del átomo electronegativo y formar un tipo de unión electrostática conocida como *enlace de hidrógeno* o *punto de hidrógeno*. Este aporta para muchas de las inusuales propiedades del agua (Martin, 1973).

Tabla 2-5 Fuerzas intermoleculares y enlace de valencia, (Martin, 1973).

Fuerzas intermoleculares	energía de enlace (Kcal/mol)
Fuerzas de van der Waals	1 – 10
Enlaces de hidrógeno	
O – H --- O	6
C – H --- O	2 – 3
O – H --- N	4 – 7
N – H --- O	2 – 3
F – H --- F	7
Enlace primario de valencia	
iónico, electrovalente	100 – 200
covalente	50 – 150

### 2.3.4. Tamaño de partícula en soluciones.

Una solución verdadera se define como una mezcla de dos o más componentes que forman una dispersión molecular homogénea es decir, un sistema de una fase la composición de la cual puede variar ampliamente (Martin, 1973).

Tabla 2-6 Tamaño de partícula, (Martin, 1973).

Solución	< 10 Å
Coloide	10 Å – 5000 Å
Suspensiones y emulsiones	> 0.1 micras



### 2.3.5. Tipos de soluciones

Una solución compuesta solo de dos fases es una solución binaria y los componentes se conocen como disolvente y soluto. Una solución se puede clasificar de acuerdo a los estados en que se encuentra el soluto y el disolvente, como existen tres estados de la materia gas, líquido y sólido hay nueve tipos de mezclas homogéneas, en la tabla 2-7 se pueden observar algunos ejemplos (Martin, 1973).

Tabla 2-7. Tipos de soluciones, (Martin, 1973).

Soluto	disolvente	ejemplo
gas	gas	aire
líquido	gas	agua en oxígeno
sólido	gas	yodo vapor en aire
gas	líquido	CO <sub>2</sub> en agua
líquido	líquido	alcohol en agua
sólido	líquido	solución de NaCl en agua
gas	sólido	hidrógeno en paladio
líquido	sólido	aceite mineral en parafina
sólido	sólido	mezcla de oro y plata

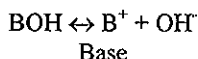
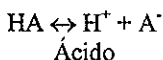
Los solutos pueden ser electrolitos o no electrolitos. Los electrolitos forman iones cuando están en solución y conducen una corriente eléctrica y alteran las propiedades coligativas p. ej. la presión osmótica, son ejemplos el ácido clorhídrico, el sulfato de sodio, el fenobarbital. Los no electrolitos son sustancias que no producen iones en solución y no conducen una corriente eléctrica través de la solución son ejemplos la sacarosa, glicerina, naftaleno, urea. Los electrolitos pueden ser fuertes o débiles dependiendo de si están completa o parcialmente ionizados (Martin, 1973).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

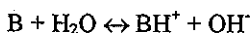
### 2.3.6. Equilibrio ácido base (Connors, 1975)

#### Definiciones de ácidos y bases.

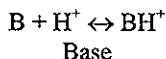
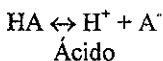
Arrhenius define un ácido como una sustancia que cuando esta disuelta en agua da lugar a iones hidrógeno y una base como, una sustancia que en agua da iones hidróxido



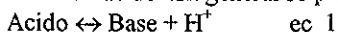
La teoría ampliada incluye las sustancias que incrementan la concentración de iones hidróxido de una solución pero que, en si, ellas mismas, no contienen el grupo hidroxilo, por ejemplo las aminas Para explicar este comportamiento se incluyó el concepto de hidrólisis o reacción con el agua, estas sustancias se llamaron pseudo bases



La definición de Bronsted es mas general no depende del disolvente y define un ácido como una especie que puede dar un protón y una base como una especie que puede aceptar un protón

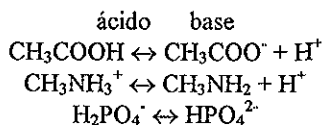


En el sistema  $\text{HA} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{A}^-$  el anión  $\text{A}^-$  actúa como un base ya que acepta un protón Y en la reacción  $\text{B} + \text{H}^+ \leftrightarrow \text{BH}^+$  el catión  $\text{BH}^+$  actúa como un ácido En general se puede escribir



Y un par ácido - base relacionado por esta ecuación se conoce como par conjugado ácido - base

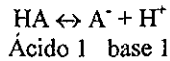
El resultado de esta definición es que un ácido o una base pueden tener cualquier carga, la única limitación es que la carga del ácido es mayor que su base conjugada en una unidad positiva Ejemplos



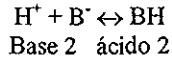
Hasta aquí no se ha mencionado el disolvente. La ecuación 1 no se observará en ausencia de una sustancia que acepte el protón debido a la gran reactividad del protón Esta segunda sustancia aceptora de protón es por definición una base

Así que, son necesarios dos sistemas conjugados ácido - base para observar una reacción y una reacción ácido - base es la transferencia de un protón de un sistema a otro

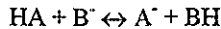
Primer sistema



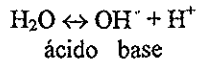
Segundo sistema



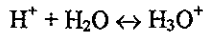
Reacción completa



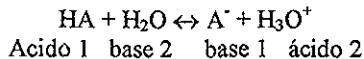
El disolvente asume el papel del segundo par ácido – base si tiene propiedades. El agua es este disolvente



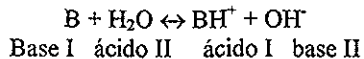
Pero el agua puede actuar como ácido y como base (es anfotérica)



Este doble comportamiento significa que el agua puede ser el segundo sistema conjugado ácido – base para solutos que son ácidos y para solutos que son bases



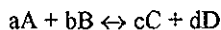
y



Lewis define un ácido como un aceptor de un par electrónico y una base como un donador de un par electrónico, el concepto de Lewis ayuda a explicar fenómenos como el cambio de color de los indicadores en sistemas no protónicos

### 2.3.6.1. Constantes de disociación ácido – base

Para una reacción química reversible

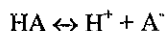


la cantidad K es una constante a temperatura y presión constantes

$$K = \frac{[\text{C}]^c [\text{D}]^d}{[\text{A}]^a [\text{B}]^b}$$

En esta ecuación [A] representa la concentración molar en equilibrio de A, etc Se escribe la expresión de K con los productos (las especies del lado derecho de la ecuación) en el numerador.

Considerando la disociación del ácido débil HA,



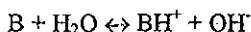
En forma análoga se define la constante de disociación  $K_a$  en donde  $H^+$  representa el protón hidratado

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

Este simbolismo implica que el segundo par conjugado ácido – base es el disolvente agua, el cual no se escribe explícitamente. La  $K_a$  siempre se escribe con la concentración del ión hidrógeno en el numerador

Nota: ionización es la formación de iones, mientras que disociación es la separación de especies. Estos términos se emplean como sinónimos en discusiones de soluciones acuosas dado que en soluciones acuosas diluidas cada especie ionizada se disocia

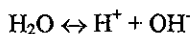
De manera similar se define la constante  $K_b$  la cual se denomina constante de disociación de la base



$$K_b = \frac{[BH^+][OH^-]}{[B]}$$

Aquí la  $[H_2O]$  que se puede tomar como una cantidad constante en soluciones acuosas diluidas, se absorbe dentro de la  $K_b$

El agua también es capaz de disociación



Este equilibrio se caracteriza por la constante  $K = [H^+][OH^-] / [H_2O]$

Por convención se absorbe la cantidad constante  $[H_2O]$  en la constante dando la importante relación

$$K_w = [H^+][OH^-]$$

$K_w$  es el producto iónico o constante de autoprotólisis del agua. Es una cantidad muy valiosa ya que relaciona el  $K_a$  de un ácido débil y el  $K_b$  de su base conjugada. Considere el ácido  $HA$  y su base conjugada  $A^-$

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

$$K_b = \frac{[HA][OH^-]}{[A^-]}$$

Multiplicando estas dos constantes da:

$$K_w = K_a K_b$$

Que sirve para cualquier par conjugado ácido – base. Dado que la  $K_w$  esta bien conocida en un amplio rango de temperatura, esto significa que solo es necesario conocer  $K_a$   $K_b$  para un par conjugado; la constante desconocida se puede calcular con esta ecuación. Es importante que todas las cantidades se refieran a la misma temperatura.

Los valores numéricos de la mayoría de las constantes de disociación son números muy pequeños; entonces es conveniente emplear logaritmos para manipularlos. El simbolismo

$$pK = - \log K = \log 1/K$$

Se puede escribir la ecuación

$$pK_w = pK_a + pK_b$$

Para cualquier par conjugado ácido – base. En la tabla 2-8 se listan valores de  $pK_w$  a varias temperaturas; el efecto de la temperatura sobre el  $pK_w$  es muy marcado.

Para los ácidos débiles es común expresar la constante de disociación como  $K_a$  o como  $pK_a$ . No es común encontrar el  $K_b$  o  $pK_b$  de las bases débiles, ya que normalmente se encuentra el  $K_a$  o  $pK_a$  del ácido conjugado de la base débil.

Tabla 2-8. Producto iónico del agua en función de la temperatura, (Connors, 1975)

T °C	$pK_w$
0	14.94
10	14.54
20	14.17
25	14.00
30	13.83
40	13.54
50	13.26
60	13.02

Nota: Un ácido que contiene un solo protón disociable se llama ácido monoprótico o ácido monobásico, la última designación indica que una molécula del ácido puede transferir un protón a la base; en forma similar una base que puede aceptar un solo protón es una base monoácida. Los ácidos polibásicos (y las bases poliácidas) pueden donar (o aceptar) más de un protón por molécula.

La tabla 2-9, da valores de  $K_a$  y su correspondiente  $pK_a$ , note que para dos valores de  $K_a$  el más grande implica un ácido fuerte y por tanto un  $pK_a$  pequeño también significa un ácido fuerte. Debido a la relación  $pK_w = pK_a + pK_b$  significa que un valor grande de  $pK_a$  para el ácido conjugado de una base corresponde a una base fuerte. Así la etilendiamina es una base más fuerte que la anilina y el ácido benzoico es un ácido mucho más fuerte que el fenol.

Tabla 2-9. Constantes de disociación ácida a 25°C, (Connors, 1975).

Substancia (el ácido conjugado en cada caso)	$K_a$	$pK_a$
ácido benzóico	$6.25 \times 10^{-5}$	4.20
fenol	$1.00 \times 10^{-10}$	10.00
Anilina	$2.51 \times 10^{-5}$	4.60
etilendiamina	$1.41 \times 10^{-7}$ $1.18 \times 10^{-10}$	6.85 9.93
Ácido salicílico	$1.05 \times 10^{-3}$ $4 \times 10^{-14}$	2.98 13.40

### 2.3.6.2. pH.

Dado que la concentración de ion hidrógeno en solución acuosa es mucho menor que un equivalente por litro, es conveniente manejar la cantidad logarítmica pH

$$pH = -\log[H^+] = \log \left[ \frac{1}{[H^+]} \right]$$

Mientras mas alto es el valor de pH es menor la concentración de ion hidrogeno. De dos soluciones la que tiene el menor pH es más ácida y la que tiene el pH mas alto es más alcalina.

Si se conoce la concentración de ion hidrógeno, se puede calcular la concentración de ion hidróxido mediante la relación:

$$pK_w = pH + pOH$$

Una solución en la que el  $pH = pOH$  es neutra. El pH de una solución neutra es igual a  $pK_w/2$  a 25°C la neutralidad corresponde a pH 7.00

### Cálculo del pH.

#### Acido o base fuerte.

Un ácido fuerte esta, esencialmente, completamente disociado en sus componentes ionicos en solución acuosa diluida. Por eso el concepto de constante de disociación no es aplicable. Los ácidos fuertes comunes son: clorhídrico, perclórico, sulfúrico y nítrico. Las bases fuertes más comunes son el hidróxido de sodio y el hidróxido de potasio.

Considerando  $c$  como la concentración analítica (formal) total de un ácido fuerte HX, en donde  $c$  se expresa en molaridad (M) o normalidad (N). Dado que la solución como un todo es eléctricamente neutra, debe contener tantas cargas positivas como cargas negativas. Por la regla de electroneutralidad se puede escribir

$$[H^+] = [OH^-] + [X^-] \quad (\text{ec 9})$$

En la ecuación 9 la fuente de iones hidróxido es la disociación del agua. Si la concentración total de ácido  $c$  es mayor de aproximadamente  $10^{-6}$  M, entonces la  $[OH^-]$  será mucho menor que la  $[X^-]$  y se puede escribir la aproximación

$$[H^+] = [X^-] \quad (\text{ec } 10)$$

Pero la  $[X^-] = c$  así que tenemos  $[H^+] = c$  Esto es la concentración del ion hidrogeno (ion hidronio) es igual a la concentración total del ácido.

En forma similar para una base fuerte MOH la ecuación de electroneutralidad es

$$[H^+] + [M^+] = [OH^-] \quad (\text{ec } 11)$$

que se simplifica a  $c = [OH^-]$ , en donde  $c$  es la concentración analítica de la base fuerte

Ejemplo

¿Cuál es el pH de una solución de 0.01 g/ml de NaOH?

es una base fuerte por lo que esta completamente ionizada

pm de NaOH = 40 g mol

0.01 g NaOH / 0.001 litro x 1 litro / 40 g mol NaOH x 1M = 0.25 M

$[OH^-] = 0.25 \text{ N}$

$pOH = \log 1/[OH^-] = 1 / 0.25 = \log 4$

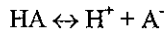
$pOH = 0.6021$

$pH = 14 - 0.6021 = 13.4$

#### Acido débil.

Un ácido débil es un ácido que no esta completamente disociado, esto significa que las especies no disociadas se pueden detectar en solución. El grado de disociación esta caracterizado por  $K_a$ .

Considere el ácido débil HA en solución a una concentración total de soluto  $c$ . La reacción de disociación es



La constante de disociación del ácido se define como:

Ec 12

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

Un cálculo exacto debe iniciar con la condición de electroneutralidad  $[H^+] = [OH^-] + [A^-]$ , y la condición de balance de materia,  $c = [HA] + [A^-]$ . Se puede despreciar la ionización del agua, dando

$[H^+] = [A^-]$ . También se obtiene este resultado considerando que cada molécula de HA se disocia para dar un  $H^+$  y un  $A^-$  por lo que  $[H^+] = [A^-]$ .

Combinando con el balance de materia da para la concentración de equilibrio,

$[HA] = c - [H^+]$  sustituyendo en 12

$$K_a = \frac{[H^+]^2}{c - [H^+]}$$

ec 13

La ecuación 13 es una ecuación cuadrática en  $[H^+]$  se puede reorganizar a:

$$[H^+]^2 + K_a [H^+] - K_a c = 0$$

y  $[H^+]$  se puede encontrar resolviendo la ecuación

$$[H^+] = \frac{-K_a \pm \sqrt{K_a^2 + 4K_a c}}{2}$$

ec 14

Aunque la ecuación 14 no es completamente exacta ya que no toma en cuenta la disociación de agua Si  $[H^+]$  es despreciable con relación a  $c$  la ecuación 13 da  $K_a = [H^+]^2 / c$

$$[H^+] = \sqrt{K_a c}$$

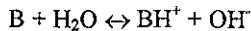
ec 15

Esta simple expresión es ampliamente aplicable Si la  $[H^+]$  es menor que 5 % de  $c$  la ecuación 15 se puede usar para la estimación preliminar de  $[H^+]$  para determinar si la aproximación de:  $c - [H^+] \approx c$  es válida Esta aproximación es mejor mientras más grande es  $c$ .

Bajo estas consideraciones el tipo de carga es irrelevante, por lo que, las ecuaciones 14 y 15 se aplican a ácidos neutros (ácido acético), ácidos con carga positiva (ion amonio) y ácidos con carga negativa (ion biftalato)

#### Base débil.

La reacción se puede escribir:



La constante de disociación de la base

$$K_b = \frac{[BH^+][OH^-]}{[B]}$$

En forma similar

$$K_b = \frac{[OH^-]^2}{c - [OH^-]}$$

ec 16

en donde  $c$  es la concentración formal de la base. Cuando  $[OH^-]$  es mucho menor que  $c$  esto se reduce a

$$[OH^-] = \sqrt{K_b c}$$

ec 17

Esta ecuación aplica a bases neutras (aminas), con carga positiva (monoclorhidrato de etilendiamina) y con carga negativa (ion benzoato) La concentración de ion hidrogeno (pH), de estas soluciones se puede obtener utilizando la relación fundamental

$$K_w = [H^+][OH^-]$$

Ejemplo ¿Cuál es el pH de ácido acético 0.01 M ( $pK_a = 4.76$ )

$$K_a = 1/10^{pK_a} = 1/10^{4.76} = 1.7378E-5$$



$$K_a = 10^{-4.76} = 1.7378 \times 10^{-5}$$

Se aproxima a  $1.75 \times 10^{-5}$

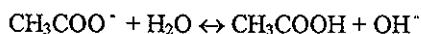
Aplicando la ecuación 15 con  $c = 0.01$  y  $K_a = 1.75 \times 10^{-5}$

$$\sqrt{K_a c} = \sqrt{1.75 \times 10^{-7}} = 0.000418$$

$$[H^+] = 4.18 \times 10^{-4} \text{ N}$$

$$\text{pH} = 3.39$$

El concepto de Bronsted del par conjugado ácido – base es útil en el tratamiento del problema de soluciones de sales. La sal de un ácido débil y una base fuerte no es más que la base conjugada de un ácido débil y se aplican las ecuaciones 16 y 17. El acetato de sodio es un ejemplo. La reacción de disociación es



y la concentración analítica  $c$  del ion acetato es idéntica a la concentración de acetato de sodio, dado que la sal (no el  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ ) está completamente disociada.

Análogamente la sal de una base débil y un ácido fuerte es equivalente al ácido conjugado de la base como el cloruro de amonio. En este caso se aplican las ecuaciones 14 y 15.

Ejemplo. Calcule el pH de benzoato de potasio  $0.025 \text{ M}$  a  $25^\circ\text{C}$

La sal está completamente disociada en iones potasio y benzoato y el pH está determinado por el equilibrio ácido – base, subsecuente



La concentración total  $c$  del benzoato es  $0.025 \text{ M}$  y el  $\text{p}K_a = 4.20$  para el ácido benzoico, entonces, el  $\text{p}K_b = 9.80$  y el  $K_b = 1.6 \times 10^{-10}$

Usando la ecuación 17 se obtiene  $[\text{OH}^-] = 2.00 \times 10^{-6} \text{ N}$ ,  $\text{pOH} = 5.70$  y  $\text{pH} = 8.30$

Es útil verificar que el pH calculado esté en el lado correcto de neutralidad. En este ejemplo el pH debe ser mayor de 7 porque el benzoato de sodio es una base.

### 2.3.6.3. Soluciones buffer.

Considere una solución acuosa preparada para contener  $a$  moles/litro de un ácido débil HA y  $b$  moles/litro de su base conjugada  $A^-$ .

Las concentraciones de equilibrio de estas especies serán ligeramente diferentes de la concentración formal  $a$  y  $b$  debido al equilibrio de disociación  $\text{HA} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{A}^-$ . Esto es, la concentración de equilibrio  $[\text{HA}]$  será ligeramente menor que  $a$  debido a esta disociación. Dado que cada molécula de HA se disocia para dar un  $\text{H}^+$  y un  $\text{A}^-$  las concentraciones están dadas por

$$[\text{HA}] = a - [\text{H}^+] \quad \text{ec 27}$$

$$[\text{A}^-] = b + [\text{H}^+] \quad \text{ec 28}$$

nota: las ecuaciones 27 y 28 aun son aproximaciones ya que se desprecia la ionización del agua, en rigor deberían ser  $[\text{HA}] = a - [\text{H}^+] + [\text{OH}^-]$  y  $[\text{A}^-] = b + [\text{H}^+] - [\text{OH}^-]$

La expresión de la constante de disociación

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

se puede poner en forma logarítmica, más conveniente

$$pK_a = \text{pH} - \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

ec 30

Combinando las ecuaciones 27, 28 y 30

$$pK_a = \text{pH} - \log \frac{b + [H^+]}{a - [H^+]}$$

En la mayoría de las situaciones prácticas  $[H^+]$  es mucho menor que  $a$  o  $b$  y entonces se puede escribir la ecuación, más sencilla:

$$pK_a = \text{pH} - \log \frac{b}{a}$$

ec 32

La ecuación 32 es la ecuación de Henderson – Hasselbalch, la cual relaciona el pH de una solución que contiene apreciables y comparables, concentraciones de un par conjugado ácido – base a la relación de estas concentraciones

Esta solución se llama solución buffer ya que resiste un cambio en pH al adicionar una pequeña cantidad de ácido o base. Este fenómeno se puede demostrar con un ejemplo

Suponga que se prepara para ser 0.1 M de ácido acético y 0.1 M de acetato de sodio. La relación  $b/a = 1.00$  de acuerdo a la ecuación 32, el  $\text{pH} = pK_a$  o  $\text{pH} = 4.76$ . Ahora agregue 10 ml de NaOH 0.1 N a 100 ml de esta solución; ¿Cuál será el nuevo valor de pH?

Se puede asumir que el hidróxido de sodio convierte una cantidad equivalente de ácido acético a acetato de sodio. Por eso la solución contiene, después de la adición de hidróxido de sodio,  $(100)(0.1) - (1)(0.1) = 9.9$  meq (miliequivalentes) de ácido acético y  $(100)(0.1) + (1)(0.1) = 10.1$  meq de acetato, todo en 101 ml de solución. La relación  $b/a$  ahora es de 1.02 su logaritmo es 0.01 y la ecuación 32 muestra que el pH es de 4.77. Por lo que la adición de álcali da por resultado un cambio en el pH solamente de 0.01 unidad.

Si el mismo volumen de solución de hidróxido de sodio se hubiera agregado a 100 ml de un ácido fuerte de pH 4.76 el pH cambiaría a 1.1

Al usar las ecuaciones 30 o 32 se deben obtener a partir de la apropiada, expresión de la constante de disociación ácida, esto evitará la confusión de los signos, relaciones y términos de transposición que resultan al memorizar la ecuación 30

Algunos autores consideran que al agregar una base fuerte a un ácido débil se convierte a su sal, entonces la ecuación se puede escribir  $\text{pH} = pK_a + \log (\text{sal} / \text{ácido})$ , cuando se agrega un ácido fuerte a una base débil la ecuación es  $\text{pH} = pK_a + \log (\text{base} / \text{sal})$ . Para evitar confusiones derivadas de esta terminología nos adherimos a Bronsted y hablamos de especies de ácidos y bases conjugadas y la ecuación toma la forma

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{base conjugada}]}{[\text{ácido conjugado}]}$$

La ecuación de Henderson – Hasselbalch relaciona las tres cantidades pH, pK<sub>a</sub> y la relación b/a en situaciones practicas dos de estas son conocidas y la tercera se puede calcular

Ejemplo Calcule el pH de una solución bufer preparada al disolver 242.2 mg de tris(hidroximetil)aminometano en 10.0 ml de HCl 0.170 N y diluyendo a 100 ml con agua. El peso molecular del soluto es 121.1.

Es una amina primaria de estructura (HOCH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CNH<sub>2</sub> con pK<sub>a</sub> = 8.08 para el ácido conjugado.

En total se pesaron 2.0 meq de soluto y se agregaron 1.7 meq de HCl

Dado que el HCl reacciona con la amina para convertir una cantidad equivalente a su forma de ácido conjugado (protonado), esto significa que  $a = 1.7 / 100 \text{ M}$  y  $b = (2.0 - 1.7) / 100 \text{ M}$  usando estas figuras en la ecuación de Henderson Hasselbalch

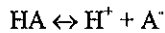
$$\begin{aligned} \text{pH} &= \text{pK}_a + \log \frac{0.003}{0.017} = 8.08 - \log 0.017 / 0.003 \\ \text{pH} &= 8.08 - \log 5.67 = 7.25 \end{aligned}$$

En este calculo se invirtió la relación para dar un valor mayor que la unidad y facilidad para tomar el logaritmo

#### 2.3.6.4. Influencia del pH en el grado de disociación de ácidos y bases débiles.

De acuerdo a la ecuación de Henderson Hasselbalch para los ácidos y las bases débiles podemos expresar la relación entre sus formas no iónicas, formas iónicas y su pK<sub>a</sub>

**Para los ácidos:**



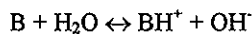
$$\text{pK}_a = \text{pH} - \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

$$\text{pK}_a = \text{pH} + \log \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]}$$

$$\text{pK}_a - \text{pH} = \log \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]}$$

Si el pH del medio es menor que el valor numérico del pK<sub>a</sub> entonces el compuesto se encontrará mayoritariamente en forma no iónica

**Para las bases:**



$$\text{pK}_a - \text{pH} = \log \frac{[\text{BH}^+]}{[\text{B}]}$$

Si el pH del medio es mayor que el valor numérico del pK<sub>a</sub> entonces el compuesto se encontrará mayoritariamente en forma no iónica

#### 2.4. Métodos de separación.

Las formulaciones farmacéuticas modernas son mezclas complejas que incluyen además de uno o más activos medicinales, un número de materiales inertes como diluentes, desintegrantes, colores, sabores, etc

La determinación de la cantidad de cada componente aislado se puede llevar a cabo con técnicas analíticas como: titulaciones, métodos instrumentales (espectroscopia, potenciometría, refractometría, etc) El análisis de la misma sustancia en presencia de otras se puede ver dificultada o aun imposibilitada por la presencia de alguna otra sustancia durante su análisis

Las interferencias pueden tomar varias formas:

- a) La sustancia interferente puede responder cuantitativamente al método analítico para el compuesto deseado por ejemplo la interferencia del ácido acético en el ensayo de ácido clorhídrico con álcali, o en espectroscopia de absorción cuando dos solutos tienen bandas de absorción que se superponen.
- b) En ocasiones la interferencia es parcial y la respuesta no es cuantitativa por ejemplo en la titulación no acuosa de ácidos débiles en tabletas que contienen ácido estearico, este puede consumir titulante sin embargo el efecto no es reproducible debido a la disolución incompleta del ácido estearico en el medio de titulación
- c) Otra forma de interferencia es la existencia de un impedimento en el método analítico para el compuesto deseado llevando a resultados no cuantitativos por ejemplo la interferencia del ácido clorhídrico en la fluorescencia de la quinina, la interferencia del cobre en el análisis de magnesio por complejometría.

Cuando el método analítico no se puede aplicar directamente a una mezcla por posibles interferencias se hace necesaria una separación de la mezcla en sus componentes.

Para asegurar la calidad y la estabilidad del producto final el analista farmacéutico debe ser capaz de separar estas mezclas en sus componentes individuales previamente al análisis cuantitativo. Aun más la comparación de la eficacia relativa de las diferentes formas farmacéuticas de un mismo fármaco requiere el análisis del ingrediente activo en materiales biológicos como sangre orina y tejidos. Dentro de las técnicas más poderosas y asequibles al analista para la resolución de estas mezclas está un grupo de métodos muy eficiente llamado cromatografía (Connors, 1975)

La separación de mezclas es un problema al cual el analista se enfrenta a menudo, particularmente el analista de preparaciones farmacéuticas. Las preparaciones farmacéuticas en su mayoría son mezclas de uno o más ingredientes terapéuticamente activos con otros componentes, necesarios para la formulación de la forma farmacéutica dosificada. El control analítico adecuado de tales preparados demanda un análisis exacto para cada ingrediente activo y en algunos casos puede requerir la determinación cuantitativa de uno o más de los excipientes farmacéuticos

Si los ingredientes de la preparación son de estructuras químicas diferentes de tal forma que en la reacción puede ser utilizado un reactivo que reacciona con un solo compuesto, el preparado se puede analizar sin un procedimiento de separación. Si, sin embargo, dos o más de los ingredientes tienen reacciones químicas de grupos funcionales similares, probablemente será necesario separar estos compuestos antes del análisis. En estos casos puede ser posible remover el compuesto interferente y proceder con el análisis sobre los componentes remanentes en la mezcla o podría ser más deseable, separar el compuesto que se va a analizar

Al determinar la necesidad de la separación antes del análisis, el analista no solo debe considerar la posible interferencia de otros ingredientes terapéuticamente activos sino que también debe considerar la reactividad de los disolventes y los excipientes empleados en la preparación. La mayoría de estos ingredientes son de naturaleza química y pueden interferir en la determinación de constituyentes importantes. Por ejemplo, una sustancia biológicamente inerte como la lactosa contiene grupos hidroxilo que reaccionarían con reactivos usados en la determinación de alcoholes, medicinalmente importantes. Se debe poner atención a los agentes colorantes y de material suspendido aun si son

químicamente inertes pueden interferir con el punto final o afectar en forma adversa una determinación colorimétrica

En las determinaciones analíticas las diferencias en propiedades como la solubilidad y la volatilidad pueden ayudar en la separación de los compuestos interferentes. Cuando las propiedades físicas de los ingredientes activos son muy similares para permitir una separación adecuada, el compuesto interferente se puede modificar químicamente para alterar su solubilidad o su volatilidad y permitir una separación cuantitativa. Estos cambios químicos deben proceder en forma cuantitativa es deseable que tales cambios químicos se realicen fácilmente, las modificaciones normalmente están limitadas a cambios químicos simples como la formación de sales o la preparación de compuestos de adición. Las mezclas que no se pueden separar por diferencias en la solubilidad o en la volatilidad se pueden resolver empleando cromatografía (Gearien, 1969)

#### 2.4.1 Cromatografía (Connors, 1975)

En 1903 el bioquímico ruso M. S. Tswett desarrolló una nueva técnica de separación la cual involucraba el pasar la mezcla a ser separada a través de un adsorbente finamente pulverizado. Una porción de la mezcla se aplicaba en la parte superior de la columna y lavando a través con un disolvente orgánico. Conforme procedía el lavado, los varios componentes de la mezcla fueron lavados en la parte inferior de la columna a diferentes velocidades finalmente se separaron completamente y se pudieron recuperar lavándolos de la columna y colectándolos en fracciones separadas o por extrusión de la columna del tubo en la que estaba contenida y cortando la columna entre las zonas de los compuestos separados. La mayoría de las muestras de Tswett eran pigmentos de plantas así que las bandas coloreadas formadas por los compuestos sobre la columna eran fácilmente visibles, de hecho estas zonas coloridas dieron lugar al nombre de cromatografía a este método de separación. Tswett aportó a la separación proponiendo que las moléculas del soluto eran adsorbidas en la superficie del polvo del material de la columna. Las sustancias que eran fuertemente adsorbidas no eran desorbidas fácilmente por el disolvente y estos compuestos salían muy lentamente de la columna. Los compuestos adsorbidos menos fuertemente eran transportados hacia fuera de la columna a mayor velocidad, así que la separación se llevaba a cabo debido a las diferentes afinidades de los solutos hacia el disolvente y el adsorbente sólido. Actualmente se han desarrollado muchas formas de cromatografía pero todas están basadas en un simple principio: *la separación es el resultado de las diferentes velocidades de migración de las zonas causada por las diferencias en las afinidades relativas hacia las dos fases*. Este es el mismo principio que rige el método de separación a contracorriente. La cromatografía es un proceso de separación de mezclas moleculares que se lleva a cabo por la distribución de los solutos entre dos fases, las fases están en contacto de manera continua y a contracorriente

#### El proceso cromatográfico

Dado que todas las separaciones cromatográficas están basadas en el mismo principio, cualquiera puede servir de ejemplo. Tomando como punto de partida el proceso de cromatografía en columna líquido - líquido, las dos fases son líquidas, así el proceso de distribución es una partición líquido - líquido y el proceso se lleva a cabo dentro de una columna

En todos los tipos de cromatografía una fase se mantiene fija y la otra pasa sobre ella en forma continua. La fase fija está en menor proporción que la fase móvil, y nos referiremos a estas fases como fase estacionaria y fase móvil.

En la cromatografía líquido - líquido en columna, la fase estacionaria es una capa muy delgada de disolvente adsorbida sobre partículas muy finas de soporte en polvo. La función del sólido es sostener la fase estacionaria. Este sistema de soporte y fase estacionaria se empaca más o menos firmemente en un tubo de vidrio detenido por un tapón de vidrio poroso al final del tubo o por algún otro aditamento

El espacio interparticular se llena con fase móvil, la cual debe ser un disolvente inmiscible con la fase estacionaria. Una llave controla el flujo de la fase móvil

Ahora, la mezcla de muestra se agrega en la parte superior de la columna en una pequeña porción para que se forme una banda angosta. Supongamos que la muestra es una mezcla de los compuestos A y B, y las fases estacionaria y móvil se han seleccionado de tal forma que los coeficientes de partición de A,  $K_A$  y B,  $K_B$ , en el sistema fase móvil (M) / fase estacionaria (S) son diferentes

Consideremos que  $K_B = C_{SB}/C_{MB}$  se mayor que  $K_A = C_{SA}/C_{MA}$

$K_B$  = coeficiente de partición de B

$C_{SB}$  = concentración de B en la fase estacionaria

$C_{MB}$  = concentración de B en la fase móvil

$K_A$  = coeficiente de partición de A

$C_{SA}$  = concentración de A en la fase estacionaria

$C_{MA}$  = concentración de B en la fase móvil

En este punto la columna cromatográfica se podría representar como en la figura 2-5 a, en donde la zona de la muestra en la parte superior de la columna contiene a A y B

Ahora se agrega fase móvil en la parte superior de la columna y esta se percola a través del empaque; conforme entra fase móvil limpia, la distribución de equilibrio requiere que una fracción tanto de A como de B pasen a la fase móvil para satisfacer las expresiones para  $K_A$  y  $K_B$  y dado que  $K_A$  es mucho menor que  $K_B$  una mayor proporción de A entrará en la fase móvil

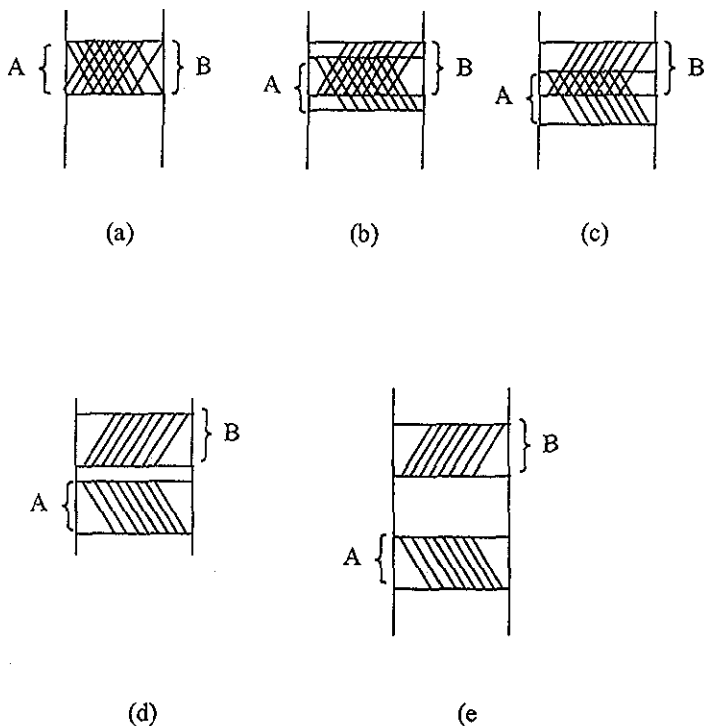
Conforme entra mas fase móvil (eluyente) al empaque, la porción de eluyente que lleva a A y B entra a la región inferior de la columna debajo de la zona inicial de la muestra. Ahora la distribución de equilibrio requiere que el soluto pase de la fase móvil a la estacionaria dado que en esta región de la columna la fase estacionaria no contiene soluto. Así tanto A como B son obligados a migrar hacia abajo de la columna removiendo el soluto de la fase estacionaria de la orilla superior y depositándolos en el frente de la zona. Este proceso se debe únicamente a la operación del equilibrio de distribución

Ahora, dado que el soluto puede moverse solo cuando esta en la fase móvil, el soluto que pasa mas tiempo en la fase móvil migrará más rápidamente. En el ejemplo A que tiene el menor K será el componente que migre más rápidamente, fuera de la columna. Este efecto se ilustra en la figura 2-5b que muestra la zona de A ligeramente a delante de B. Al proceso de pasar eluyente a través de la columna se denomina elución. Las zonas que viajan a diferentes velocidades eventualmente se separan si la columna es suficientemente larga. Simultáneamente las zonas se ensanchan y el éxito de la separación depende tanto del grado de separación de los centros de las zonas como del grado de ensanchamiento de las zonas (Connors, 1975)

**Tipos de Cromatografía líquida** La naturaleza física de las fases y la mecánica para ponerlas en contacto da lugar a varios tipos de cromatografía. Si la fase móvil es un líquido la técnica se denomina cromatografía líquida y se clasifica de varias formas

1. Por mecanismo. Cuando la fase estacionaria es un líquido y el mecanismo de distribución es una partición líquido – líquido, la técnica se denomina cromatografía de partición o cromatografía líquido – líquido. Si la fase estacionaria es un sólido (o más apropiadamente la interfase entre un sólido y un líquido) el método es cromatografía de adsorción o cromatografía líquido – sólido. Pueden operar otros mecanismos de distribución como cromatografía de intercambio iónico y cromatografía de exclusión molecular

2. Por Forma Experimental. En la cromatografía en columna el sistema cromatográfico esta encerrado en un tubo cilíndrico de vidrio o metal. La cromatografía en cama plana se lleva a cabo sobre una superficie plana. Las formas de cromatografía plana son la cromatografía en papel que opera por un mecanismo de partición) y la cromatografía en capa fina CCF ( que es una forma de cromatografía de adsorción)



Proceso de separación por cromatografía en columna de dos solutos A y B.

Figura 2-5 Proceso de separación por cromatografía

### Teoría de la cromatografía

#### Proceso de ensanchamiento de las bandas.

El ancho de una zona cromatográfica, se incrementa conforme la zona sale de la columna.

Hay tres procesos independientes responsables del ensanchamiento de la banda:

1. Difusión molecular longitudinal Se debe a la difusión de altas a bajas concentraciones de soluto en un proceso dinámico y es inversamente proporcional a la velocidad de flujo

2. **Transferencia de masa Cinética de adsorción y desorción** No se puede alcanzar un verdadero equilibrio de partición en un sistema cromatográfico en movimiento dado, que la transferencia de masa entre las dos fases no es instantánea. Nos aproximamos a la condición de equilibrio haciendo muy fina una de las fases. Sin embargo, mientras más alta sea la velocidad del flujo menos completa es la aproximación al equilibrio, dado que las moléculas en la fase móvil pueden fallar al tratar de pasar a la fase estacionaria y columpiarse hacia delante de la zona, mientras que algunas de las moléculas de la fase estacionaria pueden ser muy lentas al pasar a la fase móvil y entonces quedan retrasadas.
3. **Difusión por turbulencia** Dentro de un sistema cromatográfico el flujo varía de punto a punto dependiendo de la proximidad de la superficie de las partículas, efecto de las paredes y falta de homogeneidad del empaque. La trayectoria de una molécula puede modificarse por un cambio en la velocidad de flujo, esto puede suceder de dos formas:
  - a) la molécula puede ser acarreada por el flujo desde una corriente de flujo a otra con diferente velocidad.
  - b) Las moléculas se pueden difundir lateralmente desde una corriente de flujo a otra. Estos dos fenómenos contribuyen al ensanchamiento de las bandas dispersando las moléculas a través de su residencia en corrientes de diferentes velocidades.

### **Cromatografía en capa fina.**

La cromatografía en capa fina o delgada constituye otro método para separar y en algunos casos identificar mezclas de dos o más compuestos orgánicos. Esta técnica es similar a la cromatografía en columna y en papel.

Se cubre una placa de vidrio (soporte), con una capa fina de un adsorbente adecuado, se coloca en el origen de la placa una mancha de una solución del compuesto orgánico (o mezcla) en estudio, se deja que un disolvente adecuado ascienda por la capa del adsorbente por capilaridad y el compuesto o compuestos, se localizan en la placa, directamente en el caso de compuestos coloreados o con ayuda de un indicador o utilizando luz ultravioleta cuando los compuestos son incoloros.

Los diversos compuestos ascienden por la capa de adsorbente a velocidades diferentes con relación al disolvente y de esta forma se realiza la separación de los componentes de una mezcla. A veces es posible identificar los componentes de la mezcla midiendo las relaciones de migración de las manchas con respecto a la del frente del disolvente y estableciendo comparaciones con el comportamiento de compuestos conocidos.

Prácticamente, pueden emplearse las mismas consideraciones tanto en cromatografía de columna como en capa fina para determinar el grado en que el compuesto en cuestión se mueve a lo largo de la superficie del adsorbente. El compuesto que avanza se ve atraído a zonas polares de la superficie del adsorbente por fuerzas electrostáticas, quedando reversiblemente ligado a la misma. El disolvente interacciona asimismo con el adsorbente y el compuesto interacciona con el disolvente.

Esta interacción competitiva triple entre soluto, disolvente y adsorbente establece las proporciones relativas en que el frente del disolvente y el soluto ascienden por la capa de adsorbente en la placa de vidrio.

Como en la cromatografía en columna, un soluto se ve atraído por el adsorbente tanto más intensamente cuanto mayor es su polaridad. De esta forma, compuestos como alcoholes, ácidos carboxílicos y aminas son atraídas por el adsorbente con mayor fuerza que compuestos tales como hidrocarburos y sus derivados halogenados. En consecuencia, el primer tipo de compuestos asciende por la capa de adsorbente con mayor lentitud que el segundo. La actividad del adsorbente influye asimismo en el grado de migración del soluto. Los adsorbentes más activos establecen ligaduras relativamente intensas con las moléculas de soluto de forma que el grado de migración del soluto a lo largo de la superficie de tales adsorbentes es relativamente lento. Los adsorbentes más empleados en cromatografía en capa fina son alúmina activa y gel de sílice. Como en la cromatografía en columna,



las actividades de estos adsorbentes se ven afectadas en gran manera por su contenido de agua las muestras más activas son aquellas que contienen menor cantidad de agua. La polaridad del disolvente influye asimismo en el grado de ascensión del soluto por la capa fina del adsorbente sobre la placa de vidrio. Con un soluto y adsorbente determinados, el cambio de disolvente menos polar a otro de mayor polaridad ocasionará una atracción relativamente mayor del soluto por parte del disolvente y por tanto el soluto ascenderá en mayor grado por el adsorbente en el caso del disolvente más polar.

En la cromatografía en capa fina es posible el cálculo de los valores  $R_f$  el valor  $R_f$  se define como la relación entre la distancia recorrida por el compuesto utilizado como soluto y la recorrida por el disolvente en el mismo tiempo. Lógicamente los valores de  $R_f$  de un compuesto determinado varían ampliamente con los cambios de soluto o de disolvente (Brewster, 1970).

#### 2.4.2. Extracción

La extracción es la técnica más empleada para separar un producto orgánico de una mezcla o para aislarlo de sus fuentes naturales. Puede definirse como la separación de un componente de una mezcla por medio de un disolvente.

En la práctica es muy utilizada para separar compuestos orgánicos de las soluciones o suspensiones acuosas en las que se encuentran. El procedimiento consiste en agitarlas con un disolvente orgánico inmiscible con el agua y dejar separar ambas capas. Los distintos solutos presentes se distribuyen entre las fases acuosa y orgánica de acuerdo con sus solubilidades relativas.

De este modo las sales inorgánicas prácticamente insolubles en los disolventes orgánicos más comunes, permanecerán en la fase acuosa, mientras que los compuestos orgánicos que no forman puentes de hidrógeno – hidrocarburos, derivados halogenados –, insolubles en agua, se encontrarán en la orgánica.

##### 2.4.2.1. Coeficiente de reparto.

Ciertos compuestos orgánicos como los alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos, ésteres, aminas, etc., capaces de asociarse con el agua a través de puentes de hidrógeno, son parcialmente solubles en este disolvente y en los orgánicos; en estos casos pueden ser necesarias varias extracciones sucesivas para eliminar la sustancia orgánica de la fase acuosa. Cuando se agita una solución acuosa de una sustancia con un disolvente orgánico  $O$  en el que la sustancia es al menos algo soluble, el compuesto se disuelve parcialmente en cada disolvente. La relación de las concentraciones en ambos ( $C_o$  y  $C_A$ ) – proporcionales a las solubilidades respectivas  $S_o$  y  $S_A$  –, cuando se alcanza el estado de equilibrio a una temperatura determinada se llama coeficiente de partición, distribución o de reparto,  $K_D$ .

$$K_D = C_o / C_A = S_o / S_A$$

Por ejemplo, a 15°, la solubilidad del ácido subérico [HOOC - (CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub> - COOH] es 0.56 g por 100 ml de éter dietílico y 0.14 g por 100 ml de agua. Esto significa que cuando el ácido subérico se distribuye entre el éter y el agua a 15°, la concentración del mismo en la fase etérea es 0.56/0.14 = cuatro veces mayor que en la fase acuosa, luego  $K_D = 4$ . Si una solución de 40 mg de ácido subérico en 50 ml de agua se extrae con 50 ml de éter, la cantidad  $x$  de ácido que pasa a la capa etérea se puede calcular del siguiente modo:

$$x / 50 \text{ ml} / 40 \text{ mg} - x / 50 \text{ ml} = 4$$

$$5x = 160 \text{ mg}$$

$$x = 32 \text{ mg}$$

En otras palabras una sola extracción con 50 ml de éter sólo elimina 32 mg de ácido subérico, quedando 8 mg en la fase acuosa.

**Emulsiones.** Con frecuencia sobre todo cuando se trabaja con soluciones alcalinas se forman emulsiones durante el proceso de extracción. Estas pueden romperse mediante:

1) un movimiento de giro suave al líquido del embudo de separación, mantenido en su posición normal  
2) agitación vigorosa de la capa emulsionada con una varilla de vidrio; 3) saturación de la capa acuosa con sal común; 4) centrifugación. El método 3 de saturación con sal tiene una doble ventaja: hace disminuir la solubilidad en agua de la mayor parte de los solutos y de los disolventes orgánicos. Su nombre es **efecto salino**.

**Extracción con ácidos y álcalis.** Con frecuencia se consiguen separaciones muy completas de compuestos orgánicos, utilizando soluciones ácidas o alcalinas capaces de convertir dichas sustancias en sales solubles en agua e insolubles en éter. Por ejemplo, una solución de hidróxido de sodio al 5 – 10 % convierte los ácidos carboxílicos,  $R - COOH$ , en sus sales sódicas  $RCOO^- Na^+$ . Los compuestos fenólicos reaccionan de manera similar con el mismo reactivo. Por esta razón se puede usar una solución de hidróxido de sodio para extraer un ácido carboxílico o un compuesto fenólico de su solución en un disolvente orgánico o liberar estos tipos de compuestos de sus impurezas orgánicas por extracción de sus soluciones alcalinas con un disolvente adecuado.

Las soluciones acuosas de bicarbonato de sodio convierten también los ácidos carboxílicos en sus respectivas sales sódicas pero no son lo suficientemente básicas para formar sales con los compuestos fenólicos. Esta es la base de un método de separación de ácidos carboxílicos y fenoles: el ácido se extrae en primer lugar de su solución en un disolvente orgánico con una solución de bicarbonato de sodio y luego el fenol con solución de sosa.

Los ácidos inorgánicos se eliminan con facilidad de los disolventes orgánicos por extracción con una solución de hidróxido, carbonato o bicarbonato sódicos.

El ácido clorhídrico diluido se emplea con frecuencia para la extracción de sustancias básicas de sus mezclas con otras neutras o ácidas, o bien para eliminar impurezas básicas. El ácido diluido convierte la base, p. ej. amoníaco o una amina orgánica  $(R_3N)^3$  en el clorhidrato correspondiente  $(R_3NH^+ Cl^-)$  soluble en agua. Por otra parte, las impurezas orgánicas que acompañan a una amina pueden eliminarse por extracción de las mismas con un disolvente orgánico de una solución ácida de aquella.

Las sales sódicas de los ácidos carboxílicos y de los fenoles se convierten fácilmente en los compuestos de partida por tratamiento con ácido sulfúrico o fosfórico. Los clorhidratos de las aminas se transforman de nuevo en estas por adición de una solución de hidróxido de sodio (Brewster, 1970).

## 2.5. Técnicas analíticas.

### 2.5.1. Volumetría (Connors, 1975)

#### 2.5.1.1. Titulaciones ácido – base

Curvas de titulación. Una curva de titulación ácido base es una gráfica de pH contra el volumen de titulante agregado durante la titulación. Estas curvas se pueden calcular y pueden determinarse experimentalmente. El cálculo de las curvas de titulación emplea las ecuaciones y los métodos ya descritos dado que en cualquier punto en la titulación la solución muestra se puede describir como una solución de un ácido, una base o una mezcla de los dos.

#### 2.5.1.2. Volumetría experimental

Una titulación ácido – base se lleva a cabo agregando a la solución estándar de una solución de titulante ácido o base, de una bureta a la solución muestra ácido o base que contenga un indicador adecuado. El volumen de titulante requerido para alcanzar el punto final se lee en la escala calibrada de la bureta, en una titulación directa, en una titulación residual, por ejemplo para titular una base volátil, se agrega un volumen de la solución estándar del ácido, en exceso del requerido para la reacción estequiométrica. El exceso de ácido se titula en forma residual con una solución básica estándar.

La exactitud de un análisis volumétrico depende de varios factores:

1. la exactitud con la que se conoce la concentración de la solución de titulante
2. la exactitud en la detección del punto final
3. la medición de volumen de titulante en el punto final
4. los factores relacionados con la preparación de la muestra

La solución titulante normalmente es un ácido o base fuerte, las soluciones de titulante se deben estandarizar. Esto es, se deben analizar exactamente por titulación de una sustancia, estándar primario, cuya pureza se conoce exactamente.

### 2.5.2. Titulaciones de precipitación (Connors, 1975)

Una base en el análisis volumétrico es que debe ocurrir una reacción química en forma cuantitativa, es decir, la formación de productos debe ser completa. Un tipo de reacción que se debe ajustar a este requisito es la combinación de dos especies iónicas para formar una sal insoluble. La precipitación de este producto fuerza a completar la reacción. Las titulaciones basadas en este tipo de reacciones se denominan titulaciones de precipitación. El análisis de cloruro con el ion plata es un ejemplo familiar.

El acercamiento teórico a las titulaciones de precipitación se hace considerando la solubilidad del producto de la reacción se puede advertir que la reacción de titulación es el inverso de la disolución de la sal.

*El proceso de disolución.* El grado al cual se disuelve un compuesto, está especificado por su solubilidad molar de equilibrio, que es la concentración de soluto disuelto en moles por litro, cuando la solución está en equilibrio con un soluto sólido.

La solubilidad de un compuesto depende del disolvente y de la temperatura, que debe especificarse.

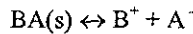
En su estado sólido es soluto es cristalino, esto es, las moléculas del soluto ocupan espacio de acuerdo a un patrón definido repetitivo. La naturaleza de este patrón depende de la estructura del compuesto. Tanto las sustancias iónicas, como cloruro de sodio, y no iónicas, como ácido benzoico, asume formas cristalinas en el estado sólido. La estructura cristalina se forma y mantiene por medio de fuerzas intermoleculares de atracción. Estas pueden ser únicamente fuerzas electrostáticas como en el cristal de una sal o pueden estar involucradas otras de interacciones como enlaces de hidrógeno o interacciones dipolo – dipolo.

Para que un sólido se disuelva se deben romper las fuerzas de atracción que mantienen juntas a las moléculas. Esto lo lleva a cabo el disolvente. La atracción soluto – soluto dentro del cristal se

reemplaza por la atracción disolvente – soluto. La solubilidad molar está determinada por las fuerzas relativas las interacciones disolvente – soluto y soluto – soluto. Debido a esta competencia entre las interacciones disolvente – soluto y soluto – soluto, un disolvente será efectivo en disolver un compuesto solo si puede competir con las fuerzas del cristal. Esto significa que el medio del disolvente debe ser similar al de la estructura del cristal. Así un compuesto iónico puede tener una mayor solubilidad en un disolvente polar, como el agua, que en un disolvente no polar como un hidrocarburo. Esta es la base de la regla: “lo semejante disuelve lo semejante”; esto significa que un disolvente disolverá más fácilmente aquellas sustancias que se asemejen químicamente.

Otro aspecto de este problema es la velocidad de disolución o la velocidad con la que se establecen las condiciones de equilibrio. Esta velocidad depende de muchos factores además de la identidad de los solutos y de los disolventes. Es importante la temperatura, como lo es la velocidad de agitación de la mezcla. Probablemente el factor más importante es el área de superficie de la fase sólida, la velocidad de disolución se incrementa cuando se incrementa el área superficial del sólido.

*El producto de solubilidad.* Considere una solución acuosa de una sal ligeramente soluble BA en equilibrio con exceso del sólido a temperatura constante. El equilibrio se puede representar por

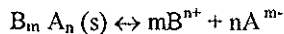


En donde  $BA(s)$  representa la fase sólida. En soluciones acuosas diluidas estará presente esencialmente BA no disociado. Dado que la actividad del sólido es constante, se puede escribir la constante de equilibrio

$$K_{sp} = [B^+][A^-]$$

La  $K_{sp}$  se denomina el producto de solubilidad, también se simboliza como S, que es una constante para una temperatura, disolvente soluto dado.

Para la reacción general



el producto de solubilidad se define

$$K_{sp} = [B^{n+}]^m [A^{m-}]^n$$

El gran valor del producto de solubilidad es que permite el cálculo de la concentración de uno de los iones si se conoce la otra. En la solución pura saturada, la situación es más simple porque la estequiometría de la reacción proporciona una relación entre la concentración de los iones. Así en una solución de la sal BA, se puede escribir  $[B^+] = [A^-]$  porque cada molécula de BA que se disuelve produce un ion de  $B^+$  y un ion de  $A^-$ . Para la reacción general encontramos  $n[B^{n+}] = m[A^{m-}]$ .

Ejemplo. La  $K_{sp}$  para el cloruro de plata en agua es  $1 \times 10^{-10}$ . ¿Cuál es la solubilidad molar del cloruro de plata?

es claro que  $[Ag^+] = [Cl^-]$

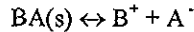
si se considera  $s$  como la solubilidad molar entonces  $s = [Ag^+] = [Cl^-]$ , dado que cada mol de AgCl que se disuelve da un ion plata y un ion cloruro.

por eso  $K_{sp} = [Ag^+][Cl^-] = s^2$  ó  $s = 1 \times 10^{-5} M$

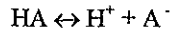
La solubilidad de cualquier sal ligeramente soluble se puede disminuir agregando un exceso de cualquiera de sus iones, este efecto se denomina efecto del ion común. Se puede obtener ventaja de este comportamiento en el análisis gravimétrico agregando un exceso de agente precipitante, la concentración de soluto se puede dirigir debajo del nivel normal de solubilidad.

*Efecto del pH en la solubilidad de las sales.* Si el anión de una sal ligeramente soluble es la base conjugada de un ácido débil, la solubilidad de la sal se verá afectada por el pH del medio. El acetato de

plata es un ejemplo de dicha sal. Es posible relacionar la solubilidad de la sal a la concentración de iones hidrógeno de la solución. Si BA representa la sal ligeramente soluble, en el equilibrio se puede escribir la ecuación



Dado que  $A^-$  es la base conjugada de un ácido débil, debe satisfacer el equilibrio ácido – base, simultáneamente.



La operación de este equilibrio incrementa la solubilidad de BA desplazando la reacción  $BA(s) \leftrightarrow B^+ + A^-$  a la derecha. La solubilidad molar de BA es igual a la concentración de  $B^+$ , que es igual a la concentración total de A, esto es

$$s = [B^+] = [A^-] + [HA] \quad (\text{ec 1})$$

Las expresiones de equilibrio son  $K_{sp} = [B^+][A^-]$  y la  $K_a = [H^+][A^-] / [HA]$  sustituyendo en la ecuación 1 nos da:

$$[B^+] = \frac{K_{sp}}{[B^+]} \left( 1 + \frac{[H^+]}{K_a} \right)$$

ó

$$s = \sqrt{K_{sp} \left( 1 + \frac{[H^+]}{K_a} \right)}$$

(ec 2)

Esta ecuación relaciona la solubilidad molar al  $K_{sp}$ ,  $K_a$  y concentración de ion hidrogeno. Cuando la  $[H^+]$  es mucho menor que  $K_a$  la solubilidad se aproxima a  $\sqrt{K_{sp}}$  que es el valor normal para una sal ligeramente soluble cuyos iones componentes no son ácidos o bases. Conforme aumenta la concentración del ion hidrogeno aumenta la solubilidad. En el caso especial cuando  $[H^+] = K_a$  esto es el pH es igual al  $pK_a$  la ecuación es

$$s = 1.41 K_{sp}^{1/2}$$

Esta ecuación predice que cuando el  $pH = pK_a$ , la solubilidad de BA es 41% mayor que cuando la concentración de ion hidrógeno es despreciable.

Se puede obtener una ecuación similar para una sal cuyo catión es el ácido conjugado de una base débil, por supuesto, la solubilidad se incrementará conforme disminuye la concentración de ion hidrógeno para este tipo de sal.

### 2.5.3. Espectrofotometría ultravioleta y visible (Connors, 1975; Gearien, 1969; Primer, 1996).

#### Introducción

El espectrofotómetro ultravioleta y visible ha sido de uso general durante los últimos 40 años y a lo largo de este período se ha convertido en el instrumento analítico más importante en el laboratorio moderno. En muchas aplicaciones podrían emplearse otras técnicas pero ninguno rivaliza con el espectrofotómetro uv - visible por su simplicidad, versatilidad, velocidad, exactitud y relación costo - efectividad

#### Principios básicos de los espectrofotómetros UV – visible.

La radiación es una forma de energía, que constantemente nos recuerda su presencia por medio del sentido de la vista y la habilidad para sentir el calor radiante. Puede ser considerado como un movimiento ondulatorio en donde la longitud de onda,  $\lambda$ , es la distancia entre dos crestas sucesivas. La frecuencia,  $f$ , es el número de crestas que pasan un punto dado por segundo. Estas condiciones están relacionadas por:

$$c = f \lambda$$

donde  $c$  es la velocidad de la luz en el vacío

El espectro electromagnético de radiación, completo, es continuo y cada región se funde lentamente con la siguiente. Para los propósitos de la espectroscopia, se caracteriza la luz en las regiones ultravioleta y visible en términos de la longitud de onda expresada en nanómetros. Otras unidades que se pueden encontrar son el Angstrom ( $\text{\AA}$ ) y el milimicron (el  $m\mu$ )

$$1 \text{ nm} = 1 \text{ m}\mu = 10\text{\AA} = 10^{-9} \text{ metros}$$

El intervalo de radiación completo se denomina espectro electromagnético y convencionalmente se define de acuerdo a la tabla 2-10

Tabla 2-10 Espectro electromagnético, (Connors, 1975).

longitud de onda	región del espectro
$10^{-12} - 10^{-11}$ cm	rayos cósmicos
$10^{-11} - 10^{-8}$ cm	rayos gama
$10^{-8} - 10^{-6}$ cm	rayos X
$10^{-6} - 10^{-5}$ cm	ultravioleta
$10^{-5} - 10^{-4}$ cm	visible
$10^{-4} - 10^{-2}$ cm	infra rojo
$10^{-2} - 10$ cm	microondas
$10 - 10^8$ cm	radio frecuencia
intervalo de interés	
100 - 200 nm	ultravioleta lejano
200 - 400	ultravioleta
400 - 750	visible
0.75 - 4 $\mu\text{m}$	infra rojo cercano
4 - 25 $\mu\text{m}$	infra rojo

El ojo humano sólo es sensible a una proporción diminuta del espectro electromagnético total entre aproximadamente 380 y 780 nm y dentro de esta área nosotros percibimos los colores del arco iris desde el violeta al rojo. En la figura 2-7 se puede observar la región del espectro visible. Si el espectro electromagnético completo se pudiera dibujar en una escala lineal y se representara la región visible en longitudes de un centímetro, entonces el límite entre las ondas de radio y microondas ¡tendría una distancia de aproximadamente 25 kilómetros!

Además del sol, la fuente disponible de radiación visible con la que estamos familiarizados es la lámpara del tungsteno. Si la corriente proporcionada en el circuito de una lámpara se aumenta gradualmente desde cero, puede sentirse el filamento de la lámpara emitiendo calor moderado al principio, después emite un resplandor rojo y gradualmente se aclara hasta emitir una intensa luz blanca y una considerable cantidad de calor.

La radiación de sólidos calientes normales está compuesta de muchas longitudes de onda y la energía emitida a una longitud de onda particular depende principalmente de la temperatura del sólido y es predecible a partir de la teoría de probabilidad. Tal radiación se conoce como "la radiación del cuerpo negro". Recientemente se ha vuelto una práctica común usar una variante de este cuerpo - la lámpara de tungsteno halógeno. La envoltura de cuarzo transmite bien la radiación en la región de UV. Para la región UV la fuente más común es la lámpara de deuterio, un espectrómetro UV - visible normalmente debe contar con ambos tipos de lámparas.

### La Teoría Cuántica.

Para obtener una comprensión de los orígenes de la espectrometría práctica de absorción, es necesaria una corta explicación sobre la teoría cuántica. Para este propósito, es mejor pensar en la radiación como una corriente de partículas conocido como fotones en lugar de las ondas consideradas previamente. Los átomos y moléculas existen en un número de estados definidos de energía o niveles, un cambio de nivel requiere la absorción o emisión de un número entero de una unidad de energía llamada cuanto (cuántum), o en nuestro contexto, fotón.

La energía de un fotón absorbida o emitida durante una transición de un nivel de energía molecular a otro está dado por la ecuación

$$E = hu$$

donde  $h$ , se conoce como la constante de Planck y  $u$ , es la frecuencia del fotón

Como ya hemos visto

$$c = f \lambda$$

por consiguiente

$$E = hc / \lambda$$

Así, mientras la longitud de onda es más corta la energía del fotón es mayor y viceversa. Una molécula de cualquier sustancia tiene una energía interior que puede ser considerada como la suma de la energía de sus electrones, la energía de vibración entre sus átomos constitutivos y la energía asociada con la rotación de la molécula.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Los niveles de energía electrónica de moléculas simples están muy separados y normalmente sólo la absorción de un fotón de alta energía, de una longitud de onda muy corta, puede excitar una molécula de un nivel a otro

En las moléculas complejas los niveles de energía están más cercanos y los fotones del cercano ultravioleta y luz visible pueden efectuar la transición. Por consiguiente, estas sustancias absorberán luz en algunas áreas de las regiones ultravioleta cercano y visible

Los estados vibracionales de energía de las varias partes de una molécula están más cercanos que los niveles de energía electrónica y así los protones de baja energía (longitud de onda más larga) es suficiente para provocar cambios vibracionales. La absorción de la luz debida sólo a cambios vibracionales ocurre en la región infrarroja. Los estados de energía rotacional de las moléculas están tan cercanos que la luz en el infrarrojo lejano y regiones de microonda del espectro electromagnético tienen suficiente energía para provocar esos pequeños cambios.

De esta discusión se podría esperar que el espectro de absorción de una molécula en las longitudes de onda ultravioleta y visible, (una gráfica de su grado de absorción contra la longitud de onda de la radiación incidente) debe mostrar unas líneas muy afiladas. Cada línea debe ocurrir a una longitud de onda en donde la energía de un fotón incidente concuerda exactamente con la energía requerida para excitar una transición electrónica.

En la práctica se encuentra que el espectro ultravioleta y visible de la mayoría de las moléculas consiste en curvas más bien que líneas afiladas. Estas curvas muestran que la molécula está absorbiendo radiación sobre una banda de longitudes de onda. Una razón para esta banda, en lugar de líneas de absorción es que una transición electrónica de nivel, normalmente se acompaña por un cambio simultáneo en los niveles vibracionales, que son más numerosos. Así, un fotón con muy poca o demasiada energía para ser aceptado por la molécula para una transición electrónica pura, puede utilizarse para una transición de los niveles vibracionales asociado con el estado electrónico bajo a uno de los niveles vibracionales de un estado electrónico más alto.

Si la diferencia en la energía electrónica es 'E' y la diferencia en la energía vibracional es 'e', entonces se absorberán los fotones con energías de E, E+e, E+2e, E-e, E-2e, etc ,

Además, cada uno de los niveles vibracionales asociados con los estados electrónicos también tiene un gran número de niveles rotacionales asociados. Así, una transición puede consistir en un gran componente electrónico, un pequeño elemento vibracional y un cambio rotacional, aun más pequeño. La contribución rotacional a la transición tiene el efecto de rellenar los huecos en la estructura vibracional fina.

Además, cuando las moléculas están apretadas como cuando están en solución, ellas ejercen influencia sobre cada una de las otras lo cual perturba ligeramente los ya numerosos y casi infinitos niveles de energía y borra las líneas espectrales afiladas en bandas. Estos efectos pueden verse en los espectros de benceno como vapor y en solución. En el vapor, las transiciones entre los niveles vibracionales son visibles como bandas sobrepuestas en las bandas principales de transición electrónica.

En la solución se mezclan, a alta presión o temperatura aun las bandas electrónicas pueden borrarse para producir una sola banda ancha.

## **Los orígenes químicos de la absorción ultravioleta y visible**

### **Orígenes químicos generales**

Cuando cae luz blanca sobre una muestra, la luz puede ser totalmente reflejada, en tal caso la sustancia parece blanca o la luz puede ser totalmente absorbida, en tal caso la sustancia aparecerá



negra. Si, sin embargo, sólo se absorbe una porción de la luz y se refleja el balance, el color de la muestra estará determinado por la luz reflejada. Así, si se absorbe el violeta, la muestra parece verde - amarilla y si se absorbe el amarillo, la muestra parece azul. Los colores se describen como complementarios. Sin embargo, muchas sustancias que aparecen incoloras tienen espectro de absorción. En este caso, la absorción tendrá lugar en el infrarrojo o ultravioleta y no en la región visible.

La tabla 2-11, ilustra la relación entre la absorción de la luz y color.

Tabla 2-11 Relación entre la absorción de la luz y color. (Primer, 1996)

longitud de onda (nm)	Color absorbido	Color observado
650-780	rojo	verde - azul
595-650	naranja	azul - verde
560-595	verde - amarillo	violeta
500-560	verde	rojo - púrpura
490-500	verde - azul	rojo
480-490	azul - verde	naranja
435-480	azul	amarillo
380-435	violeta	verde - amarillo

Existe una relación íntima entre el color de una sustancia y su estructura electrónica. Una molécula o ion exhibirán absorción en la región visible o ultravioleta cuando la radiación causa una transición electrónica dentro de su estructura. Así, la absorción de luz por una muestra en la región ultravioleta o visible se acompaña de un cambio en el estado electrónico de las moléculas en la muestra. La energía proporcionada por la luz promoverá los electrones de sus orbitales en su estado basal a orbitales de energía más alta, excitados o antienlace.

Potencialmente, pueden estar involucrados tres tipos de orbitales del estado basal:

- i) sigma orbital molecular (enlace)
- ii) pi orbital molecular (enlace)
- iii) n orbital atómico (no - enlace)

Además, dos tipos de orbitales de antienlace pueden estar involucrados en la transición:

- i) o\* (sigma asterisco) orbital
- ii) p\* (pi asterisco) orbital

(No existe, n\* orbital antienlace ya que los electrones n no forman enlace)

Una transición en la cual un electrón de enlace s se excita a un orbital antienlace s se denomina como una transición s a s\*. De la misma manera p a p\* representa la transición de un electrón de un solo par (electrón par antienlace) a un orbital p antienlace.

Las siguientes transiciones electrónicas pueden ocurrir por absorción de luz ultravioleta y visible:

- sigma a o\*
- n a o\*
- n a p\*
- pi a p\*

Tanto las transiciones  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  como  $n \rightarrow \sigma^*$  requieren gran cantidad de energía y por consiguiente ocurren en la región ultravioleta lejana o ligeramente en la región de 180-240 nm. Por consiguiente, los grupos saturados no muestran fuerte absorción en la región ultravioleta ordinaria. Las transiciones del tipo  $n \rightarrow p^*$  y  $\pi \rightarrow p^*$  ocurren en moléculas con centros insaturados; ellos requieren menor energía y ocurren a longitudes de onda más largas que las transiciones a orbitales de antienlace  $\sigma^*$ .

La longitud de onda de máxima absorción y la intensidad de la absorción están determinadas por la estructura molecular. Las transiciones a orbitales de antienlace  $p^*$  que ocurren en la región ultravioleta para una molécula particular pueden tener lugar en la región visible si se modifica la estructura molecular.

Muchos compuestos inorgánicos en solución también muestran absorción en la región visible. Estos incluyen sales de elementos con capas electrónicas internas incompletas (principalmente metales de transición) cuyos iones son acomplejados por hidratación por ejemplo  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$ . Tales absorciones se levantan de un proceso de traslado de carga donde se mueven los electrones de una parte del sistema a otro por la energía proporcionada por la luz visible.

### **Correlación de la estructura molecular y la conjugación de espectros.**

Las transiciones  $\pi \rightarrow p^*$ , al ocurrir en grupos aislados en una molécula, da lugar a absorciones de intensidad bastante baja. Sin embargo, la conjugación de grupos insaturados en una molécula produce un efecto notable en el espectro de absorción. La longitud de onda de máxima absorción se mueve a una longitud de onda más larga y la intensidad de absorción puede aumentar.

El mismo efecto ocurre cuando se conjugan grupos que contienen electrones  $n$  con un grupo de electrón  $\pi$ .

En general, mientras mayor sea la longitud de un sistema conjugado en una molécula, el máximo de la longitud de onda se acerca más a la región visible.

Así, la energía característica de una transición y de la longitud de onda de absorción es una propiedad de un grupo de átomos más bien que de los propios electrones. Cuando tal absorción ocurre, dos tipos de grupo pueden influir en el espectro de absorción resultante de la molécula: los cromóforos y auxocromos.

### **Cromóforos**

Un grupo cromóforo (literalmente productor de color) es un grupo funcional, no conjugado con otro grupo que muestra un espectro de absorción característico en la región ultravioleta o visible. Algunos de los grupos cromofóricos más importantes son: nitro, nitroso, azo, azoamino, azoxi, carbonilo y tiocarbonilo.

Si se conjuga cualquiera de los cromóforos simples con otro (del mismo tipo o tipo diferente) se forma un cromóforo múltiple que tiene una nueva banda de absorción que es más intensa y a una longitud de onda más larga que las bandas fuertes del cromóforo simple.

Este desplazamiento de un máximo de absorción hacia una longitud de onda más larga (es decir del azul al rojo) se denomina como cambio batocrómico. El desplazamiento de un máximo de absorción del rojo al ultravioleta se denomina cambio hipsocromico.

### **Auxocromos**

El color de una molécula puede ser intensificado por los grupos llamados auxocromos que generalmente no absorben significativamente en la región de 200-800 nm, pero afectará el espectro del cromóforo al que está unido. Los grupos auxocromicos más importantes son hidroxilo, amino, metilo y nitro y sus propiedades son ácidas (fenol) o básicas.

El efecto de un auxocromo sobre un cromóforo depende de la polaridad del auxocromo, por ejemplo, los grupos como el metilo, etilo, y cloro tienen poco efecto, normalmente un pequeño cambio rojo de 5-10 nm. Otros grupos como amino y nitro son muy populares y alteran completamente los espectros de cromóforos como el benceno.

En general, es posible predecir el efecto de auxocromos no - polares o ligeramente polares, pero el efecto de auxocromos fuertemente polares es difícil de predecir. Además, la disponibilidad de electrones de no enlace, que también pueden entrar en las transiciones, contribuye grandemente al efecto de un auxocromo.

#### **Efecto estérico.**

El impedimento estérico también afectará la influencia de un auxocromo sobre un cromóforo. Los sistemas electrónicos conjugan mejor cuando la configuración de la molécula es planar. Si la presencia de un auxocromo impide a la molécula ser planar, entonces se notarán grandes efectos en el espectro. Por ejemplo, los grupos metilo *m*- y *p*- tienen efectos ligeros pero predecibles en el espectro del difenilo comparado con el difenilo mismo. Sin embargo, el grupo metilo en la posición *o*- altera completamente el espectro.

Los isómeros *cis* y *trans* de polienos lineales también muestran las diferencias en sus espectros. Todo el isómero *trans* tiene el sistema conjugado más largo (el máximo está en una longitud de onda más larga y  $E_{max}$  (coeficiente de extinción molar, absorptividad molar) es más alto que para todo el isómero *cis* mixto).

#### **Los espectros visibles**

En general un compuesto absorberá en la región visible si contiene al menos cinco grupos cromofóricos y auxocromicos conjugados. Por ejemplo, el azul de metileno tiene un máximo a la longitud de onda de 660 nm.

La capacidad de acomplejar muchos metales, particularmente elementos de transición, con moléculas orgánicas e inorgánicas complejas que absorben en la región visible proporcionan la base para su análisis espectrométrico cuantitativo. Las absorciones se deben al movimiento de electrones entre los niveles de energía del complejo órgano - metálico.

Estos sistemas acomplejantes se denominan reactivos espectrométricos. Los más comunes son ditionona, azo reactivos, ditio-carbamato, 8-hydroxyquinolina, formaldoxima y tiocianato. Además, muchos iones inorgánicos en solución también absorben en la región visible por ejemplo las sales de Ni, Co, Cu, V etc y particularmente los elementos con capas electrónicas internas incompletas, cuyos iones se acomplejan por hidratación por ejemplo  $[Cu(H_2O)_4]^{2+}$ . Tales absorciones se elevan por un proceso de traslado de carga, donde los electrones se mueven de una parte del sistema a otro debido a la energía proporcionada por la luz visible.

#### **Disolventes**

El efecto en el espectro de absorción de un compuesto cuando se diluye en un disolvente variará, dependiendo de la estructura química involucrada. Generalmente hablando, los disolventes no - polares y las moléculas no - polares muestran poco efecto. Sin embargo, las moléculas polares muestran dramáticas diferencias cuando interactúan con un disolvente polar. La interacción entre soluto y disolvente lleva a un ensanchamiento de la banda de absorción y consecuentemente una reducción en la resolución estructural y  $E_{max}$ . Las formas iónicas se pueden crear en condiciones ácidas o básicas. Así que debe tenerse cuidado para evitar una interacción entre el soluto y el disolvente.

Los disolventes de pureza espectroscópica, disponibles comercialmente se listan en la tabla 2-12, se incluyen las longitudes de onda de cut-off, basado en una trayectoria de 10 mm Normalmente se usan agua y soluciones 0.1N de ácido clorhídrico e hidróxido de sodio como disolventes para la espectrometría de absorción Debe tenerse cuidado para evitar interacción En donde la metodología requiera soluciones amortiguadoras estas tienen que ser no – absorbentes y debe especificarse la composición y el pH Sin embargo, si no se dispone de esta información, en la literatura se puede encontrar Para las reacciones en la región de pH 4.2 a 8.8, se pueden usar mezclas de 0.1N fosfato monobásico de sodio  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  y 0.1N fosfato dibásico de sodio  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$

Tabla 2-12 Disolventes usados y su longitud de onda de cut-off (Snyder, 1979).

Disolvente	Cut-off (nm)
iso-octano	197
alcohol etílico	210
ciclohexano	200
acetona	330
benceno	280
tetracloruro de carbono	265
cloroformo	245
eter etílico	218
alcohol isopropílico	205
alcohol metílico	205

### La interacción de materia y luz.

Cuando un haz de radiación incide sobre cualquier objeto esta puede absorberse, transmitirse, dispersarse, reflejarse o puede excitar fluorescencia Por dispersión se puede considerar que la radiación es primero absorbida y casi instantáneamente completamente re-emitida uniformemente en todas direcciones, pero inalterada Con la fluorescencia primero se absorbe un fotón y excita la molécula a un estado de energía más alto, pero la molécula regresa a un nivel intermedio de energía re-emitiendo un fotón Dado que algo de la energía del fotón incidente se retiene en la molécula (o se pierde por un proceso no radiante como una colisión con otra molécula) el fotón emitido tiene menos energía y de una longitud de onda más larga que el fotón absorbido Al igual que la dispersión, la radiación fluorescente también se emite uniformemente en todas direcciones

Los procesos involucrados en la espectrometría de absorción son la absorción y la transmisión Normalmente se seleccionan las condiciones bajo las cuales se examina la muestra para mantener la reflexión, dispersión y fluorescencia en un mínimo En las regiones ultravioleta y visible del espectro electromagnético, las bandas observadas no son específicas como para permitir una identificación positiva de una muestra desconocida, aunque estos datos se pueden usar para confirmar su naturaleza a partir de su espectro infrarrojo o por otras técnicas La espectrometría ultravioleta y visible se usa casi completamente para análisis cuantitativo, es decir, estimar la cantidad de un compuesto que se sabe, esta presente en la muestra La muestra normalmente se analiza en solución

### La Ley de Lambert

La Ley de Lambert establece que cada capa de igual espesor de un medio absorbente, absorbe una fracción igual de la energía radiante que lo atraviesa

El fragmento de energía radiante transmitido por un espesor dado del medio absorbente es independiente de la intensidad de la radiación incidente, tal que la radiación no altere el estado físico o químico del medio.

Si la intensidad de la radiación incidente es  $I_0$  y la luz transmitida es  $I$ , entonces la fracción transmitida es:

$$I/I_0 = T$$

El porcentaje de transmisión es

$$\% T = I/I_0 \times 100$$

Si se colocan en paralelo una serie de placas de vidrio coloreado de igual espesor, cada hoja de las cuales absorbe un cuarto de la luz incidente, entonces la cantidad de la radiación original que pasa por la primera hoja es:

$$(1 - 1/4)/1 \times 100 = 75\%$$

y por la segunda hoja es 56.25%, es decir 75% de 75%, y por la tercera hoja es 42.19%, es decir 75% de 56.25%, y por la enésima hoja es  $(0.75)^n \times 100\%$

Ahora imagine un recipiente con paredes de vidrio paralelas con una separación de 10 mm llenó de una solución absorbente. Si la luz monocroma es incidente en una cara y 75% de la luz se transmite, la Ley de Lambert establece que si coloca una celda similar al lado de la primera la luz transmitida se reducirá a 56.25%.

Si se evapora el contenido de los dos recipientes a la mitad de su volumen, por ende, aumentando su concentración, y midiendo en un solo recipiente, se encontrará que la transmisión se reducirá de nuevo a 56.25%.

Puede verse inmediatamente que, para determinar la concentración de una muestra desconocida el porcentaje de transmitancia de una serie de soluciones de concentración conocida o estándares pueda graficarse y la concentración o la lectura desconocida pueda leerse del gráfico. Se encontrará que el gráfico es una función exponencial que no es conveniente para la interpolación.

#### **Ley de Lambert - Beer**

La Ley de Lambert - Beer establece que la concentración de una sustancia en solución es directamente proporcional a la Absorbancia  $A$ , de la solución

$$\text{Absorbancia (A)} = \text{constante} \times \text{concentración} \times \text{longitud de la celda}$$

La ley se cumple solo para luz monocroma que es luz de una sola longitud de onda o banda de longitud de onda angosta y el estado físico o químico de la sustancia no cambia con la concentración.

Cuando la radiación monocroma atraviesa una solución homogénea en una celda, la intensidad de la radiación emitida depende del espesor ( $l$ ) y la concentración ( $c$ ) de la solución.

$I_0$  es que la intensidad de la radiación incidente e  $I$  es la intensidad de la radiación transmitida. La relación  $I/I_0$  se denomina la transmitancia. Esta se expresa en porcentaje y se denomina % de transmitancia.

Matemáticamente, la absorbancia se relaciona al porcentaje de transmitancia  $T$  mediante la expresión:

$$A = \log(I_0/I) = \log(100/T) = kcL$$

donde  $L$  es la longitud de la trayectoria de la radiación a través de la muestra,  $c$  es la concentración de moléculas absorbentes en la trayectoria, y  $k$  es el coeficiente de la extinción - que es una constante que depende sólo de la naturaleza de la molécula y la longitud de onda de la radiación

Ahora, en el ejemplo anterior, la transmitancia de nuestra muestra cayó de 75 a 56.25% cuando la concentración aumentaba al doble. ¿Qué pasa con la absorbancia en la misma circunstancia?

$$A = \log(100/I) = \log 100 - \log I = 2 - \log I$$

$$\text{Cuando } I = 75\% \quad A = 2 - 1.875 = 0.125$$

$$\text{Cuando } I = 56.25\% \quad A = 2 - 1.750 = 0.250$$

Se puede observar que cuando se duplica la absorbancia debido al doble de la concentración, es más conveniente trabajar con absorbancia que con transmitancia para propósitos de análisis cuantitativo. Es útil recordar que:

$$0\% I = \text{infinito } A$$

$$0.1\% I = 3.0 A$$

$$1.0\% I = 2.0 A$$

$$10\% I = 1.0 A$$

$$100\% I = 0.0 A$$

En la literatura más antigua la absorbancia, a veces se denomina, extinción o densidad óptica (OD)

Si, en la expresión  $A = kcl$ ,  $c$  se expresa en mol/l y  $l$  en m, entonces  $k$  se reemplaza por el símbolo  $\epsilon$  y se denomina coeficiente de absorción molar.

Alternativamente, si la masa molecular relativa (peso molecular) de la sustancia es desconocido, entonces se prepara una solución 1% w/v y se mide la absorbancia en una celda de 1 centímetro

A veces,  $c$  se expresa en g/l y  $l$  en cm. En este caso,  $k$  se reemplaza por  $A$  (a veces  $E$ ).  $A$  se conoce como el coeficiente de absorción específica

### **Aplicaciones de la Espectrometría uv - visible**

#### **Aplicaciones generales**

Habiendo examinado brevemente, a la teoría y orígenes de la espectroscopía uv-visible, ahora investigaremos cómo podemos aplicar la técnica al análisis químico iniciando por considerar el estado de la muestra

Una muestra sólida, el material, se encuentra en una condición inadecuada para la espectrometría directa. El índice de refracción del material es alto y una gran proporción de la radiación puede perderse por reflexión aleatoria o refracción en la superficie o en la masa. A menos que la muestra pueda laminarse y pulirse homogéneamente, comúnmente se elimina esta interfaz disolviendo en un disolvente transparente

Los líquidos se pueden contener en vaso hecho de material transparente como sílice, vidrio o plástico, conocido como celda o cubeta. Las caras de esta celda a través de las cuales pasará la radiación son altamente pulidos para mantener la reflexión y reducir la pérdida por dispersión a un mínimo. Los gases pueden contenerse en celdas similares que se sellan o se tapan para sellar el gas. Con la muestra lista para la medición, puede establecerse la  $I_0$  (intensidad incidente) moviendo la muestra fuera del haz y permitiendo que la luz incida directamente en el detector. En la instrumentación moderna, el  $I_0$  puede ponerse con un comando autocero. En la práctica, este método no afecta la proporción de

radiación que se refleja o dispersa a las caras de la celda. Tampoco afecta a la radiación que es absorbida por algún disolvente y no atraviesa efectivamente la muestra. Por consiguiente, se emplea una referencia o celda blanco, idéntica al conteniendo de la muestra, pero llenada únicamente de disolvente, para medir la luz transmitida por esta referencia como lo practica o verdadera.

Habiendo establecido la  $I_0$  o posición de referencia, el procedimiento adoptado para el análisis dependerá de la información analítica requerida. En general, hay dos técnicas de medición; cuánto analito hay en la muestra (análisis cuantitativo) y qué analito está en la muestra (análisis cualitativo). En la figura 2-6, se puede observar el diagrama de un espectrofotómetro sencillo

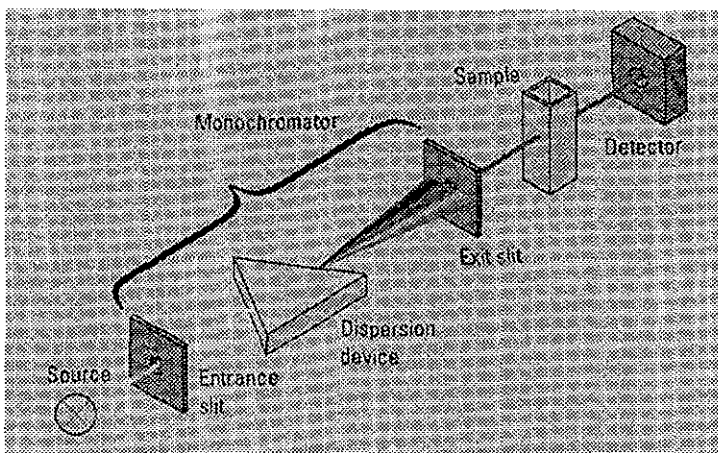


Figura 2-6. Diagrama de un espectrofotómetro

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

### Análisis cuantitativo

Para el análisis cuantitativo, normalmente se usa radiación de una longitud de onda en la cual  $k$ , el coeficiente de extinción, está en un máximo, es decir en el pico de la banda de absorción, por las siguientes razones:

- El cambio en la absorbancia para un cambio dado de concentración es mayor, proporcionando mayor sensibilidad y exactitud en la medición
- El efecto relativo de otras sustancias o impurezas es más pequeño
- La proporción de cambio de absorbancia con la longitud de onda es más pequeña, y la medición no es afectada severamente por los errores pequeños en el ajuste de la longitud de onda.

El coeficiente de extinción debe tener unidades que relacionen a las unidades empleadas para la concentración y longitud de la trayectoria de la muestra

Normalmente se escribe como:

$E_{1\%}^{1\text{cm}}$  el valor de  $k$  para una concentración de la muestra de 1% y 1 centímetro de espesor ó  $E$  la absorbancia molar, descrita previamente como el coeficiente de extinción molar; el valor de  $k$  para una concentración de la muestra de 1 gramo molécula por litro y un 1 centímetro de espesor

Para llevar a cabo un análisis de un material conocido es posible en teoría medir la absorción de una muestra a su máximo de absorción, medir el espesor, obtener valores de  $e$  de tablas y calcular la concentración. En la práctica, los valores de  $E$  dependen de las características instrumentales, por lo que los valores publicados en las tablas no son bastante exactos, el analista confiable graficará los valores de absorbancia de una serie de estándares de concentración conocida; entonces pueden leerse directamente las concentraciones de muestras reales del gráfico de calibración. Si la curva de calibración es no lineal debido a consideraciones instrumentales o químicas, algunos instrumentos construirán automáticamente el mejor ajuste para la calibración cuando se leyeron varios estándares.

### **Mediciones de velocidad.**

Los estudios de velocidad involucran la medición del cambio en la concentración de un participante en la reacción como una función del tiempo. Anteriormente hemos considerado la medición de una muestra cuyas características de absorción son constantes, las mediciones espectrométricas de velocidad involucran la medición de una caída o una elevación en la absorción a una longitud de onda fija. Esta medida proporciona información sobre el cambio en la concentración de los reactivos o de los productos. Una aplicación espectrométrica en cuanto a velocidad es en el estudio de enzimas (proteínas que están presentes en el tejido viviente). No pueden medirse las enzimas directamente pero sus propiedades catalizadoras permiten su estimación de la velocidad de las reacciones que catalizan. Las enzimas tienen muchos usos como reactivos o como etiquetas que pueden pegarse a otras moléculas para permitir su detección y medición indirecta. Sin embargo, su uso más amplio está en el campo de diagnósticos clínicos como indicador de daño del tejido. Cuando las células son dañadas por enfermedad, las enzimas gotean en el torrente sanguíneo y la cantidad presente indica la severidad del daño del tejido. Pueden usarse las proporciones relativas de enzimas diferentes para diagnosticar la enfermedad, ya sea de hígado, páncreas u otros órganos que por otra parte muestran síntomas similares. La reacción más empleada en estos ensayos clínicos es la reducción de dinucleótido de adenina de nicotinamida (NAD) a  $\text{NADH}_2$  el cual puede observarse a 340 nm.

Se pueden observar otras reacciones acoplándolas para que el producto de una reacción alimente a la siguiente la cual pueda ser ópticamente observada.

Una variedad de parámetros influirá en la velocidad de reacción. En la química tienen que ser considerados la mayoría, por ejemplo: concentración del sustrato, concentración de la enzima y pH. Sin embargo, uno de los más importantes es la temperatura y es importante controlar la temperatura de la muestra y reactivos precisamente antes y durante la medición. Actualmente es posible contar con sistemas de control de temperatura con termostato en el soporte de la celda.

### **Reacción química**

Un método común de análisis es cambiar el componente requerido agregando un reactivo químico que reacciona específicamente con él para formar un compuesto muy absorbente. Una cantidad del reactivo agregada a una mezcla sólo reacciona con un componente y aumenta su absorción y cambia la longitud de onda del máximo de absorción para que no haya ninguna interferencia entre los componentes. El análisis se reduce a un caso simple y su sensibilidad se mejora. Muchos centenares de estos reactivos específicos están disponibles para muchas clases de análisis y matrices de la muestra y se detallan ampliamente en la literatura.



## 2.6. Diseño factorial (Montgomery, 1984)

En el campo de la investigación científica así como en el de la ingeniería, los investigadores llevan a cabo experimentos para estudiar, descubrir algo acerca de un proceso en particular ó comparar el efecto de varios factores sobre algún fenómeno. Un experimento es una prueba o una serie de pruebas cuyo objetivo puede ser el de confirmar ó explorar, es decir estudiar el efecto de nuevas condiciones sobre el sistema. El Diseño de Experimentos es el proceso de planear el experimento de tal manera que se obtengan los datos apropiados, los cuales serán analizados por métodos estadísticos dando como resultado una conclusión objetiva y válida. Esta conclusión puede ser aplicable a diferentes áreas, por ejemplo en el terreno académico se plantea el contraste de teorías, mientras que en el campo industrial se intenta identificar factores críticos para mantener un proceso en control (Rodríguez, 1999).

En muchos experimentos se desea estudiar los efectos de 2 ó más factores. El diseño factorial ha demostrado ser una metodología muy poderosa para resolver problemas con causas multifactoriales como las que se pueden encontrar en ambientes industriales. Un diseño factorial significa que en cada prueba completa ó réplica del experimento, se investigan todas las posibles combinaciones de los niveles de los factores, por ejemplo, si hay *a* niveles del factor **A** y *b* niveles del factor **B**, entonces cada réplica contiene todos los tratamientos de la combinación *ab*.

Cuando los factores se arreglan en un diseño factorial se dice que están cruzados.

El efecto de un factor se define como el cambio en la respuesta producido por un cambio en el nivel del factor. Esto se denomina *efecto principal*, porque se refiere a los factores primarios de interés en el experimento. Por ejemplo considere los datos de la tabla 2-13:

Tabla 2-13 Diseño factorial

		Factor B	
		B1	B2
Factor A	A1	20	30
	A2	40	52

El efecto principal del factor A es la diferencia entre la respuesta promedio en el primer nivel de A y la respuesta promedio en el segundo nivel de A. Numéricamente, esto es:

$$A = \frac{40 + 52}{2} - \frac{20 + 30}{2} = 21$$

Esto es incrementando el factor A desde el nivel 1 al nivel 2 provoca un incremento en la respuesta promedio de 21 unidades. En forma similar el efecto principal de B es

$$B = \frac{30 + 52}{2} - \frac{20 + 40}{2} = 11$$

En algunos experimentos se puede encontrar que la diferencia en la respuesta entre los niveles de un factor no es la misma a todos los niveles de los otros factores, cuando esto ocurre, hay una interacción entre los factores. Por ejemplo considere los datos de la Tabla 2-14.

Tabla 2-14. Diseño factorial Interacción.

		Factor B	
		B1	B2
Factor A	A1	20	40
	A2	50	12

En el primer nivel del factor B el efecto de A es

$$A = 50 - 20 = 30$$

Y al segundo nivel del factor B el efecto de A es:

$$A = 12 - 40 = - 28$$

Dado que el efecto de A depende del nivel seleccionado de B, vemos que hay una interacción entre A y B Ilustrando gráficamente en la figura 2-7.

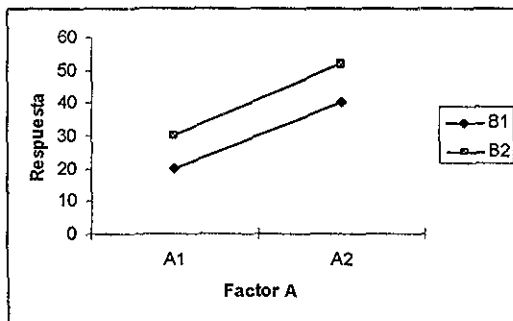


Figura 2-7. Experimento factorial sin interacción

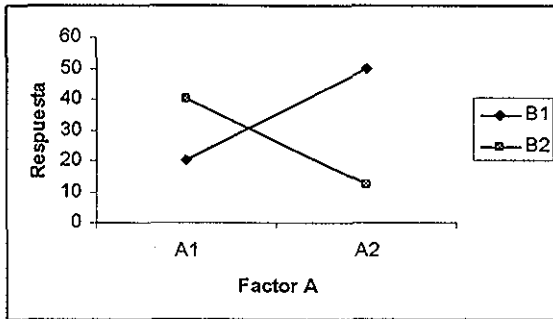


Figura 2 - 8. Experimento factorial con interacción

La figura 2-7 es la gráfica de la respuesta contra el factor A para ambos niveles del factor B, de los datos de la tabla 2-13. Note que las líneas de B1 y B2 son aproximadamente paralelas indicando que no hay interacción entre los factores A y B. En forma similar la figura 2-8 es la gráfica de la respuesta de los datos de la tabla 2-14. Aquí vemos que las líneas B1 y B2 no son paralelas. Esto indica una interacción entre los factores A y B. Estas gráficas son muy útiles en la interpretación de las interacciones significativas y en el reporte de resultados a personas que no tienen conocimientos de estadística. Sin embargo no se debe utilizar como la única técnica de análisis de datos ya que su interpretación es subjetiva.

Cuando una interacción es muy grande, los efectos principales correspondientes tienen poco significado práctico. Para los datos de la tabla 2-14, el efecto principal de A es:

$$A = \frac{50 + 12}{2} - \frac{20 + 40}{2} = 1$$

Que es muy pequeño por lo cual podríamos concluir que no hay efecto debido a A. Sin embargo cuando examinamos los efectos de A, a diferentes niveles de B vemos que no es el caso. El factor A tiene un efecto pero depende del nivel del factor B. Esto significa que el conocimiento de la interacción AB es más útil que conocer el efecto principal de A. Una interacción significativa puede enmascarar la significancia de los efectos principales.

**La ventaja del diseño factorial.**

La ventaja del diseño factorial se puede ilustrar fácilmente. Suponga que tenemos dos factores A y B cada uno a dos niveles. Denote los niveles de los factores como A1, A2, B1 y B2. La información de ambos factores se puede obtener variando los factores uno a la vez como se muestra en la Tabla 2-15

Tabla 2-15. Ventajas del diseño factorial

		Factor B	
		B1	B2
Factor A	A1	A1B1	A1B2
	A2	A2B1	

El efecto del factor cambiante A esta dado por  $A2B1 - A1B1$ . Dado que el error experimental esta presente, es deseable tomar dos observaciones a cada combinación de tratamientos y estimar los efectos de los factores con las respuestas promedio. Así que se requiere un total de seis observaciones.

Si se hubiera realizado un experimento factorial se habría tomado una combinación de tratamiento adicional la A2B2. Ahora usando solo cuatro observaciones, se pueden hacer dos estimados del efecto de A;  $A2B1 - A1B1$  y  $A2B2 - A1B2$ . De manera similar se pueden hacer dos estimados del efecto de B. Estos dos estimados de cada efecto principal se pueden promediar para obtener los efectos principales promedio que son tan precisos como los de un experimento para un solo factor, pero solo se requieren cuatro observaciones.

Ahora suponga que hay interacción. Si el diseño de un factor a la vez indica que A1B2 y A2B1 dan mejor respuesta que A1B1, una conclusión lógica sería que A2B2 es aun mejor. Sin embargo, si hay interacción esto sería un error.

En resumen el diseño factorial tiene varias ventajas.

- Son mas eficientes que los diseños de un factor a la vez.
- Se requiere un diseño factorial cuando puede haber interacciones, para evitar conclusiones equivocadas.
- El diseño factorial permite estimar los efectos de un factor a varios niveles de otros factores, proporcionando conclusiones que son validas en el rango de las condiciones experimentales (Montgomery, 1984)

2 6 1. Algoritmo de Yates (Montgomery, 1984)

Considerando tres factores A, B, C, cada uno a dos niveles, el diseño se denomina **factorial 2<sup>3</sup>** las combinaciones de los ocho tratamientos se pueden desplegar como un cubo como en la figura 2-9, el vértice (1) representa a los tres factores en su nivel bajo.

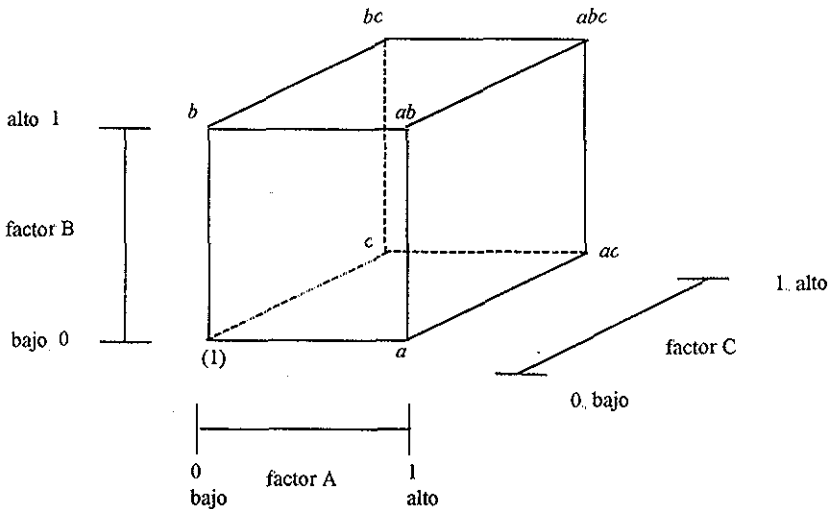


Figura 2-9 Diseño factorial 2<sup>3</sup> representación gráfica

Los siete grados de libertad entre las ocho combinaciones de tratamientos están asociados con los efectos principales de A, B, y C, las interacciones dobles AB, AC y BC; y la interacción triple ABC. Para calcular los contrastes, se puede desarrollar una tabla de signos mas y menos, en donde el nivel alto se codifica como +, y el nivel bajo como -; como se muestra en la tabla 2-16.

Tabla 2-16 Matriz de diseño factorial 2<sup>3</sup>.

tratamiento	A	B	C	AB	AC	BC	ABC
1	-	-	-	+	+	+	-
2	+	-	-	-	-	+	+
3	-	+	-	-	+	-	+
4	+	+	-	+	-	-	-
5	-	-	+	+	-	-	+
6	+	-	+	-	+	-	-
7	-	+	+	-	-	+	-
8	+	+	+	+	+	+	+

Los signos para los efectos principales se determinan asociando un signo mas con el nivel alto y un signo menos con el nivel bajo. Una vez que se establecen los signos para los efectos principales las columnas restantes se pueden obtener multiplicando la columna precedente, apropiada, renglón por renglón. Por ejemplo los signos en la columna AB son el producto de las columnas A y B en cada renglón.

El contraste para cualquier efecto se puede obtener fácilmente a partir de la tabla 2-16. El contraste  $C_i$ , es la diferencia entre la suma de las respuestas de las réplicas del nivel alto menos la suma de las respuestas de las réplicas del nivel bajo del factor<sub>i</sub>.

Utilizando los contrastes se realiza el cálculo del efecto de cada factor mediante:

$$\text{efecto de factor} = \frac{\text{contraste}}{r 2^{k-1}}$$

r = número de réplicas, en este caso

k = número de factores

#### Ecuación de regresión.

Los coeficientes de la ecuación de regresión se obtienen como,

$$\text{coeficiente} = \frac{\text{efecto}}{2}$$

El término independiente de la ecuación de regresión es el promedio de los resultados de las réplicas

#### Análisis del modelo.

Para el cálculo del análisis de varianza consideramos las hipótesis como se presentan en la tabla 2-17

Tabla 2-17. Hipótesis análisis de varianza diseño factorial.

hipótesis nula	$H_0: E_i = 0$	El efecto del factor es cero (no hay efecto del factor)
hipótesis alternativa	$H_1: E_i \neq 0$	El efecto de un factor es diferente de cero (hay un efecto del factor)

#### Análisis de varianza

La suma de cuadrados de cualquier factor o interacción se obtiene de:

$$SC_{\text{factor}} = \frac{\text{contraste}^2}{n 2^k}$$

n = r = número de replicas

k = número de factores

$$\text{suma total de cuadrados} = \frac{\sum \sum \sum Y^2_{ijk} - Y^2}{N}$$

$\sum \sum Y^2_{ijk}$  = suma del cuadrado de cada observación  
 $Y^2_{\dots}$  = el cuadrado de la suma de todas las observaciones  
 $N$  = número total de observaciones  
 Suma total de cuadrados =  $\sum \sum Y^2_{ijk} - (Y^2_{\dots}/N)$

La suma de cuadrados del error se obtiene por diferencia  
 $SC_E = SC_T - SC_A - SC_B - SC_C - SC_{AB} - SC_{AC} - SC_{BC} - SC_{ABC}$

### Grados de libertad

Los grados de libertad se obtienen de acuerdo a la tabla de anadeva, en donde las letras mayúsculas indican los niveles de cada factor es decir 2 niveles de cada factor, alto y bajo, p ej. para el factor A, son A niveles - 1 = 2 - 1 = 1

**Grados de libertad del error =  $(n - 1) 2^k$**

$n = r$  = número de replicas

$k$  = número de factores

**Grados de libertad totales =  $r 2^k - 1$**

### Cálculo de F

El cuadrado medio es la suma de cuadrados dividido entre los grados de libertad y la F es el cuadrado medio dividido entre el cuadrado medio del error, este cálculo se realiza para cada uno de los factores e interacciones.

### Prueba de hipótesis.

La F teórica con 95% de confianza (ó un  $\alpha$  de 5%) 1 grado de libertad en el numerador y 8 grados de libertad en el denominador es 5.32 observada en tablas

Cuando  $F_o$  es menor que F de tablas, se concluye que no se cuenta con evidencia suficiente para rechazar  $H_o$ , y se acepta  $H_o$  que dice que el efecto del factor es igual a cero, es decir su efecto no es significativo con un nivel de confianza de 95%. Para los factores A, y B y las interacciones de los factores no se cuenta con suficiente evidencia para rechazar  $H_o$  y se concluye que su efecto no es importante en este proceso

Cuando  $F_o$  es mayor que F de tablas, se rechaza la hipótesis nula  $H_o$  y se acepta la hipótesis alternativa  $H_1$  de que el efecto es diferente de cero es decir el factor tiene un efecto significativo que es importante para el proceso

## 2.6.2. Definiciones Diseño Factorial.

### experimento

Prueba o serie de pruebas cuyo objetivo puede ser el de confirmar o explorar, es decir estudiar el efecto de nuevas condiciones sobre el sistema. ensayo con propósitos de investigación

### diseño de experimentos

el proceso de planear el experimento de tal manera que se obtengan los datos apropiados, los cuales serán analizados por métodos estadísticos dando como resultado una conclusión objetiva y válida

**diseño factorial.** En muchos experimentos se desea estudiar los efectos de 2 ó más factores. Un diseño factorial significa que en cada prueba completa ó réplica del experimento, se investigan todas las posibles combinaciones de los niveles de los factores. por ejemplo, si hay  $a$  niveles del factor A y  $b$  niveles del factor B, entonces cada réplica contiene todos los tratamientos de la combinación  $ab$ . Cuando los factores se arreglan en un diseño factorial se dice que están cruzados.

**efecto.** El efecto de un factor se define como el cambio en la respuesta producido por un cambio en el nivel del factor. El cambio en la respuesta promedio cuando un factor va desde su nivel bajo a su nivel alto.

**interacción.** En algunos experimentos se puede encontrar que la diferencia en la respuesta entre los niveles de un factor no es la misma a todos los niveles de los otros factores, cuando esto ocurre, hay una interacción entre los factores.

**factor codificado** (Barker, 1994). el factor codificado o unidad de diseño se define como  $\text{código} = \text{valor actual} - \text{media de los factores} / (\text{rango de los factores} / 2)$

$$\text{Unidad de Diseño} = \frac{X_{\text{nivel}} - \bar{X}_{\text{niveles}}}{\frac{X_{\text{alta}} - X_{\text{baja}}}{2}}$$

ejemplo para un factor con nivel bajo igual a 10 y nivel alto igual a 15  
el nivel bajo se codifica como: nivel codificado =  $10 - 12.5 / (15 - 10 / 2) = -1$

**estructura alias.** una lista de efectos confundidos

**anova.** Análisis de varianza, método basado en la distribución F, para probar la hipótesis nula de los no efectos de los tratamientos

**diseño balanceado.** diseño en el cual los niveles alto y bajo o interacción de cualquier factor aparecen en igual número

**bloque.** grupo de ensayos basados en un factor común

**variable categórica.** factores cuyos niveles caen en clases discretas por ejemplo para tipo de carro vw, ford, etc

**parámetros de diseño.** el numero de tratamientos, factores, replicas y bloques dentro del diseño

**región experimental.** espacio de diseño, área imaginaria limitada por los extremos de los factores evaluados

**termino de error.** el termino en el modelo el cual representa el error aleatorio. Los datos residuales se emplean para estimar la naturaleza del termino de error. La consideración general es que el término de error tiene distribución normal y es aleatoria

**factorial completo.** diseño experimental en el cual se incluyen todas las posibles combinaciones de los factores en sus niveles diseñados



**factorial fraccionado.** diseño experimental el cual incluye solo una fracción de todas las posibles combinaciones de los niveles de los factores provocando que algunos de los efectos queden confundidos

**hipótesis.** proposición matemática establecida como una explicación de un fenómeno científico

**falta de ajuste.** discrepancia estadística que indica que el modelo no es adecuado

**nivel.** el estado de un factor

**efecto principal.** el cambio en la respuesta causado por el cambio en un factor individual

**cuadrado medio.** una medida de la varianza empleada en anova

**gráfica probabilidad normal.** gráfica sobre una escala que permite observar si un grupo de datos tiene distribución normal

**variable numérica.** factor cuantitativo el cual puede variar sobre una escala continua v gr la temperatura

**observación.** registro de factor y respuesta para un ensayo experimental en particular

**ortogonalidad.** propiedad deseable de diseño en donde todos los efectos pueden ser estimados en forma independiente; es decir no hay sesgo o bias de los otros factores

**p – valor.** valor de probabilidad relacionado con el riesgo de rechazar equivocadamente una hipótesis dada

**placket burman diseño**

una clase de diseño factorial fraccionado ortogonal de dos niveles en donde el número de corridas es un múltiplo de 4 en lugar de un 2 a la k este diseño es de resolución III

**valores predichos.** valores de la respuesta resultante de sustituir los valores del factor en la ecuación del modelo

**error puro.** Error derivado de los puntos de replica en el diseño es el mejor estimado del término de error en el modelo

**aleatorización.** mezcla planeada de eventos de tal forma que no siguen un patrón particular, particularmente importante en experimentos para asegurar que las variables acechantes no sesgan el resultado

**análisis de regresión.** método por el cual los datos se ajustan a modelo matemático

**réplica corrida experimental** realizada nuevamente desde el principio al final (no únicamente remuestreada o remedida)

**residual.** desviación del valor predicho del valor actual

**resolución.** una medida del grado de confusión de los efectos principales (e interacciones) en un

**diseño factorial fraccionado** En general la resolución de un diseño factorial de dos niveles es la longitud de la palabra más corta en la relación definitoria Un diseño de resolución III confunde los efectos principales con interacciones de dos factores y las interacciones de dos factores otras interacciones de dos factores; los diseños de resolución V confunden los efectos principales con interacciones de cuatro factores y las interacciones de dos factores con interacciones de tres factores

**respuesta.** un producto mensurable o característica del proceso que será afectada por los factores experimentales

**saturado.** Una matriz de diseño en la cual no se pueden agregar mas factores; tal diseño sería de resolución III

**tamizado (screening).** cernir a través de un gran número de factores con el menor número de ensayos en un diseño dado

**orden estándar.** ordenamiento convencional del arreglo de los niveles alto y bajo de los factores vs corridas en un diseño factorial de dos niveles

**estudentizado.** Un valor dividido entre su error asociado; la cantidad resultante será adimensional Z útil para propósitos de comparación

**suma de cuadrados.** cantidad usada en anova

**tratamiento.** Termino genérico proveniente del léxico de investigación en agricultura cuando se comparaban dos o más fertilizantes, u otros factores, en un ensayo de campo

**variable.** una cantidad que puede adquirir cualquier valor o serie de valores

**restricciones del diseño.** Puede haber puntos en el espacio del diseño experimental que no pueden correrse o dar resultados sin sentido Un ejemplo de esto se puede encontrar en el campo de la metalurgia en dónde cruzando el límite de la composición lleva a un dramático cambio de propiedades En este caso, el investigador debería quedarse dentro de los límites conocidos para una aleación dada.

### **prueba de hipótesis.**

En la prueba de hipótesis se trabaja con dos hipótesis que deben enunciarse explícitamente La primera es la hipótesis que debe probarse, mejor conocida como *hipótesis nula* y que se designa por  $H_0$  A veces se da el nombre de hipótesis de no diferencia a la hipótesis nula, ya que es una proposición de conformidad con condiciones verdaderas en la población de interés En general la hipótesis nula se establece con el propósito expreso de ser rechazada Como consecuencia, la opuesta a la conclusión que el investigador desea alcanzar se convierte en el enunciado de la hipótesis nula En el proceso de prueba, la hipótesis nula se rechaza o bien no se rechaza Si la hipótesis nula no se rechaza se dirá que los datos sobre los cuales se basa la prueba, no proporcionan evidencia suficiente que provoque el rechazo Si el procedimiento de prueba conduce al rechazo, se concluirá que los datos disponibles no son compatibles con la hipótesis nula pero son apoyo de alguna otra hipótesis Esta otra hipótesis se conoce como *hipótesis alternativa* y puede designarse mediante  $H_A$  o  $H_1$ , es una proposición que se creará cierta si los datos de la muestra llevan al rechazo de la hipótesis nula Por lo general, la hipótesis alternativa y la hipótesis de investigación son la misma, y de hecho, se utilizan los dos términos indistintamente Debe señalarse que en general, ni la prueba de hipótesis, ni la inferencia estadística, conduce a la demostración de una hipótesis, sino que simplemente indica si la hipótesis es apoyada o

no por los datos que se dispone. Por lo tanto, cuando no es posible rechazar una hipótesis, no se dice que es verdadera, sino que puede ser verdadera. Cuando se habla de aceptar una hipótesis nula, se tiene presente esta limitación y no se desea comunicar la idea de que la aceptación implica demostración (Daniel 2002).

**estadística de prueba.**

La estadística de prueba es alguna estadística que puede calcularse a partir de los datos de la muestra. Como regla existen, muchos valores posibles que puede tener la estadística de prueba, dependiendo el valor particular observado de la muestra particular extraída. Como se verá, la estadística de prueba sirve como un productor de decisiones, ya que la decisión de rechazar o no rechazar la hipótesis nula depende de la magnitud de la estadística de prueba. Un ejemplo de estadística de prueba es "F". Los valores de la estadística de prueba son puntos sobre una recta que sirve como eje horizontal para la distribución de tal estadística de prueba.

**regla de decisión.**

Todos los valores posibles que la estadística de prueba puede tener son puntos sobre el eje horizontal de la gráfica de la distribución de tal estadística y se dividen en dos grupos, uno de los grupos se conoce como región de rechazo y el otro grupo forma la región de aceptación. Los valores de la estadística de prueba que comprenden la región de rechazo son aquellos que tienen la menor probabilidad de ocurrir si la hipótesis nula es verdadera, mientras que los valores que forman la región de aceptación son los que tienen mayor probabilidad de ocurrir si la hipótesis nula es verdadera. *La regla de decisión nos dice que se rechaza la hipótesis nula, si el valor de la estadística de prueba que se calcule a partir de la muestra es uno de los valores en la región de rechazo y que no se rechace (o se acepte) la hipótesis nula, si el valor calculado de la estadística de prueba es uno de los valores en la región de aceptación.* La decisión por lo que respecta a cuáles valores van hacia la región de rechazo y cuáles a la región de aceptación se toma con base en el nivel de significación deseado, que se designa por alfa,  $\alpha$ .

El término, nivel de significancia se debe al hecho de que las pruebas de hipótesis reciben el nombre de pruebas de significancia y un valor calculado de la estadística de prueba que cae en la región de rechazo se dice que es *significativo*. El nivel de significancia  $\alpha$  especifica el área bajo la curva de la distribución de la estadística de prueba que esta por encima de los valores sobre el eje horizontal que constituyen la región de rechazo. Entonces se ve que  $\alpha$  es una probabilidad y de hecho es la probabilidad de rechazar una hipótesis nula verdadera. Como rechazar una hipótesis nula verdadera constituiría un error, únicamente parece razonable que debe hacerse pequeña la probabilidad de rechazar una hipótesis nula verdadera y en efecto esto es lo que se hace. Los valores de  $\alpha$  que se encuentran con más frecuencia son 0.01, 0.05 y 0.10.

El error que se comete cuando se rechaza una hipótesis nula verdadera se llama *error del tipo I*. El *error del tipo II* se comete cuando se acepta una hipótesis nula falsa. La probabilidad de cometer un error del tipo II se designa por  $\beta$ .

Siempre que se rechaza una hipótesis nula se tiene el riesgo concomitante de cometer un error del tipo I, rechazar una hipótesis nula verdadera. Siempre que se acepta una hipótesis nula, existe el riesgo de aceptar una hipótesis nula falsa. Se hace pequeño  $\alpha$  pero por lo general no se ejerce control sobre  $\beta$  aunque se sabe que, como regla, es mayor que  $\alpha$  en la tabla 2-18 se puede observar (Daniel, 2002).

Tabla 2-18 Probabilidad alfa (Bolton, 1990).

	Ho es verdadera	Ha es verdadera
Ho se rechaza	alfa	1 - beta
Ho se acepta	1 - alfa	Beta

Decisión	Lote correcto	Lote incorrecto
Lote se rechaza	Alfa (0.05 %) (error tipo I)	1 - beta
Lote se acepta	1 - alfa (0.95%)	Beta (error tipo II)

### estadística de prueba calculada

A partir de los datos obtenidos de la muestra se calcula el valor de la estadística de prueba y se le compara con las regiones de aceptación y de rechazo especificadas. En tablas se puede encontrar la F teórica con 95% de confianza (alfa de 5%), grados de libertad en el numerador y grados de libertad en el denominador.

### decisión estadística (Daniel, 2002)

La decisión estadística consiste en el rechazo o no rechazo de la hipótesis nula  $H_0$ . Se rechaza, si el valor calculado de la estadística de prueba cae en la región de rechazo y no se rechaza si el valor calculado de la estadística de prueba cae en la región de aceptación, en la figura 2-10 se puede observar gráficamente este proceso.

Si la prueba estadística da por resultado el rechazo de la hipótesis nula, decimos que la diferencia es significativa al nivel de  $\alpha$  alfa. Si se selecciona  $\alpha$  de 0.05, la diferencia es significativa al nivel de 5%. Esto es equivalente a la expresión de  $P < 0.05$ .

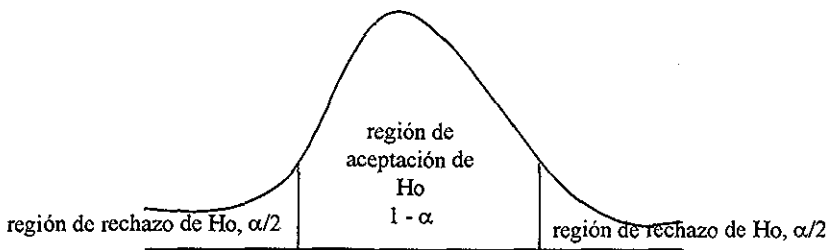


Figura 2 - 10 Prueba de hipótesis representación gráfica

Por lo que, cuando  $F_0$  es menor que  $F$  de tablas, se concluye que no se cuenta con evidencia suficiente para rechazar  $H_0$ , y se acepta  $H_0$ , el efecto del factor no es significativo. Cuando  $F_0$  es mayor que  $F$  de tablas, se rechaza la hipótesis nula  $H_0$  y se acepta la hipótesis alternativa  $H_1$ , es decir el efecto del factor es significativo con un nivel de confianza de 95%.

### Hipótesis nula

$H_0$ : El efecto del factor = 0

### Hipótesis alternativa

$H_1$ : El efecto del factor es  $\neq 0$

**2.7. Visual basic** (MS Visual Basic 6 0, 1998; Aitken, 1999; Brown, 1999; Getz, 2000)  
¿Qué es Visual Basic? La palabra "Visual" hace referencia al método que se utiliza para crear la interfaz gráfica de usuario (GUI) En lugar de escribir numerosas líneas de código para describir la apariencia y la ubicación de los elementos de la interfaz, simplemente puede agregar objetos prefabricados en su lugar dentro de la pantalla. Si ha utilizado alguna vez un programa de dibujo como Paint, ya tiene la mayor parte de las habilidades necesarias para crear una interfaz de usuario efectiva. La palabra "Basic" hace referencia al lenguaje BASIC (Beginners All-Purpose Symbolic Instruction Code), un lenguaje utilizado por más programadores que ningún otro lenguaje en la historia de la informática o computación. Visual Basic ha evolucionado a partir del lenguaje BASIC original y ahora contiene centenares de instrucciones, funciones y palabras clave, muchas de las cuales están directamente relacionadas con la interfaz gráfica de Windows. Los principiantes pueden crear aplicaciones útiles con sólo aprender unas pocas palabras clave, pero, al mismo tiempo, la eficacia del lenguaje permite a los profesionales acometer cualquier objetivo que pueda alcanzarse mediante cualquier otro lenguaje de programación de Windows.

### **Conceptos de Visual Basic**

Para entender el proceso de desarrollo de una aplicación, es útil comprender algunos de los conceptos clave alrededor de los cuales está construido Visual Basic. Puesto que Visual Basic es un lenguaje de desarrollo para Windows, es necesario familiarizarse con el entorno Windows. Si no tiene experiencia en la programación para Windows, necesitará conocer algunas diferencias fundamentales entre la programación para Windows frente a otros entornos.

### **Funcionamiento de Windows: ventanas, eventos y mensajes**

Un estudio profundo del funcionamiento interno de Windows necesitaría un libro completo. No es necesario tener un profundo conocimiento de todos los detalles técnicos. Una versión reducida del funcionamiento de Windows incluye tres conceptos clave: ventanas, eventos y mensajes.

Una ventana es simplemente una región rectangular con sus propios límites. Probablemente ya sabe que hay varios tipos de ventanas: una ventana Explorador en Windows 95, una ventana de documento dentro de su programa de procesamiento de textos o un cuadro de diálogo que emerge para recordarle una cita. Aunque éstos son los ejemplos más comunes, realmente hay otros muchos tipos de ventanas. Un botón de comando es una ventana. Los iconos, cuadros de texto, botones de opción y barras de menús son todos ventanas.

El sistema operativo Microsoft Windows administra todas estas ventanas asignando a cada una un único número identificador (controlador de ventana o hWnd). El sistema controla continuamente cada una de estas ventanas para ver si existen signos de actividad o eventos. Los eventos pueden producirse mediante acciones del usuario, como hacer clic con el *mouse* (ratón) o presionar una tecla, mediante programación o incluso como resultado de acciones de otras ventanas.

Cada vez que se produce un evento se envía un mensaje al sistema operativo. El sistema procesa el mensaje y lo transmite a las demás ventanas. Entonces, cada ventana puede realizar la acción apropiada, basándose en sus propias instrucciones para tratar ese mensaje en particular (por ejemplo, volverse a dibujar cuando otra ventana la ha dejado al descubierto).

Como puede imaginar, tratar todas las combinaciones posibles de ventanas, eventos y mensajes podría ser interminable. Afortunadamente, Visual Basic le evita tener que tratar con todos los controladores de mensajes de bajo nivel. Muchos de los mensajes los controla automáticamente Visual Basic, mientras

que otros se tratan como procedimientos de evento para su comodidad. Esto le permite crear rápidamente eficaces aplicaciones sin tener que tratar detalles innecesarios.

### **Descripción del modelo controlado por eventos**

En las aplicaciones tradicionales o "por procedimientos", la aplicación es la que controla qué partes de código y en qué secuencia se ejecutan. La ejecución comienza con la primera línea de código y continúa con una ruta predefinida a través de la aplicación, llamando a los procedimientos según se necesiten.

En una aplicación controlada por eventos, el código no sigue una ruta predeterminada; ejecuta distintas secciones de código como respuesta a los eventos. Los eventos pueden desencadenarse por acciones del usuario, por mensajes del sistema o de otras aplicaciones, o incluso por la propia aplicación. La secuencia de estos eventos determina la secuencia en la que se ejecuta el código, por lo que la ruta a través del código de la aplicación es diferente cada vez que se ejecuta el programa.

Puesto que no puede predecir la secuencia de los eventos, el código debe establecer ciertos supuestos acerca del "estado del mundo" cuando se ejecute. Cuando haga suposiciones (por ejemplo, que un campo de entrada debe contener un valor antes de ejecutar un procedimiento para procesar ese valor), debe estructurar la aplicación de forma que asegure que esa suposición siempre será válida (por ejemplo, deshabilitando el botón de comando que inicia el procedimiento hasta que el campo de entrada contenga un valor).

El código también puede desencadenar eventos durante la ejecución. Por ejemplo, cambiar mediante programación el texto de un cuadro de texto hace que se produzca el evento Change del cuadro de texto. Esto causaría la ejecución del código (si lo hay) contenido en el evento Change. Si supone que este evento sólo se desencadenará mediante la interacción del usuario, podría ver resultados inesperados. Por esta razón es importante comprender el modelo controlado por eventos y tenerlo en cuenta cuando diseñe su aplicación.

### **Desarrollo interactivo**

El proceso de desarrollo de las aplicaciones tradicionales se puede dividir en tres etapas diferentes: escritura, compilación y comprobación del código. A diferencia de los lenguajes tradicionales, Visual Basic utiliza una aproximación interactiva para el desarrollo, difuminando la distinción entre los tres pasos.

En la mayoría de los lenguajes, si comete un error al escribir el código, el compilador intercepta este error cuando comience a compilar la aplicación. Debe encontrar y corregir el error y comenzar de nuevo con el ciclo de compilación, repitiendo el proceso para cada error encontrado. Visual Basic interpreta el código a medida que lo escribe, interceptando y resaltando la mayoría de los errores de sintaxis en el momento. Es casi como tener un experto vigilando cómo escribe el código.

Además, para interceptar errores sobre la marcha, Visual Basic también compila parcialmente el código según se escribe. Cuando esté preparado para ejecutar y probar la aplicación, tardará poco tiempo en terminar la compilación. Si el compilador encuentra un error, quedará resaltado en el código. Puede corregir el error y seguir compilando sin tener que comenzar de nuevo.

A causa de la naturaleza interactiva de Visual Basic, se encontrará ejecutando la aplicación frecuentemente a medida que la desarrolle. De esta forma puede probar los efectos del código según lo escriba en lugar de esperar a compilarlo más tarde.

### **Elementos del entorno integrado de desarrollo**

El entorno de trabajo en Visual Basic se denomina frecuentemente entorno integrado de desarrollo o IDE, ya que integra muchas funciones diferentes como el diseño, modificación, compilación y

depuración en un entorno común. En las herramientas de desarrollo más tradicionales, cada una de esas funciones funcionaría como un programa diferente, cada una con su propia interfaz.

### Iniciar el IDE de Visual Basic

Cuando ejecute el programa de instalación de Visual Basic, le permitirá colocar los elementos del programa en un grupo de programas ya existente o crear un nuevo grupo de programas y nuevos elementos de programa para Visual Basic en Windows. Entonces estará preparado para iniciar Visual Basic desde Windows.

Para iniciar Visual Basic desde Windows

- 1 Haga clic en Inicio en la barra de tareas.
- 2 Seleccione Programas y luego Microsoft Visual Basic 6.0  
–o bien–  
Haga clic en Inicio en la barra de tareas  
Seleccione Programas  
Utilice el Explorador de Windows para encontrar el archivo ejecutable de Visual Basic
- 3 Haga doble clic en el icono de Visual Basic.

También puede crear un acceso directo a Visual Basic y hacer doble clic en él.

Cuando inicie Visual Basic por primera vez, verá el entorno integrado de desarrollo, como se muestra en la figura 2-11.

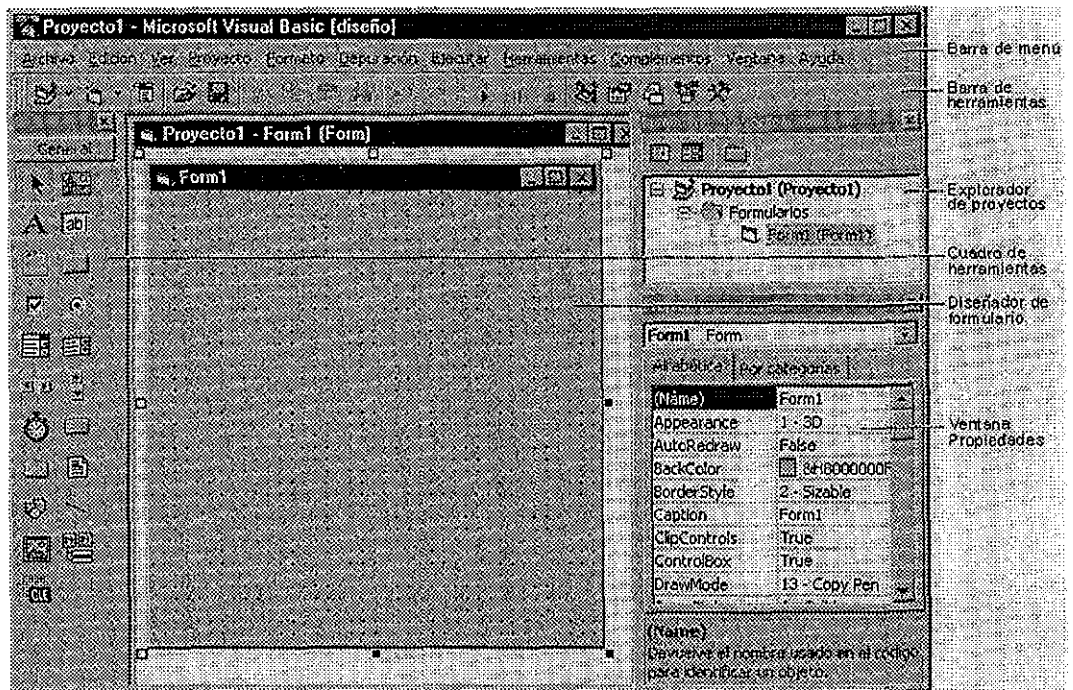


Figura 2–11. El entorno integrado de desarrollo de Visual Basic

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **Elementos del entorno integrado de desarrollo**

El entorno integrado de desarrollo de Visual Basic (IDE) consta de los siguientes elementos

### **Barra de menús**

Presenta los comandos que se usan para trabajar con Visual Basic. Además de los menús estándar **Archivo**, **Edición**, **Ver**, **Ventana** y **Ayuda**, se proporcionan otros menús para tener acceso a funciones específicas de programación como **Proyecto**, **Formato** o **Depuración**.

### **Menús contextuales**

Contienen accesos directos a acciones que se realizan con frecuencia. Para abrir un menú contextual, haga clic con el botón secundario del *mouse* en el objeto que está usando. La lista específica de opciones disponibles en el menú contextual depende de la parte del entorno en la que se hace clic con el botón secundario del *mouse*. Por ejemplo, el menú contextual que aparece cuando hace clic con el botón secundario del *mouse* en el cuadro de herramientas le permite mostrar el cuadro de diálogo **Componentes**, ocultar el cuadro de herramientas, acoplar o desacoplar el cuadro de herramientas, o agregar una ficha personalizada al cuadro de herramientas.

### **Barras de herramientas**

Proporcionan un rápido acceso a los comandos usados normalmente en el entorno de programación. Haga clic en un botón de la barra de herramientas para llevar a cabo la acción que representa ese botón. De forma predeterminada, al iniciar Visual Basic se presenta la barra de herramientas Estándar. Es posible activar o desactivar otras barras de herramientas adicionales para modificar, diseñar formularios desde el comando **Barras de herramientas** del menú **Ver**.

Las barras de herramientas se pueden acoplar debajo de la barra de menús o pueden "flotar" si selecciona la barra vertical del borde izquierdo y la arrastra fuera de la barra de menús.

### **Cuadro de herramientas**

Proporciona un conjunto de herramientas que puede usar durante el diseño para colocar controles en un formulario. Además del diseño del cuadro de herramientas predeterminado, puede crear su propio diseño personalizado si selecciona **Agregar ficha** en el menú contextual y agrega controles a la ficha resultante.

### **Ventana Explorador de proyectos**

Enumera los formularios y módulos del proyecto actual. Un *proyecto* es la colección de archivos que usa para generar una aplicación.

### **Ventana Propiedades**

Enumera los valores de las propiedades del control o formulario seleccionado. Una *propiedad* es una característica de un objeto, como su tamaño, título o color.

### **Examinador de objetos**

Enumera los objetos disponibles que puede usar en su proyecto y le proporciona una manera rápida de desplazarse a través del código. Puede usar el Examinador de objetos para explorar objetos en Visual Basic y otras aplicaciones, ver qué métodos y propiedades están disponibles para esos objetos, y pegar código de procedimientos en su aplicación.



## **Diseñador de formularios**

Funciona como una ventana en la que se personaliza el diseño de la interfaz de su aplicación. Agregue controles, gráficos e imágenes a un formulario para crear la apariencia que desee. Cada formulario de la aplicación tiene su propia ventana diseñador de formulario.

## **Ventana Editor de código**

Funciona como un editor para escribir el código de la aplicación. Se crea una ventana editor de código diferente para cada formulario o módulo del código de la aplicación.

## **Ventana Posición del formulario**

La ventana Posición del formulario le permite colocar los formularios de su aplicación utilizando una pequeña representación gráfica de la pantalla.

## **Ventanas Inmediato, Locales e Inspección**

Estas ventanas adicionales se proporcionan para la depuración de la aplicación. Sólo están disponibles cuando ejecuta la aplicación dentro del IDE.

**Nota** También puede agregar características a la interfaz de Visual Basic mediante un programa llamado *complemento*. Los complementos, disponibles en Microsoft y otros desarrolladores, pueden proporcionar características como el control de código fuente, que permite mantener proyectos de desarrollo en grupo.

## **Opciones de entorno**

Visual Basic proporciona un alto grado de flexibilidad, permitiéndole configurar el entorno de trabajo que mejor se adapte a su propio estilo. Puede elegir entre una interfaz de documentos simple o múltiple, y puede ajustar el tamaño y la posición de varios elementos del Entorno integrado de desarrollo (IDE). Esta distribución persistirá en las siguientes sesiones de Visual Basic.

## **Interfaz SDI o MDI**

Con el IDE de Visual Basic hay disponibles dos estilos diferentes: la interfaz de documento simple (SDI) o la interfaz de documentos múltiples (MDI). Con la opción SDI todas las ventanas del IDE se pueden mover libremente por cualquier lugar de la pantalla; siempre y cuando Visual Basic sea la aplicación actual, permanecerán encima de las demás aplicaciones. Con la opción MDI, todas las ventanas del IDE están contenidas en una única ventana primaria de tamaño ajustable.

### **Para cambiar entre los modos SDI y MDI**

- 1 En el menú **Herramientas**, seleccione **Opciones**.  
Aparecerá el cuadro de diálogo **Opciones**.
- 2 Seleccione la ficha **Avanzado**.
- 3 Active o desactive la casilla de verificación **Entorno de desarrollo SDI**.  
El IDE comenzará en el modo seleccionado la próxima vez que inicie Visual Basic  
–o bien–  
Ejecute Visual Basic desde la línea de comandos con el parámetro `/sdi` o `/mdi`.

## **Acoplar ventanas**

Muchas de las ventanas del IDE se pueden acoplar o conectar a otra o al borde de la pantalla. Entre estas ventanas se incluyen el cuadro de herramientas, la ventana Posición del formulario, el Explorador de proyectos, la ventana Propiedades, la Paleta de colores y las ventanas Inmediato, Locales e Inspección.

Con la opción MDI las ventanas pueden acoplarse en cualquier lado de la ventana primaria, mientras que con SDI sólo se pueden acoplar debajo de la barra de menús. Las capacidades de acoplado se pueden activar o desactivar para una ventana dada si activa la casilla de verificación apropiada de la ficha **Acople** del cuadro de diálogo **Opciones**, disponible desde el comando **Opciones** del menú **Herramientas**.

### Para acoplar o desacoplar una ventana

1. Seleccione la ventana que desee acoplar o desacoplar
2. Arrastre la ventana a la ubicación deseada manteniendo presionado el botón primario del *mouse*
3. El contorno de la ventana se mostrará al arrastrar la ventana.
4. Suelte el botón del *mouse*.

### Conceptos básicos del código

Esta sección presenta información acerca de la mecánica de escritura de código, incluyendo dividir y combinar líneas de código, agregar comentarios al código, usar números en el código y seguir las convenciones de nomenclatura en Visual Basic

#### Dividir una única instrucción en varias líneas

Puede dividir una instrucción larga en varias líneas en la ventana del Editor de código si utiliza el *carácter de continuación de línea* (un espacio en blanco seguido de un signo de subrayado). La utilización de este carácter puede hacer que sea más fácil leer el código, tanto en la pantalla como impreso en papel. El código siguiente se ha dividido en tres líneas mediante caracteres de continuación de línea (`_`):

```
Data1.RecordSource = _  
"SELECT * FROM Titles, Publishers" _  
& "WHERE Publishers PubId = Titles PubID _  
& "AND Publishers State = 'CA'"
```

No puede poner un comentario después de un carácter de continuación de línea en la misma línea. También hay algunas limitaciones sobre dónde se puede usar el carácter de continuación de línea.

#### Combinar instrucciones en una línea

Normalmente hay una instrucción de Visual Basic por línea y no hay ningún terminador de instrucción. Sin embargo, puede colocar dos o más instrucciones en una línea si utiliza un signo de dos puntos (`:`) para separarlas:

```
Text1.Text = "Hola" : Red = 255 : Text1.BackColor = _  
Red
```

Sin embargo, para hacer el código más legible, es mejor colocar cada instrucción en una línea distinta.

#### Agregar comentarios al código

Según vaya leyendo los ejemplos de esta guía, a menudo verá el símbolo de comentario (`'`). Este símbolo indica a Visual Basic que pase por alto las palabras que van a continuación de él. Estas palabras son comentarios situados en el código para el desarrollador y otros programadores que vayan a examinar después el código. Por ejemplo:

```
' Este comentario comienza en el borde izquierdo de  
' la pantalla  
Text1.Text = "Hola" ' Pone un saludo amistoso  
' en el cuadro de texto
```



Los comentarios pueden seguir a una instrucción en la misma línea o pueden ocupar una línea completa. Ambos se ilustran en el código anterior. Recuerde que los comentarios no pueden ir detrás de un carácter de continuación de línea en la misma línea.

**Nota** Puede agregar o eliminar símbolos que indican comentarios en un bloque de código seleccionando dos o más líneas de código y seleccionando los botones Bloque con comentarios o Bloque sin comentarios en la barra de herramientas Edición.

### Descripción de los sistemas de numeración

La mayoría de los números de este documento son decimales (base 10). Pero en ocasiones es conveniente usar números hexadecimales (base 16) o números octales (base 8). Visual Basic representa los números hexadecimales con el prefijo &H y los octales con &O. La tabla 2-19 muestra los mismos números en formato decimal, octal y hexadecimal.

Tabla 2-19. Sistemas de numeración en visual basic.

Decimal	Octal	Hexadecimal
9	&O11	&H9
15	&O17	&HF
16	&O20	&H10
20	&O24	&H14
255	&O377	&HFF

Normalmente no tendrá que aprender los sistemas hexadecimal u octal ya que el equipo puede trabajar con números en cualquier sistema. Sin embargo, algunos sistemas de numeración se prestan a determinadas tareas, como la utilización de números hexadecimales para configurar los colores de la pantalla y los controles.

### Convenciones de nomenclatura en Visual Basic

Cuando escribe código en Visual Basic, declara y asigna nombre a muchos elementos (procedimientos **Sub** y **Function**, variables, constantes, etc.) Los nombres de procedimientos, variables y constantes que declara en el código de Visual Basic deben seguir estas directrices:

- Deben comenzar por una letra
- No pueden contener puntos o caracteres de declaración de tipos (caracteres especiales que especifican tipos de datos)
- No pueden superar los 255 caracteres. Los nombres de controles, formularios, clases y módulos no deben exceder los 40 caracteres
- No pueden ser iguales que las palabras clave restringidas

Una *palabra clave restringida* es una palabra que Visual Basic utiliza como parte de su lenguaje. Esto incluye a las instrucciones predefinidas (como **If** y **Loop**), funciones (como **Len** y **Abs**) y operadores (como **Or** y **Mod**).

Para ver la lista completa de palabras clave, vea la *Referencia del lenguaje*.

Los formularios y controles pueden tener el mismo nombre que una palabra clave restringida. Por ejemplo, puede tener un control que se llame **Loop**. Sin embargo, en el código no puede hacer referencia a ese control de la forma habitual, ya que Visual Basic supone que se está refiriendo a la palabra clave **Loop**. Por ejemplo, este código provoca un error:

```
Loop Visible = True ' Provoca un error
```

Para referirse a un formulario o un control que tenga el mismo nombre que una palabra clave restringida, debe calificarlo o ponerlo entre corchetes: [ ] Por ejemplo, este código no provoca un error:

MiForm Loop Visible = True ' Calificado con el nombre del  
' formulario

[Loop] Visible = True ' Con corchetes también funciona

Puede usar corchetes de esta forma cuando haga referencia a formularios y controles, pero no cuando declare una variable o defina un procedimiento con el mismo nombre que una palabra clave restringida

También se pueden usar corchetes para que Visual Basic acepte nombres de otras bibliotecas de tipos que entren en conflicto con palabras clave restringidas.

**Nota** Puesto que escribir corchetes puede resultar tedioso, evite la utilización de palabras clave restringidas en los nombres de formularios y controles. Sin embargo, puede usar esta técnica si una versión posterior de Visual Basic define una palabra clave nueva que entre en conflicto con un nombre de formulario o control existente y esté actualizando el código para que funcione con la versión nueva

### 3. Metodología

#### 3.1. Hardware y software

Para llevar a cabo el diseño y desarrollo del sistema se empleó el siguiente hardware y software:

- computadora lap top IBM 380 ED
- procesador pentium intel MMx (TM)
- 80 Mb de RAM
- disco duro de 3 01 Gb
- unidad de disco flexible de 3 5" (flopy drive 3 5")
- unidad de cd-rom
- procesador de datos numérico
- sistema operativo Microsoft Windows 98 versión 4 10 1998
- Microsoft office 97 profesional que incluye ms word, ms excel, ms power point, ms access
- Microsoft Visual Basic 6.0 edición profesional (español)

#### 3.2. Diseño del sistema

El diseño del sistema esta basado en el diagrama de flujo que se muestra en la figura 3-1

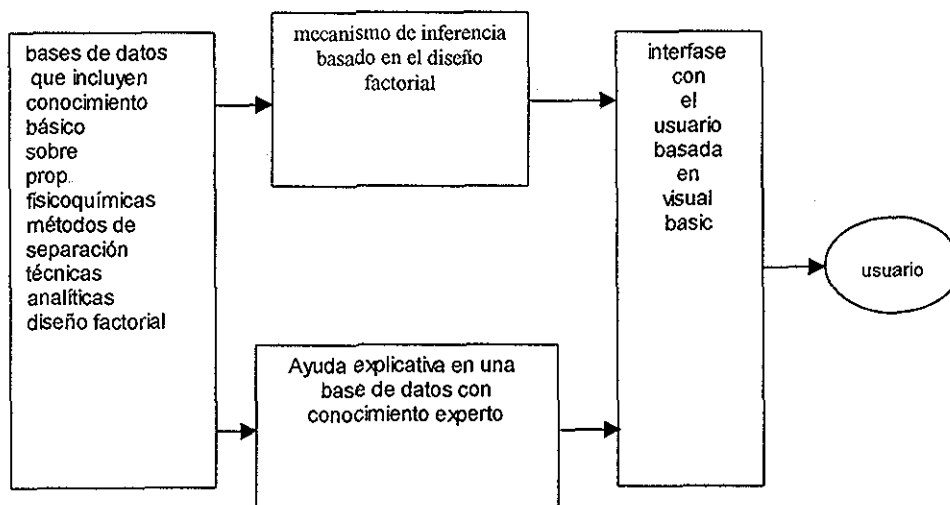


Figura 3-1 Diagrama de flujo empleado para el desarrollo del sistema experto

#### 3.3. Desarrollo del sistema

##### 3.3.1. Diseño de la interfase

El diseño de la interfase se realizó empleando el software de microsoft visual basic 6 0 versión profesional en español

### 3.3.2. Base de Conocimiento.

El conocimiento básico se codificó en las siguientes bases de datos:

- propiedades fisicoquímicas
- métodos de separación
- técnicas analíticas
- diseño factorial

Una vez diseñada cada base de datos se programa y codifica el enlace a la interfase.

### 3.3.3. Mecanismo de inferencia

El mecanismo de inferencia es del tipo algorítmico, basado en el diseño factorial  $2^3$ . Se lleva a cabo el diseño del algoritmo de acuerdo a las características descritas en la sección 2.6.1

### 3.3.4. La ayuda explicativa

El siguiente modelo explicativo puede ayudar al analista en la definición del problema

**Proceso de investigación** (Naghi, 1992)

**Marco conceptual.**

Traducir el problema de la realidad, entender y plantear el verdadero problema

**Definición del problema.**

La etapa principal de una investigación es identificar el problema, lo cual implica una gran cantidad de temas basados en preguntas como:

¿se quiere investigar el efecto de los factores sobre el proceso?

¿se quieren investigar nuevas condiciones sobre el sistema?

¿el problema es de tratamiento de la muestra o de medición?

¿es investigable este problema?

las observaciones subjetivas no se pueden investigar científicamente

para que una pregunta sea investigable esta debe ser tal que la observación y la recopilación de datos en el mundo real pueda dar una respuesta

El problema consta de dos partes:

1. **Título del problema** Es la presentación racional de lo que se investigará, precede al plan de investigación y debe presentar una idea clara y precisa del problema.
2. **Planteamiento del problema** El planteamiento establece la dirección del estudio para lograr ciertos objetivos de manera que los datos pertinentes se recopilen teniendo en mente esos objetivos a fin de darles el significado que les corresponde

**Análisis del problema.**

- Distinguir entre causas y efectos
- Analizar los antecedentes, para conocer las decisiones específicas en el ámbito del problema
- Hacer el análisis situacional Cómo y por qué surgió el problema, revisión de literatura, opinión de investigadores

**Determinar los objetivos de la investigación.**

Los objetivos de la investigación señalan los elementos del marco conceptual que se debe investigar

### **Establecer las Variables.**

Para pasar de la etapa conceptual de la investigación (marco conceptual) a la etapa experimental, los conceptos se convertirán en variables. Una variable es todo aquello que pueda causar cambios en los resultados de un experimento.

### **Variable dependiente**

La variable que el investigador desea explicar se considera como la variable dependiente. Los cambios en la variable dependiente están en función de los cambios en la variable independiente.

### **Variable independiente.**

Las variables o factores controlables que se espera que expliquen el cambio de la variable dependiente se refieren como variables independientes.

### **Variable de respuesta.**

La respuesta medible que puede obtener la variable dependiente cuando se modifica la variable independiente. Debe seleccionarse de tal manera que refleje realmente el proceso.

### **Variable de control.**

La variable de control es la que se mantiene constante durante todo el experimento.

### **Enunciado de la hipótesis.**

La hipótesis es un concepto preliminar sobre el problema. La hipótesis es una respuesta tentativa a los problemas de investigación. Las hipótesis son conjeturas tentativas porque su veracidad se puede considerar solo después de que se han evaluado experimentalmente.

- La expresión de la hipótesis debe ser clara.
- debe estar exenta de cualquier sesgo.

### **Hipotesis de trabajo.**

Es la hipótesis que se formula, no con el fin de elaborar una teoría, sino para servir de guía en una investigación científica.

### **Establecer el diseño experimental.**

Por ejemplo, el diseño factorial, en el diseño se deben tomar en cuenta el número de repeticiones y la forma de aleatorizar la realización de la experimentación.

### **Realizar el experimento de acuerdo a lo planeado.**

Mantener la disciplina experimental, realizar todos los experimentos del diseño, emplear buenas prácticas de laboratorio, buenas prácticas de fabricación, evitar manipulación de resultados.

### **Obtención de resultados.**

Después de definir el problema, determinar las variables y expresar las hipótesis, éstas se deben probar, para ello se necesita medir si existen ciertas condiciones. La medición es el proceso mediante el cual se prueban las hipótesis y las teorías. La obtención de resultados también incluye la recopilación y registro de los datos.

### **Análisis estadístico de los resultados.**

El análisis de los datos puede tener los objetivos, que se presentan en la Tabla No 3-1.

Tabla No. 3-1 Objetivos del análisis estadístico, (Naghi, 1992)

<u>objetivo de análisis</u>	<u>técnicas estadísticas para el análisis</u>
que hay en los datos	media, mediana, moda
que tanto varían los datos como están distribuidos	varianza, desviación estándar, rango
que relación existe	frecuencia
hacer estimación y predicción	correlación
describir las diferencias entre grupos y variables	estimación de punto, regresión
que variables causan variación en otras	análisis de varianza, prueba de t
	análisis de varianza, prueba de t

### **Prueba de hipótesis.**

En la prueba de hipótesis se trabaja con dos hipótesis que deben enunciarse explícitamente. La primera es la hipótesis que debe probarse, por lo común conocida como hipótesis nula y que se designa por  $H_0$ . En general la hipótesis nula se establece con el propósito expreso de ser desacreditada. Como consecuencia, la opuesta a la conclusión que el investigador desea alcanzar se convierte en el enunciado de la hipótesis nula.

En el proceso de prueba, la hipótesis nula se rechaza o bien no se rechaza. Si la hipótesis nula no se rechaza se dirá que los datos sobre los cuales se basa la prueba, no proporcionan evidencia suficiente que provoque el rechazo. Si el procedimiento de prueba conduce al rechazo, se concluirá que los datos disponibles no son compatibles con la hipótesis nula pero son apoyo de alguna otra hipótesis. Esta otra hipótesis se conoce como hipótesis alternativa y puede designarse mediante  $H_A$  o  $H_1$ .

Debe señalarse que en general, ni la prueba de hipótesis, ni la inferencia estadística, conduce a la demostración de una hipótesis, sino que simplemente indica si la hipótesis es apoyada o no por los datos que se dispone. Por lo tanto, cuando no es posible rechazar una hipótesis, no se dice que es verdadera, sino que puede ser verdadera. Cuando se habla de aceptar una hipótesis nula, se tiene presente esta limitación y no se desea comunicar la idea de que la aceptación implica demostración.

### **Interpretación y conclusiones.**

El investigador tiene que dedicar gran esfuerzo y tiempo a interpretar los datos e indicar que significan estos resultados. La interpretación de datos consiste en dos etapas: revisión del proceso de investigación y explicación de resultados.

#### **3.3.5. Validación del sistema.**

La validación del sistema se lleva a cabo mediante la comparación de los resultados obtenidos al realizar el análisis de un diseño realizando los cálculos manualmente, empleando el software de MS Excel y realizando el análisis del diseño con el software Design Ease.



#### 4. Resultados

##### 4.1. Desarrollo del sistema

##### 4.1.1. Diseño de la interfase

La interfase es el resultado de todas las ventanas y objetos que aparecen en las ventanas y que el usuario puede ver y manipular

Se llevó a cabo el diseño y la programación para enlazar la base de datos a visual basic

Se diseño y elaboró el mecanismo de inferencia que emplea el diseño factorial  $2^3$

Se llevó a cabo la programación para enlazar este mecanismo a visual basic

Se diseño y elaboró la barra de menú

Se diseño y elaboró la barra de herramientas

Se diseño y elaboró el logotipo, el cual es un fragmento de un dibujo elaborado por Ricardo Rodríguez Rodríguez alumno de 2° de secundaria, el cual se puede observar en la figura 4-1.

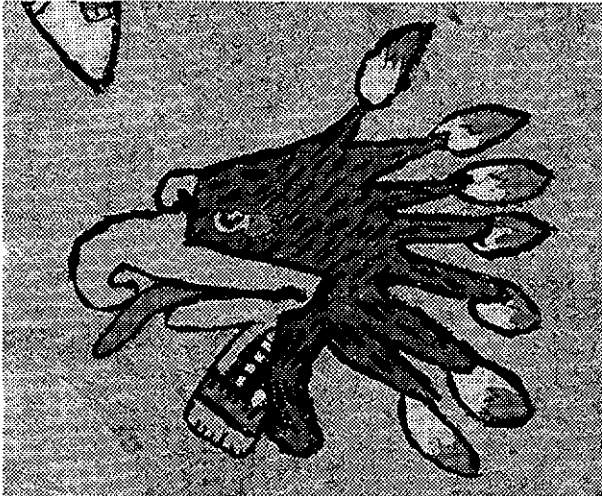


Figura 4-1. Logotipo empleado en el sistema experto desarrollado

Se diseño y elaboró el nombre de la aplicación el cual es: **SEDMAN**

Se llevó a cabo la compilación del programa para que pueda instalarse en cualquier computadora que cuente con las características mencionadas en hardware y software empleado

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

En la figura 4-2 se presenta el logotipo y el nombre de la aplicación, aparece en la ventana al cargar el programa y en el menú ayuda en acerca de

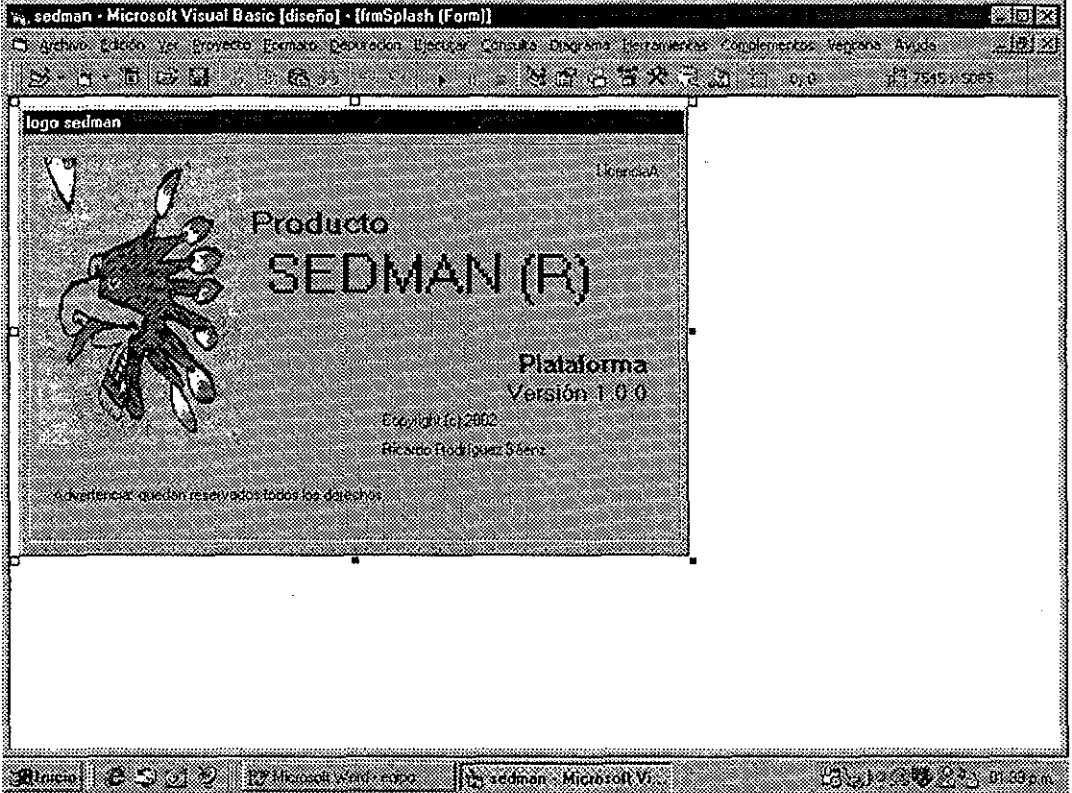


Figura 4-2 Logotipo y nombre de la aplicación

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

#### 4.2. Base de conocimiento

El sistema de ayuda esta diseñado para presentar en la barra de menú los capítulos, que incluyen: propiedades fisicoquímicas, métodos de separación, técnicas analíticas, diseño factorial y bibliografía. En la figura 4-3 se puede observar la ventana de propiedades fisicoquímicas

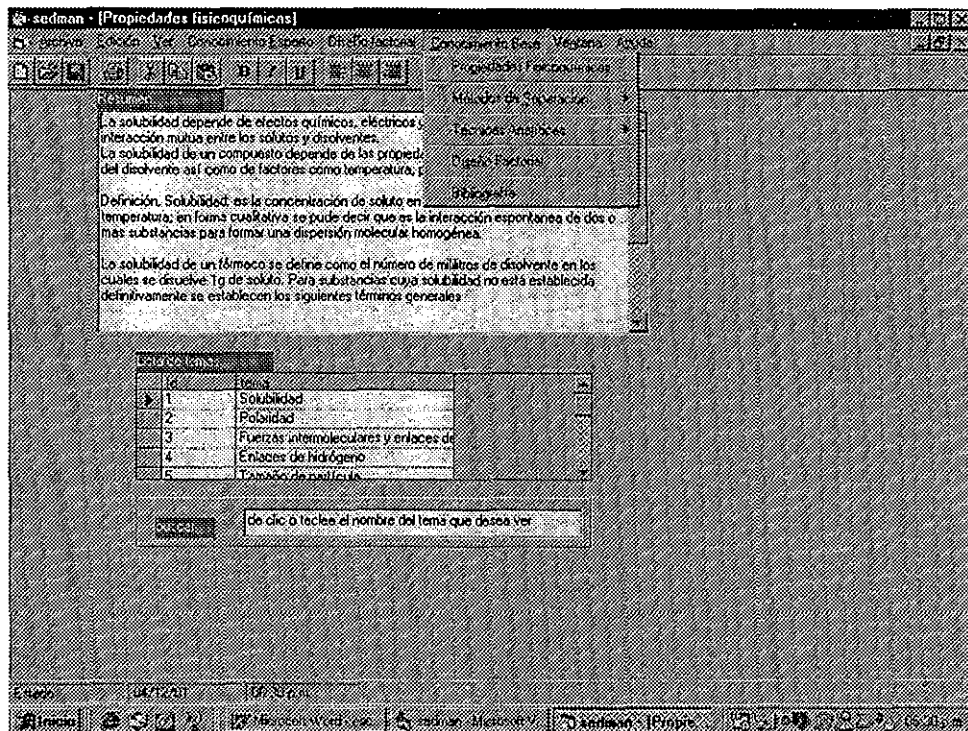


Figura 4-3 Ventana propiedades fisicoquímicas

Al dar clic en el tema seleccionado de la barra de menú, automáticamente se despliega la ventana en la que aparece el resumen del tema, en la parte inferior a este aparece un desplegado con los nombres de los temas incluidos en el capítulo seleccionado, los cuales pueden ser llamados dando clic en el nombre del tema

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

En la figura 4-4 se presenta la ventana para el tema de separaciones en analítica y cromatografía, al igual que la ventana de propiedades fisicoquímicas es una ventana de consulta

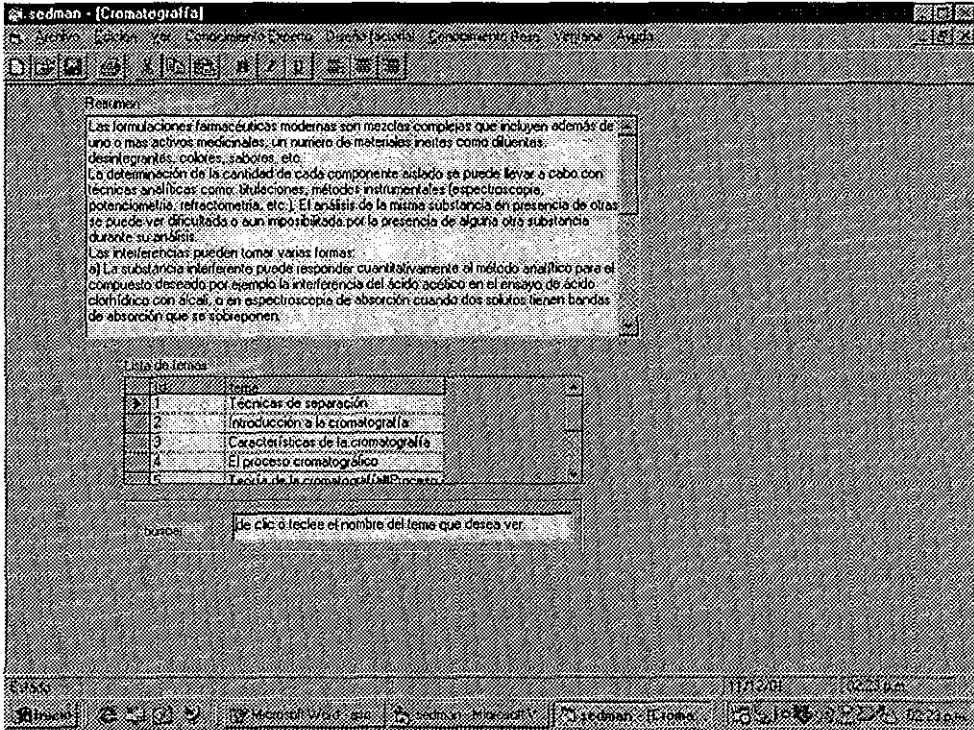


Figura 4-4. Ventana separaciones y cromatografía

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

En la figura 4-5 se presenta la ventana para el tema de técnicas analíticas, el tema principal es la técnica de espectrofotometría uv visible

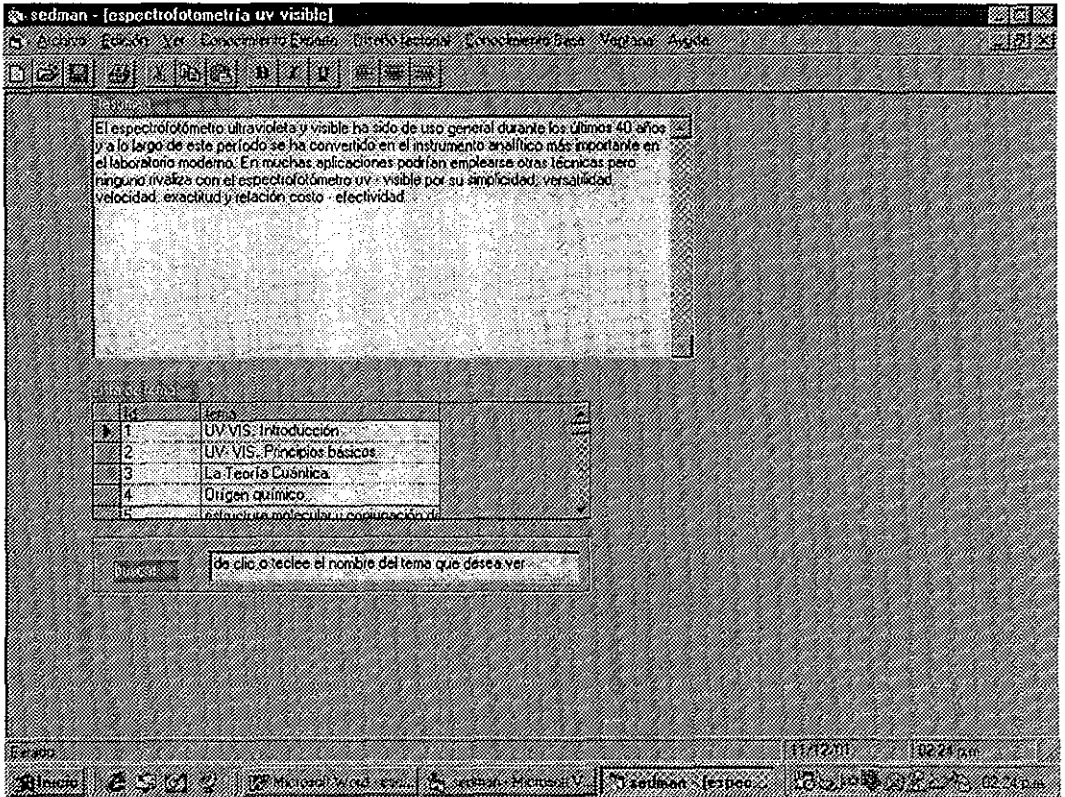


Figura 4-5. Ventana espectrofotometría ultravioleta visible

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

En la figura 4-6 se presenta la ventana conocimiento básico, diseño factorial

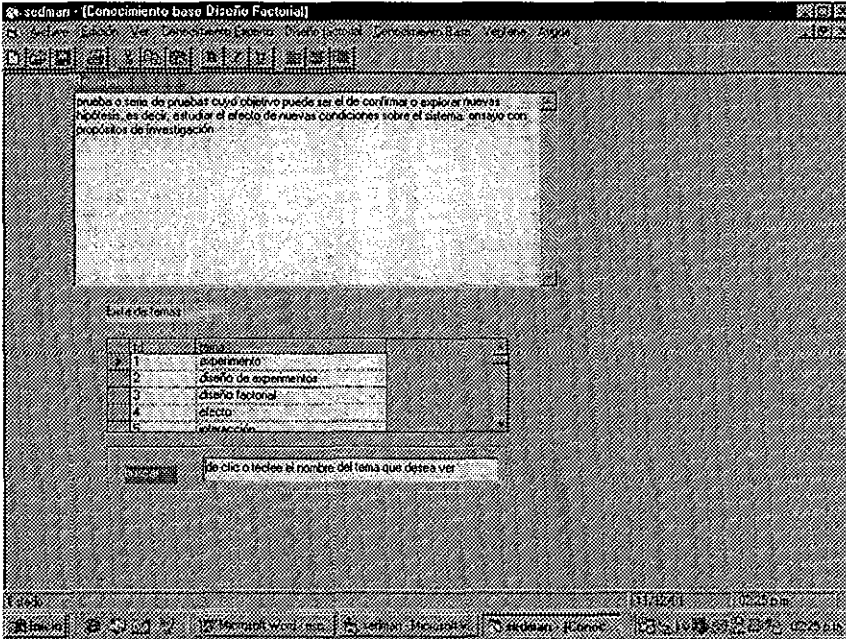


Figura 4-6. Ventana diseño factorial

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

En la figura 4-7 se presenta la ventana para la bibliografía

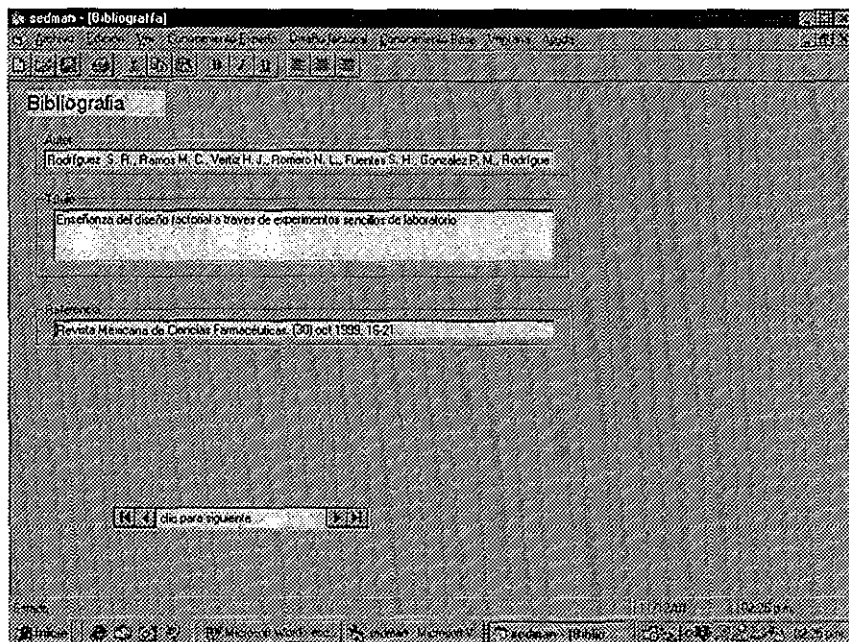


Figura 4-7 Ventana bibliografía

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### 4.3. Mecanismo de inferencia (Montgomery, 1984; Murril, 1972; Monro, 1985; Joyanes, 1996)

Este mecanismo tiene las siguientes características

- acepta la introducción de tres factores a dos niveles y la definición de la respuesta que se va a medir
- establece el diseño experimental para un diseño factorial  $2^3$
- realizada la experimentación, acepta la introducción de los resultados
- ejecuta el análisis estadístico del diseño empleando el algoritmo de Yates como esta descrito en el capítulo de generalidades
  - el resultado obtenido es la tabla de análisis de varianza, del diseño
  - y el modelo matemático, que es un polinomio, para un diseño factorial  $2^3$
- mediante la opción del calculo de  $Y$  estimada, permite realizar estimaciones basadas en el modelo matemático obtenido

En la figura 4-8 se presenta el diagrama de flujo empleado

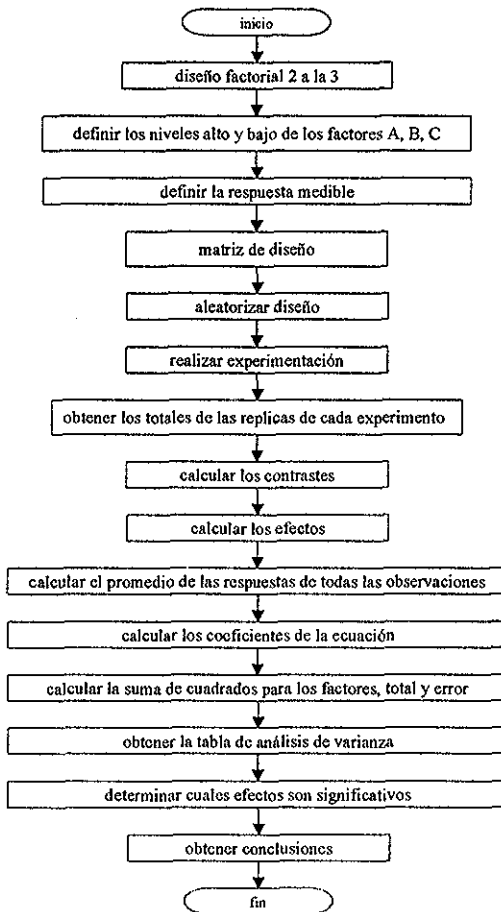


Figura 4-8 Diagrama de flujo para desarrollar el diseño factorial  $2^3$



Se encuentra en el menú diseño factorial y consta de varias ventanas las cuales se presentan a continuación; en la figura 4-9 se puede observar la ventana para definir el diseño, esta es una ventana interactiva, cuando se abre la ventana, aparecen cargados datos de ejemplo, en esta ventana se deben definir los factores A, B y C. Una vez que se introduce factor, nombre, unidades y niveles se da clic en siguiente factor hasta 3 factores, en esta ventana también se define el factor de respuesta, nombre del factor de respuesta y las unidades de respuesta.

El inicio incluye un ejemplo en el que se investiga el efecto de los factores A temperatura, B pH y C concentración de titulante (solución de nitrato de plata), sobre la titulación de cloruro de sodio midiendo volumen de titulante consumido (ml), como respuesta, en un diseño factorial  $2^3$ .

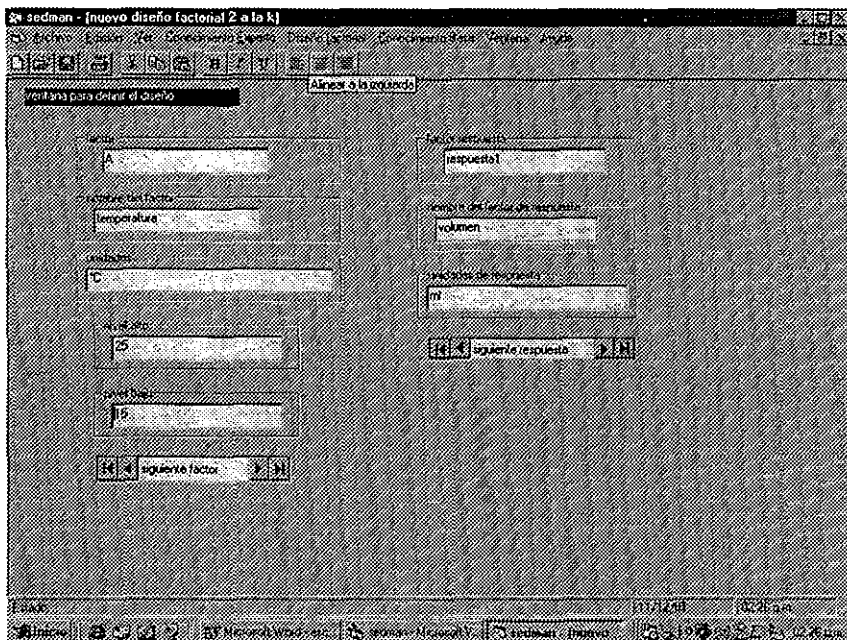


Figura 4-9 Ventana para definir el diseño factorial

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

En la figura 4-10 se presenta la matriz del diseño experimental, la cual indica cada uno de los experimentos que debe realizar el analista

Figura 4-10 Matriz del diseño experimental

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

Una vez que se realiza la experimentación, el siguiente paso es capturar las respuestas obtenidas en cada uno de los experimentos que realizó el analista, para que el programa realice los siguientes cálculos. En la figura 4-11 se presenta la ventana interactiva para capturar las respuestas obtenidas en la experimentación.

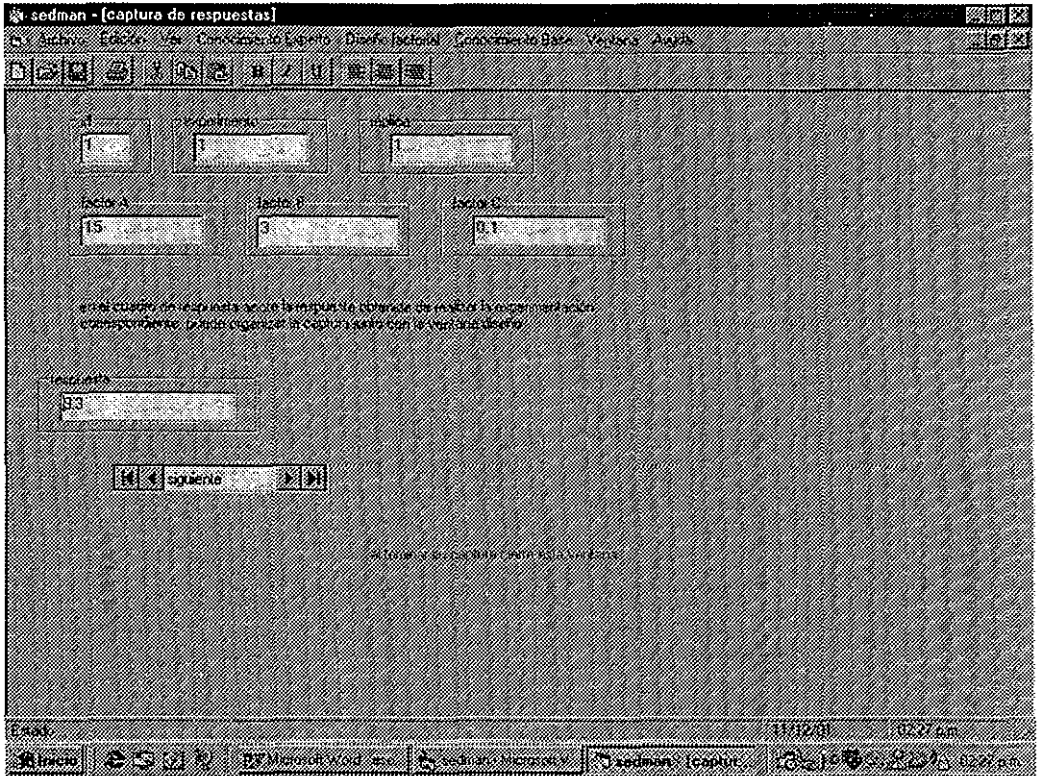


Figura 4-11 Ventana interactiva para la captura de la respuesta.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

En la figura 4-12 se presenta la ventana para verificar que las respuestas capturadas son las obtenidas en el diseño, es posible mantener abiertas varias ventanas y organizar estas ventanas empleando el menú ventana y las opciones de mosaico, vertical y cascada

sodman - [verifica la captura de la respuesta]

Archivo Edición Ver Conocimiento Especial Dirección de Conocimiento Base Herramienta Ayuda

Edita la tabla de la respuesta, verifica sus resultados:

	id	experimento	repeticiones	temperatura	pH	concentración	respuesta	u
	1	1	1	15	3	0.1	9.3	m
	2	1	2	15	9	0.1	9.2	m
	3	1	1	25	3	0.1	8.8	m
	4	2	2	25	3	0.1	8.5	m
	5	1	1	15	12	0.1	7.9	m
	6	2	2	15	12	0.1	8.5	m
	7	4	1	25	12	0.1	8.6	m
	8	4	2	25	12	0.1	8.4	m
	9	1	1	15	3	0.2	4.4	m
	10	2	2	15	3	0.2	4.2	m
	11	1	1	25	3	0.2	4.35	m
	12	2	2	25	3	0.2	4.3	m
	13	1	1	15	12	0.2	4.3	m
	14	2	2	15	12	0.2	4.4	m
	15	1	1	25	12	0.2	4.5	m
	16	2	2	25	12	0.2	4.2	m

Estado: 13/1/2011 10:27 a.m.

Inicio Microsoft Word... sodman - Microsoft V... sodman - [verifica... 13/1/2011 10:27 a.m.

Figura 4-12. Ventana para verificar que los datos de respuesta obtenidos coinciden con los capturados

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

En la figura 4-13 se presenta la ventana reporte de la tabla de análisis de varianza. Se reporta el  $F_0$  calculado para cada factor, el cual deberá compararse contra una tabla de F de acuerdo al nivel de significancia requerido por el analista.

suma de cuadrados	cuadrado medio	F0
1.89062500000008E-02	1.89062500000008E-02	0.470817120622678
0.31640625	0.31640625	7.87937743190809
74.60640625	74.60640625	1857.90272373576
0.19140625	0.19140625	4.76653696498144
0.406406250000001	0.406406250000001	10.1206225680953
2.64062500000005E-02	2.64062500000005E-02	0.657587548638267
0.213906249999999	0.213906249999999	5.3268482490282
0.32124999999994	4.0156249999925E-02	
76.1010937499999		

Figura 4-13. Ventana tabla de análisis de varianza.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

En la figura 4-14 se presenta la ventana del reporte de la ecuación completa obtenida para un diseño factorial  $2^3$

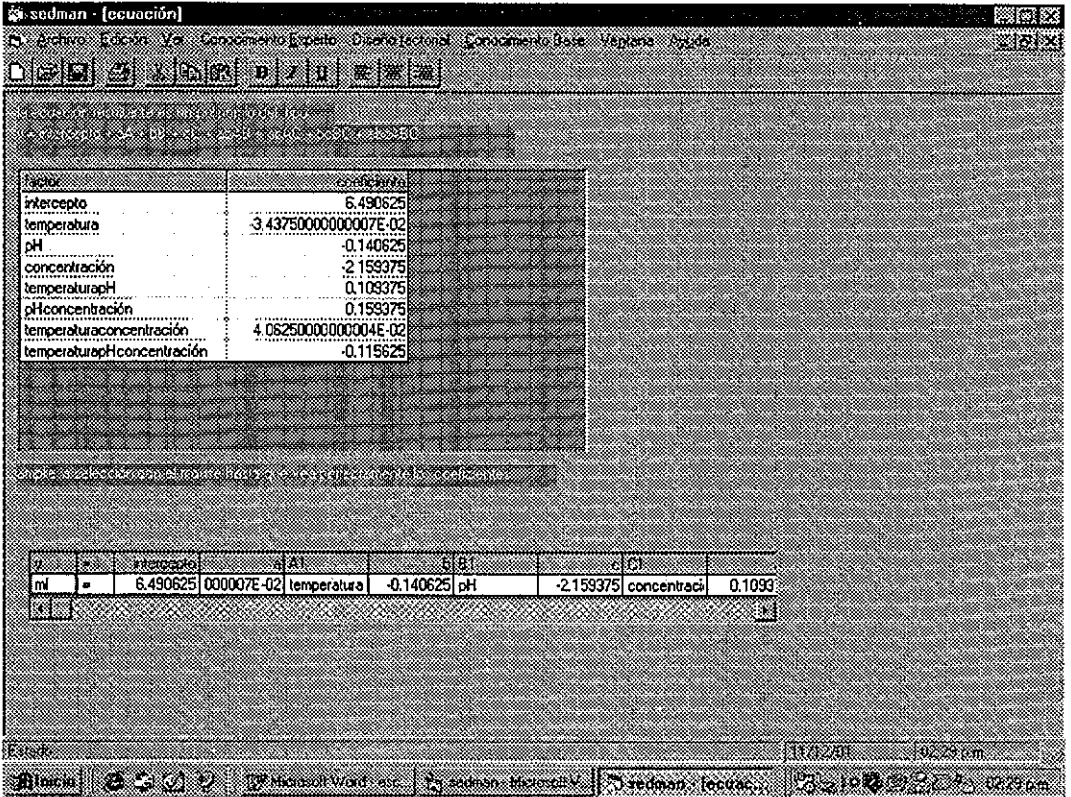


Figura 4-14 Ventana de reporte de la ecuación

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



En la figura 4-15 podemos ver la ventana para el cálculo de Y estimada, el algoritmo esta diseñado para calcular el código de cada factor de acuerdo a los valores alto y bajo empleados en la ejecución del diseño y que definen al polinomio obtenido en la figura 4-14 de la ventana de la ecuación; los coeficientes de este polinomio deben capturarse como se indica abajo, una vez hecha la captura tanto de los nuevos valores de los factores y de los coeficientes de la ecuación se ejecuta y al oprimir la tecla **calcular Y estimada** en la celda del lado izquierdo se podrá observar el valor estimado de Y

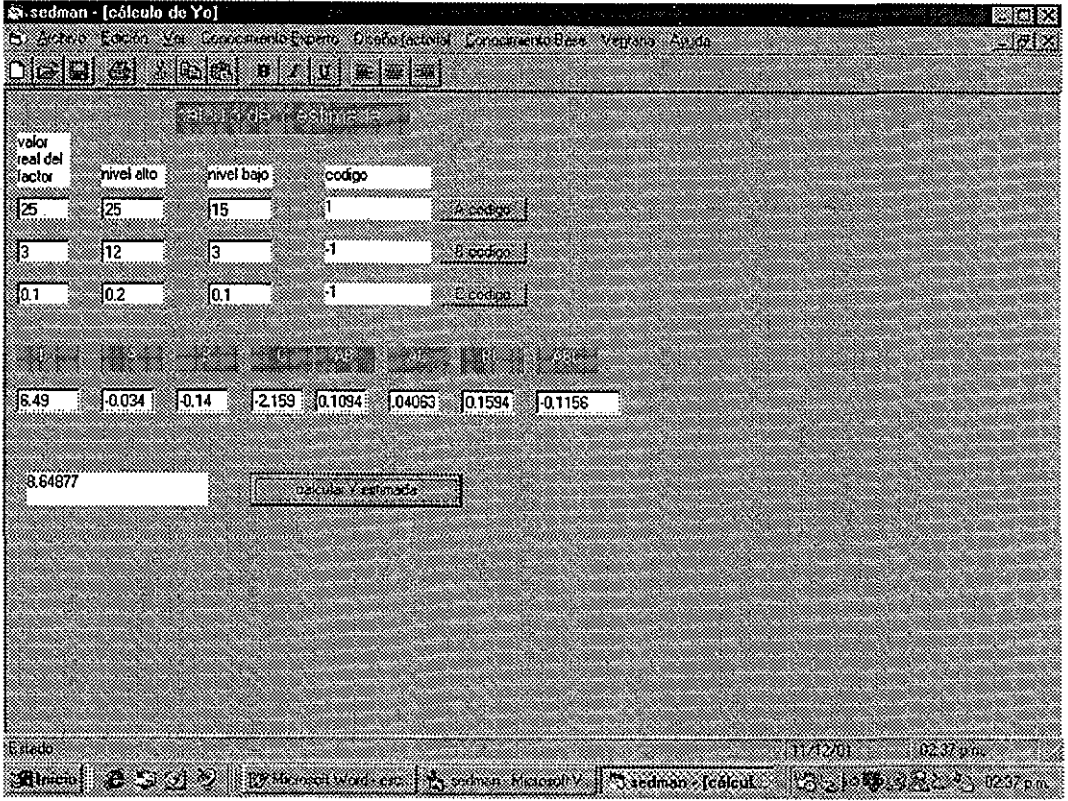


Figura 4-15 Ventana Y estimada

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

#### 4.4. La ayuda explicativa

En la figura 4-16 se presenta el diagrama de flujo que se puede emplear como guía para planear la experimentación (Naghi, 1992).

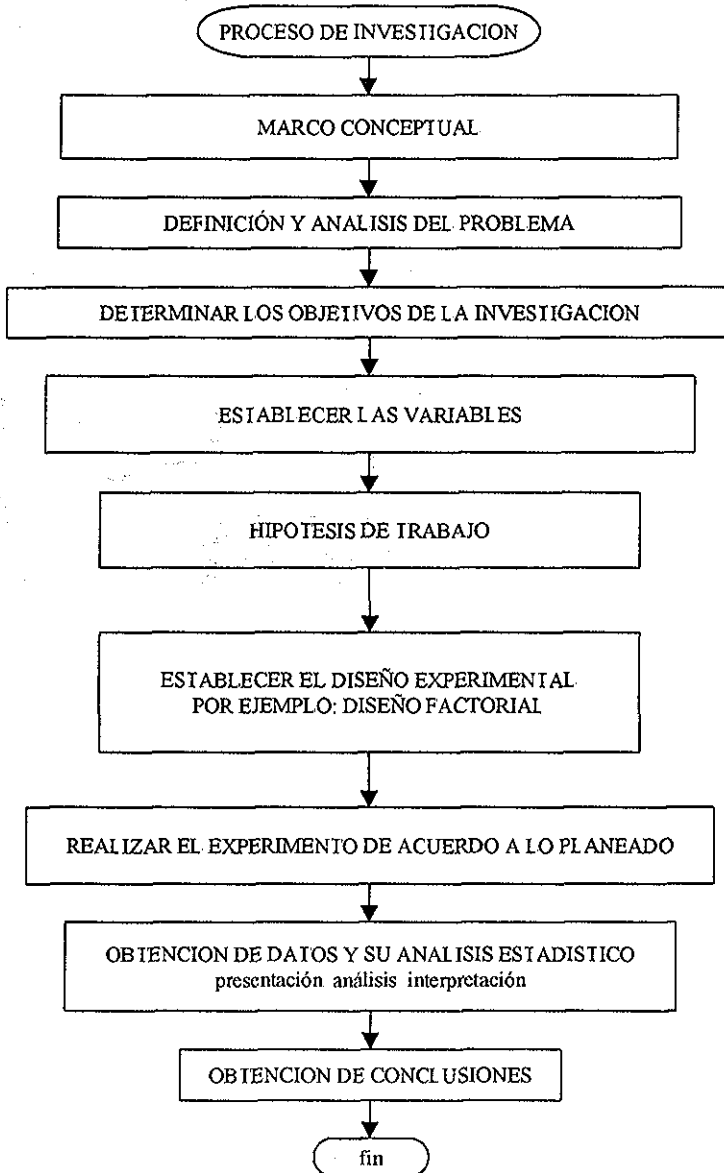


Figura 4-16 Diagrama de flujo diseño experimental



En la figura 4-17 se puede observar la ventana en la que se presentan algunos conceptos que el analista debería tomar en cuenta para planear la etapa experimental

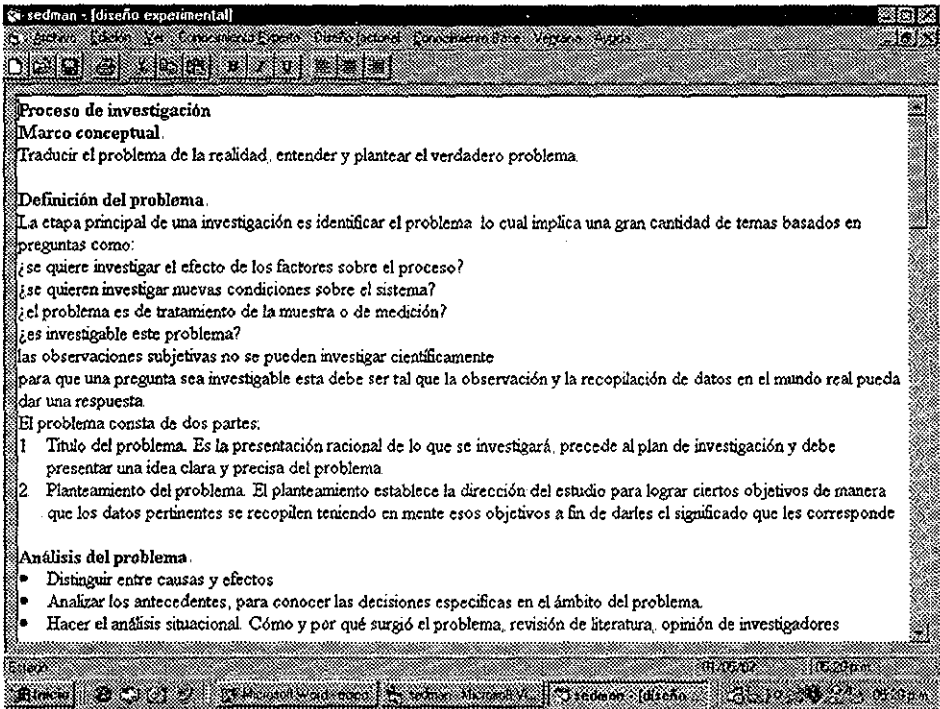


Figura 4-17 Ventana diseño experimental

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

En la figura 4-18 se puede observar la ventana en la que se describen los pasos para realizar el cálculo del diseño factorial (Montgomery, 1984)

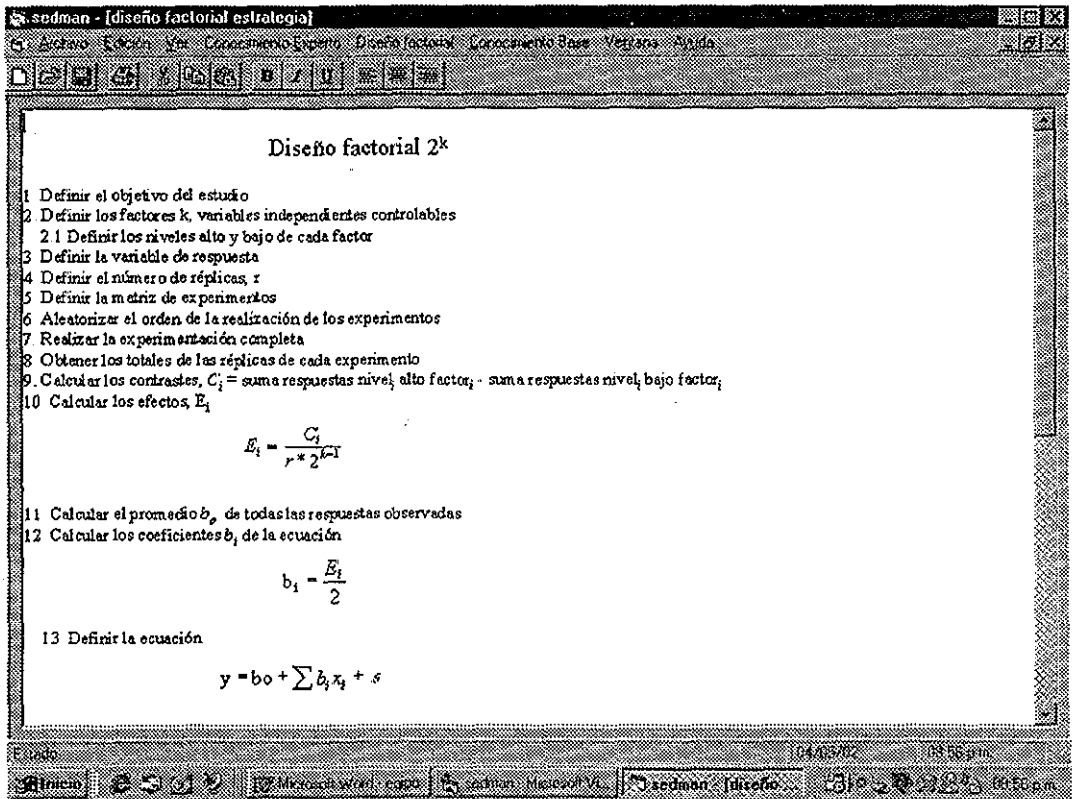


Figura 4-18 Ventana para describir el cálculo del diseño factorial

Una vez que el analista ha realizado el procedimiento para llegar hasta este punto, se podría esperar que:

- obtenga respuesta para la resolución a su problema
- pueda definir en que dirección deben moverse los factores seleccionados, en caso de que decida continuar con un nuevo experimento
- determinar que los factores seleccionados no son relevantes para la resolución del problema
- definir nuevos factores

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

#### 4.5. Validación del sistema

**Ejemplo de la titulación de NaCl con AgNO<sub>3</sub>** (Rodríguez, 1999; Montgomery, 1984; Bolton, 1990; Gearien, 1969).

El siguiente es un ejemplo, el cual se ha evaluado empleando el sistema desarrollado de acuerdo a los resultados que se pueden observar en las figuras 4-9 a la 4-14

El objetivo del ejemplo es investigar el efecto de los factores A temperatura, B pH y C concentración de titulante, solución de nitrato de plata, sobre la titulación de cloruro de sodio la variable de respuesta es el volumen de titulante consumido (ml), en un diseño factorial 2<sup>3</sup>. La metodología seguida se ha descrito en (Rodríguez, 1999)

##### 4.5.1. Matriz de diseño

En esta sección se llevará a cabo el análisis estadístico del diseño factorial 2<sup>3</sup> paso a paso. En la tabla 4-1 se pueden ver los factores del diseño

Tabla 4-1. Definición de los niveles de las variables independientes a controlar.

FACTOR	NIVEL BAJO	código nivel bajo	NIVEL ALTO	código nivel alto
A. temperatura	15°C	-	25°C	+
B. pH	3	-	12	+
C. concentración de titulante	0.1N	-	0.2N	+

En la tabla 4-2 se puede observar la matriz de diseño en la que los niveles de los factores están codificados como -1 nivel bajo y 1 nivel alto, y las respuestas obtenidas después de realizar dos replicas.

Tabla 4-2. Matriz de diseño y respuestas obtenidas para el diseño factorial 2<sup>3</sup>

tratamiento	A	B	C	AB	BC	AC	ABC	replica 1	replica 2	suma
1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	9.3	9.2	18.5
2	1	-1	-1	-1	1	-1	1	8.8	8.5	17.3
3	-1	1	-1	-1	-1	1	1	7.9	8.5	16.4
4	1	1	-1	1	-1	-1	-1	8.6	8.4	17
5	-1	-1	1	1	-1	-1	1	4.4	4.2	8.6
6	1	-1	1	-1	1	1	-1	4.5	4.3	8.6
7	-1	1	1	-1	1	-1	-1	4.3	4.4	8.7
8	1	1	1	1	1	1	1	4.5	4.2	8.7

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

##### 4.5.2. Cálculo del contraste

El cálculo de los contrastes se lleva a cabo con el siguiente procedimiento:

$\Sigma(+)$  = suma de las respuestas de las réplicas del nivel alto del factor, por ejemplo para el factor A,

$$\Sigma(+)= 17.3 + 17.0 + 8.65 + 8.7 = 51.65$$

$\Sigma(-)$  la suma de las respuestas de las réplicas de las réplicas del nivel bajo del factor, por ejemplo para el factor A:

$$\Sigma(-) = 18.5 + 16.4 + 8.6 + 8.7 = 52.2$$

El contraste  $C_i$ , es la diferencia entre la suma de las respuestas de las réplicas del nivel alto menos la suma de las respuestas de las réplicas del nivel bajo del factor;

$$\text{contraste} = \Sigma(+)-\Sigma(-) = 51.65 - 52.2 = -0.55$$

En la tabla 4-3 se puede observar el contraste de cada factor.

Tabla 4-3 Contrastes calculados del diseño factorial  $2^3$ .

	A	B	C	AB	BC	AC	ABC
contraste	-0.55	-2.25	-34.55	1.75	2.55	0.65	-1.85

#### 4.5.3. Cálculo del efecto

Utilizando los contrastes se realiza el cálculo del efecto de cada factor mediante:

$$\text{efecto de factor} = \frac{\text{contraste}}{r 2^{k-1}}$$

$r$  = número de réplicas, en este caso,  $r = 2$

$k$  = número de factores,  $k = 3$

En la tabla 4-4 se puede observar el valor del efecto de cada factor.

Tabla 4-4 Efectos calculados del diseño factorial  $2^3$

	A	B	C	AB	BC	AC	ABC
	-0.0688	-0.2813	-4.3188	0.2188	0.3188	0.0813	-0.2312

#### 4.5.4. Cálculo de los coeficientes de la ecuación.

Los coeficientes de la ecuación de regresión se obtienen como,

$$\text{coeficiente} = \frac{\text{efecto}}{2}$$

En la tabla 4-5 se pueden observar los coeficientes obtenidos para el polinomio

Tabla 4-5 coeficientes de la ecuación de regresión

	A	B	C	AB	BC	AC	ABC
coeficiente	-0.0344	-0.1406	-2.1594	0.1094	0.1594	0.0406	-0.1156

El término independiente de la ecuación de regresión es el promedio de los resultados de las réplicas, es decir,  $(9.3 + 8.8 + \dots + 4.2) / 16 = 6.49$

La ecuación de regresión completa, en factores codificados, obtenida utilizando como respuesta el volumen de nitrato de plata consumido en la titulación es:

$$Y = 6.49 - 0.0344A - 0.1406B - 2.1594C + 0.1094AB + 0.1594BC + 0.0406AC - 0.1156ABC$$

#### 4.5.5. Hipótesis de prueba

En la tabla 4-6 se puede observar que la hipótesis de prueba es:

Tabla 4-6. Hipótesis de trabajo.

hipótesis nula	$H_0: E_i = 0$	El efecto $E_i$ es cero
hipótesis alternativa	$H_1: E_i \neq 0$	El efecto $E_i$ es diferente de cero

#### 4.5.6. Cálculo del análisis de varianza.

##### 4.5.6.1. Suma de cuadrados.

La suma de cuadrados de cualquier factor o interacción se obtiene de:

$$SC_{factor} = \frac{\text{contraste}^2}{n2^k}$$

$n = r$  = número de replicas

$k$  = número de factores

$$\text{suma total de cuadrados} = \frac{\sum \sum \sum Y^2_{ijk} - Y^2_{\dots}}{N}$$

$\sum \sum \sum Y^2_{ijk}$  = suma de cuadrados de las respuestas observadas =  $(9 \cdot 3^2 + 9 \cdot 2^2 + \dots + 4 \cdot 2^2) = 750.1525$

$Y^2_{\dots}$  = el cuadrado de la suma de todas las observaciones =  $(4 \cdot 4 + 4 \cdot 35 + \dots + 8 \cdot 5)^2 = 103.85^2 = 10784.82$

$N$  = numero total de observaciones = 16

Suma total de cuadrados =  $\sum \sum \sum Y^2_{ijk} - (Y^2_{\dots}/N) = 76.1011$

La suma de cuadrados del error se obtiene por diferencia

$$SC_E = SC_T - SC_A - SC_B - SC_C - SC_{AB} - SC_{AC} - SC_{BC} - SC_{ABC}$$

$$SC_E = 0.32125$$

##### 4.5.6.2. Grados de libertad

Los grados de libertad se obtienen de acuerdo a la tabla 4-7, en donde las letras mayúsculas indican los niveles de cada factor es decir 2 niveles de cada factor, alto y bajo, p. ej. para el factor A, son A niveles - 1 = 2 - 1 = 1

$$\text{Grados de libertad del error} = (r - 1) 2^k = (2 - 1) 2^3 = 8$$

$r$  = número de replicas

$k$  = número de factores

$$\text{Grados de libertad totales} = r 2^k - 1 = 2(2^3) - 1 = 2(8) - 1 = 16 - 1 = 15$$

#### 4.5.6.3. Cálculo de F

El cuadrado medio es igual a la suma de cuadrados dividido entre los grados de libertad y la F es igual al cuadrado medio dividido entre el cuadrado medio del error, este cálculo se realiza para cada uno de los factores e interacciones. En la tabla 4-7 se puede observar la tabla de análisis de varianza.

Tabla 4-7. Tabla de anadeva

fuelle de variación	grados de libertad	suma de cuadrados	cuadrado medio	Fo
A	1	0.0189	0.0189	0.471
B	1	0.3164	0.3164	7.879
C	1	74.6064	74.6064	1857.903
AB	1	0.1914	0.1914	4.767
BC	1	0.4064	0.4064	10.121
AC	1	0.0264	0.0264	0.658
ABC	1	0.2139	0.2139	5.327
error	8	0.3212	0.0402	
total	15	76.1011		

#### 4.5.6.4. Prueba de hipótesis.

La F teórica con 95% de confianza (ó un  $\alpha$  de 5%) 1 grado de libertad en el numerador y 8 grados de libertad en el denominador observada en tablas es 5.32

Cuando  $F_o$  es menor que F de tablas, se concluye que no se cuenta con evidencia suficiente para rechazar  $H_o$ , y se acepta  $H_o$  que dice que el efecto del factor es igual a cero, es decir su efecto no es significativo con un nivel de confianza de 95%. Para los factores A y B y las interacciones de los factores no se cuenta con suficiente evidencia para rechazar  $H_o$ , por lo que se puede concluir que el efecto de la temperatura y el pH sobre el volumen de titulante no es significativo.

Cuando  $F_o$  es mayor que F de tablas, se rechaza la hipótesis nula  $H_o$  y se acepta la hipótesis alternativa  $H_1$  de que el efecto es diferente de cero es decir el factor tiene un efecto significativo que es importante para el proceso, al examinar la tabla de análisis de varianza encontramos para el factor C concentración del titulante, que  $F_o = 1857.9$  es mayor que F de tablas = 5.32 por lo que se rechaza  $H_o$  y se acepta  $H_1$ . Por lo que se puede concluir que el efecto de la concentración de titulante C es significativo con un nivel de confianza de 95%, así mismo la relación de la concentración de titulante con el volumen consumido, es inversa, al aumentar la concentración disminuye el volumen consumido.

#### 4.5.6.5. Análisis de residuales.

En la tabla No 4-8 y en las figuras 4-19 y 4-20 se pueden observar: la gráfica de residuales calculados para este proceso y la gráfica de normalidad de los efectos, empleando el modelo obtenido, lo cual en términos generales nos indica que el modelo satisface los requisitos de normalidad.

Tabla No. 4-8 Tabla de residuales

y	Y estimada	e
9.3	8.83	0.48
9.2	8.83	0.38
8.8	8.76	0.04
8.5	8.76	-0.26
7.9	8.54	-0.64
8.5	8.54	-0.04
8.6	8.48	0.13
8.4	8.48	-0.07
4.4	4.51	-0.11
4.2	4.51	-0.31
4.35	4.44	-0.09
4.3	4.44	-0.14
4.3	4.23	0.07
4.4	4.23	0.17
4.5	4.16	0.34
4.2	4.16	0.04

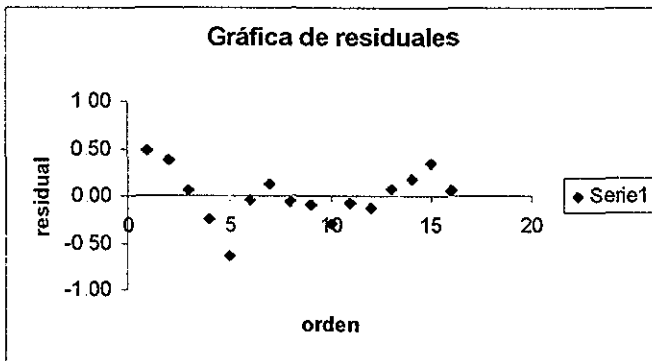


Figura 4-19 Gráfica de residuales

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

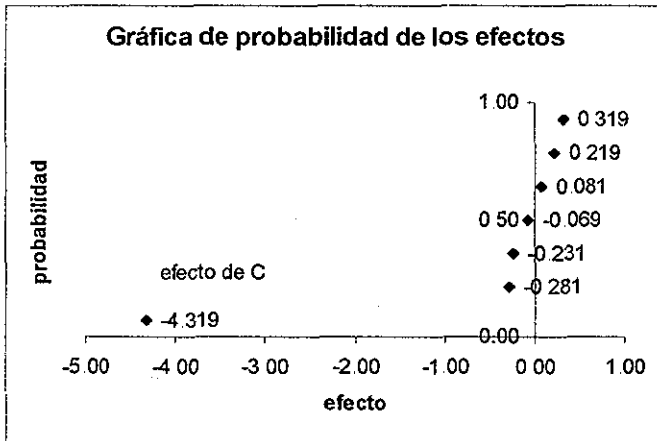


Figura 4-20. Gráfica de probabilidad de los efectos



#### 4.5.7. Diseño con Design ease.

Se capturo el mismo diseño en el software Design Ease. En La figura 4-21 se puede observar la matriz de diseño generada en design ease, la cual concuerda con la matriz de la figura 4-10 del sistema desarrollado y la tabla 4-2 del cálculo paso a paso

id	level	NUM	CLASS	Temperature Factor	Oil Factor	Pressure Factor	Calorific Power
1	1	3	1	15.00	3.00	0.10	9.30
2	1	8	1	15.00	3.00	0.10	9.20
3	2	15	1	25.00	3.00	0.10	8.60
4	2	8	1	25.00	3.00	0.10	8.50
5	3	9	1	15.00	12.00	0.10	7.80
6	3	5	1	15.00	12.00	0.10	6.50
7	4	10	1	25.00	12.00	0.10	8.60
8	4	11	1	25.00	12.00	0.10	8.40
9	5	1	1	15.00	3.00	0.20	4.40
10	5	2	1	15.00	3.00	0.20	4.20
11	6	7	1	25.00	3.00	0.20	4.35
12	6	14	1	25.00	3.00	0.20	4.30
13	7	13	1	15.00	12.00	0.20	4.30
14	7	12	1	15.00	12.00	0.20	4.40
15	8	16	1	25.00	12.00	0.20	4.50
16	8	4	1	25.00	12.00	0.20	4.20

Figura 4-21 Matriz de diseño en la ventana del software design ease

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

En la figura 4-22 se pueden observar los resultados obtenidos al ejecutar el cálculo de los coeficientes de la ecuación y la suma de cuadrados empleando el software design ease; como se puede observar los resultados concuerdan con los obtenidos al emplear el sistema desarrollado

In Model	Term	Coefficient	Standardized Effect	Sum of Squares
X	A (temperatura)	-0.0344	0.0588	0.01691
X	B (pH)	0.1406	-0.2912	0.31841
X	C (concent)	-2.1594	-4.3188	74.60641
X	AB	0.1094	0.2188	0.19141
X	AC	0.0406	0.0012	0.02641
X	BC	0.1584	0.3187	0.40641
X	ABC	-0.1156	-0.5312	0.21321

Figura 4-22 Ventana de resultados de los coeficientes y la suma de cuadrados de design ease

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

En la figura 4-23 se puede observar el análisis del modelo efectuado por design ease se pueden observar los coeficientes estimados del modelo matemático y la significancia de cada uno de los factores los resultados concuerdan con los obtenidos al emplear el sistema desarrollado

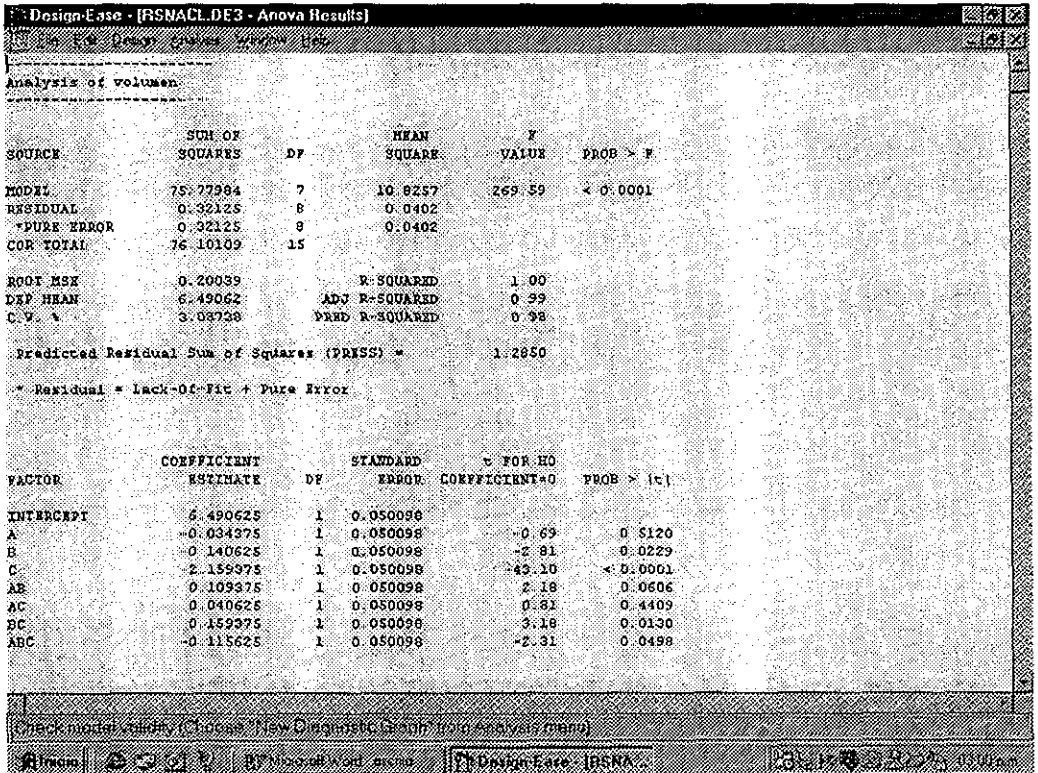


Figura 4-23 Ventana análisis del diseño de design ease

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Como puede observarse el modelo matemático obtenido al analizar el diseño empleando el sistema desarrollado figuras 4-13 análisis de varianza y 4-14 modelo, el cálculo paso a paso sección 4.5.4 cálculo de los coeficientes del modelo y tabla 4-7 análisis de varianza y empleando el software design ease figura 4-23, es el siguiente:

$$Y = 6.49 - 0.0344A - 0.1406B - 2.1594C + 0.1094AB + 0.1594BC + 0.0406AC - 0.1156ABC$$

En los tres casos, también, se puede observar cuáles factores son significativos quedando a juicio del analista emplear el modelo completo o emplear el modelo, únicamente, con los factores que resultan significativos para el experimento

## 5. Discusión.

### 5.1. Empleo del modelo matemático obtenido.

Las unidades de diseño de un diseño factorial de 2 niveles se derivan en general de la siguiente expresión:

$$\text{Unidad de Diseño} = \frac{X_{\text{nivel}} - \overline{X_{\text{niveles}}}}{X_{\text{alta}} - X_{\text{baja}}}$$

2

en el caso de la concentración:

$$\text{para } C = 0.2, \text{ unidad de diseño alto} = 0.2 - 0.15 / ((0.2 - 0.1) / 2) = 0.05 / 0.05 = 1$$

$$\text{para } C = 0.1, \text{ unidad de diseño bajo} = 0.1 - 0.15 / ((0.2 - 0.1) / 2) = -0.05 / 0.05 = -1$$

Esta relación nos sirve para codificar el coeficiente de la unidad de diseño, coeficientes de la ecuación de regresión, una vez codificados, el resultado se incluye en la ecuación obtenida completa y se calcula la  $Y_{\text{estimada}}$ , este nuevo valor se puede tabular para observar los nuevos valores que funcionan para encontrar la mejor respuesta al problema que se desea resolver.

En este ejemplo utilizaremos la ventana del sistema denominada cálculo de  $Y_0$  de la figura 4-15

$$\text{Con: } Y = 6.49 - 0.0344A - 0.1406B - 2.1594C + 0.1094AB + 0.1594BC + 0.0406AC - 0.1156ABC$$

Ejemplo

$$Y_0 = 6.49 - 0.0344A - 0.1406B - 2.1594C + 0.1094AB + 0.1594BC + 0.0406AC - 0.1156ABC$$

Para  $C = 0.1$

$$Y_{\text{estimada}} = 8.28$$

promedio encontrado = 8.65

Para  $C = 0.2$

$$Y_{\text{estimada}} = 4.69$$

promedio encontrado = 4.33

Empleando la ventana de  $Y_0$ , figura 4-15, realizamos el cálculo del volumen que se gastaría si se varía la concentración de titulante, manteniendo el pH a 3 y la temperatura a 25°C. En la tabla 5-1 puede observar el resultado

Tabla 5-1. Estimación del volumen  $Y_0$ , al variar la concentración de titulante a pH y temperatura constantes

concentración	volumen (ml)
0.01	11.51
0.05	10.07
0.1	8.28
0.15	6.49
0.2	4.69
0.3	1.11
0.5	-6.06

Empleando la ventana de  $Y_0$ , realizamos el cálculo del volumen que se gastaría si se varía el pH, manteniendo la concentración de titulante a 0.01N y la temperatura a 25°C. En la tabla 5-2, podemos observar el resultado.

Tabla 5-2 Estimación del volumen  $Y_0$ , al variar el pH a concentración y temperatura constantes

pH	volumen (ml)
2	8.30
3	8.28
5	8.25
7	8.21
10	8.16
12	8.13
14	8.10

Empleando la ventana de  $Y_0$ , realizamos el cálculo del volumen que se gastaría si se varía la temperatura, manteniendo la concentración de titulante a 0.01N y el pH a 3. En la tabla 5-3 podemos observar el resultado.

Tabla 5-3. Estimación del volumen  $Y_0$ , al variar la temperatura a pH y concentración constantes

temperatura °C	volumen (ml)
5	10.96
10	10.29
15	9.62
25	8.28
30	7.61
40	6.27
50	4.93

**TESIS CON FALLA DE ORIGEN**

En estas tres tablas se puede observar el efecto estimado, empleando el modelo, al variar la concentración de titulante, el pH y la temperatura sobre la respuesta que es el volumen gastado. La utilidad práctica de estas estimaciones quedarían al juicio del analista.

### 5.2. Ventajas del sistema desarrollado.

La primera ventaja del sistema es la posibilidad de consultar cada una de las bases de conocimiento y tener acceso inmediato a los conocimientos básicos que nos ayudarán a seleccionar las variables relevantes en estos procesos.

La siguiente ventaja del sistema es la posibilidad de consultar una ayuda experta para planear el experimento.

Otra ventaja del sistema es la posibilidad de utilizar el modelo matemático completo para hacer estimados que pueden ayudar en la resolución de un problema real.

## 6. Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos se ha demostrado que es posible desarrollar un sistema experto basado en visual basic empleando como mecanismo de inferencia el diseño factorial  $2^3$  el cual se puede utilizar en la resolución de problemas sobre aplicaciones en química analítica durante el desarrollo de métodos analíticos

Se logró desarrollar y presentar en el sistema

- Una base de datos con conocimiento básico
- Una base de datos que incluye conocimiento experto
- Una unidad de inferencia basada en el diseño factorial  $2^3$
- La integración de estas unidades en una solo sistema
- La presentación de este sistema en una interfase diseñada empleando el software microsoft visual basic 6 0
- y se obtuvo la presentación final como un software
- En cuanto a la validación se discutió la aplicación del sistema sobre un problema de química analítica

## 7. Bibliografía

- 1 Aitken P, G, Visual basic 6 Manual completo de programación Ed Paraninfo México (1999)
- 2 Barker T. I, Quality by experimental design Marcel Dekker pág 329, (1994)
- 3 Bolton, S. Pharmaceutical Statistics, 2nd Ed Marcel Dekker, Inc USA (1990)
- 4 Braithwaite, F.J Smith Chromatographic methods. Ed Chapman and Hall (1985), p 335
- 5 Brewster R.Q, Vanderwerf C.A, McEwen W E, Curso practico de química orgánica Editorial Alhambra, S A México, (1970)
- 6 Bridge I.P., Williams M.H & Fell A.F Expert system design in HPLC. Analytical Proceedings (25) feb(1988), 43 - 44
- 7 Brown S, Visual basic 6 Ed Anaya Multimedia. Madrid (1999).
- 8 Cervantes A, M L, Tesis de Licenciatura Desarrollo del algoritmo de un sistema experto para validación de métodos analíticos en la industria farmacéutica Facultad de Química UNAM México, (1998)
- 9 Connors, K. A. A textbook of pharmaceutical analysis 2nd Edition Wiley Interscience NY (1975)
- 10 Conti P, Hamoir I, de Smet, Pyrins H, Driessche V, Maris F, Hindricks H, Schoenmaker P J, Massart D L, Integrating expert systems for high performance liquid chromatography method development. Chemometrics and intelligent laboratory systems (11) (1991), 27 - 35
11. Daniel W. W, Bioestadística Limusa Wiley México (2002).
- 12 Design-Ease for windows. Version 3 08. Copyright © 1995 by Stat-Ease, Inc Minnea USA
- 13 Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 5ª Edición Secretaria de Salud México (1988)
- 14 Gearien J E, Grabowski B F, Methods of drug analysis. Lea & Febiger. Philadelphia USA. (1969)
- 15 Getz k, Gilbert M, Visual basic language developer's handbook Ed. Sybex. Sn Fco EUA (2000)
- 16 Joyanes L. A., Rodríguez L. B, Fernández M. A, Fundamentos de programación Mc Graw Hill México, (1996).
- 17 Martin A N, Swarbrick J, Cammarata A, Physical Pharmacy 2<sup>nd</sup> Edition Lea & Febiger Philadelphia USA (1973).
18. Massart D.L., Evaluation and optimization of laboratory methods and analytical procedures Techniques and instrumentation in analytical chemistry Volumen 1. Elsevier Scientific Publishing Company Amsterdam, Oxford, New York, (1978).

- 19 Microsoft Visual Basic 6.0 Para desarrollo de 32 bits en Windows Copyright © 1987 – 1998 Microsoft Corp
- 20 Monro D. M., Basic básico Segunda edición Mc Graw Hill México, (1985)
21. Montgomery D. C., Design and analysis of experiments 2nd Ed John Wiley and sons USA. (1984).
- 22 Murrill P. W., Smith C. W., Lenguaje de Programación Basic Representaciones y Servicios de Ingeniería S. A. México (1972)
23. Naghi, M. N., Metodología de la investigación Editorial Limusa, México (1992)
- 24 Primer A., Fundamentals of modern uv – visible spectroscopy Hewlett packard company Germany (1996)
25. Rodríguez S. R., Ramos M. C., Vertiz H. J., Romero N. L., Fuentes S. H., González P. M., Rodríguez A. S. M Enseñanza del diseño factorial a través de experimentos sencillos de laboratorio. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas (30) oct (1999), 16-21
- 26 Snyder L. R., Kirkland J. J. Introduction to modern liquid chromatography 2nd Ed Wiley and sons. (1979)
27. The Merck Index An Encyclopedia of chemicals and drugs Ninth Edition Merck & Co Inc N. J. USA (1976)
- 28 The New Encyclopaedia Britannica Vol 21, pág. 627 Encyclopaedia Britannica Inc North America Fifteenth Edition (1995)
- 29 van Leeuwen J. A., L. M. C. Buydens, B. G. M. Vandeginste and G. Kateman, Expert systems in chemical analysis, Trends in analytical chemistry V 9, No 2 (1990) 49 – 54