

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**Cuantificación de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico en productos farmacéuticos por espectrofotometría ultravioleta con segunda derivada**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**QUÍMICA**

P R E S E N T A  
LUZ ALEJANDRA CASTILLO ALANÍS



MÉXICO, D.F.

2006



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:** Ernestina Cervera Flores.

**Vocal:** Maria del Carmen Sansón Ortega.

**Secretario:** Adolfo García Osuna.

**1er. Suplente:** Araceli Patricia Peña Alvarez.

**2do. Suplente:** Erika María Ramírez Maya.

Lugar donde se realizó la investigación:

**Departamento de Química Analítica, Laboratorios anexos 3A y 3B,  
Edificio A, Facultad de Química, UNAM.**

**Asesora:** Ernestina Cervera Flores.

\_\_\_\_\_

**Supervisora Técnica:** Silvia Mendoza Arellano.

\_\_\_\_\_

**Sustentante:** Luz Alejandra Castillo Alanís.

\_\_\_\_\_

Después de de momentos de lucha, algunos más intensos que otros hoy termina y comienza una nueva etapa, "un nuevo reto". **Gracias a Dios** por la vida con todo lo maravilloso que en ella he tenido y también por los momentos difíciles por que siempre ha estado a mi lado. Por darle un motivo a mi vida.

Durante mi vida he estado rodeada de una hermosa familia que Dios me ha dado y que me quiere a pesar de mis defectos pues de ellos soy parte. **Gracias a mis Padres** por su amor, cariño y apoyo. **Gracias a mi papá\*** por todos sus consejos y las lecciones de vida que me dio. **Gracias a mi mamá** por que gracias a ella, a su apoyo, su ejemplo, su amor y esfuerzo he logrado alcanzar uno de mis retos. A mis hermanos pues con ellos he crecido y han sido un apoyo incondicional, "la constancia y dedicación siempre rinden frutos.

A lo largo del camino siempre hay personas a tu alrededor de las cuales siempre hay algo que aprender. **Gracias a la maestra Tina** por su ejemplo, por el apoyo que me ha dado, por su cariño, su ayuda y las oportunidades que me ha brindado, por confiar en mí. **Gracias a la maestra Silvia** por su ayuda no solo en la parte académica sino en las lecciones de vida que compartió con migo, por su cariño, su apoyo incondicional y por la oportunidad de trabajar a su lado. **Gracias al profesor Adolfo** por que al igual que mis maestras me han enseñado muchas cosas y por el gran apoyo brindado. **Gracias a Erika** por su amistad, por su apoyo académico y por ser un ejemplo de dedicación. En general **gracias a todos mis compañeros del laboratorio**. **Gracias a la maestra Carmen** por el apoyo en la realización de este trabajo

La amistad es un dialogo habitual, una conversación que se interrumpe solo a ratos: el tiempo que transcurre entre un encuentro y otro. En mi vida he encontrado amigos, gracias por los bellos momentos que compartimos y por la amistad que nunca terminará. Todos ustedes están en mi corazón. A todos lo que compartimos estos estudios, por su apoyo paciencia, por el excelente equipo que formamos que nos facilito en mucho el camino, por que al estar con ustedes la mayor parte del día nos conocimos aprendí de ustedes y nos ayudamos unos a otros.

Sin esta hermosa Universidad la UNAM no podría haberlo logrado, por que me brindo no solo una beca sino la oportunidad de estudiar en la mejor universidad. A todos los que de un modo u otro formamos parte de la Facultad de Química.

*A la memoria de mi papá*

*José Gilberto*

*“Pon un motivo  
sobrenatural  
a tu ordinaria labor  
profesional.....”*

Josemaría Escrivá

Camino 359

## ÍNDICE

### INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Introducción.....	10
Objetivos.....	13

### ANTECEDENTES

Generalidades.....	15
Estabilidad del ácido acetilsalicílico.....	17
Hidrólisis de la aspirina.....	17
Espectroscopia de absorción.....	19
Radiación electromagnética.....	19
Absorción de la radiación.....	21
Espectroscopia de absorción molecular ultravioleta.....	22
Espectros de absorción.....	25
Aplicación de la espectroscopia ultravioleta.....	26
Disolventes.....	27
Selección de la longitud de onda.....	28
Variables que influyen en la absorbancia.....	28
Análisis cuantitativo.....	28
Análisis de mezclas (regla de aditividades).....	29
Instrumentación ultravioleta.....	30
Espectroscopia ultravioleta de derivadas.....	32
Validación de métodos analíticos.....	37

Condiciones óptimas de trabajo.....	37
Linealidad del sistema.....	37
Precisión.....	40
Precisión del sistema.....	41
Precisión de método.....	42
Repetibilidad.....	43
Reproducibilidad.....	44
Recobro o recuperación.....	44

## **DESARROLLO DEL MÉTODO ANALÍTICO**

Técnica empleada.....	46
Reactivos.....	46
Equipo y material.....	46
Muestras.....	47
Desarrollo experimental.....	47
Estudio espectrofotométrico UV de muestras patrón de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico.....	47
Determinación cuantitativa del ácido acetilsalicílico y del ácido salicílico.....	49
Curvas de calibración.....	49
Mezclas de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico.....	52
Cuantificación de mezclas de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico utilizando la regla de aditividades.....	53

Estudio espectrofotométrico por UV segunda derivada de mezclas patrón de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico.....	56
Determinación cuantitativa por UV segunda derivada del ácido acetilsalicílico y del ácido salicílico.....	58
Efecto del cambio de pH en las longitudes de onda de absorción de ambos compuestos.....	62
Preparación de las curvas de calibración de ácido acetilsalicílico y de ácido salicílico en solución amortiguadora pH 5.....	66
Curvas de calibración ácido acetilsalicílico y ácido salicílico.....	70

## **MÉTODO ANALÍTICO PROPUESTO**

Pruebas preliminares.....	76
Método propuesto.....	79
Cuantificación de ácido acetilsalicílico y de ácido salicílico presente en un medicamento utilizando el método propuesto.....	80
Aplicación del método en muestras patrón.....	80
Aplicación del método en formulaciones farmacéuticas.....	80
Comparación de los resultados entre el método propuesto y los respectivos métodos reportados en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.....	83



## **ESTUDIO ESTADÍSTICO**

Pruebas de validación.....	88
Linealidad del sistema.....	88
Precisión.....	102
Precisión del sistema.....	102
Precisión de método.....	108
Repetibilidad.....	108
Recobro o recuperación.....	115

<b>CONCLUSIONES</b>	122
---------------------	-----

<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	125
---------------------	-----

## **ANEXOS**

Anexo linealidad del sistema.....	128
Ácido acetilsalicílico.....	128
Ácido salicílico.....	130
Anexo precisión del sistema.....	132
Ácido acetilsalicílico.....	132
Ácido salicílico.....	134
Anexo precisión de método.....	136
Ácido acetilsalicílico.....	136
Ácido salicílico.....	138

# **INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS**

## **INTRODUCCIÓN** <sup>2, 5, 8, 16, 17</sup>

El ácido acetilsalicílico (ácido o-acetoxibenzoico) mejor conocido como aspirina es un compuesto con propiedades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias.

Desde el principio de la humanidad el hombre ha querido calmar el dolor. Los remedios más antiguos los encontraban en la naturaleza en: raíces, cortezas y hojas de diferentes vegetales como el sauce, la mandrágora, la adormidera y el cáñamo.

La corteza de sauce ha sido desde tiempo remoto un buen tratamiento contra la fiebre y el dolor, es decir, un antipirético y analgésico.

En 1763 Edward Stone presentó un informe en la Real Sociedad de Medicina Inglesa en el que se detallaban las propiedades terapéuticas de la corteza del sauce blanco, el Salix Alba.

En 1828, científicos alemanes sintetizaban el principio activo de la corteza del Salix Alba, una sustancia amarillenta que formaba cristales, su sabor era muy amargo, a este compuesto le llamaron salicina. El 1839 se encontró una fórmula químicamente más simple lo que dio lugar al ácido salicílico.

En 1853 un químico francés llamado Charles Frédéric Gerhardt consiguió acetilar la salicina. Los experimentos de este químico fueron la referencia de Félix Hoffmann para llegar al descubrimiento del ácido acetilsalicílico en 1897 y que consiguió ser patentado en 1899.

La aspirina es un producto registrado en más de 70 países el consumo mundial de este medicamento es de 216 millones de aspirinas diarias, de tal modo que con esta cantidad se podría cubrir una superficie de  $2.4\text{Km}^2$ .

El ácido acetilsalicílico se hidroliza en condiciones ambientales dando como productos ácido salicílico y ácido acético, reacción que puede proceder durante el tiempo de anaquel de las tabletas que lo contienen. La presencia del ácido salicílico no disminuye el poder analgésico pero causa problemas de irritación gástrica, lo anterior hace interesante cuantificar el ácido acetilsalicílico y el ácido salicílico en muestras comerciales.

El límite de ácido salicílico permitido es; en grageas con capa entérica de 3.0%, en tabletas de 0.3%, en tabletas efervescentes de 8.0% y en tabletas solubles de 0.3%.

El método reportado en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos para la determinación de ácido acetilsalicílico en tabletas es un método espectrofotométrico al ultravioleta. Para cuantificar el ácido salicílico en tabletas se encuentra reportado en la misma Farmacopea un método colorimétrico, que está basado en formación de complejos coloridos con el ion férrico. Estas determinaciones se realizan por separado, utilizando en cada caso muestras diferentes.

La Farmacopea Británica reporta un análisis de la mezcla de los dos compuestos de interés utilizando HPLC (Cromatografía de Líquidos de Alta Presión), este método reporta buenos resultados pero tiene la desventaja de ser poco económico.

Aplicar la espectrofotometría ultravioleta para el análisis simultáneo del ácido acetilsalicílico y ácido salicílico presentes en tabletas no es posible porque el contenido de ácido salicílico, es tan bajo que queda su absorción oscurecida por la del ácido acetilsalicílico.

En este trabajo se presenta la posibilidad de utilizar con este fin la espectroscopia ultravioleta con segunda deriva ya que esta revela, detalles en los espectros que se pierden en un espectro normal.

## OBJETIVOS

### a. General

Desarrollar un método para la determinación simultánea de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico por espectrofotometría ultravioleta con segunda derivada.

### b. Particulares

Optimizar la preparación de muestra para la aplicación del método.

Comparar los resultados obtenidos para ambos compuestos ácido acetilsalicílico y ácido salicílico, con los respectivos métodos reportados en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.

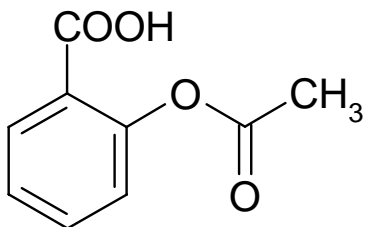
Llevar a cabo la validación de la técnica y del método propuesto con los parámetros de linealidad, precisión y recobro.

# **ANTECEDENTES**

## GENERALIDADES <sup>16, 17</sup>

### **Ácido acetilsalicílico, ácido 2-acetoxi benzoico.**

Estructura



Propiedades físicas y químicas

El ácido acetilsalicílico se hidroliza gradualmente en ácido salicílico y ácido acético, adquiriendo olor a ácido acético. Es estable en aire seco. Tiene un sabor ligeramente amargo.

Forma: cristales blancos

Fórmula condensada:  $C_9H_8O_4$

Peso molecular: 180.16g/mol

Punto de fusión: 132-136°C (se descompone)

Densidad: 1.40g/mL

pKa: 3.49 a 25°C

Solubilidad:

Un gramo de ácido acetilsalicílico se disuelve en:

300 mL de agua a 25°C

100 mL de agua a 37°C

5 mL de etanol

17 mL de cloroformo

13 mL de éter

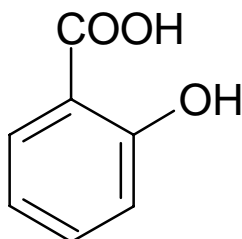
Se encuentran reportadas las siguientes lambdas máximas de absorción <sup>16</sup>

En  $H_2SO_4$  0.1N: 229nm, en triclorometano: 277nm.



## Ácido salicílico, ácido 2-hidroxi benzoico

Estructura



Propiedades físicas y químicas

El ácido salicílico se descompone gradualmente por efecto de la luz.

Forma: cristales finos blancos o polvo blanco

Fórmula condensada:  $C_7H_6O_3$

Peso molecular: 138.12 g/mol

Punto de fusión: 158-161°C

Densidad: 1.443g/mL

Sublima a 76°C

Punto de inflamación: 157°C

pKa: 2.98

Solubilidad:

Un gramo de ácido acetilsalicílico se disuelve en:

460 mL de agua a 25°C

15 mL de agua hirviendo

2. 7 mL de etanol

3 mL de éter

3 mL de acetona

42 mL de cloroformo

13 mL de benceno

Se encuentran reportadas las siguientes lambdas máximas de absorción <sup>16</sup>:

En solución de etanol al 4%: 210nm, 234nm y 303nm.

## **ESTABILIDAD DEL ÁCIDO ACETILSALICÍLICO** <sup>2, 5 17</sup>

Para asegurar la eficacia y seguridad terapéutica de un preparado farmacéutico se debe determinar su calidad, la que depende de la estabilidad del producto. Muchos factores inciden sobre la estabilidad de un producto farmacéutico, entre ellos, la actividad del o los principios activos, la interacción potencial entre éstos y los excipientes, el proceso de elaboración, el sistema de recipiente, revestimiento y cierre, las condiciones ambientales durante el transporte, almacenamiento y manipulación, y el tiempo transcurrido desde la elaboración hasta el uso del producto. Estas variables pueden ejercer un efecto positivo o negativo sobre el o los principios activos.

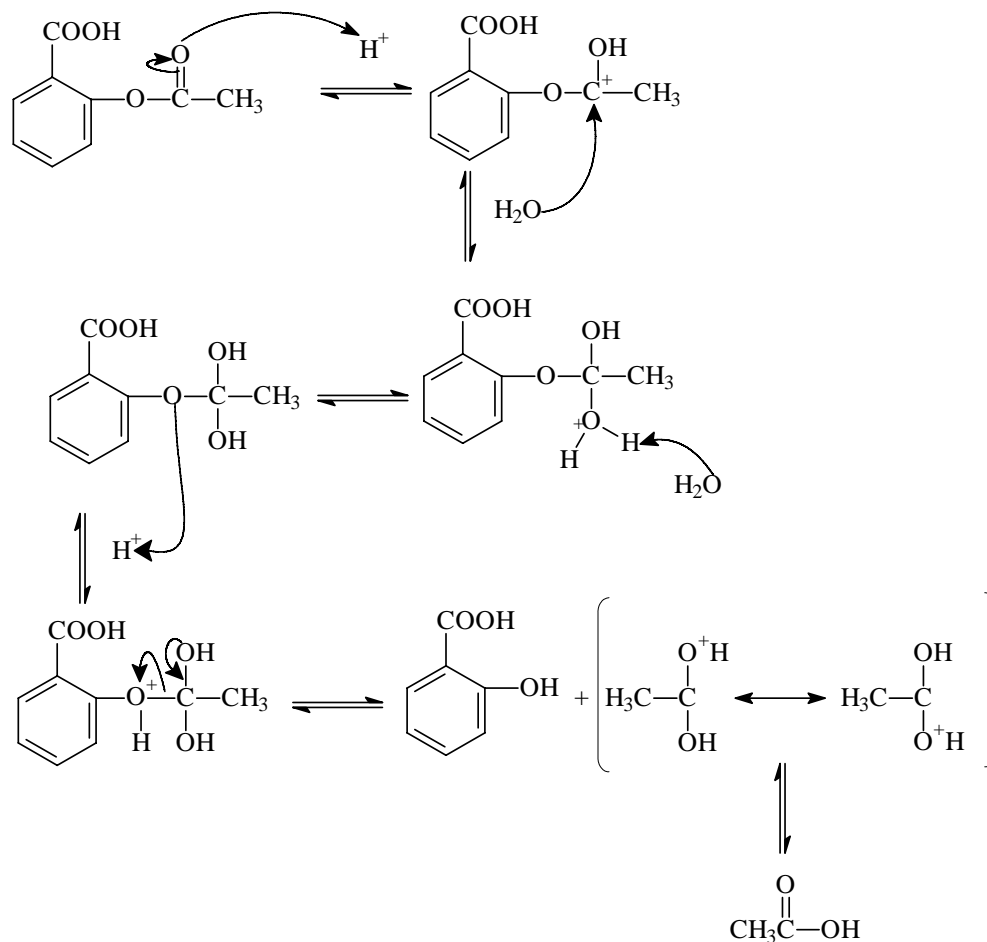
Los estudios de estabilidad pueden ser a tiempo real y de estabilidad acelerada. Entre los estudios a tiempo real se encuentra el "control de estanterías". Este se refiere al control de calidad de los productos farmacéuticos que se encuentran en la etapa de comercialización o expendio al público.

Se han desarrollado muchos estudios a tiempo real para controlar, evaluar y mejorar la calidad de productos farmacéuticos cuyo principio activo es el ácido acetilsalicílico, encontrándose que el índice de descomposición de dicho producto depende principalmente de la presión de vapor de agua y de la temperatura. Para este tipo de estudios se ha concluido que durante 10 meses de vida de estantería de estos productos son estables, presentando el producto de la hidrólisis en el intervalo señalado por la farmacopea, bajo las condiciones de temperatura de 20.3 a 26.4°C y de humedad relativa de 42.8 a 54.8 %.

## **HIDRÓLISIS DE LA ASPIRINA.** <sup>7</sup>

En los últimos años, varias instituciones y laboratorios de productos farmacéuticos han iniciado programas de investigación, para estudiar de un modo sistemático la descomposición de los medicamentos. La mayor parte de





## ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN

### RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA

La espectroscopia estudia la interacción de la radiación con la materia. Las técnicas analíticas espectroscópicas miden la cantidad de radiación absorbida o emitida por las especies moleculares o atómicas.

La radiación electromagnética puede describirse como onda con propiedades de longitud de onda, frecuencia, velocidad, amplitud, etc. que se transmite en paquetes energéticos.

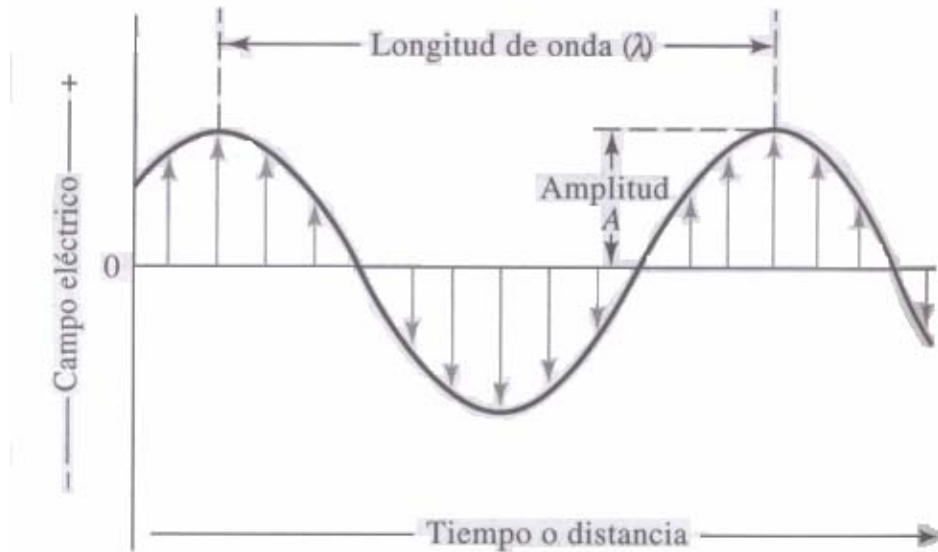


Figura 1. Propiedades de la radiación electromagnética.<sup>5</sup>

El tiempo medido en segundos necesario para el paso de máximos o mínimos sucesivos por un punto fijo del espacio se llama periodo de la radiación de una onda ( $p$ ). La frecuencia ( $\nu$ ) es el número de oscilaciones del vector del campo eléctrico por unidad de tiempo y equivale a  $1/p$ .

La velocidad de la onda esta dada por el producto de la frecuencia y la longitud de onda. Dicha propiedad depende del medio y de la frecuencia de la onda, al vacío ésta es una constante La longitud de onda ( $\lambda$ ), es la distancia lineal entre máximos o mínimos sucesivos de una onda.

La amplitud de una onda electromagnética es una cantidad vectorial que mide la fuerza del campo eléctrico o magnético en un máximo de la onda.

## ABSORCIÓN DE LA RADIACIÓN

Se ha empleado el efecto de la interacción de la radiación con la materia para obtener información cualitativa y/o cuantitativa sobre ésta. El analito que se encuentra en mayor parte en su estado de menor energía también llamado estado fundamental, experimenta una transición a un estado de mayor energía o estado excitado. Se puede medir la radiación electromagnética, absorbida en las transiciones, conforme regresa a su estado normal.

La disminución de un haz, cuya intensidad inicial se considera  $P_0$  que cruza a una disolución absorbente en una longitud  $l$  y de concentración  $c$ , reduce su intensidad a una radiación  $P$ . La transmitancia  $T$  de la solución es la parte de la radiación que se incide la cual pasa a través de la solución y se expresa en porcentaje.

$$\% T = P / P_0$$

La absorbancia  $A$  de una solución se relaciona con la transmitancia de manera logarítmica. Como esta relación es logarítmica al reducirse la transmitancia aumenta la absorbancia.

$$A = \log (P_0 / P)$$

Cuando se tiene una solución y se incide sobre ella un haz, siempre se tienen pérdidas de la energía ya sea por dispersión o por reflexión en todos los límites de los recipientes (celdas) que contiene a la muestra. Para compensar estas pérdidas se requiere utilizar un blanco, que es una disolución que contiene todos aquellos compuestos a excepción del analito que se quiere analizar.

$$A = k c l$$

La ley de Lambert-Beer indica que la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de la especie absorbente  $c$  y a la longitud de la trayectoria  $l$  del medio de absorción:

Dónde  $k$  es una constante de proporcionalidad, llamada coeficiente de absorptividad. Esta constante tiene unidades inversas a la concentración por longitud.

Cuando las unidades de la concentración son de Molaridad y la longitud de la trayectoria está dada en centímetros la constante se llama coeficiente de absorptividad molar ( $\epsilon$ ).

El coeficiente de absorptividad está en función del disolvente, la composición de la solución y la temperatura.

## **ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN MOLECULAR ULTRAVIOLETA**

La espectroscopia molecular está basada en la absorción de la radiación ultravioleta por los compuestos mayoritarios que forman la muestra, se emplea principalmente en el análisis cuantitativo.

La absorción de la radiación ultravioleta en las moléculas se presenta en forma de bandas anchas, en el espectro obtenido, que incluyen muchas líneas, cada línea representa una transición, entre las cuales se encuentran las de un electrón en su estado fundamental a estados electrónicos excitados.

La radiación ultravioleta se encuentra en la zona del espectro electromagnético de los 4 a 400 nm. Esta zona se divide en dos regiones; el ultravioleta cercano que abarca de 200 a 400 nm, y el ultravioleta lejano o al vacío que abarca de los 4 a los 200 nm. La espectroscopia de absorción molecular ultravioleta tiene su principal aplicación en la región de 200 a 400 nm.

Muchos compuestos orgánicos absorben radiación directamente en la región ultravioleta, esta absorción se debe a transiciones electrónicas de:

- a) los electrones compartidos por varios átomos y que participan directamente en los enlaces ( $\pi$ )
- b) los electrones no compartidos que se localizan principalmente en los heteroátomos de oxígeno, halógenos, azufre y nitrógeno ( $n$ ).

La longitud de onda a la que absorbe una molécula orgánica depende de la fuerza de unión de los enlaces. Los electrones que se comparten en enlaces sencillos ( $\sigma$ ) como carbono-carbono o carbono-hidrógeno, están unidos con tal fuerza que sólo es posible la absorción con fotones más energéticos que los del ultravioleta cercano. Los electrones que participan en dobles y triples enlaces ( $\pi$ ) están menos traslapados que los ( $\sigma$ ), por lo que su fuerza de unión es menor, y es fácil excitarlos.

Los orbitales atómicos que forman los enlaces  $\pi$  en los compuestos orgánicos que tiene dobles ligaduras conjugadas están deslocalizados, se considera que se encuentran en movimiento a través de las uniones químicas, por lo que interaccionan menos entre ellos, y su energía de unión es menor.

La diferencia que existe entre los niveles energéticos de unión  $\sigma$  y  $\pi$  y sus respectivos niveles de antiunión  $\sigma^*$  y  $\pi^*$  coinciden con la energía que posee la radiación ultravioleta.

La absorción de la radiación electromagnética produce las transiciones electrónicas entre los distintos niveles de energía. Las transiciones permitidas de acuerdo a los enlaces que absorben radiación son:  $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ,  $n \rightarrow \sigma^*$ ,  $\pi \rightarrow \pi^*$  y  $n \rightarrow \pi^*$ .



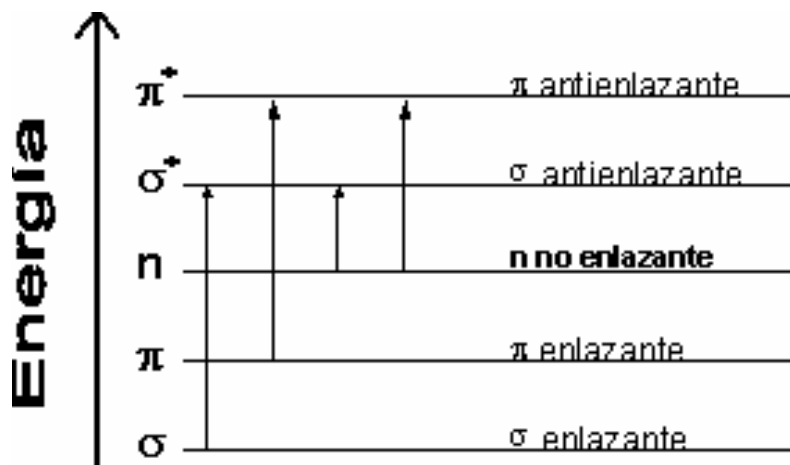


Figura 3. Transiciones electrónicas permitidas.

Para la transición  $\sigma \rightarrow \sigma^*$ , un electrón de un orbital  $\sigma$  absorbe radiación electromagnética y se excita pasando a un orbital  $\sigma$  de antienlace, requiriendo para llevar a cabo dicha transición una energía que corresponde a la frecuencia de la radiación de la región ultravioleta al vacío.

La transición  $n \rightarrow \sigma^*$ , se lleva a cabo cuando están presentes pares de electrones no compartidos o electrones no enlazantes ( $n$ ), éstos se excitan pasando a un orbital  $\sigma$  de antienlace, requiriendo para llevar a cabo dicha transición una energía que corresponde a la frecuencia comprendida entre los 150 y 250nm. Los máximos de absorción para estas transiciones se llegan a desplazar hacia longitudes de onda menores cuando se utilizan disolventes polares.

Las transiciones en las que intervienen los electrones pertenecientes a los orbitales  $\pi$  y  $\pi^*$ , ( $\pi \rightarrow \pi^*$  y  $n \rightarrow \pi^*$ ) producen picos de absorción dentro de la región del ultravioleta cercano, en la cual es factible trabajar experimentalmente. Las especies con enlaces insaturados absorben en esta región del espectro. Los máximos de absorción para las transiciones  $n \rightarrow \pi^*$  se llegan a desplazar hacia longitudes de onda menores, con un efecto hipsocrómico cuando se aumenta la polaridad del disolvente. En cambio los

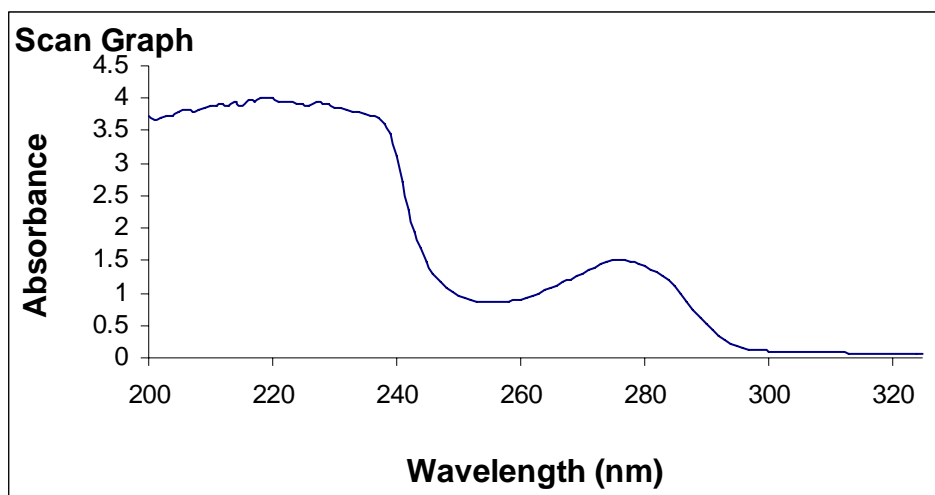
máximos de absorción para las transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$  se desplazan hacia longitudes de onda mayores, con un efecto batocrómico cuando se aumenta la polaridad del disolvente.

Cuando se tienen sistemas de electrones  $\pi$ , se requiere menor energía si el sistema está conjugado, por tanto los máximos de absorción se presentan a longitudes de onda mayores que los  $\pi \rightarrow \pi^*$  aislados. A medida que aumenta la conjugación en un compuesto, la diferencia de energía en los niveles  $\pi$  y  $\pi^*$  se hace menor, debido a que los electrones están más deslocalizados.

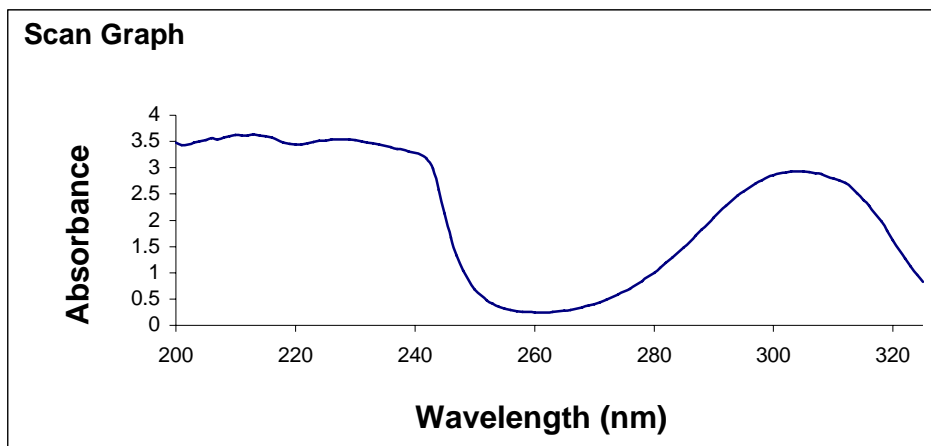
Los grupos cromóforos son especies orgánicas con enlaces no saturados que absorben en la región ultravioleta visible.

## ESPECTROS DE ABSORCIÓN

Un espectro de absorción es un gráfico de absorbancia en función de la longitud de onda. En el espectro se registra la longitud máxima ( $\lambda_{\max}$ ) de absorción y la absorbancia de ésta.



a) Ácido acetilsalicílico 0.248mg/mL, en etanol.



b) Ácido salicílico 0.104mg/mL, en etanol.

Espectro 1. Espectros de absorción de a) ácido acetilsalicílico y b) ácido salicílico.

### *APLICACIÓN DE LA ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA*

Como ya se mencionó la espectroscopia UV tiene su principal aplicación en el análisis cuantitativo, el aspecto cualitativo sólo detecta los grupos cromóforos presentes en las moléculas.

Entre las principales características de la técnica de espectroscopia UV son:

- Aplicabilidad, muchas especies tanto orgánicas e inorgánicas absorben la radiación UV.
- Alta sensibilidad, los límites de detección para la espectroscopia UV están en el intervalo  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  M.
- Selectividad de moderada a alta.
- Buena precisión y exactitud.
- Facilidad y comodidad, la espectroscopia UV es muy sencilla de manejar debido a los instrumentos modernos y a la automatización de los equipos.

## Disolventes

Los disolventes que se utilizan en esta técnica no deben absorber en la región del espectro en la que absorbe el analito a cuantificar. El disolvente, debe solubilizar la mayor cantidad de muestra para obtener espectros bien definidos. Es necesario considerar las interacciones del disolvente y del analito.

Los disolventes polares; agua, alcoholes ésteres y cetonas, por su interacción con la especie absorbente principalmente en la formación de puentes de hidrógeno, forman un complejo soluto-disolvente, logrando eliminar en el espectro las bandas finas.

Los disolventes no polares; ciclohexano, benceno, entre otros, proporcionan espectros que son muy parecidos a los que se obtienen en fase gaseosa.

A continuación se presentan las longitudes de absorción de los disolventes más utilizados en la espectroscopia UV.

<i>Disolvente</i>	<i>Longitud de máxima absorción (nm)</i>
	$\lambda_{max}$
Cloroformo	240
Ciclohexano	195
Etanol	205
Metanol	205
Agua	190

### *Selección de la longitud de onda*

En la espectroscopia UV se requiere realizar las lecturas de absorbancia a un valor de longitud de onda máxima para que se tenga una alta selectividad.

### *Variables que influyen en la absorbancia.*

La absorción de un analito puede ser afectada por el disolvente, el pH, la temperatura, y es necesario conocer los efectos que provocan cada una de estas variables para elegir las mejores condiciones para el análisis.

### *Análisis cuantitativo.*

Para poder llevar a cabo el análisis cuantitativo de un analito, utilizando la ley de Lambert-Beer, se tiene que construir una curva de calibración; que se realiza con un material de referencia o con un reactivo de alta pureza del analito que se desea cuantificar. Debe realizarse una curva de calibración para cada analito. Dicha curva requiere de la preparación de una serie de al menos cinco disoluciones provenientes de una disolución de concentración conocida (disolución madre). Se traza un gráfico de la respuesta (absorbancia) de las disoluciones en función de la concentración. Por el método de mínimos cuadrados se obtiene una línea recta que pase por los puntos de las intersecciones y una ecuación de dicha recta.

## ANÁLISIS DE MEZCLAS (Regla de aditividad)

El análisis de mezclas es una metodología utilizada para conocer las concentraciones de dos compuestos que se encuentran en una mezcla, se basa en que la absorbancia total de una disolución a una determinada longitud de onda es igual a la suma de las absorbancia de sus componentes.

Para conocer la concentración de dos compuestos M y N en una mezcla, primero se identifican las longitudes máximas de absorción  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$ , en las cuales se cumpla la ley de Lambert-Beer. Las longitudes que se seleccionen deben diferenciarse para cada uno de los compuestos. Después se determinan los coeficientes de absorptividad de cada uno de los componentes M y N a las dos longitudes de onda elegidas.

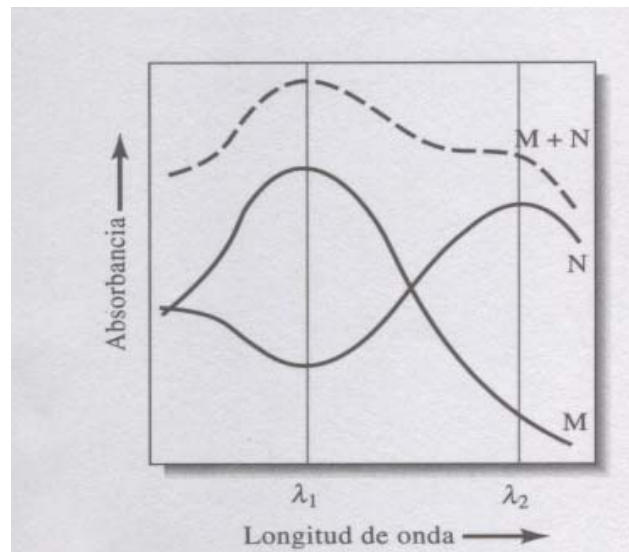


Figura 4. Espectro de absorción ultravioleta de una mezcla de compuestos y de los compuestos separados.<sup>14</sup>

Para todo lo anterior se cumplen las siguientes ecuaciones para las dos  $\lambda_{\max}$  del espectro de absorción:

$$A_1 = k_{M1} c_M l + k_{N1} c_N l$$

$$A_2 = k_{M2} c_M l + k_{N2} c_N l$$

Y resolviendo este sistema de dos ecuaciones podemos llevar a cabo la cuantificación de los dos componentes presentes en la mezcla.

### *INSTRUMENTACIÓN ULTRAVIOLETA*

Los espectrofotómetros son instrumentos espectroscópicos que permiten medir la relación entre la intensidad de energía inicial que se le aplica a la muestra ( $P_0$ ) y la intensidad de energía que ha pasado a través de la muestra ( $P$ ), lo que es necesario para medir la absorbancia del analito.

Existen espectrofotómetros de haz sencillo y de doble haz. Están constituidos principalmente por tres partes: la fuente de radiación UV, un sistema óptico que permite dirigir la radiación a la muestra, un detector de la radiación y un registrador.

La fuente debe generar un haz de radiación cuya emisión deberá ser estable durante periodos de tiempo largos. Entre las fuentes más utilizadas se encuentran principalmente las lámparas de Tungsteno y Deuterio.

Para llevar a cabo este trabajo se utilizó un equipo de doble haz. Los espectrofotómetros de doble haz cuentan con un espejo en forma de V llamado divisor de haz, en el cual se forman dos rayos, uno de los cuales pasa a través de la solución de referencia hacia un fotodetector y el otro haz atraviesa la

muestra para llegar al detector. Para proporcionar la respuesta, el equipo toma en cuenta la absorbancia de la solución de referencia, restándolo de la muestra.

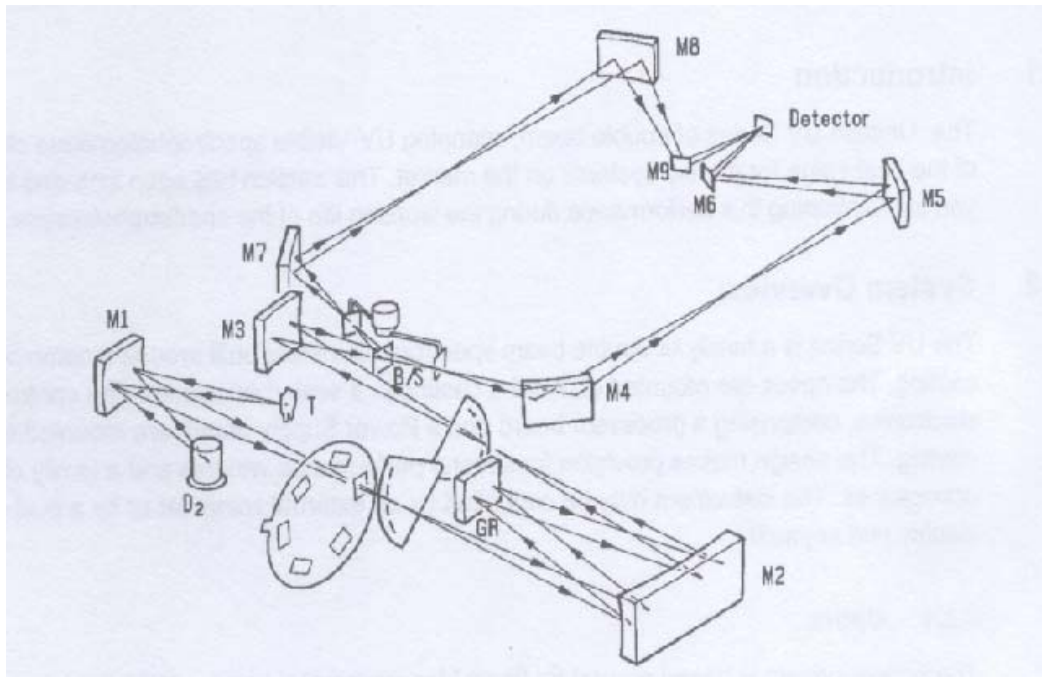


Figura 5. Diagrama del instrumento de doble haz utilizado.

El sistema óptico está constituido por celdas o cubetas, (las cuales deben de ser de un material que no absorba la radiación, generalmente se utiliza celdas de sílice fundida o cuarzo que son transparentes desde 190nm y hasta 4000m.) además de lentes, espejos, rejillas. En esta parte se encuentra el monocromador o selector de longitud y tiene como finalidad controlar la pureza de la radiación emitida en la longitud de onda requerida. El objetivo de estos elementos es el de dirigir la radiación hacia la muestra, en la región de la longitud de onda de absorción.

El detector más utilizado es el fotomultiplicador, que tiene una respuesta muy rápida además de ser muy sensible. En los fotomultiplicadores los fotones pasan por un fotocátodo, que emite un número de electrones por cada fotón que pasa. Los electrones son dirigidos al ánodo, en donde un pre-amplificador aumenta la señal.



## ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA DE DERIVADAS <sup>1, 3, 9</sup>

La espectroscopia derivada es el cambio de un espectro normal a su primera, segunda o alguna derivada de orden superior.<sup>15</sup>

Entre 1953 y 1955 algunos investigadores introdujeron la derivación de los espectros como una herramienta para magnificar la estructura fina de las curvas espectrales. Los espectros derivados consisten en el cálculo de la primera, segunda o derivadas de mayor grado de la absorbancia en función de la longitud de onda o de la frecuencia de la radiación. Los espectros derivados se representan, mediante un gráfico de la derivada de grado n de la absorbancia en función de la longitud de onda promedio.

Un espectro derivado muestra una mejor resolución de bandas sobrepuestas, permitiendo la determinación exacta de la  $\lambda_{\max}$  de las bandas individuales. Esto porque la amplitud de la derivada, (la distancia del máximo al mínimo de la curva), es inversamente proporcional a la anchura de banda del espectro sin derivada elevada a la potencia del orden de la derivada.

El ancho de banda de un espectro de orden par es menor que la de su espectro sin derivar.

Ley de Lambert-Beer: derivada de orden cero

$$A = k c l$$

Diferenciando la ley de Lambert-Beer con respecto a la longitud de onda se obtiene:

Primera derivada o derivada de orden uno

$$dA / d\lambda = l c dk / d\lambda$$

Segunda derivada o derivada de orden dos

$$d^2A / d^2\lambda = l c d^2k / d^2\lambda$$

Enésima derivada o de orden  $n$

$$d^nA / d^n\lambda = l c d^nk / d^n\lambda$$

Las expresiones anteriores muestran que las derivadas  $d^nA / d^n\lambda$  son siempre proporcionales a la concentración.

La primera derivada de la absorbancia con respecto a la longitud de onda;  $dA/d\lambda$  representa la pendiente de cada punto de la banda de absorción y  $dA/d\lambda$  y será igual a cero ( $dA/d\lambda = 0$ ) en el máximo de la banda de absorción. Esta derivada sirve para obtener con gran exactitud el valor de la longitud de onda de máxima absorción. La forma característica de la primera derivada es una curva gaussiana con un máximo seguido por un mínimo. Si por algún motivo la banda de absorción no es una curva gaussiana, entonces la primera derivada no tendrá un cruce en 0, pero la forma característica de la primera derivada se mantiene, y el máximo del espectro se encontrará en el punto de inflexión de la región de pendiente negativa de la primera derivada.

Para la segunda derivada los valores de  $d^2A/d^2\lambda$  son cero en los puntos de inflexión de la banda de absorción, según las reglas de la diferenciación, y en la posición de  $\lambda_{\max}$  se obtiene un valor mínimo, que de igual manera que la primera derivada, permite establecer con gran exactitud el máximo de absorción del espectro. En la segunda derivada se presenta un mínimo en el punto en donde haya un punto crítico con concavidad negativa. En un espectro de dos compuestos, los puntos de máxima curvatura negativa, mejor llamados mínimos, coinciden con el máximo de las bandas de los compuestos.

Tanto la primera como la segunda derivada  $dA/d\lambda$  y  $d^2A/d^2\lambda$  son muy sensibles a cualquier cambio de la pendiente de la curva de absorción, son muy útiles para el estudio de hombros y bandas de absorción superpuestas, particularmente en el análisis y determinación de sustancias.

La tercera derivada de una banda sencilla se caracteriza por un fuerte mínimo seguido por un fuerte máximo, con un cruce en cero que coincide con el máximo de la banda. Al igual que en el caso de la primera derivada si el espectro no es una sola banda gaussiana, no se presenta un punto de cruce en cero y el valor de  $\lambda_{max}$  se encuentra en el punto de inflexión de la región de pendiente positiva de la derivada.

Si se tiene el espectro de una sustancia con una sola banda simétrica, gaussiana, tendremos, el máximo de absorción  $\lambda_{max}$  en el punto de cruce en cero para la primera derivada y el punto mínimo para la segunda derivada. Para muchas sustancias esta suposición no se cumple ya que sus espectros, en general, consisten de bandas anchas constituidas por varias bandas superpuestas, en estos casos los mínimos de la segunda derivada o los puntos de inflexión de la primera derivada permiten establecer los máximos de absorción del espectro.

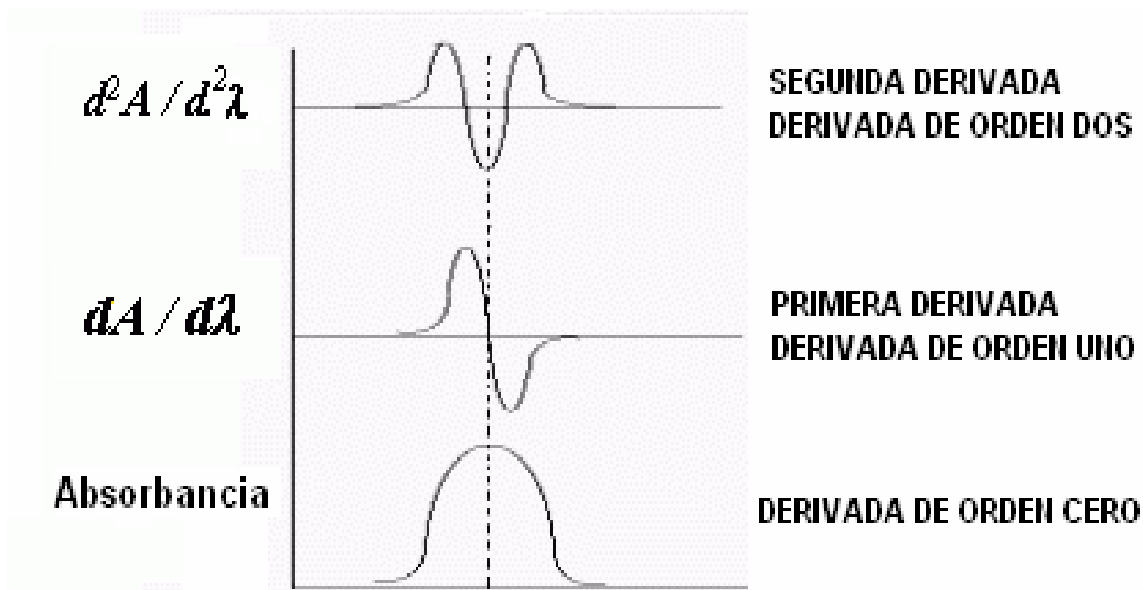


Figura 6. Espectro de absorción ultravioleta de orden cero, de primera y segunda derivada.

La espectroscopia de derivadas es una técnica simple y poderosa que permite resaltar las estructuras finas de las curvas espectrales. Ofrece dos ventajas importantes: un aumento en la resolución Y una diferencia en favor de las estructuras finas del espectro.

La espectroscopia de derivadas puede usarse para resolver espectros de diferentes componentes químicos cuyas bandas se superponen en el espectro normal. Es una mejor huella que el espectro normal debido al aumento en la resolución.

El aumento en la resolución permite que se pueda usar para resolver bandas que estén demasiado cercanas a otras para ser resueltas en el espectro de absorción normal. La resolución aumenta con el orden de la derivada (n) y

este aumento depende de la forma de la banda y de la relación entre el ancho de banda y su altura.

Existen dos métodos para obtener los espectros derivados: modulación de la longitud de onda y diferenciación electrónica.

Todas las amplitudes en el espectro de derivada serán proporcionales a la concentración del analito, si en el espectro sin derivada se sigue la ley de Lambert-Beer.

Un aspecto importante es el ruido, pues, aunque sea pequeño tiene las características más agudas en un espectro derivado, por ello se debe tener muy en cuenta que cualquier disminución del mismo, será útil para obtener mejores resultados. Si se incrementa el ruido electrónico se tiene como consecuencia la reducción de la razón señal-ruido, lo que impone serias limitaciones prácticas a los espectros de orden elevado.<sup>9</sup>

Para propósitos cuantitativos, las derivadas segunda y cuarta son las más frecuentemente empleadas.<sup>8</sup>

Los espectros realizados en un espectrofotómetro con diferenciador digital, las derivadas de un espectro son calculadas numéricamente por computadora. Las señales del espectrofotómetro son transferidas a un convertidor análogo-digital que calcula el valor promedio. Este método de obtención de los espectros es el de mayor uso.

## **VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS** <sup>4, 10, 11, 13</sup>

La palabra validación se emplea para confirmar la capacidad de un método o de una técnica para cumplir los requisitos de una aplicación analítica de acuerdo a la evidencia que se tenga.

Para llevar a cabo la validación de un método analítico se requieren tres partes fundamentales:

- a) Establecer las condiciones óptimas de trabajo necesarias de acuerdo a los criterios planteados para el análisis.
- b) Determinar los parámetros que se requieran para llevar a cabo la validación. Generalmente los parámetros utilizados típicamente en los métodos analíticos son: linealidad o intervalo de trabajo, precisión (repetibilidad y reproducibilidad), exactitud, límite de cuantificación, límite de detección, sensibilidad.
- c) Decidir si la validez del método se ha alcanzado, de acuerdo a las condiciones establecidas, una vez que se han estudiado los resultados establecidos.

### *CONDICIONES ÓPTIMAS DE TRABAJO*

Dentro de las especificaciones de los instrumentos se encuentran recomendaciones que hacen los fabricantes para que el analista seleccione las condiciones óptimas de operación. El analista es quien determina las condiciones para llevar a cabo el análisis.

### *LINEALIDAD DEL SISTEMA*

La linealidad es la relación entre la respuesta del analito y la concentración. Dicha relación no debe ser absolutamente lineal pero si debe

demostrarse que tiende a una línea recta en un intervalo dado. Puede determinarse la linealidad del sistema y la linealidad del método, en ambas se debe probar que la variable independiente es directamente proporcional a la variable dependiente, lo cual se hace con una regresión lineal. En el caso de la linealidad del sistema la variable dependiente es la respuesta o señal y la variable independiente es la concentración del analito.

La curva de calibración debe hacerse con cinco o más puntos patrón de calibración, con concentraciones distribuidas en un intervalo, que debe abarcar entre un 50 a 100% de la posible concentración del analito por determinar.

El criterio de aceptación para la linealidad del sistema debe ser que se observe en la gráfica una tendencia lineal y el valor de correlación de la regresión lineal ( $R$  ó  $r$ ) aplicada a los datos de una curva de calibración sea:

$$R^2 \geq 0.98 \text{ ó } r \geq 0.98$$

Posteriormente se realiza una prueba de hipótesis a la ordenada al origen para demostrar si cumple o no la ecuación lineal planteada, y posteriormente se calcula el intervalo de confianza (I.C.) para la ordenada y la pendiente obtenidas.

La prueba de hipótesis para la ordenada al origen se realiza para comprobar si los resultados obtenidos experimentalmente se ajustan a una línea recta con ordenada al origen igual a cero o no, basados en la ecuación:

$$Y = \gamma X + \beta$$

Estableciendo lo siguiente:

$H_0: b = \beta$ , donde  $\beta = 0$  (Hipótesis nula)

$H_1: b \neq \beta$  (Hipótesis alterna)

Se utiliza el estadístico de la "t de student":

$$t_{cal} = \frac{b - \beta}{Se} \sqrt{\frac{nS_{xx}}{S_{xx} + (n\bar{X})^2}}$$

dónde:

b = Ordenada al origen

$\beta$  = Ordenada al origen poblacional ( $\beta=0$ )

Se = Error típico de estimación

Sxx = Suma de cuadrados de la variable independiente

n = Número de determinaciones

$\bar{x}$  = Media experimental

Como se trabaja un ensayo de dos colas se toma un nivel de significancia de  $\alpha=0.05$  (5%), el cual corresponde a un valor a nivel internacional para la mayoría de las metodologías analíticas, con n-2 grados de libertad del error típico de estimación y éste se calcula de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$Se = \sqrt{\frac{S_{xx}S_{yy} - (S_{xy})^2}{(n-2)nS_{xx}}}$$

siendo:

$$S_{xx} = n \sum_{t=1}^n X_t^2 - \left[ \sum_{t=1}^n X_t \right]^2$$

$$S_{yy} = n \sum_{t=1}^n Y_t^2 - \left[ \sum_{t=1}^n Y_t \right]^2$$



$$S_{xy} = n \sum_{t=1}^n X_t Y_t - \left[ \sum_{t=1}^n X_t \right] \left[ \sum_{t=1}^n Y_t \right]$$

el criterio que se toma para rechazar la hipótesis nula (Ho) es:

$$t_{\text{cal}} < -t_{\alpha/2} \text{ ó } t_{\text{cal}} > t_{\alpha/2}$$

Para calcular el intervalo de confianza para la ordenada y la pendiente con el mismo nivel de significancia se utilizan las siguientes ecuaciones:

para la ordenada al origen:

$$I.C. = b \pm t_{\alpha/2} Se \sqrt{\frac{S_{xx} + (nX)^2}{nS_{xx}}}$$

para la pendiente:

$$I.C. = m \pm t_{\alpha/2} Se \sqrt{\frac{n}{S_{xx}}}$$

## PRECISIÓN

La precisión se define como la concordancia que se tiene entre un número finito de ensayos independientes de una misma propiedad, y sus resultados son obtenidos por mediciones repetidas de una magnitud bajo las mismas condiciones.

La precisión se expresa numéricamente por medidas como la desviación estándar, la varianza o como la desviación estándar relativa también llamada coeficiente de variación. Así, por lo tanto, a una mayor desviación estándar se tiene una menor precisión.

### *Precisión del sistema*

La precisión del sistema se define como el grado de concordancia de diferentes resultados de mediciones realizadas de varias soluciones de un analito que provienen de una misma solución madre; cada solución y medición se lleva a cabo por un solo analista bajo las mismas condiciones de trabajo en el sistema o técnica que se utiliza.

Para este ensayo se realizan pruebas de hipótesis sobre la varianza, con los datos experimentales obtenidos.

Planteando lo siguiente:

$H_0: s^2 = \sigma_0^2$ , donde  $\sigma_0^2$  es la varianza contra la que se va a comparar (mínimo 5% del C.V.)

$H_1: s^2 \neq \sigma_0^2$

Ya que se trata de muestras aleatorias que derivan de una población normal de varianza  $\sigma_0^2$  se utiliza la prueba de  $\chi^2$  con n-1 grados de libertad, y se compara con la de tablas:

$$\chi^2_{cal} = \frac{(n-1)s^2}{\sigma_0^2}$$

siendo:

n = número de determinaciones

s = desviación estándar muestral (experimental)

$\sigma_0^2$  = varianza máxima aceptada, es decir, contra la que vamos a comparar (máximo 5% del C.V.)

El criterio para rechazar la  $H_0$  es:

$$\chi^2_{\text{cal}} > \chi^2_{\alpha}$$

y con un intervalo de confianza y nivel de significancia de  $1-\sigma$ , para  $s^2$  es:

$$\frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{\alpha/2}} < s^2 < \frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{(1-\alpha/2)}}$$

Tomando la raíz cuadrada de cada miembro de la desigualdad se obtiene el intervalo de confianza para la desviación estándar “s” con el mismo nivel  $1-\sigma$

$$\sqrt{\frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{\alpha/2}}} < s < \sqrt{\frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{(1-\alpha/2)}}$$

### *Precisión del método*

La repetibilidad y la reproducibilidad son las mediciones realizadas para expresar muy frecuentemente la precisión de un método analítico. La repetibilidad indica la mínima variabilidad entre los datos obtenidos y la reproducibilidad es la capacidad del método para obtener los mismos resultados en una misma medición.

La repetibilidad es la precisión máxima esperada, proporciona una idea de la clase de variabilidad de un analista en un equipo, dando idea de la variabilidad de resultados de una muestra que se trabaja por duplicado. La reproducibilidad es la comparación de los resultados obtenidos trabajados por diferentes analistas en un mismo equipo, proporciona información de si los datos son repetibles.

Los resultados de este ensayo implican el efecto de varios aspectos, como la habilidad del analista, volúmenes medidos, etc. Para comprobar esto se realizan pruebas de hipótesis con los datos obtenidos, tomando los siguientes criterios:

### **Repetibilidad**

Para esta propiedad se realizan ensayos y se plantea una prueba de hipótesis, planteando:

$H_0: s^2 = \sigma_0^2$ , donde  $\sigma_0^2$  = se calcula con los datos obtenidos

$H_1: s^2 > \sigma_0^2$

Como se trata de muestras aleatorias que provienen de una población normal de varianza  $\sigma_0^2$  se utiliza la prueba de  $\chi^2$  con n-1 grados de libertad:

$$\chi^2_{cal} = \frac{(n-1)s^2}{\sigma_0^2}$$

siendo:

n = número de determinaciones

s = desviación estándar muestral

$\sigma_0^2$  = varianza máxima aceptada

El criterio para rechazar la  $H_0$  es:

$$\chi^2_{cal} > \chi^2_{\alpha}$$

Para calcular el intervalo de confianza, con un nivel de significancia de  $1-\sigma$ , para  $s^2$  es:

$$\frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{\alpha/2}} < s^2 < \frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{(1-\alpha/2)}}$$

Tomando la raíz cuadrada de cada miembro de la desigualdad obtenemos el intervalo de confianza para la desviación estándar “s” con el mismo nivel  $1-\sigma$

$$\sqrt{\frac{(n-1)s^2}{\chi_{\alpha/2}^2}} < s < \sqrt{\frac{(n-1)s^2}{\chi_{(1-\alpha/2)}^2}}$$

## Reproducibilidad

La reproducibilidad del método se determina de la comparación de las varianzas y las medias de los resultados obtenidos por los dos analistas. En este trabajo no se realizó esta prueba.

## RECOBRO O RECUPERACIÓN

Es el cociente entre la cantidad de analito que se ha cuantificado y la concentración real del analito en la muestra. Se expresa en porcentaje y compara la concentración del analito problema y la concentración que debe obtenerse después de tratar con el método una muestra. El cálculo se realiza con la siguiente ecuación:

$$\% R = \frac{[\text{Concentración}]_{\text{obtenida}}}{[\text{Concentración}]_{\text{teórica}}} \times 100$$

Este proceso se puede realizar ya sea fabricando una muestra sintética lo más parecida a la muestra que se va a trabajar en la que se le adicionaron cantidades conocidas y precisas del o los analitos a analizar y a la que se le aplicará la metodología desarrollada; o adicionando cantidades conocidas y precisas del o los analitos que se están analizando a una muestra previamente analizada.

**DESARROLLO  
DEL  
MÉTODO  
ANALÍTICO**

## **TÉCNICA EMPLEADA**

Espectrofotometría UV

## **REACTIVOS**

ácido acetilsalicílico 99% Sigma (23,963-1)

ácido salicílico 99 % Sigma (10,591-0)

ácido acético glacial 99.99% Sigma (33,882-6)

acetato de sodio 99%

alcohol etílico (etanol) 95% J.T Baker (1310-73-2)

hidróxido de sodio J.T Baker (64-17-5)

sulfato férrico amoniacal

ácido nítrico

## **EQUIPO Y MATERIAL**

Espectrofotómetro UV-Visible UNICAM UV 500 THERMO SPECTRONIC

Software Vision 32

Balanza analítica Sartorius BP2105 de 210g y sensibilidad = 0.1mg

Potenciómetro 620 Metrohm con electrodo de vidrio combinado

Parrilla de calentamiento con agitación magnética Electromantle

Cartuchos de filtración J.T. Baker

Equipo para filtrar al vacío para cartuchos de extracción en fase sólida (SPE)

J.T. Baker.

Matraces Erlenmeyer

Vasos de precipitados

Pipetas volumétricas

Matraces volumétricos

## **MUESTRAS**

Productos farmacéuticos cuyo principio activo es ácido acetilsalicílico:

ASPIRINA YORK tabletas de 325 mg de los laboratorios Cork Pharmacal Co y caducidad de diciembre 2000.

ASPIRINA BAYER

Tabletas de 500 mg con lotes 200363, 5C11D2, caducidad del 03 de julio del 2005 y marzo del 2007 respectivamente.

Tabletas efervescentes 500 mg con lote 5B07L1 y caducidad en febrero del 2007

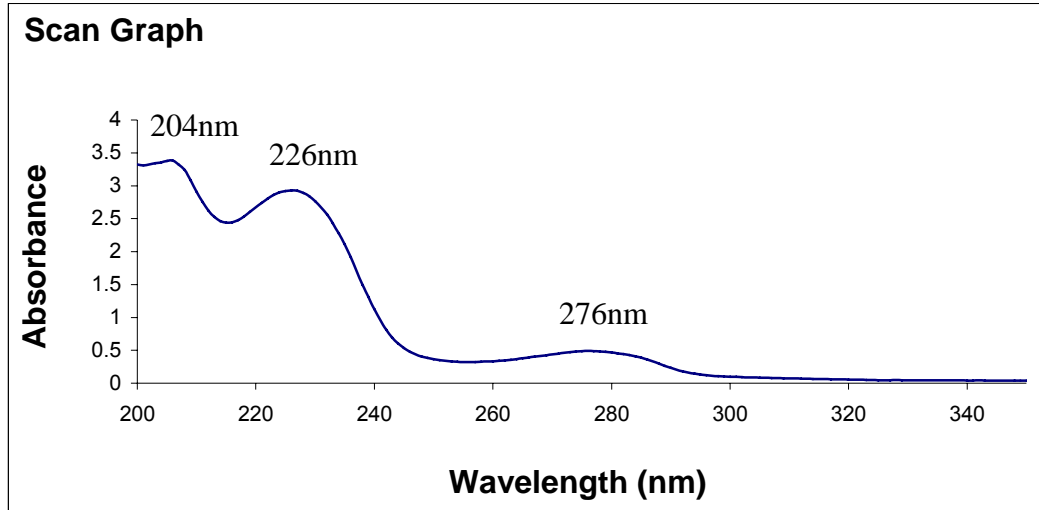
## **DESARROLLO EXPERIMENTAL**

### *ESTUDIO ESPECTROFOTOMÉTRICO UV DE MUESTRAS PATRÓN DE ÁCIDO ACETILSALICÍLICO Y DEL ÁCIDO SALICÍLICO*

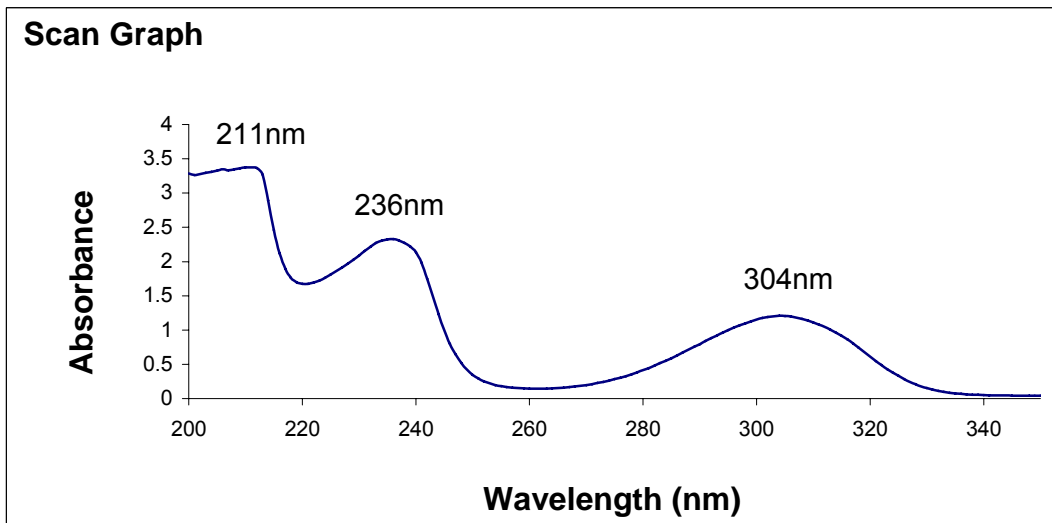
Dada la solubilidad de ambos productos, tal como se presentó en el capítulo de antecedentes en el tema de generalidades paginas 15 y 16, se elige como disolvente de trabajo el etanol.

Se prepararon soluciones patrón de ambos compuestos de tal modo que las absorbancias presentaran valores entre 0.2 y 1, se registraron los espectros. El ácido acetilsalicílico (59.904 $\mu$ g/mL) presenta tres  $\lambda$  máximas de absorción: 204nm, 226nm y 276nm. El ácido salicílico (53 $\mu$ g/mL), presenta tres longitudes máximas de absorción: 211nm, 236nm y 304nm.





a) Ácido acetilsalicílico (59.904 $\mu$ g/mL), en etanol



b) Ácido salicílico (5.3 $\mu$ g/mL), en etanol

Espectro 2. Espectros de absorción de a) ácido acetilsalicílico y b) ácido salicílico, en las que se identificaron las  $\lambda$  máximas de absorción.

Al analizar las bandas de absorción de ambos compuestos se concluye que:

### **Ácido acetilsalicílico**

La banda de 226nm tiene el inconveniente de su alta absorción de tal modo que exige trabajar en concentraciones bajas, la banda de 276nm no presenta problemas aparentes, por lo que se decide trabajar a esta longitud de onda.

### **Ácido salicílico**

Las bandas de 211nm y 236nm coinciden con bandas de absorción cercanas al ácido acetilsalicílico, como se pretende trabajar con una determinación simultánea se descartan, por lo tanto se elige para el ácido salicílico la banda de 304nm.

## *DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DEL ÁCIDO ACETILSALICÍLICO Y DEL ÁCIDO SALICÍLICO.*

### *Curvas de calibración*

Se realizan curvas de calibración con estándares, utilizando disoluciones de concentraciones equiparables a las presentes en los medicamentos.

Para llevar a cabo la cuantificación de muestras de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico por UV, es necesario hacer curvas de calibración y verificar que a las concentraciones en las que se encuentran presentes comúnmente estos compuestos en los medicamentos cumplan con la ley de Lambert-Beer.

## Ácido acetilsalicílico

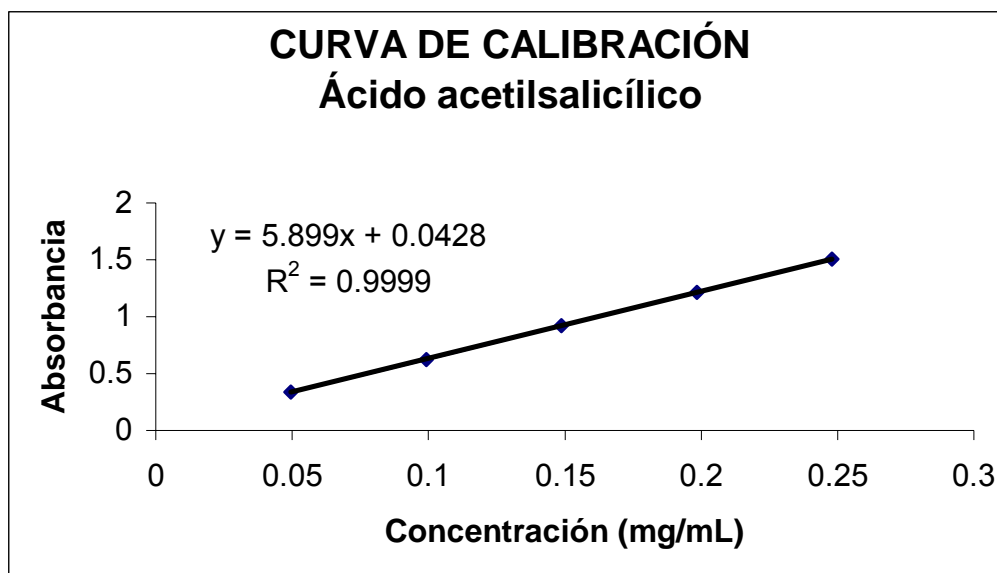
Para la preparación de la curva de calibración del ácido acetilsalicílico se pesaron 6.2mg del estándar, los cuales se llevaron a un aforo de 25mL con etanol, teniendo una concentración de 0.248mg/mL

A partir de ésta se realizaron cuatro diluciones; tomando 2, 4, 6 y 8mL de la solución madre y llevando a un aforo de 10 mL. Los valores registrados de absorbancia para cada disolución se reportan en la siguiente tabla.

Alícuota	Concentración (mg/mL)	Absorbancia (276 nm)
2mL	0.0496	0.3378
4mL	0.0992	0.6259
6mL	0.1488	0.9186
8mL	0.1984	1.2140
Disolución madre	0.2480	1.5067

Tabla 1. Curva de calibración del ácido acetilsalicílico en etanol.

Para estos datos la representación gráfica es:



Gráfica 1. Curva de calibración del ácido acetilsalicílico en etanol.

## Ácido salicílico

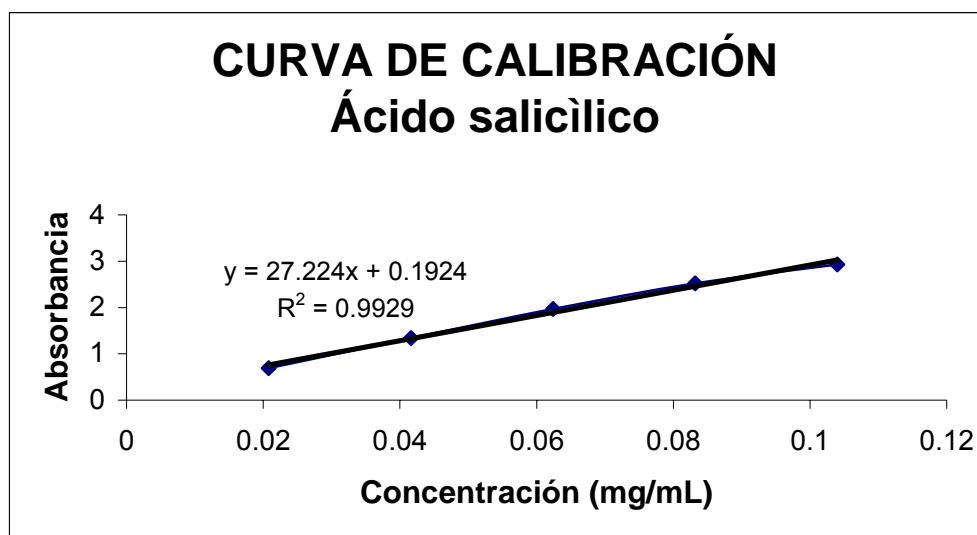
Para la realización de la curva de calibración del ácido salicílico se preparó una solución madre, pesando 2.6mg de ácido acetilsalicílico, que se llevaron a un volumen de 25mL con etanol, de tal forma que se tiene una concentración 0.104mg/mL.

Se realizaron cuatro diluciones; tomando 2, 4, 6 y 8mL de la disolución madre y llevando a un volumen de 10mL. Los valores registrados de absorbancia para cada disolución se reportan en la siguiente tabla.

Alícuota	Concentración (mg/mL)	Absorbancia (304 nm)
2mL	0.0208	0.6934
4mL	0.0416	1.3393
6mL	0.0624	1.9665
8mL	0.0832	2.5242
Disolución madre	0.1040	2.9322

Tabla 2. Curva de calibración del ácido salicílico en etanol.

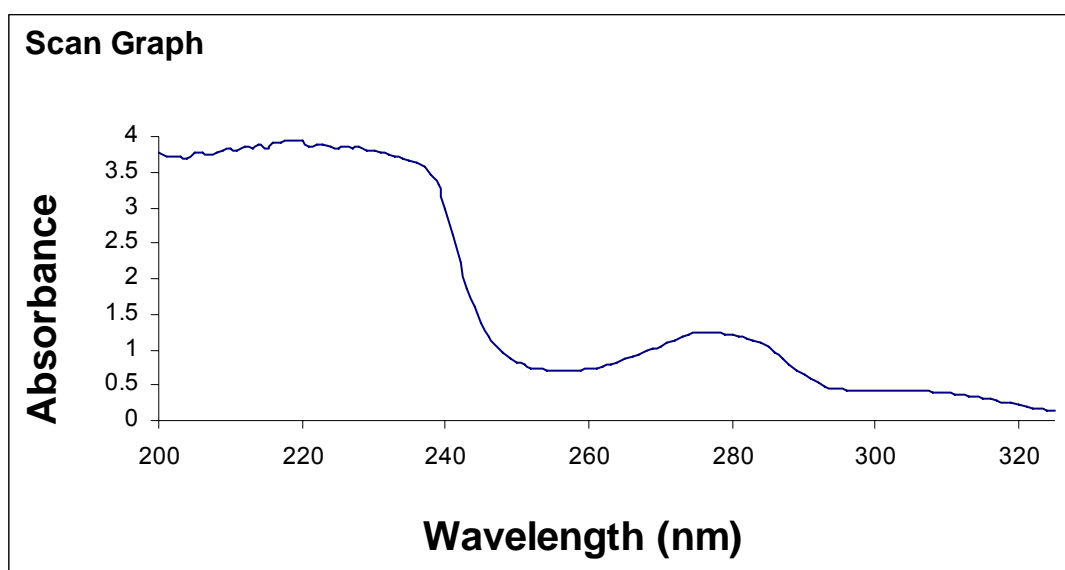
La representación gráfica es la siguiente:



Gráfica 2. Curva de calibración del ácido salicílico en etanol.

### *Mezcla de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico*

Para la determinación de los compuestos en forma simultánea, se preparó una mezcla de ácido acetilsalicílico (0.176mg/mL) y de ácido salicílico (0.0124mg/mL). Se registró el espectro, tomando las absorbancias a las longitudes de onda ya elegidas, (para el ácido acetilsalicílico 276 nm y para el ácido salicílico 304 nm).



Espectro 3. Espectro de absorción de mezcla ácido acetilsalicílico (0.176mg/mL) y ácido salicílico (0.0124mg/mL).

La baja concentración de ácido salicílico causa la baja absorción a 304nm y esto aunado a la sobreposición de bandas, hace imposible la cuantificación directa de ambos compuestos en la mezcla.

*CUANTIFICACIÓN DE MEZCLAS DE ÁCIDO ACETILSALICÍLICO Y ÁCIDO SALICÍLICO UTILIZANDO LA REGLA DE ADITIVIDADES.*

Conociendo las longitudes de máxima absorción y las absorbancias de cada una de las sustancias, se plantean dos ecuaciones:

$$A_{276\text{nm}} = A_{\text{ácido acetilsalicílico } 276\text{nm}} + A_{\text{ácido salicílico } 276\text{nm}}$$

$$A_{304\text{nm}} = A_{\text{ácido acetilsalicílico } 304\text{nm}} + A_{\text{ácido salicílico } 304\text{nm}}$$

Utilizando la ley de Lambert-Beer y estableciendo que se ha trabajado con una celda de un centímetro de espesor, las ecuaciones anteriores se expresan:

$$A_{276\text{nm}} = k_{\text{ácido acetilsalicílico } 276\text{nm}} / C_{\text{ácido acetilsalicílico}} + k_{\text{ácido salicílico } 276\text{nm}} / C_{\text{ácido salicílico}}$$

$$A_{304\text{nm}} = k_{\text{ácido acetilsalicílico } 304\text{nm}} / C_{\text{ácido acetilsalicílico}} + k_{\text{ácido salicílico } 304\text{nm}} / C_{\text{ácido salicílico}}$$

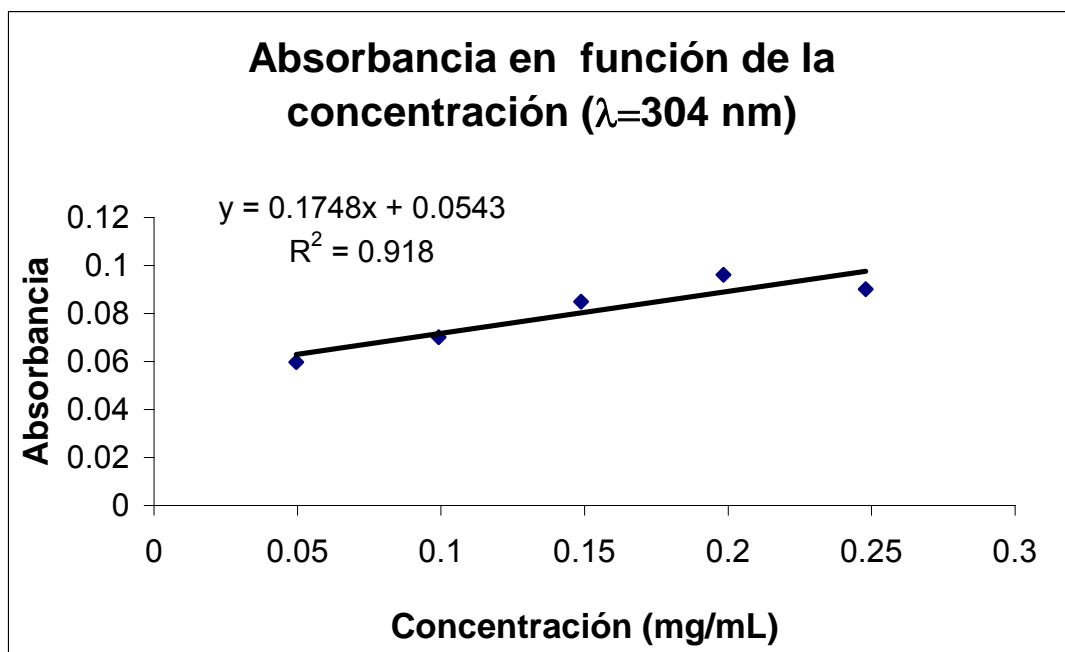
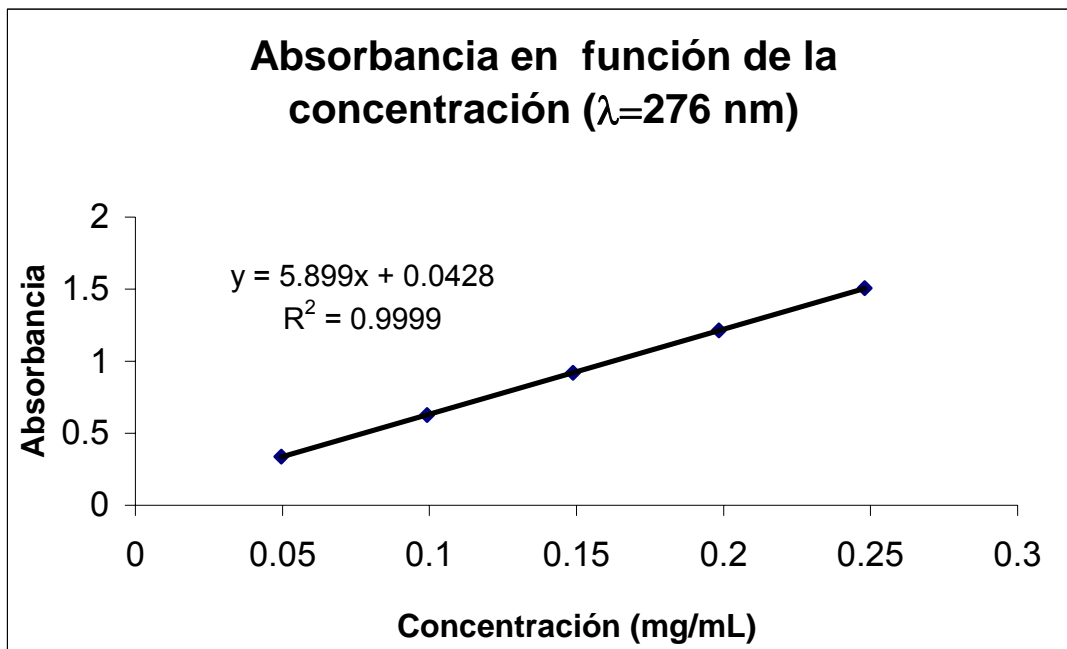
Para conocer las constantes  $k$  del ácido acetilsalicílico y del ácido salicílico a 276nm y 304nm, se toman los valores de las absorbancias de las curvas de calibración a las dos longitudes de onda correspondientes, para cada compuesto.

Concentración ácido acetilsalicílico (mg/mL)	Concentración ácido salicílico (mg/mL)	Absorbancia ácido acetilsalicílico (276 nm)	Absorbancia ácido acetilsalicílico (304 nm)	Absorbancia ácido salicílico (276 nm)	Absorbancia ácido salicílico (304 nm)
0.0496	0.0208	0.3378	0.0598	0.1958	0.6934
0.0992	0.0416	0.6259	0.0702	0.3213	1.3393
0.1488	0.0624	0.9186	0.0850	0.4450	1.9665
0.1984	0.0832	1.2140	0.0961	0.5849	2.5242
0.2480	0.1040	1.5067	0.0902	0.6986	2.9322

Tabla 3. Absorbancias registradas para la misma concentración a las dos longitudes de onda de trabajo 276nm y 304nm para el ácido acetilsalicílico y ácido salicílico.

## Ácido acetilsalicílico

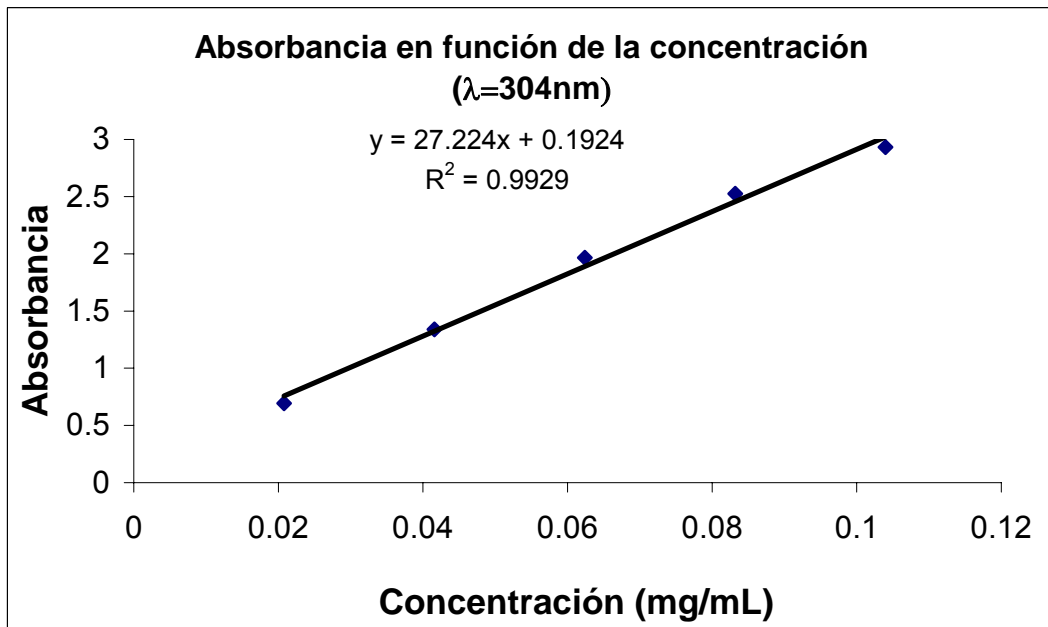
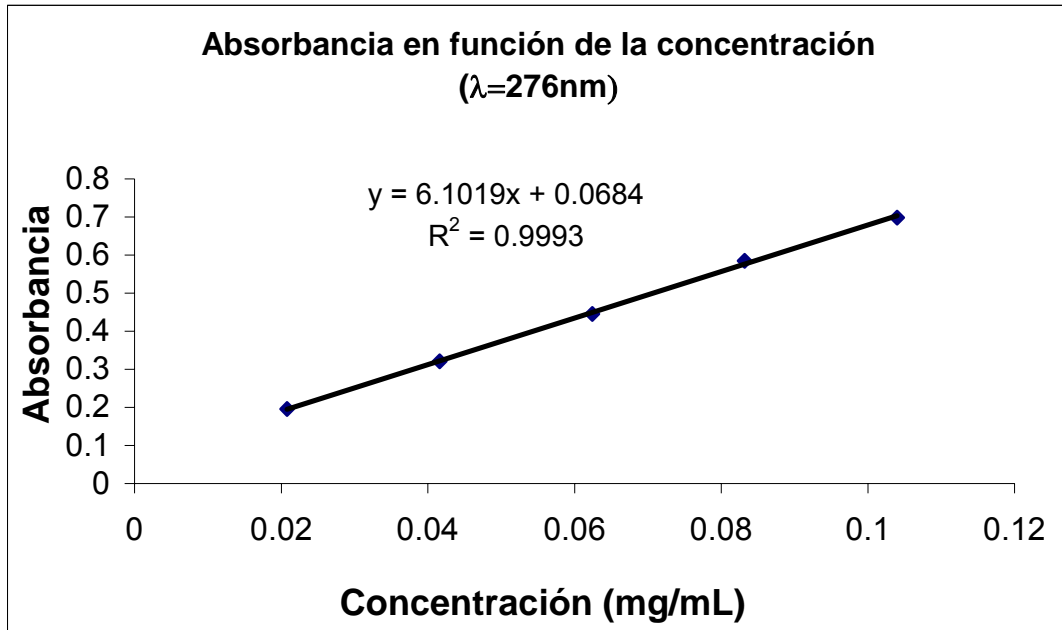
La representación gráfica es:



Gráfica 3. Obtención de las constantes  $k$  a partir de las absorbancias registradas y las concentraciones del ácido acetilsalicílico a las longitudes de onda de trabajo 276nm y 304nm.

## Ácido salicílico

La representación grafica es:



Gráfica 4. Obtención de las constantes  $k$  a partir de las absorbancias registradas y las concentración del ácido salicílico a las longitudes de onda de trabajo 276nm y 304nm.



Los valores encontrados de las constantes  $k$  son:

$k$ ácido acetilsalicílico 276nm	5.899mL/mg
$k$ ácido acetilsalicílico 304nm	0.1748mL/mg
$k$ ácido salicílico 276nm	6.1019mL/mg
$k$ ácido salicílico 304nm	27.24mL/mg

Tabla 4. Coeficientes de absorptividad para el ácido acetilsalicílico y ácido salicílico a 276nm y 304nm.

Conociendo el valor de las constantes, se sustituyen en las ecuaciones:

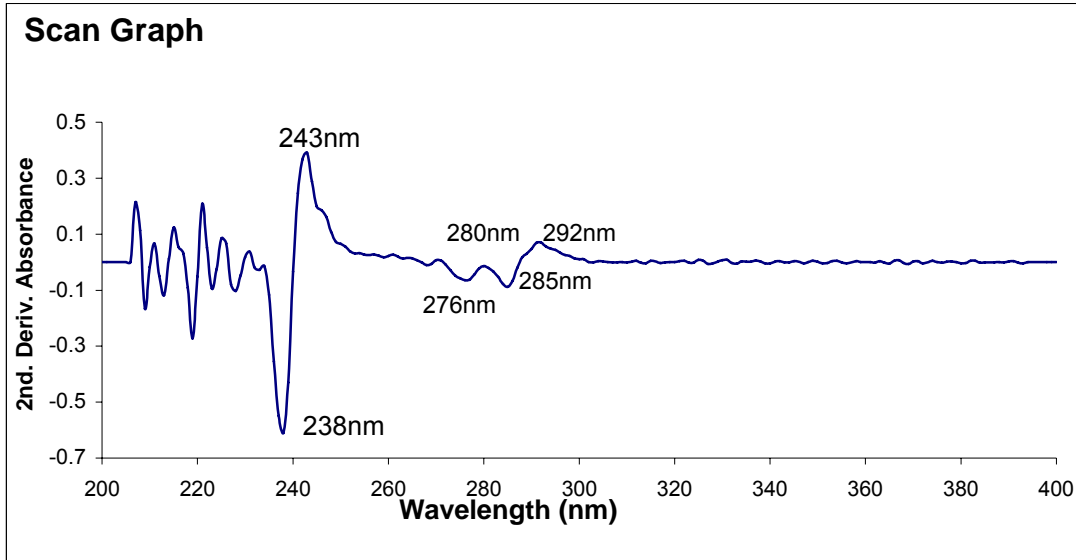
$$A_{276\text{nm}} = 5.899 \text{ mL/mg} / c_{\text{ácido acetilsalicílico}} + 6.1019 \text{ mL/mg} / c_{\text{ácido salicílico}}$$

$$A_{304\text{nm}} = 0.1748 \text{ mL/mg} / c_{\text{ácido acetilsalicílico}} + 27.24 \text{ mL/mg} / c_{\text{ácido salicílico}}$$

Al resolver el sistema de ecuaciones las concentraciones muestran que este método no es aplicable debido a la baja concentración de ácido salicílico con respecto al ácido acetilsalicílico.

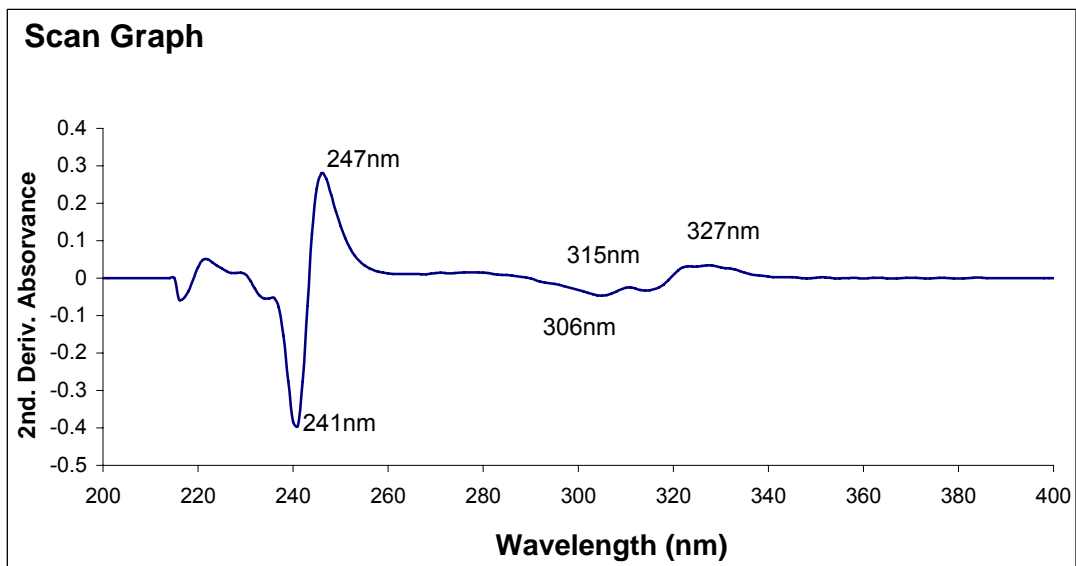
#### *ESTUDIO ESPECTROFOTOMÉTRICO POR UV SEGUNDA DERIVADA DE MEZCLAS PATRÓN DE ÁCIDO ACETILSALICÍLICO Y ÁCIDO SALICÍLICO.*

La espectrofotometría UV segunda derivada es una técnica de mayor sensibilidad, en la que es posible diferenciar bandas de absorción sobrepuestas. Para conocer el comportamiento de los compuestos se prepara una disolución etanólica de cada uno de ellos, obteniéndose los siguientes espectros:



Espectro 4. Espectro de segunda derivada de la absorción de ácido acetilsalicílico (0.15mg/mL).

Se identificaron a qué longitudes de onda se presentaban máximos y mínimos de segunda derivada útiles para la cuantificación. En el espectro del ácido acetilsalicílico se observan las siguientes longitudes de onda de mayor absorción: 238nm, 243nm, 276nm, 280nm, 285nm y 292nm.



Espectro 5. Espectros de segunda derivada de la absorción de ácido salicílico (0.053mg/mL).

En el espectro del ácido salicílico se observan las longitudes de onda de absorción: 241nm, 247nm, 306nm, 316nm y 327nm.

En los dos compuestos coinciden las absorciones comprendidas entre 238nm y 247nm por lo que se descartan para la cuantificación.

Las longitudes elegidas no son solo mínimos, tal como se presentó en la explicación de espectroscopia ultravioleta de derivadas, en la práctica es importante tener en cuenta que lo que buscamos es que en la longitud de onda elegida sea un máximo o mínimo se cumpla la ley de Lambert-Beer.

#### *DETERMINACIÓN CUANTITATIVA POR UV SEGUNDA DERIVADA DEL ÁCIDO ACETILSALICÍLICO Y DEL ÁCIDO SALICÍLICO.*

Se realizan curvas de calibración para cada uno de los compuestos aplicando la segunda derivada de la absorbancia, para identificar que longitudes de onda cumplen la ley de Lambert-Beer.

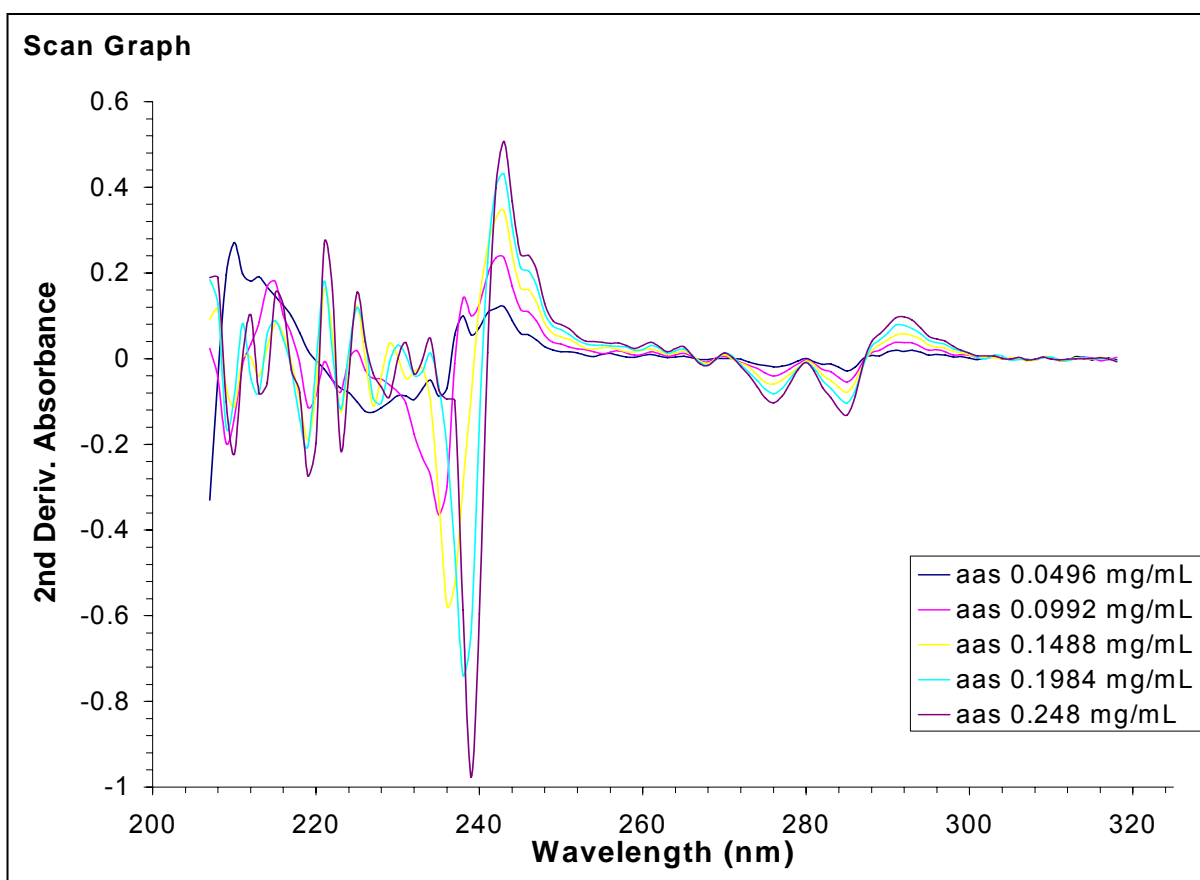
#### ***Comportamiento del ácido acetilsalicílico al UV segunda derivada.***

Para preparar la curva de calibración se partió de una solución 0.248mg/mL, de la cual se tomaron cuatro diluciones, para tener cuatro puntos en la curva. Se tomaron 2, 4, 6 y 8mL llevando a un volumen de 10mL y se registran sus valores de absorbancias por triplicado.

Se eligen cuatro longitudes de onda para medir la segunda derivada de la absorbancia. Las longitudes de onda elegidas fueron 276nm, 280nm, 285nm y 292nm.

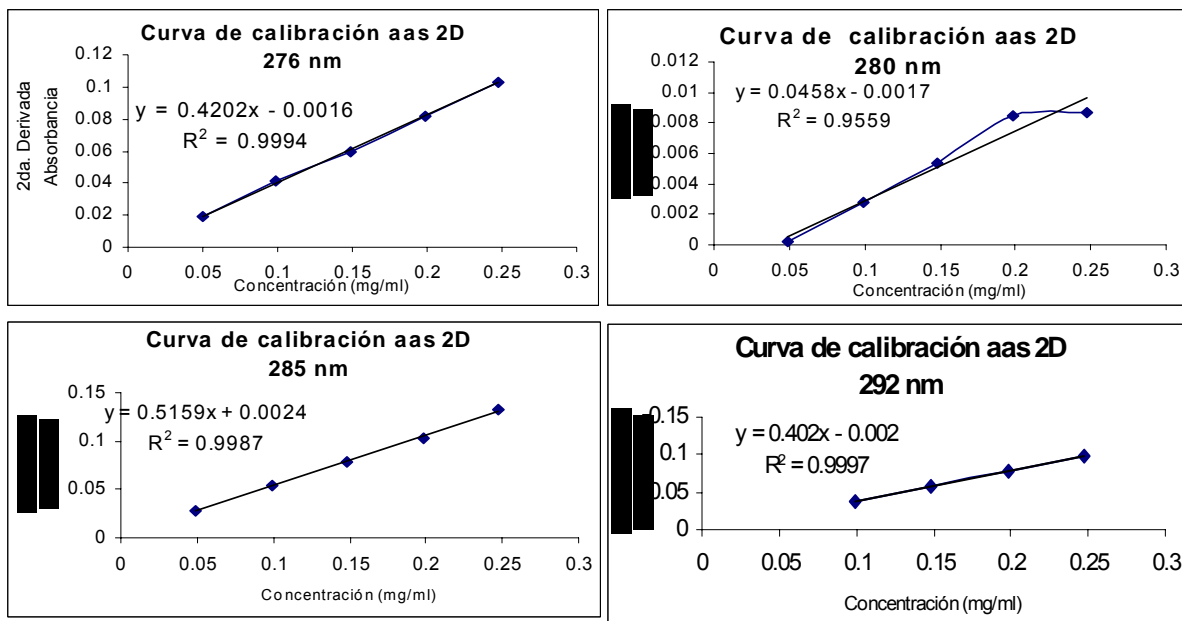
Dilución	Concentración (mg/mL)	Lectura de segunda derivada de la absorbancia a			
		276 nm	280 nm	285 nm	292 m
2mL a 10mL	0.0496	-0.0191	0.0002	-0.0284	0.0166
4mL a 10mL	0.0992	-0.0411	-0.0028	-0.0545	0.0373
6mL a 10mL	0.1488	-0.0599	-0.0054	-0.0781	0.0584
8mL a 10mL	0.1984	-0.0815	-0.0085	-0.1030	0.0778
Solución madre	0.2480	-0.1031	-0.0087	-0.1321	0.0975

Tabla 5. Valores de la segunda derivada de la absorbancia obtenidos de la curva de calibración del ácido acetilsalicílico a diferentes longitudes de onda.



Espectro 6. Espectros de segunda derivada de la absorción de ácido acetilsalicílico.

Al graficar las concentraciones y los valores absolutos de segunda derivada de la absorbancia para las diferentes longitudes de onda se obtienen las siguientes curvas de calibración:



Graficas 5. Curvas patrón de ácido acetilsalicílico a diferentes longitudes de onda.

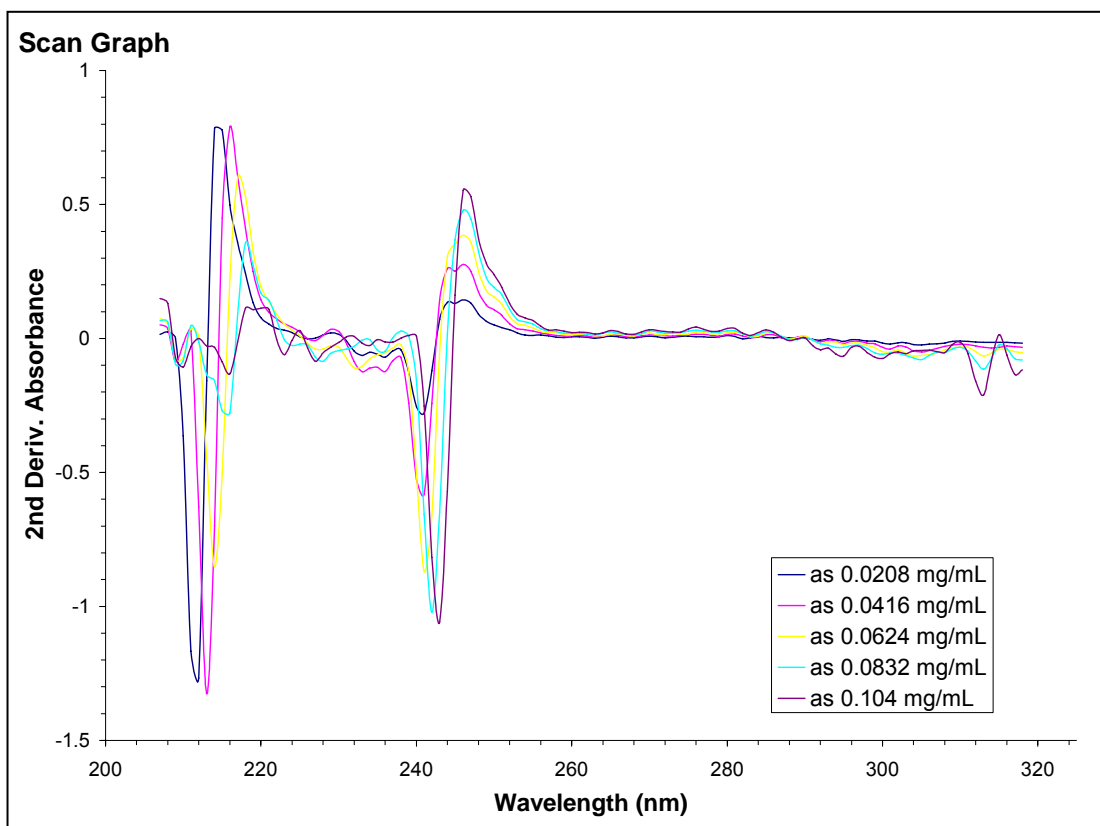
Tomando en cuenta los coeficientes de correlación se concluye que en las longitudes de 276 ó 292nm sería posible llevar a cabo la cuantificación.

### **Comportamiento del Ácido salicílico al UV segunda derivada**

Debido a la sensibilidad de la técnica y a la estructura del ácido salicílico es factible que las lambdas de absorción de estos compuestos sufran desplazamientos dependientes de la concentración de la disolución.

Los equilibrios intermoleculares que puede presentar el ácido salicílico se encuentran en la figura 7.





Espectro 7. Espectros de segunda derivada de la absorción de ácido salicílico.

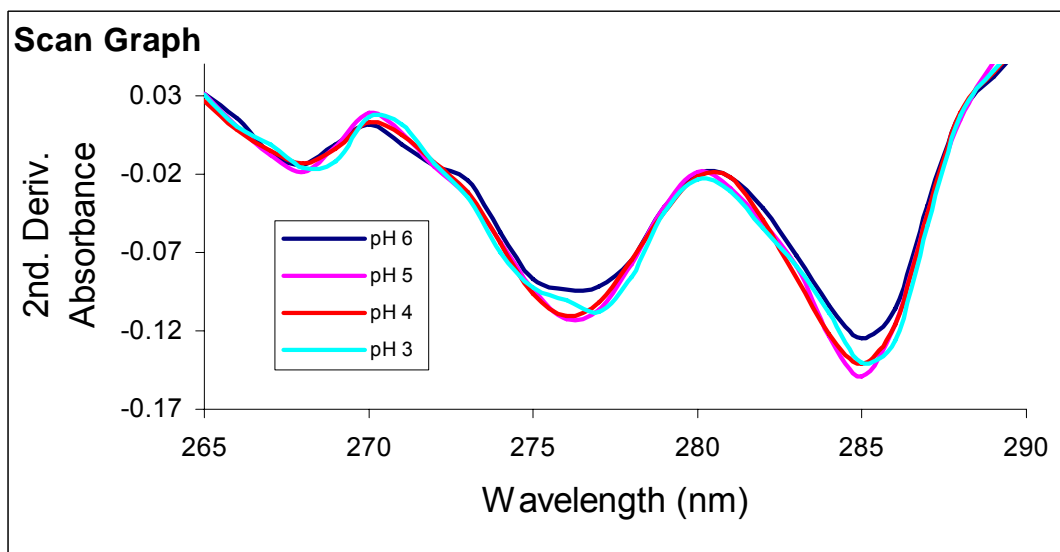
En estos espectros se observan corrimientos en las lambdas de absorción que impiden la elaboración de la curva de calibración para el ácido salicílico, por lo que es necesario estabilizar la muestra.

#### *EFFECTO DEL CAMBIO DEL pH EN LAS LONGITUDES DE ONDA DE ABSORCIÓN DE AMBOS COMPUESTOS.*

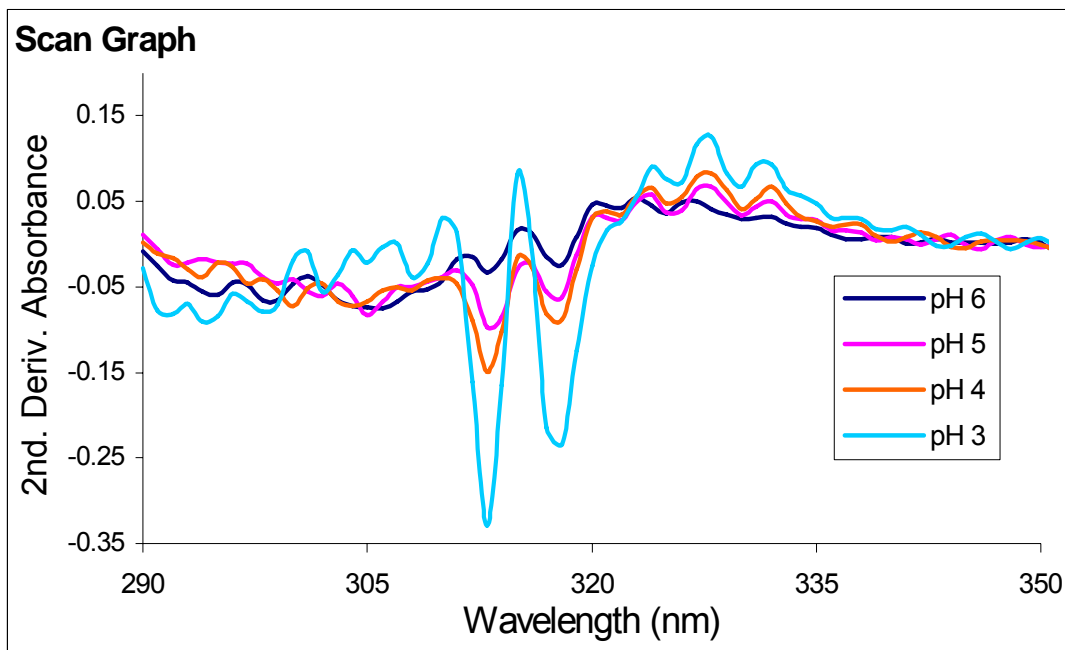
Debido a que el objetivo planteado en este trabajo es llevar a cabo la cuantificación de las dos especies bajo las mismas condiciones es necesario conocer el comportamiento de ambos compuestos en condiciones por lo que se prepararon disoluciones de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico a pH 3, 4, 5 y 6, observándose que las bandas de absorción del ácido acetilsalicílico son

independientes del pH, en cambio, en las del ácido salicílico se observa que el pH modifica la longitud de onda en donde se encuentra el máximo o mínimo de absorción.

Espectro 8. Comportamiento del ácido acetilsalicílico a diferentes valores



de pH.



Espectro 9. Comportamiento del ácido salicílico a diferentes valores de pH.



Se probaron con disoluciones de concentración 0.2mg/mL de ácido acetilsalicílico y 0.1mg/mL de ácido salicílico a estos valores de pH y se observó que a pH 3 se tiene una señal intensa pero que no es proporcional a la concentración, a pH 4 existe el inconveniente de no presentar proporcionalidad entre la segunda derivada de la absorbancia y la concentración, mientras que a pH 5 y pH 6, se observa que los máximos y los mínimos son proporcionales a las concentraciones, por lo que se procedió a realizar curvas de calibración a estos pH.

*Resultados a pH 5*

Concentración (mg/mL)
0.0224
0.0448
0.0672
0.0896
0.1120

Tabla 7. Concentraciones de la curva de calibración del ácido salicílico para un valor de pH 5.

Longitud de onda (nm)	Ecuación de la recta de la curva de calibración	Coefficiente de correlación
303	$y = 26.366x + 0.16596$	0.997
317	$y = 1.258x - 0.03605$	0.940
327	$y = 0.626x + 0.002$	0.999
247	$y = 4.655x + 0.0107$	0.997
249	$y = 2.8487x - 0.01329$	0.998

Tabla 8. Datos de las regresión lineal de las curvas de calibración del ácido salicílico para diferentes longitudes de onda a pH 5.

### Resultados a pH 6

Concentración (mg/mL)
0.0232
0.0462
0.0696
0.0928
0.1160

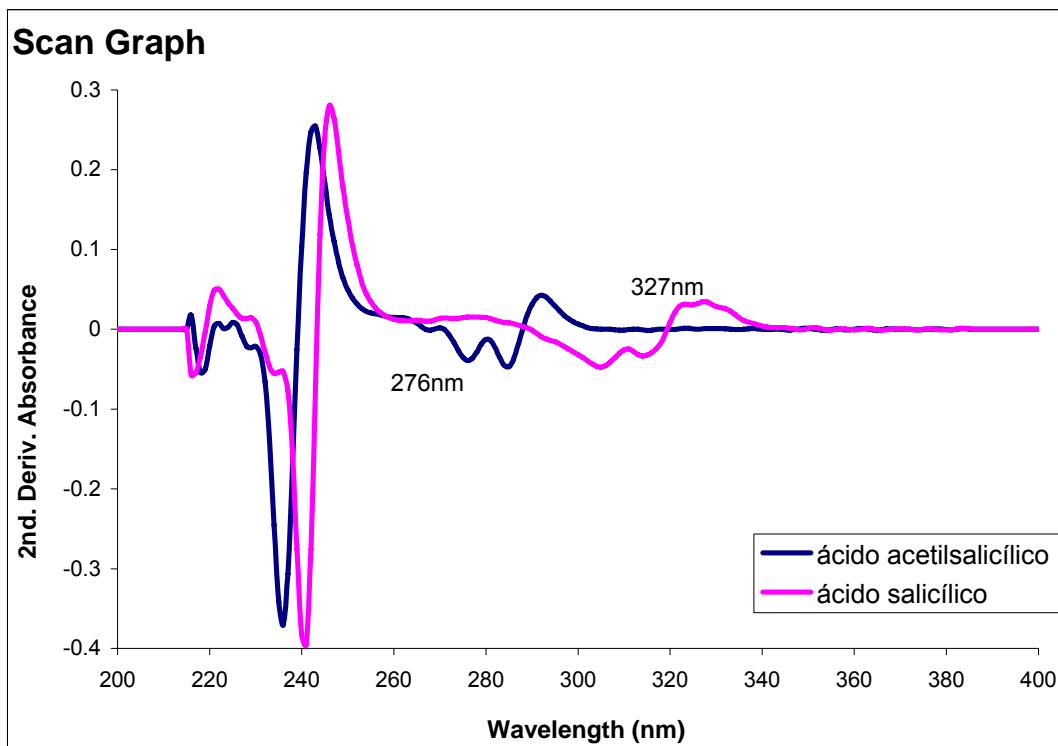
Tabla 9. Concentraciones de la curva de calibración del ácido salicílico para un valor de pH 6.

Longitud de onda (nm)	Ecuación de la recta de la curva de calibración	Coefficiente de correlación
237	$y = 1.2392x - 0.020$	0.979
239	$y = 5.732143x - 0.0452$	0.997
243	$y = 3.16869x + 0.06415$	0.979
253	$y = 0.51403x - 0.0095$	0.974

Tabla 10. Datos de las regresiones lineales de las curvas de calibración del ácido salicílico para diferentes longitudes de onda a pH 6.

Se llevó a cabo la identificación de las bandas de trabajo en las cuales se obtiene una mejor respuesta y en base al coeficiente de correlación mayor a 0.99, se decide trabajar ambos compuestos a pH 5.

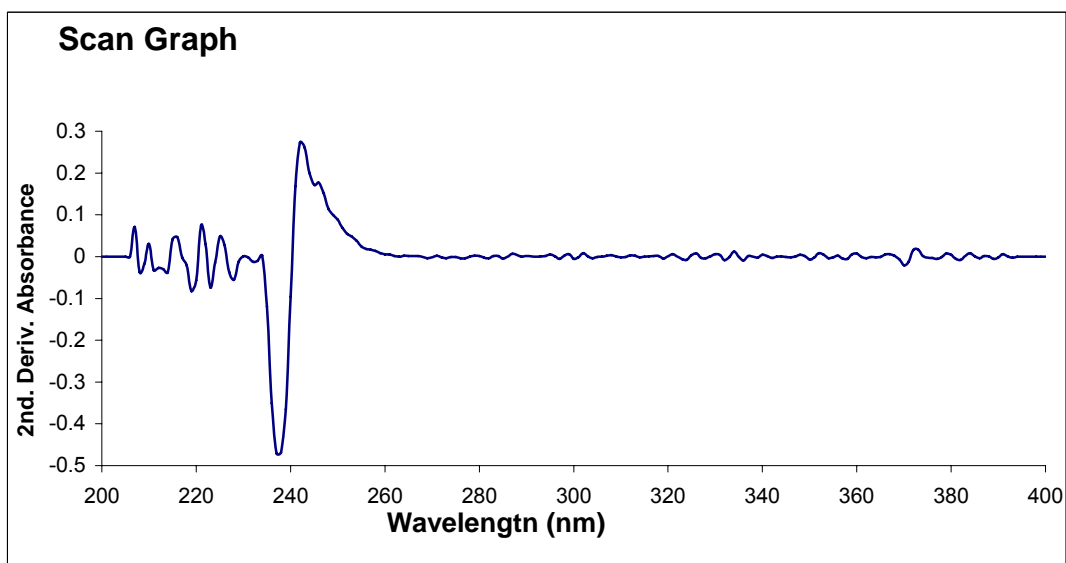
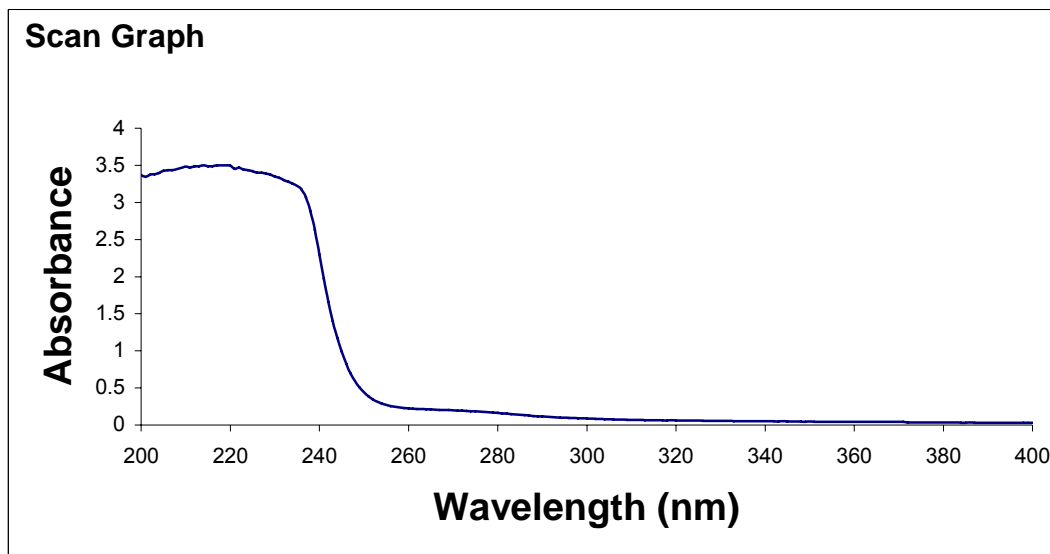
Se concluye trabajar a la longitud de onda de 276 nm para cuantificar el ácido acetilsalicílico y de 327 nm para cuantificar el ácido salicílico. Tal como es posible observar en el espectro que a continuación se presenta estas longitudes de onda no se superponen con ninguna otra señal.



Espectro 10. Espectro comparativo para la elección de las longitudes de onda de trabajo, ácido acetilsalicílico 0.1032mg/mL y ácido salicílico 0.053mg/mL

*PREPARACIÓN DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN DE ÁCIDO ACETILSALICÍLICO Y DE ÁCIDO SALICÍLICO EN SOLUCIÓN AMORTIGUADORA pH 5.*

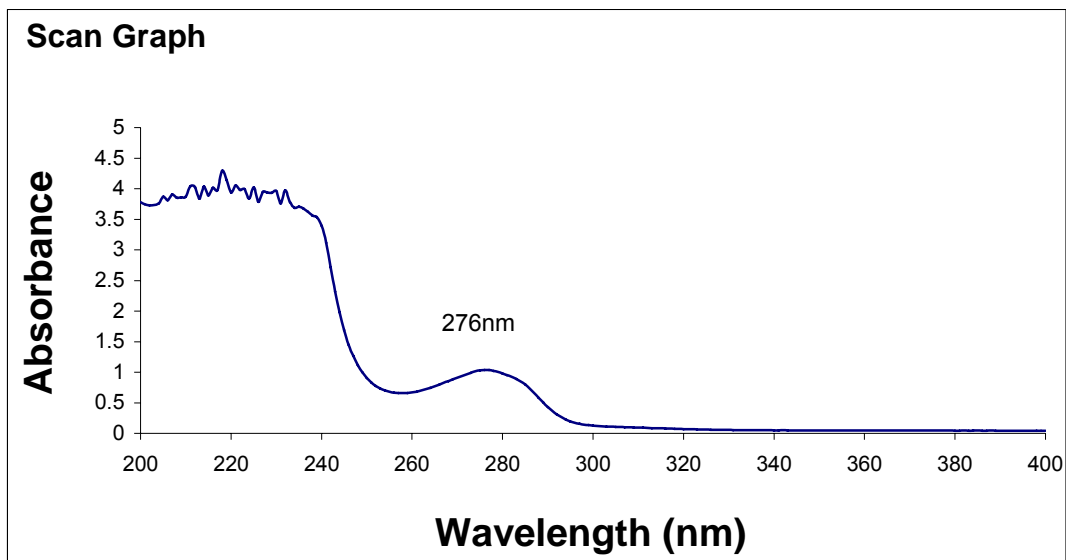
Se utiliza una disolución amortiguadora de acetatos de pH 5. Se registró el espectro de la solución amortiguadora en etanol para verificar que no existieran interferencias. El espectro de Absorbancia presenta una zona libre de absorciones a partir de 250nm. En el espectro de segunda derivada se tiene una zona limpia a partir de 260nm.



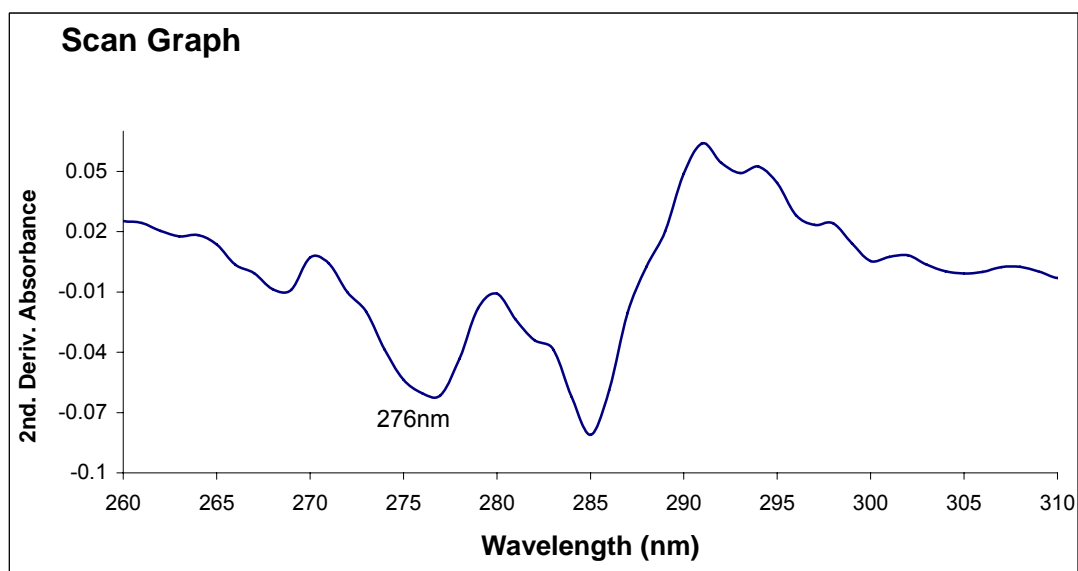
Espectro 11. Espectros para una disolución amortiguadora pH 5, espectro normal y espectro de segunda derivada de la absorbancia.

Se registran los espectros de absorbancia y de segunda derivada de la absorción tanto para el ácido acetilsalicílico como para el ácido salicílico. Para el ácido acetilsalicílico se registró el espectro de una solución de concentración 0.304mg/mL obteniendo una absorbancia de 1.0372 a 276nm y en el espectro de segunda derivada a esta misma longitud de onda un valor de  $-0.0604$ .

Para el ácido salicílico se registró el espectro de una solución de concentración 0.08mg/mL obteniendo una absorbancia de 0.7131 a 302nm y en el espectro de segunda derivada en una longitud de onda de 327nm un valor de 0.0208.

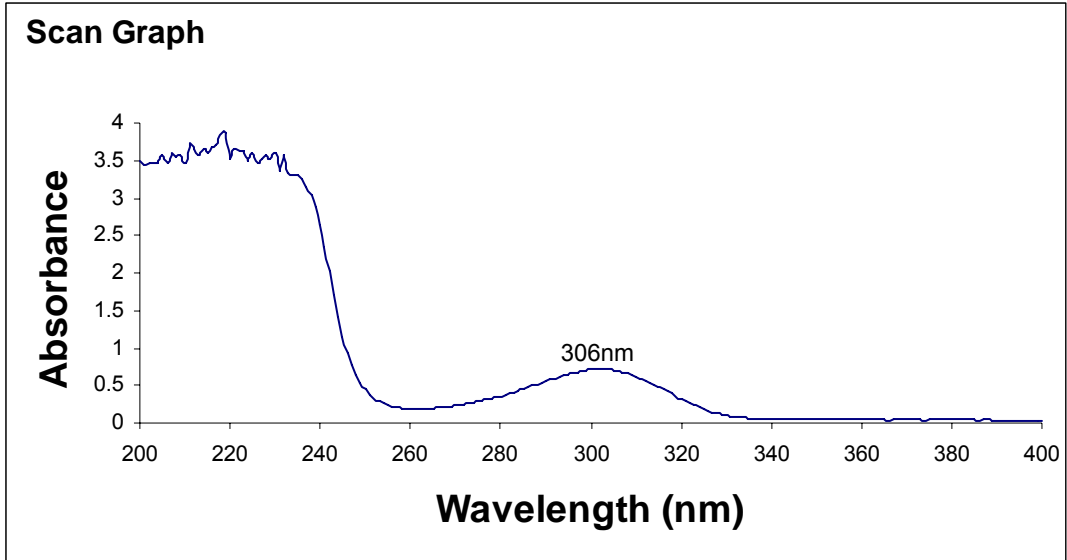


a)

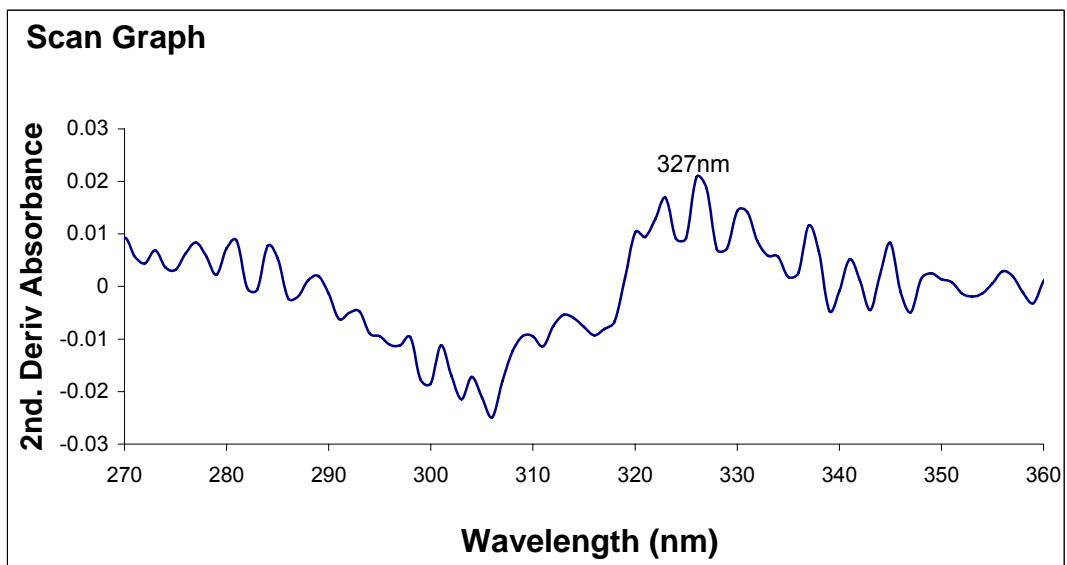


b)

Espectro 12. Espectros para el ácido acetilsalicílico (2.394 mg/mL) a) espectro de absorción ultravioleta y b) espectro de segunda derivada de la absorción.



a)



b)

Espectro 13. Espectros para el ácido salicílico (0.206mg/mL) a) espectro de absorción ultravioleta y b) espectro de segunda derivada de la absorción.

### *Curvas de calibración de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico a pH 5*

Se prepararon curvas de calibración para encontrar el intervalo de concentraciones en el cual se tuviera un comportamiento lineal y que presentara un coeficiente de correlación aceptable, es decir mayor a 0.99. Debe tenerse cuidado que el nivel de ruido no afecte la determinación.

Se decidió trabajar con una supresión del nivel de ruido medio pues de esta manera los coeficientes de correlación y la dispersión en los puntos obtenidos en las curva de calibración son aceptables.

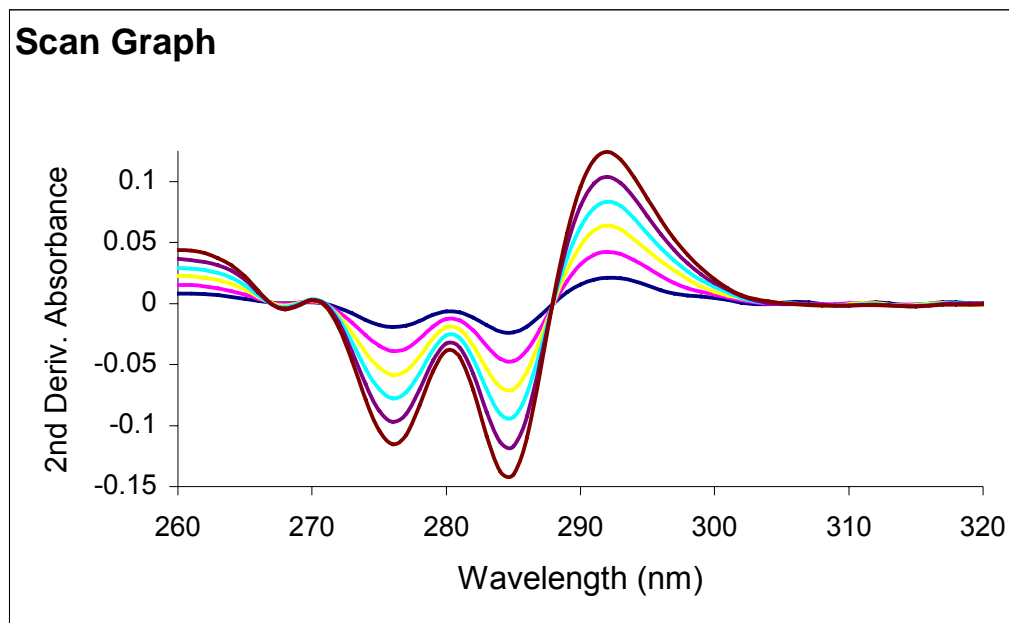
Se presentan las curvas de calibración para el ácido acetilsalicílico y el ácido salicílico, con los intervalos de concentraciones en los que se llevará a cabo el análisis.

#### ***Ácido acetilsalicílico***

La preparación de la curva de calibración del ácido acetilsalicílico se realizó a partir de una disolución de concentración 0.5160 mg/mL, la cual se preparó pesando 0.0258g del estándar de ácido acetilsalicílico en un volumen de 50mL. De esta disolución se realizaron seis diluciones. Se tomaron alícuotas de 1, 2, 3, 4, 5 y 6 mL y se llevaron a un volumen de 10 mL cada uno. A cada disolución se le registro su espectro teniendo los siguientes valores de segunda derivada de la absorbancia a 276nm.

Dilución	Concentración (mg/mL)	Lectura de segunda derivada de la absorbancia a 276 (nm)
1 mL / 10 mL	0.0516	-0.1095
2 mL / 10 mL	0.1032	-0.0391
3 mL / 10 mL	0.1548	-0.0585
4 mL / 10 mL	0.2064	-0.0779
5 mL / 10 mL	0.2580	-0.0972
6 mL / 10 mL	0.3096	-0.1155

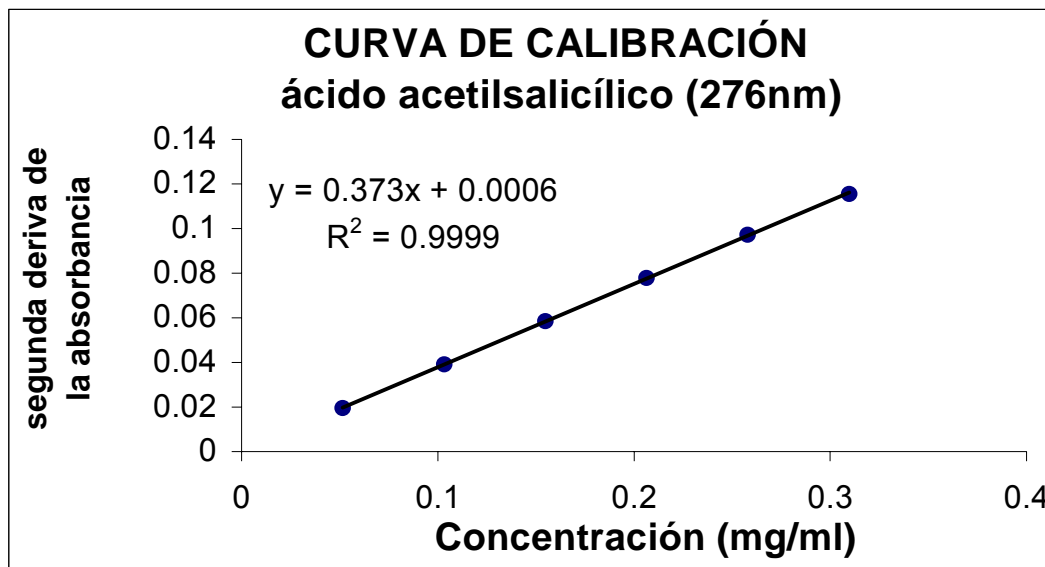
Tabla 11. Valores de la segunda derivada de la absorbancia obtenidos de la curva de calibración del ácido acetilsalicílico a 276nm.



Espectro 14 . Curva de calibración del ácido acetilsalicílico.

Al graficar las concentraciones y los valores absolutos de segunda derivada de la absorbancia para la longitud de onda de 276nm se tiene lo siguiente.





Gráfica 6. Curva de calibración del ácido acetilsalicílico a 276nm.

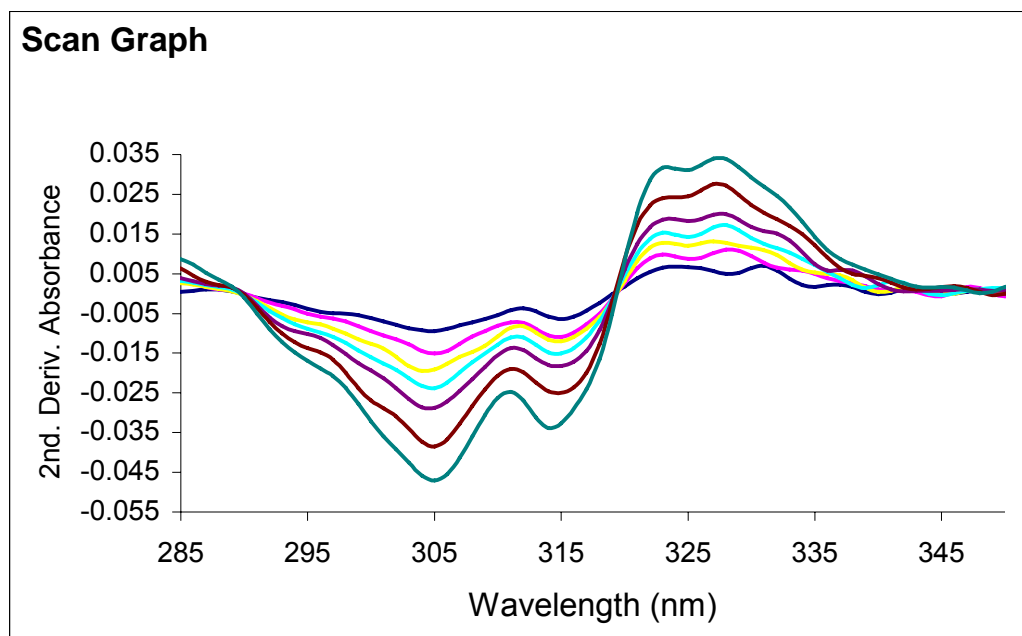
Tomando en cuenta el valor del coeficiente de correlación y observando la gráfica se concluye que en estas condiciones la curva de calibración para el ácido acetilsalicílico cumple con la ley de Lambert-Beer, pues la absorbancia y la concentración son proporcionales.

### ***Ácido salicílico***

Para preparar la curva de calibración del ácido salicílico se utilizó una disolución de concentración 0.0530 mg/mL. Partiendo de esta disolución se realizaron seis diluciones. Se tomaron alícuotas de 1, 2, 3, 4, 5 y 6 mL y se llevaron a un volumen de 10 mL cada uno. Se registran los espectros de las disoluciones obteniendo los siguientes valores de segunda derivada de la absorbancia a 372nm.

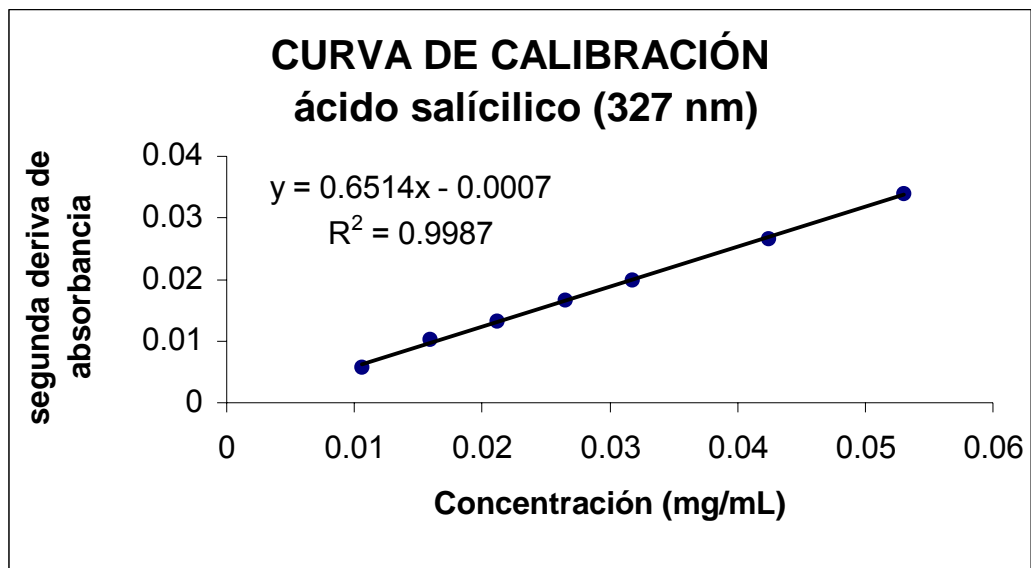
Dilución	Concentración (mg/mL)	Lectura de segunda derivada de la absorbancia a 327 (nm)
1 mL / 10 mL	0.0053	0.0057
2 mL / 10 mL	0.0106	0.0102
3 mL / 10 mL	0.0159	0.0133
4 mL / 10 mL	0.0212	0.0167
5 mL / 10 mL	0.0265	0.0199
6 mL / 10 mL	0.0318	0.0266
Disolución madre	0.0530	0.0340

Tabla 12. Valores de la segunda derivada de la absorbancia obtenidos de la curva de calibración del ácido acetilsalicílico a 327nm.



Espectro 15. Curva de calibración del ácido acetilsalicílico.

Al graficar las concentraciones y los valores de segunda derivada de la absorbancia para la longitud de onda de 327nm se tiene la siguiente curva, donde se observa que se cumple con la ley de Lambert-Beer.



Gráfica 7. Curva de calibración del ácido salicílico a 276nm.

Los coeficientes de absortividad ( $k$ ) encontrados para cada compuesto son:

Ácido acetilsalicílico  $\lambda_{\max}$  276nm = 0.373mL/mg cm

Ácido salicílico  $\lambda_{\max}$  327nm = 0.6514mL/mg cm

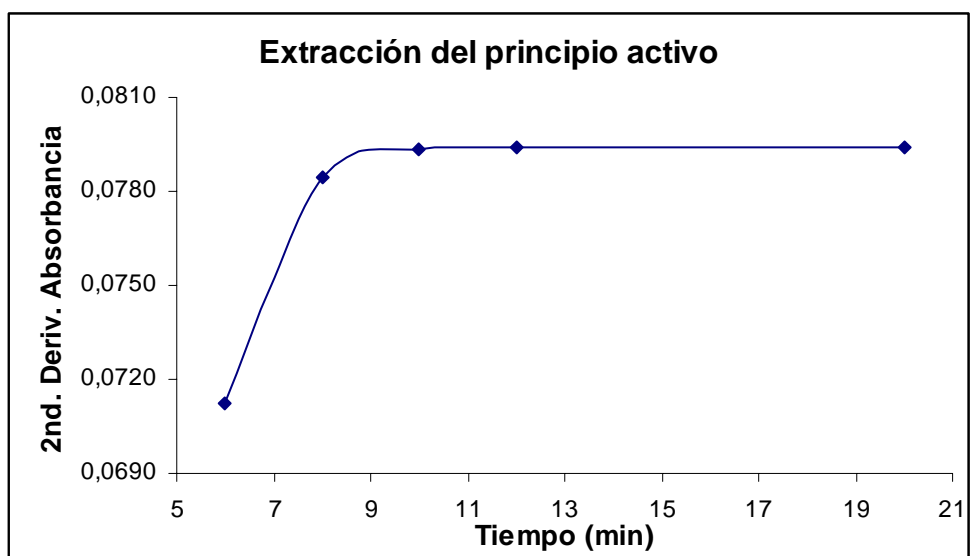
De acuerdo a las curvas de calibración es factible determinar el ácido acetilsalicílico en concentraciones desde 0.0516 hasta 0.3096mg/mL y el ácido salicílico en concentraciones desde 0.0106 hasta 0.0530mg/mL.

**MÉTODO  
ANALÍTICO  
PROPUESTO**

## PRUEBAS PRELIMINARES

De acuerdo a lo publicado<sup>12</sup> se extrae el principio activo por extracción sólido-líquido utilizando un sonicador como apostador de energía. Pruebas realizadas determinan que el tiempo de máxima extracción del principio activo (ácido acetilsalicílico) ocurría en un tiempo de 10 minutos.

Se determinó el tiempo óptimo de extracción, por medio de la siguiente gráfica.



Gráfica 8. Extracción del principio activo de las formulaciones farmacéuticas.

El extracto se filtra para eliminar las partículas suspendidas no solubles (excipientes) utilizando un cartucho de filtración J.T. Baker.

Este método de extracción se comparó con la filtración al vacío y la filtración por gravedad.

<b>Filtración</b>	<b>Concentración detectada (mg/mL)</b>	<b>Cantidad extraída(%)</b>
Con cartucho de filtración	0.19651	98.255
Al vacío	0.19399	96.995
Por gravedad	0.17465	87.25

Tabla 13. Cuadro comparativo de los diferentes métodos de filtración.

La Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos marca que el límite de impureza de ácido salicílico en medicamentos cuya sustancia activa es el ácido acetilsalicílico no debe exceder de 0.3%, en tabletas y 8% en tabletas efervescentes.

Al realizar los primeros análisis los resultados obtenidos para las tabletas de 500mg de *ASPIRINA* Bayer, con lote 200363 y caducidad del 03/julio/05, se obtenían valores equivalentes, para las tabletas del mismo lote.

La concentración de ácido salicílico determinada se encuentra en 0.31% con respecto al ácido acetilsalicílico encontrado.

Miligramos de ácido acetilsalicílico en la tableta.	Miligramos de ácido salicílico en la tableta.
478.79	1.529

Tabla 14. Masa promedio expresada en miligramos de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico obtenidos del análisis de tabletas de ASPIRINA Bayer de 500mg por espectroscopia de segunda derivada.

Dada la baja concentración del ácido salicílico presente en los medicamentos y a que en concentraciones de ácido salicílico entre  $6.72 \times 10^{-3}$  y  $1.68 \times 10^{-3}$  mg/mL las absorbancias a 327nm no varían, no es posible determinar en una misma disolución el ácido acetilsalicílico y el ácido salicílico bajo las concentraciones presentes en los productos farmacéuticos.

## **MÉTODO PROPUESTO**

Se presenta la metodología propuesta para llevar a cabo el análisis en tabletas de 500mg.

**Preparar la curva de calibración para el ácido acetilsalicílico y para el ácido salicílico en concentraciones entre 0.05-0.3mg/mL y 0.01-0.05mg/mL respectivamente.**

**Tomar cinco tabletas, se pesa cada una por separado y se obtiene el peso promedio de las tabletas. Triturar hasta obtener un polvo fino. Tomar el peso promedio de una tableta se adicionan aproximadamente 20mL de etanol con disolución amortiguadora de acetatos a pH 5, se coloca en el sonicador durante 10 minutos. Una vez transcurrido el tiempo filtrar la disolución utilizando un cartucho de filtración colocado en el equipo para filtrar al vacío para cartuchos de extracción en fase sólida (SPE) J.T. Baker. Esta disolución filtrada se lleva a un volumen de 25mL. Se toma la cantidad necesaria para la celda y se registra la lectura de la segunda derivada de la absorbancia a 327nm. Posteriormente realizar una dilución tomando 0.5mL de la disolución y llevar a un volumen de 50mL de etanol con disolución amortiguadora de acetatos a pH 5. De esta disolución se toman el volumen necesario para la celda y se registra su espectro derivado para tomar la lectura de la segunda derivada de la absorbancia a 276nm.**



## **CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO ACETILSALICÍLICO Y ÁCIDO SALICÍLICO PRESENTE EN UN MEDICAMENTO, UTILIZANDO EL MÉTODO PROPUESTO.**

### *APLICACIÓN DE MÉTODO EN MUESTRAS PATRÓN.*

Para comprobar el método se prepararon disoluciones patrón a las que se les aplicó el método teniendo los siguientes resultados:

Concentración real de ácido acetilsalicílico	Concentración calculada de ácido acetilsalicílico	Concentración real de ácido salicílico	Concentración calculada de ácido salicílico
0.236 mg/mL	0.216mg/mL	0.036 mg/mL	0.032 mg/mL
0.198 mg/mL	0.188 mg/mL	0.027 mg/mL	0.026 mg/mL
0.364 mg/mL	0.363 mg/mL	0.152 mg/mL	0.152 mg/mL

Tabla 15. Cuadro comparativo entre concentraciones presentes de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico en mezclas patrón y concentraciones calculadas por el método propuesto.

### *APLICACIÓN DE MÉTODO EN FORMULACIONES FARMACÉUTICAS.*

Utilizando la metodología propuesta se procedió a llevar a cabo la cuantificación del ácido acetilsalicílico y del ácido salicílico presentes en las siguientes muestras.

#### **Tabletas Aspirin York (325mg)**

Nombre: Aspirin

Laboratorio: Cork Pharmacal Co.

Caducidad: Diciembre 2000

Características:

Presentación de la muestra 100 tabletas. El empaque de las tabletas es un recipiente de un material plástico, con tapa hermética.

Peso de las tabletas:

El peso promedio de las tabletas utilizadas es de 0.3840 g.

### **Tabletas Aspirina Bayer (500mg)**

Nombre: Aspirina (ácido acetilsalicílico)

Laboratorio: Laboratorios Bayer S.A

Lote: 5C11D2

Caducidad: Marzo 2007

Características:

Presentación de 40 tabletas. Se encuentran empacadas en tiras con diez tabletas cada tira, éstas se encuentran en una caja de cartón.

Peso de las tabletas:

El peso promedio de las tabletas utilizadas es de 0.5975 g.

### **Tabletas efervescentes Aspirina Bayer (500mg)**

Nombre: Aspirina (ácido acetilsalicílico)

Laboratorio: Laboratorios Bayer S.A

Lote: 5B07L1

Caducidad: Febrero 2007

Características:

Presentación de 12 tabletas. Se encuentran empacadas en tiras con dos tabletas, estas se encuentran en una caja de cartón.

Peso de las tabletas:

El peso promedio de las tabletas utilizadas es de 3.5817 g.

Los resultados obtenidos se presentan en la siguiente tabla:

MUESTRA	CANTIDAD DE ÁCIDO ACETILSALICÍLICO EN LA TABLETA	CANTIDAD DE ÁCIDO SALICÍLICO EN LA TABLETA
Tabletas Aspirin York (325mg)	299.26mg	5.59mg
Tabletas Aspirina Bayer (500mg)	494.407mg	0.803mg
Tabletas efervescentes Aspirina Bayer (500mg)	476.5mg	34.75mg

Tabla 16. Masa promedio expresada en miligramos de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico obtenidos al aplicar el método de cuantificación por espectroscopia de segunda derivada de la absorbancia a formulaciones farmacéuticas.

## COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS ENTRE EL MÉTODO PROPUESTO Y LOS RESPECTIVOS MÉTODOS REPORTADOS EN LA FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS.

Se eligió como muestra de trabajo para esta parte las tabletas de ácido acetilsalicílico Aspirina Bayer en la presentación de 500mg del mismo lote que fue analizado por el método propuesto (lote 5B07L1).

### *Determinación de ácido acetilsalicílico*

En la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos se encuentra reportado el método para determinar el contenido de ácido acetilsalicílico presente en tabletas. De acuerdo a éste las tabletas a analizar deben tener al menos 95.0% y no más del 105.0% de la cantidad indicada en el membrete.

Para llevar a cabo la determinación del ácido acetilsalicílico se presenta la siguiente metodología:

**Preparación de referencia.** Pesar 10mg de ácido acetilsalicílico, colocarlos en un matraz volumétrico de 10mL, agregar 5mL de agua y 2mL de hidróxido de sodio 1N, agitar y completar el aforo con agua. Pasar una alícuota de 5mL de esta solución a un matraz volumétrico de 100mL, llevar al aforo con hidróxido de sodio 0.1N.

**Preparación de la muestra.** Pesar no menos de 10 tabletas, calcular el peso promedio. Triturar hasta obtener un polvo fino, pesar una porción equivalente a 50mg de ácido acetilsalicílico, pasar a un matraz volumétrico de 50mL, agregar 20mL de agua y 10mL de solución de hidróxido de sodio 1N, agitar, llevar al aforo con agua y filtrar. Pasar una alícuota de 5mL de esta solución a un matraz volumétrico de 100mL, llevar al aforo con hidróxido de sodio 0.1N.

**Procedimiento.** Determinar la absorbancia de la preparación de referencia y de la preparación de la muestra problema, a la longitud de onda de máxima absorbancia de 298nm, utilizar celdas de 1cm y solución de hidróxido de sodio 0.1N como blanco de ajuste. Calcular la cantidad de ácido acetilsalicílico en la porción de muestra tomada, con la fórmula:

$$C_m = CD(A_m/A_{ref})$$

dónde:

C = cantidad por mililitro de ácido acetilsalicílico en la preparación de referencia.

D = factor de dilución de la muestra.

$A_m$  = absorbancia obtenida con la preparación de la muestra.

$A_{ref}$  = absorbancia obtenida con la preparación de referencia.

#### *Determinación de ácido salicílico*

Para la determinación de ácido salicílico libre en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos se encuentra reportado un método basado en la formación de un complejo colorido. Se encuentra marcado que el límite no debe exceder de 0.3% en las tabletas.

Para llevar a cabo la valoración del ácido salicílico se presenta la siguiente metodología:

**Preparación de solución ácida de sulfato férrico amoniacal.** Pesar 200mg de sulfato férrico amónico, pasar a un matraz volumétrico de 100mL, agregar 50mL de agua, agitar hasta disolución, adicionar 5mL de ácido nítrico, llevar a la marca de aforo con agua y mezclar.

**Preparación de referencia.** Preparar una solución de ácido salicílico en agua que contenga 100µg/mL. Preparar el día de uso.

**Preparación de muestra.** Pesar no menos de 10 tabletas, triturar hasta polvo fino y pesar una cantidad equivalente a 200mg de ácido acetilsalicílico, pasar a un matraz volumétrico de 100mL adicionar 4mL de etanol al 96.0% (v/v), mezclar y llevar al aforo con agua fría a una temperatura que no exceda los 10°C, mezclar y filtrar inmediatamente.

**Procedimiento.** Pasar a un tubo de Nessler una alícuota de 50mL de la preparación de la muestra y a otro tubo de Nessler pasar una alícuota de 3mL de la preparación de referencia, 2mL de etanol al 96.0% (v/v) y 45mL de agua. Agregar a ambos tubos 1mL de la solución ácida de sulfato férrico amoniacal, dejar reposar los tubos Nessler durante 1 minuto y observar. Si se presenta una coloración violeta azulado de menor intensidad que la de la solución de referencia indicara que la muestra contiene menos de 1.5mg de ácido salicílico.

Se realizó el procedimiento anterior, utilizando las tabletas Aspirina de Bayer en la presentación de 500mg, con el lote que anteriormente se había llevado a cabo la cuantificación por el método propuesto, para poder llevar a cabo la comparación de los resultados. Se obtuvieron los siguientes resultados:

MÉTODO UTILIZADO	CANTIDAD DE ÁCIDO ACETILSALICÍLICO EN LA TABLETA	CANTIDAD DE ÁCIDO SALICÍLICO EN LA TABLETA
Segunda derivada de la absorbancia.	494.407mg	0.803mg
Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos	503.65mg	Coloración violeta azulado de menor intensidad que la preparación de referencia, por lo tanto la muestra contiene menos de 1.5 mg

Tabla 17. Cuadro comparativo entre los resultados de la cuantificación de tabletas Aspirina Bayer en su presentación de 500mg por la metodología de segunda derivada de la absorbancia y las metodologías de la Farmacopea.

Los resultados que se obtienen con ambos métodos son congruentes y se consiguen resultados aceptables aun cuando no son iguales entre si. Pese a esto se determina cuantitativamente la cantidad de ácido salicílico presente en la muestra, mientras que en el caso de la metodología planteada en la Farmacopea solo es posible determinar que la tableta contiene menos de  $6\mu\text{g/mL}$ , esto es menos de 1.5mg en la tableta (menos de 0.3%).

# **ESTUDIO ESTADÍSTICO**



## **PRUEBAS DE VALIDACIÓN.**

Se realizaron las pruebas estadísticas sobre los datos obtenidos experimentalmente para llevar a cabo las pruebas de validación del método analítico, las hojas de cálculo para cada prueba se encuentran en el anexo.

### *LINEALIDAD DEL SISTEMA*

Al realizar la prueba de la linealidad del sistema se quiere probar que el sistema que se está utilizando sea capaz de relacionar la concentración de ácido acetilsalicílico y del ácido salicílico, de manera independiente, aplicando la segunda derivada de la absorbancia ultravioleta, de tal manera que al graficar los valores de la respuesta obtenida (segunda derivada de la absorbancia), de las disoluciones de diferentes concentraciones se obtenga una línea recta con coeficiente de correlación lineal mayor a 0.98.

Para el ácido acetilsalicílico se preparó una solución madre de concentración 0.516mg/mL. Se realizaron seis diluciones por duplicado de 1, 2, 3, 4, 5 y 6 mL llevadas a un volumen de 10mL. Las disoluciones se leyeron por triplicado obteniéndose la curva patrón, la cual se sometió a pruebas estadísticas para comprobar que presenta linealidad y tiende al origen.

Dilución	Concentración mg/mL
1mL a 10mL	0.0516
2mL a 10mL	0.1032
3mL a 10mL	0.1548
4mL a 10mL	0.2064
5mL a 10mL	0.2580
6mL a 10mL	0.3096

Tabla 18. Concentraciones de las disoluciones de la curva de calibración obtenidas a partir de una solución madre de ácido acetilsalicílico 0.516mg/mL.

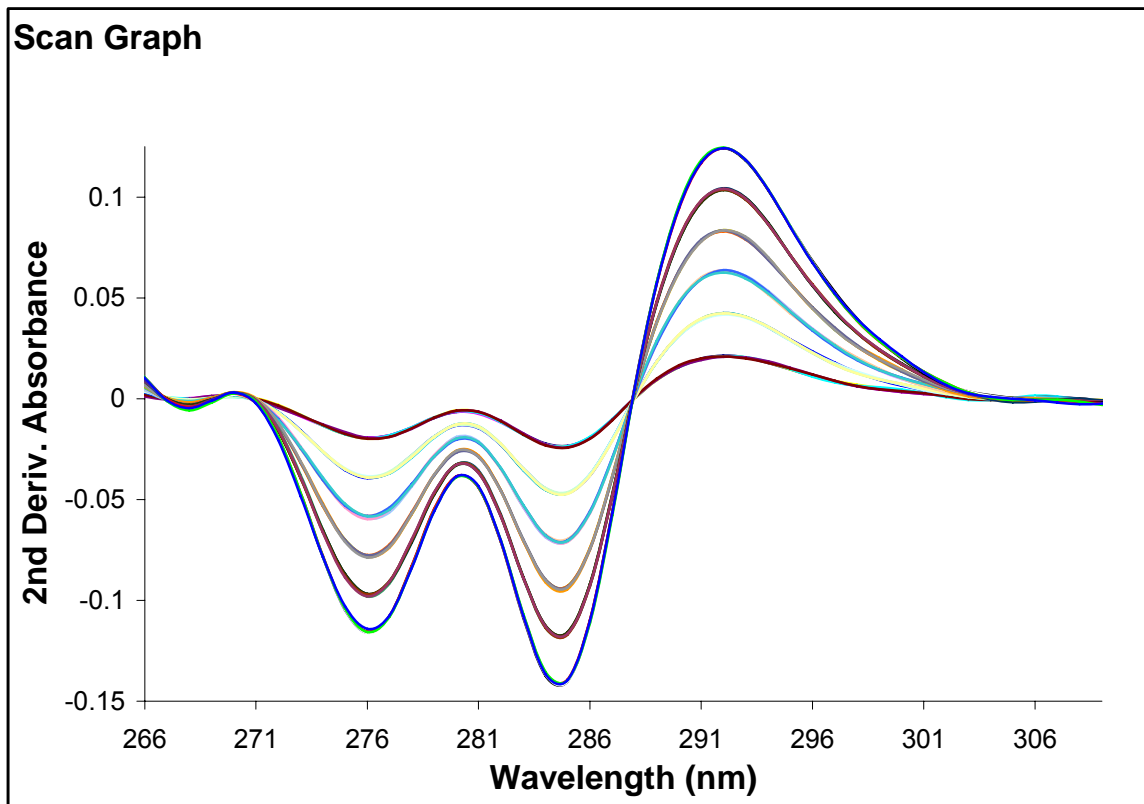
Para el ácido salicílico se preparó una solución madre de concentración 0.181mg/mL. Se realizaron seis diluciones por duplicado de 2, 4, 5, 6, 8 y 10 mL llevadas a un volumen de 25mL. Las disoluciones se leyeron por triplicado obteniéndose la curva patrón, la cual se sometió a pruebas estadísticas para comprobar que presenta linealidad y tendencia al origen.

Dilución	Concentración mg/mL
2mL a 25mL	0.01448
4mL a 25mL	0.02896
5mL a 25mL	0.03620
6mL a 25mL	0.04344
8mL a 25mL	0.05792
10mL a 25mL	0.07240

Tabla 19. Concentraciones de las disoluciones de la curva de calibración obtenidas a partir de una solución madre de ácido salicílico 0.0181mg/mL.

## Ácido acetilsalicílico

Los siguientes son los datos de los valores de segunda derivada de la absorbancia a 276nm para cada concentración de la curva de calibración. Cada disolución se registró por triplicado.

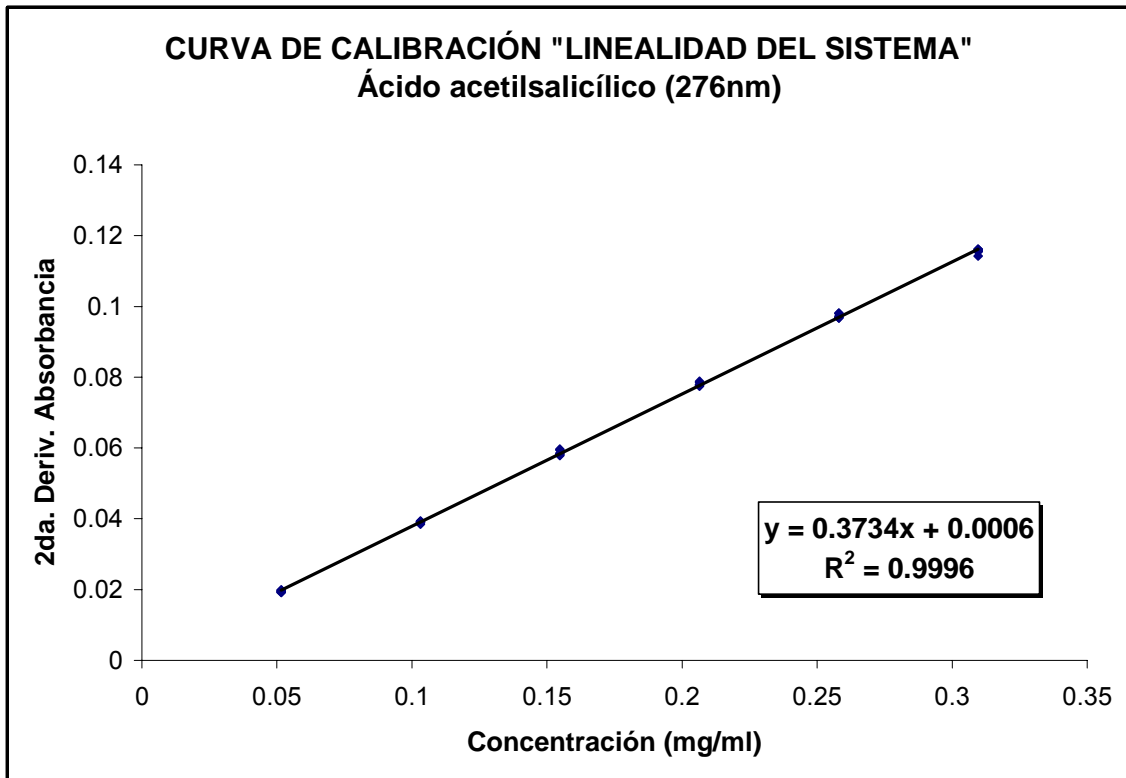


Espectro 16. Espectros ultravioleta con segunda derivada de la curva patrón de ácido acetilsalicílico.

<b>Muestra</b>	<b>2da. Deriv. Absorbancia (276 nm)</b>	<b>Concentración (mg/mL)</b>
1X	0.0193	0.0516
1X	0.0192	0.0516
1X	0.0199	0.0516
1Y	0.0195	0.0516
1Y	0.0194	0.0516
1Y	0.0198	0.0516
2X	0.0392	0.1032
2X	0.0394	0.1032
2X	0.0390	0.1032
2Y	0.0385	0.1032
2Y	0.0389	0.1032
2Y	0.0391	0.1032
3X	0.0594	0.1548
3X	0.0597	0.1548
3X	0.0585	0.1548
3Y	0.0579	0.1548
3Y	0.0581	0.1548
3Y	0.0583	0.1548
4X	0.0778	0.2064
4X	0.0779	0.2064
4X	0.0785	0.2064
4Y	0.0775	0.2064
4Y	0.0776	0.2064
4Y	0.0788	0.2064
5X	0.0969	0.2580
5X	0.0981	0.2580
5X	0.0968	0.2580
5Y	0.0968	0.2580
5Y	0.0972	0.2580
5Y	0.0980	0.2580
6X	0.1161	0.3096
6X	0.1155	0.3096
6X	0.1162	0.3096
6Y	0.1156	0.3096
6Y	0.1157	0.3096
6Y	0.1142	0.3096

Tabla 20. Resultados obtenidos para realizar la prueba de linealidad del sistema para el ácido acetilsalicílico.

La representación gráfica obtenida es la siguiente:



Gráfica 9. Curva de calibración de ácido acetilsalicílico.

De la gráfica se obtiene:

Ordenada al origen: 0.0006

Pendiente: 0.3734 mL/mg

Coefficiente de correlación: 0.9996

Como se observa en la gráfica los datos presentan linealidad así como tendencia al origen, para confirmar que realmente se tiene una tendencia al origen se procede a realizar una prueba de hipótesis sobre la ordenada al

origen.

Planteamiento de la hipótesis nula:

$H_0: b = \beta$ , donde  $\beta = 0$

hipótesis alterna:

$H_1: b \neq \beta$

Para realizar esta prueba utilizamos el estadístico “t de student” fijando como nivel de significancia 95% ( $\alpha = 0.05$ ) y 34 grados de libertad (n-2).

$$t_{cal} = \frac{b - \beta}{Se} \sqrt{\frac{nS_{xx}}{S_{xx} + (n\bar{X})^2}}$$

donde:

b = Ordenada al origen

$\beta$  = Ordenada al origen poblacional ( $\beta = 0$ )

Se = Error típico de estimación

Sxx = Suma de cuadrados de la variable independiente

n = Número de determinaciones

$\bar{x}$  = Media experimental

Se cuenta con los datos:

$$t_{\alpha/2 (0.025, 34)} = 2.34506$$

$$b = 0.0006$$

$$n = 36$$

$$\bar{X} = 0.18060$$

$$S_{xx} = n \sum_{t=1}^n X_t^2 - \left[ \sum_{t=1}^n X_t \right]^2 = 10.06448$$

$$S_{yy} = n \sum_{t=1}^n Y_t^2 - \left[ \sum_{t=1}^n Y_t \right]^2 = 1.40388$$

$$S_{xy} = n \sum_{t=1}^n X_t Y_t - \left[ \sum_{t=1}^n X_t \right] \left[ \sum_{t=1}^n Y_t \right] = 3.75820$$

$$Se = \sqrt{\frac{S_{xx}S_{yy} - (S_{xy})^2}{(n-2)nS_{xx}}} = 6.5306 \times 10^{-4}$$

$$t_{cal} = t_{cal} = \frac{b - \beta}{Se} \sqrt{\frac{nS_{xx}}{S_{xx} + (n\bar{X})^2}} = 2.4174$$

El criterio para rechazar  $H_0$ , es que  $t_{cal} > t_{\alpha/2}$  ó  $t_{cal} < -t_{\alpha/2}$ ; en este caso  $t_{\alpha/2}$  es menor que  $t_{cal}$  por lo que rechazo  $H_0$ , y decimos que la ordenada no tiende al origen, de esta manera se debe tomar en la ecuación de la recta el valor de la ordenada al origen, quedando la ecuación de la siguiente manera:

$$\mathbf{y = mx + b}$$

dónde:

y = segunda derivada de la absorbancia.

x = concentración de ácido acetilsalicílico (mg/mL).

b = ordenada al origen.

Posteriormente se calcula el intervalo de confianza (I.C.) al 95% para la ordenada al origen y la pendiente, obteniéndose los siguientes resultados:

Ordenada al origen: 0.0006

Intervalo superior de confianza

$$I.C. = b + t_{\alpha/2} Se \sqrt{\frac{S_{xx} + (nX)^2}{nS_{xx}}} = 0.00118$$

Intervalo inferior de confianza

$$I.C. = b - t_{\alpha/2} Se \sqrt{\frac{S_{xx} + (nX)^2}{nS_{xx}}} = 0.00002$$

$$\mathbf{0.00002 < 0.0006 < 0.00118}$$

Pendiente: 0.3734

Intervalo superior de confianza

$$I.C. = m + t_{\alpha/2} Se \sqrt{\frac{n}{S_{xx}}} = 0.3763$$

Intervalo inferior de confianza

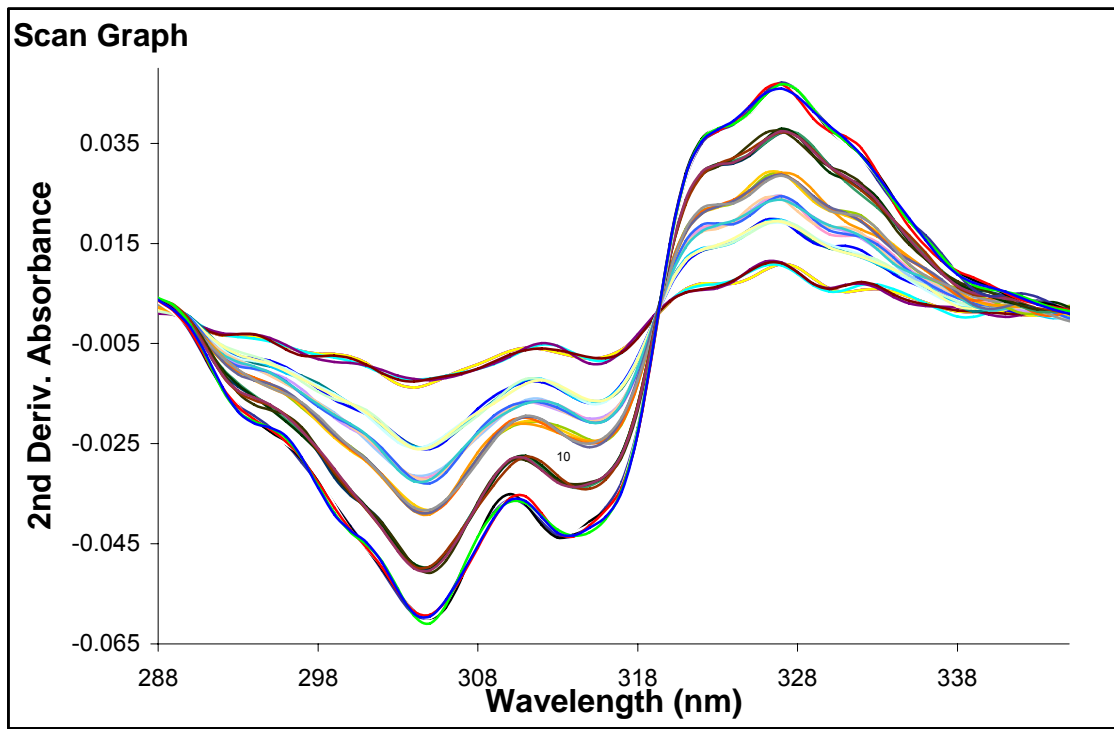
$$I.C. = m - t_{\alpha/2} Se \sqrt{\frac{n}{S_{xx}}} = 0.3705$$

$$\mathbf{0.3705 < 0.3734 < 0.3763}$$



## Ácido salicílico

Los siguientes son los datos de los valores de segunda derivada de la absorbancia a 327nm para cada concentración de la curva de calibración. Para cada disolución se registró su espectro por triplicado.

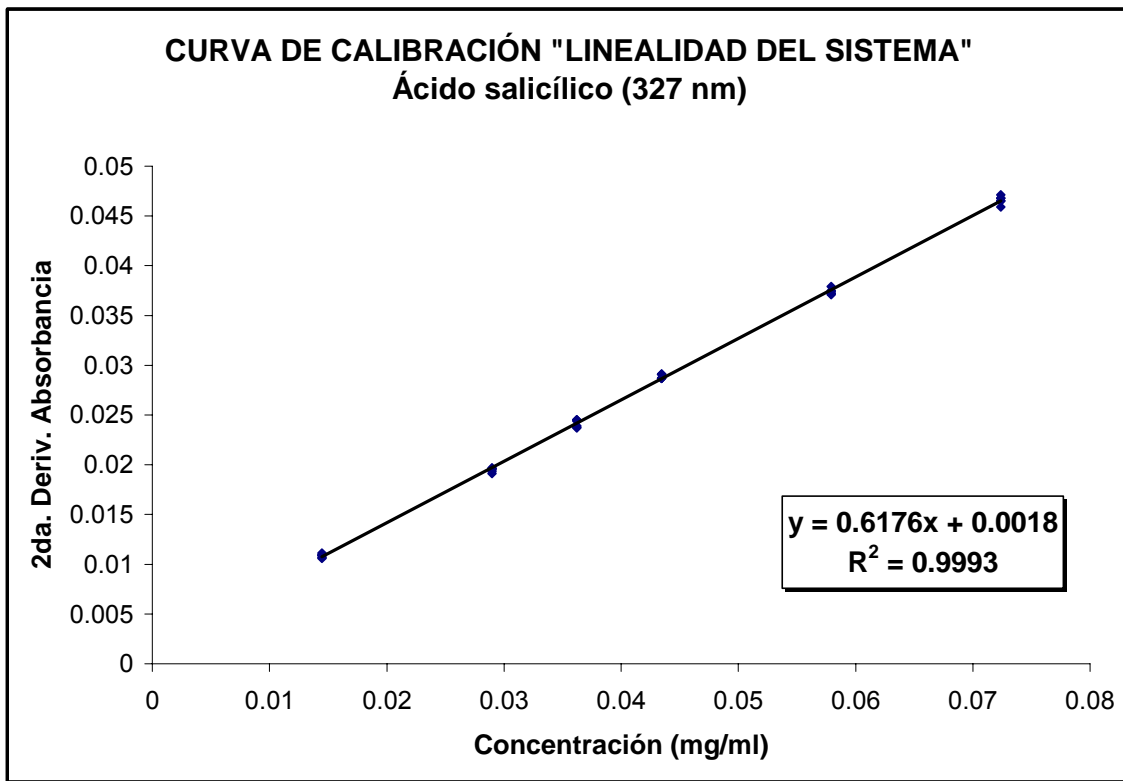


Espectro 17. Espectros ultravioleta con segunda derivada de la curva patrón de ácido salicílico.

<b>Muestra</b>	<b>2da. Deriv. Absorbancia (327 nm)</b>	<b>Concentración (mg/mL)</b>
2a	0.0109	0.01448
2a	0.0109	0.01448
2a	0.0109	0.01448
2b	0.0106	0.01448
2b	0.0107	0.01448
2b	0.0111	0.01448
4a	0.0196	0.02896
4a	0.0196	0.02896
4a	0.0197	0.02896
4b	0.0191	0.02896
4b	0.0193	0.02896
4b	0.0195	0.02896
5a	0.0245	0.0362
5a	0.0245	0.0362
5a	0.0238	0.0362
5b	0.0239	0.0362
5b	0.0244	0.0362
5b	0.0237	0.0362
6a	0.0291	0.04344
6a	0.0291	0.04344
6a	0.0291	0.04344
6b	0.0287	0.04344
6b	0.0287	0.04344
6b	0.0287	0.04344
8a	0.0371	0.05792
8a	0.0372	0.05792
8a	0.0379	0.05792
8b	0.0375	0.05792
8b	0.0372	0.05792
8b	0.0374	0.05792
10a	0.0471	0.0724
10a	0.0465	0.0724
10a	0.0465	0.0724
10b	0.0468	0.0724
10b	0.0468	0.0724
10b	0.0459	0.0724

Tabla 21. Resultados obtenidos para realizar la prueba de linealidad del sistema para el ácido salicílico.

La representación gráfica se presenta a continuación:



Gráfica 10. Curva de calibración de ácido salicílico.

De la gráfica se obtiene:

Ordenada al origen: 0.0018

Pendiente: 0.6176

Coeficiente de correlación: 0.9993

Como se observa en la gráfica los datos tienen una tendencia lineal así como una ordenada al origen pequeña, para confirmar que realmente se tiene una tendencia al origen se procede a realizar una prueba de hipótesis sobre la ordenada al origen, del mismo modo que se hizo para el ácido acetilsalicílico.

Planteamiento de hipótesis nula:

Ho:  $b = \beta$ , donde  $\beta = 0$

hipótesis alterna:

H<sub>1</sub>:  $b \neq \beta$

Para realizar esta prueba utilizamos el estadístico “t de student” fijando como nivel de significancia 95% ( $\alpha = 0.05$ ) y 34 grados de libertad (n-2).

$$t_{cal} = \frac{b - \beta}{Se} \sqrt{\frac{nS_{xx}}{S_{xx} + (n\bar{X})^2}}$$

dónde:

b = Ordenada al origen

$\beta$  = Ordenada al origen poblacional ( $\beta = 0$ )

Se = Error típico de estimación

S<sub>xx</sub> = Suma de cuadrados de la variable independiente

n = Número de determinaciones

$\bar{x}$  = Media experimental

Se cuenta con los datos:

$t_{\alpha/2 (0.025, 34)} = 2.34506$

b = 0.0018

$$n = 36$$

$$\bar{X} = 0.04223$$

$$S_{xx} = n \sum_{t=1}^n X_t^2 - \left[ \sum_{t=1}^n X_t \right]^2 = 0.46232$$

$$S_{yy} = n \sum_{t=1}^n Y_t^2 - \left[ \sum_{t=1}^n Y_t \right]^2 = 0.17649$$

$$S_{xy} = n \sum_{t=1}^n X_t Y_t - \left[ \sum_{t=1}^n X_t \right] \left[ \sum_{t=1}^n Y_t \right] = 0.28554$$

$$Se = \sqrt{\frac{S_{xx}S_{yy} - (S_{xy})^2}{(n-2)nS_{xx}}} = 3.2843 \times 10^{-4}$$

$$t_{cal} = t_{cal} = \frac{b - \beta}{Se} \sqrt{\frac{nS_{xx}}{S_{xx} + (n\bar{X})^2}} = 13.4247$$

El criterio para rechazar  $H_0$ , es que  $t_{cal} > t_{\alpha/2}$  ó  $t_{cal} < -t_{\alpha/2}$ ; en este caso  $t_{\alpha/2}$  es menor que  $t_{cal}$  por lo que rechazo  $H_0$ , y decimos que la ordenada no tiende al origen, de esta manera se debe tomar en la ecuación de la recta el valor de la ordenada al origen, quedando la ecuación de la siguiente manera:

$$y = mx + b$$

dónde:

y = segunda derivada de la absorbancia.

x = concentración de ácido salicílico expresada en mg/mL.

b = ordenada al origen.

Posteriormente se calcula el intervalo de confianza (I.C.) al 95% para la ordenada al origen y la pendiente, obteniéndose los siguientes resultados:

Ordenada al origen: 0.0018

Intervalo superior de confianza

$$I.C. = b + t_{\alpha/2} Se \sqrt{\frac{Sxx + (nX)^2}{nSxx}} = 0.00211$$

Intervalo inferior de confianza

$$I.C. = b - t_{\alpha/2} Se \sqrt{\frac{Sxx + (nX)^2}{nSxx}} = 0.00149$$

$$\mathbf{0.00149 < 0.0018 < 0.00211}$$

Pendiente: 0.6176

Intervalo superior de confianza

$$I.C. = m + t_{\alpha/2} Se \sqrt{\frac{n}{Sxx}} = 0.6244$$

Intervalo inferior de confianza

$$I.C. = m - t_{\alpha/2} Se \sqrt{\frac{n}{S_{xx}}} = 0.6108$$

$$0.6108 < 0.6176 < 0.6244$$

## *PRECISIÓN*

### *Precisión del sistema*

Esta prueba se realizó para medir la desviación que existe entre siete mediciones realizadas con el sistema de espectrofotometría ultravioleta con segunda derivada aplicado a disoluciones de mezclas de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico.

La precisión del sistema se determinó, preparando una solución estándar de una mezcla de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico, para lo cual se pesaron 0.1539 g del estándar de ácido acetilsalicílico y 0.0195g del estándar de ácido salicílico, llevando a un volumen de 100mL. Se realizaron siete diluciones tomando 4mL de la solución estándar de la mezcla y se llevaron a un volumen de 25mL, de esta manera se obtuvieron siete soluciones estándar de la mezcla de ácido acetilsalicílico con una concentración de 0.2462mg/mL y de ácido salicílico con una concentración de 0.0312mg/mL, las cuales se registraron sus espectros por quintuplicado.

Se registro la segunda derivada de la absorbancia a 276nm (ácido acetilsalicílico) y 327nm (ácido salicílico).

Segunda derivada de la Absorbancia			
276 (nm)	327 (nm)		
0.0892	0.0211		
0.0891	0.0218		
0.0892	0.0209		
0.0892	0.0221		
0.0888	0.0200		
0.0888	0.0216		
0.0883	0.0207		
0.0893	0.0212		
0.0887	0.0207	n =	35
0.0881	0.0215	Media =	0.0209
0.0880	0.0211	s exp =	6.03101E-04
0.0896	0.0208	s <sup>2</sup> exp =	3.637311E-07
0.0900	0.0221	% CV exp =	2.8794
0.0904	0.0224	% CV teórico =	3
0.0908	0.0203	s teórica =	6.2837E-04
0.0902	0.0203	s <sup>2</sup> teórica =	3.9485065E-07
0.0904	0.0206		
0.0891	0.0201		
0.0905	0.0207		
0.0891	0.0207		
0.0882	0.0211		
0.0888	0.0206		
0.0891	0.0207		
0.0878	0.0214		
0.0898	0.0214		
0.0889	0.0206		
0.0886	0.0203		
0.0882	0.0210		
0.0886	0.0213		
0.0878	0.0202		
0.0883	0.0204		
0.0890	0.0204		
0.0887	0.0213		
0.0884	0.0214		
0.0893	0.0203		

Tabla 22. Resultados obtenidos para la prueba de precisión del sistema.



## Ácido acetilsalicílico

Se utiliza una prueba de hipótesis sobre la varianza para conocer si el coeficiente de variación de los datos de segunda derivada de la absorbancia es menor al 5%, para lo cual se plantea la siguiente hipótesis:

La hipótesis nula:

$H_0: s^2 = \sigma_0^2$ , donde  $\sigma_0^2 =$  se le da considerando 5% del C.V. de los datos

La hipótesis alterna:

$H_1: s^2 \neq \sigma_0^2$

Por tratarse de muestras aleatorias que provienen de una población normal de varianza  $\sigma_0^2$  se utiliza la prueba de  $\chi^2$  con n-1 grados de libertad, y se compara con la de tablas:

$$\chi^2_{cal} = \frac{(n-1)s^2}{\sigma_0^2}$$

dónde:

n = número de determinaciones

$s^2$  = varianza experimental

$\sigma_0^2$  = varianza contra la que vamos a comparar (mínimo 5% del C.V.)

$$\chi^2_{cal} = \frac{(n-1)s^2}{\sigma_0^2} = 1.0637$$

$$\chi^2_{\alpha, n-1} = 48.60235627$$

El criterio para rechazar  $H_0$  es:  $\chi^2_{\text{cal}} > \chi^2_{\alpha, n-1}$ , por lo tanto en este caso  $\chi^2_{\text{cal}} < \chi^2_{(0.05, 34)}$  con lo que se acepta  $H_0$ , y decimos que el C.V. de los datos es menor al 5%, es decir que se tiene una precisión mayor al 95%.

Se realizaron los cálculos para los datos para encontrar el menor valor de C.V., obteniéndose el 1% de C.V. para estos resultados.

Se realizó el cálculo del intervalo de confianza para la desviación estándar de los datos, a un nivel de significancia del 95%:

$$\frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{\alpha/2}} < s^2 < \frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{(1-\alpha/2)}}$$

Tomando la raíz cuadrada de cada miembro de la desigualdad obtenemos el intervalo de confianza para la desviación estándar “s” con el mismo nivel de significancia:

$$\sqrt{\frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{\alpha/2}}} < s < \sqrt{\frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{(1-\alpha/2)}}$$

$$\chi^2_{(1-\alpha/2)} = \chi^2_{0.975, 34} = 19.8062372$$

$$\chi^2_{(\alpha/2)} = \chi^2_{0.025, 34} = 51.96602163$$

$$6.3693 \times 10^{-4} < s < 1.0317 \times 10^{-3}$$

$$6.3693 \times 10^{-4} < 7.8743 \times 10^{-4} < 1.0317 \times 10^{-3}$$

## Ácido salicílico

Se utiliza la prueba de hipótesis sobre la varianza para conocer, si el coeficiente de variación de los datos de segunda derivada de la absorbancia es menor al 5%, para lo cual planteamos la siguiente hipótesis:

La hipótesis nula:

$$H_0: s^2 = \sigma_0^2, \text{ donde } \sigma_0^2 = 5\% \text{ del C.V.}$$

La hipótesis alterna:

$$H_1: s^2 \neq \sigma_0^2$$

Por tratarse de muestras aleatorias que provienen de una población normal de varianza  $\sigma_0^2$  se utiliza la prueba de  $\chi^2$  con n-1 grados de libertad, y se compara con la de tablas:

$$\chi^2_{cal} = \frac{(n-1)s^2}{\sigma_0^2}$$

dónde:

n = número de determinaciones

$s^2$  = varianza experimental

$\sigma_0^2$  = varianza contra la que vamos a comparar (mínimo 5% del C.V.)

$$\chi^2_{cal} = \frac{(n-1)s^2}{\sigma_0^2} = 11.2753$$

$$\chi^2_{\alpha, n-1} = 48.6023563$$

El criterio para rechazar  $H_0$  es:  $\chi^2_{\text{cal}} > \chi^2_{\alpha, n-1}$ , por lo tanto en este caso  $\chi^2_{\text{cal}} < \chi^2_{(0.05, 34)}$  con lo que aceptamos  $H_0$ , y decimos que el C.V. de los datos es menor al 5%, es decir que se tiene una precisión con un C.V. máximo del 5%.

Se realizan los cálculos para encontrar el menor valor de C.V., obteniéndose el 3% de C.V. para estos resultados.

Se realizó el cálculo del intervalo de confianza para la desviación estándar de los datos, a un nivel de significancia del 95%:

$$\frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{\alpha/2}} < s^2 < \frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{(1-\alpha/2)}}$$

Tomando la raíz cuadrada de cada miembro de la desigualdad obtenemos el intervalo de confianza para la desviación estándar “s” con el mismo nivel de significancia:

$$\sqrt{\frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{\alpha/2}}} < s < \sqrt{\frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{(1-\alpha/2)}}$$

$$\chi^2(1 - \alpha/2) = \chi^2_{0.975, 34} = 19.0466629$$

$$\chi^2(\alpha/2) = \chi^2_{0.025, 34} = 50.7250991$$

$$4.8645 \times 10^{-4} < s < 7.9385 \times 10^{-4}$$

$$4.8645 \times 10^{-4} < 6.0310 \times 10^{-4} < 7.9385 \times 10^{-4}$$

### *Precisión del método*

En este caso de las pruebas de precisión sólo se realizó el estudio estadístico de repetibilidad.

### **Repetibilidad**

Se emplearon cinco muestras obtenidas de la siguiente manera. Se tomaron 10 tabletas de Aspirina (ácido acetilsalicílico) de Laboratorios Bayer S.A con lote 5C11D2 y fecha de caducidad Marzo del 2007, se pesaron, se obtuvo el peso promedio de las tabletas, se trituraron en un mortero. Una vez teniendo un polvo fino se tomó el peso promedio de las tabletas se adicionan aproximadamente 20 mL de etanol que contiene la solución amortiguadora de acetatos a pH 5, se coloca en el sonicador durante 10 minutos para extraer el principio activo. Se llevaron a un aforo de 25mL, se filtraron por cartuchos de filtración. Una parte de esta solución se introdujo a una celda para registrar lectura a 327nm por triplicado y obtener el valor de la segunda derivada de la absorbancia para el ácido salicílico, posteriormente se tomaron 0.5mL de la solución filtrada y se llevaron a un volumen de 50mL registrando lectura por triplicado a 276nm para el ácido salicílico.

Segunda derivada de la Absorbancia	
276nm	327nm
0.0752	0.0293
0.0752	0.0285
0.0753	0.0293
0.0752	0.0274
0.0753	0.0280
0.0753	0.0283
0.0754	0.0282
0.0754	0.0286
0.0754	0.0285
0.0750	0.0282
0.0750	0.0282
0.0752	0.0284
0.0753	0.0283
0.0753	0.0283
0.0751	0.0283

Tabla 23. Resultados obtenidos de la segunda derivada de la absorbancia para la prueba de precisión del método.

Concentración (mg/mL)		Contenido en la tableta (mg)	
Ácido acetilsalicílico	Ácido salicílico	Ácido acetilsalicílico	Ácido salicílico
0.1998	0.0445	499.4644	1.1132
0.1998	0.0432	499.4644	1.0808
0.2001	0.0445	500.1339	1.1132
0.1998	0.0415	499.4644	1.0363
0.2001	0.0424	500.1339	1.0606
0.2001	0.0429	500.1339	1.0727
0.2003	0.0427	500.8034	1.0687
0.2003	0.0434	500.8034	1.0848
0.2003	0.0432	500.8034	1.0808
0.1993	0.0427	498.1253	1.0687
0.1993	0.0427	498.1253	1.0687
0.1998	0.0431	499.4644	1.0767
0.2001	0.0429	500.1339	1.0727
0.2001	0.0429	500.1339	1.0727
0.1995	0.0429	498.7949	1.0727

Ácido acetilsalicílico

n =	15
Media =	499.7322
s exp =	8.69276E-01
s <sup>2</sup> exp =	7.556407E-01
% CV exp =	0.1739
% CV teórico =	5
s teórica =	2.4987E+01
s <sup>2</sup> teórica =	6.2433066E+02

Ácido salicílico

n =	15
Media =	1.0762
s exp =	1.87299E-02
s <sup>2</sup> exp =	3.508104E-04
% CV exp =	1.7404
% CV teórico =	5
s teórica =	5.3810E-02
s <sup>2</sup> teórica =	2.8955644E-03

Tabla 24. Resultados obtenidos del contenido de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico para la prueba de precisión del método.

## Ácido acetilsalicílico

Para el valor de C.V. teórico del 5% se realizó la prueba de hipótesis sobre la varianza, donde se utilizó el estadístico  $\chi^2$  para la hipótesis:

La hipótesis nula:

$$H_0: s^2 = \sigma_0^2, \text{ donde } \sigma_0^2 = 6.2433066 \times 10^{+2}$$

Hipótesis alterna:

$$H_1: s^2 \neq \sigma_0^2$$

Por tratarse de muestras aleatorias que provienen de una población normal de varianza  $\sigma_0^2$  se utiliza la prueba de  $\chi^2$  con n-1 grados de libertad, y se comparará con la de tablas:

$$\chi^2_{cal} = \frac{(n-1)s^2}{\sigma_0^2}$$

dónde:

n = número de determinaciones = 15

$s^2$  = varianza experimental =  $7.556407 \times 10^{-1}$

$\sigma_0^2$  = varianza contra la que vamos a comparar =  $6.2433066 \times 10^{+2}$

$$\chi^2_{cal} = 0.0169$$



$$\chi^2_{(\alpha, n-1)} = \chi^2_{(0.05, 14)} = 23.68478234$$

El criterio para rechazar  $H_0$  es:  $\chi^2_{\text{cal}} > \chi^2_{\alpha, n-1}$ , por lo tanto en este caso  $0.0169 < 23.6848$  con lo que aceptamos  $H_0$ , y decimos que el C.V. de los datos es menor al 5%, es decir que se tiene una precisión con un error máximo del 5%.

Los mismos datos se procesaron para encontrar el menor valor de C.V., obteniéndose el 1% de C.V. para estos resultados.

Se calculó el intervalo de confianza al 95% de significancia para la desviación estándar:

$$\frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{\alpha/2}} < s^2 < \frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{(1-\alpha/2)}}$$

Tomando la raíz cuadrada de cada miembro de la desigualdad obtenemos el intervalo de confianza para la desviación estándar “s” con el mismo nivel de significancia:

$$\sqrt{\frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{\alpha/2}}} < s < \sqrt{\frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{(1-\alpha/2)}}$$

$$\chi^2_{(1-\alpha/2)} = \chi^2_{0.975, 14} = 5.62872382$$

$$\chi^2_{(\alpha/2)} = \chi^2_{0.025, 14} = 26.1189349$$

$$\mathbf{0.63642021 < s < 1.37093457}$$

$$\mathbf{0.63642021 < 0.86927598 < 1.37093457}$$

Posteriormente se determinó el intervalo de confianza para la media, a un nivel de significancia del 95%, para el contenido de ácido acetilsalicílico.

$$I.C. = \bar{X} \pm t_{\alpha/2} \frac{s}{\sqrt{n}}$$

$$t_{(\alpha/2, n-1)} = t_{(0.025, 14)} = 2.50956873$$

$$I.C. = 499.7322 \pm 0.5633 \text{mg de ácido acetilsalicílico/ tableta}$$

### Ácido salicílico

Para el valor de C.V. teórico del 5% se realizó la prueba de hipótesis sobre la varianza, donde se utilizó el estadístico  $\chi^2$  para la hipótesis:

La hipótesis nula:

$$H_0: s^2 = \sigma_0^2, \text{ donde } \sigma_0^2 = 2.8955644 \times 10^{-3}$$

Hipótesis alterna:

$$H_1: s^2 \neq \sigma_0^2$$

Por tratarse de muestras aleatorias que provienen de una población normal de varianza  $\sigma_0^2$  se utiliza la prueba de  $\chi^2$  con n-1 grados de libertad, y se compara con la de tablas:

$$\chi^2_{cal} = \frac{(n-1)s^2}{\sigma_0^2}$$

dónde:

$n$  = número de determinaciones = 15

$s^2$  = varianza experimental =  $3.508104 \times 10^{-4}$

$\sigma_0^2$  = varianza contra la que vamos a comparar =  $2.8955644 \times 10^{-3}$

$\chi^2_{\text{cal}} = 0.0169$

$\chi^2_{(\alpha, n-1)} = \chi^2_{(0.05, 14)} = 23.68478234$

El criterio para rechazar  $H_0$  es:  $\chi^2_{\text{cal}} > \chi^2_{\alpha, n-1}$ , por lo tanto en este caso  $0.0169 < 23.6848$  con lo que se acepta  $H_0$ , es decir que se tiene una precisión con un error máximo del 5%.

Los mismos datos se procesaron para encontrar el menor valor de C.V., obteniéndose el 2% de C.V. para estos resultados.

Se calculó el intervalo de confianza al 95% de significancia para la desviación estándar:

$$\frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{\alpha/2}} < s^2 < \frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{(1-\alpha/2)}}$$

Tomando la raíz cuadrada de cada miembro de la desigualdad obtenemos el intervalo de confianza para la desviación estándar “s” con el mismo nivel de significancia:

$$\sqrt{\frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{\alpha/2}}} < s < \sqrt{\frac{(n-1)s^2}{\chi^2_{(1-\alpha/2)}}}$$

$$\chi^2(1-\alpha/2) = \chi^2_{0.975,14} = 5.62872382$$

$$\chi^2(\alpha/2) = \chi^2_{0.025,14} = 26.1189349$$

$$0.01371269 < s < 0.02953896$$

$$0.01371269 < 0.01872993 < 0.02953896$$

Posteriormente se determinó el intervalo de confianza para la media, a un nivel de significancia del 95%, para el contenido de ácido salicílico.

$$I.C. = \bar{X} \pm t_{\alpha/2} \frac{s}{\sqrt{n}}$$

$$t_{(\alpha/2, n-1)} = t_{(0.025, 14)} = 2.50956873$$

$$I.C. = 1.0762 \pm 0.01213639 \text{ mg de ácido salicílico/ tableta}$$

### *RECOBRO O RECUPERACIÓN*

El recobro es un factor importante para corregir los cálculos cuantitativos que se realicen sobre las muestras. Este factor es expresado en porcentaje y tal como se menciona en los antecedentes se basa en la comparación entre la concentración del analito problema que se obtiene y la concentración que debe obtenerse después de tratar una muestra con el método a validar.

Esta prueba se realizó fabricando una muestra sintética que se buscó fuera lo más parecida a la muestra a trabajar (tabletas de Aspirina). En estas muestras se adicionaron cantidades conocidas de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico y excipiente a las que les aplicó la metodología desarrollada.

Se hicieron cuatro muestras de tabletas, pesando porciones equivalentes a 5 tabletas que es la cantidad de tabletas que marca la metodología, además de poder disminuir el error al llevar a cabo las pesadas.

Sustancia	Muestra A	Muestra B	Muestra C	Muestra D
	g/ 5 tabletas			
Ácido acetilsalicílico	25.1225	25.1465	25.1775	25.0700
Ácido salicílico	0.0530	0.0515	0.0510	0.0505
Estearato de magnesio	1.2890	1.2900	1.2800	1.2995
Ac-dí-sol	0.9940	0.9750	0.9900	0.9955
Talco	2.3240	2.3120	2.2740	2.3395
<b>Peso total</b>	<b>29.7825</b>	<b>29.7750</b>	<b>29.7725</b>	<b>29.7550</b>

Tabla 25. Cantidad de sustancias pesadas para la fabricación de las tabletas para calcular el % de recobro.

Se tomaron 2 porciones de cada una de las muestras, utilizando la metodología propuesta se determinó la concentración de ácido acetilsalicílico y de ácido salicílico, leyendo por triplicado la segunda derivada de la absorbancia a 276nm y 327nm.

Finalmente se procesaron los datos obtenidos de las muestras en cada una de sus porciones, obteniéndose los siguientes resultados.

## Ácido acetilsalicílico

Muestra	Cantidad de muestra pesada (mg)	Cantidad de AAS pesada por tableta (mg)	Absorbancia (276nm)	Concentración calculada (mg/mL)	mg encontrados en la muestra	mg reales en la muestra
tableta A	595.3	502.45	0.0742	0.1971	492.769	502.15
			0.0742	0.1971	492.769	502.15
			0.0743	0.1974	493.439	502.15
	595.3	502.45	0.0742	0.1971	492.769	502.15
			0.0743	0.1974	493.439	502.15
			0.0743	0.1974	493.439	502.15
tableta B	596.4	502.93	0.0744	0.1976	494.108	503.69
			0.0744	0.1976	494.108	503.69
			0.0744	0.1976	494.108	503.69
	596.1	502.93	0.0740	0.1966	491.430	503.44
			0.0740	0.1966	491.430	503.44
			0.0742	0.1971	492.769	503.44
tableta C	596.8	503.55	0.0743	0.1974	493.439	504.69
			0.0743	0.1974	493.439	504.69
			0.0741	0.1968	492.100	504.69
	595.3	503.55	0.0746	0.1982	495.447	503.42
			0.0745	0.1979	494.778	503.42
			0.0746	0.1982	495.447	503.42
tableta D	595.3	501.40	0.0746	0.1982	495.447	501.57
			0.0747	0.1984	496.117	501.57
			0.0746	0.1982	495.447	501.57
	595.3	501.40	0.0745	0.1979	494.778	501.57
			0.0745	0.1979	494.778	501.57
			0.0746	0.1982	495.447	501.57

Tabla 26. Resultados obtenidos para calcular el % de recobro para el método por espectrofotometría UV con segunda derivada para el ácido acetilsalicílico.

Se calcula el % de recobro:

$$\text{Recobro} = \frac{[\text{Concentración}]_{\text{obtenida}}}{[\text{Concentración}]_{\text{teórica}}} \times 100$$

Muestra	% Recobro
A-1	98.175
A-2	98.220
B-1	98.098
B-2	97.704
C-1	97.682
C-2	98.371
D-1	98.824
D-2	98.691

n =	8
Media =	98.221
s =	0.411
% CV =	0.418

Tabla 27. Resultados obtenidos para la prueba de recobro.

Con lo anterior podemos concluir que el método por espectroscopia UV con segunda derivada tiene 98.212% de recobro, el cual es un buen resultado para una metodología analítica.

## Ácido salicílico

Muestra	Cantidad de muestra pesada (mg)	Cantidad de aas pesada por tableta (mg)	Absorbancia	Concentración calculada	mg de as encontrados en la muestra	mg reales en la muestra
tableta A	595.3	1.06	0.0283	0.0429	1.073	1.0594
			0.0282	0.0427	1.069	1.0594
			0.0281	0.0426	1.065	1.0594
	595.3	1.06	0.0284	0.0431	1.077	1.0594
			0.0280	0.0424	1.061	1.0594
			0.0283	0.0429	1.073	1.0594
tableta B	596.4	1.03	0.0279	0.0423	1.057	1.0316
			0.0276	0.0418	1.044	1.0316
			0.0275	0.0416	1.040	1.0316
	596.1	1.03	0.0272	0.0411	1.028	1.0310
			0.0276	0.0418	1.044	1.0310
			0.0284	0.0431	1.077	1.0310
tableta C	596.8	1.02	0.0273	0.0413	1.032	1.0223
			0.0273	0.0413	1.032	1.0223
			0.0272	0.0411	1.028	1.0223
	595.3	1.02	0.0273	0.0413	1.032	1.0197
			0.0273	0.0413	1.032	1.0197
			0.0271	0.0410	1.024	1.0197
tableta D	595.3	1.01	0.0270	0.0408	1.020	1.0103
			0.0270	0.0408	1.020	1.0103
			0.0273	0.0413	1.032	1.0103
	595.3	1.01	0.0271	0.0410	1.024	1.0103
			0.0271	0.0410	1.024	1.0103
			0.0271	0.0410	1.024	1.0103

Tabla 28. Resultados obtenidos para calcular el % de recobro para el método por espectrofotometría UV con segunda derivada para el ácido salicílico.



Se calcula el % de recobro:

$$\text{Recobro} = \frac{[\text{Concentración}]_{\text{obtenida}}}{[\text{Concentración}]_{\text{teórica}}} \times 100$$

Muestra	% Recobro
A-1	100.876
A-2	101.003
B-1	101.503
B-2	101.816
C-1	100.837
C-2	100.959
D-1	101.365
D-2	101.365

n =	8
Media =	101.215
s =	0.35
% CV =	0.346

Tabla 29. Resultados obtenidos para la prueba de recobro.

Con lo anterior podemos concluir que el método por espectroscopia UV con segunda derivada tiene 101.215% de recobro, el cual a pesar de ser alto se encuentra dentro del intervalo permitido para una metodología analítica.

# **CONCLUSIONES**

## CONCLUSIONES

- ✘ No es posible la determinación simultánea por espectrofotometría ultravioleta de mezclas de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico debido a la sobreposición de las señales de absorción al UV.
- ✘ No es posible la determinación de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico por espectrofotometría ultravioleta utilizando la regla de aditividades.
- ✘ Es posible la determinación de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico por espectrofotometría ultravioleta con segunda derivada en mezclas que los contengan.
- ✘ Utilizar la espectrofotometría UV con segunda derivada elimina la sobreposición de las bandas de absorción del ácido acetilsalicílico y el ácido salicílico.
- ✘ A pH de 5 es posible encontrar un par de bandas de segunda derivada de la absorbancia lo suficientemente separadas e independientes una de la otra que correspondan al ácido acetilsalicílico y al ácido salicílico respectivamente.
- ✘ Al utilizar un amortiguador de acetatos de pH 5 se obtienen valores de coeficientes de correlación aceptables para las curvas de calibración del ácido acetilsalicílico y ácido salicílico.
- ✘ La longitud de onda de absorción ( $\lambda$ ) por segunda derivada del ácido acetilsalicílico elegida para la cuantificación es de 276nm.
- ✘ La longitud de onda de absorción ( $\lambda$ ) por segunda derivada del ácido salicílico elegida para la cuantificación es de 327nm.

- ✘ El intervalo de concentraciones del ácido acetilsalicílico en el que se pueden analizar las tabletas por el método espectrofotométrico al UV con segunda derivada a la  $\lambda$  seleccionada es de 0.05 a 0.35mg/mL.
- ✘ El intervalo de concentraciones del ácido salicílico en el que se pueden analizar las tabletas por el método espectrofotométrico al UV con segunda derivada a la  $\lambda$  seleccionada es de 0.01 a 0.075mg/mL.
- ✘ La extracción del principio activo de la tableta se lleva a cabo por extracción sólido-liquido con agitación ultrasónica teniendo una extracción completa a los 10 minutos.
- ✘ La metodología propuesta se puede utilizar para la determinación cuantitativa de ácido salicílico.
- ✘ Para llevar a cabo la cuantificación del ácido acetilsalicílico y el ácido salicílico se debe utilizar la ecuación de la recta, debido a que éstas no tienden al origen.
- ✘ La precisión del sistema es adecuada para una metodología analítica, pues para ambos compuestos se tiene un CV menor al 5%.
- ✘ La repetibilidad del método es adecuada para una metodología analítica.
- ✘ El porcentaje de recobro de la metodología propuesta es de 98.212% para el ácido acetilsalicílico y de 101.215% para el ácido salicílico, el cual es adecuado para una metodología analítica.

# **BIBLIOGRAFÍA**

## BIBLIOGRAFÍA

1. Antonov, L. Anal. Chim. Acta 349 (1997) 295-301.
2. Beckett, A.H., Stenlake, J.B. Practical Pharmaceutical Chemistry, 4<sup>a</sup> edición, Capitulo. 7, Edit. The Athlone Press, Londres, 1988
3. Bosch Ojeda C. Talanta 42 (1995) 1195-1214.
4. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, México A.C., *Guía de validación de métodos analíticos*, 2002, 26-29.
5. Comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos*, Secretaria de Salud, Volumen I y II, Octava edición, Ejemplar FEUM 1898, México, 2004.
6. Davidson, A.G.. *Ultraviolet-visible absorption spectrophotometry*, (1989) 275-337.
7. Edwards L. J., Trans. Faraday Soc. 46 (1950), 723.  
  
Edwards L. Trans. Faraday Soc., 48 (1952), 696.
8. Fell, A.F. Proc. Analyt. Div. Chem. Soc. 15, (1978), 260-267.
9. Griffiths, T.R., King, K., Hubbard, Schwing-Weill, M.J. y Meullemeestre, J. Anal. Chim. Acta 143, (1982) 163-176.
10. Hernández H. A. C. *Validación de metodologías instrumentales*, Tesis de licenciatura, Facultad de Química, UNAM, México, 2005.

11. Martínez S. S. I., *Validación de un método de análisis de vitamina A en hígado de res por cromatografía de líquidos de alta eficiencia (CLAE)*, Tesis de licenciatura, Facultad de Química, UNAM, México, D.F., 2005.
12. Martínez Sandoval R., *Determinación cuantitativa de ácido acetilsalicílico en medicamentos (tabletas) por las técnicas espectroscópicas UV-visible e infrarroja*, Tesis de licenciatura, Facultad de Química, UNAM, México, D.F., 1997.
13. Miller J. N. y col., *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*, 4ª edición Edit. Prentice Hall. España, 2002.
14. Skoog D.A., West D.M. Holler F. J., *Fundamentos de Química Analítica*, 8ª edición, Edit. Mc Graw-Hill, México, 2001.
15. Talsky, G., *Fresenius.Z.Anal.Chem.*,333,(1994) 702-703
16. *The Merck Index an Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*  
Editor Maryadele J. O'Neil, Senior Associate Editor Patricia E. Heckelman,  
Associate Editor Cherie B. Koch, Assistant Editor Kristin J. Roman, Editorial  
Assistant Catherine M. Kenny, Administrative Associate Maryann R.  
D'Arecca. Merck Research Laboratories Division of MERCK & CO.,  
Whitehouse Station, NJ, USA, 2006, 14ª. Edición.
17. Bayer Health Care revisadas en octubre 2005  
[www.aspirina.com.mx](http://www.aspirina.com.mx) revisada en octubre 2005  
[www.aspirina.cl/historia.asp](http://www.aspirina.cl/historia.asp) revisadas en marzo 2006

# **ANEXOS**



## ANEXO I LINEALIDAD DEL SISTEMA

### † Ácido acetilsalicílico

Xi = Conc. (mg/mL)	Yi = Abs 2D	Xi <sup>2</sup>	Yi <sup>2</sup>	Xi*Yi
0.0516	0.0193	2.6626E-03	3.7249E-04	9.9588E-04
0.0516	0.0192	2.6626E-03	3.6864E-04	9.9072E-04
0.0516	0.0199	2.6626E-03	3.9601E-04	1.0268E-03
0.0516	0.0195	2.6626E-03	3.8025E-04	1.0062E-03
0.0516	0.0194	2.6626E-03	3.7636E-04	1.0010E-03
0.0516	0.0198	2.6626E-03	3.9204E-04	1.0217E-03
0.1032	0.0392	1.0650E-02	1.5366E-03	4.0454E-03
0.1032	0.0394	1.0650E-02	1.5524E-03	4.0661E-03
0.1032	0.0390	1.0650E-02	1.5210E-03	4.0248E-03
0.1032	0.0385	1.0650E-02	1.4823E-03	3.9732E-03
0.1032	0.0389	1.0650E-02	1.5132E-03	4.0145E-03
0.1032	0.0391	1.0650E-02	1.5288E-03	4.0351E-03
0.1548	0.0594	2.3963E-02	3.5284E-03	9.1951E-03
0.1548	0.0597	2.3963E-02	3.5641E-03	9.2416E-03
0.1548	0.0585	2.3963E-02	3.4223E-03	9.0558E-03
0.1548	0.0579	2.3963E-02	3.3524E-03	8.9629E-03
0.1548	0.0581	2.3963E-02	3.3756E-03	8.9939E-03
0.1548	0.0583	2.3963E-02	3.3989E-03	9.0248E-03
0.2064	0.0778	4.2601E-02	6.0528E-03	1.6058E-02
0.2064	0.0779	4.2601E-02	6.0684E-03	1.6079E-02
0.2064	0.0785	4.2601E-02	6.1623E-03	1.6202E-02
0.2064	0.0775	4.2601E-02	6.0063E-03	1.5996E-02
0.2064	0.0776	4.2601E-02	6.0218E-03	1.6017E-02
0.2064	0.0788	4.2601E-02	6.2094E-03	1.6264E-02
0.2580	0.0969	6.6564E-02	9.3896E-03	2.5000E-02
0.2580	0.0981	6.6564E-02	9.6236E-03	2.5310E-02
0.2580	0.0968	6.6564E-02	9.3702E-03	2.4974E-02
0.2580	0.0968	6.6564E-02	9.3702E-03	2.4974E-02
0.2580	0.0972	6.6564E-02	9.4478E-03	2.5078E-02
0.2580	0.0980	6.6564E-02	9.6040E-03	2.5284E-02
0.3096	0.1161	9.5852E-02	1.3479E-02	3.5945E-02
0.3096	0.1155	9.5852E-02	1.3340E-02	3.5759E-02
0.3096	0.1162	9.5852E-02	1.3502E-02	3.5976E-02
0.3096	0.1156	9.5852E-02	1.3363E-02	3.5790E-02
0.3096	0.1157	9.5852E-02	1.3386E-02	3.5821E-02
0.3096	0.1142	9.5852E-02	1.3042E-02	3.5356E-02

	b =	0.0006
Ho -->	b = $\beta$ ,	donde $\beta = 0$
H1 -->	b diferente $\beta$	

Suma Xi =	6.50160
Suma Yi =	2.44830
Suma (Xi <sup>2</sup> ) =	1.45376
Suma (Yi <sup>2</sup> ) =	0.20550
Suma(Xi*Yi) =	0.54656
(Suma Xi) <sup>2</sup> =	42.27080
(Suma Yi) <sup>2</sup> =	5.99417
media Xi =	0.18060
n =	36
g.l. =	34
(n-2)*n =	1224
n*media =	6.50160
(n*media) <sup>2</sup> =	4.2271E+01
t tablas =	2.34506
Sxx =	10.06448
Syy =	1.40388
Sxy =	3.75820
Se =	6.5306E-04
t calculada =	2.4174
Ordenada =	0.0006
Pendiente =	0.3734

Conclusión =	0
0 =	Rechazo Ho
1 =	Acepto Ho

I.C. para b al 95% significancia

I. Superior de confianza =	0.00118
I. Inferior de confianza =	0.00002

I.C. para la pendiente al 95% significancia

I. Superior de confianza =	0.3763
I. Inferior de confianza =	0.3705

1	2	3	4	5	6	7	8
ttablas * Se	(n*media) <sup>2</sup>	Sxx+2	n*Sxx	3 / 4	raíz 5	6*Se	7*ttablas
1.5315E-03	42.2708026	52.33528	362.321165	0.14444444	0.38005848	2.4820E-04	5.8205E-04

9	10
8+ord	8-ord
0.00118	-0.00002

‡ Ácido salicílico

Xi = Conc. (mg/mL)	Yi = Abs 2D	Xi <sup>2</sup>	Yi <sup>2</sup>	Xi*Yi
0.01448	0.0109	2.0967E-04	1.1881E-04	1.5783E-04
0.01448	0.0109	2.0967E-04	1.1881E-04	1.5783E-04
0.01448	0.0109	2.0967E-04	1.1881E-04	1.5783E-04
0.01448	0.0106	2.0967E-04	1.1236E-04	1.5349E-04
0.01448	0.0107	2.0967E-04	1.1449E-04	1.5494E-04
0.01448	0.0111	2.0967E-04	1.2321E-04	1.6073E-04
0.02896	0.0196	8.3868E-04	3.8416E-04	5.6762E-04
0.02896	0.0196	8.3868E-04	3.8416E-04	5.6762E-04
0.02896	0.0197	8.3868E-04	3.8809E-04	5.7051E-04
0.02896	0.0191	8.3868E-04	3.6481E-04	5.5314E-04
0.02896	0.0193	8.3868E-04	3.7249E-04	5.5893E-04
0.02896	0.0195	8.3868E-04	3.8025E-04	5.6472E-04
0.0362	0.0245	1.3104E-03	6.0025E-04	8.8690E-04
0.0362	0.0245	1.3104E-03	6.0025E-04	8.8690E-04
0.0362	0.0238	1.3104E-03	5.6644E-04	8.6156E-04
0.0362	0.0239	1.3104E-03	5.7121E-04	8.6518E-04
0.0362	0.0244	1.3104E-03	5.9536E-04	8.8328E-04
0.0362	0.0237	1.3104E-03	5.6169E-04	8.5794E-04
0.04344	0.0291	1.8870E-03	8.4681E-04	1.2641E-03
0.04344	0.0291	1.8870E-03	8.4681E-04	1.2641E-03
0.04344	0.0291	1.8870E-03	8.4681E-04	1.2641E-03
0.04344	0.0287	1.8870E-03	8.2369E-04	1.2467E-03
0.04344	0.0287	1.8870E-03	8.2369E-04	1.2467E-03
0.04344	0.0287	1.8870E-03	8.2369E-04	1.2467E-03
0.05792	0.0371	3.3547E-03	1.3764E-03	2.1488E-03
0.05792	0.0372	3.3547E-03	1.3838E-03	2.1546E-03
0.05792	0.0379	3.3547E-03	1.4364E-03	2.1952E-03
0.05792	0.0375	3.3547E-03	1.4063E-03	2.1720E-03
0.05792	0.0372	3.3547E-03	1.3838E-03	2.1546E-03
0.05792	0.0374	3.3547E-03	1.3988E-03	2.1662E-03
0.0724	0.0471	5.2418E-03	2.2184E-03	3.4100E-03
0.0724	0.0465	5.2418E-03	2.1623E-03	3.3666E-03
0.0724	0.0465	5.2418E-03	2.1623E-03	3.3666E-03
0.0724	0.0468	5.2418E-03	2.1902E-03	3.3883E-03
0.0724	0.0468	5.2418E-03	2.1902E-03	3.3883E-03
0.0724	0.0459	5.2418E-03	2.1068E-03	3.3232E-03

	b =	0.0006
Ho -->	b = $\beta$ ,	donde $\beta = 0$
Hi -->	b diferente $\beta$	

Suma Xi =	1.52040
Suma Yi =	1.00400
Suma (Xi <sup>2</sup> ) =	0.07705
Suma (Yi <sup>2</sup> ) =	0.03290
Suma(Xi*Yi) =	0.05033
(Suma Xi) <sup>2</sup> =	2.31162
(Suma Yi) <sup>2</sup> =	1.00802
media Xi =	0.04223
n =	36
g.l. =	34
(n-2)*n =	1224
n*media =	1.52040
(n*media) <sup>2</sup> =	2.31161616
t tablas =	2.34506
Sxx =	0.46232
Syy =	0.17649
Sxy =	0.28554
Se =	3.2843E-04
t calculada =	13.4247
Ordenada =	0.0018
Pendiente =	0.6176

Conclusión =	0
0 =	Rechazo Ho
1 =	Acepto Ho

I.C. para b al 95% significancia

I. Superior de confianza =	0.00211
I. Inferior de confianza =	0.00149

I.C. para la pendiente al 95% significancia

I. Superior de confianza =	0.6244
I. Inferior de confianza =	0.6108

1	2	3	4	5	6	7	8
ttablas * Se	(n*media) <sup>2</sup>	Sxx+2	n*Sxx	3entre 4	raíz 5	6*Se	7*ttablas
7.7019E-04	2.31161616	2.77394	16.6436364	0.16666667	0.40824829	1.3408E-04	3.1443E-04

9	10
8+ord	8-ord
0.00211	-0.00149

## ANEXO II PRECISIÓN DEL SISTEMA

### † Ácido acetilsalicílico

$\chi^2$

<b>Datos</b>	n =	35
0.0892	Media =	0.0890
0.0891	s exp =	7.87433E-04
0.0892	s <sup>2</sup> exp =	6.200504E-07
0.0892	% CV exp =	0.8844
0.0888	% CV teórico =	5
0.0888	s teórica =	4.4519E-03
0.0883	s <sup>2</sup> teórica =	1.9819032E-05
0.0893		
0.0887		
0.0881		
0.0880		
0.0896		
0.0900		
0.0904	n =	35
0.0908	Media =	0.0890
0.0902	s exp =	7.87433E-04
0.0904	s <sup>2</sup> exp =	6.200504E-07
0.0891	% CV exp =	0.8844
0.0905	% CV teórico =	1
0.0891	s teórica =	8.9037E-04
0.0882	s <sup>2</sup> teórica =	7.9276128E-07
0.0888		
0.0891		
0.0878		
0.0898		
0.0889		
0.0886		
0.0882		
0.0886		
0.0878		
0.0883		
0.0890		
0.0887		
0.0884		
0.0893		

Ho -->	s <sup>2</sup> = $\sigma^2$	donde $\sigma^2$ (5% del C.V)
Hi -->	s <sup>2</sup> diferente de $\sigma^2$	

X <sup>2</sup> (0.05,n-1) =	48.60235627
X <sup>2</sup> cal =	1.0637

Conclusión =	1
--------------	---

1 =	Aceptar Ho
0 =	Rechazar Ho

Ho -->	s <sup>2</sup> = $\sigma^2$	donde $\sigma^2$ (1% del C.V)
Hi -->	s <sup>2</sup> diferente de $\sigma^2$	

X <sup>2</sup> (0.01,n-1) =	56.06085211
X <sup>2</sup> cal =	26.5928

Conclusión =	1
--------------	---

1 =	Aceptar Ho
0 =	Rechazar Ho

I.C. para  $\chi^2$

<b>Datos</b>	n =	35
0.0892	Media =	0.0890
0.0891	s exp =	7.87433E-04
0.0892	s2 exp =	6.20050E-07
0.0892	% CV exp =	8.84387E-01
0.0888		
0.0888		
0.0883		
0.0893		
0.0887		
0.0881		
0.0880		
0.0896		
0.0900		
0.0904		
0.0908		
0.0902		
0.0904		
0.0891		
0.0905		
0.0891		
0.0882		
0.0888		
0.0891		
0.0878		
0.0898		
0.0889		
0.0886		
0.0882		
0.0886		
0.0878		
0.0883		
0.0890		
0.0887		
0.0884		
0.0893		

Chi2 (0.025,n-1) =	51.96602163
Chi2 (0.975,n-1) =	19.8062372

I. Inferior de confianza =	0.00063693
I. Superior de confianza =	0.00103170

		<b>&lt;<math>\sigma^2</math>&gt;</b>	
<b>I.C. =</b>	4.0568E-07	<b>6.2005E-07</b>	1.0644E-06

		<b>&lt;S&gt;</b>	
<b>I.C. =</b>	0.00063693	<b>0.00078743</b>	0.00103170

## † Ácido acetilsalicílico

$\chi^2$

<b>Datos</b>	n =	35
0.0211	Media =	0.0209
0.0218	s exp =	6.03101E-04
0.0209	s <sup>2</sup> exp =	3.637311E-07
0.0221	% CV exp =	2.8794
0.0200	% CV teórico =	5
0.0216	s teórica =	1.0473E-03
0.0207	s <sup>2</sup> teórica =	1.0968074E-06
0.0212		
0.0207		
0.0215		
0.0211		
0.0208		
0.0221	n =	35
0.0224	Media =	0.0209
0.0203	s exp =	6.03101E-04
0.0203	s <sup>2</sup> exp =	3.637311E-07
0.0206	% CV exp =	2.8794
0.0201	% CV teórico =	3
0.0207	s teórica =	6.2837E-04
0.0207	s <sup>2</sup> teórica =	3.9485065E-07
0.0211		
0.0206		
0.0207		
0.0214		
0.0214		
0.0206		
0.0203		
0.0210		
0.0213		
0.0202		
0.0204		
0.0204		
0.0213		
0.0214		
0.0203		

Ho -->	s <sup>2</sup> = $\sigma^2$	donde $\sigma^2$ (5% del C.V)
Hi -->	s <sup>2</sup> diferente de $\sigma^2$	

X <sup>2</sup> (0.05,n-1) =	48.6023563
X <sup>2</sup> cal =	11.2753

Conclusión =	1
--------------	---

1 =	Aceptar Ho
0 =	Rechazar Ho

Ho -->	s <sup>2</sup> = $\sigma^2$	donde $\sigma^2$ (3% del C.V)
Hi -->	s <sup>2</sup> diferente de $\sigma^2$	

X <sup>2</sup> (0.03,n-1) =	51.1072656
X <sup>2</sup> cal =	31.3203

Conclusión =	1
--------------	---

1 =	Aceptar Ho
0 =	Rechazar Ho

### I.C. para $\bar{X}^2$

<b>Datos</b>	n =	34
0.0211	Media =	0.0209
0.0218	s exp =	6.03101E-04
0.0209	s2 exp =	3.63731E-07
0.0221	% CV exp =	2.87935E+00
0.0200		
0.0216		
0.0207		
0.0212		
0.0207		
0.0215		
0.0211		
0.0208		
0.0221		
0.0224		
0.0203		
0.0203		
0.0206		
0.0201		
0.0207		
0.0207		
0.0211		
0.0206		
0.0207		
0.0214		
0.0214		
0.0206		
0.0203		
0.0210		
0.0213		
0.0202		
0.0204		
0.0204		
0.0213		
0.0214		
0.0203		

Chi2 (0.025,n-1) =	50.7250991
Chi2 (0.975,n-1) =	19.0466629

I. Inferior de confianza =	0.00048645
I. Superior de confianza =	0.00079385

		<b>&lt;<math>\sigma^2</math>&gt;</b>	
<b>I.C. =</b>	2.3663E-07	<b>3.6373E-07</b>	6.3020E-07

		<b>&lt;s&gt;</b>	
<b>I.C. =</b>	0.00048645	<b>0.00060310</b>	0.00079385



## ANEXO III PRECISI3N DEL M3TOD0

### † 3cido acetilsalic3lico

$\chi^2$

Datos	n =	15
499.4644	Media =	499.7322
499.4644	s exp =	8.69276E-01
500.1339	s <sup>2</sup> exp =	7.556407E-01
499.4644	% CV exp =	0.1739
500.1339	% CV te3rico =	5
500.1339	s te3rica =	2.4987E+01
500.8034	s <sup>2</sup> te3rica =	6.2433066E+02
500.8034		
500.8034		
498.1253		
498.1253	n =	15
499.4644	Media =	499.7322
500.1339	s exp =	8.69276E-01
500.1339	s <sup>2</sup> exp =	7.556407E-01
498.7949	% CV exp =	0.1739
	% CV te3rico =	1
	s te3rica =	4.9973E+00
	s <sup>2</sup> te3rica =	2.4973226E+01

Ho -->	s <sup>2</sup> = $\sigma^2$	donde $\sigma^2$ (5% del C.V)
H1 -->	s <sup>2</sup> diferente de $\sigma^2$	

X <sup>2</sup> (0.05,n-1) =	23.68478234
X <sup>2</sup> cal =	0.0169

Conclusi3n =	1
--------------	---

1 =	Aceptar Ho
0 =	Rechazar Ho

Ho -->	s <sup>2</sup> = $\sigma^2$	donde $\sigma^2$ (1% del C.V)
H1 -->	s <sup>2</sup> diferente de $\sigma^2$	

X <sup>2</sup> (0.01,n-1) =	29.14116326
X <sup>2</sup> cal =	0.4236

Conclusi3n =	1
--------------	---

1 =	Aceptar Ho
0 =	Rechazar Ho

### I.C. para $X^2$

<b>Datos</b>	n =	15
499.4644	Media =	499.7322
499.4644	s exp =	8.69276E-01
500.1339	s2 exp =	7.55641E-01
499.4644	% CV exp =	1.73948E-01
500.1339		
500.1339		
500.8034		
500.8034		
500.8034		
498.1253		
498.1253		
499.4644		
500.1339		
500.1339		
498.7949		

Chi2 (0.025,n-1) =	26.1189349
Chi2 (0.975,n-1) =	5.62872382

I. Inferior de confianza =	0.63642021
I. Superior de confianza =	1.37093457

		<b>&lt;<math>\sigma^2</math>&gt;</b>	
<b>I.C. =</b>	4.0503E-01	<b>7.5564E-01</b>	1.8795E+00

		<b>&lt;s&lt;</b>	
<b>I.C. =</b>	0.63642021	<b>0.86927598</b>	1.37093457

### I.C. Sobre la media

<b>Datos</b>	n =	15
499.4644	Media =	499.7322
499.4644	s exp =	0.8693
500.1339	s2 exp =	0.7556
499.4644	% CV exp =	0.1739
500.1339		
500.1339		
500.8034		
500.8034		
500.8034		
498.1253		
498.1253		
499.4644		
500.1339		
500.1339		
498.7949		

tstudent (0.025,n-1) =	2.50956873
<b>I.C. =</b>	0.5632629

## † Ácido salicílico

$\chi^2$

Datos	n =	15
1.1132	Media =	1.0762
1.0808	s exp =	1.87299E-02
1.1132	s <sup>2</sup> exp =	3.508104E-04
1.0363	% CV exp =	1.7404
1.0606	% CV teórico =	5
1.0727	s teórica =	5.3810E-02
1.0687	s <sup>2</sup> teórica =	2.8955644E-03
1.0848		
1.0808		
1.0687		
1.0687	n =	15
1.0767	Media =	1.0762
1.0727	s exp =	1.87299E-02
1.0727	s <sup>2</sup> exp =	3.508104E-04
1.0727	% CV exp =	1.7404
	% CV teórico =	2
	s teórica =	2.1524E-02
	s <sup>2</sup> teórica =	4.6329031E-04

Ho -->	s <sup>2</sup> = $\sigma^2$	donde $\sigma^2$ (5% del C.V)
H1 -->	s <sup>2</sup> diferente de $\sigma^2$	

X <sup>2</sup> (0.05,n-1) =	23.6847823
X <sup>2</sup> cal =	1.6962

Conclusión =	1
--------------	---

1 =	Aceptar Ho
0 =	Rechazar Ho

Ho -->	s <sup>2</sup> = $\sigma^2$	donde $\sigma^2$ (2% del C.V)
H1 -->	s <sup>2</sup> diferente de $\sigma^2$	

X <sup>2</sup> (0.02,n-1) =	26.8727296
X <sup>2</sup> cal =	10.6010

Conclusión =	1
--------------	---

1 =	Aceptar Ho
0 =	Rechazar Ho

### I.C. para $\chi^2$

<b>Datos</b>	n =	15
1.1132	Media =	1.0762
1.0808	s exp =	1.87299E-02
1.1132	s2 exp =	3.50810E-04
1.0363	% CV exp =	1.74036E+00
1.0606		
1.0727		
1.0687		
1.0848		
1.0808		
1.0687		
1.0687		
1.0767		
1.0727		
1.0727		
1.0727		

Chi2 (0.025,n-1) =	26.1189349
Chi2 (0.975,n-1) =	5.62872382

I. Inferior de confianza =	0.01371269
I. Superior de confianza =	0.02953896

		<b>&lt;<math>\sigma^2</math>&gt;</b>	
<b>I.C. =</b>	1.8804E-04	<b>3.5081E-04</b>	8.7255E-04

		<b>&lt;S&gt;</b>	
<b>I.C. =</b>	0.01371269	<b>0.01872993</b>	0.02953896

### I.C. Sobre la media

<b>Datos</b>	n =	15
1.1132	Media =	1.0762
1.0808	s exp =	0.0187
1.1132	s2 exp =	0.0004
1.0363	% CV exp =	1.7404
1.0606		
1.0727		
1.0687		
1.0848		
1.0808		
1.0687		
1.0687		
1.0767		
1.0727		
1.0727		
1.0727		

tstudent (0.025,n-1) =	2.50956873
<b>I.C. =</b>	0.01213639