



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

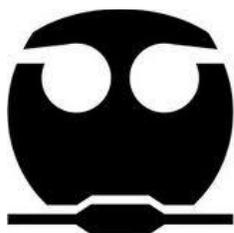
**ESTUDIO ESPECTROFOTOMÉTRICO AL UV Y UV CON SEGUNDA  
DERIVADA DE CAFEÍNA, PARACETAMOL Y ÁCIDO  
ACETILSALICÍLICO Y MEZCLAS DE ELLOS**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**P R E S E N T A :**

**Gonzalo Robledo Trejo**



**MÉXICO, D.F.**

**AÑO 2013**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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:	Profesor: Ernestina Cervera Flores
VOCAL:	Profesor: María Teresa Buentello Rodríguez
SECRETARIO:	Profesor: Georgina Artemisa Duarte Lisci
1er. SUPLENTE:	Profesor: Honoria Fuentes Sixtos
2° SUPLENTE:	Profesor: Lilia del Carmen López Serrano

## **SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

LABORATORIO 3B EDIFICIO "A" FACULTAD DE QUÍMICA

## **ASESOR DEL TEMA:**

Q. Ernestina Cervera Flores

## **SUPERVISOR TÉCNICO:**

Q.F.B. Silvia de Jesús Mendoza Arellano

## **SUSTENTANTE:**

Gonzalo Robledo Trejo

## Índice

1. OBJETIVOS.....	5
2. ANTECEDENTES.....	6
3. TRABAJO EXPERIMENTAL.....	17
3.1. Análisis espectrofotométrico al UV de mezclas de AAS, PAR y CAF.....	17
3.1.1. Obtención de las longitudes de onda de máxima absorción.....	17
3.1.2. Obtención de los coeficientes de absortividad .....	18
Coeficiente de absortividad de CAF .....	20
3.1.3. Aplicación de la ley de aditividades en mezclas en espectros de UV .....	21
3.1.4. Obtención de los coeficientes de absortividad para aplicar la ley de aditividades en espectros de UV.....	22
3.1.5. Análisis espectroscópico al UV de mezclas.....	25
3.2. Análisis espectrofotométrico al UV con segunda derivada de mezclas de AAS, PAR y CAF.....	30
3.2.1. Obtención de las longitudes de onda de máxima absorción en espectros con segunda derivada.....	30
3.2.2. Obtención de los coeficientes de correlación .....	32
3.2.3. Aplicación de la ley de aditividades en mezclas en espectros de UV con segunda derivada.....	38
3.2.4. Obtención de los coeficientes de correlación para aplicar la ley de aditividades en espectros de UV con segunda derivada. ....	39
3.2.5. Análisis espectroscópico al UV con segunda derivada de mezclas.....	42
3.3. Estudio espectrofotométrico al UV de mezclas de ácido salicílico (ASA), PAR y CAF.....	46
3.3.1. Obtención de la lambda máxima de absorción del ácido salicílico en espectro de UV.....	46
3.3.2. Obtención del coeficiente de absortividad del ácido salicílico en espectros de UV .....	47
3.3.3. Aplicación de la ley de aditividades en mezclas de ácido salicílico, paracetamol y cafeína en espectros de UV .....	48
3.3.4. Obtención de los coeficientes de absortividad para aplicar la ley de aditividades en espectros de UV.....	48
3.3.5. Análisis espectroscópico al UV de mezclas.....	50
3.4. Estudio espectrofotométrico al UV con segunda derivada de mezclas de ASA, PAR y CAF.....	53

3.4.1. Obtención de la lambda máxima de absorción del ácido salicílico en espectro de UV con segunda derivada .....	53
3.4.2. Obtención del coeficiente de correlación del ácido salicílico en espectros de UV con segunda derivada.....	53
3.4.3. Aplicación de la ley de aditividades en mezclas de ácido salicílico, paracetamol y cafeína en espectros de UV con segunda derivada .....	55
3.4.4. Obtención de los coeficientes de correlación para aplicar la ley de aditividades en espectros de UV con segunda derivada.....	55
3.4.5. Análisis espectroscópico al UV con segunda derivada de mezclas .....	57
3.5. Análisis espectrofotométrico de AAS, PAR y CAF previa hidrólisis de AAS a ASA	60
3.5.2. Estudio del comportamiento al UV de ASA, PAR y CAF a pH=10.5.....	62
3.5.3. Obtención de los coeficiente de absorción de ASA, PAR y CAF en solución amortiguadora pH=10.5 quitar segunda derivada.....	64
3.5.4. Aplicación de la ley de aditividades al análisis de mezclas de ASA, CAF y PAR a pH= 10.5.....	66
3.5.5 Obtención de los coeficientes de absorción para aplicar la ley de aditividades en espectros de UV .....	67
3.5.6. Análisis espectroscópico al UV de mezclas de ácido acetilsalicílico, paracetamol y cafeína en solución acuosa pH= 10.5.....	70
4. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	73
5. CONCLUSIONES.....	79

**Glosario:**

Ácido Acetilsalicílico.....	AAS
Paracetamol.....	PAR
Cafeína.....	CAF
Ácido Salicílico.....	ASA
Absorbancia.....	Abs
Concentración.....	conc

## 1. OBJETIVOS

### Objetivo General:

Realizar un estudio al UV y UV con segunda derivada de ácido acetilsalicílico, paracetamol y cafeína y ver la posibilidad de aplicar esta técnica al análisis cuantitativo de éstos compuestos.

### Objetivos Particulares:

Estudiar las posibilidades de aplicar la espectrofotometría UV y UV con segunda derivada al análisis cuantitativo de las siguientes mezclas utilizando la ley de aditividades:

- ✓ Ácido Acetilsalicílico-Paracetamol
- ✓ Ácido Acetilsalicílico-Cafeína
- ✓ Paracetamol-Cafeína
- ✓ Ácido Acetilsalicílico-Paracetamol-Cafeína

Estudiar las posibilidades para el análisis cuantitativo de las siguientes mezclas utilizando espectrofotometría UV y UV con segunda derivada:

- ✓ Ácido Salicílico-Paracetamol
- ✓ Ácido Salicílico-Cafeína
- ✓ Ácido Salicílico-Paracetamol-Cafeína

Estudiar las posibilidades de aplicación de la espectrofotometría UV al análisis cuantitativo previa hidrólisis de ácido acetilsalicílico a ácido salicílico pH=10.5:

- ✓ Ácido salicílico-Paracetamol
- ✓ Ácido salicílico-Cafeína
- ✓ Ácido salicílico-Paracetamol-Cafeína

## 2. ANTECEDENTES

### Regiones del espectro Ultravioleta-Visible

La espectroscopia electrónica ha permitido estudiar las estructuras de átomos y moléculas, además de ayudar al desarrollo de la mecánica cuántica y a la actual comprensión del enlace químico.

Las espectroscopias electrónicas se pueden dividir en dos tipos: de ionización y de excitación. La espectroscopia fotoelectrónica es una técnica de ionización en la que la muestra se irradia con una radiación electromagnética de suficiente frecuencia como para sustraer un electrón del átomo o la molécula, la energía sobrante se convierte en energía cinética del electrón.

Cuando se utilizan fotones de energía menor se excitan los electrones de los orbitales moleculares de valencia, que son los responsables de la formación de los enlaces entre los átomos, con la medida de la radiación absorbida podemos obtener información sobre su energía del enlace y del carácter enlazante o antienlazante de los mismos.

La espectroscopia ultravioleta - visible (UV-Vis) es una técnica de excitación en la que mediante la absorción de radiación se producen saltos electrónicos entre niveles cuánticos, para ello se utiliza la región del espectro electromagnético en la zona ultravioleta - visible.

La región del espectro electromagnético que corresponde a las transiciones que involucran a electrones de la capa de valencia utiliza radiaciones con longitudes de onda de 100 a 1000nm (regiones ultravioleta-visible e infrarroja cercana). No toda esta zona es de igual utilidad para obtener mayor información acerca de las estructuras orgánicas.

La región por debajo de 200nm, conocida como Ultravioleta lejano, presenta características que complican su estudio. En esta zona absorben las moléculas

componentes del aire, lo que hace imprescindible trabajar con equipos evacuados, de aquí que a esta región, se le conoce como Ultravioleta al vacío. Para registrar las absorciones de esta parte del espectro electromagnético los materiales usuales para la construcción de componentes ópticos (celdas, lentes, elementos dispersivos), pueden ser: LiF, CaF<sub>2</sub>, zafiro, todos utilizables hasta 115, 125 y 140 nm respectivamente. Casi todos los compuestos presentan absorción poco selectiva, y la sensibilidad de los detectores que registran las absorciones de estas energías son generalmente bajas, además de presentar el problema de que los disolventes necesarios para la disolución de los compuestos absorben fuertemente en esta región. Los hidrocarburos saturados que pueden utilizarse como disolventes son compuestos que absorban hasta 170 nm, los hidrocarburos perfluorados hasta 150nm.

La región entre 200 y 400nm, llamada ultravioleta cercana, es de gran utilidad en la determinación estructural de insaturación conjugada, aromaticidad o de ciertos grupos insaturados con pares electrónicos libres (carbonilo, nitro, etc.), sin presentar los serios inconvenientes del Ultravioleta de vacío. Se requieren materiales ópticos de cuarzo si se quiere acceder a la zona de longitudes de onda inferiores a 350 nm, mientras que el vidrio es utilizable en el resto de la región Ultravioleta cercana y toda la región visible.

La región visible, de 400 hasta cerca de 800nm, es la única del espectro electromagnético detectable por el ojo humano. Las transiciones que se presentan en esta zona corresponden a transiciones electrónicas de muy baja energía. Todos los compuestos coloreados absorben selectivamente en esta región. Los compuestos fuertemente conjugados y ciertos complejos de metales de transición absorben significativamente en esta región. Ciertas transiciones electrónicas pueden presentarse a longitudes de onda superiores a 800nm y corresponden al IR cercano.

### **Características de las bandas de absorción en la región Ultravioleta-Visible.**

Las transiciones electrónicas que sufren las moléculas al absorber radiación ultravioleta, se presentan en los espectros en forma de bandas, se producen por modificación simultánea de los niveles de energía vibracionales y rotacionales. En moléculas pequeñas en fase gaseosa es posible observar la estructura fina vibracional de las bandas electrónicas con subestructura rotacional no bien resuelta. En moléculas más complejas la multiplicidad de los niveles vibracionales hace que el gran número de transiciones de similar energía produzcan bandas de absorción continuas sin estructura fina vibracional evidente. Las principales características de una banda de absorción son: posición del máximo, intensidad y anchura.

La posición de una banda, se designa por el máximo de absorción, que depende de la energía de la transición (relación de Bohr) y se reporta usualmente como  $\lambda_{\max}$  /nm .

La intensidad de una banda de absorción puede expresarse como absortividad molar en el máximo, o más correctamente como intensidad integrada. Esta intensidad depende del cuadrado del momento dipolo de la transición (cambio en la distribución de cargas eléctricas durante la transición). Se producen absorciones intensas cuando una transición es acompañada por un gran cambio en la distribución de cargas ( $\epsilon_{\max}$  del orden de  $10^4$ ), por otra parte las transiciones con pequeño cambio en la distribución de cargas producen débiles bandas de absorción ( $\epsilon_{\max}$  del orden de  $10^2$  inferiores). Dados los valores típicos de las absortividades molares en el UV, es común trabajar con soluciones de concentraciones  $10^{-3}$  a  $10^{-5}$  M.

La anchura de una banda de absorción electrónica depende del número e intensidad de los componentes vibracionales de la transición correspondiente. La distribución de intensidades entre los componentes vibracionales de una transición electrónica depende de los cambios en la geometría de equilibrio de los estados base y excitados.

Resulta conveniente definir algunos términos usuales en espectroscopia UV-Vis que tienen origen en teorías sobre el color de las sustancias.

Grupo cromóforo: grupo covalente insaturado que origina bandas de absorción electrónicas ( $\pi-\pi^*$ ). Ejemplos típicos son los grupos vinilo, carbonilo, fenilo, nitro.

Grupo auxócromo: grupo saturado (generalmente conteniendo pares electrónicos libres) que unido a un cromóforo altera tanto la posición como la intensidad de la banda de absorción de éste. Auxócromos típicos son los grupos  $-\text{OH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{Cl}$ ,  $-\text{Br}$ ,  $-\text{CH}_3$ .

Efectos batocrómico e hipsocrómico: desplazamientos del máximo de absorción de una banda a mayores o menores longitudes de onda respectivamente, esto se puede deber a la introducción de un sustituyente vecino al cromóforo al cambio de solventes o variaciones de pH.

Efectos hipercrómico e hipocrómico: incremento o decremento de la intensidad de una banda de absorción debido a la introducción de un sustituyente, cambio de solvente o pH.

### **Espectrofotometría derivada**

La espectrofotometría de derivadas es una técnica que se conoce desde hace mucho tiempo, pero se ha desarrollado en épocas relativamente recientes. Actualmente la utilización de sistemas electrónicos de diferenciación mediante el empleo de un microordenador acoplado en serie con el espectrofotómetro, permite la representación de primeras derivadas, segundas derivadas e incluso órdenes superiores de la absorbancia frente a la longitud de onda. En un espectro de derivadas se amplifica considerablemente la capacidad para detectar y medir aspectos menores en las señales obtenidas. Esta amplificación de los detalles espectrales característicos hace que se pueda distinguir entre espectros muy similares

La primera derivada de un espectro original se define como la representación gráfica de la pendiente de la curva de absorción en cada longitud de onda. En el

espectro de la primera o de la segunda derivada, la señal de las ordenadas no son proporcionales al valor de absorción, sino a la pendiente del espectro normal. Por ello, como la pendiente en el espectro normal puede tener valores positivos y negativos, en la escala de ordenadas, o bien, máximos y mínimos, según el carácter de la pendiente para una sustancia absorbente, la posición de la longitud de onda y la relación entre los valores de los extremos (máximos y mínimos) representa una magnitud característica y proporcional a la concentración en que se encuentren los compuestos.

La utilización de la espectrofotometría de derivadas presenta las siguientes ventajas:

- Medida exacta de  $\lambda_{\max}$ . Mientras que en el espectro normal, especialmente en el caso de bandas de absorción anchas, la posición correspondiente a la longitud máxima de onda sólo puede ser fijada de manera aproximada. En la primera derivada del espectro, la posición del máximo viene definida exactamente por el paso de la curva por el valor cero.
- Mejor resolución de los espectros. En el espectro normal, la estructura fina puede ser difícil de ver. En estos casos, es más conveniente emplear la segunda derivada, ya que los máximos y mínimos del espectro normal y de la segunda derivada aparecen prácticamente en las mismas longitudes de onda y la estructura fina del espectro normal se pone de manifiesto mejor que en la primera derivada. Enfatizan pequeños cambios relativamente rápidos en el espectro en comparación con un fondo que cambia más lentamente sobre el intervalo de longitud de onda. En la práctica analítica normal esto tiene gran importancia, ya sea con fines de identificación, como criterio de pureza o para control de calidad.
- Determinaciones en presencia de turbidez no demasiado elevada. Las disoluciones turbias presentan al UV generalmente un aumento continuo de la absorbancia hacia longitudes de onda más cortas y no ocasionan, por

consiguiente, ninguna variación espectral importante en la primera y segunda derivada.

- Determinaciones cuantitativas en presencia de dos o más componentes. La determinación cuantitativa de componentes con bandas de absorción relativamente estrechas y que estén sobrepuestas a una banda ancha de un segundo componente es uno de los campos de aplicación más extensos de esta técnica. Cuando el componente que se desea determinar sólo es visible en el espectro total por un pequeño pico o por un hombro, la utilización de métodos convencionales puede implicar grandes errores.

### **La ley de Lambert-Beer.**

La ley de la absorción luminosa (ley de Lambert-Beer) relaciona la cantidad de luz absorbida por una muestra con: a) el espesor de la muestra y b) la concentración de la sustancia. La ley se expresa por la relación:

$$\log I_0/I = A = \epsilon Lc$$

En donde:

$I_0$  = la intensidad de la luz incidente (medida a través del disolvente puro)

$I$  = la intensidad de luz transmitida

$A$  = la absorbancia

$\epsilon$  = el coeficiente de absorción (litros / mol cm)

$L$  = la longitud recorrida por la luz a través de la muestra (cm)

$c$  = concentración molar (mol / litro).

### **Desviaciones respecto de la ley de Lambert-Beer**

Las desviaciones pueden ser de tres categorías: reales, instrumentales y químicas.

Las desviaciones reales provienen de los cambios en el índice de refracción del sistema analítico. A concentraciones de  $10^{-3}$  M o menores, el índice de refracción es esencialmente constante, a concentraciones elevadas el índice de refracción tiene variaciones considerables, por lo que, para realizar espectros de UV se

prefiere trabajar a concentraciones bajas, esto no excluye los análisis cuantitativos a concentraciones elevadas, pues agrupando las incógnitas mediante disoluciones estándares o con el uso de curvas de calibración se puede alcanzar suficiente exactitud.

Las desviaciones instrumentales provienen, en primer lugar, de los filtros de bandas o monocromadores. La deducción de la ley de Lambert-Beer supone radiación monocromática, pero la radiación estrictamente monocromática sólo puede ser aproximada con fuentes específicas de emisión de líneas de radiación.

Otro aspecto que puede afectar la Ley de Lambert y Beer es la presencia de la radiación parásita, normalmente denominada luz parásita, esta se define como la radiación debida al instrumento y que está fuera de la banda de longitud de onda nominal seleccionada para la medida. Ésta radiación parásita proviene de la dispersión y reflexión de la superficie de las rejillas, lentes o espejos, filtros y ventanas. La luz parásita siempre hace que la absorbancia aparente sea menor que la verdadera absorbancia. Las desviaciones resultantes de la luz parásita son más significativas para valores de absorbancia altos.

Utilizar celdas distintas es otra causa de desviación de la ley de Beer. Si las celdas que contienen las soluciones del analito y del blanco no son de igual longitud de trayecto ni equivalentes en sus características ópticas, ocurre una intersección en la curva de calibración, de modo que  $A = \epsilon Lc + k$  es la ecuación verdadera. Este error puede evitarse empleando celdas iguales o con un procedimiento de regresión lineal para calcular la pendiente e intersección de la curva de calibración.

Las desviaciones químicas son causadas por desplazamientos en la posición de un equilibrio, físico o químico, que involucran especies absorbentes de radiación en un sistema. La magnitud de tales desviaciones puede predecirse a partir de la absorptividad molar de las especies absorbentes y de las constantes de equilibrio de las reacciones. Los equilibrios característicos que originan este efecto abarcan

los equilibrios monómero-dímero, de complejación metálica con más de un tipo de complejo, los equilibrios ácido base y de asociación con el disolvente-utilizado.

Opcionalmente puede usarse la longitud de onda de un punto isobéptico. Un punto isobéptico se da a la longitud de onda de un espectro de absorción en la que las aditvidades molares de dos especies interconvertibles capaces de absorber radiación son iguales.

### **Determinaciones espectrofotométricas simultáneas.**

Cuando en toda la región espectral de interés ocurre el traslape de los espectros de dos cromóforos, es posible idear un método basado en las mediciones de dos o más longitudes de onda. Dos cromóforos no semejantes tienen diferentes capacidades de absorción de radiación en uno o varios puntos de sus correspondientes espectros de absorción. Por lo tanto, si las mediciones de una solución problema se hacen a dos longitudes de onda en donde las absorptividades de ambos componentes sean diferentes, es posible establecer dos ecuaciones independientes y resolverlas para obtener las dos concentraciones desconocidas. Para ello, en primer lugar deben obtenerse los espectros de cada componente puro y entonces elegir dos longitudes de onda para las cuales la diferencia en absorptividades molares es máxima. También es posible, y de hecho deseable si las condiciones lo permiten, hacer medidas a cierto número de longitudes de onda mayor que el número de incógnitas, el trabajo estadístico posterior al análisis decidirá el método más conveniente.

### **Ley de aditvidades**

La ley de Lambert-Beer puede también aplicarse al análisis cuantitativo de mezclas de dos o más sustancias, siempre que sus respectivos espectros de absorción sean semejantes. El procedimiento se basa en que la absorbancia es una propiedad aditiva, de tal forma que la absorbancia total de una mezcla es la suma de cada uno de los componentes. Así, para una mezcla de dos

componentes, 1 y 2, que absorben radiación de una misma longitud de onda, se cumplirá que:

$$A_{\text{total}} = A_1 + A_2 = \varepsilon_1 LC_1 + \varepsilon_2 LC_2 + \dots + \varepsilon_n LC_n$$

Supongamos, entonces, que nuestro problema es el análisis de una mezcla de dos sustancias. En primer lugar se habrá de registrar el espectro de absorción de cada una de ellas por separado, con lo que se puede encontrar en una de las dos situaciones siguientes:

a) Ambos espectros no presentan solapamiento en el margen de longitudes de onda de trabajo. El problema se reduce, entonces, al análisis por separado, cada uno en la zona del espectro en donde cada componente de la mezcla se presenta como único absorbente.

b) Ambos espectros presentan solapamiento en una zona determinada de longitudes de onda. En este caso se han de seleccionar dos longitudes de onda diferentes,  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$ , y obtener, con disoluciones de las sustancias puras, las respectivas absorptividades molares a cada longitud de onda. Con los datos obtenidos (absorbancias y longitudes de onda) se establecen tantas ecuaciones como incógnitas a resolver en la problemática analítica.

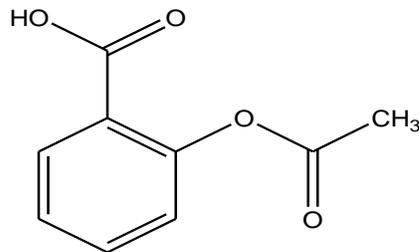
### **Disolventes**

Los disolventes utilizados en espectrofotometría deben cumplir ciertos requisitos para asegurar resultados exactos y acertados. El disolvente elegido debe disolver la muestra y debe ser compatible con los materiales de la celdas, también debe ser relativamente transparente en la región espectral de interés. Para evitar una pobre resolución y dificultades en la interpretación de los espectros, un disolvente no debe ser utilizado para mediciones cerca o debajo de su longitud ultravioleta de corte (esto es, la longitud de onda a la cual la absorbancia del disolvente sólo se aproxima a una unidad de absorbancia). Una vez que se ha seleccionado un

disolvente con base en características físicas y espectrales se debe cerciorarse de su pureza y no tener picos de impurezas.

### Principios activos:

#### Ácido Acetilsalicílico



Masa molecular: 180.16

El ácido acetilsalicílico es un polvo blanco y cristalino, es estable en aire seco, en aire húmedo se hidroliza gradualmente a ácidos salicílico y acético. Fácilmente soluble en alcohol, es soluble en cloroformo y éter dietílico, y ligeramente soluble en agua. Éste fármaco pertenece al grupo de los AINE's (antiinflamatorios no esteroideos), dentro de sus principales efectos terapéuticos se encuentran:

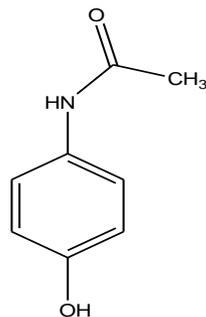
Efecto antiinflamatorio: modificación de la reacción inflamatoria.

Efecto analgésico: alivio a determinados tipos de dolor.

Efecto antipirético: disminución de la temperatura, cuando se encuentra elevada, en un sujeto enfermo.

Por otro lado puede producir irritación gástrica, la cual comprende desde molestias leves hasta formación de úlceras.

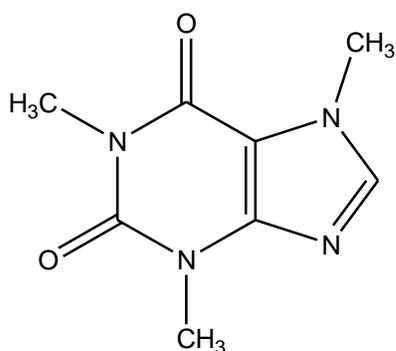
#### Paracetamol



Masa molecular: 151.16

El paracetamol, es un polvo cristalino, fácilmente soluble en etanol y metanol, soluble en acetona, agua caliente y en solución de hidróxido de sodio 1N, poco soluble en cloroformo. Conocido también como acetaminofén es uno de los analgésicos- antipiréticos no opiáceos mas utilizado y forma parte del grupo de los AINE´s, además, para su adquisición no se requiere receta médica, su actividad antiinflamatoria es débil y no comparte los efectos secundarios gastrointestinales ni plaquetarios de los restantes AINE´s.

### Cafeína



Masa molecular: 194.19

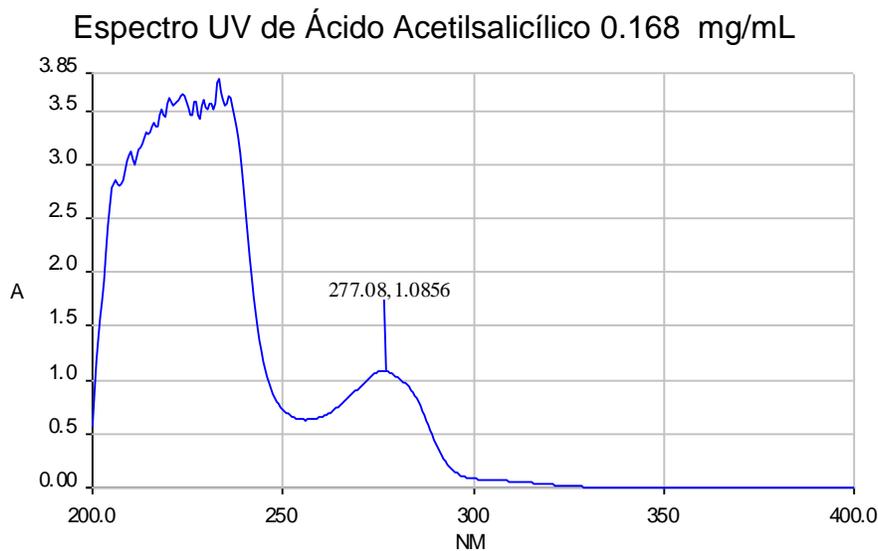
La cafeína es un polvo blanco y cristalino o agujas brillantes generalmente aglomeradas; la forma hidratada es eflorescente en agua. Fácilmente soluble en cloroformo, poco soluble en agua y etanol, y ligeramente soluble en éter etílico. La cafeína se utiliza en pocas ocasiones clínicamente, es combinada con el ácido acetilsalicílico en el tratamiento de las cefaleas y otros dolores, y con ergotamina en algunas formulaciones contra la migraña, con objeto de producir una ligera sensación agradable de alerta.

### 3. TRABAJO EXPERIMENTAL

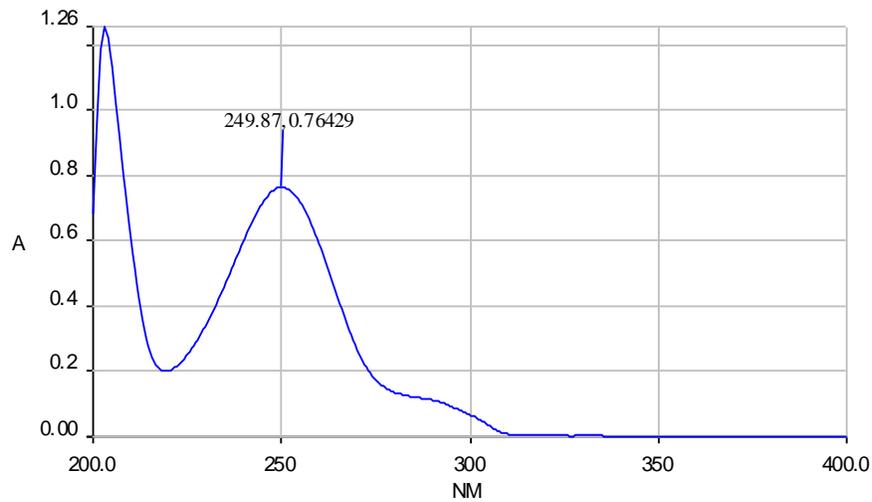
#### 3.1. Análisis espectrofotométrico al UV de mezclas de AAS, PAR y CAF

##### 3.1.1. Obtención de las longitudes de onda de máxima absorción

Se registraron los espectros de absorción al UV de los tres principios activos: AAS, PAR y CAF haciendo barridos desde 200 nm hasta 400 nm, para obtenerse las respectivas longitudes de onda de máxima absorción y absorbancias. Todos los compuestos se disolvieron en alcohol etílico dado que éstos son solubles en dicho disolvente, para el desarrollo de este estudio se utilizó alcohol etílico absoluto anhidro al 99.74%, éste se utilizó para realizar todas las disoluciones y diluciones en etanol. Los resultados se muestran a continuación:



Espectro UV de Paracetamol 0.008 mg/mL



Espectro UV de Cafeína 0.0416 mg/mL

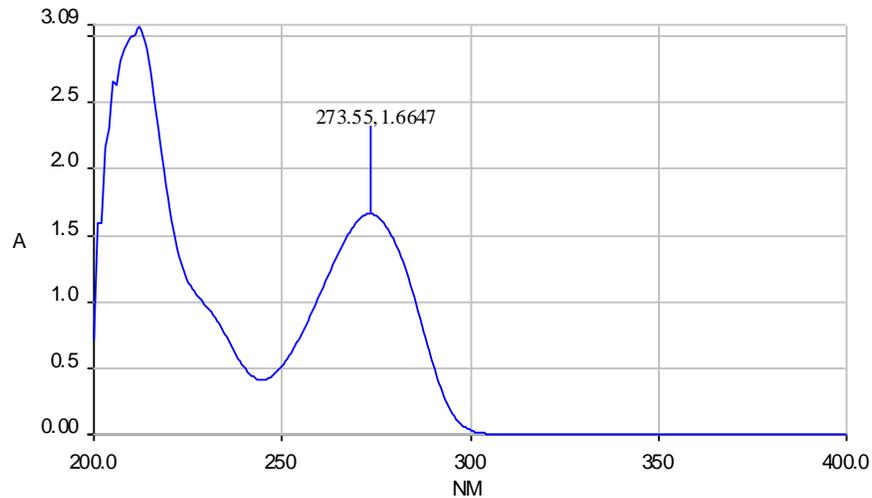


Tabla 1 Longitudes de onda de máxima absorción para los espectros de UV

Compuesto	$\lambda_{\text{max}}$	Absorbancias
Ácido Acetilsalicílico	277.08 nm	1.0856
Paracetamol	249.87 nm	0.76429
Cafeína	273.55 nm	1.6647

### 3.1.2. Obtención de los coeficientes de absortividad

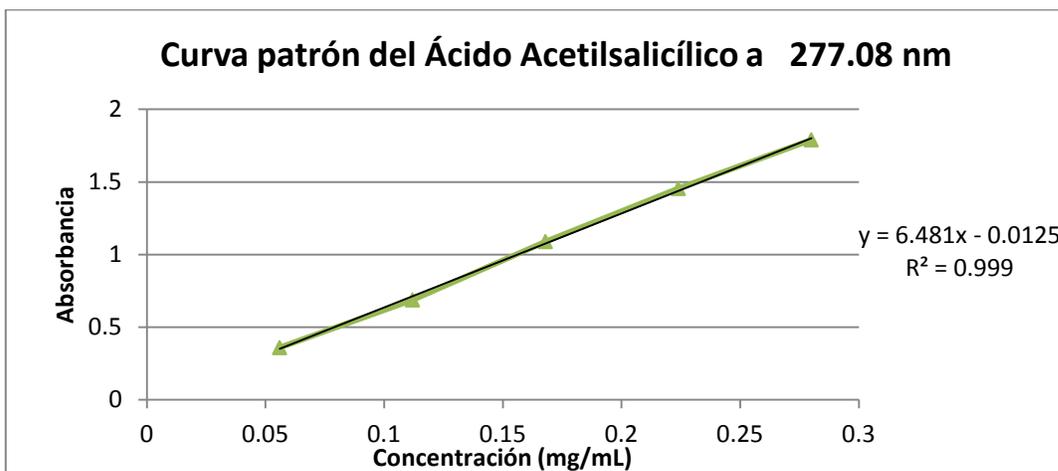
Tras obtener las longitudes de onda de máxima absorción, se prepararon curvas patrón de cada compuesto para obtener el coeficiente de absortividad correspondiente mediante una regresión lineal, en donde la pendiente obtenida correspondía al coeficiente buscado.

### Coeficiente de absortividad del AAS

Se pesaron 7 mg de AAS (reactivo analítico), se colocaron en un matraz aforado de 25 mL y se llevaron al aforo con alcohol etílico, de la disolución anterior (stock) se tomaron alícuotas de 2.0,4.0,6.0 y 8.0 mL con pipetas volumétricas y se llevó al aforo en matraces de 10 mL, se obtuvieron lo espectros de cada disolución (incluyendo el stock inicial) por triplicado, el coeficiente de absortividad se obtuvo promediando las pendientes de las tres curvas.

Curva patrón de AAS a 277.08 nm

Alícuota (mL)	conc(mg/mL)	conc( $\mu$ g/mL)	Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3	Promedio
2.0	0.056	56	0.34428	0.34512	0.35918	
4.0	0.112	112	0.68857	0.69297	0.6878	
6.0	0.168	168	1.0887	1.0862	1.0893	
8.0	0.224	224	1.4492	1.4511	1.4549	
Stock	0.280	280	1.7968	1.7893	1.7903	
Pendiente			6.545	6.511	6.481	6.512

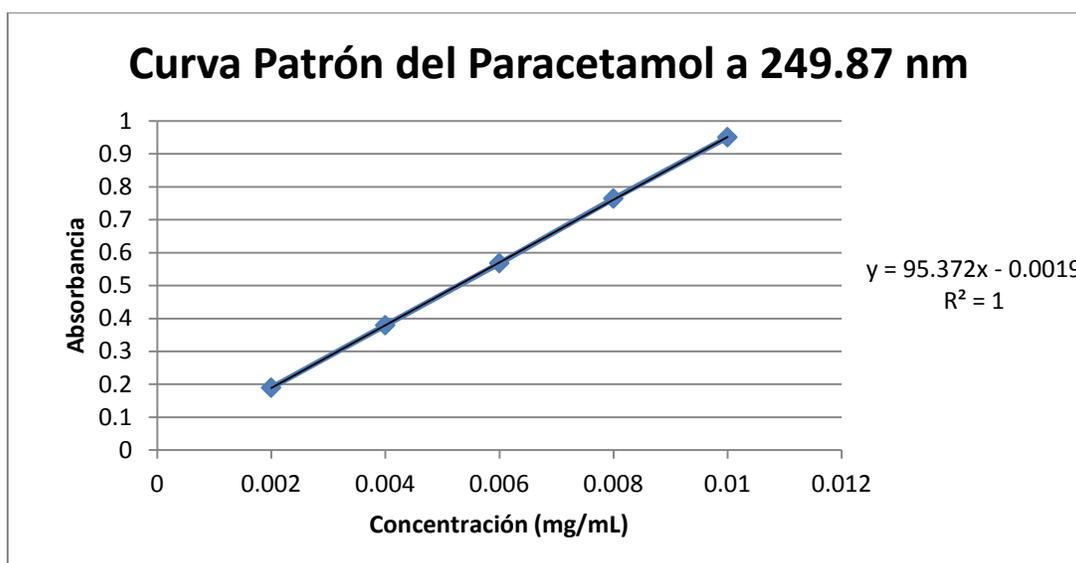


### Coeficiente de absortividad de PAR

Se pesaron 2.5 mg de PAR (reactivo analítico) y se colocaron en un matraz aforado de 25 mL, de la disolución anterior se tomaron alícuotas de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0 mL con micropipeta, se colocaron en matraces de 10 mL, de todas las disoluciones preparadas se obtuvo el espectro de absorbancia por triplicado, el coeficiente de absortividad se obtuvo promediando las pendientes de las tres curvas.

Curva patrón de paracetamol a 249.87 nm

Alícuota (mL)	conc(mg/mL)	conc( $\mu$ g/mL)	Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3	Promedio
0.2	0.002	2	0.18947	0.20684	0.19019	
0.4	0.004	4	0.3793	0.39214	0.38048	
0.6	0.006	6	0.56793	0.56473	0.56442	
0.8	0.008	8	0.76429	0.76561	0.7583	
1.0	0.01	10	0.95069	0.94557	0.95491	
Pendiente			95.37	92.54	95.36	94.42

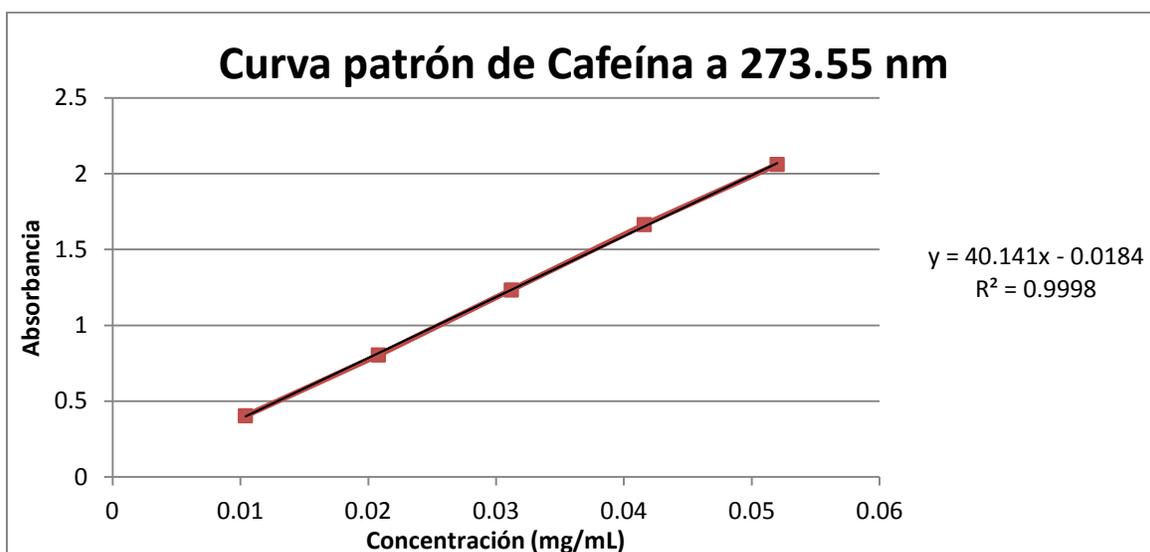


### Coefficiente de absortividad de CAF

Se pesaron 2.6 mg de CAF (reactivo analítico) y se colocaron en un matraz aforado de 25 mL, de la disolución anterior se tomaron alícuotas de 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 y 5.0 mL con pipetas volumétricas, se colocaron en matraces de 10 mL, de todas las disoluciones preparadas se obtuvo el espectro de absorbancia por triplicado, el coeficiente de absortividad se obtuvo promediando las pendientes de las tres curvas.

Curva patrón de cafeína a 273.55 a nm

Alícuota (mL)	conc(mg/mL)	conc(µg/mL)	Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3	Promedio
1.0	0.0104	10.4	0.40939	0.40434	0.40666	
2.0	0.0208	20.8	0.80697	0.80527	0.80476	
3.0	0.0312	31.2	1.2292	1.2336	1.2345	
4.0	0.0416	41.6	1.6647	1.665	1.665	
5.0	0.052	52	2.0463	2.0618	2.0608	
Pendiente			39.72	40.14	40.08	39.98



### 3.1.3. Aplicación de la ley de aditividades en mezclas en espectros de UV

Para poder aplicar la ley de aditividades es necesario conocer los coeficientes de absorptividad de cada compuesto a las longitudes de onda de máxima absorción de los otros dos compuestos, es decir:

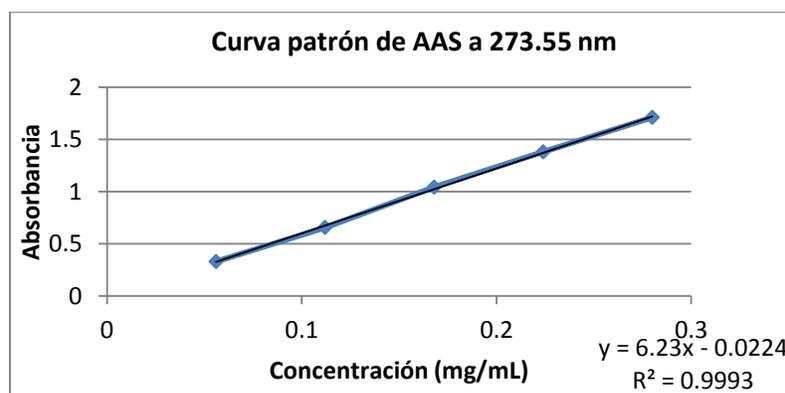
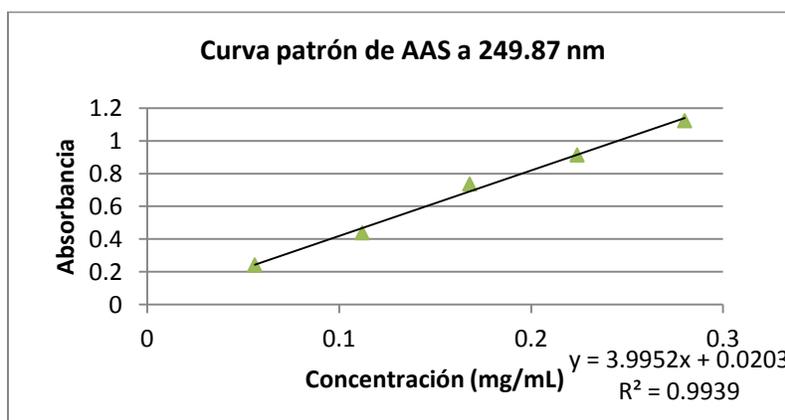
- Para AAS se deben conocer los coeficientes a 249.87nm y a 273.55nm
- Para PAR se deben conocer los coeficientes a 277.08nm y a 273.55nm
- Para CAF se deben conocer los coeficientes a 277.08nm y a 249.87nm

Para hacer estas determinaciones se utilizaron las mismas disoluciones que se prepararon para la curva patrón.

### 3.1.4. Obtención de los coeficientes de absorptividad para aplicar la ley de aditividades en espectros de UV

#### Coeficientes de absorptividad a 249.87nm y a 273.55 nm para ácido acetilsalicílico (AAS)

Alícuota (mL)	Conc(mg/mL)	conc(μg/mL)	λ= 249.87 nm			λ= 273.55 nm		
			Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3	Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3
2.0	0.056	56	0.21669	0.22027	0.2432	0.3292	0.33015	0.34416
4.0	0.112	112	0.42429	0.43831	0.43894	0.65712	0.66205	0.65668
6.0	0.168	168	0.72921	0.72944	0.73658	1.0422	1.0415	1.0457
8.0	0.224	224	0.89992	0.89971	0.91464	1.3809	1.3834	1.3882
Stock	0.28	280	1.1136	1.1071	1.124	1.7117	1.7028	1.7069
Pendiente			4.052	280	3.995	6.23	6.19	6.173
Promedio			4.013			6.196		

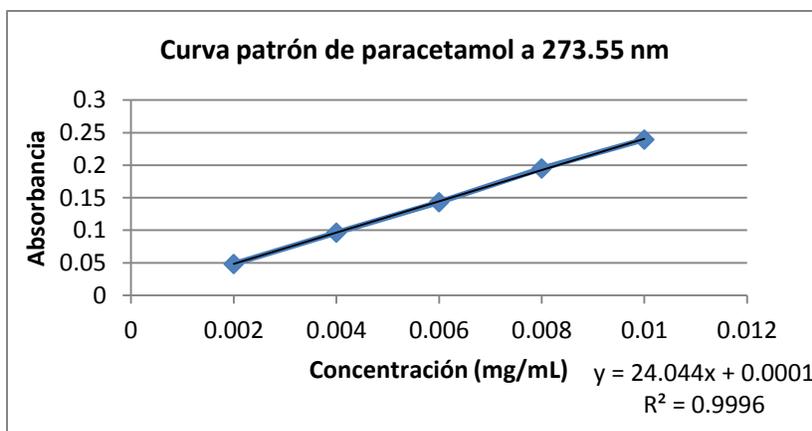
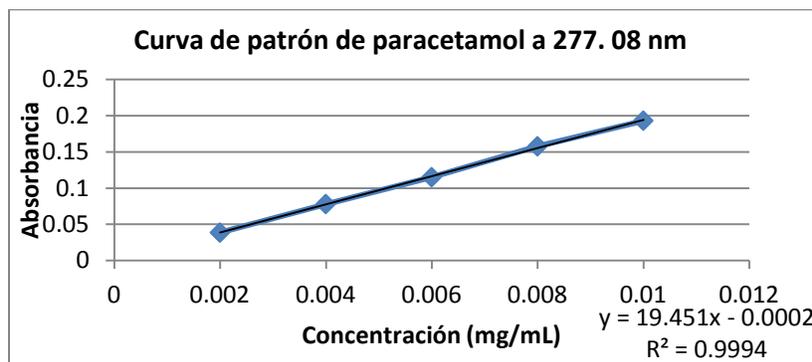


Resumen de los coeficientes de absorptividad de la curva patrón de AAS a 249.87nm y a 273.55nm

Longitud de Onda	249.87 nm	273.55 nm
AAS	4.013	6.196

**Coefficientes de absorptividad a 277.08 nm y a 273.55 nm para Paracetamol (PAR)**

Alícuota (mL)	conc(mg/mL)	conc(µg/mL)	$\lambda = 277.08 \text{ nm}$			$\lambda = 273.55 \text{ nm}$		
			Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3	Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3
0.2	0.002	2	0.038526	0.051556	0.039545	0.048201	0.061282	0.048672
0.4	0.004	4	0.078003	0.088921	0.080576	0.096361	0.10725	0.098711
0.6	0.006	6	0.11512	0.11377	0.11459	0.14315	0.14141	0.14202
0.8	0.008	8	0.15774	0.16031	0.15556	0.19496	0.1977	0.19234
1	0.01	10	0.19317	0.19106	0.1977	0.23934	0.23705	0.2437
Pendiente			19.45	17.52	19.56	24.04	22.09	24.18
Promedio			18.84333			23.43		

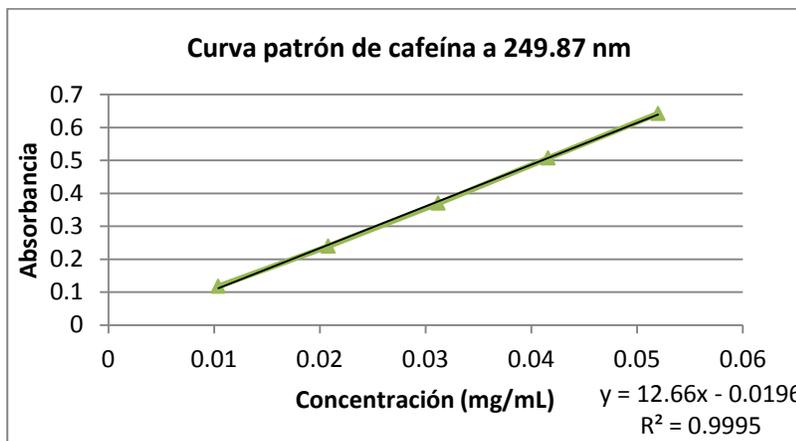
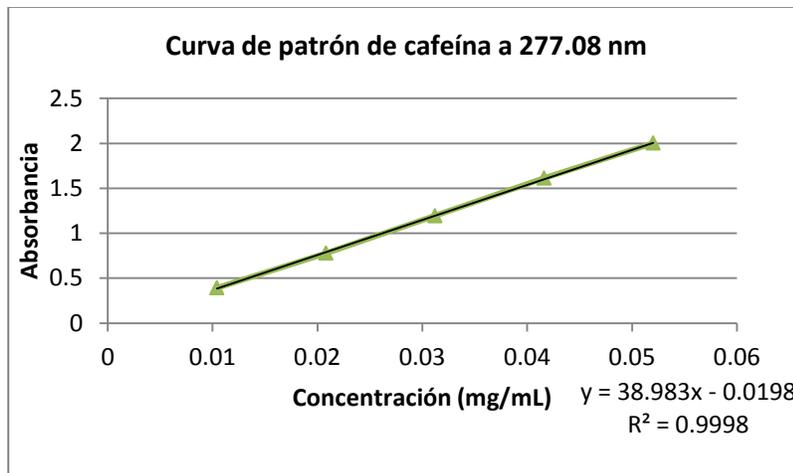


Resumen de los coeficientes de absorptividad de la curva patrón de PAR a 277.08nm y a 273.55nm

Longitud de Onda	277.08 nm	273.55 nm
PAR	18.84	23.42

**Coefficientes de absorptividad a 277.08 nm y a 249.87 nm para Cafeína (CAF)**

Alícuota (mL)	conc(mg/mL)	conc(µg/mL)	λ= 277.08 nm			λ= 249.87 nm		
			Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3	Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3
1.0	0.0104	10.4	0.39677	0.39173	0.39341	0.11978	0.12001	0.11776
2.0	0.0208	20.8	0.78038	0.7798	0.77881	0.24187	0.23988	0.23963
3.0	0.0312	31.2	1.1895	1.1958	1.1938	0.36828	0.37093	0.37019
4.0	0.0416	41.6	1.6092	1.6172	1.6131	0.50787	0.50811	0.5073
5.0	0.052	52	1.9908	1.9946	2.0034	0.63081	0.64058	0.64225
Pendiente			38.62	38.87	38.98	12.38	12.59	12.66
Promedio			38.82333			12.54333		



Resumen de los coeficientes de absorptividad de la curva patrón de CAF a 277.08nm y a 249.87nm

Longitud de Onda	277.08 nm	249.87 nm
CAF	38.823	12.543

Tabla 2 Resumen de las longitudes de onda de los principios activos en estudio y los coeficientes absorptividad para cada uno.

Compuesto	$\lambda = 277.08$ nm	$\lambda = 273.55$ nm	$\lambda = 249.87$ nm
AAS	6.512	6.196	4.013
PAR	18.843	23.43	95.372
CAF	38.823	40.141	12.543

### 3.1.5. Análisis espectroscópico al UV de mezclas

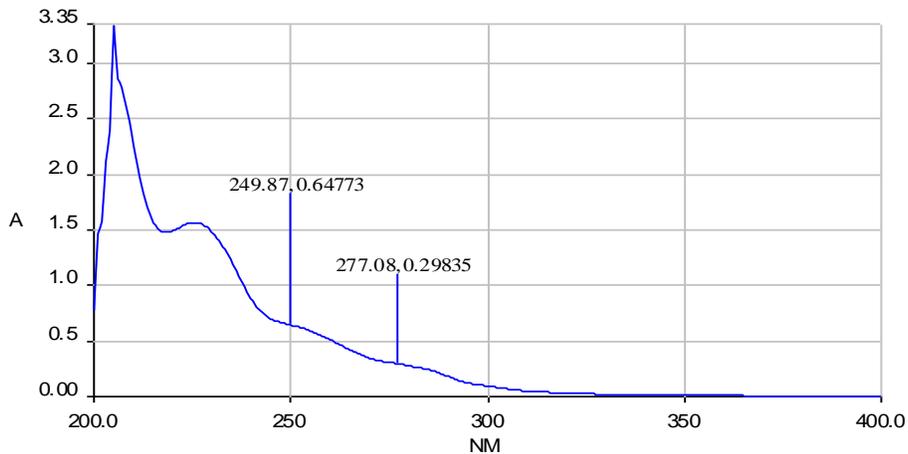
Se estudiaron las siguientes mezclas:

- Mezcla Ácido Acetilsalicílico-Paracetamol
- Mezcla Cafeína-Paracetamol
- Mezcla Ácido acetilsalicílico-Cafeína
- Mezcla Triple (Ácido Acetilsalicílico-Paracetamol-Cafeína).

#### Mezcla Ácido acetilsalicílico-Paracetamol

Se pesaron 13.5 mg de AAS y 2.5 mg de PAR, se colocaron en un matraz de 50 mL y se llevó al aforo con etanol, de la disolución anterior se tomó una alícuota de 1.0 mL, y se colocó en un matraz de 10 mL que se llevó al aforo con etanol, de la disolución anterior se obtuvo el espectro de UV para ser analizado posteriormente por medio de la ley de aditividad.

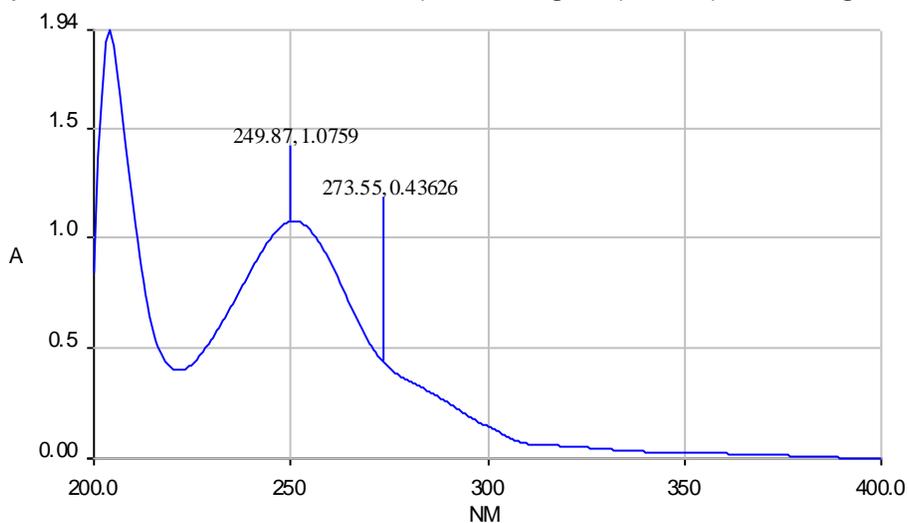
Espectro UV de la mezcla AAS(0.027mg/mL)- PAR(0.005mg/mL)



### Mezcla Cafeína-Paracetamol

Se pesaron 14 mg de PAR y 4.5 mg de CAF, se colocaron en un matraz de 50 mL y se llevó al aforo con etanol, de la disolución anterior se tomó una alícuota de 1.0 mL se colocó en un matraz de 25 mL que se llevó al aforo con etanol, de la disolución anterior se obtuvo el espectro de UV para ser analizado posteriormente por medio de la ley de aditividad.

Espectro UV de la mezcla PAR(0.0112mg/mL)-CAF(0.0036mg/mL)

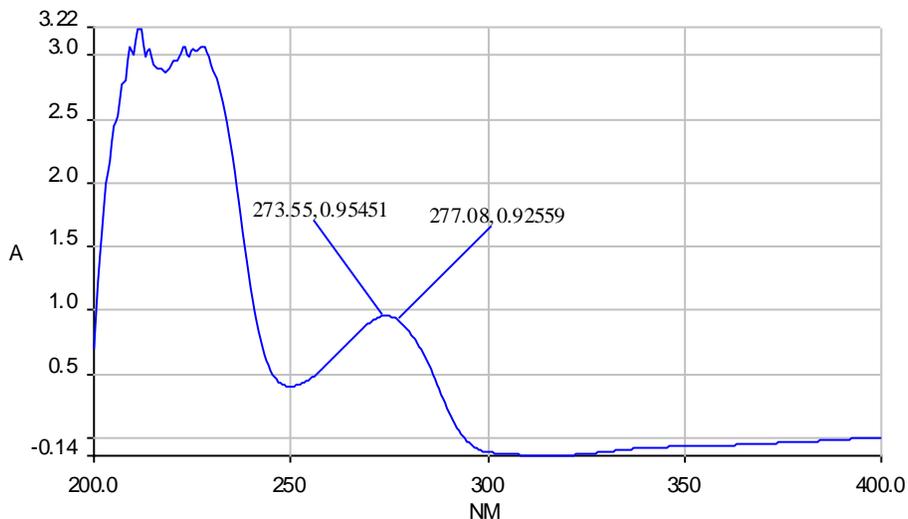


### Mezcla Ácido acetilsalicílico-Cafeína

Se pesaron 12.5 mg de AAS y 3 mg de CAF, se colocaron en un matraz de 50 mL y se llevó al aforo con etanol, de la disolución anterior se tomó alícuota de 6.0 mL con pipeta volumétrica, se colocó en un matraz de 25 mL que se llevó al aforo con

etanol, de la disolución anterior se obtuvo el espectro de UV para ser analizado posteriormente por medio de la ley de aditividad.

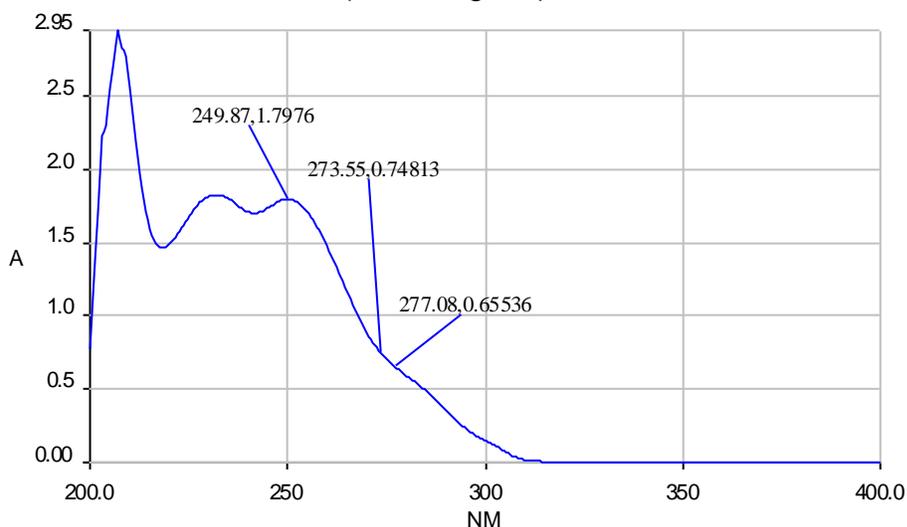
Espectro UV de la mezcla AAS(0.06mg/mL)-CAF(0.0144mg/mL)



### Mezcla Ácido acetilsalicílico-Paracetamol-Cafeína

Se pesaron 11 mg de AAS, 10 mg de PAR y 2.5 mg de CAF, los fármacos fueron colocados en un matraz de 10 mL y se llevó al aforo con etanol, se tomó una alícuota de 0.2 mL con micropipeta y se colocó en otro matraz de 10 mL que se llevó al aforo con etanol, de la disolución anterior se obtuvo el espectro que se muestra a continuación:

Espectro UV de la mezcla AAS(0.022mg/mL), PAR (0.02mg/mL), CAF (0.005 mg/mL)



### Cálculos:

Para obtener las cantidades de fármaco presentes en cada mezcla de dos compuestos se hizo un sistema de dos ecuaciones con dos incógnitas, se debe armar una ecuación por cada longitud de onda, para ejemplificar los cálculos realizados en cada mezcla se elige la mezcla AAS-PAR:

$$\lambda_{\max} = 277.08 \text{ nm} \quad 0.29835 = 6.512 C_{\text{AAS}} + 18.843 C_{\text{PAR}} \dots \dots \dots (1)$$

$$\lambda_{\max} = 249.87 \text{ nm} \quad 0.64773 = 4.013 C_{\text{AAS}} + 95.372 C_{\text{PAR}} \dots \dots \dots (2)$$

Se puede despejar cualquiera de las dos incógnitas de cualquiera de las dos ecuaciones, para este caso, de la ecuación (1) despejaremos  $C_{\text{AAS}}$  y queda así:

$$C_{\text{AAS}} = \frac{0.29835 - 18.843 C_{\text{PAR}}}{6.512} \quad \Rightarrow \quad C_{\text{AAS}} = 0.046 - 2.8936 C_{\text{PAR}} \dots \dots \dots (3)$$

La ecuación (3) se sustituye en la ecuación (2) y queda así:

$$0.64773 = 95.372 C_{\text{PAR}} + 4.013(0.046 - 2.8936 C_{\text{PAR}})$$

$$0.64773 = \quad \quad \quad 95.372 C_{\text{PAR}} \quad \quad \quad + \quad \quad \quad 0.185 - 11.612 C_{\text{PAR}} \dots \dots \dots (4)$$

De la ecuación cuatro se agrupan términos y se despeja la primera incógnita ( $C_{\text{PAR}}$ ) para obtener la concentración del paracetamol.

$$83.76 C_{\text{PAR}} = 0.46273 \quad \text{despejando } C_{\text{PAR}} \quad C_{\text{PAR}} = \frac{0.46273}{83.76} = 0.00552 \text{ mg/mL}$$

La concentración obtenida se sustituye en la ecuación (3) y se obtiene:

$$C_{\text{AAS}} = 0.046 - (2.8936 \cdot 0.00552) = 0.03 \text{ mg/mL}$$

Dadas las concentraciones en la mezcla, se pueden obtener las cantidades que verdaderamente se pesaron al inicio, multiplicando por los aforos y alícuotas realizados para obtener la mezcla de la cual se obtuvo el espectro:

$$C_{\text{AAS}} = \left( \frac{0.03 \text{ mg AAS}}{\text{mL}} \right) \left( \frac{10 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \right) 50 \text{ mL} = 15 \text{ mg AAS}$$

$$C_{\text{PAR}} = \left( \frac{0.00552 \text{ mg PAR}}{\text{mL}} \right) \left( \frac{10 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \right) 50 \text{ mL} = 2.76 \text{ mg PAR}$$

Para obtener las cantidades de cada principio activo en la mezcla triple se utilizó un programa proveniente de una página web (ver referencia 1) para resolver matrices, primeramente se debe elegir el número de ecuaciones y el número de incógnitas como se muestra en seguida:

**K**  **x**

Después de presionar "Armar Matriz", aparecerá el siguiente recuadro:

			H(Resultado/ Result)
(1-1) <input type="text"/>	(1-2) <input type="text"/>	(1-3) <input type="text"/>	(1-4) <input type="text"/>
(2-1) <input type="text"/>	(2-2) <input type="text"/>	(2-3) <input type="text"/>	(2-4) <input type="text"/>
(3-1) <input type="text"/>	(3-2) <input type="text"/>	(3-3) <input type="text"/>	(3-4) <input type="text"/>

Al igual que en el caso anterior, se debe armar una ecuación por cada longitud de onda, es importante saber que no importa el orden en el que se acomodan los coeficientes correspondientes a cada incógnita, pero que ese orden se debe repetir en cada ecuación, es decir, si en (1-1) se pone el coeficiente de AAS, en (2-1) y (3-1), se debe poner el coeficiente de AAS que se obtuvo para cada longitud de onda, y en(1-4), (2-4) y (3-4), se pone la absorbancia obtenida para cada longitud de onda, en el caso de la mezcla triple con AAS, PAR y CAF el recuadro se ve así:

(1-1) 6.512	(1-2) 18.843	(1-3) 38.823	(1-4) 0.65536
(2-1) 4.013	(2-2) 95.372	(2-3) 12.543	(2-4) 1.7976
(3-1) 6.196	(3-2) 23.43	(3-3) 40.141	(3-4) 0.74813

Cuando se presiona "Resolver por Gauss Jordan" se obtienen los valores de las tres incógnitas que corresponden a las concentraciones de cada principio activo:

1	0	0	0.000658571465471
0	1	0	0.0177760786762
0	0	1	0.00836344349709

Dadas las concentraciones en la mezcla, se pueden obtener las cantidades que verdaderamente se pesaron al inicio, multiplicando por los aforos y alícuotas realizados para obtener la mezcla de la cual se obtuvo el espectro:

$$C_{AAS} = \left( \frac{0.0006585 \text{ mg AAS}}{\text{mL}} \right) \left( \frac{10 \text{ mL}}{0.2 \text{ mL}} \right) 10 \text{ mL} = 0.325 \text{ mg AAS}$$

$$C_{PAR} = \left( \frac{0.01777 \text{ mg PAR}}{\text{mL}} \right) \left( \frac{10 \text{ mL}}{0.2 \text{ mL}} \right) 10 \text{ mL} = 8.885 \text{ mg PAR}$$

$$C_{CAF} = \left( \frac{0.0128 \text{ mg PAR}}{\text{mL}} \right) \left( \frac{10 \text{ mL}}{0.2 \text{ mL}} \right) 10 \text{ mL} = 6.4 \text{ mg CAF}$$

Los resultados obtenidos en las mezclas estudiadas se reportan en la siguiente tabla.

Tabla 3 Cantidades pesadas y cuantificadas con espectros UV

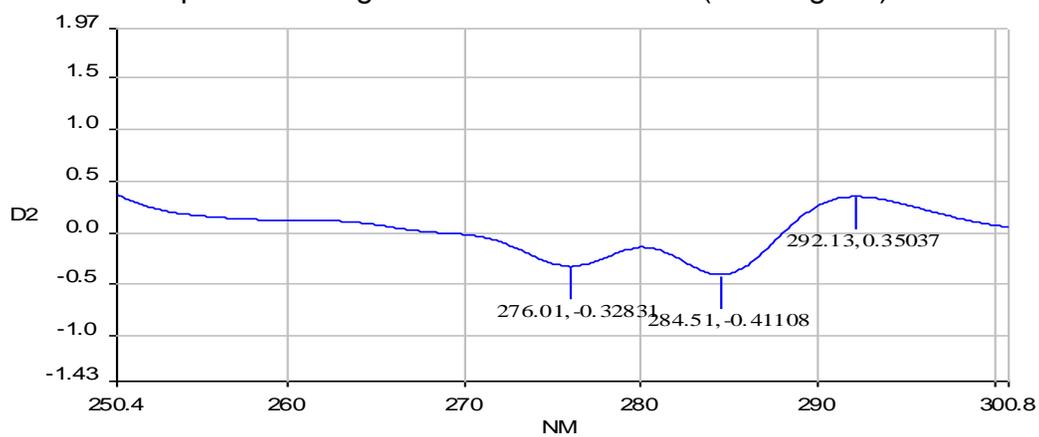
Mezcla	Cantidad Pesada AAS	Cantidad cuantificada AAS	Cantidad pesada PAR	Cantidad cuantificada PAR	Cantidad pesada CAF	Cantidad Cuantificada CAF
AAS-PAR	13.5 mg	15 mg	2.5 mg	2.76 mg	-----	-----
PAR-CAF	-----	-----	14 mg	13.337 mg	4.5 mg	5.798 mg
AAS-CAF	12.5 mg	0.97 mg	-----	-----	3 mg	4.8 mg
AAS-PAR-CAF	11.0 mg	0.325 mg	10 mg	8.885 mg	2.5 mg	6.4 mg

### 3.2. Análisis espectrofotométrico al UV con segunda derivada de mezclas de AAS, PAR y CAF

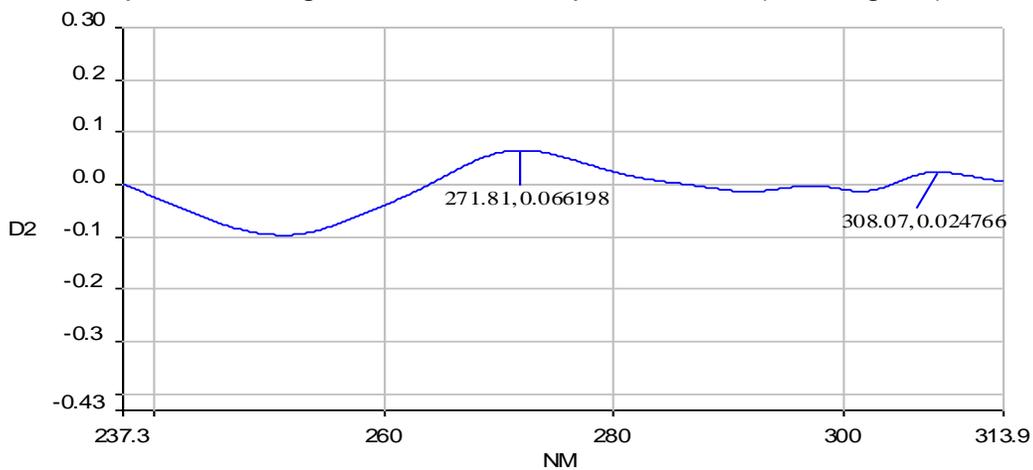
#### 3.2.1. Obtención de las longitudes de onda de máxima absorción en espectros con segunda derivada

Se registraron los espectros de absorción al UV con segunda derivada de los tres principios activos: AAS, PAR y CAF haciendo barridos desde 200 nm hasta 400 nm, para obtenerse las respectivas longitudes de onda de máxima absorción y absorbancias.

Espectro de segunda derivada de AAS (0.28 mg/mL)



Espectro de segunda derivada de paracetamol (0.01 mg/mL)



Espectro de segunda derivada de cafeína (0.0416 mg/mL)

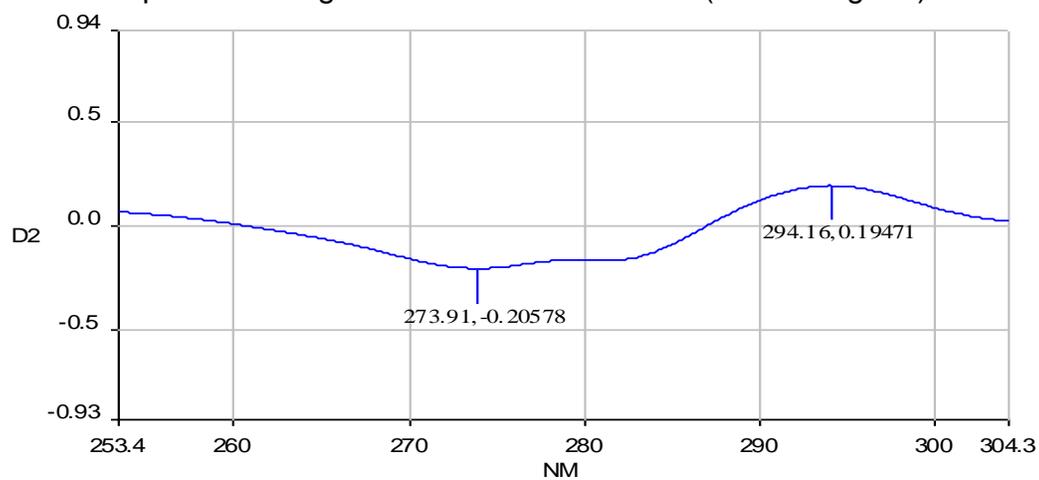


Tabla 4 Longitudes de onda de máxima absorción para los espectros de UV con segunda derivada

Compuesto	$\lambda_{\max}$ absorbancias		
Ácido Acetilsalicílico	276.01nm, -0.32831	284.51nm, 0.41108	292.13nm, 0.35037
Paracetamol	271.81nm, 0.066198		308.07nm, 0.024766
Cafeína	273.91nm, -0.20578		294.16nm, 0.19471

### 3.2.2. Obtención de los coeficientes de correlación

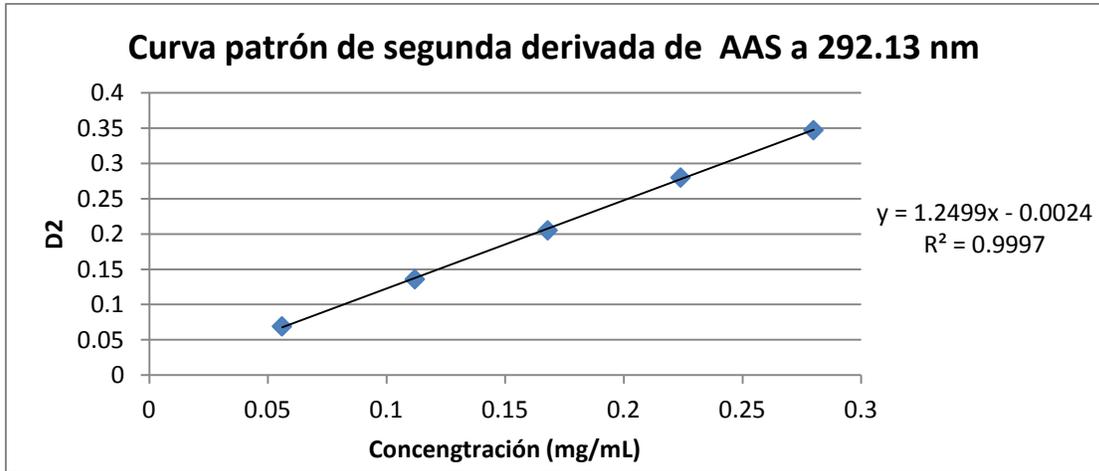
Tras obtener las longitudes de onda de máxima de absorción, se prepararon curvas patrón de cada compuesto para obtener el coeficiente de correlación correspondiente mediante una regresión lineal, en donde la pendiente obtenida correspondía al coeficiente buscado, para hacer estas determinaciones se utilizaron las mismas disoluciones que se prepararon para la curva patrón con espectros UV.

#### Coefficiente de correlación de AAS

Se pesaron 7 mg de AAS, se colocaron en un matraz aforado de 25 mL y se llevó al aforo con alcohol etílico, de la disolución anterior (stock) se tomaron alícuotas de 2.0, 4.0, 6.0 y 8.0 mL con pipetas volumétricas, y se llevó al aforo en matraces de 10 mL, se obtuvieron los espectros de cada disolución como de segunda derivada (incluyendo el stock inicial) por triplicado, el coeficiente de correlación se obtuvo promediando las pendientes de las tres curvas.

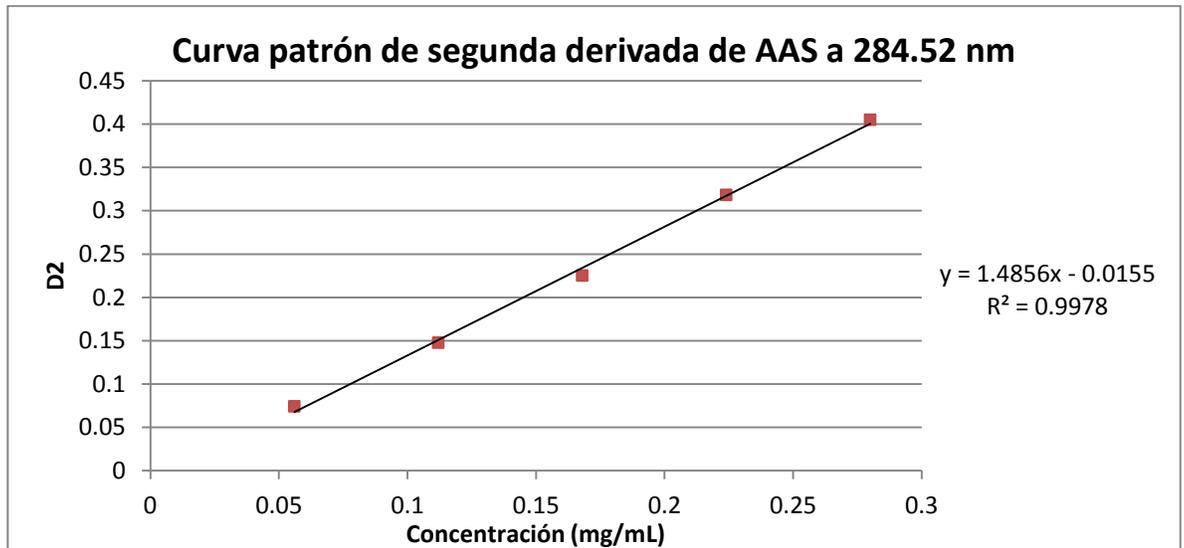
Curva patrón de segunda derivada de AAS a 292.13 nm

Alícuota (mL)	conc(mg/mL)	conc( $\mu$ g/mL)	Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3	Promedio
2.0	0.056	56	0.068581	0.069288	0.070659	
4.0	0.112	112	0.13317	0.13605	0.13428	
6.0	0.168	168	0.20321	0.20529	0.20349	
8.0	0.224	224	0.28039	0.28011	0.28071	
Stock	0.28	280	0.34948	0.34724	0.35038	
Pendiente			1.266	1.249	1.26	1.258



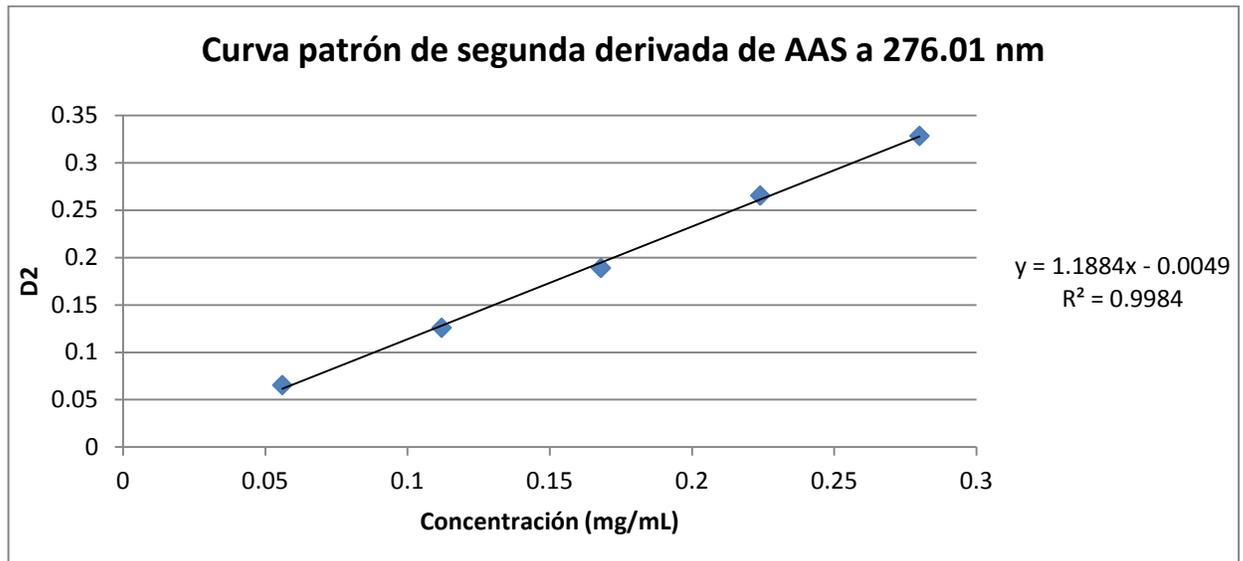
**Curva patrón de segunda derivada de AAS a 284.52 nm**

Alícuota (mL)	conc(mg/mL)	conc( $\mu$ g/mL)	Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3	Promedio
2.0	0.056	56	0.073854	0.074251	0.075462	
4.0	0.112	112	0.14305	0.14772	0.14559	
6.0	0.168	168	0.22121	0.2252	0.22279	
8.0	0.224	224	0.31766	0.31826	0.31868	
Stock	0.28	280	0.40696	0.40496	0.41108	
Pendiente			1.501	1.485	1.507	1.498



Curva patrón de AAS para lambda a 276.01 nm

Alícuota (mL)	conc(mg/mL)	conc(µg/mL)	Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3	Promedio
2.0	0.056	56	0.063661	0.06419	0.065352	
4.0	0.112	112	0.125	0.12733	0.12582	
6.0	0.168	168	0.18935	0.19073	0.18895	
8.0	0.224	224	0.26721	0.26441	0.2654	
Stock	0.28	280	0.33283	0.32531	0.32831	
Pendiente			1.215	1.177	1.188	1.193

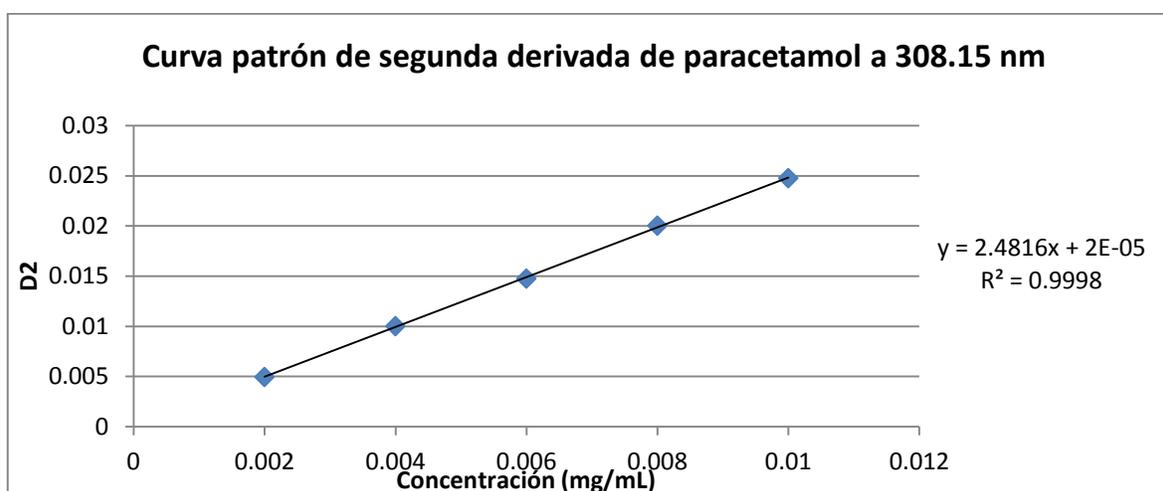


### **Coefficiente de correlación de PAR**

Se pesaron 2.5 mg de PAR y se colocaron en un matraz aforado de 25 mL, de la disolución anterior se tomaron alícuotas de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0 mL con micropipeta, y se colocaron en matraces de 10 mL, de todas las disoluciones preparadas se obtuvo el espectro de segunda derivada por triplicado, el coeficiente de absortividad se obtuvo promediando las pendientes de las tres curvas.

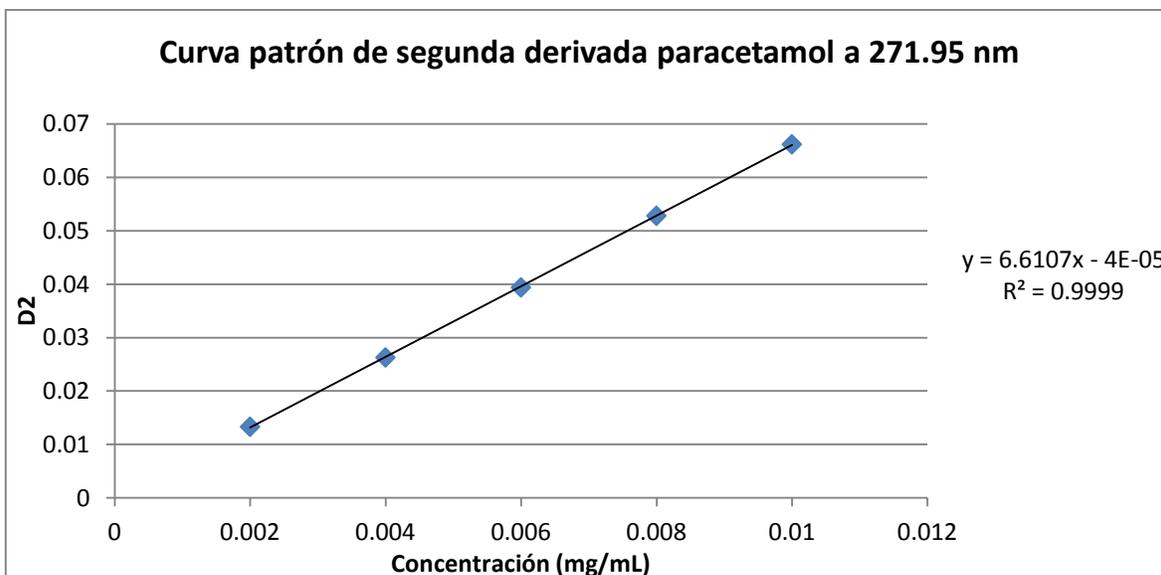
Curva patrón de segunda derivada de paracetamol cálculos a 308.15 nm

Alícuota (mL)	conc(mg/mL)	conc(µg/mL)	Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3	Promedio
0.2	0.002	2	0.0049628	0.0052	0.0050031	
0.4	0.004	4	0.010029	0.0097449	0.0096858	
0.6	0.006	6	0.014765	0.014933	0.015024	
0.8	0.008	8	0.02004	0.019744	0.019891	
1.0	0.01	10	0.024773	0.024907	0.024839	
Pendiente			2.481	2.47	2.493	2.481



Curva de Paracetamol cálculos para lambda a 271.95 nm

Alícuota (mL)	conc(mg/mL)	conc(µg/mL)	Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3	Promedio
0.2	0.002	2	0.013346	0.013196	0.013122	
0.4	0.004	4	0.026317	0.026097	0.026159	
0.6	0.006	6	0.039423	0.039721	0.039546	
0.8	0.008	8	0.052823	0.052636	0.052578	
1.0	0.01	10	0.0662	0.066558	0.066224	
Pendiente			6.61	6.663	6.631	6.634

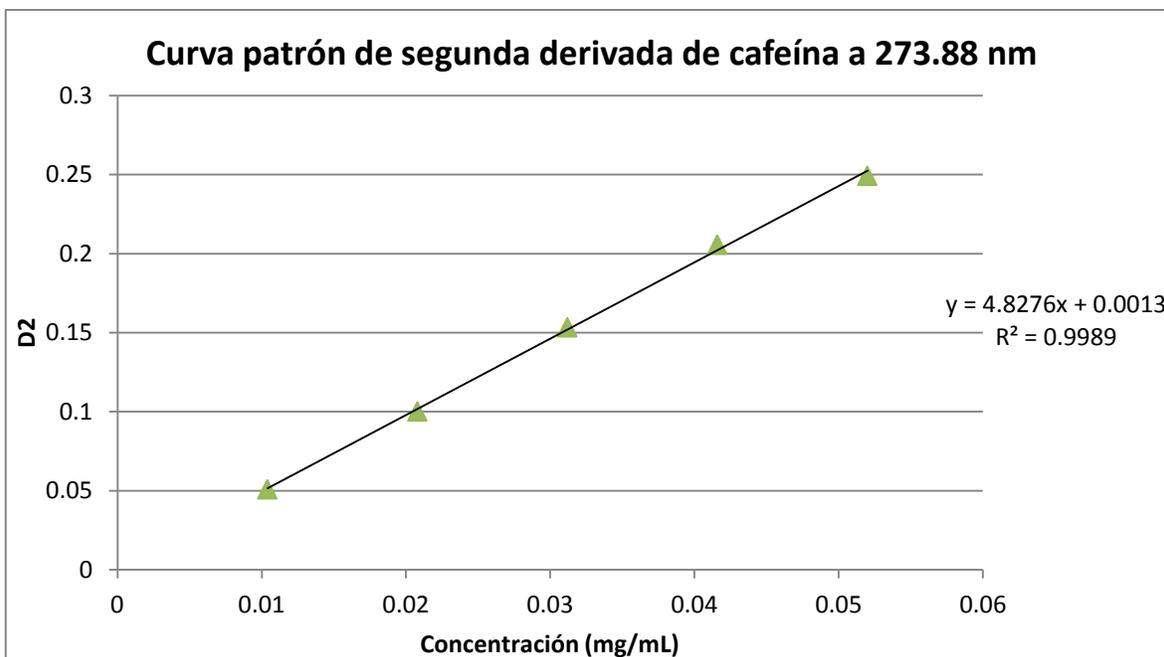


### **Coefficiente de correlación de CAF**

Se pesaron 2.6 mg de CAF y se colocaron en un matraz aforado de 25 mL, de la disolución anterior se tomaron alícuotas de 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 y 5.0 mL con pipetas volumétricas, y se colocaron en matraces de 10 mL, de todas las disoluciones preparadas se obtuvo el espectro de segunda derivada por triplicado, el coeficiente de absortividad se obtuvo promediando las pendientes de las tres curvas.

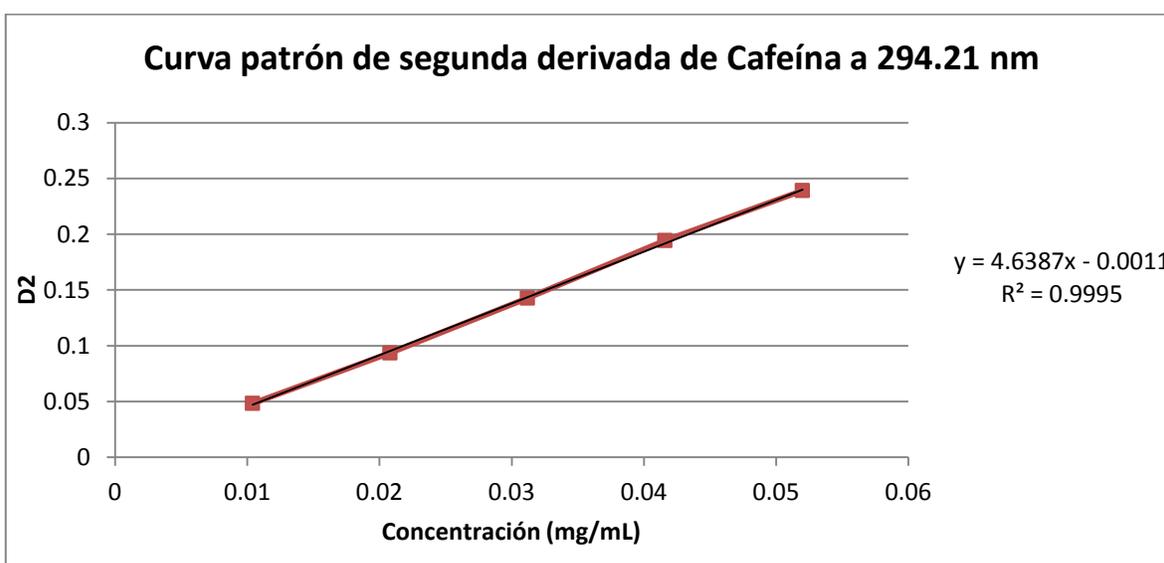
**Curva patrón de cafeína a 273.88 nm**

Alícuota (mL)	conc(mg/mL)	conc( $\mu$ g/mL)	Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3	Promedio
1.0	0.0104	10.4	0.050433	0.051122	0.051012	
2.0	0.0208	20.8	0.10081	0.1004	0.10027	
3.0	0.0312	31.2	0.15258	0.15299	0.15348	
4.0	0.0416	41.6	0.20191	0.20392	0.20576	
5.0	0.052	52	0.24228	0.24049	0.2493	
pendiente			4.661	4.637	4.827	4.708333



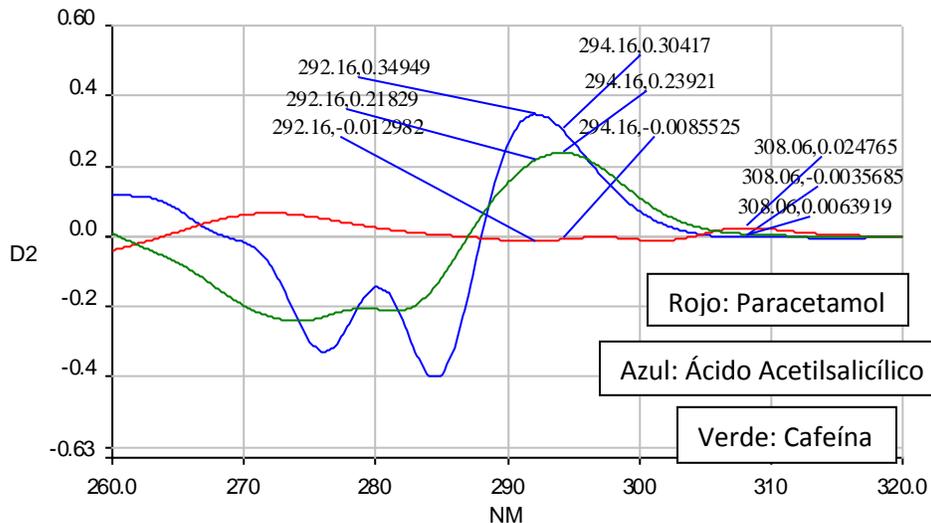
Curva patrón de cafeína a 294.21 nm

Alícuota (mL)	conc(mg/mL)	conc( $\mu$ g/mL)	Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3	Promedio
1.0	0.0104	10.4	0.047665	0.048353	0.048289	
2.0	0.0208	20.8	0.093918	0.093579	0.093469	
3.0	0.0312	31.2	0.14226	0.14274	0.14256	
4.0	0.0416	41.6	0.19466	0.19435	0.1947	
5.0	0.052	52	0.23842	0.23918	0.23963	
Pendiente			4.637	4.638	4.653	4.642667



### 3.2.3. Aplicación de la ley de aditividades en mezclas en espectros de UV con segunda derivada.

La elección de las longitudes de onda para trabajar se realizó observando espectros simultáneamente como se muestra a continuación:



En la longitud de onda de 308.06 nm se aprecia que el paracetamol es el compuesto que absorbe en esa región, el espectro de ácido acetilsalicílico y cafeína presentan una tendencia muy similar por lo que se eligieron longitudes de onda donde las absorbancias fueran positivas para facilitar el cálculo. Dado que los espectros de UV con segunda derivada son muy pequeños, se usó el programa "UV WIN LAB" para ampliar los espectros, por ello que es posible que las lambdas varíen en valor de longitud de onda, debido a esto se elige el valor de longitud de onda más cercano al valor tomado para hacer las curvas patrón.

Para poder aplicar la ley de aditividades es necesario conocer los coeficientes de correlación de cada compuesto a las longitud de onda de máxima absorción de los otros dos compuestos, es decir:

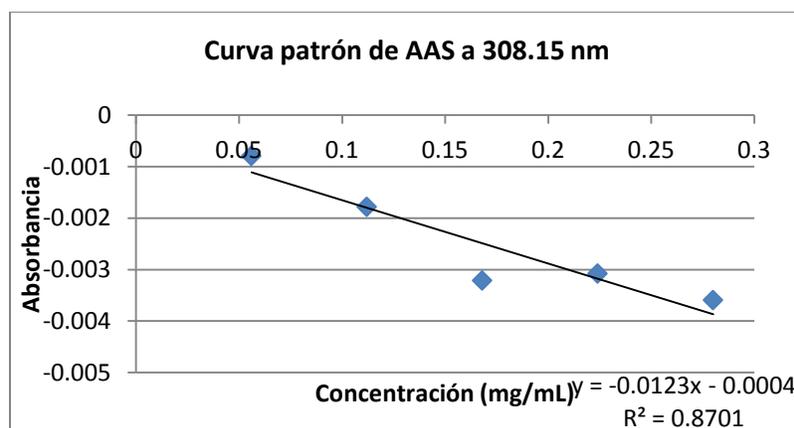
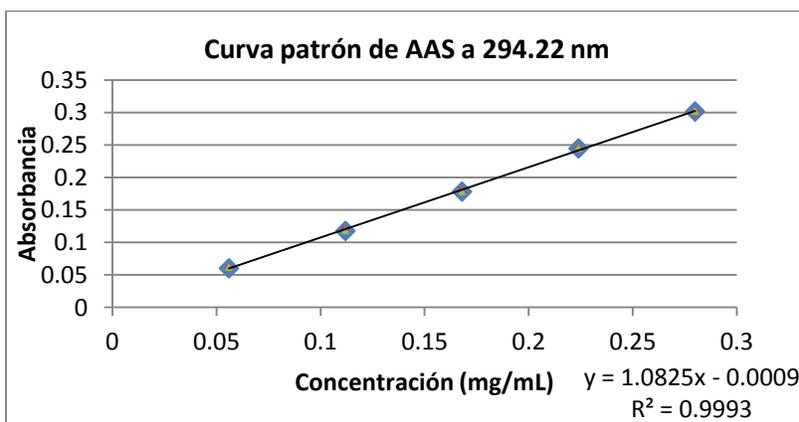
- Para AAS se deben conocer los coeficientes a 294.21 nm y a 308.15 nm.
- Para PAR se deben conocer los coeficientes a 292.13 nm y a 294.21 nm.
- Para CAF se deben conocer los coeficientes a 292.13 nm y a 308.15nm.

Para hacer estas determinaciones se utilizaron las mismas disoluciones que se prepararon en la curva patrón.

### 3.2.4. Obtención de los coeficientes de correlación para aplicar la ley de aditividades en espectros de UV con segunda derivada.

#### Coeficientes de correlación a 294.22 y 308.13 nm para ácido acetilsalicílico (AAS)

Alícuota (mL)	conc(mg/mL)	conc( $\mu$ g/mL)	$\lambda = 294.22$ nm			$\lambda = 308.13$ nm		
			Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3	Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3
2.0	0.056	56	0.06031	0.06089	0.06179	-0.00079	-0.001151	-0.001161
4.0	0.112	112	0.1178	0.1195	0.1184	-0.00178	-0.001911	-0.002179
6.0	0.168	168	0.1783	0.1797	0.1782	-0.00321	-0.003502	-0.003643
8.0	0.224	224	0.2449	0.2446	0.2449	-0.00307	-0.003413	-0.003863
Stock	0.28	280	0.3016	0.3000	0.3016	-0.00359	-0.003788	-0.004491
Pendiente			1.088	1.077	1.082	-0.012	-0.012	-0.014
Promedio			1.082333			-0.01267		

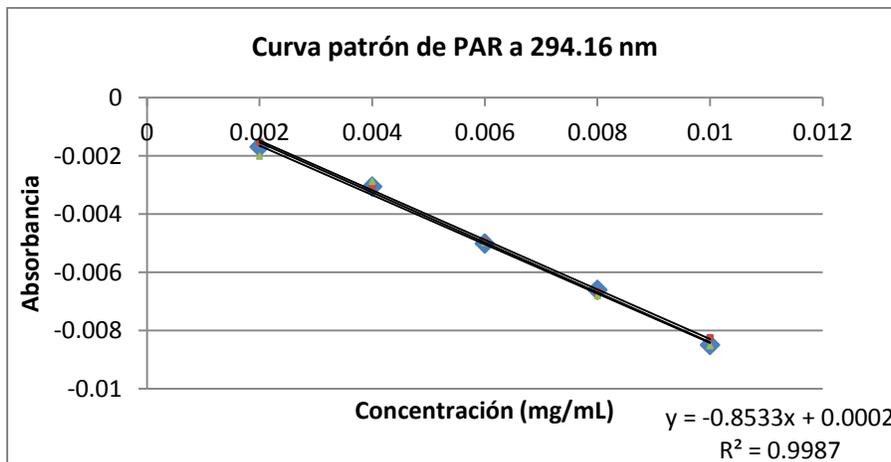
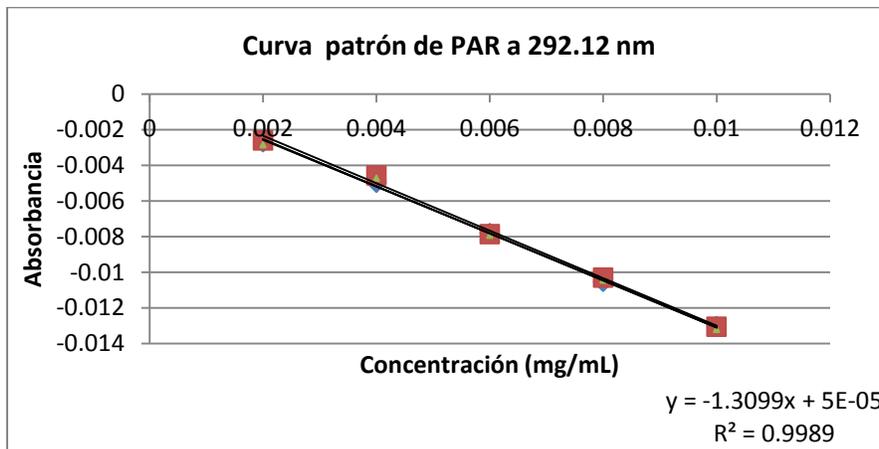


Resumen de los coeficientes de correlación de la curva patrón de AAS a 294.22 nm y 308.13 nm

Longitud de Onda	294.22 nm	308.13 nm
AAS	1.082	-0.0126

**Coeficientes de correlación a 292.12 y a 294.16 nm para Paracetamol (PAR)**

Alícuota (mL)	conc(mg/mL)	conc(µg/mL)	$\lambda = 292.12 \text{ nm}$			$\lambda = 294.16 \text{ nm}$		
			Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3	Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3
0.2	0.002	2	-0.0027	-0.0026	-0.0028	0.001686	0.001529	0.002007
0.4	0.004	4	-0.0049	-0.0045	-0.0047	0.003051	0.003034	0.002873
0.6	0.006	6	-0.0078	-0.0078	-0.0079	0.005009	0.004946	0.004975
0.8	0.008	8	-0.0105	-0.0102	-0.0104	0.0066	0.006671	0.006805
1	0.01	10	-0.0130	-0.0130	-0.0132	0.008493	0.008243	0.008521
Pendiente			-1.309	-1.332	-1.321	0.858	0.853	0.848
Promedio			-1.32067			0.853		

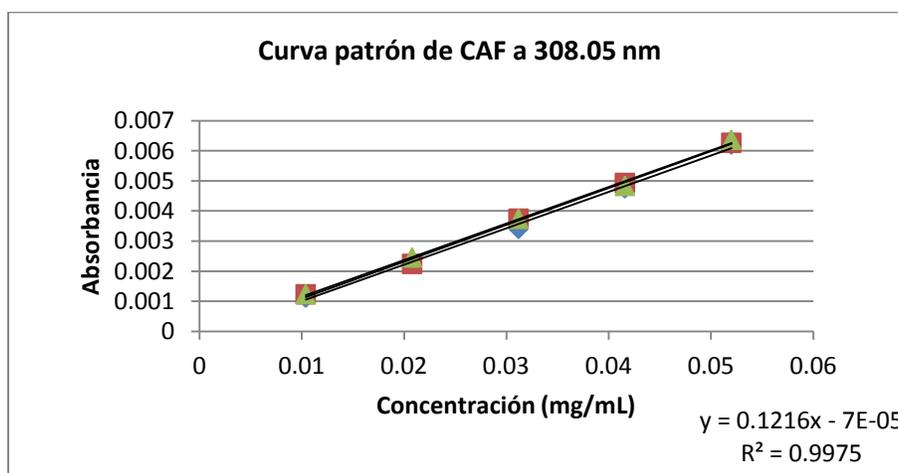
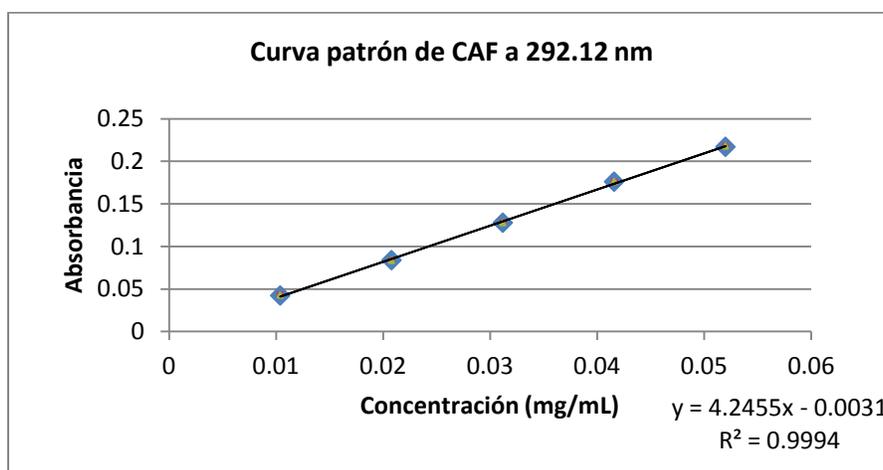


Resumen de los coeficientes de correlación de la curva patrón de PAR a 294.16 nm y a 292.12 nm

Longitud de Onda	294.16 nm	292.12 nm
PAR	-0.853	-1.320

**Coefficientes de correlación a 292.12 nm y a 308.13 nm para Cafeína (CAF)**

Alícuota (mL)	conc(mg/mL)	conc(µg/mL)	$\lambda = 292.12 \text{ nm}$			$\lambda = 308.13 \text{ nm}$		
			Corrida1	Corrida2	Corrida3	Corrida1	Corrida2	Corrida3
1.0	0.0104	10.4	0.042286	0.042824	0.042739	0.001127	0.001233	0.001237
2.0	0.0208	20.8	0.083837	0.083481	0.083424	0.002336	0.002244	0.002456
3.0	0.0312	31.2	0.12782	0.12789	0.12775	0.003413	0.003748	0.003739
4.0	0.0416	41.6	0.176	0.17565	0.17626	0.004760	0.004935	0.004835
5.0	0.052	52.0	0.21697	0.21739	0.21781	0.006215	0.006270	0.006371
Pendiente			4.245	4.243	4.259	0.121	0.121	0.122
Promedio			4.249			0.1213		



Resumen de los coeficientes de correlación de la curva patrón de CAF a 292.12 nm y a 308.05 nm

Longitud de Onda	292.12 nm	308.05 nm
CAF	4.249	0.1213

Tabla 5 Resumen de las longitudes de onda de los principios activos en estudio y sus correspondientes coeficientes de correlación en espectros de UV con segunda derivada.

Compuesto	$\lambda = 292.13 \text{ nm}$	$\lambda = 308.15 \text{ nm}$	$\lambda = 294.21 \text{ nm}$
AAS	1.258	-0.01267	1.0825
PAR	-1.3207	2.481	-0.8533
CAF	4.249	0.1213	4.642

### 3.2.5. Análisis espectroscópico al UV con segunda derivada de mezclas

Se estudiaron las siguientes mezclas:

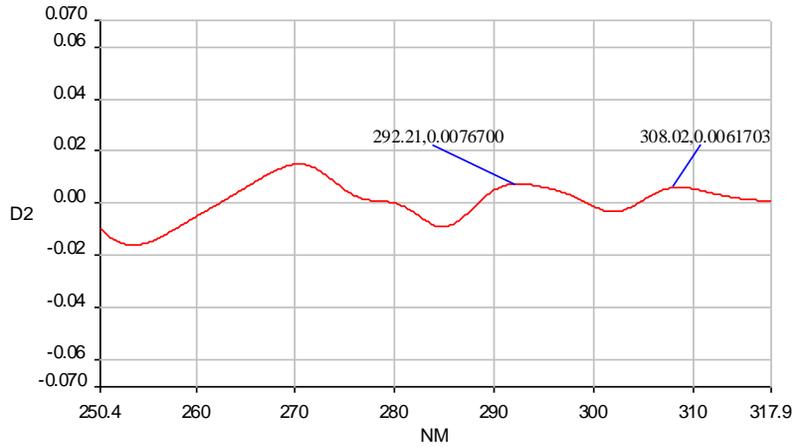
- Mezcla Ácido Acetilsalicílico-Paracetamol
- Mezcla Cafeína-Paracetamol
- Mezcla Ácido acetilsalicílico-Cafeína
- Mezcla Triple (Ácido Acetilsalicílico-Paracetamol-Cafeína).

Para el análisis de mezclas con espectros con segunda derivada se utilizaron las mismas disoluciones que en el análisis con espectros de UV, se realizaron para los tres casos barridos desde 200 nm a 400 nm, una vez obtenidos los espectros se ampliaron con ayuda del programa integrado en el equipo para elegir adecuadamente las longitudes de onda para realizar el análisis.

#### Mezcla Ácido acetilsalicílico-Paracetamol

Se pesaron 13.5 mg de AAS y 2.5 mg de PAR, se colocaron en un matraz de 50 mL y se llevó al aforo con etanol, de la disolución anterior se tomó alícuota de 1.0 mL con una pipeta volumétrica y se colocó en un matraz de 10 mL que se llevó al aforo con etanol, de la disolución anterior se obtuvo el espectro de UV con segunda derivada para ser analizados posteriormente por medio de la ley de aditividad.

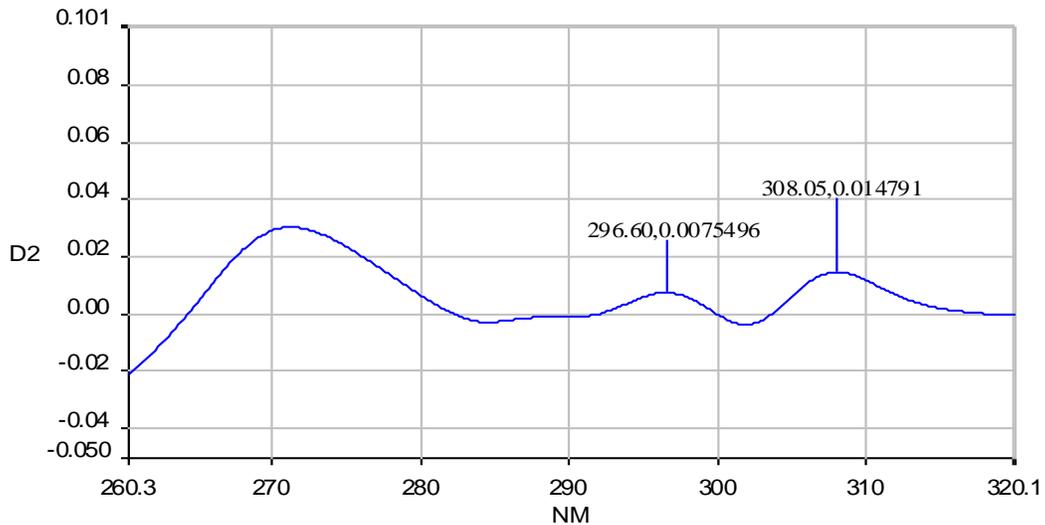
Espectro en segunda derivada de la mezcla AAS (0.027 mg/mL)-PAR (0.005 mg/mL)



**Mezcla Cafeína-Paracetamol**

Se pesaron 14 mg de PAR y 4.5 mg de CAF, se colocaron en un matraz de 50 mL y se llevó al aforo con etanol, de la disolución anterior se tomó una alícuota de 1.0 mL con una pipeta volumétrica y se colocó en un matraz de 25 mL que se llevó al aforo con etanol, de la disolución anterior se obtuvo el espectro de UV con segunda derivada para ser analizado posteriormente por medio de la ley de aditividad.

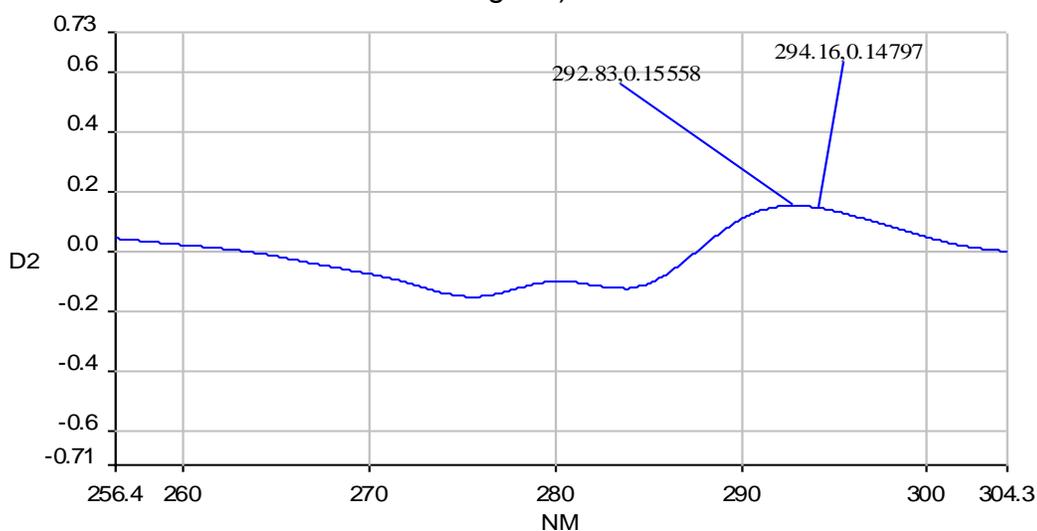
Espectro en segunda derivada de la mezcla PAR (0.0112mg/mL)-CAF (0.0036mg/mL)



### Mezcla Ácido acetilsalicílico-Cafeína

Se pesaron 12.5 mg de AAS y 3.0 mg de CAF, se colocaron en un matraz de 50 mL y se llevó al aforo con etanol, de la disolución anterior se tomó una alícuota de 6.0 mL con una pipeta volumétrica, y se colocó en un matraz de 25 mL que se llevó al aforo con etanol, de la disolución anterior se obtuvo el espectro de UV con segunda derivada para ser analizado posteriormente por medio de la ley de aditividad.

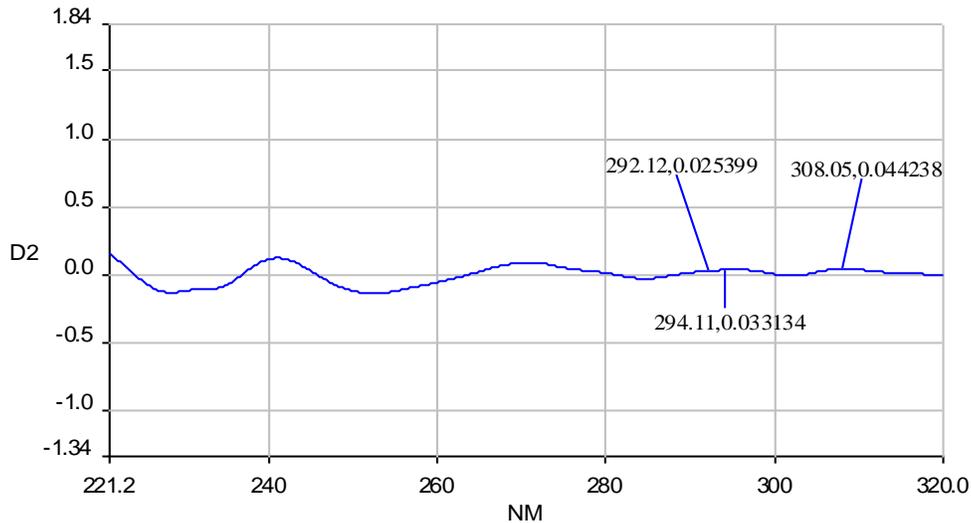
Espectro en segunda derivada de la mezcla AAS(0.06 mg/mL)-CAF(0.0144 mg/mL)



### Mezcla Ácido acetilsalicílico-Paracetamol-Cafeína

Se pesaron 11.0 mg de AAS, 10.0 mg de PAR y 2.5 mg de CAF, los fármacos fueron colocados en un matraz de 10 mL y se llevó al aforo con etanol, se tomó una alícuota de 0.2 mL con una micropipeta, y se colocó en un matraz de 10 mL que se llevó al aforo con etanol, de la disolución anterior se obtuvo el espectro UV con segunda derivada que se muestra a continuación:

Espectro en segunda derivada mezcla AAS(0.033mg/mL)-PAR(0.03mg/mL)-CAF(0.0075mg/mL)



**Cálculos:**

Para obtener las cantidades de fármaco presentes en cada mezcla de dos compuestos, se hizo un sistema de dos ecuaciones con dos incógnitas, se debe armar una ecuación para cada longitud de onda, para ejemplificar los cálculos realizados en cada mezcla, se elige la mezcla PAR-CAF:

$$\lambda_{\max} \text{ 296.60 nm } 0.0075496 = -0.853 C_{\text{PAR}} + 4.64 C_{\text{CAF}} \dots\dots\dots(1)$$

$$\lambda_{\max} \text{ 308.05 nm } 0.014791 = 2.481 C_{\text{PAR}} + 0.1213 C_{\text{CAF}} \dots\dots\dots(2)$$

Se puede despejar cualquiera de las dos incógnitas de cualquiera de las dos ecuaciones, para este caso, de la ecuación (1) despejaremos  $C_{\text{PAR}}$  y queda así:

$$C_{\text{PAR}} = \frac{0.0075496 - 4.64 C_{\text{CAF}}}{-0.853} \quad \Rightarrow \quad C_{\text{PAR}} = -0.0088506 + 5.4396 C_{\text{CAF}} \dots\dots\dots(3)$$

La ecuación (3) se sustituye en la ecuación (2) y queda así:

$$0.014791 = 2.481(-0.0088506 + 5.4396 C_{\text{CAF}}) + 0.1213 C_{\text{CAF}}$$

$$0.014791 = 0.02195 + 13.49565 C_{\text{CAF}} + 0.1213 C_{\text{CAF}} \dots\dots\dots(4)$$

De la ecuación cuatro se agrupan términos y se despeja la primera incógnita ( $C_{\text{CAF}}$ ) para obtener la concentración del paracetamol.

$$13.6169 C_{\text{CAF}} = 0.036741 \quad \text{despejando } C_{\text{CAF}} \quad C_{\text{CAF}} = \frac{0.036741}{13.6169} = 0.00269 \text{ mg/mL}$$

La concentración obtenida se sustituye en la ecuación (3) y se obtiene:

$$C_{PAR} = -0.0088506 + (5.4396 \cdot 0.00269) = 0.005782 \text{ mg/mL}$$

Dadas las concentraciones en la mezcla, se pueden obtener las cantidades que verdaderamente se pesaron al inicio, multiplicando por los aforos y alícuotas realizados para obtener la mezcla de la cual se obtuvo el espectro:

$$C_{CAF} = \left( \frac{0.00269 \text{ mg CAF}}{\text{mL}} \right) \left( \frac{25 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \right) 50 \text{ mL} = 3.36 \text{ mg CAF}$$

$$C_{PAR} = \left( \frac{0.005782 \text{ mg PAR}}{\text{mL}} \right) \left( \frac{25 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \right) 50 \text{ mL} = 7.22 \text{ mg PAR}$$

Tabla 6 Cantidades pesadas y cuantificadas con espectros de segunda derivada

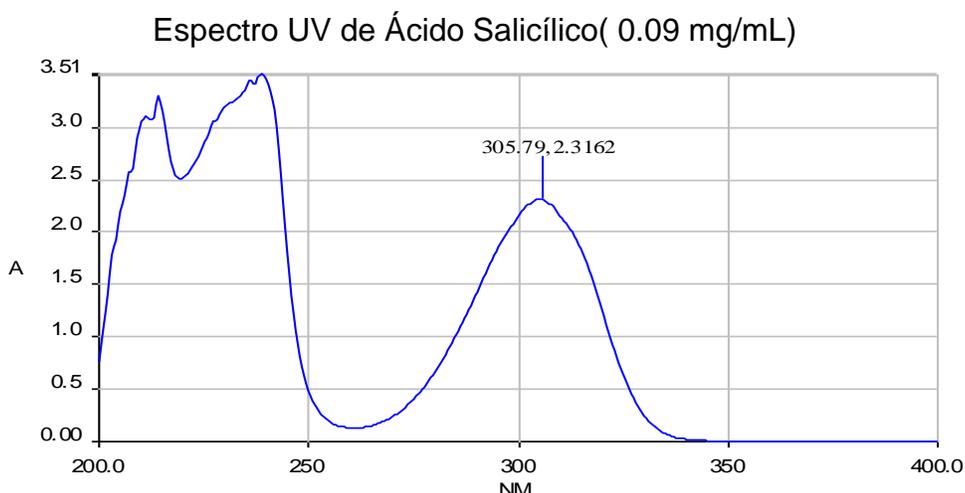
Mezcla	Cantidad Pesada AAS	Cantidad cuantificada AAS	Cantidad pesada PAR	Cantidad cuantificada PAR	Cantidad pesada CAF	Cantidad Cuantificada CAF
AAS-PAR	13.5 mg	4.38 mg	2.5 mg	1.27 mg	-----	-----
PAR-CAF	-----	-----	14 mg	7.22 mg	4.5 mg	3.36 mg
AAS-CAF	12.5 mg	15.7 mg	-----	-----	3 mg	2.97 mg
AAS-PAR-CAF	11 mg	8.72 mg	10 mg	8.80 mg	2.5 mg	3.2 mg

### 3.3. Estudio espectrofotométrico al UV de mezclas de ácido salicílico (ASA), PAR y CAF

Al analizar los resultados para el análisis de la mezcla CAF-AAS la discrepancia en valores obtenidos puede deberse a que al AAS se hidroliza fácilmente por lo que se decidió añadir a esta trabajo, como una posibilidad de cuantificación, el estudio espectrofotométrico del ácido salicílico.

#### 3.3.1. Obtención de la lambda máxima de absorción del ácido salicílico en espectro de UV

Se registró el espectro al UV del ASA (reactivo analítico) haciendo barridos desde 200 nm hasta 400 nm, para obtenerse la respectiva lambda máxima de absorción y absorbancia de espectros de UV, eligiendo de éstos las longitudes de onda adecuadas para la cuantificación.



**Tabla 7 Lambda de absorción máxima para el espectro de UV**

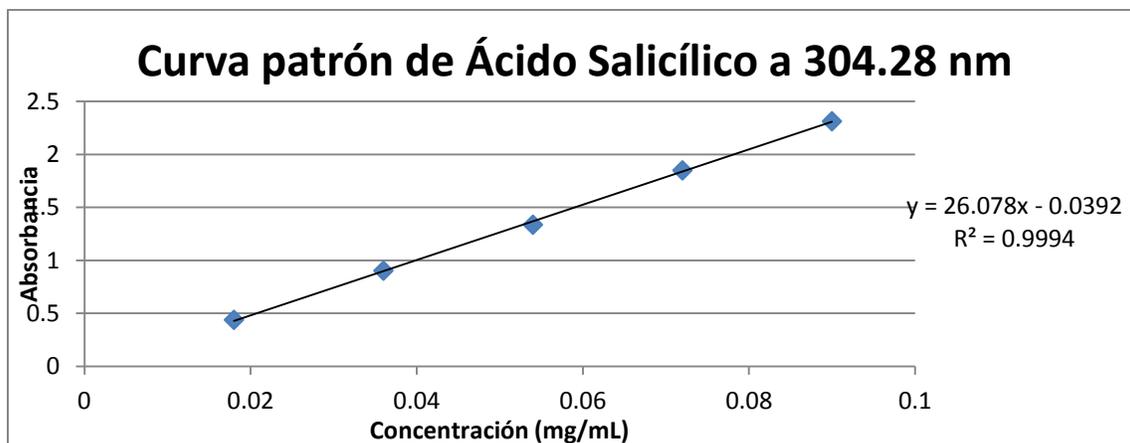
Compuesto	$\lambda_{\max}$ (nm)
Ácido Salicílico	304.28

### 3.3.2. Obtención del coeficiente de absortividad del ácido salicílico en espectros de UV

Se pesaron 4.5 mg de ASA (reactivo analítico) y se colocaron en un matraz de 25 mL que se llevó al aforo con alcohol etílico, de la disolución anterior se tomaron alícuota de 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 y 5.0 mL con pipetas volumétricas, que se colocaron en un matraz de 10 mL y se llevaron al aforo con alcohol etílico, de cada dilución realizada se obtuvo el espectro de absorbancia.

**Curva patrón de ácido salicílico a 304.28nm**

Alícuota	conc(mg/mL)	conc( $\mu$ g/mL)	Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3	Promedio
1.0	0.018	18	0.43987	0.44103	0.43993	
2.0	0.036	36	0.90378	0.90779	0.90084	
3.0	0.054	54	1.3374	1.3352	1.3411	
4.0	0.072	72	1.8504	1.8431	1.841	
5.0	0.09	90	2.3136	2.3023	2.3404	
pendiente			26.07	25.87	26.33	26.09



### 3.3.3. Aplicación de la ley de aditividad en mezclas de ácido salicílico, paracetamol y cafeína en espectros de UV

Para poder aplicar la ley de aditividad es necesario conocer los coeficientes de absorptividad de cada compuesto a las longitudes de onda máximas de los otros dos compuestos, es decir:

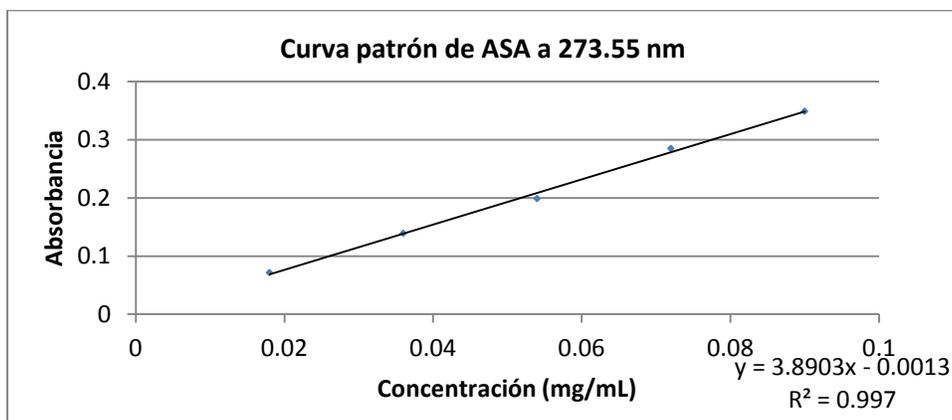
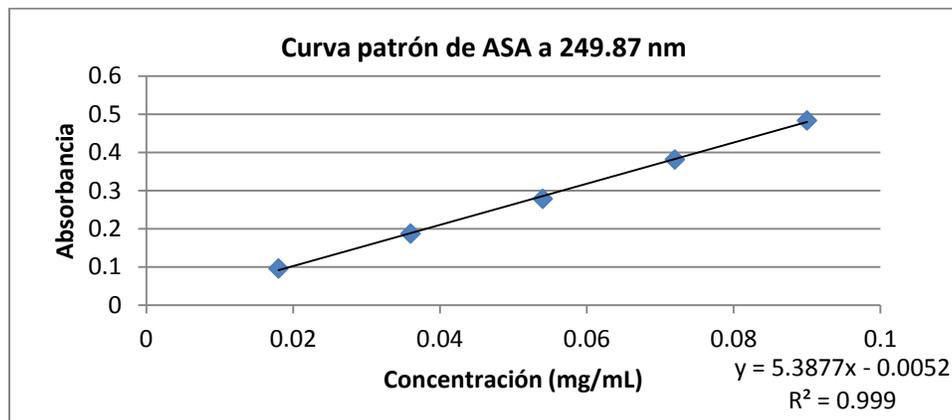
- Para ASA se debe conocer los coeficientes a 249.37nm y 273.55nm.
- Para PAR se debe conocer los coeficientes a 304.28nm y 273.55nm.
- Para CAF se debe conocer los coeficientes a 304.28nm y 249.37nm.

Para hacer estas determinaciones se utilizaron las mismas disoluciones que se prepararon para la curva patrón.

### 3.3.4. Obtención de los coeficientes de absorptividad para aplicar la ley de aditividad en espectros de UV.

#### Coefficientes de absorptividad a 249.87 nm y 273.55 nm para ASA

Alícuota (mL)	conc(mg/mL)	conc(µg/mL)	λ= 249.87 nm			λ= 273.55 nm		
			Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3	Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3
1.0	0.018	18	0.09198	0.097361	0.096255	0.071739	0.080022	0.081816
2.0	0.036	36	0.18522	0.20011	0.18773	0.13912	0.15665	0.1467
3.0	0.054	54	0.27848	0.27919	0.27881	0.19885	0.20219	0.20536
4.0	0.072	72	0.38581	0.38352	0.38174	0.28503	0.28647	0.28974
5.0	0.09	90	0.49072	0.48781	0.48414	0.34891	0.35467	0.35791
Pendiente			5.544	5.357	5.387	3.89	3.772	3.862
Promedio			5.429			3.841		



Resumen de los coeficientes de absortividad de la curva patrón de ASA a 249.87 nm y 273.55 nm

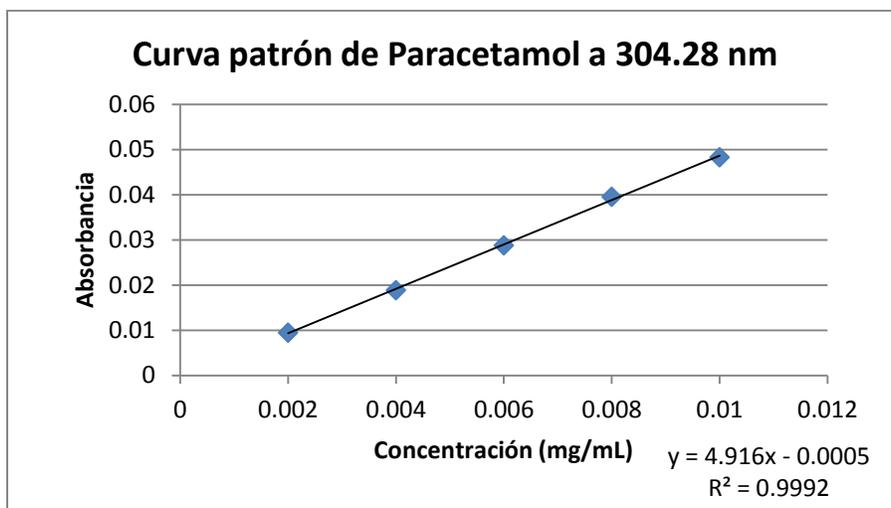
Longitud de Onda	249.87 nm	273.55 nm
ASA	5.3877	3.8903

### Obtención del coeficiente de absortividad de PAR

Se pesaron 2.4 mg de PAR y se colocaron en un matraz aforado de 25 mL, de la disolución anterior se tomaron alícuotas de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 mL, se colocaron en matraces de 10 mL, de todas las disoluciones preparadas se obtuvo el espectro de absorbancia y de segunda derivada por triplicado, el coeficiente de absortividad se obtuvo promediando las pendientes de las tres curvas.

Curva patrón de paracetamol a 304.28nm

Alícuota	conc(mg/mL)	conc( $\mu$ g/mL)	Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3	Promedio
1.0	0.002	2	0.009461	0.019267	0.010446	
2.0	0.004	4	0.018857	0.027387	0.021064	
3.0	0.006	6	0.028788	0.028681	0.029097	
4.0	0.008	8	0.03953	0.040903	0.040272	
5.0	0.01	10	0.048284	0.04873	0.053104	
pendiente			4.916	3.622	5.226	5.071



A  $\lambda = 304.28$  la cafeína prácticamente no absorbe, por lo tanto su coeficiente de correlación es cero, y con éste se realizaron los cálculos para las mezclas.

Tabla 8 Resumen de las longitudes de onda de los principios activos en estudio y los coeficientes de absorptividad para cada una.

Compuesto	$\lambda = 304.28$ nm	$\lambda = 273.55$ nm	$\lambda = 249.87$ nm
ASA	26.09	3.841	5.429
PAR	5.071	23.43	95.372
CAF	0.00	40.141	12.543

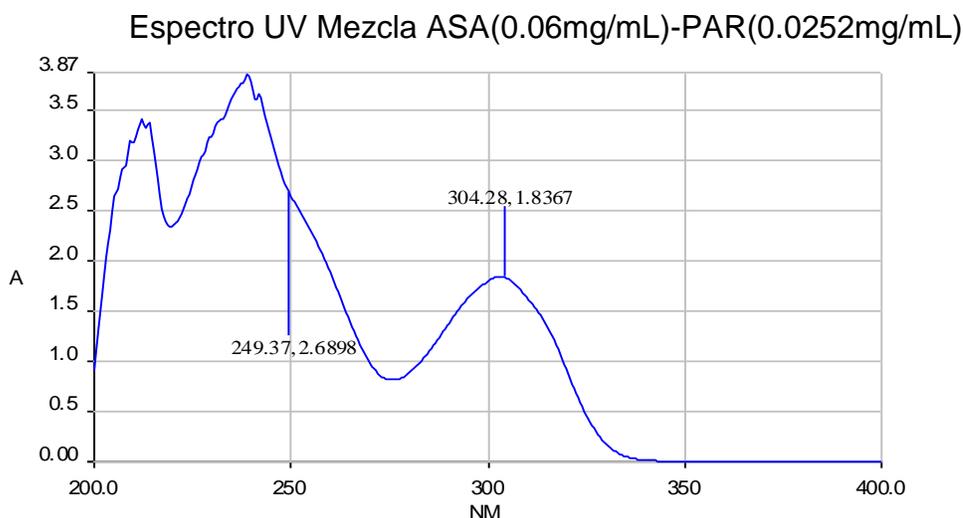
### 3.3.5. Análisis espectroscópico al UV de mezclas

#### Mezclas estudiadas:

- Mezcla Ácido Salicílico-Paracetamol.
- Mezcla Ácido Salicílico-Cafeína.
- Mezcla Triple (Ácido Salicílico-Paracetamol-Cafeína).

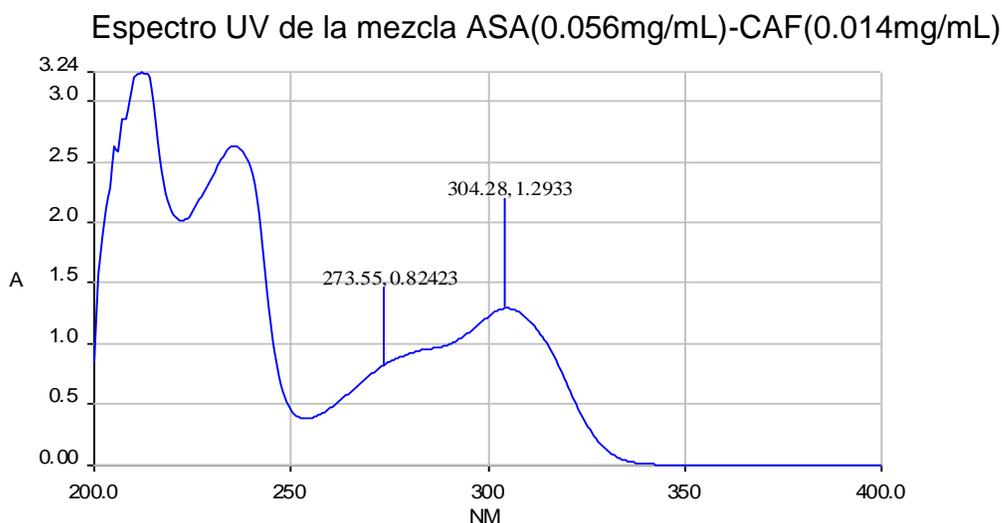
### Mezcla Ácido Salicílico-Paracetamol

Se pesaron 10.5 mg de PAR y 25.0 mg de ASA y se colocaron en un matraz de 50 mL que se llevó al aforo con etanol, de la disolución anterior se tomó una alícuota de 3.0 mL con una pipeta volumétrica que se colocó en un matraz de 25 mL y se llevó al aforo con etanol, de la disolución anterior se obtuvo el espectro de UV.



### Mezcla Ácido salicílico-Cafeína

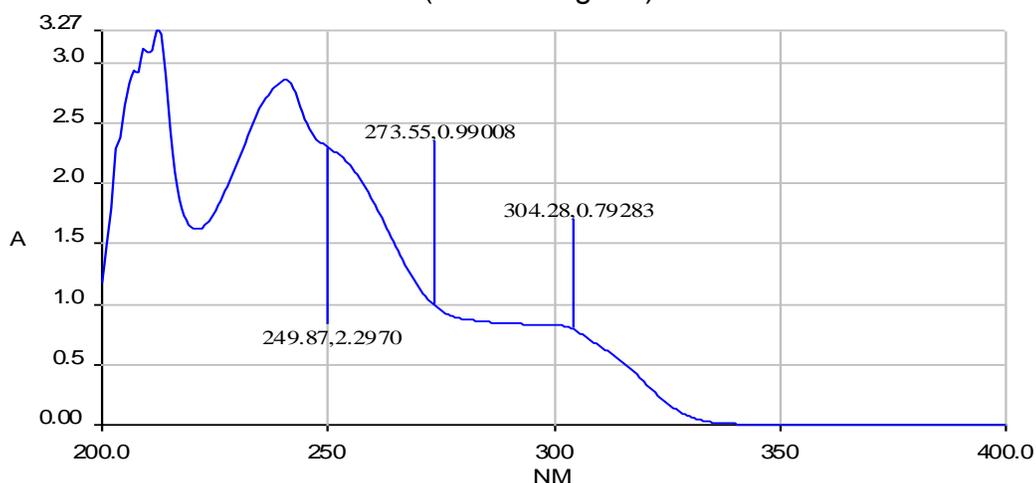
Se pesaron 14.0 mg de ASA y 3.5 mg de CAF, se colocaron en un matraz de 50 mL y se llevó al aforo con etanol, de ésta disolución se tomó una alícuota de 5.0 mL con una pipeta volumétrica, y se puso en un matraz de 25 mL la cual fue llevada al aforo con etanol, de ésta disolución se obtuvo el espectro UV.



## Mezcla Ácido Salicílico-Paracetamol-cafeína

Se pesaron 11.0 mg de ASA, 10.0 mg de PAR y 3.5 mg de CAF, los fármacos se colocaron en un matraz de 10 mL y se llevó al aforo con etanol, de ésta disolución se tomaron 0.15 mL y se colocaron en otro matraz de 10 mL que se llevó al aforo con etanol, de la disolución se obtuvo el espectro UV haciendo barridos de 200 a 400 nm.

Espectro UV de la mezcla ASA(0.0165mg/mL)-PAR( 0.015mg/mL)-CAF(0.00525mg/mL)



Los resultados de la cuantificación se obtienen igual que en las mezclas analizadas anteriormente armando un sistema de ecuaciones de dos o tres incógnitas (según sea el caso) y al resolverlas se obtienen las concentraciones, las cuales si se multiplican por sus aforo y se dividen entre los valores de las alícuotas se obtiene el valor de la cantidad cuantificada.

Tabla 9 Comparación entre cantidades pesadas y cantidades cuantificadas de la mezclas en estudio con espectros de UV

Cuantificación con espectros de absorbancia						
Mezcla	Cantidad pesada ASA	Cantidad cuantificada a ASA	Cantidad pesada PAR	Cantidad cuantificada a PAR	Cantidad pesada CAF	Cantidad cuantificada a CAF
ASA-PAR	25.0 mg	26.93 mg	10.5 mg	10.19 mg	*	*
ASA-CAF	14.0 mg	12.39 mg	*	*	3.5 mg	3.9 mg
ASA-PAR-CAF	11.0 mg	17.59 mg	10 mg	13.69 mg	3.5 mg	6.76 mg

### 3.4. Estudio espectrofotométrico al UV con segunda derivada de mezclas de ASA, PAR y CAF

#### 3.4.1. Obtención de la lambda máxima de absorción del ácido salicílico en espectro de UV con segunda derivada

Se registró el espectro al UV de ASA haciendo barridos desde 200 nm hasta 400 nm, para obtenerse la respectiva longitud de onda de máxima absorción y su absorbancia de los espectros de UV con segunda derivada, eligiendo de éstos las longitudes de onda adecuadas de acuerdo al objetivo de éste trabajo.

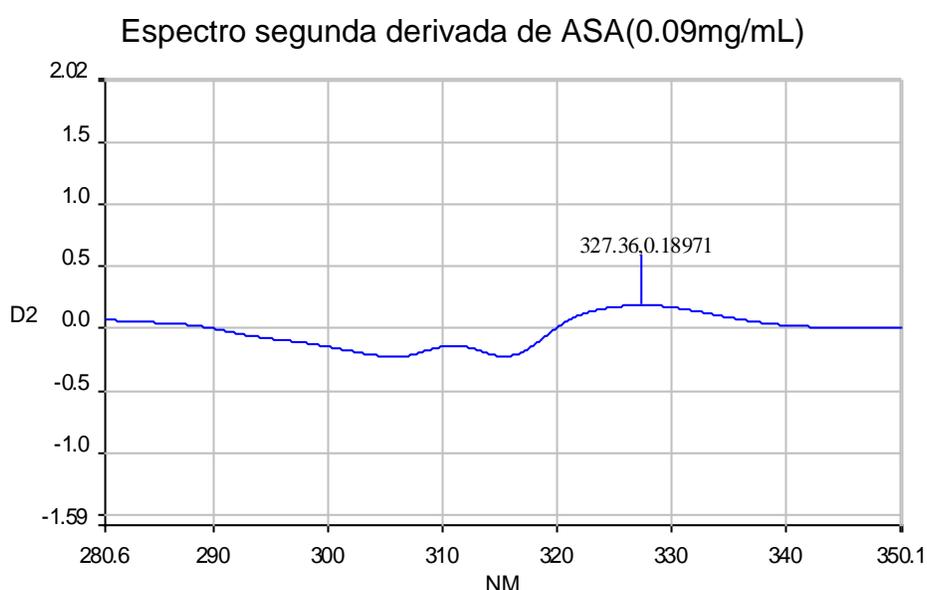


Tabla 10 Longitud de onda de máxima absorción para el espectro de UV con segunda derivada

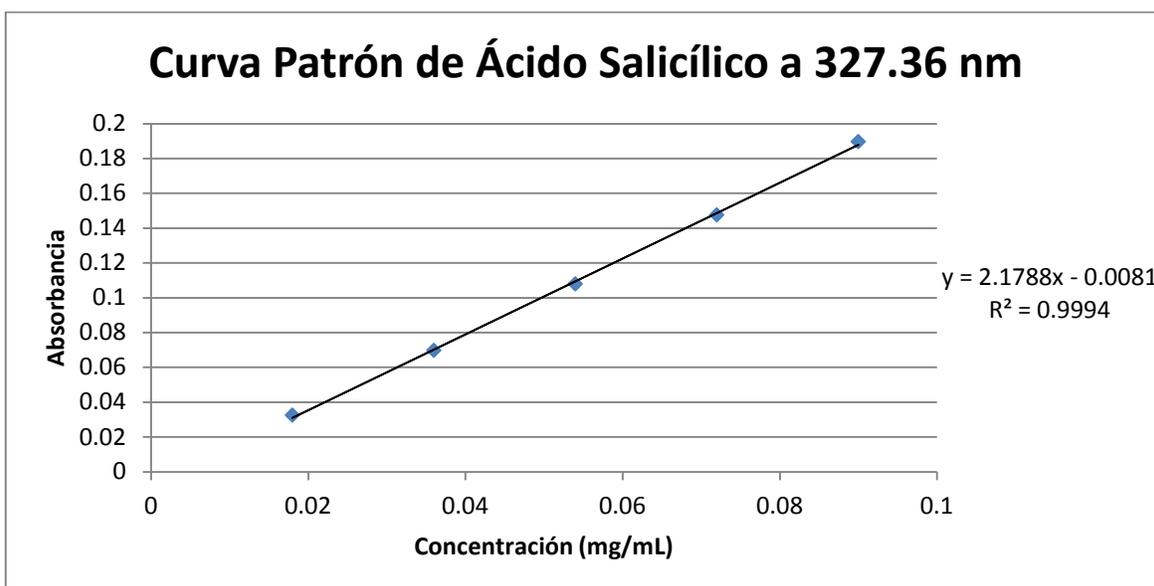
Compuesto	$\lambda_{\max}$ (nm)
Ácido Salicílico	327.36

#### 3.4.2. Obtención del coeficiente de correlación del ácido salicílico en espectros de UV con segunda derivada

Se pesaron 4.5 mg de ASA y se colocaron en un matraz de 25 mL que se llevó al aforo con alcohol etílico, de la disolución anterior se tomaron alícuota de 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 y 5.0 mL con pipeta volumétrica y se colocaron en un matraz de 10 mL y se llevaron al aforo con alcohol etílico, de cada dilución realizada se obtuvo el espectro de segunda derivada.

Curva patrón de ácido salicílico a 327.36nm

Alícuota	conc(mg/mL)	conc(µg/mL)	Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3	Promedio
1.0	0.018	18	0.032536	0.032343	0.048168	
2.0	0.036	36	0.069764	0.069734	0.068791	
3.0	0.054	54	0.10795	0.1077	0.1068	
4.0	0.072	72	0.1476	0.14666	0.14604	
5.0	0.09	90	0.18971	0.18904	0.18828	
pendiente			2.178	2.168	1.986	2.173



Según se observa en los espectros de segunda derivada en lambda de 327.77 nm el ASA es el único compuesto que presenta absorción, por ello, para las mezclas se cuantificó el ASA como si estuviese solo en esa longitud de onda de máxima absorción, así se obtiene la concentración de ASA, y para cuantificar los otros compuestos en la mezcla triple (caféina y paracetamol), se montó un sistema de una ecuación con tres incógnitas, una de las cuales corresponde a la concentración de ASA, cuando se sustituye este valor en las ecuaciones, el sistema se convierte en uno de dos ecuaciones con dos incógnitas.

### 3.4.3. Aplicación de la ley de aditividades en mezclas de ácido salicílico, paracetamol y cafeína en espectros de UV con segunda derivada

Para poder aplicar la ley de aditividades es necesario conocer los coeficientes de correlación de cada compuesto a las lambdas máximas de los otros dos compuestos, es decir:

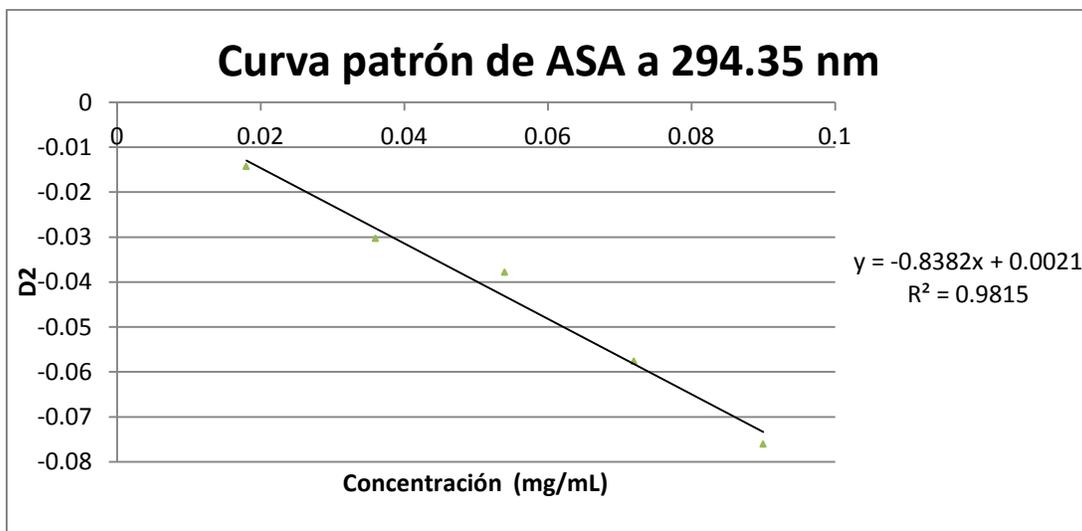
- Para ASA se deben conocer los coeficientes a 294.16nm y a 271.81nm.
- Para PAR se deben conocer los coeficientes a 294.16nm y a 327.36nm.
- Para CAF se deben conocer los coeficientes a 271.81nm y a 327.36nm.

### 3.4.4. Obtención de los coeficientes de correlación para aplicar la ley de aditividades en espectros de UV con segunda derivada.

Al observar los espectros de UV con segunda derivada de los compuestos se observa que a 327.36 nm ASA es prácticamente el único compuesto que absorbe en esa zona por lo que se puede cuantificar como si estuviera sólo, por esta razón, no se requieren los coeficientes de los otros dos compuestos (PAR y CAF) porque son muy próximos a cero. Sin embargo si se necesitan los coeficientes de ASA a 294.16nm y 308.07nm, ya que en las ecuaciones correspondientes van multiplicados por la concentración de ASA, mientras que los restantes (PAR a 294.16nm y CAF a 308.07nm) ya han sido obtenidos con anterioridad.

Curva patrón de ácido salicílico a 294.35nm

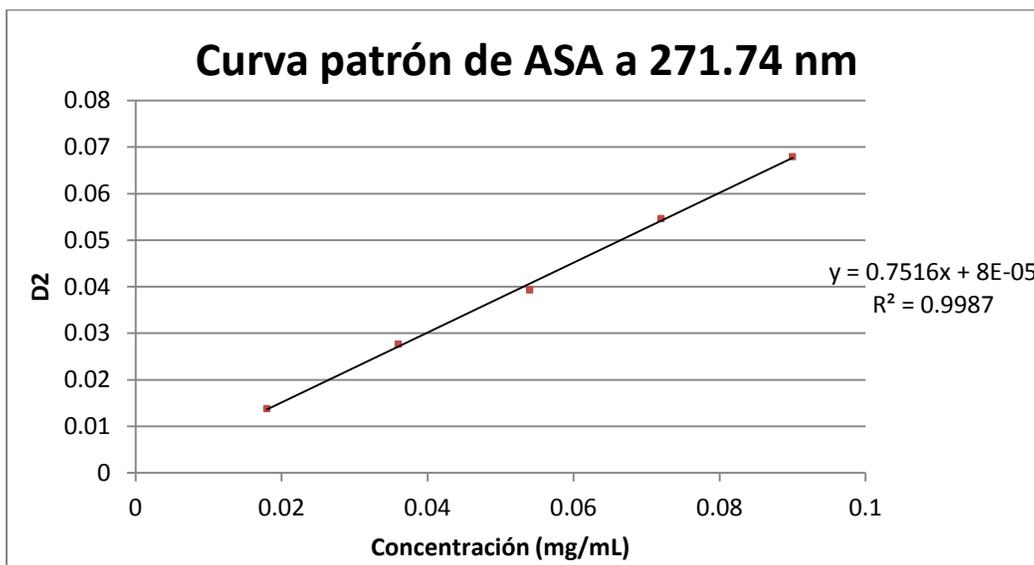
Curva de ácido salicílico cálculos para lambda a 294.35 nm					Promedio
conc(mg/mL)	conc(µg/mL)	Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3	
0.018	18	-0.017396	-0.017569	-0.014229	
0.036	36	-0.029557	-0.03011	-0.030244	
0.054	54	-0.037249	-0.037135	-0.037768	
0.072	72	-0.056474	-0.056696	-0.057549	
0.09	90	-0.072814	-0.073669	-0.07601	
pendiente		-0.7653	-0.771	-0.8381	-0.791



Curva patrón de ácido salicílico a 271.74nm

Curva de ácido salicílico cálculos para lambda a 271.74 nm

conc(mg/mL)	conc(μg/mL)	Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3	Promedio
0.018	18	0.014124	0.013787	0.017004	
0.036	36	0.027407	0.027652	0.027949	
0.054	54	0.039299	0.039297	0.039421	
0.072	72	0.054606	0.054639	0.05487	
0.09	90	0.067739	0.067935	0.067138	
pendiente		0.7468	0.7516	0.7066	0.735



Curva patrón de cafeína a 273.88 nm					
conc(mg/mL)	conc( $\mu$ g/mL)	Abs corrida1	Abs corrida2	Abs corrida3	Promedio
0.0104	10.4	-0.050433	-0.051122	-0.051012	
0.0208	20.8	-0.10081	-0.1004	-0.10027	
0.0312	31.2	-0.15258	-0.15299	-0.15348	
0.0416	41.6	-0.20191	-0.20392	-0.20576	
0.052	52.0	-0.24228	-0.24049	-0.2493	
pendiente		-4.661	-4.637	-4.827	-4.70833

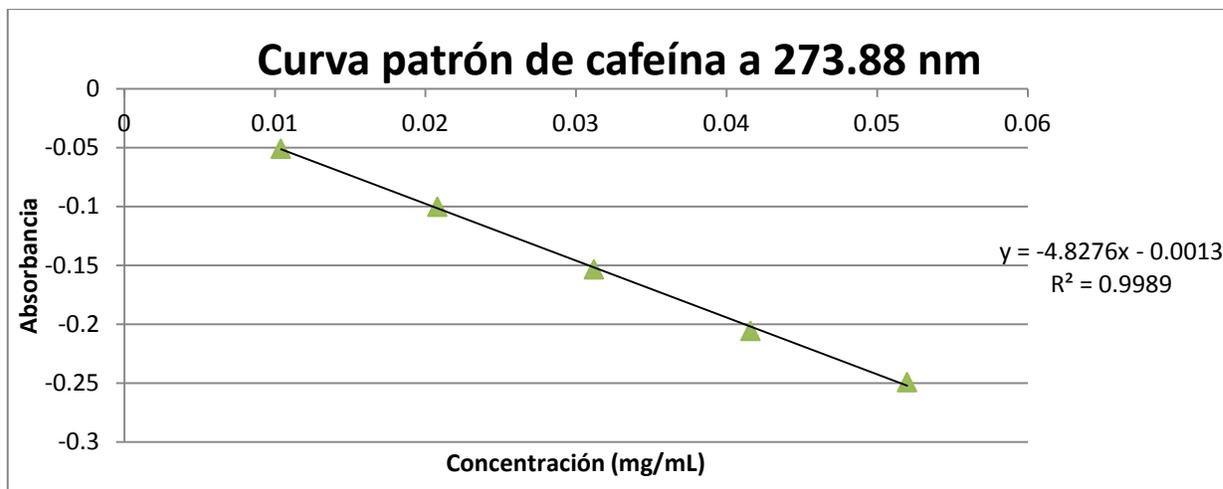


Tabla 11 Resumen de las longitudes de onda de los principios activos en estudio y los coeficientes de correlación para cada una en espectros con segunda derivada.

Compuesto	$\lambda = 327.36$ nm	$\lambda = 271.74$ nm	$\lambda = 294.21$ nm
ASA	2.173	0.735	-0.791
PAR	0.00	6.6347	-0.8533
CAF	0.00	-4.7083	4.249

### 3.4.5. Análisis espectroscópico al UV con segunda derivada de mezclas

#### Mezclas estudiadas:

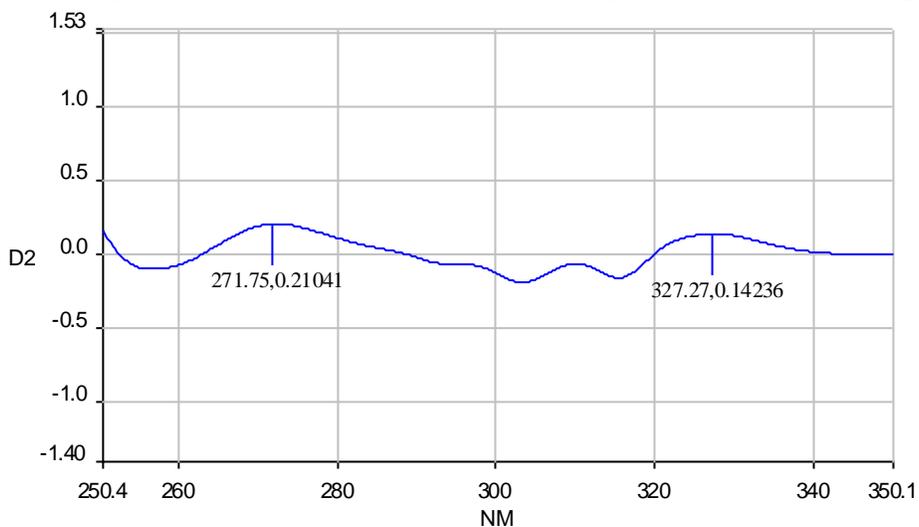
- Mezcla Ácido Salicílico-Paracetamol.
- Mezcla Ácido Salicílico-Cafeína.
- Mezcla Triple (Ácido Salicílico-Paracetamol-Cafeína).

#### **Mezcla Ácido Salicílico-Paracetamol**

Se pesaron 10.5 mg de PAR y 25 mg de ASA y se colocaron en un matraz de 50 mL que se llevó al aforo con etanol, de la disolución anterior se tomó una alícuota de 3.0 mL con una pipeta volumétrica que se colocó en un matraz de 25 mL y se

llevó al aforo con etanol, de la disolución anterior se obtuvo el espectro de UV con segunda derivada.

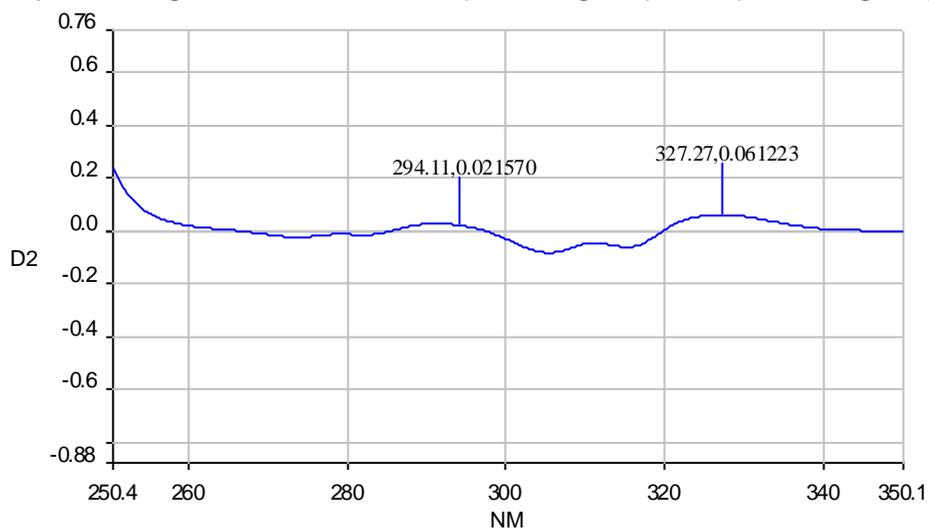
Espectro segunda derivada Mezcla ASA(0.06mg/mL)-PAR(0.0252mg/mL)



### Mezcla Ácido salicílico-Cafeína

Se pesaron 14 mg de ASA y 3.5 mg de CAF, se colocaron en un matraz de 50 mL y se llevó al aforo con etanol, de ésta disolución se tomó una alícuota de 5 mL y se puso en un matraz de 25 mL la cual fue llevada al aforo con etanol, de ésta disolución se obtuvo el espectro UV con segunda derivada.

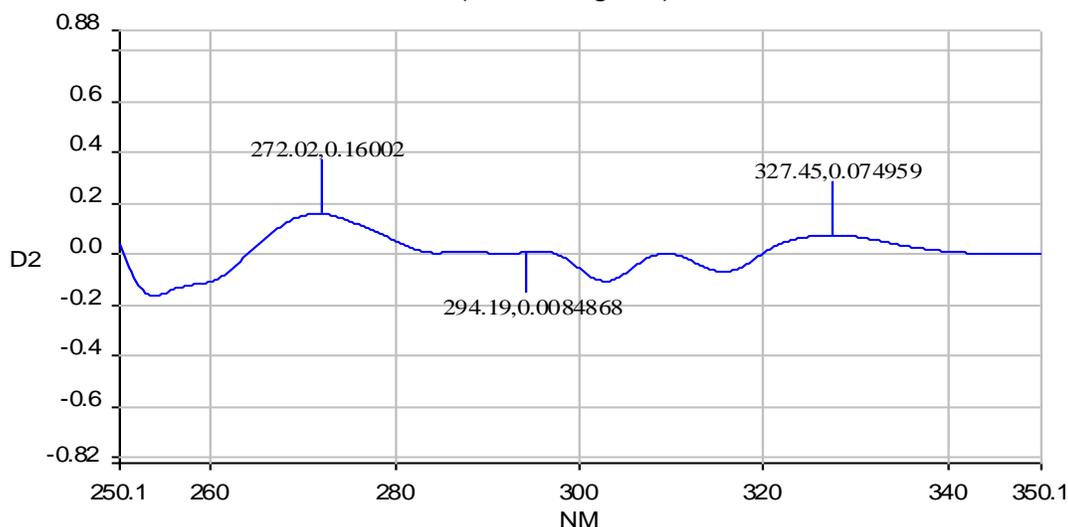
Espectro segunda derivada ASA(0.056mg/mL)-CAF(0.014 mg/mL)



## Mezcla Ácido Salicílico-Paracetamol-cafeína

Se pesaron 11.0 mg de ASA, 10.0 mg de PAR y 3.5 mg de CAF, los fármacos se colocaron en un matraz de 10 mL y se llevó al aforo con etanol, de ésta disolución se tomaron 0.3 mL con una micropipeta y se colocaron en otro matraz de 10 mL que se llevó al aforo con etanol, de la disolución se obtuvo el espectro UV con segunda derivada haciendo barridos de 200 a 400 nm.

Espectro en segunda derivada de la mezcla ASA(0.033mg/mL)-PAR( 0.03mg/mL)-CAF(0.0105mg/mL)



En el caso de mezcla de tres componentes se propone el siguiente método de obtener la cuantificación

En 327.45 nm el ASA es el único compuesto que absorbe en esa zona, por ello, se decidió cuantificarlo como si estuviese solo:

$$A = \epsilon Lc \quad \text{despejando } c \text{ se obtiene: } c = \frac{A}{\epsilon L} \quad c = \frac{0.074959}{2.173 \times 1} = 0.034495 \text{ mg/mL}$$

$$C_{ASA} = \left( \frac{0.034495 \text{ mg ASA}}{\text{mL}} \right) \left( \frac{10 \text{ mL}}{0.3 \text{ mL}} \right) 10 \text{ mL} = 11.49 \text{ mg ASA}$$

Teniendo la concentración de ASA se requiere el coeficiente de correlación de éste a las longitudes de onda de máxima absorción de paracetamol y cafeína, con ello se puede obtener la contribución de absorbancia de ese compuesto, así de

tener un sistema de dos ecuaciones con tres incógnitas se reduce a un sistema de dos ecuaciones con dos incógnitas como se muestra a continuación:

$$0.16002 = 6.6347C_{PAR} - 4.7083C_{CAF} + 0.735C_{ASA}$$

$$0.0084868 = -0.8533C_{PAR} + 4.249C_{CAF} - 0.791C_{ASA}$$

Al sustituir la concentración de ASA en las ecuaciones:

$$0.16002 = 6.6347C_{PAR} - 4.7083C_{CAF} + 0.735(0.034495) = 6.6347C_{PAR} - 4.7083C_{CAF} + 0.025354$$

$$0.0084868 = -0.8533C_{PAR} + 4.249C_{CAF} - 0.791(0.034495) = -0.8533C_{PAR} + 4.249C_{CAF} - 0.027285$$

Al despejar de la ecuación los términos independientes queda:

$$0.18537 = 6.6347C_{PAR} - 4.7083C_{CAF}$$

$$0.035772 = -0.8533C_{PAR} + 4.249C_{CAF}$$

Este sistema de ecuaciones se resuelve como se ha visto anteriormente para obtener las cantidades cuantificadas, de las cuales se obtiene:

$$C_{PAR} = 0.01636 \text{ mg/mL} = \left( \frac{0.01636 \text{ mg PAR}}{\text{mL}} \right) \left( \frac{10 \text{ mL}}{0.3 \text{ mL}} \right) 10 \text{ mL} = 13.18 \text{ mg PAR}$$

$$C_{CAF} = 0.039548 \text{ mg/mL} = \left( \frac{0.039548 \text{ mg CAF}}{\text{mL}} \right) \left( \frac{10 \text{ mL}}{0.3 \text{ mL}} \right) 10 \text{ mL} = 5.45 \text{ mg CAF}$$

Tabla 12 Comparación entre cantidades pesadas y cantidades cuantificadas de la mezclas en estudio con espectros de segunda derivada

Cuantificación con espectros de segunda derivada						
Mezcla	Cantidad pesada ASA	Cantidad cuantificada ASA	Cantidad pesada PAR	Cantidad cuantificada PAR	Cantidad pesada CAF	Cantidad cuantificada CAF
ASA-PAR	25 mg	27.29	10.5 mg	10.19	*	*
ASA-CAF	14 mg	7.04	*	*	3.5 mg	2.58
ASA-PAR-CAF	11 mg	11.49	10 mg	13.18	3.5 mg	5.45

### 3.5. Análisis espectrofotométrico de AAS, PAR y CAF previa hidrólisis de AAS a ASA

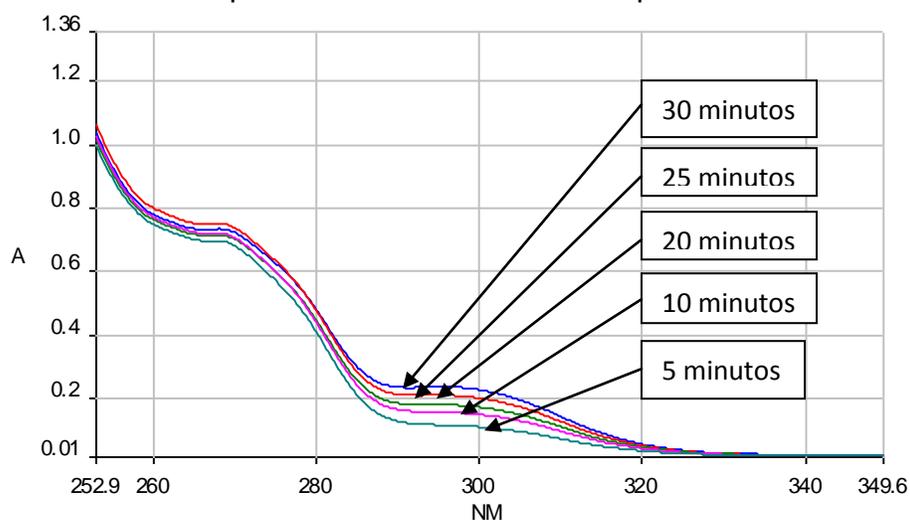
Cuando se observó que la mezcla con los tres fármacos en estudio podía ser cuantificada en presencia de ácido salicílico en lugar de ácido acetilsalicílico, se llevaron a cabo una serie de experimentos con el fin de determinar las mejores condiciones para hacer la hidrólisis del ácido acetilsalicílico.

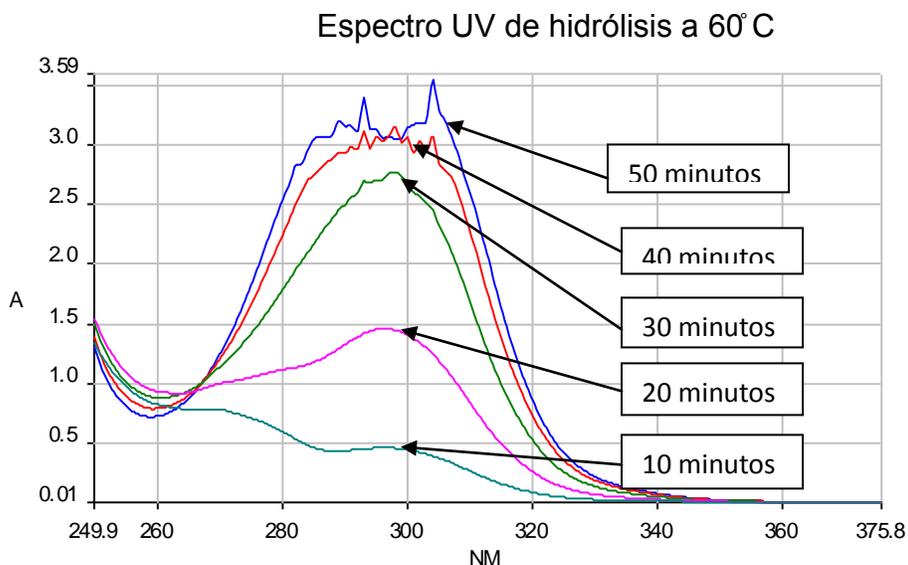
### 3.5.1. Monitoreo de la hidrólisis de AAS a ASA a pH=10.5

Se preparó una disolución amortiguadora pH= 10.5, después de esto se prepararon dos disoluciones de AAS, ambas se hicieron aforando con la disolución amortiguadora pH= 10.5 en matraces de 25 mL y de éstas se tomó una alícuota de 1 mL con una pipeta volumétrica y se colocó en un matraz de 10 mL para aforarse con la disolución amortiguadora.

De la primera disolución se tomó el espectro cada 5 minutos para ver cómo progresaba la hidrólisis del AAS, para la segunda disolución, se colocó el matraz en baño maría a una temperatura de 60 °C y se tomó el espectro cada diez minutos para ver la progresión de la reacción de hidrólisis monitoreando la absorción del ácido salicílico producido.

Espectro UV de hidrólisis a temperatura ambiente.





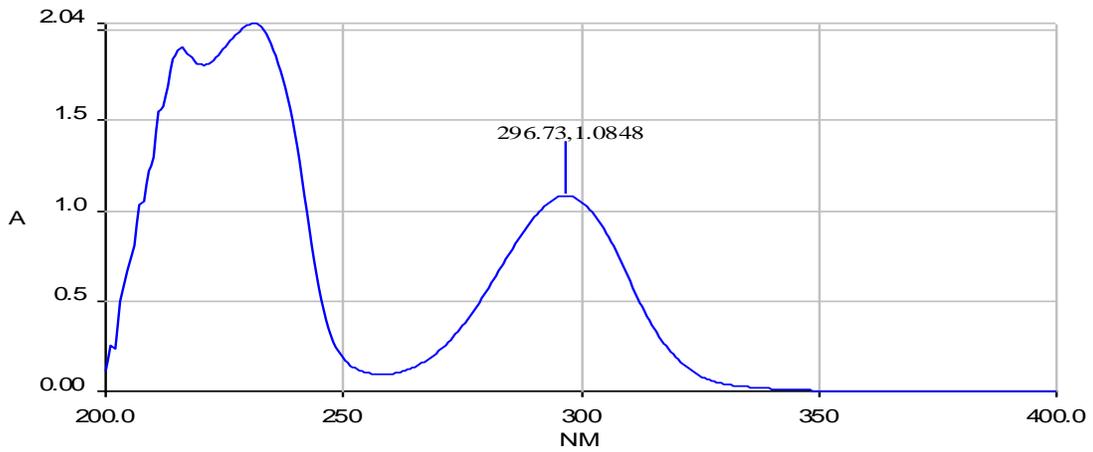
Se observa que a 60°C la hidrólisis del ácido acetilsalicílico se lleva a cabo más rápidamente comparado con la hidrólisis a temperatura ambiente.

Se realizaron curvas patrón de los tres fármacos al pH en el que se realizaría la hidrólisis (pH=10.5), para observar si habían efectos hipsocrómicos o batocrómicos, para obtener las longitudes de onda de máxima absorción y los coeficientes de absorción.

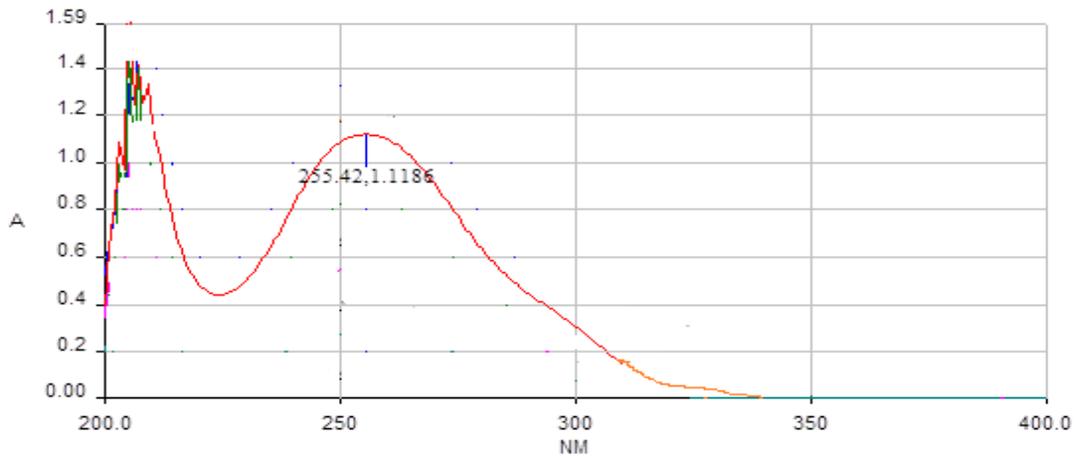
### 3.5.2 Estudio del comportamiento al UV de ASA, PAR y CAF a pH=10.5

Se registraron los espectros de absorción al UV de los tres compuestos: ASA, PAR y CAF haciendo barridos desde 200 nm hasta 400 nm, para obtenerse las respectivas longitudes de onda de máxima absorción y sus absorbancias, eligiendo las longitudes de onda adecuadas de acuerdo al objetivo de este trabajo. Todos los compuestos se disolvieron en solución amortiguadora pH= 10.5. Los resultados se muestran a continuación:

Espectro de ASA en solución amortiguadora pH= 10.5 (0.04mg/mL)



Espectro UV de PAR en solución amortiguadora pH=10.5



Espectro UV de CAF en solución amortiguadora pH=10.5 (0.0252 mg/mL)

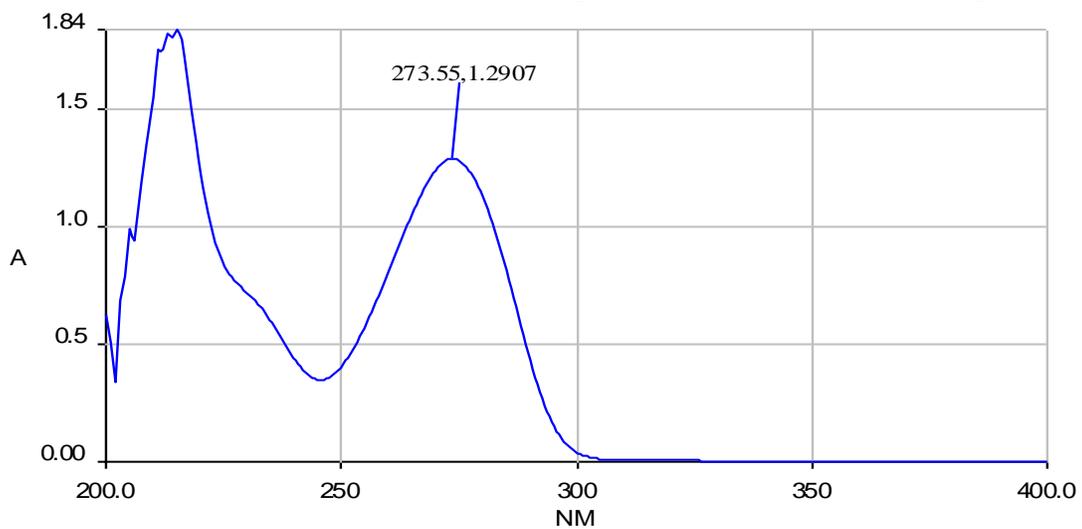


Tabla 13 Lambdas de absorción máxima para los espectros de UV a pH= 10.5

Compuesto	Lambda de absorción máxima (nm)	Absorbancias
Ácido Salicílico	296.73	1.3866
Paracetamol	255.42	1.3658
Cafeína	273.55	1.6077

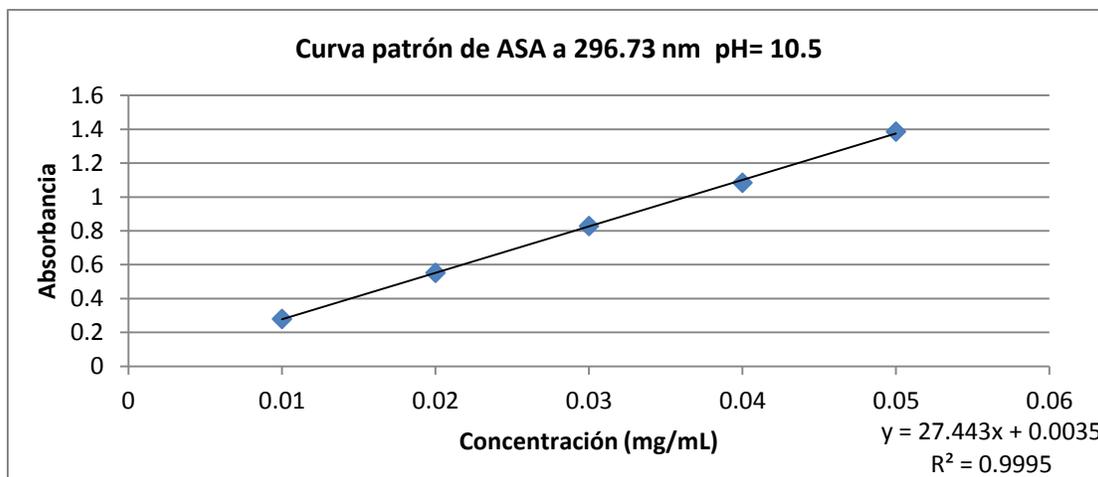
### 3.5.3. Obtención de los coeficiente de absorción de ASA, PAR y CAF en solución amortiguadora pH=10.5 quitar segunda derivada

#### Obtención de coeficiente de correlación de Ácido Salicílico en solución amortiguadora pH= 10.5

Se pesaron 12.5 mg de ASA y se colocaron en un matraz de 25 mL y se llevó al aforo con solución buffer pH=10.5, de la disolución anterior se tomaron alicuotas de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0 mL con una micropipeta y se colocaron en un matraz de 10 mL y se llevaron al aforo con el mismo buffer, las disoluciones anteriores, se obtuvo el espectro UV desde 200 hasta 400 nm quedando las siguientes concentraciones:

Curva patrón de ASA a 296.73 nm y pH=10.5

Alicuotas (mL)	Concentración(mg/mL)	Concentración(µg/mL)	Absorbancia 296.73 nm
0.2	0.01	10	0.28043
0.4	0.02	20	0.55286
0.6	0.03	30	0.82923
0.8	0.04	40	1.0848
1	0.05	50	1.3866
Pendiente			27.443

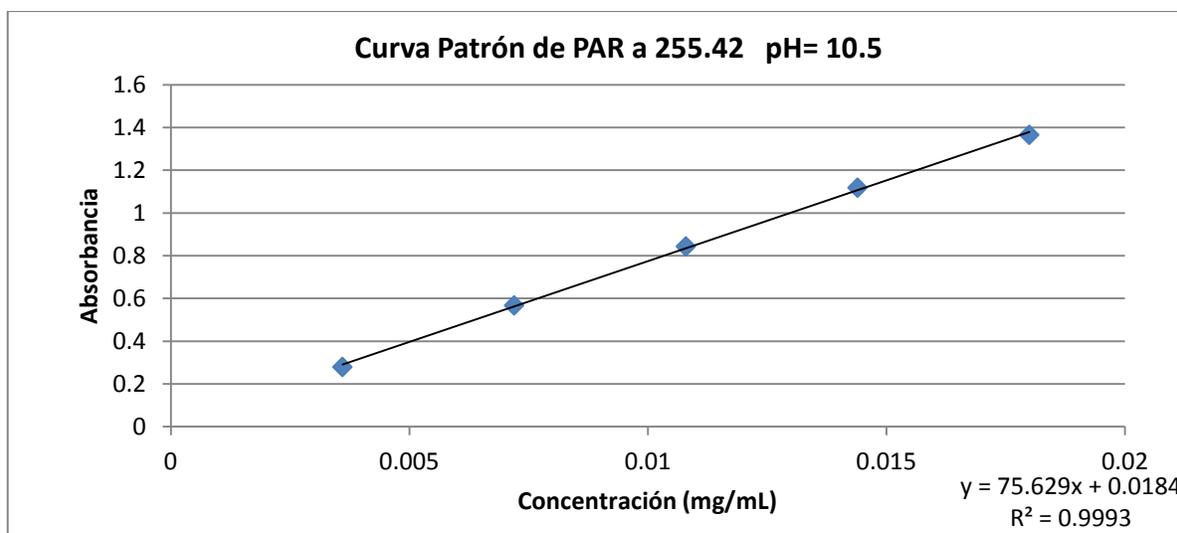


### Obtención del coeficiente de absorción de Paracetamol en solución amortiguadora pH=10.5

Se pesaron 9.0 mg de PAR y se colocaron en un matraz de 25 mL y se llevó al aforo con solución amortiguadora pH=10.5, de la disolución anterior se tomaron alícuotas de 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 y 0.5 mL con una micropipeta y se colocaron en un matraz de 10 mL y se llevaron al aforo con la misma disolución amortiguadora, de las disoluciones anteriores se obtuvo el espectro UV desde 200 hasta 400 nm quedando las siguientes concentraciones:

Curva patrón de PAR a 255.42 nm y pH=10.5

Alícuota (mL)	Concentración (mg/mL)	Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorbancia a 255.42 nm
0.1	0.0036	3.6	0.27981
0.2	0.0072	7.2	0.56793
0.3	0.0108	10.8	0.84388
0.4	0.0144	14.4	1.1186
0.5	0.018	18	1.3658
Pendiente			75.629



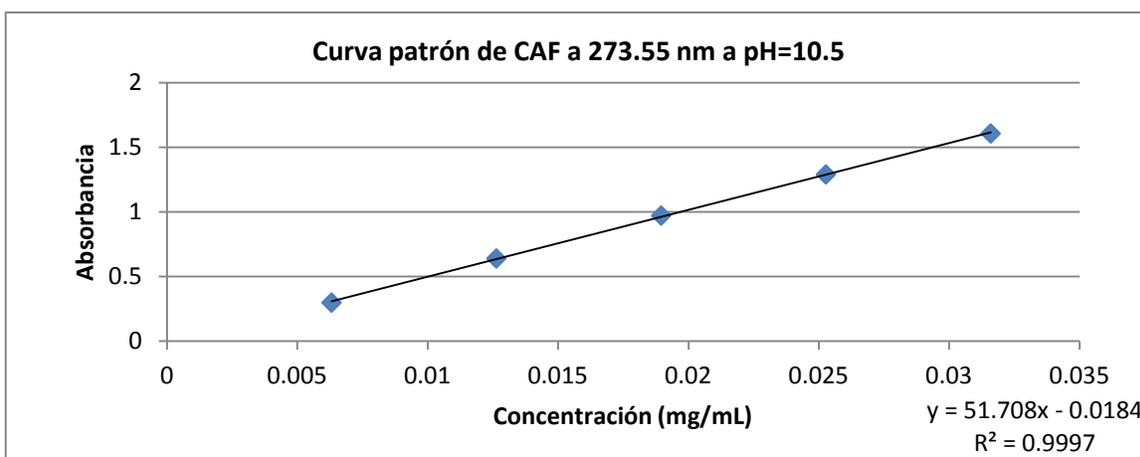
### Obtención del coeficiente de absorción de cafeína en solución amortiguadora pH=10.5

Se pesaron 7.9 mg de CAF y se colocaron en un matraz de 25 mL y se llevó al aforo con solución buffer pH=10.5, de la disolución anterior se tomaron alícuotas de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0 mL con una micropipeta y se colocaron en un matraz de

10 mL y se llevaron al aforo con la misma disolución amortiguadora, de las disoluciones anteriores se obtuvo el espectro UV desde 200 hasta 400 nm quedando las siguientes concentraciones:

Curva patrón de CAF a 273.55 nm y pH=10.5

Alícuota(mL)	Concentración (mg/mL)	Concentración (µg/mL)	Absorbancia a 273.55 nm
0.2	0.00632	6.32	0.2988
0.4	0.01264	12.64	0.64055
0.6	0.01896	18.96	0.97242
0.8	0.02528	25.28	1.2907
1.0	0.0316	31.6	1.6077
Pendiente			51.708



### 3.5.4. Aplicación de la ley de aditividades al análisis de mezclas de ASA, CAF y PAR a pH= 10.5

Para poder aplicar la ley de aditividades es necesario conocer los coeficientes de absorptividad de cada compuesto a las lambdas máximas de los otros dos compuestos, es decir:

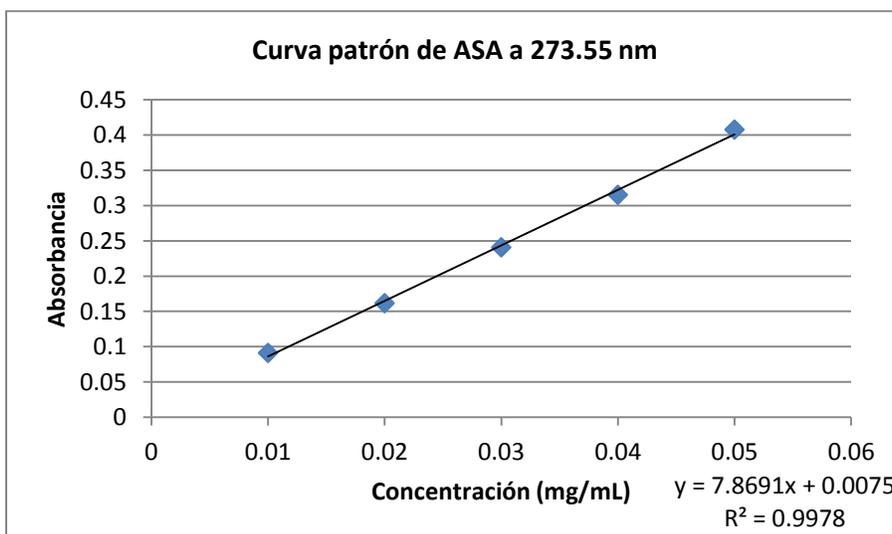
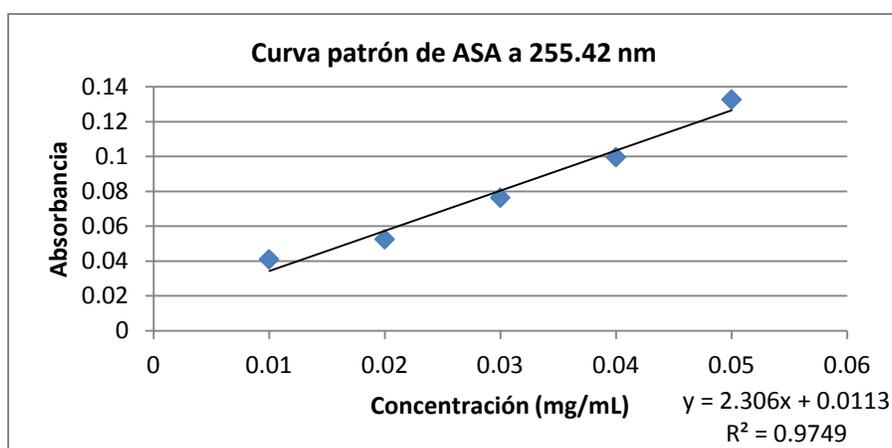
- Para ASA se deben conocer los coeficientes a 255.42 nm y a 273.55 nm
- Para PAR se deben conocer los coeficientes a 296.73 nm y a 273.55 nm.
- Para CAF se deben conocer los coeficientes a 255.42 nm y a 296.73nm.

Para hacer estas determinaciones se utilizaron las mismas disoluciones que se prepararon para la curva patrón.

### 3.5.5 Obtención de los coeficientes de absorción para aplicar la ley de aditividad en espectros de UV

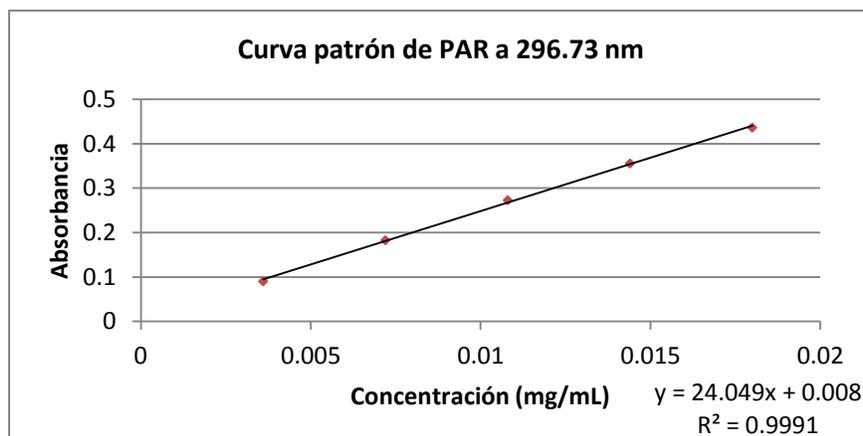
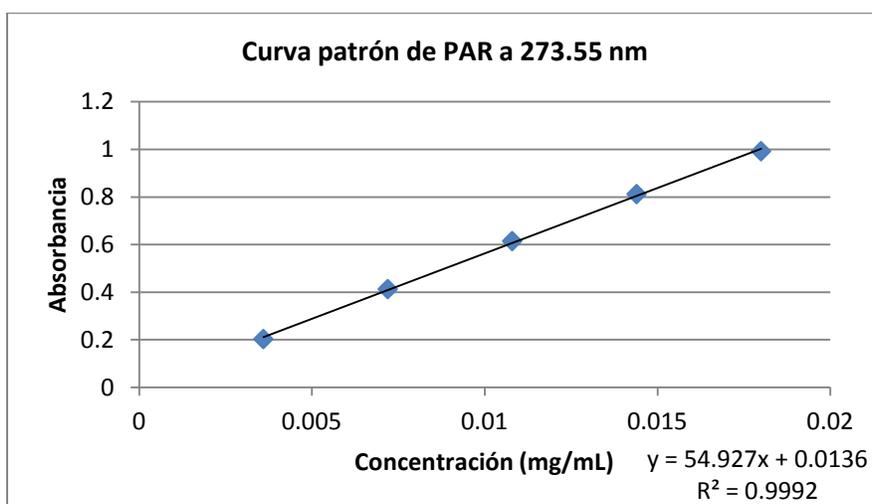
**Coefficients of absorptivity at 255.42 nm and 273.55 nm for ASA**

Alicuotas (mL)	Conc (µg/mL)	Conc (mg/mL)	Absorbancia a 255.42 nm	Absorbancia a 273.55 nm
0.2	0.01	10	0.041036	0.091329
0.4	0.02	20	0.052599	0.16187
0.6	0.03	30	0.076451	0.2411
0.8	0.04	40	0.099706	0.31546
1.0	0.05	50	0.13278	0.40799
Pendientes			2.306	7.8691



### Coeficientes de absorptividad a 296.73 nm y 273.55 nm para PAR

Alicuota (mL)	Conc (mg/mL)	Conc (μg/mL)	Absorbancia a 273.55 nm	Absorbancia a 296.73 nm
0.1	0.0036	3.6	0.20292	0.09035
0.2	0.0072	7.2	0.41278	0.18283
0.3	0.0108	10.8	0.61442	0.27308
0.4	0.0144	14.4	0.81182	0.35582
0.5	0.018	18.0	0.99208	0.43674
Pendientes			54.927	24.049



### Coeficientes de absortividad a 255.42 nm y a 296.73 nm para CAF

Alícuota(mL)	Conc (mg/mL)	Conc (µg/mL)	Absorbancia a 255.42 nm	Absorbancia a 296.73 nm
0.2	0.00632	6.32	0.14111	0.02681
0.4	0.01264	12.64	0.29663	0.052447
0.6	0.01896	18.96	0.44733	0.074961
0.8	0.02528	25.28	0.59468	0.10174
1.0	0.0316	31.6	0.7368	0.11799
Pendientes			23.567	3.6654

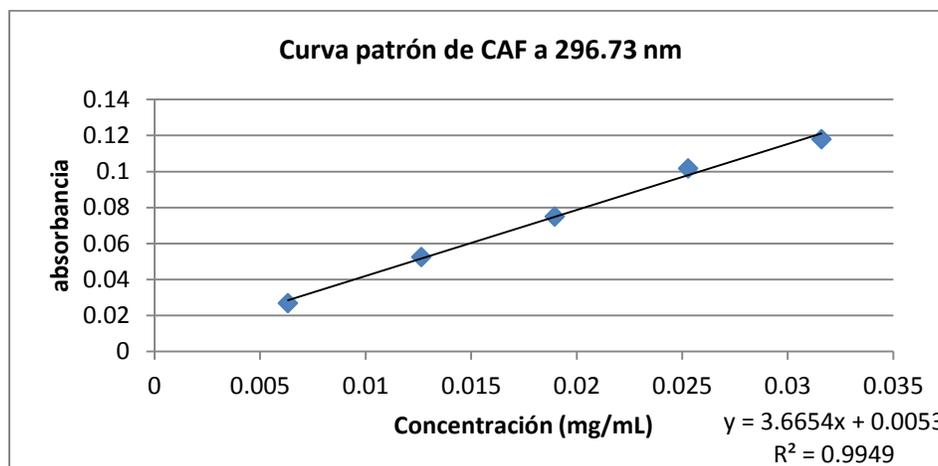
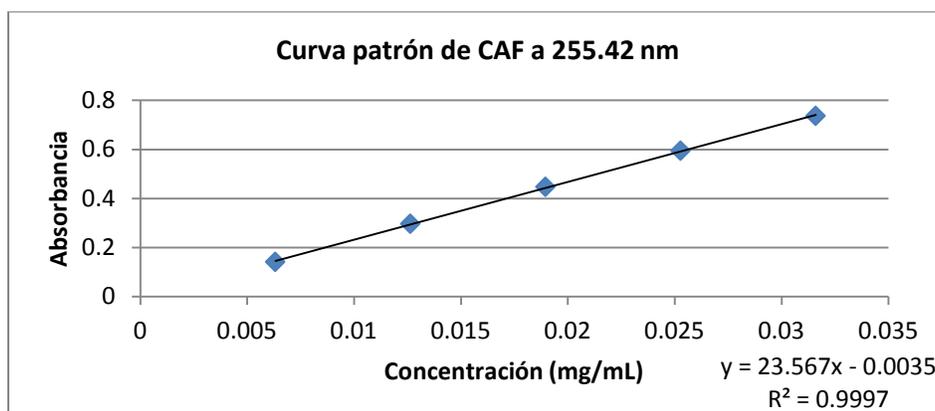


Tabla 14 Resumen de las longitudes de onda de máxima absorción de los principios activos en estudio y los coeficientes de absortividad para cada una en espectros de UV

Compuesto	$\lambda = 296.73$ nm	$\lambda = 273.55$ nm	$\lambda = 255.42$ nm
ASA	27.443	7.8691	2.306
PAR	24.049	54.927	75.629
CAF	3.6654	51.708	23.567

### 3.5.6. Análisis espectroscópico al UV de mezclas de ácido acetilsalicílico, paracetamol y cafeína en solución acuosa pH= 10.5

#### Mezclas estudiadas:

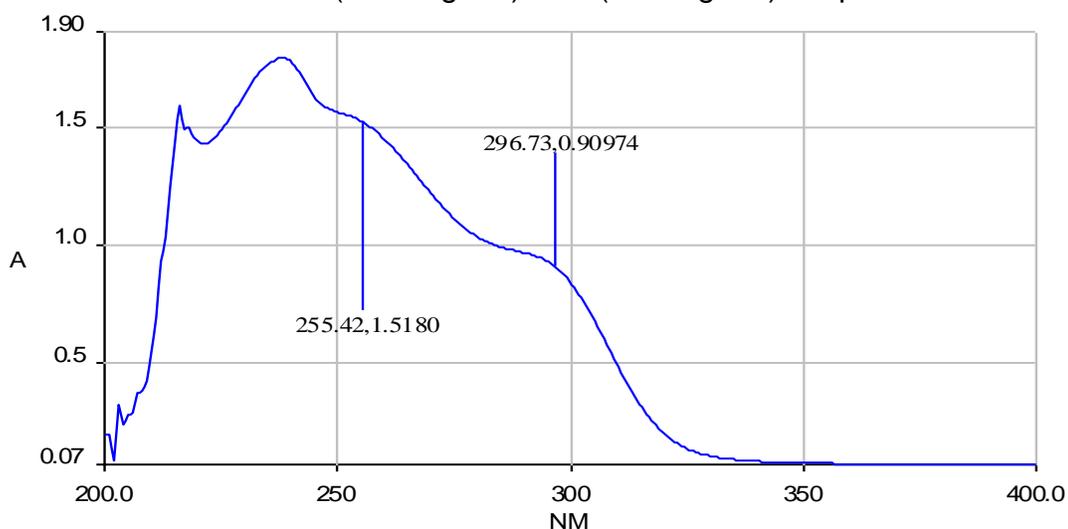
En las siguientes mezclas se utilizó ácido acetilsalicílico estándar para realizar la disolución, que posteriormente se pondría en baño maría a 60°C para obtener el producto de la hidrólisis que es el ácido salicílico.

- Mezcla Ácido Acetilsalicílico-Paracetamol a pH=10.5
- Mezcla Ácido Acetilsalicílico-Paracetamol-Cafeína a pH= 10.5

Se hizo una solución de PAR y AAS (5.0 mg de cada uno), y se trató con una disolución amortiguadora pH=10.5, calentando a 60° C, durante un periodo entre 40 minutos y 45 minutos, después de lo cual se dejó enfriar hasta temperatura ambiente.

Los compuestos se colocaron en un matraz de 25 mL y se llevó al aforo con la disolución amortiguadora pH=10.5, de la disolución preparada se tomo una alícuota de 1.0 mL con una pipeta volumétrica y que se colocó en un matraz de 10 mL y se llevó al aforo con la misma disolución amortiguadora.

Espectro de la mezcla AAS(0.02 mg/mL)-PAR(0.02mg/mL) después de hidrolizar.



Para obtener las cantidades de fármaco presentes en cada mezcla se hizo un sistema de dos ecuaciones con dos incógnitas, cada ecuación corresponde a la

ley de Lambert-Beer y cada ecuación agrupa los términos de absorbancia y coeficientes de absorción de cada longitud de onda de máxima absorción, a continuación se muestra el sistema de ecuaciones para la mezcla AAS-PAR:

$$\lambda_{\max} 255.42 \text{ nm} \quad 1.5180 = 2.306 C_{\text{ASA}} + 75.63 C_{\text{PAR}} \dots \dots \dots (1)$$

$$\lambda_{\max} 296.73 \text{ nm} \quad 0.90974 = 27.443 C_{\text{ASA}} + 24.049 C_{\text{PAR}} \dots \dots \dots (2)$$

Se puede despejar cualquiera de las dos incógnitas de cualquiera de las dos ecuaciones, para este caso, de la ecuación (1) despejaremos  $C_{\text{ASA}}$  y queda así:

$$C_{\text{ASA}} = \frac{1.518 - 75.63 C_{\text{PAR}}}{2.306} \quad \Rightarrow \quad C_{\text{ASA}} = 0.6582 - 32.8 C_{\text{PAR}} \dots \dots \dots (3)$$

La ecuación (3) se sustituye en la ecuación (2) y queda así:

$$0.90974 = 24.049 C_{\text{PAR}} + 27.443(0.6582 - 32.8 C_{\text{PAR}})$$

$$0.90974 = 24.049 C_{\text{PAR}} + 18.63 - 900.13 C_{\text{PAR}} \dots \dots \dots (4)$$

De la ecuación cuatro se agrupan términos y se despeja la primera incógnita ( $C_{\text{PAR}}$ ) para obtener la concentración del paracetamol.

$$876.081 C_{\text{PAR}} = -17.15321 \quad \text{despejando } C_{\text{PAR}} \quad C_{\text{PAR}} = \frac{-17.15321}{-876} = 0.01958 \text{ mg/mL}$$

La concentración obtenida se sustituye en la ecuación (3) y se obtiene:

$$C_{\text{ASA}} = 0.6582 - (32.8 * 0.01958) = 0.01598 \text{ mg/mL}$$

Dadas las concentraciones en la mezcla, se pueden obtener las cantidades que verdaderamente se pesaron al inicio, multiplicando por los aforos y alícuotas realizados para obtener la mezcla de la cual se obtuvo el espectro:

$$C_{\text{PAR}} = \left( \frac{0.01958 \text{ mg PAR}}{\text{mL}} \right) \left( \frac{10 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \right) 25 \text{ mL} = 4.895 \text{ mg PAR}$$

$$C_{\text{ASA}} = \left( \frac{0.01598 \text{ mg ASA}}{\text{mL}} \right) \left( \frac{10 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \right) 25 \text{ mL} = 3.995 \text{ mg ASA}$$

Sin embargo se requiere la cantidad de AAS de la cual provino el ASA para lo cual se realiza el cálculo siguiente:

$$3.995 \text{ mg ASA} \left( \frac{1 \text{ mmol ASA}}{138.12 \text{ mg ASA}} \right) \left( \frac{1 \text{ mmol AAS}}{1 \text{ mmol ASA}} \right) \left( \frac{180.16 \text{ mg AAS}}{1 \text{ mmol AAS}} \right) = 5.211 \text{ mg AAS}$$

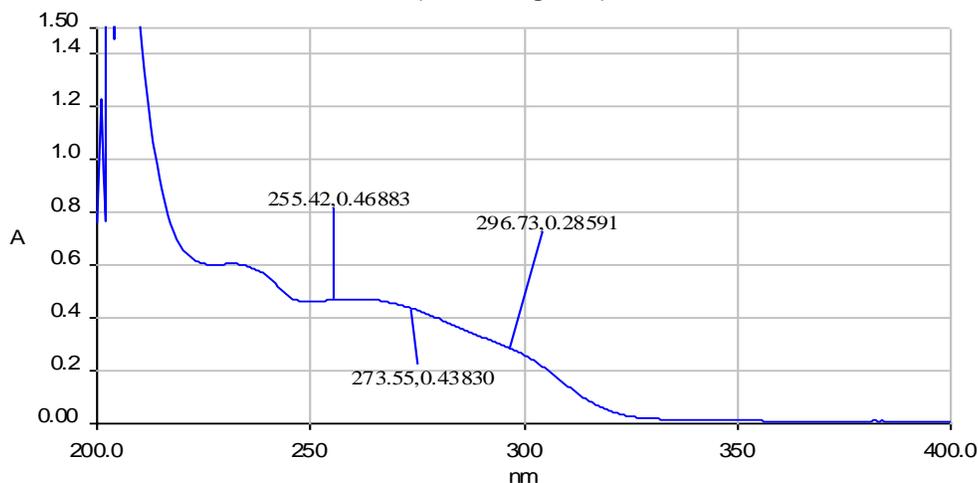
Tabla 15 Comparación entre las cantidades pesadas y las cantidades cuantificadas de las mezclas en estudio

Compuesto	Pesado (mg)	Cuantificado (mg)
AAS	5	5.211
PAR	5	4.895

### Mezcla de AAS, PAR y CAF

Se realizó una disolución de los tres fármacos pesando 10.6 mg de AAS, 12.4 mg de PAR y 2.0 mg de CAF, y colocándose en un matraz de 50 mL, se llevaron al aforo con una solución básica de pH= 10.5, de la disolución anterior se tomo una alícuota de 0.5 mL con una micropipeta y se colocó en un matraz de 10 mL para ser también aforado con la misma disolución básica. La mezcla se puso en un baño maría a 60°C durante un periodo entre 30 y 35 minutos, después de enfriarse se obtuvo el espectro UV.

Espectro UV de la mezcla AAS(0.0106mg/mL)-PAR(0.0124mg/mL)-CAF(0.002mg/mL)



Se utilizó el programa para resolver matrices que se mencionó anteriormente para obtener las cantidades reales de compuestos.

Tabla 16 Comparación entre cantidades pesadas y cantidades cuantificadas de la mezclas en estudio

Compuesto	Cantidad Teórica	Cantidad Cuantificada
AAS	10.6 mg	7.03
PAR	12.4 mg	5.45
CAF	2 mg	1.85

#### 4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

##### Análisis espectrofotométrico al UV de mezclas de AAS, PAR y CAF

Tras obtener los espectros de los tres compuestos (AAS, PAR y CAF) se obtuvieron las longitudes de onda de máxima absorción así como los coeficientes de absorptividad para la aplicación de la ley de aditividad.

Los resultados obtenidos para el análisis de mezclas utilizando espectros de UV se muestran a continuación:

Cantidades pesadas y cuantificadas con espectros UV

Mezcla	Cantidad pesada de AAS	Cantidad cuantificada de AAS	Cantidad pesada PAR	Cantidad cuantificada PAR	Cantidad pesada CAF	Cantidad Cuantificada CAF
AAS-PAR	13.5 mg	15 mg	2.5 mg	2.76 mg	-----	-----
PAR-CAF	-----	-----	14 mg	13.337 mg	4.5 mg	5.798 mg
AAS-CAF	12.5 mg	0.97 mg	-----	-----	3 mg	4.8 mg
AAS-PAR-CAF	11 mg	0.325 mg	10 mg	8.885 mg	2.5 mg	6.4 mg

Al observar los resultados arrojados por el análisis es claro que cuando los compuestos presentes en la mezcla poseen longitudes de onda suficientemente lejanas entre sí, las cantidades pesadas presentan cierta semejanza con las cantidades cuantificadas (mezclas AAS-PAR y PAR-CAF), al parecer solo se necesita ajustar el método para mejorar la cuantificación de las mezclas lo que no sucede con las mezclas restantes (AAS-CAF y AAS-PAR-CAF) cuyas longitudes de ondas de máxima absorción son muy próximas, lo que genera interferencia para realizar el análisis, dicha interferencia podría consistir en que debido a la cercanía de las longitudes de onda máximas, éstos absorben la radiación UV al mismo tiempo generando que las aportaciones de absorbancia de cada

compuesto no sean proporcionales a su concentración, cuando las longitudes de onda de máxima absorción están distantes la interferencia de un compuesto respecto al otro son mínimas. Dicha interferencia puede ser también explicada observando los coeficientes de absorción de los compuestos, por ejemplo, en la mezcla AAS-CAF al observar el cambio de coeficientes de la longitud de onda de máxima de absorción de cualquiera de los dos compuestos respecto al coeficiente de absorción en la longitud de onda máxima del otro compuesto, dicho cambio es muy pequeño, en seguida se pone un ejemplo:

En su longitud de onda de máxima absorción el AAS en etanol tiene un coeficiente de absorción de 6.512 y la cafeína un coeficiente de 38.823, y en la longitud de onda de máxima absorción de la cafeína (273.55 nm) el coeficiente de absorción del AAS es 6.196, mientras que el de la cafeína es de 40.141, al realizar un relación porcentual como se muestra enseguida:

6.512----100%	40.141----100%
6.196----95.15%	38.823----96.71%

Se observa que ambos porcentajes son altos lo que indica que la interferencia de un compuesto respecto al otro es importante, mientras que en una mezcla cuyas longitudes de onda de máxima absorción son distantes al realizar la misma relación porcentual tomando como ejemplo la mezcla AAS-PAR se obtiene:

6.512----100%	95.372-----100%
4.013----61.62	18.843-----19.75%

En este caso la relación porcentual es mucho menor comparada con la mezcla del primer ejemplo lo que indicaría una interferencia menos importante de un compuesto respecto al otro de la mezcla.

### **Análisis espectrofotométrico al UV con segunda derivada de mezclas de AAS, PAR y CAF**

Los espectros de UV con segunda derivada ofrecen más de una longitud de onda de máxima de absorción, y por ello se puede hacer posible la cuantificación de dos compuestos cuyas lambdas son muy próximas tales como el AAS y la CAF.

En la longitud de onda 308.06 nm el paracetamol es el compuesto que absorbe con más intensidad, por ello es la que se elige para hacer el análisis, el ácido acetilsalicílico y la cafeína presentan una tendencia espectral muy similar por lo que se eligieron longitudes de onda donde las absorbancias fueran positivas para facilitar el cálculo, dichas longitudes de onda fueron 292.13 nm para AAS y 294.21 nm para CAF.

Al aplicar la ley de aditividad al análisis con espectros de UV con segunda derivada de las mezclas estándares mencionadas se obtuvieron los siguientes resultados:

Cantidades pesadas y cuantificadas con espectros de segunda derivada

Mezcla	Cantidad Pesada AAS	Cantidad cuantificada AAS	Cantidad pesada PAR	Cantidad cuantificada PAR	Cantidad pesada CAF	Cantidad Cuantificada CAF
AAS-PAR	13.5 mg	4.38 mg	2.5 mg	1.27 mg	----- -	-----
PAR-CAF	----- -	-----	14 mg	7.22 mg	4.5 mg	3.36 mg
AAS-CAF	12.5 mg	15.7 mg	-----	-----	3 mg	2.97 mg
AAS-PAR-CAF	11 mg	8.72 mg	10 mg	8.80 mg	2.5 mg	3.2 mg

En este caso la cuantificación que arrojó los resultados con mayor similitud entre las cantidades cuantificadas respecto a cantidades pesadas fueron las mezclas (AAS-CAF y AAS-PAR-CAF) las cuales en el caso de usar espectros de UV dan resultados poco exactos, así mismo las mezclas que se pudieron cuantificar con espectros de UV al ser analizadas mediante espectros con segunda derivada son las que dan resultados con menor semejanza. Al observar los coeficientes de absortividad se nota que ocurre lo contrario que en el análisis con espectros de UV, es decir, las mezclas que se pueden cuantificar poseen coeficientes de correlación muy cercanos entre la longitud de onda de máxima absorción y la longitud de onda de máxima absorción del otro compuesto.

### Estudio espectrofotométrico al UV de mezclas de ASA, PAR y CAF

Al analizar los resultados de las mezclas con AAS, PAR y CAF se optó por usar ácido salicílico en mezclas con paracetamol y cafeína disueltas en etanol, para ello se obtuvo la lambda máxima de absorción de ácido salicílico así como su coeficiente de absorción.

Tal como se realizó en las primeras mezclas se obtuvieron los coeficientes de absorción necesarios para aplicar la ley de aditividad en las mezclas con ácido salicílico.

Al aplicar la ley de aditividad a las mezclas estudiadas se obtuvieron los siguientes resultados:

Comparación entre cantidades pesadas y cantidades cuantificadas de las mezclas en estudio con espectros de UV

Cuantificación con espectros de absorción						
Mezcla	Cantidad pesada ASA	Cantidad cuantificada a ASA	Cantidad pesada PAR	Cantidad cuantificada a PAR	Cantidad pesada CAF	Cantidad cuantificada a CAF
ASA-PAR	25 mg	26.93 mg	10.5 mg	10.19 mg	*	*
ASA-CAF	14 mg	12.39 mg	*	*	3.5 mg	3.9 mg
ASA-PAR-CAF	11 mg	17.59 mg	10 mg	13.69 mg	3.5 mg	6.76 mg

Como se puede observar en la tabla, los resultados obtenidos en las mezclas ASA-PAR y ASA-CAF presentan cierta semejanza entre las cantidades cuantificadas respecto a las cantidades pesadas, debido a que las lambdas de máxima absorción de los tres compuestos en etanol son suficientemente distantes entre sí y no generan interferencias, al igual que en el análisis realizado con espectros UV de las primeras mezclas se observa una tendencia similar en los coeficientes de absorción, dado que los cambios de éstos son grandes desde la lambda de máxima absorción respecto a la lambda de absorción de los otros compuestos no hay interferencia significativa de dicho compuesto, por tanto se esperaba que en la mezcla triple se pudieran cuantificar los tres compuestos, sin

embargo las cantidades cuantificadas distan mucho respecto a las cantidades pesadas.

Respecto al estudio al UV por segunda derivada, como en 327.36 nm el ácido salicílico es el único compuesto que absorbe, no se requieren los coeficientes de correlación de la cafeína y el paracetamol, y se puede cuantificar como si estuviera solo, en el caso de la mezcla triple se decidió utilizar la longitud de onda de máxima absorción más lejana del paracetamol para asegurar que éstas estuvieran lo mas lejanas posible unas de otras.

Al aplicar la ley de aditividades a las mezclas ASA-PAR, ASA-CAF y ASA-PAR-CAF se obtuvieron los siguientes resultados:

Comparación entre cantidades pesadas y cantidades cuantificadas de la mezclas en estudio con espectros de segunda derivada de mezclas ASA, PAR y CAF

Cuantificación con espectros de segunda derivada						
Mezcla	Cantidad pesada ASA	Cantidad cuantificada ASA	Cantidad pesada PAR	Cantidad cuantificada PAR	Cantidad pesada CAF	Cantidad cuantificada CAF
ASA-PAR	25 mg	27.29	10.5 mg	10.19	*	*
ASA-CAF	14 mg	7.04	*	*	3.5 mg	2.58
ASA-PAR-CAF	11 mg	11.49	10 mg	13.18	3.5 mg	5.45

En este caso, al ser el ASA el único compuesto en absorber en la región de 327.36 nm se puede conocer su concentración en la mezcla de manera directa, además conociendo su coeficiente de absorción en las longitudes de onda de máxima absorción de los otros compuestos (PAR y CAF) se puede obtener la aportación de absorbancia del ASA en cualquier mezcla y ello facilita el análisis. Aunque en el estudio mediante UV con segunda derivada la cantidad de ASA cuantificado respecto a la cantidad pesada se acerca mucho más que en análisis por UV, las cantidades de PAR y CAF cuantificadas siguen estando muy distantes, pese a ello las cantidades cuantificadas de dichos compuestos son muy semejantes entre ambos análisis (UV y UV con segunda derivada), por lo tanto es posible que haya tenido lugar un error por parte del analista o bien alguna falla en la balanza que se usó.

### **Análisis espectrofotométrico de ASA obtenido previa hidrólisis del AAS a pH= 10.5**

Al realizar el análisis de mezclas que tenían ASA en vez de AAS se observó que sí se podían cuantificar simultáneamente, sin embargo, hay que tomar en cuenta que el compuesto de importancia es el AAS por lo tanto hay que hidrolizar el compuesto para así obtener el ASA, dicha reacción se logra aumentando el pH de la disolución pero se temía que al hacer esto se formaría ión etóxido que pudiera reaccionar con alguno de los compuestos, por lo tanto se decidió hacer la hidrólisis en una solución acuosa pH= 10.5, para lo que se necesitaban recalcular longitudes de onda de máxima absorción y los coeficientes de absorptividad de todos los compuestos.

Al realizar el análisis de la mezcla AAS-PAR previa hidrólisis del AAS, la longitud de onda de máxima absorción de los compuestos de dicha mezcla cambiaron, situación que no sucedió con la cafeína, se obtuvieron los siguientes resultados al realizar la cuantificación:

Comparación entre las cantidades pesadas y las cantidades cuantificadas de la mezcla AAS-PAR a pH=10.5

Compuesto	Pesado (mg)	Cuantificado (mg)
AAS	5	5.211
PAR	5	4.895

Al realizar el análisis de mezclas de ASA-PAR-CAF en pH=10.5 previa hidrólisis de AAS en pH=10.5 se obtuvieron los siguientes resultados:

Comparación entre cantidades pesadas y cantidades cuantificadas de la mezclas en estudio mezclas AAS-PAR-CAF a pH=10.5

Compuesto	Cantidad Teórica	Cantidad Cuantificada
AAS	10.6 mg	7.03 mg
PAR	12.4 mg	5.45 mg
CAF	2 mg	1.85 mg

Los resultados indican que hacer una hidrólisis previa del AAS a ASA para cuantificarlo es posible porque como se esperaba el ASA tiene su lambda de onda de máxima absorción hasta aproximadamente 304 nm y éste no genera

interferencia importante en la cuantificación, la mezcla triple no se puede cuantificar dado que la onda del paracetamol en medio básico solapa totalmente a la de la cafeína, que mantiene su longitud de onda de máxima absorción en 273.55 nm, por lo que la interferencia es muy significativa.

El pH de la disolución que se utilizó para hacer la hidrólisis del AAS puede generar una desprotonación del grupo -OH del paracetamol formando ión fenóxido, dicha especie puede estar generando la onda que se encuentra en aproximadamente 300 nm.

## **Conclusiones**

1.- Por espectrofotometría UV, una disolución etanólica de los tres compuestos, es posible cuantificarlos cuando las longitudes de onda de máxima absorción son distantes entre sí, dado que la interferencia de un compuesto respecto al otro es mínima, mientras que la cuantificación de mezclas cuyas longitudes de onda de máxima absorción son muy próximas entre sí no se puede cuantificar.

2.- Por espectrofotometría UV con segunda derivada, una disolución etanólica de los tres compuestos se cuantifican si las longitudes de onda de máxima absorción son cercana entre sí mientras que las mezclas cuyas longitudes de onda de máxima absorción son distantes entre sí no se cuantifican.

3.-En una disolución en presencia de ASA se pueden cuantificar los tres compuestos en espectro de UV con segunda derivada, se realiza analizando el ASA como si estuviese solo, y después se obtiene su contribución de absorbancia en las longitudes de onda de máxima absorción de los otros compuestos y no de manera directa con un sistema matricial como en casos anteriores.

4.- En el análisis de ASA previa hidrólisis de AAS arroja resultados semejantes entre cantidades pesadas y cuantificadas cuando la mezcla se hace con paracetamol únicamente, debido a que sus longitudes de onda de máxima

absorción son suficientemente lejanas, pero cuando a la mezcla se le añade cafeína los resultados difieren mucho debido al solapamiento de las longitudes de onda de máxima absorción de cafeína y paracetamol.

5.- Todos los resultados obtenidos requieren de trabajo posterior que confirme la propuesta para continuar con la optimización de los resultados.

## 6. Referencias

- 1) [www.resolvermatrices.com.ar/](http://www.resolvermatrices.com.ar/)
- 2) H.P. Rang, M.M. Dale, Farmacología, 6<sup>ta</sup> Edición, Elsevier, España, 2008, p.p. 226,235, 615,616
- 3) L. G. Wade, Química orgánica, 5<sup>ta</sup> Edición, Prentice hall, Madrid, 2004, p.p. 763,415
- 4) Douglas A. Skoog, Fundamentos de química analítica, 8<sup>va</sup> edición, Thompson Learning, México 2007, p.p. 795-804
- 5) Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 6<sup>ta</sup> edición
- 6) Keneth Rubinson, Judith Rubinson, Análisis Instrumental, 1<sup>ra</sup> edición, Prentice hall, Madrid, 2001, p.p. 332,333
- 7) Lucas Hernández, Claudia González, Introducción al análisis instrumental, 1<sup>ra</sup> edición, España, 2002,p.p. 52-54, 63-81
- 8) A. Marcilla Gomis, Introducción a las operaciones de separación, Publicaciones de la Universidad de Alicante, 1999, p.p. 11-17
- 9) M. Inés Toral, Sandra Orellana, Marta Saldías, César Soto, Estrategias en el desarrollo de métodos analíticos para la determinación simultánea de compuestos orgánicos por espectrofotometría derivada, *Quim. Nova*, Vol. 32, No. 1, 257-262, 2009.
- 10) Angélica Rodríguez B., Determinación de cafeína en bebidas gasificadas oscuras y determinación de caseína en leche. Aplicación de la espectrofotometría en segunda derivada. *Rev. per. quim. Ing. quim.*, Vol. 4, N<sup>o</sup> 2, pags. 72-77, 2001
- 11) [ocw.uc3m.es/ingenieria-quimica/quimica-ii/...1/PR-F-Anexos.pdf](http://ocw.uc3m.es/ingenieria-quimica/quimica-ii/...1/PR-F-Anexos.pdf)
- 12) [www.espectrometria.com/espectrometra\\_ultravioleta-visible](http://www.espectrometria.com/espectrometra_ultravioleta-visible)
- 13) [www.ugr.es/~quiorred/espec/uv.htm](http://www.ugr.es/~quiorred/espec/uv.htm)
- 14) [ocw.usal.es/ciencias-experimentales/analisis...a-la.../Tema\\_3.pdf](http://ocw.usal.es/ciencias-experimentales/analisis...a-la.../Tema_3.pdf)