84

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA

# DESARROLLO ANALITICO PARA LA VALORACION DEL CLORURO DE PALMITOILO

T E S I S

Que Para Obtener el Título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P r e s e n t a

ROSA LILIA LOPEZ BECERRA

México, D. F. 1978

A Cesar

A mis padres

Mi mas sincero agradecimiento a las personas que con ayuda moral o material hicieron posible la realización de este trabajo.

INDICE

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE SEGUN EL TEMA

PRESIDENTE : ETELVINA MEDRANO DE JAIMES

V O C A L : MARIO MIRANDA CASTRO

SECRETARIO : ANDRES ZUÑIGA PADILLA

1er. SUPLENTE : HECTOR JARA FARJEAT

2do. SUPLENTE : NILDA NAVARRO PADILLA

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA : PRODUCTOS QUIMICOS FINOS, S. A.

NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL SUSTENTANTE : ROSA LILIA LOPEZ BECERRA

ASESOR DEL TEMA : MARIO MIRANDA CASTRO

# INTRODUCCION

El objetivo de este trabajo es desarrollar una técnica analítica que permita conocer y controlar la calidad del Cloruro de Palmitoílo de una forma sencilla, reproducible, que no requiera de reactivos caros y en la que se utilice el equipo y material presentes en el laboratorio o de fácil adquisición.

Para este desarrollo se revisaron propiedades físicas y químicas, métodos de preparación y métodos analíticos de cloruros de ácido. De esto se penso que la reacción del Cloruro de Palmitoílo con anilina produciría la anilida cuantificable por métodos gravimétricos o espectrofotométricos, además la formación de la amida se puede verificar por espectroscoía y constantes físico-químicas.

Por último se penso en cotejar estadísticamente las variantes gravimétricas y espectrofotométricas para cuantificar la amida.

# PARTE TEORICA

## 2.1 GENERALIDADES

Los halogenuros de ácidos grasos son funciones derivadas de los ácidos carboxílicos por sustitución del grupo hidroxilo por un halógeno

En donde: R Puede contener 2 a 17 átomos de carbón
X=F, Cl, Br o I

Su importancia radica en la gran actividad química que poseen por lo que se ocupan como intermediarios para la síntesis de muchos derivados de interés biológico y comercial.

Su empleo como agentes acilantes para la preparación de esteres y cetonas, su reacción con amoniaco y aminas para la síntesis de amidas y su uso en la preparación de anhidrídos son algunas de sus aplicaciones mas comunes en química orgánica.

Por su gran actividad química se hidrolizan facilmente a ácidos con agua o vapor de agua por lo que se conservan en condiciones anhidras.

## 2.2 PREPARACION

Los cloruros de ácido son generalmente preparados por la acción de un agente halogenante sobre los ácidos grasos o sus sales en presencia o ausencia de solventes.

Entre los cloruros inorgánicos u oxicloruros que fácilmente cambian sus átomos de cloro por grupos hidroxilos y son generalmente capaces de convertir al ácido carboxílico a sus correspondientes cloruros están: el pentaclóruro de fósforo, el tricloruro de fósforo, cloruro de tionilo, etc.

a) Uno de los primeros reactivos investigados para convertir ácidos a cloruros de ácido fué hecha en 1884 por Krafft y Burger. Ellos usaron pentacloruro de fósforo para obtener los correspondientes cloruros a partir de los ácidos ó sus sales, éste producto se puede usar para obtener tanto derivados saturados o insaturados y en la mayoría de las ocasiones es el reactivo a escoger, el único problema es que su elevada actividad química provoca reacciones secundarias que no provocan otros reactivos.

El pentacloruro de fósforo residual se elimina con destilación al vacío pero, este procedimiento es frecuentemente difícil.

$$R - COOH + P\,Cl_5 \xrightarrow{\Delta} RCOCl + POCl_3 + HCl$$

b) El tricloruro de fósforo es un reactivo muy usado en laboratorio y preparaciones comerciales para obtener los cloruros de ácidos, tiene la ventaja de que los tres átomos de cloruro son activos, el producto de la reacción es ácido fosforoso que es insoluble en los cloruros de ácido y se separa en el fondo del recipiente de reacción, por lo que su separación es relativamente sencilla. La conversión se lleva a cabo a temperaturas ordinarias y solamente se necesita un ligero calentamiento para completar la reacción. El uso de un solvente inerte por ejemplo $CCl_4$ es indicado cuando los ácidos son sólidos a temperaturas ordinarias, sin embargo si el ácido es líquido el solvente no es necesario.

Mientras el ácido fosfórico que se forma en la reacción es fácil de eliminar por su insolubilidad en los cloruros de ácido el exceso de halogenuro de fósforo es frecuentemente difícil, generalmente se puede eliminar bajo vacío aunque recientemente se ha sugerido que se puede efectuar a 100°C y presión atsmosférica. Otro método de eliminar el reactivo se basa en la diferente velocidad de hidrólisis entre el tricloruro de fósforo y el cloruro de ácido, en el primero la velocidad es mucho más grande, por lo que adicionando pequeñas cantidades de agua en la mezcla de reacción se convierte en tricloruro de fósforo a ácido fosforoso.

$$RCOOH + PCl_3 \longrightarrow 3RCOCl + H_3PO_3$$

c) El cloruro de tionilo puede convertir ácidos saturados o insaturados a sus correspondientes cloruros de ácido con altos rendimientos.

La purificación del producto es generalmente sencilla porque el resultado de la hidrólisis del cloruro de tionilo son productos gaseosos que pueden eliminarse por destilación.

d) También se pueden obtener los cloruros de ácido con cloruro de oxailo. En esta reacción se requieren 2.5 moles del cloruro por mol de ácido. Se ha observado que en la reacción se forma primero el anhidrido de ácido que rapidamente se convierte en el cloruro. Cuando se usan sales de sodio se requieren solamente un ligero exceso sobre el equimolecular, la sal de sodio del ácido se suspende en benceno y el cloruro de oxailo se adiciona gradualmente a esta suspensión. Los cloruros de ácido también se pueden preparar de los correspondientes anhidros.

Los bromuros de ácido se pueden obtener usando bromuro de oxailo a partir de sales de sodio, anhidridos o ácidos practicamente bajo las mismas condiciones que las reportadas para la obtención de cloruros.

$$2RCOOH + (COCl)_2 \longrightarrow 2RCOCl + 2CO_2$$

e) Los cloruros de ácido de alto peso molecular se pueden obtener pasando vapores del ácido mezclados con fosgeno sobre carbón activado a 150°C. Los mismos resultados se obtienen pasando fosgeno a través del ácido a 100°C en presencia de pequeñas cantidades de una amina terciaria, la velocidad de reacción depende de la velocidad de adición del fosgeno; por éste método se obtuvieron los cloruros de lauroilo y palmitoilo con rendimientos de 85-90 y 70-75% respectiva-

mente.

$$R\text{-}COOH + COCl_2 \longrightarrow RCOCl + CO_2 + HCl$$

Independientemente del método de obtención que se elija, la purificación del producto frecuentemente presenta problemas, ésta puede hacerse por destilación pero es a menudo acompañada por excesivas descomposiciones que producen una gran cantidad de resíduos de bajo peso molecular.

Se ha observado que cuando los cloruros de ácidos se calientan en atsmósfera inerte a más de 210°C pierden HCl y producen productos obscuros no destilables debidos a la producción de cetonas que polimerizan rapidamente.

Por las razones anteriores se recomienda la reacción y las condiciones que produzcan una alta conversión de ácido a cloruro para que en la destilación se eviten problemas de reacciones colaterales.

## 2.3 PROPIEDADES FISICAS

La presencia del grupo carbonilo C=O hace a los cloruros de ácido compuestos polares.

Los cloruros de ácido de menor peso que el esteárilo son líquidos a temperatura ordinaria; solamente los miembros pequeños de la serie pueden destilarse bajo presión sin descomposición excesiva. Los halogenuros de ácidos grasos son solubles en muchos solventes orgánicos pero, reaccionan rapidamente con aquellos que contienen hidrógenos sustituibles. Los miembros menores de la serie se hidrolizan con agua a mayor velocidad que los miembros mayores.

Los cloruros de ácido tienen olor irritante en parte debido a la formación de los ácidos mineral y carboxílico.

## 2.4 PROPIEDADES QUIMICAS

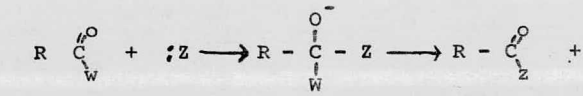
La actividad química de los derivados de acilo es debida a la presencia del grupo carbonilo en la molécula.

En estos compuestos el dipolo del carbonilo tiene dos efectos en presencia de un necleófilo o base:

a) puede ser atacado directamente por el nucleófilo

b) incrementa la acidez del hidrógeno que está unido al carbono $\alpha$

, El ataque sobre el carbonilo provoca que funciones como -OH,-Cl , -OOCR, $-NH_2$ y -OR puedan ser reemplazadas por grupos nucleófilicos, en estos casos la substitución toma lugar mas rápidamente que en los compuestos que tienen el átomo de carbón saturado.



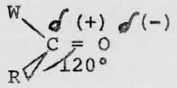
W = -OH, $Cl^-$, -OOCR, $-NH_2$,OR

Descripción mediante orbitales moleculares del grupo carbonilo.

El grupo carbonilo emplea orbitales híbridos $sp^2$ del carbón para formar enlaces $\sigma$ con el oxígeno (el cual también emplea orbitales $sp^2$) así como con los otros grupos unidos al carbonilo. El enlace $\pi$ que se forma entre el carbón y el oxígeno proviene de la -

superposición de los orbitales p de cada átomo, uniéndose éstos por doble enlace.

El carbón,el oxígeno y los 2 átomos directamente unidos al carbonilo se encuentran en un plano formando ángulos de aproximadamente 120°

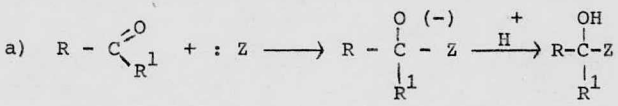


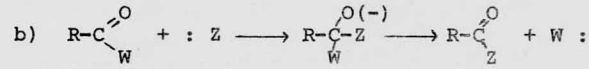

Existen dos factores que favorecen el ataque nucleofílico:

a) El factor estérico que se debe a la configuración plana del grupo carbonilo permite que el átomo de carbón electrofílico se encuentre expuesto al ataque por ambos lados sin impedimentos.

b) El factor electrónico provocado por la electronegatividad del oxígeno el cual, al atraer electrones permite que agentes nucleofílicos puedan iniciar el ataque sobre el átomo de carbono o, el oxígeno mismo pueda sufrir ataques por reactivos electrofílicos.

Del factor estérico resulta una diferencia con los aldehidos y cetonas, en ellos el intermediario gana un protón por lo que resulta una adición. En los intermediarios de acilo, el compuesto expulsa el grupo W por lo que el resultado es una sustitución.





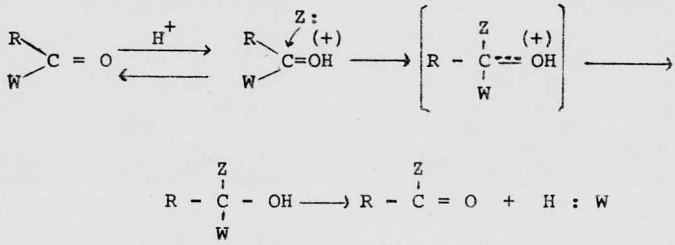
La facilidad con que sale el grupo W, está relacionada con su basicidad, una base débil es el mejor grupo saliente por lo tanto, en los cloruros de ácido, anhidridos, esteres y aminas la velocidad de salida es respectivamente $Cl^- > RCOO^- > RO^- > NH_2^-$ (el grupo saliente en aldehidos y cetonas sería el ión hidruro $H^-$ o un carbanión $R^-$ que - son bases fuertes y consecuentemente la sustitución no sucede).

La sustitución en los acilos está afectada por dos facto - res:

a) La formación de un intermediario tetraédrico que se favorece por la presencia en la molécula de grupos atractores de electrones que estabilizan la formación de la carga negativa; esta formación es retardada por la presencia de alquilos que representan impedimentos estéricos.

b) depende de las cualidades de W como grupo saliente

La presencia de un ácido que reaccione con el oxígeno del carbonilo mejora la suceptibilidad del ataque nucleofílico.

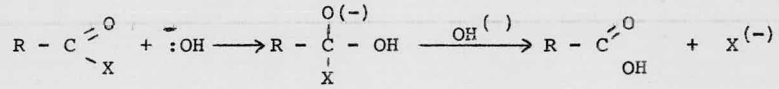


## REACCIONES DE LOS CLORUROS DE ACIDO

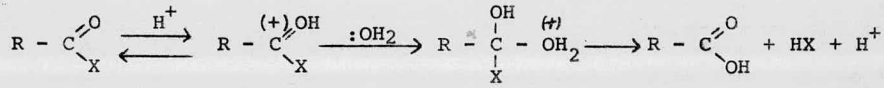
1.- Conversión a ácidos.

a) Hidrólisis.- Se ha observado que los derivados de ácido se hidrolizan más rápido en soluciones alcalinas o ácidas que en soluciones neutras.

Las soluciones alcalinas tienen iónes $OH^-$ que actúan como agentes fuertemente nucleofílicos.



Las soluciones ácidas tienen iónes $H^+$ que atacan al oxígeno del carbonilo haciendo a la molécula vulnerable al ataque de reactivos nucleofílicos tan débiles como el agua.



En la hidrólisis con agua los halogenuros de ácido alifático reaccionan más rápidamente que los halogenuros de ácido arómático esto se debe probablemente a que la carga positiva sobre el carbono del acilo se puede dispersar en parte, en el anillo aromático.

$$RCOX + H_2O \longrightarrow RCOOH + HX$$

b) Síntesis de Arndt-Eistert

Los cloruros de ácido reaccionan con diazometano, produ - ciendo diazometilcetonas que al ser calentadas con agua en presen - cia de óxido de plata, pierden nitrógeno y sufren una transposición en la que interviene el disolvente, produciendo un ácido cuya cadena de carbonos ha aumentado en un átomo de carbono con respecto al cloruro de ácido original.

$$R - \overset{O}{\overset{\|}{C}} - Cl + 2CH_2N_2 \longrightarrow R - \overset{O}{\overset{\|}{C}} - CHN_2 + CH_3Cl + N_2$$

$$R - \overset{O}{\overset{\|}{C}} - CHN_2 + H_2O \xrightarrow{Ag_2O} R - CH_2 - \overset{O}{\overset{\|}{C}} - OH$$

2.- Conversión a amidas

La técnica más usual para obtener amidas es la de Schotten Bauman, en la que el cloruro de ácido es adicionado a la amina en presencia de una base que puede ser hidróxido de sodio o piridina; éste tipo de reacciones es usual para proteger aminas.

$$RCOCl + 2\ NH_3 \longrightarrow RCONH_2 + NH_4Cl$$

$$RCOCl + R'NH_2 \longrightarrow RCONHR' \quad \text{AMIDA N SUSTITUIDA}$$

$$RCOCl + R'_2\ NH \longrightarrow RCONR'_2 \quad \text{AMIDA NN DISUSTITUIDA}$$

$$RCOCl + R'_3 \longrightarrow \text{NO REACCIONA}$$

3.- Conversión a ésteres

a) La conversión a ésteres se puede llevar a cabo con alcoholes, frecuentemente se emplea una base como piridina para eliminar el ácido clorhídrico formado; la reacción se lleva a cabo con alcoholes primarios y secundarios. Con alcoholes terciarios es necesaria la presencia de una base o metal activo como el magnesio, de lo contrario se obtiene el alqueno o el halogenuro de alquilo terciario.

$$RCOCl + R'OH \longrightarrow RCOOR' + HCl$$

b) Obtención de ésteres de dioles insaturados

$$2RCOCl \xrightarrow{2Na} R-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-R \xrightarrow{2Na}$$

$$R-C=C-R \xrightarrow{2RCOCl} R-\underset{\underset{\underset{\underset{R}{|}}{C}}{\overset{\overset{O}{|}}{O}}}{\overset{\overset{\underset{\underset{\underset{\underset{R}{|}}{C}}{\underset{\underset{O}{|}}{O}}}{|}}{C}}{|}}{C}=O$$

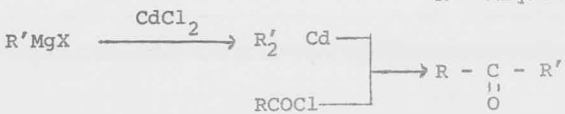
4.- Formación de cetonas

a) Reacción de Friedel-Crafts

$$RCOCl + ArH \xrightarrow[\text{u Otro ácido de Lewis}]{AlCl_3} R-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-Ar + HCl$$

b) Reacción con compuestos de organocadmio

R = Alquilo o arilo




5.- Formación de aldehidos por reducción

a) $RCOCl \xrightarrow{LiAlH\ (OBut)_3} R\text{-}CHO + LiAL\ (OTerBu)_3$

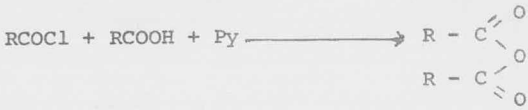
R = arilo o alquilo

b) Reacción de Rosemmund

$RCOCl + H_2 \xrightarrow{Pd/BaSO_4} RCHO + HCl$

c) $RCOCl \xrightarrow[Pd/CaCO_3 2\%]{160°C\ \ 50mmHg} RCHO$

6.- Formación de anhidridos



7.- Reacción con peróxido de sodio

Los peróxidos resultantes con inestables y producen radicales libres

$$RCOCl + Na_2O_2 \xrightarrow{\text{pentano-agua}} R - \overset{O}{\overset{\|}{C}} - O - O - \overset{O}{\overset{\|}{C}} - R + 2NaCl$$

8.- Formación de hidrazidas y ácido hidroxámico.

Los cloruros de ácido reaccionan con hidrazina e hidroxilamina para producir respectivamente hidrazidas y ácidos hidroxámicos

$$RCOCl + NH_2OH \longrightarrow R - \overset{O}{\overset{\|}{C}} - NH - OH \quad \text{ácido hidroxámico}$$

$$RCOCl + NH_2\text{-}NH - R \longrightarrow R - \overset{O}{\overset{\|}{C}} - NH - NH - R + HCl \quad \text{hidrazida}$$

9.- Transformación de nitrilos pasando vapores de cloruros de ácido mezclados con amoniaco sobre óxido de aluminio a 500°C. Primero se forma una amida y después se deshidrata a nitrilo.

10.- La reacción de cloruros de ácido con aminoácidos o productos degradados de las proteínas, están siendo investigados tanto por su posible acción terapéutica como por su importancia comercial por ejemplo la síntesis de derivados del ácido chaulmógrico, producción de agentes humectantes y dispersantes etc.

## 2.5 METODOS DE ANALISIS PARA CLORUROS DE ACIDO

1.- Determinación del ión haluro

Esta determinación se puede hacer argentométricamente sin descomposición preliminar del compuesto.

Si el producto es insoluble en agua, la titulación puede efectuarse en solventes orgánicos por ejemplo etanol, 2-propanol o dioxano.

2.- Determinación acidimétrica

a) Como ácido monoprótico con metóxido de sodio

$$RCOCl + NaOCH_3 \longrightarrow RCOOCH_3 + NaCl$$

b) Como ácido diprótico con NaOH

$$RCOCl + 2\ NaOH \longrightarrow RCOONa + NaCl + H_2O$$

Los solventes pueden ser acuosos o semiacuosos.

3.- Formación de un hidroxamato férrico

Esta prueba en primer término emplea la formación de un ácido hidroxámico por reacción del cloruro de ácido con hidroxil - amina en medio ácido.

$$RCOCl + NH_2OH \xrightarrow{HCl} RCONHOH + 2\ HCl$$

El ácido hidroxámico reacciona con cloruro férrico en soluciones ácidas para formar hidroxamátos férricos coloridos.

$$RCO\ (NHOH) + FeCl_3 \xrightarrow{HCl} Fe\ (RCONHO)^{++} + HCl$$

El cloruro férrico reacciona directamente con varios compuestos orgánicos, particularmente fenoles, produciendo sustancias que tienen coloraciones similares a las producidas con ácido hidroxámico, por lo tanto, se aconseja primero probar con cloruro férrico antes de formar el ácido hidroxámico; si se produce cualquier coloración con cloruro férrico excepto amarillo puede haber interferencias con otros compuestos por ejemplo ácidos, alcoholes, amidas, anilinas, nitrilos, imidas, isocianatos, compuestos triclorometílicos etc., sin embargo, la ausencia de color no indica la ausencia de los compuestos anteriores. Como la reacción depende del pH éste debe ajustarse entre 2-3.

Las especies que se presentan son:

$Fe\ (RCONHO)^{(++)}$ en solución fuertemente ácida

$Fe\ (RCONHO)_2^{(+)}$ en solución debilmente ácida

$Fe\ (RCONHO)_3$ en solución neutra o alcalina

4.- Formación de amidas.

En la identificación de cloruros de ácido son los derivados que más se encuentran reportados en la literatura; se pueden formar con bencilamina o anilina que producen amidas sustituídas poco solubles en agua.

La bencilamina reacciona más facilmente con los haluros de ácidos sulfonílicos y aromáticos de alto peso molecular.

La anilina reacciona facilmente con ácidos aromáticos, alifáticos y sulfonílicos.

Los ácidos carboxilicos tambien reaccionan con anilina pero forman las correspondientes sales. Se ha reportado que las anilinas de ácidos carboxílicos se forman con benceno a 200°C, 30 minutos, pero se recomienda primero obtener el cloruro del ácido.

Los anhidridos no reaccionan bajo éstas condiciones.

El producto obtenido puede recristalizarse de agua y cuantificarse gravimétricamente.

$$RCOCl + C_6H_5NH_2 \longrightarrow RCONHC_6H_5$$

$$RCOCl + C_6H_5CH_2NH_2 \longrightarrow RCONHCH_2C_6H_5$$

5.- Por cromatografía de gases.

## 2.6 DISCUSION SOBRE LOS METODOS REPORTADOS PARA ANALIZAR HALOGENUROS DE ACIDO.

Al revisar las técnicas anteriores para escoger la que proporcione la forma más adecuada para desarrollar una técnica analítica de cloruro de palmitoilo, se observó lo siguiente:

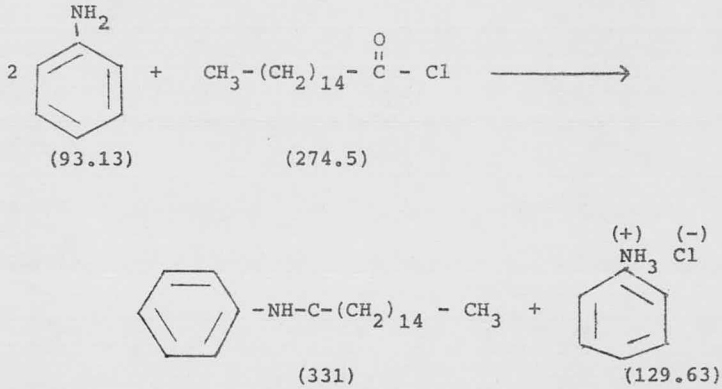
La determinación del ión halogeno, la determinación acidimétrica, la formación de ácido hidroxámico y posteriormente del hidroxamato férrico, no son convenientes porque generalmente los cloruros de ácido se encuentran contaminados con el ácido inorgánico, en nuestro caso HCl, que también puede valorarse con hidróxido de sodio o nitrato de plata y con el ácido carboxílico que al reaccionar con hidróxido de sodio produce la sal correspondiente mientras que con hidroxilamina produce compuestos coloridos que interfieren en el análisis.

La valoración por cromatografía de gases fué descartado por carecer del equipo en el laboratorio y ser rechazada la proposición de su compra por razones económicas.

La formación de amidas resultó el mejor procedimiento porque tiene la ventaja de que impurezas como los ácidos clorhídrico y carboxílico no son valorados, como productos de reacción se forman derivados insolubles en agua que pueden cuantificarse gravimétricamente o espectrofotométricamente y el material y equipo necesarios para efectuar el análisis son de uso común en el laboratorio.

De las aminas que se pueden utilizar para la formación de amidas, se escogió la anilina por su relativamente fácil adquisición y ser suficientemente reactiva con el cloruro de palmitoilo.

REACCION



## 2.7 CALCULOS ESTEQUIOMETRICOS

Cantidad de cloruro de ácido propuesta para el análisis: 1g. Anilina requerida por gramo de cloruro de palmitoílo:

2 moles de anilina - 1 mol de cloruro de palmitoílo

2 (93.13) - 274.5 g.

X - 1 g.

X = 0.678 g. de anilina

mililitros de anilina = 0.678 g/1.022 g/ml = 0.664

# PARTE EXPERIMENTAL

## 3.1 TECNICA

Se coloca en un embudo de separación de 125 ml. una solución de un gramo de cloruro de palmitoílo (3.64mmol) en 50 ml. de éter, se agregan 20 ml. de una solución al 10% (v/v) de anilina en éter, se agita cuidadosamente durante 30 segundos, se agregan - 15 ml. de ácido clorhídrico 2 N y se agita vigorosamente durante 3 minutos. Se reunen los extractos etereos y se lavan con porciones de agua de 10 ml. hasta que el pH de ellas esté entre 6 y 7.

a) Determinación gravimétrica

Se recoge la fase eterea en un matraz erlenmeyer de 250 ml. a peso constante, se evapora a sequedad y se lleva a peso constante a 50°C y 20 mm de Hg.

Se determina el peso del sólido y se calcula el por ciento de cloruro de palmitoílo con la fórmula:

$$\text{\% de cloruro de palmitoílo} = \frac{(\text{peso del sólido} - \text{gs de ac. palmítico}) \times 0.829 \times 100}{\text{peso de la muestra}}$$

$$= \frac{\text{peso del sólido} \times 0.829 \times 100}{\text{peso de la muestra}} - \text{\% ac palmítico} \times 0.829$$

$$\text{en donde } 0.829 = \frac{\text{peso molecular de cloruro de palmitoílo}}{\text{peso molecular de palmitoílanilida}} = \frac{274.5}{331}$$

El ácido palmítico libre se determina disolviendo el sólido en una mezcla alcohol-éter (1:1) previamente neutralizado con NaOH 0.1 y titulando con NaOH 0.1 N usando fenoftaleina como indicador.

$$\% \text{ ácido palmítico} = \frac{v \times N \times 0.2564 \times 100}{\text{peso de la muestra}}$$

0.2564 = miliequivalente de ácido palmítico

b) Determinación espectrofotométrica.

Se recoge la fase eterea en un matraz aforado de 250 ml y se evapora a sequedad, se afora con metanol, se toma 1 ml. de esta solución y se afora a 250 ml. con metanol.

Se determina la absorvancia a 234 mm.

$$\% \text{ de cloruro de palmitoílo} = \frac{a \times f \times 0.829}{E^{1\%}_{1\ cm} \times pm}$$

a = absorvancia

f = 62,500 (factor de dilución)

$$0.829 = \frac{\text{peso molecular de cloruro de palmitoílo}}{\text{peso molecular de palmitoil anilida}}$$

$$E^{1\%}_{1\ cm} = 450$$

El ácido clorhídrico libre se puede obtener directamente titulando, una muestra de cloruro de palmitoílo con N-tripropilamina en benceno éter, potenciométricamente siguiendo el método de Stahl y Siggia.

## 3.2 CARACTERIZACION DE LA PALMITOIL ANILIDA

El producto obtenido de la reacción se recristalizó de metanol-agua obteniéndose cristales blancos; Rf 0.69 (benceno), p.f. 89°C (reportado 90°C).

El análisis espectroscópico dió los siguientes resultados:

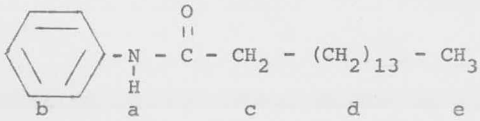
a) Ultravioleta

Presenta máximos de absorción en 204 nm ($\epsilon$ =10132) y a 243 nm ($\epsilon$=14895)

b) Infrarojo

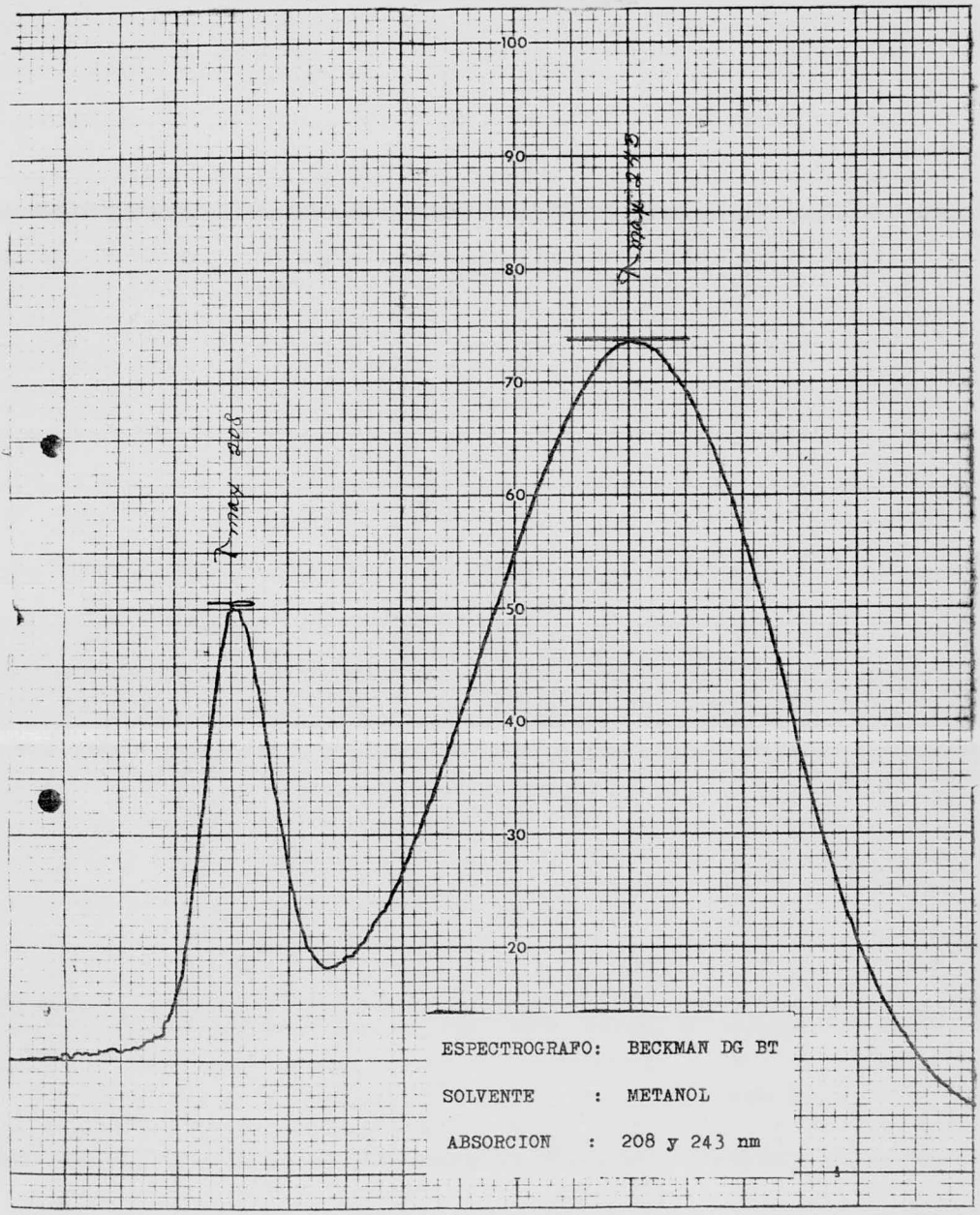
| Posición de la Banda $cm^{-1}$ | Intensidad de la banda | Asignación |
|---|---|---|
| 3300 | fuerte | N-H strech. amida sec. asociada |
| 3040 | débil | C-H Strech. aromático |
| 2900 | fuerte | C-H Strech. alifático |
| 2840 | fuerte | C-H Strech. alifático |
| 1655 | fuerte | C-O Strech. amida sec. asociada |
| 1540 | fuerte | N-H Bend. amida sec. |
| 1600 | media | C-C Strech. aromático |
| 1500 | media | C-C Strech. aromático |
| 1475 | media | C-H Bend. Alifático |
| 1450 | media | C-H Bend. alifático |
| 1375 | débil | C-H Bend. alifático |
| 1310 | media | C-H Bend. alifático |
| 1250 | chica | C-C Bend. alifático |
| 1183 | chica | C-C Bend. alifático |
| 720,755 | chica | C-H Bend. aromático } o N-H Bend. |
| 690 | media | C-H Bend. aromático } amida sec. |

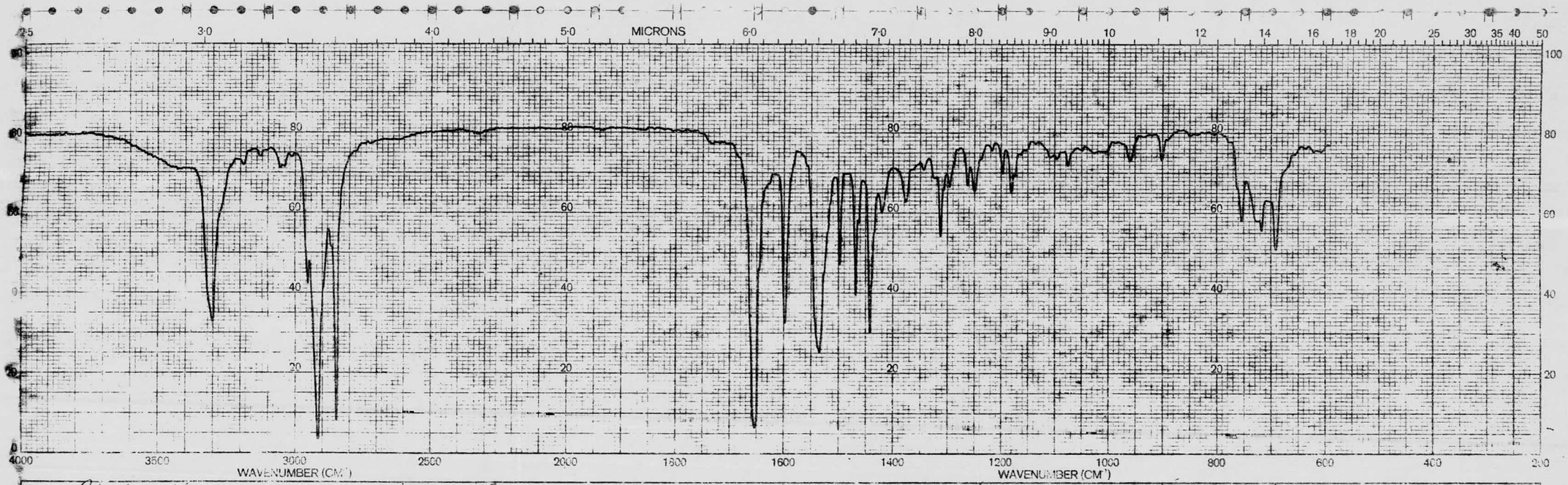
c) Resonancia magnética nuclear




| Asignación | Multiplicidad | Desplazamiento Exp. | Desplazamiento Calculado | Integración |
|---|---|---|---|---|
| a | s | 8.7 | 8.5 | 1 H |
| b | m | 7.0-7.75 | 6.97-7.67 | 5 H |
| c | t deformado | 2.35 | 2.40 | 2 H |
| d | s | 1.25 | 1.25 | 26 H |
| e | t deformado | 0.85 | 0.9 | 3 H |

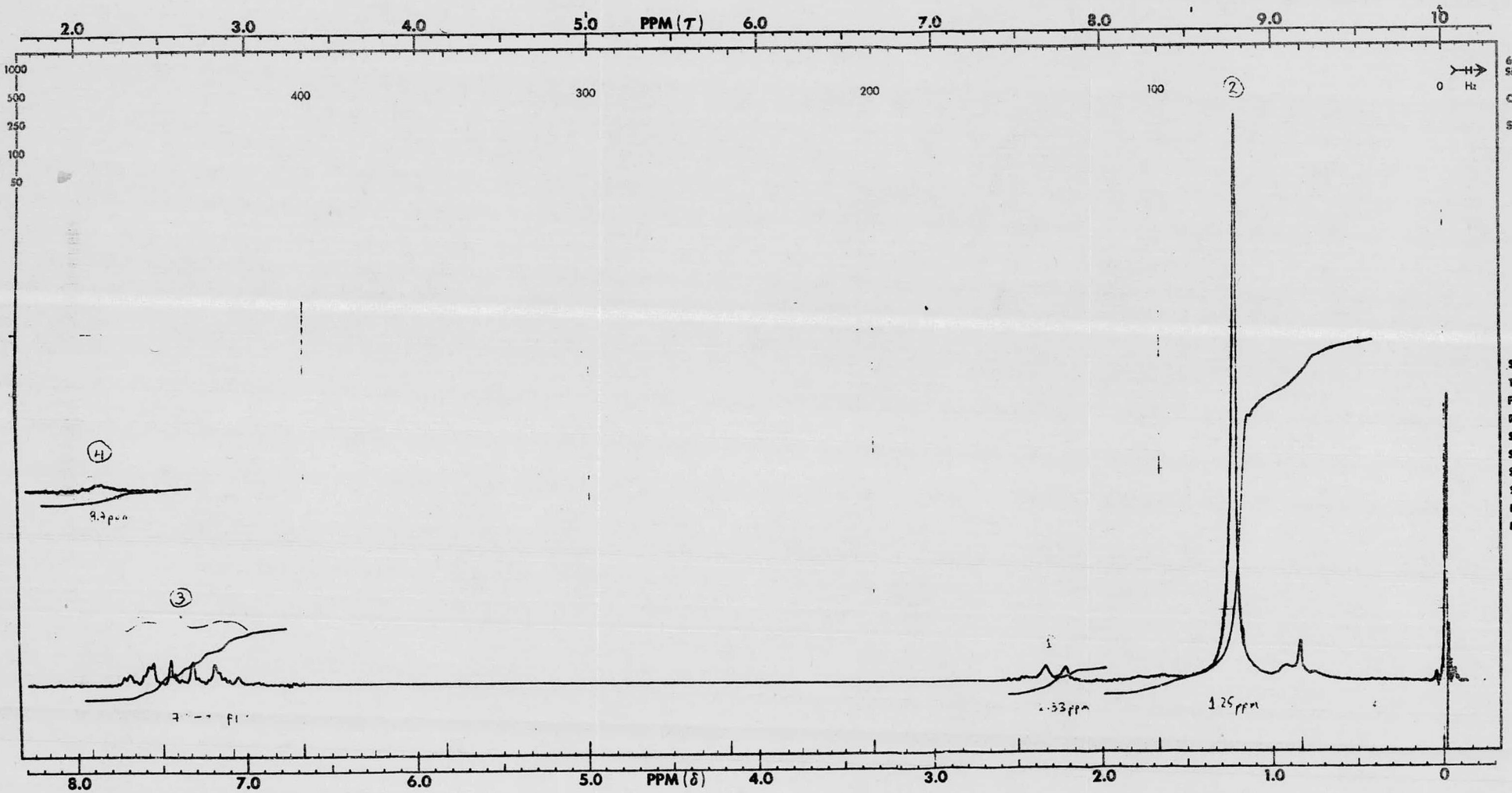
Por el análisis espectrofotométrico y las constantes fisicoquímicas anteriores, se confirma la formación de la palmitoil anilida.


100
90
80
70
60
50
40
30
20
λ max 208
λ max 243
ESPECTROGRAFO: BECKMAN DG BT
SOLVENTE : METANOL
ABSORCION : 208 y 243 nm




| | | | |
|---|---|---|---|
| SAMPLE Palmitoil amida | SOLVENT KBr | REMARKS 5 min a 10 000 lbs/in² con vacío | SCAN MODE Fast |
| | CONCENTRATION | | SLIT N TIME CONSTANT 1 |
| | CELL PATH | | PERKIN ELMER |
| ORIGIN Rosa María López Barrera | REFERENCE | | PART No. 5100 43[illegible] |

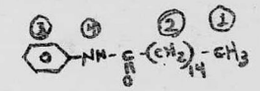
OPERATOR
DATE 14/IX/77
REF No.




60 MHz NMR
SPECTRUM NO.

OPERATOR: Kearns DATE 14/II/79

SAMPLE: Palmitoil Anilida



| | | | |
|---|---|---|---|
| SOLVENT | $CDCl_3$ | | |
| TEMPERATURE | A | | °C |
| FILTER BANDWIDTH | 4 | | Hz |
| R.F. FIELD | 0.63 | | mG |
| SWEEP TIME | 500 | | sec |
| SWEEP WIDTH | 500 | | Hz |
| SWEEP OFFSET | 60 | | Hz |
| SPECTRUM AMP. | 80 | | |
| INTEGRAL AMP. | 80 y 1.6 | | |
| REMARKS: | | | |

VARIAN associates, 611 HANSEN WAY PALO ALTO CALIF

CHART S60-C

PRINTED IN U.S.A.

3.3 CURVA ESTANDAR

La palmitoil anilida usada para elaborar la curva estándar se obtuvo por recristalizaciones sucesivas hasta que presentó una sola mancha en cromatografía de capa fina y punto de fusión fijo.

Procedimiento:

Se pasaron con exactitud cinco muestras de 10, 20, 30 40 y 50 mg. de palmitoil anilida y se llevaron a correspondientes matraces aforados de 50 ml. A cada matraz se agregó aproximadamente 20 ml. de metanol y se agitó hasta completa disolución del producto, se aforó con metanol.

Se tomo una alícuota de 1 ml. de cada matraz y se paso correspondientemente a matraces aforados de 50 ml. se aforó con metanol.

Las muestras se leyeron en el espectrofotómetro a 243 nm usando metanol como blanco.

Teóricamente la densidad óptica debería ser directamente proporcional a la concentración cumpliendo una ecuación del tipo y = mx, pero debido a las variaciones que se introducen en el proceso de medición de la densidad óptica, los datos obtenidos presentaron desviaciones a la ecuación de la recta. Asumiendo que esas dispersiones son fortuitas y pequeñas, se procedió a ajustar los puntos a una línea recta por el método de mínimos cuadrados.

Las ecuaciones para determinar los parámetros por el método de mínimos cuadrados para una línea recta descrita por la -

ecuación y = Ax + B son:

$$A = \frac{n\sum xy - \sum x \sum y}{n\sum x^2 - (\sum x)^2} \qquad B = \frac{\sum x^2 \sum y - \sum x \sum xy}{n\sum x^2 - (\sum x)^2}$$

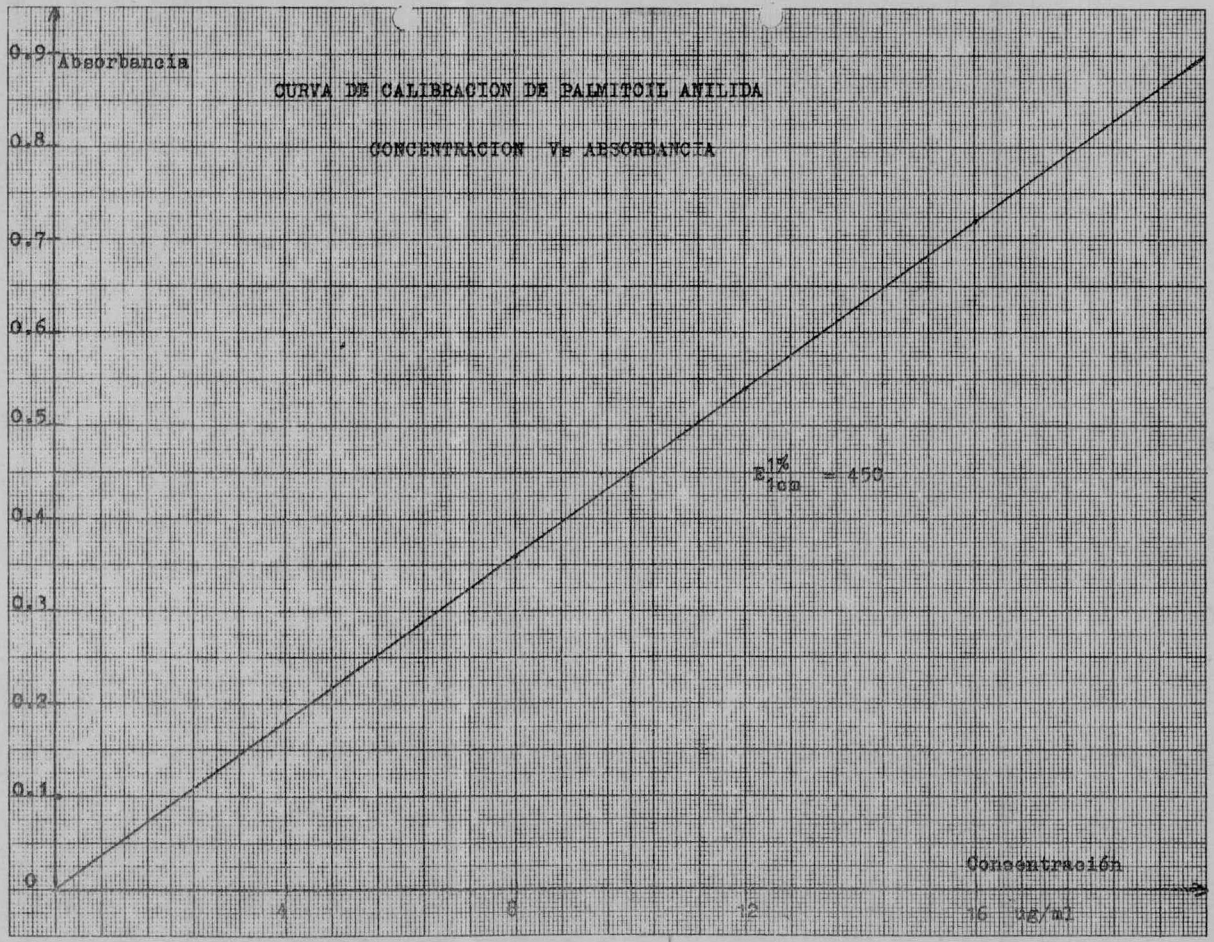
Para este caso B = O ( en ausencia de producto no hay absorción.

$$A = \frac{5\ (39.852) - 60\ (2.719)}{5\ (880) - 3600} = 0.045$$

$$y = 0.045\ x$$

| PESO DE LA MUESTRA PATRON (mg) | CONCENTRACION ug/ml | ABS. OBTENIDA | ABS. CORREGIDA |
|---|---|---|---|
| 10 | 4 | 0.188 | 0.180 |
| 20 | 8 | 0.370 | 0.360 |
| 30 | 12 | 0.545 | 0.540 |
| 40 | 16 | 0.725 | 0.720 |
| 50 | 20 | 0.891 | 0.900 |

Por lo tanto $E^{1\%}_{1cm} = 450$


CURVA DE CALIBRACION DE PALMITOIL ANILIDA
CONCENTRACION Vs ABSORBANCIA
Absorbancia
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
$E^{1\%}_{1cm}$ = 450
Concentración
4
8
12
16
ug/ml

## 3.4 ANALISIS ESTADISTICO DE LOS METODOS

Los objetivos de este análisis son:

a) Determinar la precisión o reproducibilidad del método

b) Determinar cual de las dos variantes, gravimétrica o espectrofotométrica propuestas para cuantificar el cloruro de palmitoílo es más preciso.

Para cumplir con los objetivos anteriores se analizó una muestra de un tambor de cloruro de palmitoílo 10 veces y el producto se cuantificó tanto gravimétrica como espectrofotométricamente, estos resultados fueron sujetos a los siguientes procedimientos estadísticos.

i) Determinación de la media y sus límites de confianza

ii) Determinación de la desviación estándar y varianza

iii) Determinación del coeficiente de variación

iv) Prueba de t

v) Prueba de F

RESULTADOS

| | GRAVIMETRICO | ESPECTROFOTOMETRICO | D | $D^2$ |
|---|---|---|---|---|
| 1.- | 99.77 % | 99.73 % | 0.04 | 0.0016 |
| 2.- | 100.32 % | 99.71 % | 0.61 | 0.3721 |
| 3.- | 99.90 % | 99.82 % | 0.08 | 0.0064 |
| 4.- | 100.20 % | 99.78 % | 0.42 | 0.1764 |
| 5.- | 99.97 % | 99.97 % | 0.00 | 0.0000 |
| 6.- | 99.59 % | 99.69 % | -0.10 | 0.0100 |
| 7.- | 99.65 % | 99.75 % | -.10 | 0.0100 |
| 8.- | 100.02 % | 99.67 % | 0.35 | 0.1225 |
| 9.- | 99.97 % | 100.02 % | -0.05 | 0.0025 |
| 10.- | 99.87 % | 100.08 % | -0.21 | 0.0441 |

$\bar{X} = 99.93$ $\bar{X} = 99.82$ $D = 1.04$ $D^2 = 0.7456$

$V = 0.0511$ $V = 0.0218$ $\bar{D} = 0.104$

$S = 0.2260$ $S = 0.1475$

Límites de confianza de la media

$X \pm T\ Sm$ en donde:

t = Valores de la prueba t de Student

Sm = Desviación estándar de la media $Sm = \frac{s}{\sqrt{n}}$

$$GSm = \frac{0.2260}{\sqrt{10}} = 0.07146 \qquad ESm = \frac{0.1475}{\sqrt{10}} = 0.04664$$

G = Gravimétrico  E = Espectrofotométrico

Para una probabilidad de 95%

$$\bar{X}_G = 99.93 \pm 2.228(0.07146) = 99.93 \pm 0.1592$$

$$\bar{X}_E = 99.82 \pm 2.228(0.0466) = 99.82 \pm 0.1038$$

Para una probabilidad de 99%

$$\bar{X}_G = 99.93 \pm 3.1669(0.07146) = 99.93 \pm 0.226$$

$$\bar{X}_E = 99.82 \pm 3.169\ (0.0466) = 99.82 \pm 0.1476$$

iii) Coeficiente de variación = 100 s/m

Gravimétrico = 100 x 0.226/99.93 = 0.2261 %

Espectrofotométrico = 100 x 0.1475/99.82= 0.1477 %

iv) Prueba de t

$$S' = \sqrt{\frac{n \leq D^2 - (\leq D)^2}{n(n-1)}} = \sqrt{\frac{10 \times 0.7456 - (1.04)^2}{10 \times 9}} = 0.2661$$

$$T = \pm \frac{\bar{D}\sqrt{n}}{S'} = \pm \frac{0.104\ \sqrt{10}}{0.2661} = 1.2359$$ ∴ P es mayor de 10% y menor de 25%

Prueba de F

$V_1 = 0.0511 \quad gl = 9$

$V_2 = 0.0218 \quad gl = 9$

$F_{(9)\ (9)} = \frac{V1}{V_2} = 2.344 \therefore P \quad 10\%$

RESUMIENDO

| | GRAVIMETRIA | ESPECTROFOTOMETRIA |
|---|---|---|
| MEDIA | 99.93 % | 99.82 % |
| LIMITES DE P = 95 % | $\bar{X} \pm 0.1592$ | $\bar{X} \pm 0.1038$ |
| CONFIANZA P = 99 % | $\bar{X} \pm 0.226$ | $\bar{X} \pm 0.1476$ |
| COEFICIENTE DE VARIACION | 0.2261 % | 0.1477 % |

PRUEBA DE t

La probabilidad de obtener el valor de t = 1.2359 por casualidad, es mayor de 10% y menor de 25 %, por lo tanto se puede concluir que la diferencia observada entre las medias no son estadísticamente significativas, es decir, que pertenecen al mismo universo.

Prueba de F

La probabilidad de encontrar el valor de = F = 2.344 con gl = 9 por casualidad es mayor de 10 %, por lo tanto, las diferencias observadas entre las varianzas de los dos métodos para cuantificar el cloruro de ácido no son estadísticamente significativas.

# CONCLUSIONES

La determinación del cloruro de palmitoílo mediante la formación de la amida con anilina y su cuantificación por cualquiera de las dos variantes, gravimétrica o espectrofotométrica resultó satisfactoria por:

a) Las manipulaciones experimentales sencillas y relativamente rápidas.

b) Reproducible, porque al determinar la desviación patrón, el coeficiente de variación y los límites de confianza de la media se encontró que el método en sus dos variantes produce una curva de distribución con una desviación estándar estrecha.

c) Aunque se observen diferencias entre los valores de las medias y varianzas de los métodos, al aplicar las pruebas de significancia estadística F y t se demostró que estas diferencias no son estadísticamente significativas; por lo tanto el uso de cualquiera de las dos variantes gravimétrica o espectrofotométrica para cuantificar el cloruro de palmitoílo depende de las facilidades que se tengan al efectuar el análisis, aunque se recomienda usar el método espectrofotométrico por ser más rápido y no presentar interferencias con el ácido palmítico libre.

d) Economía.

# BIBLIOGRAFIA


1.- Connors K., A textbook of pharmaceutical analysis, John Willey and Sons. Inc. U.S.A., 1967

2.- Cheronis N.D., Analysis by micro and semimicro methods, Interscience Publishers, U.S.A., 1946

3.- Cheronis N.D., Entrinkin J.B., Identification of organic compounds, Interscience Publishers, U.S.A., 1967.

4.- Cheronis N.D., Entrinkin J.B., Semimicro cualitative organic analysis; the systematic identification of organic compounds, Interscience Publishers, U.S.A., 1957.

5.- Goddo R.F. et al., Analitical chemistry, 37, 1251 (1955).

6.- Goldstein A., Biostatistics an introductory text, The McMillan Co., 1964.

7.- Mc Nair, Bonelle E.J., Basis gas cromatography, Varian Aerograph, 5a ed., U.S.A. 1969.

8.- Morrison R., Boyd R.N., Organic chemistry, Allyn and Bacon Inc., 3a ed., U.S.A., 1973.

9.- Nathan J., Diaz E., Introducción a la resonancia magnética nuclear Limusa Willey S.A., México, 1970.

10.- Patai S., The chemistry of carboxilic acids and esteres, Interscience Publishers, Great Britain, 1974.

11.- Rakoff H., Rose N.C., Química orgánica fundamental, Limusa Willey S.A., 1973.

12.- Ralston A.W., Fatty acids and their derivates, John Willey and Sons, U.S.A. 1948.

13.- Silverstein R.M., Bassler G.C., Spectrometric identification of organic compound, John Willey and Sons., 2a ed., U.S.A. 1969

14.- Simon W., Clerc T., Elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos, Tomo 1, Alhambra S.A., 1a ed. España, 1970.

15.- Smell D.F., Leslie S.E., Encyclopedia of industrial chemistry Analysis, Vol 8, Interscience Publishers, U.S.A., 1969.

16.- Snedecor G., Cochran W.G., Satatistical Methods, The Iowa State University., 6a ed'., 1974.

17.- Stall C.R., Siggia S., Analytical Chemistry, 28, 1971 (1956.)