

15  
2ej°



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

Métodos de separación para el análisis químico y el desarrollo  
tecnológico.  
Determinación espectrofotométrica por extracción líquido-líquido  
de Diclofenac sódico con una sal de cobre (II) como reactivo  
analítico.

INFORME DE SERVICIO SOCIAL  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA  
P R E S E N T A :  
NORMA ANGELICA ESPINOSA ORTEGA.

Asesora: M. en C. Guadalupe Pérez Caballero.

Cuautitlán Izcalli, Edo. de México.

1996.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLAN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



Departamento de  
Exámenes Profesionales

DR. JAIME KELLER TORRES  
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN  
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el trabajo El Informe de Servicio Social: Métodos de separación para el análisis cufrico y el desarrollo tecnológico. Determinación espectrofotométrica por extracción líquido-líquido de Diclofenac sódico con una sal de cobre (II) como reactivo analítico.

que presenta la pasante: Norma Anréllica Espinosa Ortega con número de cuenta: 8710016 - 9 para obtener el TITULO de: Química Farmacéutica Bióloga.

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 13 de Mayo de 1996

PRESIDENTE	<u>M. en C. Guadalupe Pérez Caballero</u>	
VOCAL	<u>M. en Q. Ma. Teresa Parínez Silva</u>	
SECRETARIO	<u>O.F.B. Elia Granados Enríquez</u>	
1er. SUPLENTE	<u>C.E.B. Ma. Guadalupe Rebollar Barrera</u>	
2do. SUPLENTE	<u>C.E.B. Efrén Hernández Baltazar</u>	

## DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS

- A DIOS, por darme vida cada día y permitirme ser feliz con todo lo que me has dado.
- A mis padres Teresa y Juan Manuel, por darme siempre su amor, apoyo, educación, comprensión y confianza. Siempre los tengo en mi corazón y nunca dejarán de ser importantes en mi vida.
- A mis hermanas Sara Alicia y María Teresita, por su cariño y compañía en todos los momentos que juntas hemos compartido.
- A Roberto, por el amor y comprensión que me has dado y por permitirme compartir contigo la vida. Te amo.
- A la maestra Guadalupe Pérez Caballero, por la dirección a este trabajo y por ser tan excelente persona.
- A la UNAM y a sus profesores, por la formación que he recibido.
- A todos los integrantes de la sección de Química Analítica, por ser personas tan especiales de quienes siempre se aprende.
- A la sección de Química Orgánica, por las facilidades que me dieron para imprimir este informe, en particular al M. en C. Guillermo Penieres Carrillo.
- Al laboratorio Química, por haberme proporcionado la materia prima para este trabajo.

El presente trabajo, perteneciente a la cátedra "Métodos de Separación para el Análisis Químico y el Desarrollo Tecnológico", fue realizado en el Laboratorio de Investigación del Departamento de Química Analítica L-113 de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán - Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección de la M en C. Guadalupe Pérez Caballero. Y bajo el financiamiento del programa beca-tesis de Fundación UNAM.

## ÍNDICE.

1. Introducción.	1
2. Objetivos.	3
2.1. General.	4
2.2. Específicos.	4
2.3. Académicos.	4
2.4. Sociales.	4
3. Generalidades.	5
3.1. Diclofenac sódico.	6
3.2. Proceso de extracción líquido-líquido.	9
3.3. Espectrofotometría como técnica de cuantificación.	24
3.4. Métodos para la determinación de la proporción estequiométrica y constantes de formación.	26
3.5. Validación.	28
4. Parte Experimental.	30
4.1. Cuadro Metodológico.	31
4.2. Material, Equipo y Reactivos.	32
4.3. Descripción de actividades.	34
5. Resultados y Discusión.	50
5.1. Análisis espectral.	52
5.2. Condiciones óptimas para la formación del par iónico.	53
5.3. Curva de calibración.	62
5.4. Proporción estequiométrica.	64
5.5. Estimación de la constante de formación global condicional, $\beta_2$ .	68
5.6. Validación.	73
6. Conclusiones.	84
7. Sugerencias.	86
8. Referencias.	88
9. Apéndices.	91
9.1. Tratamiento algebraico de los datos de variaciones continuas por el método de Adsul.	92
9.2. Diagrama de zonas de predominio para cobre (II).	95
9.3. Certificados de análisis de diclofenac sódico.	96

## 1. INTRODUCCIÓN.

Entre los analgésicos no esteroideos, la conocida débil acción analgésica de la aspirina y salicilatos afines, la brevedad de su acción a causa de la rápida hidrólisis y metabolismo y las manifestaciones hemorrágicas en la mucosa gástrica fueron factores muy importantes que hacían urgente la necesidad de investigar en busca de nuevos y mejores analgésicos.

Es así como la síntesis del diclofenac sódico vino a suplir la falta de un fármaco anti-inflamatorio no esteroideo con un alto índice de actividad y buena tolerabilidad. El diclofenac sódico es el primero de una serie de derivados del ácido fenilacético que han sido desarrolladas como agentes anti-inflamatorios<sup>1</sup>.

El diclofenac sódico ha sido determinado por diversas técnicas analíticas, entre las cuales se encuentran la colorimetría<sup>2</sup>, la espectrofotometría ultravioleta<sup>3</sup>, la espectrofotometría visible<sup>4-6</sup>, la cromatografía de gases<sup>7-9</sup>, la cromatografía líquida<sup>10-15</sup>, la cromatografía de capa fina<sup>16,17</sup> y la resonancia magnética nuclear<sup>18</sup>.

Entre los métodos mencionados son los espectrofotométricos los que ofrecen significativas ventajas económicas. Además, la técnica de extracción ofrece ventajas tales como simplicidad, rapidez, eficacia y gran campo de aplicación, ya que puede ser llevada desde el microanálisis hasta procesos industriales; además, es aplicable tanto para componentes principales como para elementos trazas. Por otra parte, muchos materiales orgánicos y bioquímicos poco estables, pueden ser separados por procesos extractivos con mucho menos riesgo de descomposición que con otros procesos de separación.

De esta manera han sido reportados métodos por extracción espectrofotométrica para la determinación de diclofenac sódico, utilizando violeta de metilo<sup>5</sup> y azul de metileno<sup>6</sup> como reactivos analíticos.

Se ha reportado que el diclofenac sódico forma con el cobre (II) un par iónico colorido soluble en tetracloruro de carbono y cloroformo, lo que permite su determinación espectrofotométrica posterior a una extracción líquido-líquido<sup>4</sup>.

Es por esto que el presente trabajo tiene como finalidad, el optimizar y validar un método de extracción líquido-líquido para la determinación espectrofotométrica de diclofenac sódico en materia prima empleando una sal de cobre (II) como reactivo analítico.



## **2. OBJETIVOS DEL SERVICIO SOCIAL.**

## **2.1. GENERAL**

2.1.1. Optimizar y validar un método analítico por extracción líquido-líquido para la determinación espectrofotométrica de diclofenac sódico empleando cobre (II) como reactivo analítico.

## **2.2. ESPECÍFICOS.**

2.2.1 Determinar las condiciones óptimas experimentales para la extracción del par iónico cobre (II)-diclofenac sódico.

2.2.2. Obtener la curva de calibración bajo las condiciones óptimas.

2.2.3 Obtener la proporción estequiométrica de formación del par iónico cobre (II)-diclofenac sódico.

2.2.4. Estimar mediante métodos gráficos, la constante de equilibrio del sistema de extracción involucrado.

2.2.5 Validar el método para la determinación de diclofenac sódico en materia prima.

## **2.3. ACADÉMICOS.**

2.3.1 Aplicar los conocimientos adquiridos durante la licenciatura para la resolución de un problema determinado.

2.3.2. Adquirir conocimientos nuevos que permitan la resolución de un problema determinado.

2.3.3. Obtener el título de licenciatura en la carrera de Químico Farmacéutico Biólogo.

## **2.4. SOCIAL.**

2.4.1 Obtener un método analítico sensible y selectivo, además de económico y confiable, que pueda servir para la determinación de diclofenac sódico en la industria farmacéutica y en el sector salud.

2.4.2. Contribuir al desarrollo tecnológico en la industria farmacéutica.

### **3. GENERALIDADES.**

### 3. GENERALIDADES.

### 3. GENERALIDADES.

### 3.1. DICLOFENAC SÓDICO.

#### 3.1.1. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

El diclofenac sódico, pertenece al grupo de los analgésicos anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs), los cuales son usados para tratar diversos problemas reumatológicos, como fracturas y torceduras, así como dismenorrea y otras condiciones medianamente dolorosas. El diclofenac sódico es el primer fármaco anti-inflamatorio no esteroideo aprobado por la FDA derivado del ácido fenilacético<sup>19</sup>.

Este es una sal de sodio cuyo nombre químico es [o-[(2,6-diclorofenil)-amino]-fenil]-acetato de sodio y su estructura química se muestra en la figura 3.1.

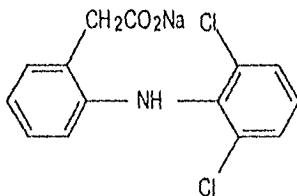


Figura 3.1. Estructura química del diclofenac sódico.

En forma general, se ha postulado que cualquier fármaco anti-inflamatorio no esteroideo debe tener una constante de acidez entre 4 y 5, un coeficiente de partición (n-octanol/agua a pH de 7.4) de aproximadamente 10 y dos anillos aromáticos cada uno presentando torsión en relación al otro. El diclofenac sódico cumple con todas estas características.

Éste es estructuralmente único, ya que incluye un grupo ácido fenilacético, un grupo amino secundario y un anillo fenilo, conteniendo dos átomos de cloro en posición orto, lo cual causa una torsión máxima del anillo (ángulo de torsión de 69°).

Su peso molecular es de 318.1. Su pKa es de 4.0. Su coeficiente de partición octanol/agua a pH de 7.4 es de 13.4.

El diclofenac sódico es un polvo cristalino blanco, ligeramente amarillo, sin olor, preparado por síntesis química<sup>20</sup>.

### 3.1.2. PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS.

En cuanto a su farmacología podemos resumir diciendo que, el diclofenac sódico actúa por medio del mecanismo de la ciclo-oxigenasa. Éste compete con el ácido araquidónico *in vitro* e *in vivo* de una manera dosis-dependiente para enlazarse a la ciclo-oxigenasa, lo que provoca un decremento en la formación de prostaglandina E<sub>2</sub>, prostaglandina F<sub>2α</sub>, prostaciclina y tromboxano A<sub>2</sub>. Por la inhibición de la producción de estas prostaglandinas, el diclofenac sódico reduce la inflamación y el dolor que acompaña a la artritis<sup>22</sup>.

En la figura 3.2, se presenta un esquema que ilustra el sitio de acción de los analgésicos anti-inflamatorios no esteroideos:

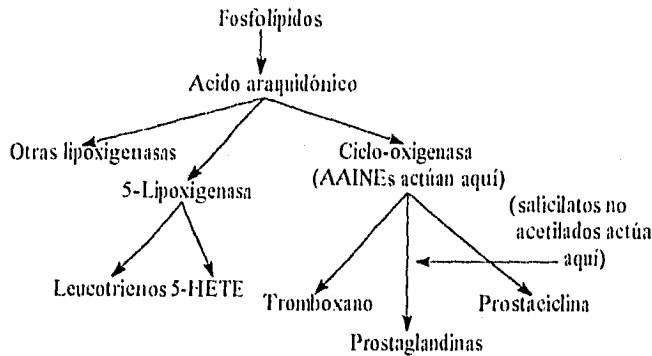


Figura 3.2. Cascada del ácido araquidónico (simplificada). AAINEs = analgésico anti-inflamatorio no esteroideo, 5-HETE = ácido 5-lidoxicicosatetranoico<sup>25</sup>.

*In vitro*, el diclofenac sódico es un potente inhibidor reversible de la segunda fase de agregación plaquetaria inducida por adenosin difosfato: sin embargo, a dosis terapéuticas en humanos, éste tiene un pequeño efecto en el tiempo de sangrado o adhesividad plaquetaria. El fármaco, además afecta la función de los leucocitos polimorfonucleares *in vitro*, por lo que se reduce la quimiotaxis, producción de radicales superóxidos tóxicos y la producción de proteasa neutral. El diclofenac sódico tiene actividades antipiréticas y analgésicas similares a las de otros AAINEs comúnmente usados<sup>21</sup>.

El diclofenac sódico es un fármaco relativamente seguro y efectivo para el cuidado a largo término en pacientes con artritis reumatoide, artritis, osteoartritis y espondilitis anquilosante. Debido a que el fármaco es estructuralmente distinto a otros AAINes, los pacientes que no responden adecuadamente a éstos, pueden beneficiarse con esta nueva alternativa. La frecuencia de efectos adversos asociados con este fármaco son generalmente similares a los reportados para otros AAINes, pero con menos efectos sobre el sistema nervioso central que la indometacina y menos efectos gastrointestinales que la aspirina o indometacina.

En 1988, la Food and Drug Administration (FDA), aprobó la venta del diclofenac sódico (Voltaren, Ciba-Geigy) para su uso en el tratamiento de artritis reumatoide, osteoartritis y espondilitis anquilosante<sup>23</sup>.



## 3.2. PROCESO DE EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO.

### 3.2.1. FUNDAMENTOS TEÓRICOS.

#### 3.2.1.1. PROCESO DE SEPARACIÓN.

La separación puede considerarse como una operación que consiste en dividir una mezcla al menos en dos partes de distinta composición, con el objeto de incrementar la fracción molar de un componente de la mezcla inicial con relación a los demás. La separación es un proceso físico, pero a menudo implica procesos químicos<sup>24</sup>.

#### 3.2.1.2. EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO<sup>24</sup>.

La extracción líquido-líquido es un caso particular de los procesos de distribución líquido-líquido, que se basan en la transferencia de una o más sustancias entre dos fases líquidas inmiscibles puestas en contacto íntimo entre sí.

La extracción líquido-líquido es una técnica en la cual las fases implicadas son dos líquidos, uno de los cuales se añade y no se forma *in situ*. El fundamento de la técnica es la diferencia de solubilidad de los solutos entre las dos fases, y las fuerzas puestas en juego se basan en procesos de partición, los cuales comprenden equilibrios de distribución a los que se pueden aplicar relaciones termodinámicas.

Los aspectos generales de la partición líquido-líquido se exponen a continuación:

##### 1) Fase orgánica inmiscible (extractante).

La principal característica que debe poseer un disolvente orgánico para su empleo en un proceso de extracción líquido-líquido es su baja solubilidad y reactividad con el agua.

Adicionalmente son aconsejables otras propiedades de la fase orgánica tales como:

- a) su punto de ebullición no debe ser excesivamente bajo,
- b) moderada presión de vapor y viscosidad,
- c) densidad adecuada para originar una correcta separación de fases,
- d) baja tendencia a formar emulsiones,
- e) alta estabilidad química, y
- f) no poseer carácter tóxico.

El extractante es la fase que, en contacto con la acuosa, permite la separación de los solutos sometidos al proceso de extracción. Normalmente se trata de un líquido orgánico inmiscible con el agua que tiene carácter no disociante e inerte (no realizan solvólisis), y en éste se disuelven fácilmente sustancias orgánicas no ionizadas, sustancias inorgánicas covalentes, pares iónicos, quelatos metálicos, etc. Es frecuente que conste de varias sustancias que son:

a) Agente extractivo: sustancia activa de la fase orgánica responsable principal de la transferencia del soluto de la fase acuosa. Realiza la formación del quelato, la solvatación, la formación de aductos previa a la extracción. Cuando la fase orgánica tiene composición única, el disolvente inmiscible ejerce esta misión. A veces se usan mezclas de extractantes, que en general, tienen ventajas respecto al uso de un único extractante.

b) El diluyente es un líquido orgánico inmiscible que contiene el agente extractante, y que generalmente tiene un papel inerte en la extracción, aunque en algunos casos se ha demostrado su participación activa: mejorando las propiedades extractivas del extractante. Los hidrocarburos alifáticos y aromáticos se usan mucho para estos fines.

c) Un modificador, es una sustancia disuelta en la fase orgánica que mejora sus propiedades, por ejemplo:

- mejora la solubilidad del agente extractante,
- mejora sus propiedades interfaciales, agentes surfactantes,
- ejerce un efecto sinérgico en la extracción.

Debe delimitarse su concentración, ya que un exceso puede alterar el proceso extractivo.

Se denomina "extracto", a la fase (en general, la orgánica), ya separada del sistema distributivo, que contiene la sustancia extraída de la otra fase (la acuosa, casi siempre).

## 2) Fase acuosa.

La fase acuosa, además de contener al soluto o solutos a separar, contiene ácidos y bases inorgánicas y a veces sustancias orgánicas que proceden del tratamiento previo para favorecer la extractabilidad de un determinado soluto o para impedir la extracción de otros.

El pH de la disolución acuosa es un factor de vital importancia en el proceso separativo. Debe especificarse este dato, y en caso de zona de gran acidez, es preciso fijar la concentración del ácido empleado. Generalmente se usan disoluciones reguladoras de

composición fija. La influencia del pH es especialmente importante en la extracción de quelatos metálicos.

Los ligandos presentes pueden ser agentes complejantes o enmascarantes y su concentración debe ser fijada con gran exactitud. Es preciso tener en cuenta la formación de complejos con ligandos que se introducen en la muestra como aniones de los ácidos, cuya presencia puede ser decisiva en el proceso separativo de ciertos cationes que forman complejos con los mismos. Para la formación de pares iónicos es recomendable la presencia de contraiones voluminosos.

Los agentes salinos son con frecuencia imprescindibles para favorecer el paso del soluto a la fase orgánica. La concentración normal de sales es a veces suficiente, pero a veces es recomendable añadir sales como  $\text{NaClO}_4$ ,  $\text{KNO}_3$  o  $\text{KCl}$  para disminuir la "actividad" del agua y favorecer la solvatación.

### 3.2.1.3. CLASIFICACIÓN DE LOS SISTEMAS DE EXTRACCIÓN<sup>25</sup>.

Fundamentalmente, existen dos categorías de complejos extractables: aquéllos que involucran enlaces químicos o de coordinación y aquéllos que se forman esencialmente por fuerzas electrostáticas o asociaciones iónicas.

#### 1) Sistemas primarios:

##### a) Complejos de coordinación simple (monodentados).

Estos están formados por la combinación de iones metálicos catiónicos, como  $\text{Hg(II)}$ ,  $\text{Ge(IV)}$  y  $\text{As(III)}$ , con ligandos aniónicos monodentados (por ejemplo aniones haluros), dando complejos neutros que son extractables en solventes hidrocarburos (por ejemplo  $\text{C}_6\text{H}_6$ ) e hidrocarburos clorinados (por ejemplo  $\text{CHCl}_3$ ).

##### b) Ácidos heteropolares.

Éstos representan una clase de complejos de coordinación, en los cuales el ión central es por sí mismo un complejo y no un monoátomo, como lo es el ácido fosfomolibdánico,  $\text{H}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3$ . Los ácidos heteropolares son altamente solvatados por enlaces de hidrógeno: de esta manera su extracción requiere el uso de solventes oxigenados.

c) Complejos de coordinación polidentada (quelatos).

Éstos están formados por el enlace de un ion metálico con ligandos, los cuales pueden ocupar por lo menos dos sitios de coordinación, resultando un compuesto cíclico.

Cuando las cargas del ion metálico y las de los ligandos se unen se forma un quelato neutro, el cual es mucho más soluble en solventes orgánicos que en un medio acuoso y es de esta forma de gran interés en procesos de extracción.

d) Complejos de asociación simple de iones (par iónico).

Iones grandes y pobremente hidratados tienden a asociarse para formar desde compuestos neutros que son solubles en agua hasta algunos que son solubles en solventes orgánicos, particularmente cuando uno de los iones tiene carácter orgánico.

2) Sistemas mixtos de extracción.

En adición a los sistemas de extracción primarios citados anteriormente, en los cuales los complejos extractables estaban formados por coordinación o par iónico, existen otros tipos diferentes en los cuales la formación del complejo extractable involucra la combinación de esas propiedades:

a) Sistemas de coordinación mixta y par iónico.

Algunos cationes metálicos forman complejos cargados negativamente con ligandos aniónicos monodentados, como los haluros, tiocianato y oxianiones. Estos complejos cuando se unen con cationes adecuados pueden ser extraídos en solventes orgánicos.

b) Sistemas de quelación mixta y par iónico.

Si un agente quelante neutral como lo es la fenantrolina reacciona con un ion metálico, el quelato resultante se carga positivamente. De esta manera, muchos cationes forman pares con aniones adecuados con  $\text{ClO}_4^-$  o  $(\text{C}_6\text{H}_5)_4\text{B}^-$  para dar especies extractables. Análogamente, si un agente quelante aniónico forma un quelato cargado negativamente y se une con cationes adecuados como  $(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{N}^+$  puede ser extraído.

c) Quelatos ligandos mixtos.

Iones metálicos cuyo número de coordinación es más de dos veces su carga eléctrica reaccionan con ligandos para formar quelatos que son denominados coordinados insaturados. Así en quelatos, como  $\text{Mg}(\text{oxinato})_2$ , los sitios de coordinación no ocupados

por agentes quelantes son llenados por agua, lo que hace que se formen complejos pobremente extractables. La extracción es mejorada cuando estas moléculas de agua son reemplazadas por ligandos orgánicos como alcoholes, cetonas, ésteres o aminas. Los sistemas de extracción que utilizan combinaciones de agentes quelantes y ligandos auxiliares pueden ser mucho mejores que aquellos que sólo utilizan uno, este fenómeno es conocido como "extracción sinérgica".

### 3.2.2. ASPECTOS TERMODINÁMICOS DE LA EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO.

#### 3.2.2.1. LA LEY DE DISTRIBUCIÓN<sup>25</sup>.

Esta ley dice que: a una temperatura dada, la relación de las concentraciones en equilibrio (es decir, las actividades) de una sustancia distribuida entre dos disolventes no miscibles, en contacto, es constante. Esta constante se llama constante de distribución.

Para un soluto X distribuido entre dos disolventes (orgánico y acuoso), al alcanzar el equilibrio se tendrá:



donde X es el soluto en la fase acuosa y  $\bar{X}$  es el soluto en la fase orgánica., aplicando la ley de acción de masas tenemos:

$$K_D = \frac{[\bar{X}]}{[X]}$$

en donde,  $K_D$  es la constante de distribución del compuesto entre el disolvente orgánico y el agua, y los corchetes denotan concentraciones.

A pesar de que la relación,  $K_D$ , es constante (depende sólo de la temperatura y la fuerza iónica) para cada soluto en un sistema de extracción determinado, existen dos factores experimentales que no afectan su valor, pero sí condicionan la proporción de soluto extraído: la cantidad de volúmenes de las fases inmiscibles y el número de veces que se alcanza el equilibrio con porciones "nuevas" de una de las fases (extracciones sucesivas).

### 3.2.2.2. RELACIÓN DE DISTRIBUCIÓN<sup>26</sup>.

La relación de distribución es muy importante en el proceso de extracción. Una especie química, puede sufrir interacciones por las demás especies distribuidas en cada fase, lo que trae consigo una desviación aparente de la constante de distribución,  $K_D$ . Esta interacción da lugar a que la especie de interés se presente en varias formas químicas, y es necesario introducir un factor más práctico que describe la extracción, llamada relación de distribución,  $D$ . Siendo ésta una relación estequiométrica que incluye todas las especies del mismo componente (iónica, complejación, polimerización, etc.) entre las fases:

$$D = \frac{\text{Concentración total en la fase orgánica}}{\text{Concentración total en la fase acuosa}}$$

Si conocemos todas las interacciones significantes de las especies distribuidas, es posible evaluar apropiadamente una expresión para  $D$  como una función de los parámetros experimentales. Si la especie de interés no reacciona en cada una de las fases,  $K_D$  puede reemplazarse por  $D$ .

### 3.2.2.3. RELACIÓN DE LOS VOLÚMENES DE LAS FASES<sup>24</sup>.

Si variamos los volúmenes de las fases, la extracción se favorecerá hacia la fase que aumente su volumen.

Si tenemos la concentración inicial del soluto,  $C_0$ , en un volumen de fase acuosa  $V_a$ , que se equilibra con un volumen de un solvente orgánico inmiscible,  $V_o$ , cuando se alcanza el equilibrio de distribución, las concentraciones serán  $C_1$  y  $\bar{C}_1$  en las fases respectivamente y haciendo el balance de materia:

$$C_0 V_a = C_1 V_a + \bar{C}_1 V_o$$

y la constante de distribución será:

$$D = \frac{\bar{C}_1}{C_1}$$

Si sustituimos  $C_1$  en la expresión anterior, tenemos:

$$C_0 V_a = C_1 V_a + DC_1 V_o = C_1 (V_a + DV_o)$$

Así, se puede calcular la concentración que queda en la fase acuosa:

$$C_1 = C_0 \frac{V_a}{V_a + DV_o}$$

Por otro lado, si dividimos el numerador y denominador por  $V_a$ , definiremos el parámetro  $r$ , que es la relación entre los volúmenes:

$$C_1 = C_0 \frac{1}{1 + D \cdot r}$$

donde:

$$r = \frac{V_o}{V_a}$$

Finalmente, si los volúmenes son iguales  $V_a = V_o$ ,  $r = 1$  y la última expresión quedará:

$$C_1 = C_0 \frac{1}{1 + D}$$

#### 3.2.2.4. EXTRACCIONES SUCESIVAS<sup>27</sup>.

En algunos casos, al realizar extracciones sucesivas, se tiene una mayor cantidad de constituyente extraído que al emplear una sola extracción con el mismo volumen de fase orgánica.

Existe una expresión matemática para encontrar la fracción retenida en la fase acuosa de constituyente que nos puede dar a conocer la fracción extraída:

$$\text{Fracción retenida} = \frac{N_a}{N_{\text{Tot}}} = \left[ \frac{1}{1 + D \cdot V_o / V_a} \right]^n$$

donde  $V_a$  es el volumen de la fase acuosa y es fija, y  $V_o$  es el volumen del disolvente orgánico utilizado en cada una de las extracciones sucesivas,  $n$  es el número de extracciones y  $N$  es el número de milimoles.

### 3.2.2.5. RENDIMIENTO EN LA EXTRACCIÓN<sup>24</sup>.

Si el rendimiento de la extracción lo representamos por R, y lo definimos como la fracción o porcentaje de la cantidad total del soluto A extraída en la fase orgánica,  $\overline{Q}_A$ , en relación con la cantidad total de soluto puesta en juego,  $Q_A$ , que se encuentra inicialmente en la fase acuosa, tendremos:

$$R_A = \frac{\overline{Q}_A}{Q_A} (100)$$

Por otro lado, si relacionamos volúmenes y concentraciones, al extraer de una disolución acuosa ( $V_a$ ) un soluto de concentración  $C_0$ , con un volumen  $V_o$  de un disolvente inmisible; cuando se alcanza el equilibrio, queda una concentración  $C_1$  en la disolución acuosa y  $\overline{C}_1$  en la fase orgánica. El factor de recuperación o rendimiento de la extracción será:

$$R = \frac{\text{milimoles fase orgánica}}{\text{milimoles iniciales}} = \frac{\overline{C}_1 V_o}{C_0 V_a} = \frac{\overline{C}_1 V_o}{C_1 V_a + C_1 V_o}$$

y, relacionando R con las concentraciones en la fase acuosa:

$$R = \frac{\text{milimoles separados de fase acuosa}}{\text{milimoles iniciales}} = \frac{C_0 V_a - C_1 V_a}{C_0 V_a} = 1 - \frac{C_1}{C_0}$$

Si se tienen diferencias de volúmenes:

$$R = 1 - \frac{1}{1 + D \cdot r} = \frac{D \cdot r}{1 + D \cdot r}$$

Finalmente, si se han realizado n extracciones sucesivas con n volúmenes iguales del disolvente orgánico inmisible, la expresión para R queda:

$$R = \frac{C_0 - C_n}{C_0} = 1 - \left[ \frac{1}{1 + D \cdot r} \right]^n$$



Las expresiones algebraicas entre la relación de distribución y el rendimiento de la extracción, son importantes pues relacionan un concepto teórico con la realidad práctica. no son inmediatas, y, por lo tanto, dificultan encontrar relaciones prácticas entre los parámetros que influyen en la extracción ( $n$  y  $r$ ) con  $R$ . De ahí que, normalmente, las condiciones de extracción se seleccionan por optimización experimental o por condiciones empíricas.

### 3.2.3. ASPECTOS CINÉTICOS DE LA EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO.

El tratamiento termodinámico de la extracción líquido-líquido sólo considera al equilibrio de la extracción, pero no el tiempo en que se alcanza dicho equilibrio. Ahora se analizarán los factores que determinan este equilibrio.

La extracción involucra procesos químicos y de transferencia de masa a través de la interfase entre los líquidos. La cinética global depende de dos etapas:

- 1) Formación de las especies a extraer.
- 2) Transferencia de materia entre las dos fases.

La extracción es determinada por el proceso más lento. Este proceso casi siempre es la formación del complejo a extraer.

Del estudio cinético, se puede deducir el mecanismo de extracción y, en particular, la naturaleza química del complejo que se extrae.

#### 3.2.3.1. VELOCIDAD DE FORMACIÓN DE ESPECIES EXTRAIBLES<sup>24</sup>.

En la mayoría de los sistemas de extracción, la agitación es muy importante; si tenemos una agitación vigorosa, la velocidad de extracción de un soluto aumenta considerablemente al paso del tiempo. Lo anterior puede representarse en la figura 3.3.

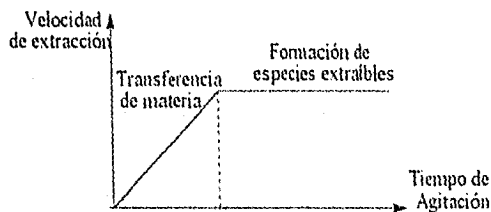


Figura 3.3. Efecto del tiempo de agitación con la velocidad de extracción.

En la extracción líquido-líquido, se consideran procesos químicos, de transporte de materia de las diversas formas en que se encuentra el soluto en las dos fases y las interacciones químicas que puedan suceder en el proceso de extracción. Si las interacciones químicas son lentas, esto influye en gran medida, en la velocidad de extracción.

Antes de llevarse a cabo la transferencia de materia, tienen lugar varios procesos previos, dos de los cuales son los siguientes:

- Interacción soluto-disolvente, los cuales pueden ser: deshidratación, solvatación, etc.
- Reacciones químicas, como son: ácido-base, redox, complejos, asociaciones iónicas, polimerización, etc., provocadas por la naturaleza de las fases o por la presencia de agentes químicos.

Por otro lado, de acuerdo con el comportamiento del soluto en el sistema de extracción, pueden suceder dos fenómenos:

- Que el soluto esté en la misma forma química en ambas fases. En este caso, sólo procesos de deshidratación y solvatación pueden afectar la velocidad de extracción. Este es el caso de la extracción de sustancias moleculares.
- Que el soluto se encuentre en diferentes formas químicas en ambas fases. Esto es, que ocurran una o varias reacciones químicas en el curso de la extracción, además de los fenómenos de deshidratación y solvatación. Si cualquiera de estos procesos es lento, éste será el que controle la cinética de la extracción.

Finalmente, veremos algunas generalidades sobre la velocidad de formación de especies extraíbles:

- La extracción de especies por formación de pares iónicos es casi siempre rápida. Sólo en ciertos casos, la lentitud de solvatación de ciertos iones provoca que el proceso sea lento e influenciado por un gran número de variables. Muchos investigadores recomiendan, en estos casos, calentar (incluso hervir) antes de proceder a la extracción.
- Sólo en contados casos, la velocidad es lenta. Esto ocurre generalmente en la extracción de quelatos metálicos.
- La velocidad de extracción disminuye, a medida que la concentración del ligando y del catión metálico disminuyen.
- Cuando existen agentes enmascarantes, la velocidad de extracción disminuye; esto es debido a que se forman especies cargadas no extraíbles. Los agentes enmascarantes actúan como inhibidores del proceso de extracción.
- En algunos sistemas, la presencia de ciertos ligandos pueden favorecer la cinética de la extracción y, por lo tanto, en la optimización del sistema de extracción. En este sentido, es

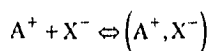
deseable que el disolvente sea totalmente inmiscible, inerte y lo más importante, que no forme emulsiones.

- El pH de la fase acuosa afecta la formación del complejo y, por lo tanto, la velocidad de extracción.
- La temperatura es otra variable importante en la velocidad de formación de las especies a extraer.

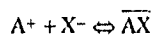
Generalmente, las especies que se forman en los sistemas de extracción son: quelatos metálicos, pares iónicos y aductos. En nuestro caso es un par iónico el que se presenta, por lo que sólo nos concretaremos al estudio de éste.

### 3.2.3.2. ASOCIACIONES IÓNICAS<sup>10</sup>.

Si bien, en la formación de pares iónicos, las fuerzas de atracción son físicas, en contraste a las fuerzas químicas que envuelven la formación de complejos de coordinación o metálicos; ambos tipos funcionan de acuerdo a la ley de acción de masas. Por lo tanto, para dos iones  $A^+$  y  $X^-$  que se asocian para formar  $(A^+, X^-)$ , según la ecuación:

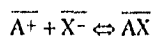


La extracción de pares iónicos se representa de la siguiente manera:



cuya constante de equilibrio, constante de extracción,  $K_{ext}$ , rige el proceso de distribución del mismo. En el estudio del proceso global de las asociaciones iónicas se deben considerar otros equilibrios colaterales:

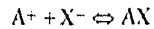
a) Formación del par iónico en la fase orgánica:



y su constante es:

$$K_f = \frac{[\overline{AX}]}{[\overline{A^+}][\overline{X^-}]}$$

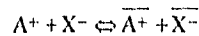
b) Formación de la asociación iónica en la fase acuosa:



y su constante es:

$$K_f = \frac{[AX]}{[A^+][X^-]}$$

c) Se puede definir una nueva constante ( $K_{ext}$ ), denominada constante de extracción iónica, que corresponde al equilibrio:



Finalmente, se obtiene:

$$(K_{ext})_i = \frac{\overline{[A^+]} \overline{[X^-]}}{[A^+][X^-]}$$

La existencia y comportamiento de tales complejos fueron predichos por N. Bjerrum. La confirmación y amplificación de la teoría se debe a Fuoss y Kraus.

El gran desarrollo práctico de la técnica de extracción de pares iónicos ha suscitado la necesidad de elucidar los mecanismos de estos procesos de extracción.

La evaluación de las constantes de velocidad en este proceso de extracción líquido-líquido se basa en la suposición de un estado estacionario para las concentraciones de sustrato en la interfase.

Aunque, el mecanismo de extracción de pares iónicos es desconocido, se han establecido distintos modelos para explicar tal mecanismo.

#### Modelo 1: Extracción global del par iónico. (figura 3.4)

En este modelo se han de considerar dos etapas.

1) Transporte de iones entre el seno de la fase acuosa y la interfase (constantes de velocidad:  $K_1$ ,  $K_{-1}$ ,  $K_2$  y  $K_{-2}$ ).

2) Transporte interfacial, formación o disociación del par iónico y transporte desde la interfase al seno de la fase orgánica (constantes de velocidad:  $K_3$  y  $K_4$ ).

Este modelo sólo es válido cuando las especies extraídas forman globalmente el par iónico en la fase orgánica.

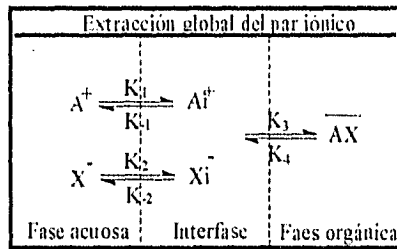


Figura 3.4. Modelo 1 de transferencia iónica.

**Modelo 2: Extracción iónica.**(figura 3.5)

En este modelo también se diferencian dos etapas:

1) Transporte de iones desde el seno de la fase acuosa a la interfase (constantes de velocidad:  $K_1$ ,  $K_{-1}$ ,  $K_2$  y  $K_{-2}$ ).

2) Transporte interfacial, formación o disociación del par iónico y transporte desde la interfase al seno de la fase orgánica (constantes de velocidad:  $K_3$  y  $K_{-3}$ ).

En este caso se considera que las especies extraídas quedan como tales iones en la fase orgánica:

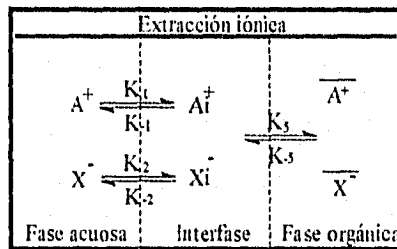


Figura 3.5. Modelo 2 de transferencia iónica.

**Modelo 3: Extracción por etapas del par iónico. (figura 3.6)**

En este modelo se considera la extracción del par iónico como un proceso por etapas.

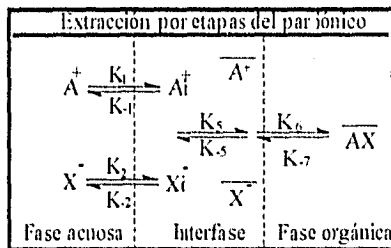


Figura 3.6. Modelo 3 de transferencia iónica.

**3.2.4. ASPECTOS TÉCNICOS<sup>24</sup>.**

**3.2.4.1. AGITACIÓN.**

La interfase de esta técnica aumenta con la agitación del sistema que contiene las dos fases. La duración de la misma puede variar entre amplios límites. Lo más normal es que con treinta segundos se consiga el equilibrio de distribución. No obstante, hay algunos ejemplos de cinética lenta, especialmente en la formación de ciertos quelatos metálicos, polimerizaciones en la fase orgánica o en la solvatación de ciertos iones. Un factor que debe tenerse presente al establecer el tiempo de agitación es la posibilidad de que alguna sustancia participante en la extracción se altere, si se prolonga excesivamente la misma.

**3.2.4.2. SEPARACIÓN.**

La completa separación de las fases es un objetivo esencial en la extracción. Debe evitarse la formación de emulsiones, para romperlas es recomendable realizar ensayos empíricos modificando la concentración y el tipo de diluyente, modificador o agente salino.

### 3.2.4.3. TEMPERATURA.

La temperatura es un factor importante en cualquier método distributivo, pero en general, las técnicas de extracción no se modifican sustancialmente entre 18°C y 30°C, que es el margen normal de la temperatura ambiente en el laboratorio.

### 3.2.5. APLICACIONES DE LA EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO.

Entre las aplicaciones y ventajas que tiene la extracción líquido-líquido, a continuación se citan algunas de ellas:

- Una importante ventaja en la extracción líquido-líquido es la conveniencia del análisis subsecuente de las especies extraídas.
- Como técnica de concentración de trazas.
- Con fines separativos, ya que es una técnica muy adecuada para la eliminación de interferencias.
- Para facilitar la determinación analítica, que a veces no es factible o está dificultada en medio acuoso.
- Como técnica de preparación y purificación de reactivos.
- Como técnica de determinación de constantes que rigen sistemas químicos y cuya aplicación permite conocer en ciertos casos los mecanismos de reacciones en disolución.

### 3.3. ESPECTROFOTOMETRÍA COMO TÉCNICA DE CUANTIFICACIÓN.

El término espectrofotometría se refiere al uso de la luz para medir las concentraciones de sustancias químicas. Es así que éste es uno de los métodos fisicoquímicos más empleados en el análisis, ya que es el de la medida de la absorción o emisión de la energía radiante. La gran difusión de esta técnica es consecuencia de los siguientes factores:

- a) El amplio intervalo de longitudes de onda o de frecuencias de energía radiante y sus diferentes modos de interacción con la materia.
- b) La existencia en el mercado de instrumentos de medida cada vez más precisos.
- c) Las ventajas inherentes al método, como es, un análisis rápido.

Además, el método es, en general, aplicable a la determinación exacta de cantidades de constituyentes mucho menores que con los métodos gravimétricos o volumétricos; es, por tanto, muy adecuado para el análisis de trazas.

Los métodos espectrofotométricos pueden llevarse a cabo en dos formas: la espectrofotometría directa, en la cual, la determinación se efectúa comúnmente en fase acuosa, en una sola etapa, y la que hace uso de la técnica de extracción líquido-líquido donde la determinación se realiza casi siempre en fase orgánica.

Al seleccionar el método de análisis se deben tomar en cuenta diversos factores como son: precisión, sensibilidad, reproducibilidad, el tiempo de desarrollo y el costo. En los métodos espectrofotométricos, la precisión está referida a la determinación de una concentración, y ésta a su vez, depende en parte de la precisión de las medidas de absorbancia.

Hace tiempo que se demostró que la transmitancia de la luz por una solución es una función exponencial de la longitud de la trayectoria ( Bouger, 1729 y Lambert, 1760) y de la concentración de la especie que absorbe (Beer, 1852). La combinación de estos descubrimientos ha llegado a ser conocida como la ley de Beer, quizás porque la dependencia de la concentración es la que más se aplica en el análisis químico. La ley de Beer está dada por:

$$A = \log \frac{I_0}{I} = abc$$



donde:

A = absorbancia, valor adimensional.

$I_0$  = intensidad de la radiación incidente.

I = intensidad de la radiación que emerge después de su paso por la solución que contiene la(s) especie(s) absorbente(s).

a = absorptividad de la(s) especie(s) en cuestión.

l = longitud del paso de la luz a través de la solución, en cm.

c = concentración de la(s) especie(s) absorbente(s). Cuando c es expresada en mol por litro, a se convierte en  $\epsilon$ , la absorptividad molar, cuyas unidades son  $l/mol \cdot cm$ .

La ley de Beer se refiere a la relación entre la concentración y la absorbancia, cuando permanecen constantes la longitud del paso óptico y la longitud de onda.

Para determinar la relación entre la concentración y la absorbancia, se efectúa la medición de absorbancia de una serie de soluciones, de la especie a determinar, a una determinada longitud de onda establecida previamente y se traza una gráfica de absorbancia como ordenada contra concentración como abscisa para obtener una curva de calibración.

La ley de Beer establece que la absorbancia es proporcional a la concentración de las especies absorbentes. Esto se verifica muy bien en el caso de soluciones diluidas de la mayoría de las sustancias. Las fallas aparentes de la ley de Beer en soluciones con concentraciones más altas pueden atribuirse a cambios en las especies absorbentes o en las propiedades de la solución.

Si los elementos a determinar dependen de la formación de especies más coloridas, se deben considerar los errores producidos por la cuantitatividad de la reacción de formación de estas especies que depende de varios factores.

La mayor parte de los errores indeterminados o desviaciones se deben a las perturbaciones en el sistema fotoeléctrico, errores en la lectura de la escala y a una posible irreproducibilidad en la colocación de las celdas de absorción. La mayoría de las desviaciones estándar son determinadas por fuentes instrumentales y generalmente ocurren a lecturas de absorbancia relativamente grandes. En concentraciones a nivel de trazas, la desviación relativa permisible es mayor que cuando se determinan altas concentraciones.

Casi siempre, el factor limitante en un análisis espectrofotométrico es la presencia de sustancias que interfieren. Hay dos tipos de interferencias: positivas y negativas. En la positiva, las sustancias interferentes pueden reaccionar con la especie a determinar o pueden formar un complejo más estable con el reactivo cromogénico y no absorber a la longitud de onda de trabajo; en la negativa, las sustancias interferentes forman especies absorbentes con el reactivo usado.

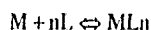
### 3.4. MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA PROPORCIÓN ESTEQUIOMÉTRICA Y CONSTANTES DE FORMACIÓN.

El conocimiento de la estequiometría y de las constantes de equilibrio asociadas a sistemas de formación de complejos, da la información necesaria para planear, modelar y predecir las condiciones óptimas de los métodos analíticos.

Existen diversos métodos para la determinación de constantes de equilibrio y estequiometría, los cuales pueden dividirse en métodos gráficos y métodos computacionales. En nuestro caso nos enfocaremos a los métodos gráficos, ya que fueron los que se emplearon. Los métodos gráficos más usados son el de variaciones continuas y el de relaciones molares.

#### 3.4.1. VARIACIONES CONTÍNUAS.

Este método es atribuido a Job. Se considera la formación de un complejo  $ML_n$  descrito por la ecuación:



donde M y L son incoloros o no absorben apreciablemente a la longitud de onda de absorción del complejo.

Una serie de soluciones son preparadas de tal manera que la suma total de la concentración molar del metal y el ligante sea una constante ( $[M]_T + [L]_T = \text{constante}$ ) en tanto que la relación de M y L varía.

Se grafica la absorbancia de cada sistema contra la fracción molar correspondiente de metal ( $[M]/([M] + [L])$ ). La gráfica presenta un máximo a la fracción molar que corresponde a la estequiometría del complejo predominante.

El método posee algunas suposiciones, como:

- \* Sólo se forma una especie en el sistema a través de la reacción de M y L.
- \* Los reactivos no participan en otros equilibrios como protonación o asociación iónica, en adición a la reacción principal.

La deformación en las curvas es indicio de que algunas de las suposiciones anteriores no se cumple; por lo que, en realidad hay pocos sistemas que se apegan a éstas.

### 3.4.2. RELACIONES MOLARES.

Para el uso de este método se hacen las mismas suposiciones que para el anterior. La representación gráfica de la absorbancia en función de la relación molar ( $[M]/[L]$ ) en una serie de disoluciones, en que  $[L]$  permanece constante y  $[M]$  varía, dando lugar a una línea recta que parte del origen y llega al punto que corresponde a la relación molar del complejo formado, a partir del cual cambia de pendiente y alcanza una absorbancia constante para la relación  $[M]/[L]$  del complejo formado.

Si el complejo  $ML_n$  formado no es muy estable, se observan desviaciones al comportamiento lineal en la vecindad de la relación molar estequiométrica. Las limitaciones para este método son las mismas que para variaciones continuas, con la excepción de que si antes de usar este método, se sabe el número de especies que absorben en solución, puede estimarse su estequiometría observando más de dos cambios en las pendientes; esto significaría que existe más de un equilibrio predominante.

### **3.5. VALIDACIÓN.**

Una parte integral del desarrollo de un método analítico es la validación del mismo. es decir, el método debe probarse para determinar su efectividad.

La validación del método analítico puede definirse como el proceso por el cual queda establecido, por medio de estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas. La capacidad se expresa en estos casos, en términos de parámetros analíticos, que proporcionan una medida del comportamiento del método analítico.

La evaluación de estos parámetros permite conocer exactamente la confiabilidad que puede proporcionar el método analítico, para ser usado en análisis de rutina de un producto (granel y/o terminado), o bien en estudios de estabilidad.

Los parámetros a determinar en la validación de un método analítico son: linealidad, precisión, exactitud, reproducibilidad, límite de detección y límite de cuantificación.

#### **3.5.1. LINEALIDAD.**

La linealidad de un sistema o método analítico es su habilidad para asegurar que los resultados analíticos son directamente proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un intervalo determinado. Es decir, mide el grado en que la respuesta del método se aproxima a una función lineal del tipo  $y = mx + b$ , al trabajar a diferentes concentraciones.

El método analítico se considera válido únicamente para la formulación específica y dentro del intervalo de concentración de interés, incluyendo siempre la correspondiente al 100%. Se analiza cada muestra y solución de referencia siguiendo el método propuesto.

La amplitud del estudio dependerá del uso y aplicaciones del método y deberá llevarse a cabo por un mismo analista en las mismas condiciones de operación.

Para evaluar este parámetro se considera el coeficiente de correlación ( $r$ ), coeficiente de determinación ( $r^2$ ), pendiente ( $m$ ), ordenada al origen ( $b$ ) y el coeficiente de variación global.

### **3.5.2. PRECISIÓN (REPETIBILIDAD)**

Es el grado de concordancia de los resultados analíticos individuales obtenidos dentro de una serie de mediciones efectuadas en una misma muestra homogénea bajo las mismas condiciones de operación (analista, día, etc). Generalmente se expresa en términos de desviación estándar o coeficiente de variación.

### **3.5.3. EXACTITUD.**

La exactitud de un método analítico es la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Se expresa como el porciento de recobro obtenido del análisis de muestras a las que se les ha adicionado cantidades conocidas de la sustancia de interés.

### **3.5.4. REPRODUCIBILIDAD.**

La reproducibilidad es la concordancia entre los resultados individuales obtenidos con el mismo método analítico y material de prueba, bajo condiciones de operación diferentes (analista, día, equipo, reactivos, etc). Se evalúa através de un análisis de variancia de dos factores.

### **3.5.5. LÍMITE DE DETECCIÓN.**

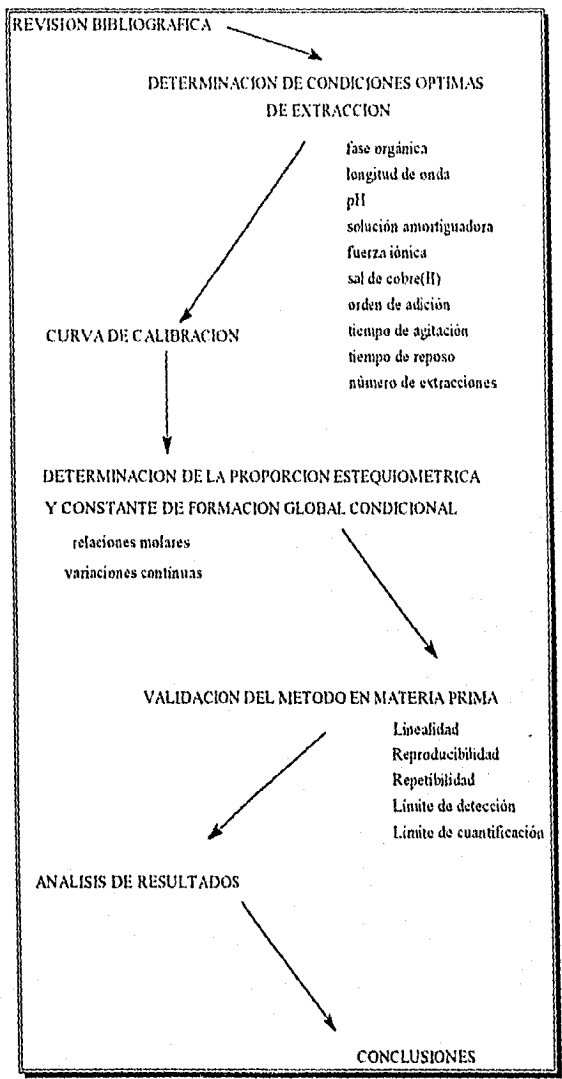
Es la mínima concentración de una sustancia en una muestra la cual puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones de operación establecidas.

### **3.5.6. LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN.**

Es la menor concentración de una sustancia en una muestra que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones de operación establecidas.

## 4. PARTE EXPERIMENTAL.

**4.1. CUADRO METODOLÓGICO.**



## 4.2. MATERIAL, EQUIPOS Y REACTIVOS.

### 4.2.1. MATERIAL DE VIDRIO:

- \* Embudos de separación de 60 mL.
- \* Pipetas volumétricas (1,2,3,4,5 y 10 mL) y graduadas (1 mL).
- \* Matraces volumétricos (10, 25, 50, 100 y 250 mL).
- \* Vasos de precipitados (10, 50, 100 y 250 mL).

Todo el material de vidrio se lava con potasa alcohólica al 40% y posteriormente se enjuaga con abundante agua.

### 4.2.2. EQUIPO:

- \* Espectrofotómetro Beckman DU-65.
- \* pH metro digital con electrodo combinado (vidrio y calomel)
- \* Balanza analítica Mettler-Toledo AB204.

### 4.2.3. REACTIVOS:

- \* Cloruro de potasio. Baker. 99.5%.
- \* Sulfato de sodio. Monterrey. 99.0%.
- \* Nitrato de potasio. Monterrey. 99.9%.
- \* Acido acético glacial. Merck. 100%.
- \* Hexamina.
- \* Biftalato de potasio. Baker. 100.02%.
- \* Acido clorhídrico fumante. Merck. 37%.
- \* Hidróxido de sodio. Merck. 85%.
- \* Acido o-fosfórico. Merck. 85%
- \* Acetato de sodio. Baker. 101.5%
- \* Acetato de cobre. Baker. 99.9%
- \* Sulfato de cobre anhidro. Mallindkrodt. 99.8%
- \* Nitrato de cobre. Baker. 100.4%
- \* Cloroformo. Baker. 99.8%
- \* Tetracloruro de carbono. Monterrey.
- \* Diclofenac sódico. (estándar secundario y materia prima)



\* Agua destilada.

El cloroformo, una vez utilizado se recupera lavándolo con una solución de ácido sulfúrico 6M y posteriormente con hidróxido de sodio al 5%, finalmente se hace una destilación fraccionada para obtener el cloroformo purificado.

El diclofenac sódico, tanto el estándar secundario como la materia prima fueron donados por el laboratorio farmacéutico CHEMIA, sus pruebas de calidad, que fueron hechas en el laboratorio farmacéutico, se encuentran en el apéndice 3.

### **4.3. DESCRIPCIÓN DE ACTIVIDADES.**

#### **4.3.1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.**

Se hizo una revisión de los artículos reportados para determinar diclofenac sódico en la revista "Chemical Abstracts" y en la base de datos de la Facultad de Estudios Superiores-Cuautitlán, posteriormente se trató de localizar los artículos completos; para ello se acudió a las hemerotecas de Facultad de Estudios Superiores-Cuautitlán, Instituto de Química, Hospital "Siglo XXI" y CINVESTAV.

#### **4.3.2. DETERMINACIÓN DE CONDICIONES ÓPTIMAS.**

##### **4.3.2.1. LONGITUD DE ONDA ÓPTIMA.**

Se formó el par iónico cobre(II)-diclofenac sódico, agregando al embudo de separación soluciones de acetato de cobre y diclofenac sódico, teniendo un volumen total de fase acuosa de 10 mL y concentraciones en el sistema de  $7.5 \times 10^{-3} \text{M}$  y  $3.2 \times 10^{-3} \text{M}$  respectivamente, se llevó a cabo la extracción agregando 5 mL de fase orgánica, se agitó por 10 minutos y posteriormente se deja en reposo por 5 minutos para que las fases se separen.

Se hicieron dos extracciones distintas, variando la fase orgánica, una con tetracloruro de carbono y otra con cloroformo.

A los extractos orgánicos obtenidos se les corrió un barrido espectrofotométrico de 800 a 500 nm, contra un blanco reactivo. Los blancos reactivos se hicieron agregando acetato de cobre al embudo de separación y completando el volumen de fase acuosa a 10 mL, quedando la concentración final de acetato de cobre  $7.5 \times 10^{-3} \text{M}$ . Posteriormente, se agregaron 5 mL de fase orgánica y se agitó, se dejó en reposo el mismo tiempo que para las extracciones con diclofenac sódico y los extractos así obtenidos se utilizaron como blancos para calibrar el espectrofotómetro.

##### **4.3.2.2. NATURALEZA DE LA FASE ORGÁNICA Y EFECTO DEL pH.**

Este estudio se hizo con tetracloruro de carbono y cloroformo, en dos etapas, una sin amortiguar el pH y otra amortiguándolo, ambos casos a diferentes valores de pH.

La primera parte se hizo imponiendo el pH con soluciones de hidróxido de sodio y ácido clorhídrico aproximadamente 0.01M, a valores de pH de 3 a 8, la segunda parte se hizo imponiendo el pH con ácido acético/acetato de sodio en el mismo rango de pH.

Se hicieron blancos reactivos para todos los valores de pH y para ambas fases orgánicas. Los extractos orgánicos se leyeron contra estos blancos reactivos y además estos blancos reactivos se leyeron contra tetracloruro de carbono puro o cloroformo puro, según correspondiera, para observar que absorbancia presentaban o en el caso de que no presentaran absorbancia a los distintos valores de pH poder utilizar como blanco directamente al solvente, sin necesidad de preparar un blanco reactivo para cada extracción.

#### 4.3.2.3. NATURALEZA Y CONCENTRACIÓN DEL SISTEMA AMORTIGUADOR.

Para llevar a cabo este estudio, se prepararon diferentes sistemas amortiguadores. Estos fueron: hexamina, biftalato/hidróxido de sodio, ácido fosfórico/fosfato de sodio y ácido acético/acetato de sodio, todos a concentración en el sistema de 0.02M. El intervalo de pH probado fué de 4 a 7, variando en una unidad de pH. A todos los sistemas se les realizó un barrido espectrofotométrico para determinar  $\lambda$  máxima, ya que algunos de éstos modificaban la longitud de onda de máxima absorción.

Con el mejor sistema amortiguador se procedió a encontrar su concentración óptima, para ésto se hicieron extracciones con concentraciones de amortiguador en el sistema de 0.01M, 0.02M y 0.03M.

#### 4.3.2.4. FUERZA IÓNICA.

Este estudio se realizó probando diferentes sales que impusieran fuerza iónica. Estas sales fueron: sulfato de sodio, nitrato de potasio y cloruro de potasio, ya que además de ser las más comunes para imponer fuerza iónica, son con las que se contaba en el laboratorio. Se probaron a fuerzas iónicas de 0.4 y 1.

Con la sal que presentó mayor absorbancia, es decir, que mejoró la extracción, se hizo un perfil de fuerza iónica, variando la fuerza iónica en un intervalo de 0.0 a 0.9, para encontrar la óptima.

#### 4.3.2.5. NATURALEZA DE LA SAL DE COBRE (II).

Se estudiaron diferentes sales de cobre (II), las cuales fueron: acetato de cobre, cloruro de cobre, nitrato de cobre y sulfato de cobre anhidro. Las extracciones se hicieron a

la misma concentración de cobre para las tres diferentes sales, que fué de  $7.5 \times 10^{-3} \text{M}$  en el sistema y variando los valores de pH en un intervalo de 5.6 a 6.4 con una variación de 0.2 unidades de pH.

#### 4.3.2.6. ORDEN DE ADICIÓN.

Se hicieron diferentes extracciones variando el orden de adición de las diferentes soluciones (diclofenac sódico, sal de cobre(II), nitrato de potasio, y solución amortiguadora).

#### 4.3.2.7. TIEMPO DE AGITACIÓN.

Se hicieron varias extracciones variando el tiempo de agitación de 1 a 10 minutos, variando a intervalos de un minuto.

#### 4.3.2.8. TIEMPO DE REPOSO.

Bajo las condiciones óptimas preestablecidas, se realizaron extracciones variando el tiempo de reposo de 1 a 10 minutos, a intervalos de un minuto.

#### 4.3.3. CURVA DE CALIBRACIÓN.

Se realizaron tres curvas de calibración, una curva para cada sal de cobre (acetato, sulfato anhidro y cloruro).

Las concentraciones de diclofenac sódico empleadas fueron: (1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 y 15)  $\times 10^{-3} \text{M}$ , la de la sal de cobre fué de  $1 \times 10^{-2} \text{M}$  para todas las concentraciones de diclofenac sódico, es decir para todos los sistemas.

Las extracciones se hicieron a las condiciones óptimas encontradas.

#### 4.3.4. ESTEQUIOMETRÍA.

Para determinar la estequiometría del par iónico se emplearon dos métodos gráficos que anteriormente, en el capítulo 3, se explicaron que son el de variaciones continuas y el de relaciones molares.

Antes de ver cada uno de los métodos hay que mencionar que las consideraciones que se hacen para el manejo teórico son:

- la reacción de formación del par iónico es cuantitativa,
- la especie que absorbe es únicamente el par iónico  $\text{Cu}(\text{DCF})_n$ ,
- a las concentraciones de trabajo se cumple la ley de Beer y
- la absorbancia es obtenida a una longitud de onda constante.

#### 4.3.4.1. VARIACIONES CONTÍNUAS.

Este método gráfico útil para la determinación de la estequiometría y de la constante de equilibrio, como se dijo anteriormente, consiste en preparar sistemas donde vayan variando las concentraciones del metal y del ligando en forma simultánea, manteniendo constante la concentración total en el sistema.

Para poder ilustrar este método, partiremos de la siguiente tabla de variación de concentraciones molares, en la cual  $[\text{DCF}] + [\text{Cu}^{2+}] = C_0$  en cualquier punto de la tabla:

	$\text{Cu}^{2+}$	+	$n\text{DCF}$	$\rightleftharpoons$	$\text{Cu}(\text{DCF})_n$
inicio)	$C_0(1-x)$		$x C_0$		
APE)	$C_0(1-x - \frac{x}{n}) + \epsilon C_0$		$n\epsilon C_0$		$\frac{x}{n} C_0 - \epsilon C_0$
PE)	$\epsilon C_0$		$n\epsilon C_0$		$\frac{1}{n+1} C_0 - \epsilon C_0$
DPE)	$\epsilon C_0$		$C_0(x - n + nx) + \epsilon C_0$		$C_0(1-x)$

Tabla 4.1. Variaciones de concentraciones molares para el método de variaciones continuas.

donde:

DCF = Diclofenac sódico,

x = Fracción molar de diclofenac sódico,

n = Coeficiente estequiométrico,

$C_0$  = Concentración total en el sistema. ( $C_{\text{Cu}^{2+}} + C_{\text{DCF}} = \text{constante}$ ),

$\epsilon$  = Factor de cuantitatividad.

APE = Antes del punto de equivalencia,

PE = En el punto de equivalencia,

DPE = Después del punto de equivalencia.

Para obtener la curva de variaciones continuas, se grafican las absorbancias en función de  $x$  (fracción molar de diclofenac sódico). El aspecto de este gráfico dependerá de las siguientes expresiones de absorbancia:

$$\text{APE} \quad A = \epsilon / (Co/n)x \quad \text{Ec.4.1}$$

$$\text{DPE} \quad A = \epsilon / Co(1-x) = \epsilon / Co - \epsilon / Cox \quad \text{Ec. 4.2}$$

donde:

$\epsilon$  = coeficiente de absortividad molar.

$Co$  = concentración del par iónico.

$x$  = fracción molar de diclofenac sódico.

$n$  = coeficiente estequiométrico.

APE = Antes del punto de equivalencia,

DPE = Después del punto de equivalencia.

La primera ecuación representa una línea recta con ordenada al origen igual a cero y pendiente positiva igual a  $\epsilon / (Co/n)$ . La segunda ecuación corresponde a una línea recta con ordenada al origen igual a  $\epsilon / Co$  y pendiente negativa igual a  $\epsilon / Co$ . Esto da lugar a curvas típicas como se muestran en la figura 4.1.

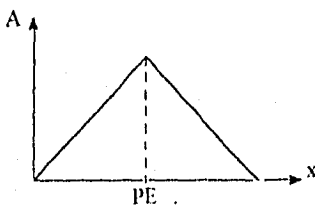


Figura 4.1. Gráfica típica obtenida por el método de variaciones continuas.

Para encontrar el valor de  $x$ , donde ambas rectas se unen, podemos igualar las ecuaciones que describen las concentraciones de cobre (II), de diclofenac sódico o del par iónico antes del punto de equivalencia y después del punto de equivalencia ya que a partir de estas igualdades podemos despejar el valor de  $n$ .

En el presente trabajo, el manejo teórico para todos los casos, se realizará igualando la concentración de cobre (II) antes del punto de equivalencia con la concentración de cobre (II) después del punto de equivalencia quedando.

Así que a partir de la tabla de variaciones de concentraciones molares (tabla 4.1) igualamos las concentraciones de cobre (II), antes y después del punto de equivalencia, obteniendo:

$$C_0(1 - x - \frac{X}{n}) + \epsilon C_0 = \epsilon C_0$$

Despejando n, tenemos:

$$1 - x - \frac{X}{n} = \frac{\epsilon C_0 - \epsilon C_0}{C_0}$$

$$1 - x - \frac{X}{n} = 0$$

Finalmente obtenemos que:

$$n = \frac{X}{1 - x}$$

Al mismo tiempo podemos despejar el valor de x, quedando como:

$$x = \frac{n}{n + 1}$$

De esta manera conociendo la fracción molar en el punto de equivalencia, donde la absorbancia toma un valor máximo, podemos conocer el valor de n y así podemos hacer una pequeña tabla de valores teóricos de n, si sustituimos valores de x en la ecuación anterior (tabla 4.2).

x	n
0.50	1
0.66	2
0.75	3
0.80	4

Tabla 4.2. Valores teóricos del coeficiente estequiométrico, n.

Los sistemas que se prepararon para la experimentación, fueron los mismos que se describen en el siguiente apartado, que es el método clásico de variaciones continuas.

#### 4.3.4.2. MÉTODO DE JOB PARA LA DETERMINACIÓN DE n.

Al igual que el anterior, en este método se calcula n a partir de los valores de absorbancia obtenidos por el método de variaciones continuas.

A partir de las pendientes de las ecuaciones 4.1. y 4.2. podemos ver que es factible obtener el valor de n, si igualamos ambas ecuaciones, quedando la siguiente relación:

$$\frac{m_2}{m_1} = \frac{\epsilon / C_0}{\frac{\epsilon / C_0}{n}}$$

Despejando n, obtenemos:

$$\frac{m_2}{m_1} = n$$

#### - Preparación experimental de los sistemas:

Para nuestro caso, se prepararon sistemas que tuvieran la concentración total del sistema (Co) de 0.015 M, variando las concentraciones en intervalos de 0.0005 M tanto para el diclofenac sódico como para el cobre (II).



La preparación de los sistemas puede resumirse en la tabla 4.3.

mmoles de DCF	Fración molar de DCF
12	1.0000
0.145	0.9667
0.140	0.9333
0.135	0.9000
0.130	0.8666
0.125	0.8333
0.120	0.8000
0.115	0.7667
0.110	0.7333
0.105	0.7000
0.100	0.6667
0.095	0.6333
0.090	0.6000
0.085	0.5667
0.080	0.5333
0.075	0.5000
0.070	0.4667
0.065	0.4333
0.060	0.4000
0.055	0.3667
0.050	0.3333
0.045	0.3000
0.040	0.2667
0.035	0.2333
0.030	0.2000
0.025	0.1667
0.020	0.1333
0.015	0.1000
0.010	0.0667
0.005	0.0333
0.000	0.0000

Tabla 4.3. Sistemas para el método de variaciones continuas.

#### 4.3.4.3. RELACIONES MOLARES.

Este método consiste en preparar diferentes sistemas de las dos especies involucradas donde se mantiene constante la concentración de una y se varía la concentración de la otra.

Este método se realizó de dos maneras; una manteniendo constante la concentración de cobre (II) y variando la de diclofenac sódico y la otra fué a la inversa, es decir, manteniendo constante la concentración de diclofenac sódico y variando la de cobre (II). Esto fué con el objeto de confirmar el valor de n, en ambas formas.

Para ilustrar este método podemos partir de una tabla de variación de concentraciones molares para cada uno de los casos. ([DCF] = constante o  $[Cu^{2+}] =$  constante ).

- Sistema con la concentración de cobre (II) constante y concentración de diclofenac sódico variable.

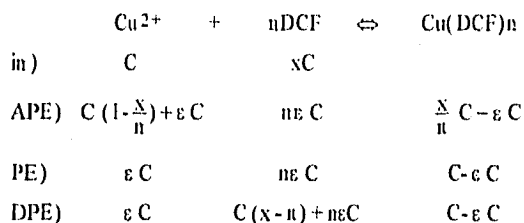


Tabla 4.4. Variaciones de concentraciones molares para el método de relaciones molares manteniendo la concentración de cobre (II) constante.

donde:

DCF = Diclofenac sódico,

x = Relación molar

n = Coeficiente estequiométrico,

C = Concentración inicial de cobre (II),

$\epsilon$  = Factor de cuantitatividad,

APE = Antes del punto de equivalencia,

PE = En el punto de equivalencia,

DPE = Después del punto de equivalencia.

Si igualamos las concentraciones de cobre (II) antes del punto de equivalencia y en el punto de equivalencia, podremos obtener la ecuación que define a n, así que tenemos:

$$C(1 - \frac{x}{n}) + \epsilon C = \epsilon C$$

$$1 - \frac{x}{n} = \frac{\epsilon C - \epsilon C}{C}$$

$$1 - \frac{x}{n} = 0$$

Finalmente, despejando n:

$$n = x$$

- Sistema con la concentración de diclofenac sódico constante y concentración de cobre (II) variable.

in)	$\text{Cu}^{2+}$ xC	+	$n\text{DCF}$ C	$\Leftrightarrow$	$\text{Cu}(\text{DCF})_n$
APE)	$\epsilon C$		$C(1 - nx) + n\epsilon C$		$nx C - \epsilon C$
PE)	$\epsilon C$		$n\epsilon C$		$\frac{1}{n} C - \epsilon C$
DPE)	$C(x - \frac{1}{n}) + \epsilon C$		$n\epsilon C$		$\frac{1}{n} C - \epsilon C$

Tabla 4.5. Variaciones de concentraciones molares para el método de relaciones molares manteniendo la concentración de diclofenac sódico constante.

donde :

DCF = Diclofenac sódico,

x = Relación molar  $\frac{[\text{Cu}^{2+}]}{[\text{DCF}]}$

n = Coeficiente estequiométrico,

C = Concentración inicial de diclofenac sódico,

$\epsilon$  = Factor de cuantitatividad,  
APE = Antes del punto de equivalencia,  
PE = En el punto de equivalencia,  
DPE = Después del punto de equivalencia.

Al igualar las concentraciones de cobre (II) antes del punto de equivalencia y después del punto de equivalencia, tenemos:

$$C(x - \frac{1}{n}) + \epsilon C = \epsilon C$$

Despejando n, tenemos:

$$x - \frac{1}{n} = \frac{\epsilon C - \epsilon C}{C}$$

$$x - \frac{1}{n} = 0$$

Finalmente, obtenemos:

$$n = \frac{1}{x}$$

Como podemos observar, dependiendo de la especie que se mantenga constante, el coeficiente estequiométrico n se calcula de manera diferente, ya que en ambos casos, éste está referido al diclofenac sódico, es decir n es el coeficiente estequiométrico del diclofenac sódico.

- Preparación experimental de los sistemas:

En la tabla 4.6, se muestran las concentraciones de diclofenac sódico y de cobre(II) que se utilizaron en cada método.

[DCF][=]M	[Cu][=]M
0.001	0.001
0.002	0.002
	0.003
0.004	0.004
0.005	0.005
0.006	0.006
0.007	0.007
0.008	0.008
0.009	0.009
	0.010
0.011	0.011
0.012	0.012
	0.013
	0.014
	0.015
[Cu <sup>2+</sup> ] = 0.0059M	[DCF] = 0.01M

Tabla 4.6. Sistemas para el método de relaciones molares.

Cabe mencionar que para ambos métodos, el de variaciones continuas y el de relaciones molares se realizaron las extracciones tomando en cuenta las condiciones óptimas de extracción previamente obtenidas.

#### 4.3.5. ESTIMACIÓN DE LA CONSTANTE CONDICIONAL DE FORMACIÓN $\beta_2'$ .

En el presente trabajo sólo fue considerada la estimación de la constante de formación, ya que no hubo el control adecuado de parámetros tales como fuerza iónica, temperatura, etc. que influyen en la determinación de la constante. Así pues, dadas las condiciones experimentales sólo se pretende reportar un valor estimado de dicha constante, empleando para tal fin el método clásico de relaciones molares y el método de Adsul.

#### 4.3.5.1. MÉTODO CLÁSICO DE RELACIONES MOLARES.

El método de relaciones molares permite la estimación de la constante condicional de formación, aunque con la misma aproximación que el método clásico de variaciones continuas. Es decir, en este caso la estimación de la constante se lleva a cabo tomando en cuenta un sólo punto experimental, el de máxima absorbancia.

En nuestro caso se realizaron las curvas experimentales por el método de relaciones molares en función de la concentración de diclofenac sódico a dos diferentes concentraciones de cobre (II) Una fue a 0.01 M (0.0118 M solución valorada) y la otra a 0.005 M (0.0059 M solución valorada).

Se realizó el gráfico de absorbancia en función de fracción molar de diclofenac sódico para ambas concentraciones de cobre (II) por el método de relaciones molares y a partir de ambas curvas se estimó la constante tomando en cuenta que en el punto de equivalencia podemos conocer  $\alpha$ , que es el grado de disociación del par iónico. A partir de:

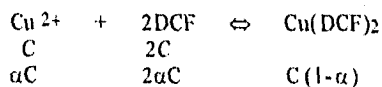
$$\alpha = \frac{A_m - A_s}{A_m}$$

donde:

$A_m$  = absorbancia máxima teórica.

$A_s$  = absorbancia experimental.

Si conocemos el grado de disociación del complejo, la estequiometría de la reacción y la concentración inicial de los reactivos, podemos conocer la constante de formación condicional mediante el siguiente equilibrio en el punto de equivalencia:



$$\beta_2' = \frac{C(1-\alpha)}{(\alpha C)(2\alpha C)^2}$$

donde:

$C$  = concentración inicial de cobre (II).

$\beta_2'$  = constante de formación global condicional.

#### 4.3.5.2. MÉTODO DE ADSUL.

La estimación de la constante condicional, se llevó a cabo aplicando el método de variaciones continuas mediante el tratamiento de Adsul<sup>28</sup>. Dicho tratamiento consiste en elegir dos puntos isocrónicos a partir de una curva de variaciones continuas y mediante un tratamiento algebraico de expresiones matemáticas que dependen de parámetros fotométricos (tales como la absorbancia y el coeficiente de absortividad molar) se pueden determinar gráficamente los valores de absortividad molar y de la constante condicional de formación ( $\beta_2'$ ).

Se realizó el gráfico de absorbancia en función de la fracción molar de diclofenac sódico, a partir del método de variaciones continuas. De esta gráfica se tomaron dos puntos isocrónicos y se efectuaron los cálculos para la estimación de la constante, partiendo de la siguiente ecuación lineal del tipo  $y = b + mx$  que deduce Adsul: (apéndice 1):

$$(1-x)x^2 = Y + \frac{A}{\epsilon C_0} (2x - 1.5x^2)$$

donde:

$$\begin{aligned} y &= (1-x)x^2, \\ m &= \frac{A}{\epsilon C_0}, \\ x &= (2x - 1.5x^2), \\ b &= Y. \end{aligned}$$

Al mismo tiempo:

$$Y = \frac{l}{C_0^3} \left[ \frac{A}{\epsilon \beta_2} + 0.5 \frac{A^3}{\epsilon^3} - C_0 \frac{A^2}{\epsilon^2} \right]$$

siendo:

$x$  = fracción molar de diclofenac sódico (punto isocrónico elegido),

$\epsilon$  = coeficiente de absortividad molar del par iónico y

$C_0$  = concentración total en el sistema.

#### 4.3.6. VALIDACIÓN.

##### 4.3.6.1. LINEALIDAD DEL SISTEMA.

La linealidad del sistema se determinó, construyendo una curva de calibración (concentración vs. respuesta medida), se utilizan cuando menos cinco diluciones a partir de una misma solución patrón y se hace el análisis cuando menos por triplicado para cada dilución.

Se realizó construyendo una curva de calibración, utilizando las concentraciones de diclofenac sódico estándar secundaria de (1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 y 15) $\times 10^{-3}$ M, y la sal de acetato de cobre a una concentración de  $1 \times 10^{-2}$ M tomando en cuenta las condiciones óptimas experimentales encontradas.

El análisis se hizo por triplicado para cada concentración y en dos días diferentes.

##### 4.3.6.2. PRECISIÓN DEL SISTEMA.

La precisión del sistema se realizó mediante la determinación por sextuplicado de una misma solución de diclofenac sódico que fué la de concentración  $9 \times 10^{-3}$ M y bajo las condiciones óptimas alcanzadas.

##### 4.3.6.3. LINEALIDAD DEL MÉTODO (PARA MATERIA PRIMA).

La linealidad del método se determina a partir de placebos a los que se les adiciona cinco diferentes cantidades del principio activo, cada uno preparado en forma independiente, se hace el análisis por triplicado. Se tratan los datos experimentales de tal manera que la cantidad recuperada esté en función de la cantidad adicionada.

Se determinó al construir una curva de calibración para 2 lotes distintos de materia prima. Utilizando concentraciones de diclofenac sódico de (0.318, 0.954, 1.591, 2.226 y 2.863) mg/mL.

El análisis se realizó por triplicado para cada concentración y bajo las condiciones óptimas alcanzadas.



#### 4.3.6.4. PRECISIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO (REPETIBILIDAD) AL 100%.

Se determina al analizar por sextuplicado una concentración de  $9 \times 10^{-3} \text{M}$ , preparada de manera independiente para un lote de materia prima, bajo las condiciones óptimas.

#### 4.3.6.5. EXACTITUD DEL MÉTODO ANALÍTICO.

Para la exactitud del método analítico, se emplearon los datos de linealidad del método de cantidad recuperada, transformándolos a porcentajes recuperados.

#### 4.3.6.6. REPRODUCIBILIDAD DEL MÉTODO ANALÍTICO.

La reproducibilidad del método, se determinó mediante el análisis de diclofenac sódico a una concentración de  $9 \times 10^{-3} \text{M}$  de un lote de materia prima, por triplicado, por dos analistas y en dos días diferentes.

#### 4.3.6.7. LÍMITE DE DETECCIÓN Y DE CUANTIFICACIÓN.

Para conocer el límite de detección y de cuantificación se analizaron por triplicado 5 soluciones de diclofenac sódico a diferentes concentraciones bajo las condiciones óptimas experimentales.

## **5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.**

Se encontraron tres artículos donde se presenta la formación de pares iónicos insolubles en agua extraíbles con solventes orgánicos para la determinación de diclofenac sódico en materia prima y producto terminado. Uno de ellos es el par iónico compuesto por violeta de metilo-diclofenac sódico<sup>5</sup>, éste se extrajo a pH de 7.6 con amortiguador de fosfatos con cloroformo, siguiendo una estequiometría 2:1, los límites en que se siguió la ley de Beer fueron de 1-8 µg/ml. Otro par iónico es el que se reporta formado con azul de metileno-diclofenac sódico<sup>6</sup>. En este caso, el par iónico se extrajo a pH de 9.4 con amortiguador de amonio/amoniaco con cloroformo, con un límite de detección de 0.37 µg/ul y no se establece la estequiometría del par iónico. En ninguno de los dos casos se estima la constante de formación del par iónico formado. El artículo de S. Agatonovic-Kustrin<sup>4</sup> y colaboradores presenta la formación del par iónico de diclofenac sódico con acetato de cobre en un rango de pH de 4.4 a 6.4, con una relación estequiométrica de 2:1, con un límite de detección de 72 µg/ml..

Después de haber realizado la revisión bibliográfica, se decidió tomar como base el artículo reportado por S. Agatonovic-Kustrin y colaboradores<sup>4</sup>, con el fin de mejorar las condiciones alcanzadas y estudiar la naturaleza del par iónico involucrado; considerando además que, las sales de cobre como reactivos analíticos son de fácil acceso en cualquier laboratorio.

## 5.1. ANÁLISIS ESPECTRAL.

El diclofenac sódico reacciona con el acetato cúprico en medio ácido para formar un par iónico de color verde, el cual se extrajo tanto en cloroformo como en tetracloruro de carbono.

La figura 5.1 muestra los espectros en ambas fases orgánicas en presencia de un exceso de acetato cúprico contra blanco reactivo.

Estos espectros presentan bandas anchas con máximos de absorción en 680 y 686 nm en cloroformo y tetracloruro de carbono respectivamente, por lo que tales longitudes de onda fueron empleadas para las determinaciones subsecuentes.

También puede observarse en la figura 5.1, que se presenta una absorbancia levemente mayor al emplear como fase orgánica al cloroformo que al emplear tetracloruro de carbono. Las condiciones experimentales empleadas en este caso, fueron:

$$[\text{Diclofenac sódico}] = 4.73 \times 10^{-3} \text{M},$$

$$[\text{Acetato de cobre}] = 7.5 \times 10^{-3} \text{M},$$

$$\text{volumen de fase acuosa} = 10 \text{ mL.}$$

$$\text{volumen de fase orgánica} = 5 \text{ mL.}$$

$$\text{tiempo de agitación} = 10 \text{ minutos.}$$

$$\text{tiempo de reposo} = 10 \text{ minutos.}$$

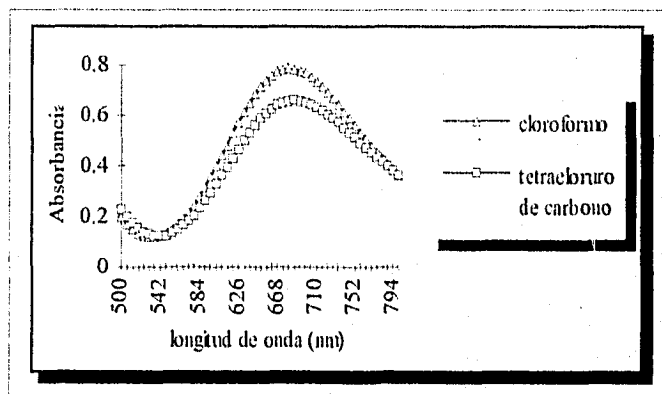


Figura 5.1. Espectros de absorción del par iónico Cu(II)-diclofenac sódico en tetracloruro de carbono y cloroformo.  $\lambda$  óptima extrayendo con cloroformo = 680 nm;  $\lambda$  óptima extrayendo con tetracloruro de carbono = 686 nm.

## 5.2. CONDICIONES ÓPTIMAS PARA LA FORMACIÓN DEL PAR IÓNICO.

### 5.2.1. NATURALEZA DE LA FASE ORGÁNICA Y EFECTO DEL pH.

Con el fin de determinar el pH óptimo y la de la fase orgánica más adecuada, se realizaron extracciones en cloroformo y tetracloruro de carbono a diferentes valores de pH, ajustando éste con soluciones diluidas de ácido clorhídrico e hidróxido de sodio.

En la figura 5.2, se muestran los valores de absorbancia en ambos solventes orgánicos en un intervalo de pH de extracción entre 3 y 10. La absorbancia a lo largo de este intervalo no es significativamente variable, aunque se observa una absorbancia máxima alrededor de pH = 5 para tetracloruro de carbono y alrededor de pH = 6 para cloroformo. Siendo éstas las condiciones más adecuadas.

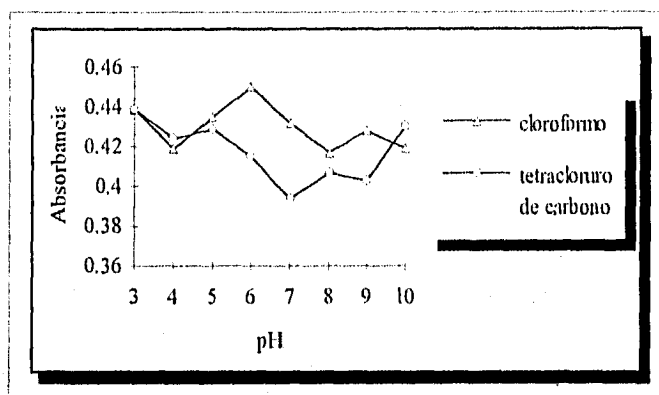


Figura 5.2. Efecto de la naturaleza de la fase orgánica y del pH sin amortiguamiento de pH.  $\lambda$  óptima extrayendo con cloroformo = 680 nm.  $\lambda$  óptima extrayendo con tetracloruro de carbono = 686 nm.

A valores de pH menores de 3 no se presenta extracción y a valores mayores de 10 existe la formación de una emulsión que dificulta la separación de las fases.

En este caso, las condiciones experimentales fueron:

[Diclofenac sódico] =  $3.178 \times 10^{-3}M$ ,

[Acetato de cobre] =  $7.5 \times 10^{-3}M$ ,

volumen de fase acuosa = 10 mL,

volumen de fase orgánica = 5 mL,

tiempo de agitación y de reposo = 10 min,

### 5.2.2. NATURALEZA DEL SISTEMA AMORTIGUADOR.

Para determinar la naturaleza del amortiguador más adecuado alrededor del pH óptimo, se probaron 4 sistemas amortiguadores que fueron hexamina, ácido acético/acetato de sodio, biftalato de potasio/hidróxido de sodio y ácido fosfórico/fosfato de sodio, a una concentración de 0.02M. Las condiciones experimentales fueron:

[Diclofenac sódico] =  $4.8 \times 10^{-3}$ M,

[Acetato de cobre] =  $7.5 \times 10^{-3}$ M,

volumen de fase acuosa = 10 mL,

volumen de fase orgánica = 5 mL,

tiempo de agitación = 10 min,

tiempo de reposo = 10 min.

En el caso del biftalato de potasio/hidróxido de sodio, aunque existe en principio la formación del par iónico, coexiste también la formación de una emulsión muy estable en todo el intervalo de pH. En relación al amortiguador de fosfatos, la extracción del par iónico es totalmente inhibida a cualquier valor de pH.

Los dos sistemas amortiguadores más adecuados fueron hexamina y ácido acético/acetato de sodio. La figura 5.3 muestra que el cambio de la absorbancia es poco sensible a la variación del pH dentro del intervalo estudiado.

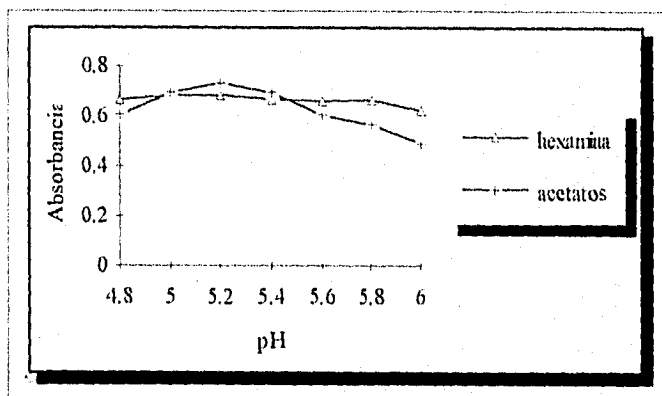


Figura 5.3. Efecto de la naturaleza del amortiguador en función del pH, sin amortiguamiento de pH.  $\lambda$  óptima utilizando hexamina como amortiguador = 728 nm;  $\lambda$  óptima utilizando acetatos como amortiguador = 680 nm.

Al realizar las extracciones en presencia de hexamina, el par iónico formado presenta una coloración amarillo verdosa con una absorbancia máxima a 728 nm, lo que indica un efecto batocrómico de aproximadamente 50 nm con respecto al sistema en ausencia de ésta. En la figura 5.4 pueden observarse los resultados obtenidos al emplear hexamina como sistema amortiguador y al emplear únicamente soluciones diluidas de ácido clorhídrico e hidróxido de sodio.

Para efecto de establecer la curva de calibración para la determinación de diclofenac sódico, se decidió utilizar el sistema amortiguador de ácido acético/acetato de sodio, ya que en el caso de emplear a la hexamina como sistema amortiguador, se presentaba una ligera turbidez en la fase orgánica, lo que hacía necesario tener que esperar a que desapareciera para poder hacer la lectura de absorbancia, lo que se lograba por más de diez minutos. Esto no sucedía empleando el sistema amortiguador de ácido acético/acetato de sodio, por lo que para fines prácticos, el sistema amortiguador óptimo fue el de ácido acético/acetato de sodio.

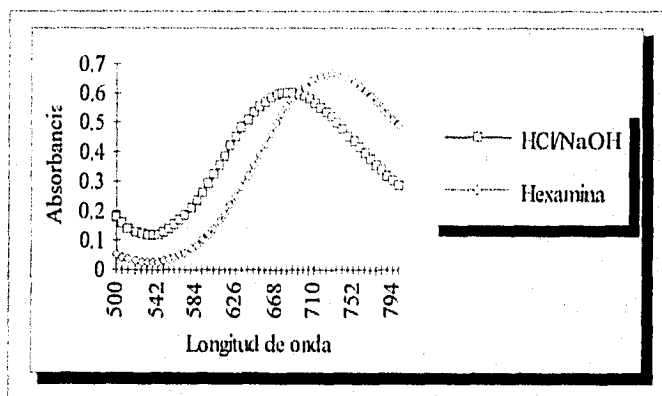


Figura 5.4. Efecto batocrómico con la hexamina como sistema amortiguador  $\lambda$  óptima con hexamina como amortiguador = 728 nm;  $\lambda$  óptima con soluciones ajustadas al pH de HCl/NaOH = 680 nm.

### 5.2.3. EFECTO DE LA NATURALEZA DE LA FASE ORGÁNICA Y DEL pH.

Con el fin de constatar que el cloroformo seguía siendo una fase orgánica viable, aún en presencia del amortiguador acetatos, se realizó un estudio comparativo de la extracción con respecto al tetracloruro de carbono en función del pH.

Los resultados se muestran en la figura 5.5, donde se puede observar que ambos comportamientos son semejantes y que el intervalo de pH adecuado es de 5 a 8. Tomando en cuenta que los valores de absorbancia son ligeramente mayores en el caso del cloroformo y que además este solvente es menos tóxico, se decidió utilizarlo para las subsecuentes experiencias.

Para esta experiencia, las condiciones experimentales de extracción fueron:

[Diclofenac sódico] =  $3.178 \times 10^{-3}M$ ,

[Acetato de cobre] =  $7.5 \times 10^{-3}M$ ,

volumen de fase acuosa = 10 mL,

volumen de fase orgánica = 5 mL,

tiempo de agitación = 10 min,

tiempo de reposo = 10 min.

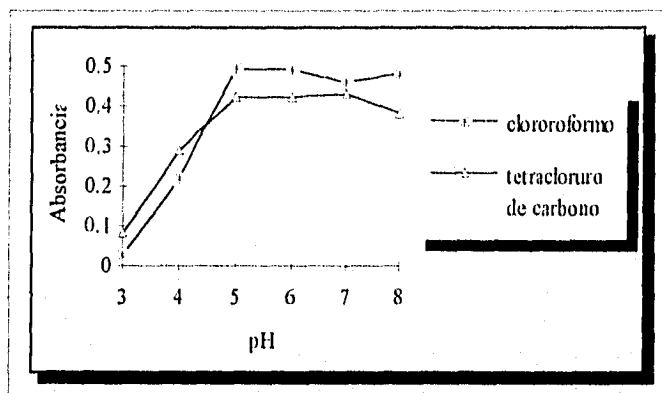


Figura 5.5. Efecto de la fase orgánica y del pH, con amortiguamiento de acetatos.  $\lambda$  óptima extrayendo con cloroformo = 680 nm;  $\lambda$  óptima extrayendo con tetracloruro de carbono = 686 nm.

#### 5.2.4. CONCENTRACIÓN DEL SISTEMA AMORTIGUADOR.

Como se dijo anteriormente, la concentración de todas las soluciones amortiguadoras probadas fué de 0.02M, por lo que se quiso estudiar el efecto de la concentración del sistema amortiguador.

En la figura 5.6 se observan los resultados obtenidos al variar la concentración de la solución amortiguadora, como puede notarse a una concentración de 0.02 M se presenta la mayor absorbancia respecto a la obtenida con las otras concentraciones; además, esa



absorbancia permanece constante en un rango entre 5.2 y 6.0 unidades de pH, es decir existe una meseta, lo que es adecuado para el método, ya que esto lo hace más tolerante a pequeñas variaciones de pH. Por lo tanto, se eligió a esta concentración, la de 0.02M como la óptima.

Las condiciones empleadas fueron:

[Diclofenac sódico  $4.8 \times 10^{-3}M$ ,  
[Acetato de cobre] =  $7.5 \times 10^{-3}M$ ,  
volumen de fase acuosa = 10 mL,  
volumen de fase orgánica = 5 mL,  
tiempo de agitación y de reposo = 10 min.

Cabe mencionar que las concentraciones de solución amortiguadora mantuvieron el pH constante, ya que se midió el pH final de la solución acuosa; es decir, después de haber realizado la extracción, y éste variaba de solo +/- 0.1 unidades de pH, es decir en los tres casos el poder de amortiguamiento fué adecuado.

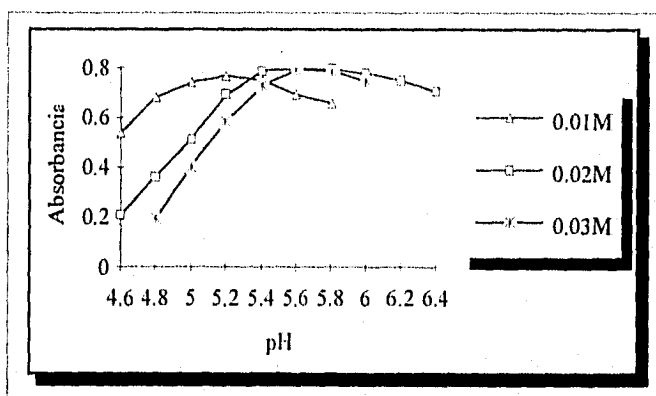


Figura 5.6. Concentración óptima de la solución amortiguadora.

Analizando los resultados vemos que en el sistema se tiene un pAcO aproximado a 2 y un pH en un intervalo entre 5.2 y 6.0 fijado por el sistema amortiguador. Bajo estas condiciones y a partir del diagrama de zonas de predominio de pAcO en función de pH (apéndice 2), podemos ver que la especie predominante de cobre (II) es el catión libre  $Cu^{2+}$ , lo cual favorece la formación del par iónico, lo que no sucedería si la especie de cobre (II) estuviera complejada.

### 5.2.5. EFECTO DE LA FUERZA IÓNICA.

En la tabla 5.1 se muestran las absorbancias de los extractos clorofórmicos que se obtuvieron al variar las sales para imponer fuerza iónica, al mismo tiempo que se varió la sal de cobre (II). Las diferentes sales de cobre fueron acetato de cobre, cloruro de cobre y sulfato de cobre anhidro, todas a una concentración de  $7.5 \times 10^{-3}M$  y la de diclofenac sódico fue de  $4.8 \times 10^{-3}M$ .

Como puede observarse en la tabla 5.1, la máxima absorbancia se presenta al utilizar cloruro de cobre, con una fuerza iónica de 0.2, impuesta con nitrato de potasio la cual es de 0.4690.

Sales	Fuerza iónica	Valores de absorbancia		
		Sales de Cu(II)		
		Cloruro	Acetato	Sulfato anhidro
KNO <sub>3</sub>	0.08	0.4610	0.4110	0.4400
	0.20	0.4690	0.4210	0.4590
KCl	0.08	0.3250	0.3430	0.3450
	0.20	0.1880	0.2080	0.1240
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.08	0.2060	0.2690	0.3160
	0.20	0.2170	0.2780	

Tabla 5.1. Naturaleza de fuerza iónica.

Para determinar la fuerza iónica óptima, se realizaron extracciones variando la fuerza iónica, la cual se impuso variando la concentración de nitrato de potasio.

Las extracciones se realizaron bajo las siguientes condiciones experimentales:

[Acetato de cobre] =  $7.5 \times 10^{-3}M$ ,

[Diclofenac sódico] =  $3.18 \times 10^{-3}M$ ,

[Ácido acético/acetato de sodio] = 0.02M,

pH = 5.8

volumen de fase acuosa = 10 mL,

volumen de fase orgánica = 5 mL,

tiempo de agitación y de reposo 10 min.

El intervalo de fuerza iónica fue de 0 a 0,9, variando cada 0,1 unidades de fuerza iónica.

En la figura 5.7 se puede observar que se presenta un máximo con 0,2 unidades de fuerza iónica, lo que este valor se tomó como el óptimo para las subsecuentes experiencias.

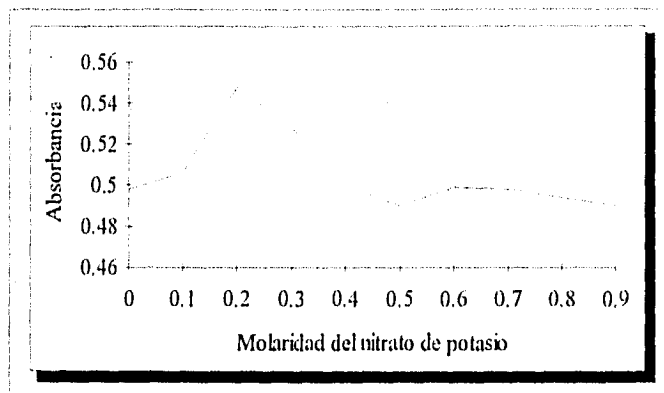


Figura 5.7. Efecto de la fuerza iónica.

#### 5.2.6. EFECTO DE LA NATURALEZA DE LA SAL DE COBRE (II).

En la figura 5.8 se pueden observar los resultados obtenidos al estudiar el efecto de la sal de cobre (II).

Las sales que se emplearon fueron:

- nitrate de cobre,
- sulfato de cobre anhidro,
- acetato de cobre y
- cloruro de cobre

De las sales analizadas, el nitrato de cobre, cuyos resultados no se presentan en la figura 5.8, presenta baja absorbancia con respecto a las otras, además que esta sal es poco soluble en agua, para disolverla hay que acidificar un poco la solución, y esto hacía que el sistema no se pudiera amortiguar con el buffer de acetatos; por esto, esta sal se descartó para las siguientes experiencias.

El sulfato de cobre presentaba emulsión al finalizar la agitación, que permanecía por algún tiempo, y al desaparecer la emulsión, la fase orgánica quedaba ligeramente turbia.

Con acetato de cobre y cloruro de cobre, las extracciones no presentan ningún problema, aunque sus absorbancias fueron menores que con sulfato, como puede verse en la figura 5.8.

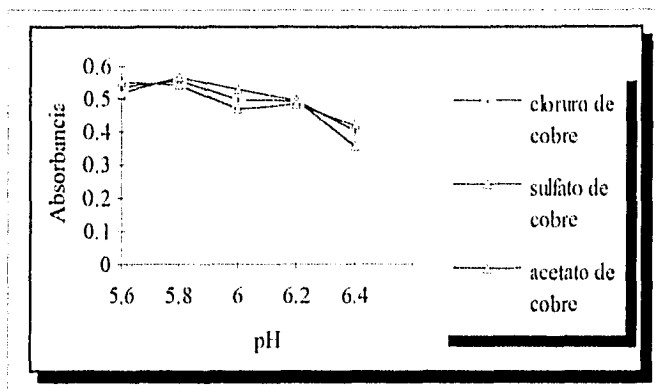


Figura 5.8. Naturaleza de la sal de cobre (II).

Más adelante, se construye una curva de calibración, utilizando las tres sales de cobre que fueron acetato de cobre, cloruro de cobre y sulfato de cobre anhidro, para de esta forma, mediante parámetros estadísticos, establecer que sal era la óptima para este método. Las condiciones experimentales empleadas fueron:

[Diclofenac sódico] =  $3.18 \times 10^{-3}M$ ,  
[Sales de cobre] =  $7.5 \times 10^{-3}M$ ,  
[amortiguador de pH] = 0.02M con acetatos,  
volumen de fase acuosa = 10 mL,  
volumen de fase orgánica = 5 mL,  
tiempo de agitación y de reposo = 10 min.

#### 5.2.7. ORDEN DE ADICIÓN.

Al variar el orden en que se iban agregando las diferentes soluciones, no se presentó ningún cambio considerable en la absorbancia de los extractos, por lo que se puede decir, que el orden de adición no es un factor que tenga efecto en la extracción de diclofenac sódico, por el presente método.

### 5.2.8. TIEMPO DE AGITACIÓN.

En la tabla 5.2 se muestran los valores de absorbancia de los extractos clorofórmicos obtenidos al variar el tiempo de agitación de los sistemas de extracción.

Se emplearon para estas experiencias las siguientes condiciones experimentales:

- [cloruro de cobre] =  $7.5 \times 10^{-3}M$ ,
- [diclofenac sódico] =  $3.18 \times 10^{-3}M$ ,
- [amortiguador de pH] = 0.02M con acetatos,
- volumen de fase acuosa = 10 mL,
- volumen de fase orgánica = 5 mL,
- tiempo de agitación y de reposo = 10 min.

Tiempo de agitación (min)	Absorbancia
1.0	0.6980
2.0	0.7330
3.0	0.6740
4.0	0.7180
5.0	0.7380
6.0	0.7390
10.0	0.7260

Tabla 5.2. Efecto del tiempo de agitación.

Como se observa en la tabla 5.2, a partir de 5 minutos de agitación, se observa la mayor absorbancia del extracto clorofórmico, y esta absorbancia permanece constante hasta los 10 minutos de agitación, por lo tanto, se tomó este tiempo (5 minutos) como el óptimo de agitación.

### 5.2.9. TIEMPO DE REPOSO.

En cuanto al tiempo de reposo, el óptimo encontrado fue de 5 minutos, ya que a partir de ese tiempo, la absorbancia permanecía casi constante hasta 10 minutos de reposo.

### 5.3. CURVA DE CALIBRACIÓN.

Para realizar las curvas de calibración, se emplearon las diluciones (3.24, 2.52, 1.8, 1.08)  $\times 10^{-3}$  y  $3.6 \times 10^{-4}$  mg/mL, a partir de una solución patrón de concentración  $2.2 \times 10^{-3}$  mg/mL, utilizando cloruro de cobre, acetato de cobre y sulfato de cobre anhidro, para cada una de las curvas, bajo las condiciones óptimas que se resumen en la tabla 5.3.

Longitud de onda	680 nm
Fase orgánica	Cloroformo
pH	5.8
Amortiguador de pH	ácido acético/acetato de sodio 0.02M
Fuerza iónica	0.2 con nitrato de potasio
Reactivo cromogénico	Cloruro de Cu (II)
Tiempo de agitación	5 minutos
Tiempo de reposo	5 minutos

Tabla 5.3. Condiciones óptimas experimentales.

Para cada concentración de cobre (II) se realizaron 3 determinaciones. Los resultados se muestran en la tabla 5.4.

Como puede observarse en la tabla 5.4, las mayores absorbancias se presentan al utilizar cloruro de cobre, como reactivo analítico. Además, los parámetros estadísticos calculados son mejores respecto a las otras sales de cobre. Podemos observar que la ordenada al origen (b) la más cercana a cero es con cloruro de cobre y el coeficiente de relación y de determinación más cercanos a 1 son con cloruro de cobre también. Además el coeficiente de variación (C.V.) menor es con cloruro de cobre. No se puede descartar el uso de las otras sales, ya que sus parámetros estadísticos no se encuentran tan lejos de los deseados, no obstante, se decidió tomar al cloruro de cobre como reactivo cromogénico óptimo.

En los siguientes estudios se emplea únicamente al cloruro de cobre.

Promedios de Absorbancia			
Diluciones (M)	Cloruro de cobre	Acetato de cobre	Sulfato de cobre
$3.24 \times 10^{-3}$	0.4260	0.3980	0.4180
$2.52 \times 10^{-3}$	0.3320	0.3223	0.3310
$1.80 \times 10^{-3}$	0.2443	0.2203	0.2360
$1.08 \times 10^{-3}$	0.1446	0.1260	0.1313
$3.60 \times 10^{-4}$	0.0483	0.0363	0.0406

b	$3.7222 \times 10^{-3}$	$-9.3166 \times 10^{-3}$	$-7.2833 \times 10^{-3}$
m	131.2886	127.7314	132.6388
r	0.9998	0.9991	0.99958
$r^2$	0.9996	0.9983	0.99917
C.V.	3.04%	8.81%	9.05%

Tabla 5.4. Curvas de calibración y parámetros estadísticos.

Promedios de Absorbancia			
Diluciones (M)	Cloruro de cobre	Acetato de cobre	Sulfato de cobre
$3.24 \times 10^{-3}$	0.4260	0.3980	0.4180
$2.52 \times 10^{-3}$	0.3320	0.3223	0.3310
$1.80 \times 10^{-3}$	0.2443	0.2203	0.2360
$1.08 \times 10^{-3}$	0.1446	0.1260	0.1313
$3.60 \times 10^{-4}$	0.0483	0.0363	0.0406
b	$3.7222 \times 10^{-3}$	$-9.3166 \times 10^{-3}$	$-7.2833 \times 10^{-3}$
m	131.2886	127.7314	132.6388
r	0.9998	0.9991	0.99958
$r^2$	0.9996	0.9983	0.99917
C.V.	3.04%	8.81%	9.05%

Tabla 5.4. Curvas de calibración y parámetros estadísticos.



#### 5.4. PROPORCIÓN ESTEQUIOMÉTRICA.

La determinación de la proporción estequiométrica, se realizó por los métodos gráficos de relaciones molares y de variaciones continuas.

El método de relaciones molares se hizo por dos modalidades, una variando la concentración de cobre (II) y la otra variando la concentración de diclofenac sódico.

El tratamiento de los datos por el método de variaciones continuas se hizo de dos formas; una por el método clásico y otra por el método de Job.

Cabe mencionar que las ecuaciones empleadas fueron deducidas con anterioridad en el capítulo 4, en el apartado "Descripción de actividades".

##### 5.4.1. RELACIONES MOLARES.

Para encontrar la estequiometría del par iónico cobre (II)-diclofenac sódico, por este método gráfico, se siguieron dos procedimientos para de esta forma corroborar que los resultados encontrados fueran más confiables.

En un caso se hizo manteniendo constante la concentración de cobre (II), que fue de  $5.9 \times 10^{-3}M$  (solución valorada), y variando la de diclofenac sódico, los resultados se muestran en la figura 5.9.

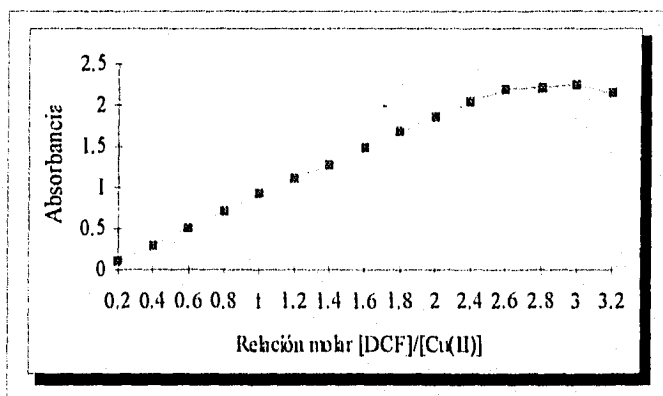


Figura 5.9. Método de relaciones molares manteniendo constante la concentración de cobre(II).

En la figura 5.9, puede verse que al valor de relación molar de 2.5, se alcanza el punto estequiométrico, y tomando en cuenta la siguiente igualdad:

$$n = x$$

tenemos que el valor de n (coeficiente estequiométrico de diclofenac sódico) es igual a 2.5.

En la otra modalidad del mismo método, donde se mantuvo constante la concentración de diclofenac sódico y variante la de cobre (II), se obtuvieron los resultados que se muestran en la figura 5.10.

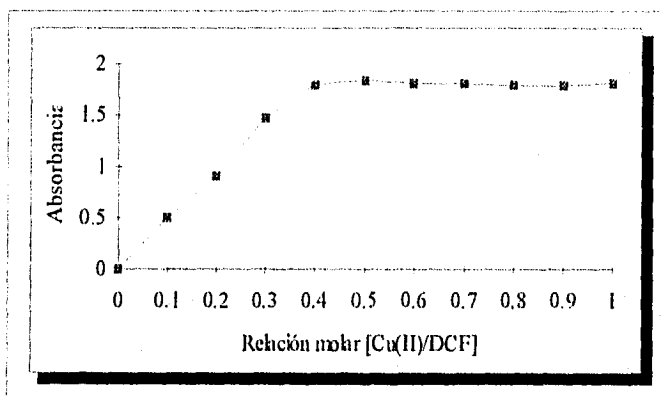


Figura 5.10. Método de relaciones molares manteniendo constante la concentración de diclofenac sódico.

Como puede observarse en la figura 5.10, el punto máximo de la curva a partir del cual permanece casi constante la absorbancia se obtiene a una relación molar de 0.45.

Si sustituimos este valor de x en la ecuación correspondiente, tendremos que:

$$n = \frac{1}{x} = \frac{1}{0.45} = 2.2\bar{2}$$

Es así, que el valor de n es 2.22. De esta manera una vez mas se corrobora que el coeficiente estequiométrico de diclofenac sódico para el equilibrio de formación del par iónico es de 2.

#### 5.4.2. VARIACIONES CONTÍNUAS (MÉTODO CLÁSICO).

Como se explicó anteriormente, se prepararon diferentes sistemas variando la concentración de diclofenac sódico y la de cobre (II) en forma simultánea, manteniendo la concentración total en los sistemas constantes. Posteriormente se realizó un gráfico de absorbancia en función de la fracción molar de diclofenac sódico.

En la figura 5.11, se muestran los resultados obtenidos al realizar el método de variaciones continuas. Como puede verse, la intersección de los dos segmentos de recta se obtiene para un valor experimental de fracción molar de 0.69.

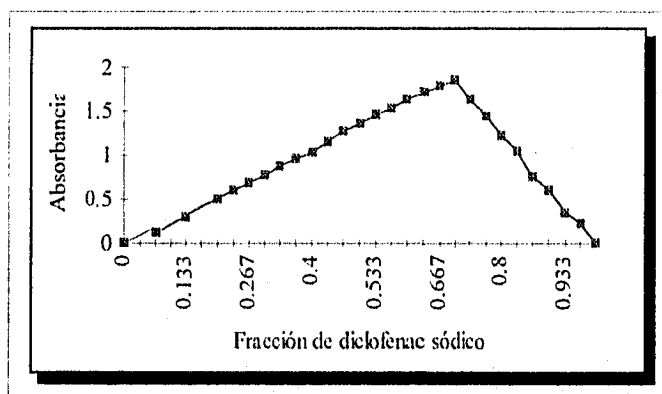


Figura 5.11 Método de Variaciones Continuas.

Si recordamos la tabla 4.2, donde se muestran valores de coeficiente estequiométrico del diclofenac sódico para valores de fracción molar de diclofenac sódico, el valor obtenido en nuestro caso, correspondería a una relación estequiométrica cobre (II)-diclofenac sódico de 1:2 o múltiple como sería 2:4, 3:6, etc.

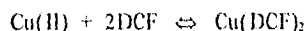
Además podemos obtener el valor de  $n$  si sustituimos el valor obtenido de fracción molar en la siguiente ecuación:

$$n = \frac{x}{1-x}$$

Teniendo que:

$$n = \frac{0.69}{1-0.69} = 2.23 \approx 2$$

Por lo tanto la relación estequiométrica el par iónico cobre(II)-diclofenac sódico es 1:2, pudiendo representar el equilibrio químico de la siguiente manera:



### 5.4.3. MÉTODO DE JOB (VARIACIONES CONTÍNUAS).

Para la determinación de la relación estequiométrica a partir de este tratamiento, se emplean los datos obtenidos por el método de variaciones continuas. Así que en nuestro caso estos datos son los que se muestran en la figura 5.11.

Al realizar un análisis de regresión lineal de los dos segmentos de recta obtenidos, se obtuvieron los siguientes resultados (tabla 5.5):

Parámetros estadísticos	Recta lado izquierdo(1)	Recta lado derecho(2)
r	0.9994	0.9989
r <sup>2</sup>	0.9988	0.9956
m	2.7570	-6.2037
b	-0.0373	6.1896

Tabla 5.5. Parámetros estadísticos de regresión lineal para la gráfica de variaciones continuas.

Como puede verse, el coeficiente de regresión lineal es adecuado, pudiendo decir que ambas curvas se comportan siguiendo un modelo del tipo  $y = mx + b$ .

Para el cálculo de n, se parte de las ecuaciones de absorbancia del complejo (antes y después del punto de equivalencia), y al igualarlas obtener el valor de n.

La ecuación que se tiene es la siguiente, donde se sustituyen los valores absolutos de las pendientes:

$$n = \frac{m_2}{m_1} = \frac{6.2037}{2.7570} = 2.2502$$

Es así que el valor del coeficiente estequiométrico de diclofenac sódico para la formación del par iónico es de 2.0, con lo se corrobora que el resultado anterior obtenido por variaciones continuas (método clásico) es adecuado.

## 5.5. ESTIMACIÓN DE LA CONSTANTE DE FORMACIÓN GLOBAL CONDICIONAL $\beta_2'$ :

Para la estimación de la constante, se emplearon dos métodos, el método clásico de relaciones molares y el método de Adsul.

### 5.5.1. MÉTODO CLÁSICO DE RELACIONES MOLARES.

El método de relaciones molares permite la estimación de la constante condicional de formación tomando en cuenta un sólo punto experimental, el de máxima absorbancia.

En nuestro caso se realizaron las curvas experimentales por el método de relaciones molares en función de la concentración de diclofenac sódico a dos diferentes concentraciones de cobre (II) Una fue a 0.01 M (0.0118 M solución valorada) y la otra a 0.005 M (0.0059 M solución valorada).

Se realizaron los gráficos de absorbancia en función de la relación molar [DCF/Cu(II)] para ambas concentraciones de cobre (II).

Los resultados pueden verse en la figura 5.12.

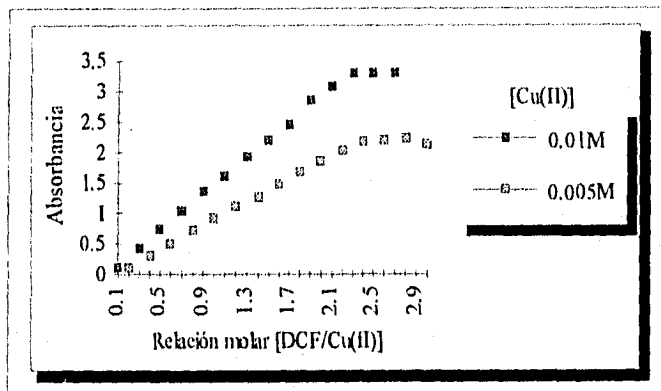


Figura 5.12. Método de relaciones molares para dos concentraciones de cobre (II).

A partir de estas gráficas se estimó la constante de formación global condicional. El primer paso fue conocer el valor de  $\alpha$  mediante la siguiente fórmula:

$$\alpha = \frac{A_m - A_s}{A_m}$$

donde:

$A_m$  = absorbancia máxima teórica.

$A_s$  = absorbancia experimental.

$\alpha$  = grado de disociación del complejo.

Y posteriormente sustituir el valor de  $\alpha$  y de la concentración inicial de cobre (II) en la ecuación que describe la constante de formación:

$$\beta_2' = \frac{C(1-\alpha)}{(\alpha C)(2\alpha C)^2}$$

En la tabla 5.6 se presentan los cálculos previos para la estimación de la constante para ambas concentraciones de cobre (II).

[Cu(II)]	0.01M	0.005 M
$A_m$	3.29	2.20
$A_s$	3.10	2.06
$\alpha$	0.0578	0.0636

Tabla 5.5. Cálculos previos para la estimación de la constante de formación por el método de relaciones molares.

Los valores teóricos de absorbancia fueron los puntos donde se unen las rectas, la del lado izquierdo con pendiente positiva y la del lado derecho de pendiente teóricamente cero, ya que es donde la formación del complejo es constante y por lo tanto así lo es la absorbancia.

A partir de los valores de  $\alpha$  y de C, calculamos la constante de formación, quedando para la concentración de cobre (II) 0.01 M:

$$\beta_2' = \frac{0.01(1-0.0578)}{(0.0578)(0.01) - [(2)(0.0578)(0.01)]^2} = 107.09$$

Y para la concentración de cobre (II) de 0.005M, la estimación de la constante es:

$$\beta_2' = \frac{0.005(1 - 0.0636)}{(0.0636)(0.005) - [2(0.0636)(0.005)]^2} = 10^{7.50}$$

Como se puede observar, el valor de las constantes por el mismo método no es igual, esto pudo deberse a errores experimentales no controlables. También cabe mencionar que para obtener el valor experimental de absorbancia puede haber cierto error, ya que este valor es muy subjetivo, pues depende que punto de la curva se tome, ya que no hay un punto de unión de ambas curvas, sino que se va haciendo una pequeña curva en la cercanía al punto de equivalencia.

### 5.5.2. POR EL MÉTODO DE ADSUL (VARIACIONES CONTÍNUAS).

Como se explicó el método de Adsul consiste en tomar dos puntos isocrónicos de una curva de variaciones continuas y mediante un tratamiento algebraico se obtiene tanto el coeficiente de absorptividad molar como  $\beta_2'$  a partir de una ecuación lineal: (apéndice 1).

A partir de la regresión lineal (tabla 5.5) de las curvas obtenidas por el método de variaciones continuas que se muestran en la figura 5.11, se tomaron dos puntos de fracción molar, donde la absorbancia fuera la misma (puntos isocrónicos) para a partir de éstos, mediante el tratamiento de Adsul obtener la constante condicional de formación global.

Se parte de la siguiente ecuación lineal:

$$(1-x)x^2 = Y + \frac{A}{CoE}(2x - 1.5x^2)$$

$$Y = \frac{1}{Co^3} \left[ \frac{A}{E} \beta_2' + 0.5 \frac{A^3}{E^3} - Co \frac{A^2}{E^2} \right]$$

Los puntos isocrónicos escogidos fueron los de fracción molar de 0.3403 y 0.8530 a los cuales la absorbancia es de 0.5 (ver figura 9). Para realizar la gráfica de variaciones

continuas, se empleó una concentración total en los sistemas de 0.015M (Co). En tabla 5.6 se resumen los cálculos para la estimación de la constante.

x	2x-1.5x <sup>2</sup>	x <sup>2</sup> (1-x)
0.1952	0.3332	0.0307
0.9174	0.5724	0.0695

Tabla 5.6. Cálculos previos para la estimación de la constante.

Si se calcula la pendiente y la ordenada al origen al unir ambos puntos, obtenemos los siguientes resultados:

$$m = \frac{\Delta}{\Delta x} = 0.1625$$

$$b = Y = \frac{1}{Co} \left[ \frac{\Delta}{\epsilon \beta_1} + 0.5 \frac{\Delta^2}{\epsilon^2} - Co \frac{\Delta^2}{\epsilon^2} \right] = -0.0235$$

En la figura 5.13, podemos ver la recta donde se unen los dos puntos isocrónicos, así como su pendiente y ordenada al origen.

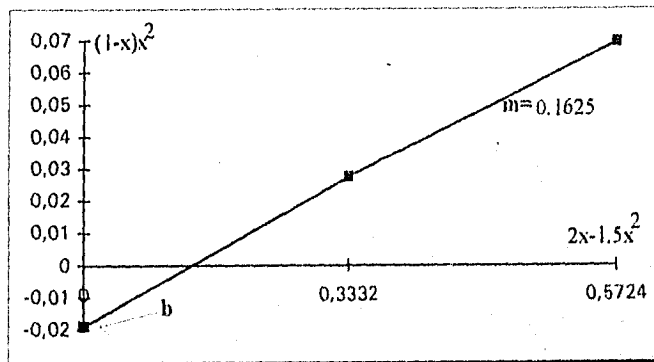


Figura 5.13. Puntos isocrónicos para la determinación de la constante por el método de Adsul.



Del valor de la pendiente podemos despejar el valor de  $E$ , quedando de la siguiente manera:

$$\varepsilon = \frac{0.5}{(0.1625)(0.015)} = 205.146$$

Y del valor de la ordenada al origen podemos sustituir los valores de  $C_0 = 0.015$ ,  $A = 0.5$  y  $\varepsilon = 205.146$  l, quedando:

$$-0.0235 = \frac{1}{(0.015)^3} \left[ \frac{0.5}{(205.1462)\beta_2} + \frac{0.5(0.5)^3}{(0.1625)(0.015)} - \frac{0.015(0.5)^2}{(205.1461)^2} \right]$$

Despejando  $\beta_2'$ , obtenemos su valor estimado:

$$\beta_2' = 10^{5.95}$$

Aunque a continuación se describe el método de relaciones molares para la estimación de la constante, cabe mencionar que el método de Adsul se considera el más conveniente, ya que no sólo toma un punto de la gráfica de variaciones continuas, sino que se toman dos a partir de las rectas ya corregidas por regresión lineal.

Como se puede ver, consideramos más adecuada la estimación hecha por el método de Adsul, ya que toma más puntos experimentales.

## 5.6. VALIDACIÓN.

### 5.6.1. LINEALIDAD DEL SISTEMA.

La curva de calibración se preparó a partir de las siguientes concentraciones de diclofenac sódico estándar secundario de (1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 y 15) $\times 10^{-3}M$  = (0.3181, 0.9544, 1.5906, 2.2269, 2.8632, 3.500 y 4.1400) mg/mL y la sal de cloruro de cobre a una concentración de  $1 \times 10^{-2}M$  tomando en cuenta las condiciones óptimas experimentales encontradas (tabla 5.3).

El análisis se hizo por triplicado para cada concentración y en dos días diferentes.

En la tabla 5.7 se presentan los resultados obtenidos.

[DCF]	Absorbancia							
(mg/mL)	Dia 1			Dia 2			promedio	C.V.
0.3181	0.1170	0.1160	0.1090	0.0990	0.1000	0.0990	0.1066	7.97
0.9544	0.5060	0.5080	0.5060	0.5330	0.5280	0.5300	0.5185	2.52
1.5906	0.9260	0.9240	0.9250	0.9250	0.9340	0.9300	0.9256	0.69
2.2269	1.3010	1.3070	1.3150	1.3350	1.3220	1.3580	1.3230	1.58
2.8632	1.7200	1.6990	1.7220	1.6920	1.7180	1.6880	1.7065	1.06
3.5000	2.0400	2.0580	2.1900	1.9680	2.0170	1.9340	2.0345	4.39
4.1400	2.4050	2.4080	2.4430	2.3050	2.2050	2.3050	2.3452	3.85

Tabla 5.7. Valores de absorbancia obtenidos para linealidad del sistema.

Como puede observarse en la tabla 5.7, el coeficiente de variación para las concentraciones con excepción de la primera (0.9544 mg/mL) son menores al 5 %, lo que es adecuado para el método. Para las concentraciones de 0.9544, 1.5906, 2.2269 y 2.8632 mg/mL es menor al 3%, que es el criterio establecido para métodos espectrofotométrico.

En la figura 5.14, se observa la gráfica obtenida del promedio de absorbancias de las seis curvas de calibración, así como los parámetros estadísticos obtenidos de la regresión lineal.

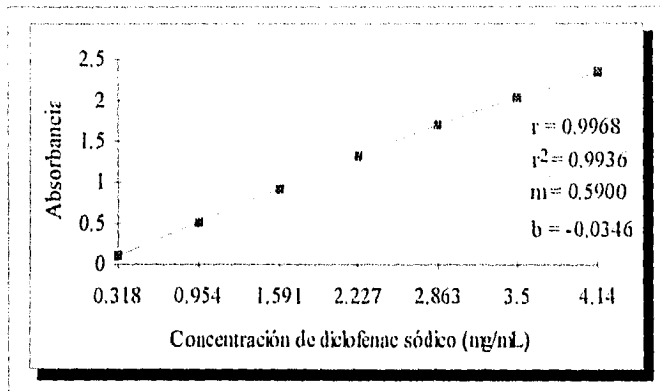


Figura 5.14. Gráfica promedio de las 6 curvas de calibración para diclofenac sódico.

De los parámetros obtenidos, podemos ver que como el  $r$  obtenido es mayor al 99%, se tiene que la relación entre concentración de diclofenac sódico y absorbancia es lineal en el intervalo de concentraciones trabajado.

Para demostrar estadísticamente que el sistema se comporta en forma lineal, se realizó un análisis de variancia. En la tabla 5.8 se muestran los resultados de este análisis.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	F crítica ( $\alpha = 0.05$ )
regresión	1	23.75	23.75	6229.51	4.08
error	40	0.1525	0.0038		
falta de ajuste	5	0.0682	0.0136	5.6604	2.49
error puro	35	0.0843	0.0024		

Tabla 5.8. Tabla de ANADEVIA para linealidad del sistema

Como se observa en la tabla 2,  $F_{regresión} (6229.51) > F_{crítica} (4.08)$ , por lo que decimos que existe una relación altamente significativa entre la concentración de diclofenac sódico y la absorbancia, es decir que la mayor parte de los resultados obtenidos en forma experimental son explicados por el modelo  $y = mx + b$ .

En cuanto a la falta de ajuste se observa que  $F$  falta de ajuste (5.66) >  $F$  crítica (2.49) por lo que la falta de ajuste a la relación lineal simple es estadísticamente significativa.

Se calcularon los intervalos de confianza y la prueba de  $t$  de student para la pendiente y para la ordenada al origen de la recta de regresión. En la tabla 5.9 se muestran los resultados.

pendiente (m)	ordenada al origen (b)
$m = 0.5900$	$b = -0.0353$
$t$ calculada = 78.9284	$t$ calculada = -1.8413
$t$ tablas = 2.0211	$t$ tablas = 2.0211
I. C. = 0.5754 a 0.6056	I. C. = -0.0741 a 0.0034

Tabla 5.9. Intervalos de confianza y prueba de  $t$  de student para la pendiente y la ordenada al origen.

En cuanto a la pendiente como  $t$  calculada >  $t$  tablas se rechaza la hipótesis nula de que la pendiente de la gráfica es cero ( $m = 0$ ), esto indica que la relación entre las variables de concentración y absorbancia es diferente de cero.

La ordenada al origen como  $t$  calculada <  $t$  de tablas y como el valor de cero se incluye en los límites del intervalo de confianza, no se rechaza la hipótesis nula ( $b = 0$ ), por lo que decimos que la ordenada al origen no difiere significativamente de cero, por lo cual se considera que la recta de regresión pasa a través del origen.

Todo lo anterior indica que el modelo lineal  $y = mx + b$  es correcto para describir la relación concentración-absorbancia siguiendo la ley de Lambert-Beer.

### 5.6.2. PRECISIÓN DEL SISTEMA.

Para demostrar si el sistema es preciso, se realizó analizando por sextuplicado una misma solución de diclofenac sódico que fué la de  $9 \times 10^{-3} M = 2.8632 \text{ mg/mL}$ .

En la tabla 5.10 se muestran los resultados obtenidos:

El valor obtenido de coeficiente de variación es de 0.93%, y ya que éste se encuentra por debajo del criterio para métodos espectrofotométricos que es del 3%, decimos que el sistema es preciso.

En cuanto a la falta de ajuste se observa que  $F$  falta de ajuste (5.66) >  $F$  crítica (2.49) por lo que la falta de ajuste a la relación lineal simple es estadísticamente significativa.

Se calcularon los intervalos de confianza y la prueba de  $t$  de student para la pendiente y para la ordenada al origen de la recta de regresión. En la tabla 5.9 se muestran los resultados.

pendiente (m)	ordenada al origen (b)
m = 0.5900	b = - 0.0353
t calculada = 78.9284	t calculada = -1.8413
t tablas = 2.0211	t tablas = 2.0211
I. C = 0.5754 a 0.6056	I. C. = -0.0741 a 0.0034

Tabla 5.9. Intervalos de confianza y prueba de  $t$  de student para la pendiente y la ordenada al origen.

En cuanto a la pendiente como  $t$  calculada >  $t$  tablas se rechaza la hipótesis nula de que la pendiente de la gráfica es cero ( $m=0$ ), esto indica que la relación entre las variables de concentración y absorbancia es diferente de cero.

La ordenada al origen como  $t$  calculada <  $t$  de tablas y como el valor de cero se incluye en los límites del intervalo de confianza, no se rechaza la hipótesis nula ( $b=0$ ), por lo que decimos que la ordenada al origen no difiere significativamente de cero, por lo cual se considera que la recta de regresión pasa a través del origen.

Todo lo anterior indica que el modelo lineal  $y = mx + b$  es correcto para describir la relación concentración-absorbancia siguiendo la ley de Lambert-Beer.

### 5.6.2. PRECISIÓN DEL SISTEMA.

Para demostrar si el sistema es preciso, se realizó analizando por sextuplicado una misma solución de diclofenac sódico que fue la de  $9 \times 10^{-3} M = 2.8632 \text{ mg/mL}$ .

En la tabla 5.10 se muestran los resultados obtenidos:

El valor obtenido de coeficiente de variación es de 0.93%, y ya que éste se encuentra por debajo del criterio para métodos espectrofotométricos que es del 3%, decimos que el sistema es preciso.

[DCF] mg/mL	Absorbancia
2.86	1.7220
2.86	1.6990
2.86	1.7220
2.86	1.7330
2.86	1.7200
2.86	1.7300
2.86	1.6920
2.86	1.7180
2.86	1.6880
2.86	1.7190
2.86	1.6960
2.86	1.6950

Tabla 5.10. Valores obtenidos para precisión del sistema.

### 5.6.3. LINEALIDAD DEL MÉTODO (MATERIA PRIMA).

La linealidad del método se determinó construyendo una curva de calibración para 3 lotes de materia prima.

Se utilizaron concentraciones de diclofenac sódico de (0.32, 0.95, 1.59, 2.23 y 2.86) mg/mL cada una preparada en forma independiente,

El análisis se realizó por triplicado para cada concentración y bajo las condiciones óptimas encontradas.

Se trataron los datos experimentales de tal manera que la cantidad recuperada estuviera en función de la cantidad adicionada. En la tabla 5.11 se presentan los datos.

A partir de estos datos se realizó un gráfico para observar de que forma se comportan los datos, este gráfico se presenta en la figura 5.15, en el cual podemos ver que la relación entre cantidad adicionada - cantidad recuperada se comporta en forma lineal.

Cantidad adicionada (mg)	Cantidad recuperada (mg)		
	Lote 1	Lote 2	Lote 3
3.18	3.02	3.00	3.01
3.18	3.10	3.10	3.02
3.18	3.08	3.08	3.12
9.54	9.41	9.41	9.42
9.54	9.40	9.38	9.40
9.54	9.39	9.41	9.38
15.91	15.70	15.78	15.80
15.91	15.84	15.75	15.79
15.91	15.79	15.81	15.81
22.27	22.10	22.13	22.11
22.27	22.09	22.13	22.10
22.27	22.08	22.10	22.09
35.00	34.71	34.71	34.79
35.00	34.97	34.62	34.75
35.00	35.04	34.78	34.82

Tabla 5.11. Datos de concentración recobrada para linealidad del método.

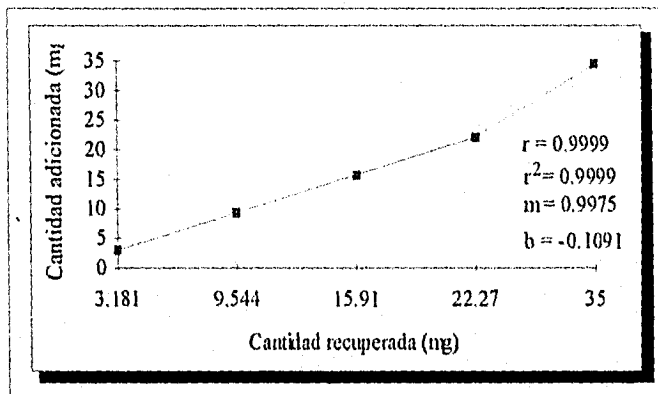


Figura 5.15. Datos promedio para linealidad del método analítico.

De acuerdo a los parámetros estadísticos de la regresión lineal, podemos decir que el método tiene una tendencia lineal entre la cantidad adicionada de diclofenac sódico y la cantidad recuperada después de la extracción.

El coeficiente de variación de los valores presentados en la tabla 5 es de 1.46 %, por lo que cumple con el criterio para métodos espectrofotométricos que es del 3 %.

Podemos decir que el método para determinar diclofenac sódico es lineal en el intervalo de 3.18 a 35 mg, ya que  $r$ ,  $r^2$ ,  $m$  y  $b$  cumplieron con los criterios de aceptación.

Se realizó un análisis de variancia para los datos de linealidad del método. En la tabla 5.12 se muestran los resultados:

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	F crítica ( $\alpha = 0.05$ )
regresión	1	53.68	53.68	$1.3 \times 10^{-6}$	5.42
error	43	$1.8 \times 10^{-3}$	$4.3 \times 10^{-5}$		
falta de ajuste	3	$8.8 \times 10^{-5}$	$2.9 \times 10^{-5}$	0.6738	3.46
error puro	40	$1.8 \times 10^{-3}$	$4.3 \times 10^{-5}$		

Tabla 5.12. Tabla de ANADEVa para linealidad del método.

De los resultados anteriores, podemos decir que la relación lineal simple de la cantidad adicionada-cantidad recuperada es altamente significativa ya que  $F_{\text{regresión lineal}} (1.3 \times 10^{-6}) > F_{\text{crítica}} (5.42)$ .

Al mismo tiempo que la falta de ajuste a la relación lineal simple no es estadísticamente significativa, ya que  $F_{\text{falta de ajuste}} (0.6738) < F_{\text{crítica}} (3.46)$ .

Se calcularon los intervalos de confianza para la pendiente y para la ordenada al origen de la recta de regresión lineal, a la vez que el valor de  $t$  de student obteniendo los resultados que se muestran en la tabla 5.13.

pendiente (m)	ordenada al origen (b)
$m = 0.9975$	$b = -0.0109$
$t_{\text{calculada}} = 1120.64$	$t_{\text{calculada}} = -6.0155$
$t_{\text{tablas}} = 2.021$	$t_{\text{tablas}} = 2.021$
I. C. = 0.9957 a 0.9994	I. C. = -0.0146 a 0.0072

Tabla 5.13. Intervalos de confianza y prueba de  $t$  de student para la pendiente y la ordenada al origen.



Como para la pendiente  $t$  calculada (1120.64) >  $t$  tablas (2.021), se rechaza la hipótesis nula de que la pendiente de la gráfica es cero ( $m=0$ ), y aunque el intervalo de confianza no incluye al valor de 1, el valor de la pendiente es cercana a 1, por lo que podemos decir que hay una relación lineal entre la cantidad adicionada y la cantidad recabrada.

Para la ordenada al origen,  $t$  calculada (-6.0155) <  $t$  tablas (2.021), y los límites del intervalo de confianza calculados incluyen el valor de cero, por lo tanto no se puede rechazar la hipótesis nula ( $b = 0$ ) ya que el intercepto obtenido en forma experimental ( $b = -0.0109$ ) no es significativamente diferente de cero; por lo que se considera que la recta obtenida pasa por el origen.

#### 5.6.4. PRECISIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO (REPETIBILIDAD) AL 100%.

Se realizaron 6 análisis para un lote de materia prima con la cantidad considerada como el 100 %, en este caso 35 mg. Se preparó de manera independiente y las extracciones se realizaron bajo las mismas condiciones óptimas.

En la tabla 5.14 se muestran los resultados obtenidos, la absorbancia ya está transformada a cantidad recuperada.

Cantidad adicionada (mg)	Cantidad recuperada (mg)
35	34.71
35	34.97
35	35.04
35	34.71
35	34.61
35	34.78

Tabla 5.14. Valores obtenidos para precisión del método.

Se hicieron cálculos para la determinación del coeficiente de variación, que en este caso fue de 0.8160 %, por lo que se tiene que el método es preciso ya que este valor es menor al criterio establecido.

ESTA TESIS NO DEBE  
QUEDAR EN LA BIBLIOTECA

### 5.6.5. EXACTITUD DEL MÉTODO ANALÍTICO.

Para realizar esta estimación, se utilizaron los datos de linealidad del método de cantidad recuperada únicamente expresándolos como porcentaje recuperado. Los datos obtenidos se presentan en la tabla 5.15.

Cantidad adicionada	Porcentaje recuperado (%)		
	(mg)	Lote 1	Lote 2
3.18	94.94	94.37	94.62
3.18	97.57	97.55	94.84
3.18	96.69	96.82	98.14
9.54	98.55	98.60	98.66
9.54	98.47	98.30	98.49
9.54	98.37	98.56	98.29
15.91	98.71	99.22	99.31
15.91	99.71	99.03	99.26
15.91	99.27	99.39	99.40
22.27	99.24	99.38	99.28
22.27	99.21	99.39	99.24
22.27	99.15	99.24	99.17
35.00	99.17	99.18	99.40
35.00	99.92	98.90	99.29
35.00	101.23	99.38	99.47

Tabla 5.15. Porcentajes recuperados para linealidad del método.

Para cada lote de materia prima, se estimaron los intervalos de confianza para la media de recuperación, además se realizó un contraste de hipótesis para la recuperación con las hipótesis:

$$H_0 = \text{Recuperación} = 100 \%$$

$$H_a = \text{Recuperación} \neq 100 \%$$

En la tabla 5.16 se muestran los resultados obtenidos para cada lote de materia prima. Como puede observarse, en los tres lotes, la t calculada es menor a la t de tablas, por

lo que  $H_0$  no se puede rechazar, además de que en los tres lotes, el promedio de recuperación está incluido dentro de los límites de los intervalos de confianza, lo cual indica que el método es capaz de recuperar diclofenac sódico por lo menos en un 97%, lo que es adecuado, aunque no se incluya en los límites de los intervalos el valor del 100 %.

Lote 1	Lote 2	Lote 3
% recobro = 98.67	% recobro = 98.49	% recobro = 98.46
t calc. = -14.6745	t calc. = -16.6710	t calc. = -14.7097
t tablas = 2.145	t tablas = 2.145	t tablas = 2.145
I.C. = 97.92 a 99.42	I.C. = 97.73 a 99.24	I.C. = 97.59 a 99.33

Tabla 5.16. Cálculos obtenidos para exactitud del método.

Por lo anterior se puede decir que el método es exacto bajo las condiciones trabajadas y en un intervalo de 3.18 a 35 mg de diclofenac sódico.

#### 5.6.6. REPRODUCIBILIDAD DEL MÉTODO ANALÍTICO.

Se determinó analizando una concentración de 35 mg de diclofenac sódico de un lote de materia prima, por triplicado, por dos analistas y en dos días diferentes. En la tabla 5.17 se presentan los datos obtenidos, ya transformados a porcentaje de recuperación.

Analista 1	Analista 2	
99.17	98.05	Día 1
99.92	99.00	
101.23	98.91	
98.15	98.30	Día 2
99.21	98.56	
99.03	98.49	

Tabla 5.17. Datos de porcentaje recuperado para reproducibilidad del método.

Con el fin de establecer las fuentes de variación del método, se efectuó el análisis de variancia por dos vías con los porcentajes recuperados presentados en la tabla 5.17, en base a éste se construyó la tabla de análisis de variancia que se presenta en la tabla 5.18.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F calculada	F crítica
analista	1	2.52	2.52	1.93	38.51
día	2	2.62	1.31	3.13	6.06
error	8	3.36	0.42		

Tabla 5.18. Tabla de ANADEVa para reproducibilidad del método.

Como puede observarse, el método para la determinación de diclofenac sódico es reproducible tanto para días diferentes con un mismo analista como para analistas distintos, ya que no existen diferencias significativas en los porcentajes de recuperación obtenidos en los extractos como se observa al comparar los valores de F.

$$F_{\text{analista}} (1.93) < F_{\text{tablas}} (38.51)$$

$$F_{\text{días}} (3.13) < F_{\text{tablas}} (6.06)$$

### 5.6.7. LÍMITE DE DETECCIÓN Y DE CUANTIFICACIÓN.

Para conocer el límite de detección y de cuantificación se analizaron por triplicado 5 soluciones de diclofenac sódico a diferentes concentraciones bajo las condiciones óptimas experimentales.

En la tabla 5.19, se muestran los resultados de absorbancia promedios al realizar el análisis por triplicado de cada una de las diferentes concentraciones.

µg/mL	Absorbancia
318.14	0.1030
254.50	0.0700
190.88	0.0410
127.25	0.0170
63.63	0.0010

Tabla 5.19. Promedios de absorbancia para límite de detección y de cuantificación.

La menor cantidad que se detectó por este método, fue la concentración de 63.62  $\mu$ g/mL.

La menor concentración de diclofenac sódico que siguió la ley de Beer fue la de 127.25  $\mu$ g/mL, ya que al hacer el análisis de regresión, el coeficiente de correlación,  $r$ , es mayor al 0.99, lo mismo que el coeficiente de determinación  $r^2$ . Los resultados del análisis de regresión lineal para las concentraciones 318.14, 254.50, 190.88 y 127.25  $\mu$ g/mL se muestran en la tabla 5.20.

$r$	0.99175
$r^2$	0.9835
$b$	-0.0307
$m$	12.85

Tabla 5.20. Parámetros estadísticos para límite de cuantificación.

**6. CONCLUSIONES.**

\* Las sales de cobre(II) como reactivos analíticos son adecuados para la determinación de diclofenac sódico espectrofotométricamente siguiendo un método de extracción líquido-líquido.

\* Se obtuvo un método para la determinación de diclofenac sódico, el cual resulta ser confiable y sencillo. Además los parámetros estadísticos evaluados en la validación indican que es un método sensible y selectivo, ya que resultó ser lineal, preciso, reproducible y exacto. Aunque cabe mencionar que no se mejoró la sensibilidad respecto a otros métodos reportados.

\* La estequiometría de formación del par iónico de diclofenac sódico con cobre (II) es 2:1, o múltiple.

\* El valor estimado de la constante de formación global condicional por el método clásico es de  $10^{7.09}$  y de  $10^{7.56}$  (para las concentraciones de cobre (II) de 0.01M y de 0.005M respectivamente) y por el método de Adsul es de  $10^{5.96}$  (para la concentración total del sistema de 0.015M).

\* Así mismo, se concluye que el presente método analítico, puede ser utilizado como método de rutina en un laboratorio químico, dado los resultados de la validación realizada.

\* Cabe mencionar que el presente trabajo es el inicio de un proyecto el cual comprende un estudio más completo y amplio del sistema, para su aplicación en la industria farmacéutica en la determinación de diclofenac sódico en presentaciones farmacéuticas comerciales.

**7. SUGERENCIAS**



A partir de este trabajo, se sugiere llevar a cabo el cálculo de la constante de partición de diclofenac sódico en cloroformo, así como el cálculo de la constante de extracción para el sistema trabajado.

Se sugiere el empleo de métodos computacionales tales como TRIANG y SQUAD, que permiten el refinamiento de constantes.

Aunque en el presente trabajo se hizo una estimación de la constante de extracción, esta no se puede considerar muy exacta.

La obtención de dicha constante permitirá tener información importante, que pueda establecer un modelo químico adecuado del sistema, para de esta forma conocer el tipo de equilibrios que tienen lugar en el sistema.

Se sugiere que se lleve a cabo la validación del método analítico en formas farmacéuticas comerciales como comprimidos, supositorios, soluciones y pomadas, para corroborar la efectividad del método.

En base a los resultados generales obtenidos, en el presente trabajo, se considera que el método es adecuado para la determinación y cuantificación de diclofenac sódico en materia prima en la Industria Farmacéutica y en el Sector Salud.

## 8. REFERENCIAS.

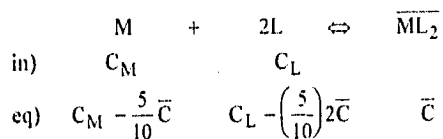
1. Sallman, A. R., *The Am. J. Med.*, 1986, 80, 29.
2. Sastry, C. S., Rao, A. R. M., y Prasad, T. N. B., *Anal. Lett.*, 1987, 20, 349.
3. Arrawal, Y. K., Upadhyay, V. P., y Menon, S. K., *Indian J. Pharm. Sci.*, 1988, 50, 58.
4. Agatanovic-Kustrin, s., Zivanovic, Lj., Radulovic, D. y Vasiljevic, M., *Analyst*, 1991, 166, 753.
5. Sastry, C. S. P., Tipimani, S. S. R. P., y Suryanarayana, M. C., *Analyst*, 1989, 114, 513.
6. Botello, P.J.C., Tesis de licenciatura: Determinación de diclofenac sódico mediante extracción espectrofotométrica con azul de metileno como reactivo analítico, UNAM, 1993.
7. Schweizer, A., Willis, J. V., Jack, D. B., y Kendall, M. J., *J. Chromatogr.* 1980, 195, 421.
8. Schneider, W., Degen, P. H., *J. Chromatogr.*, 1981, 217, 263.
9. Steup, A. y Benecke, *Pharmazie*, 1987, 42, 961.
10. Sane, R. T., Samant, R. S. y Nayak, V. V., *Indian Drugs*, 1986, 24, 161.
11. Gradjean, D., Beolor, J. C., Quincon, M. T. y Saavel, E., *U. Pharm. Sci.*, 1989, 78, 247.
12. Chan, K. H., Vyas, K. H. y Wuuck, K., *Anal. Lett.*, 1982, 15, 1649.
13. Godbilon, J., Gauron, S. y Metayer, J. P., *J. Chromatogr.*, 1985, 338, 151.
14. Nayak, V. F., Bhate, V. R., Purandare, S. M., et. al., *Drug Development and* , 1993,
15. Riess, W. y Stierlin., *H. Scand. J. Rheumatology*, 1978, 22, 17.

16. Sarbu, C. y Vlassa, M., *Chromatographia*, 1986, 21, 599.
17. Sarbu, C., *J. Chromatogr.*, 1986, 367, 286.
18. Abdel Fattah, S. A., El-Khateeb, S. Z., Abdel Razag, S. A. y Tavakkol, M. S., *Spectrosc. Lett.*, 1988, 21, 533.
19. Kubala, Teresa, Gambhir Baldev., *Drug Development Ind. Pharm.*, 1993.
20. *Therapeutic Drugs*, Edit. Churchill Livingstone. Vol 1., Reino Unido, 1991, D96.
21. Menassé, R., Hedwall, P. R., Kraetz, J., et. al., *Scand. J. Rheumatology*, Suppl. 1978, 22, 5.
22. Edmond, C. Warren Lee, M. S., et. al., *The Am. J. Med.*, 1986, 80 (suppl 4B), 18.
23. Small, R. E., *Clin. Pharm.*, 1989, 8, 545.
24. Valcárcel, M. C. y Rodríguez, M. S., *Teoría y Práctica de la Extracción Líquido-Líquido*, Alhambra, Madrid, 1984.
25. Karger, H. L., Lloyd R. Snyder, Csaba Horvath, *An introduction to separation science*, Edit. John Wiley and sons, Nueva York, 1973.
26. Morrison, G. H. Y Freiser, H. *Solvent Extraction in Analytical Chemistry*. Wiley, Nueva York, 1957.
27. Ramette, R. W. *Equilibrio y Análisis Químico*. Fondo Educativo Interamericano, México, 1983.
28. Adsil, J. S. y Ramathan, P. S., *Anal. Chim. Acta.*, 1978, 101, 157.

**9. APÉNDICES.**

**9.1 TRATAMIENTO ALGEBRAICO DE LOS DATOS DE VARIACIONES CONTÍNUAS POR EL MÉTODO DE ADSUL.**

Si tenemos el siguiente equilibrio químico:



donde:

M = metal Cobre (II);

L = ligando (diclofenac sódico);

C = concentración;

$\bar{C}$  = concentración en la fase orgánica del par iónico formado.

El factor (5/10), se incluye en la tabla en el punto de equilibrio, ya que el complejo se encuentra en la fase orgánica, cuyo volumen empleado en este trabajo fué de 5 ml. y la fase acuosa, donde se encuentran el metal y el ligando (cobre (II) y diclofenac sódico) fué de 10 mL, a esto se debe que la concentración se vea afectada por la diferencia de volúmenes.

Si la constante de formación ( $\beta_2'$ ) es equivalente a la concentración de los productos entre los reactivos tenemos:

$$\beta_2' = \frac{\bar{C}}{\left[ C_M - \frac{5}{10}\bar{C} \right] \left[ C_L - \left(\frac{5}{10}\right)2\bar{C} \right]^2} = \frac{\bar{C}}{(C_M - 0.5\bar{C})(C_L - \bar{C})^2}$$

Entonces:

$$\frac{\bar{C}}{\beta_2'} = \left[ C_M - 0.5\bar{C} \right] \left[ C_L^2 - 2C_L\bar{C} + \bar{C}^2 \right]$$

$$\frac{\bar{C}}{\beta_2} = C_M C_L^2 - 2C_L C_M \bar{C} + C_M \bar{C}^2 - 0.5 \bar{C} C_L^2 + C_L \bar{C}^2 - 0.5 \bar{C}^3$$

$$\frac{\bar{C}}{\beta_2} = C_M C_L^2 - \bar{C}(2C_L C_M + 0.5C_L^2) + C_M \bar{C}^2 + C_L \bar{C}^2 - 0.5 \bar{C}^3$$

Si  $\bar{C} = \frac{A}{E}$ , entonces tendremos:

$$\frac{A}{E\beta_2} = C_M C_L^2 - \frac{A}{E}(2C_L C_M + 0.5C_L^2) + C_M \left(\frac{A}{E}\right)^2 + C_L \left(\frac{A}{E}\right)^2 - 0.5 \left(\frac{A}{E}\right)^3$$

Despejando  $C_M C_L^2$ , tendremos:

$$C_M C_L^2 = \frac{A}{E\beta_2} + \frac{A}{E}(2C_L C_M + 0.5C_L^2) - C_M \left(\frac{A}{E}\right)^2 - C_L \left(\frac{A}{E}\right)^2 + 0.5 \left(\frac{A}{E}\right)^3$$

Si  $C_0 = C_M + C_L$ , tendremos:

$$C_M C_L^2 = \frac{A}{E\beta_2} + 0.5 \left(\frac{A^3}{E^3}\right) - C_0 \frac{A^2}{E^2} + \frac{A(2C_M C_L + 0.5C_L^2)}{E}$$

Dividiendo entre  $C_0^3$  la ecuación anterior:

$$\frac{C_M C_L^2}{(C_M + C_L)^3} = \frac{1}{C_0^3} \left[ \frac{A}{\epsilon \beta_2} + 0.5 \frac{A^3}{\epsilon^3} - C_0 \frac{A^2}{\epsilon^2} \right] + \frac{A}{\epsilon C_0} \cdot \frac{2C_M C_L + 0.5C_L^2}{C_0^2}$$

Arreglando la ecuación anterior:

$$\frac{C_M C_L^2}{(C_M + C_L)^2 (C_M + C_L)} = Y + \frac{A}{\epsilon C_0} \cdot \frac{2C_M C_L + 0.5C_L^2}{C_0^2}$$

Si  $x$  (fracción molar de L) =  $\frac{C_L}{C_M + C_L} = \frac{C_L}{C_0}$ , entonces:  $1-x =$

$$\frac{C_M + C_L - C_L}{C_M + C_L} = \frac{C_M}{C_M + C_L} = \frac{C_M}{C_0}$$

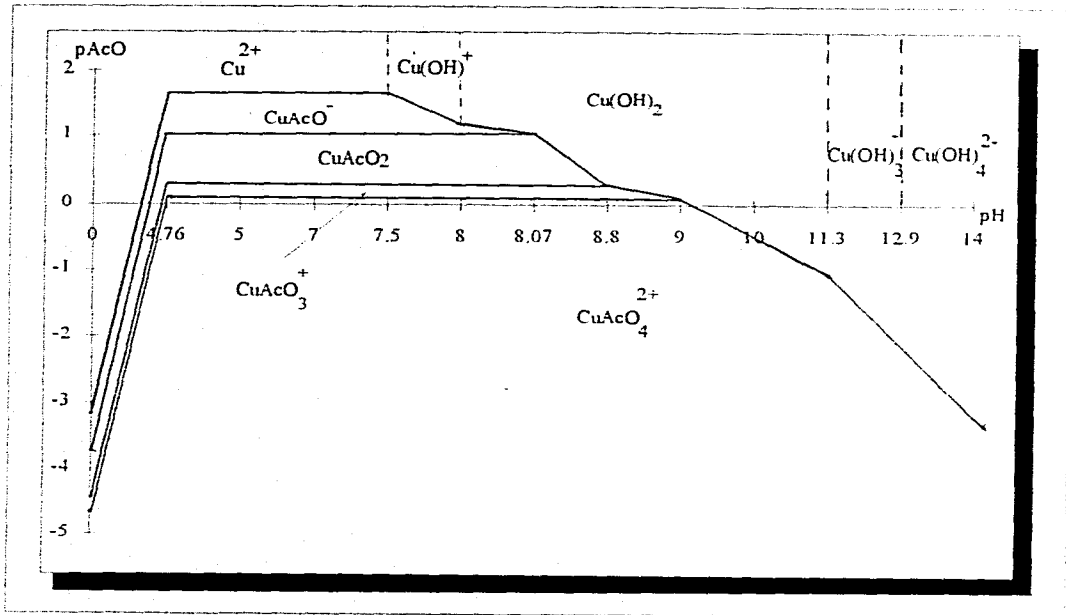
$$(1-x)x^2 = Y + \frac{A}{C_0 \epsilon} 2(1-x)x + 0.5x^2$$

Y finalmente nos queda:

$$(1-x)x^2 = Y + \frac{A}{C_0 \epsilon} (2x - 1.5x^2)$$

Esta ecuación final es la que es del tipo  $y = b + mx$ , se emplea para que con dos puntos isocrómicos de la gráfica de variaciones continuas encontrar el valor de  $\beta_2'$ , que se encuentra en el término denominado Y, que es la ordenada al origen. También se puede encontrar el valor de  $\epsilon$  (coeficiente de absortividad), que se encuentra en el valor de la pendiente de la recta.





9.2. DIAGRAMA DE ZONAS DE PREDOMINIO PARA COBRE (II).

**9.3 CERTIFICADOS DE ANÁLISIS DE DICLOFENAC SÓDICO.**



**Laboratorios Chemia, S.A. de C.V.**

Yacalas No. 307 Col. Narvarte, C.P. 03020, Mexico, D.F., Tels. 536-1505 al 07

CONTROL Y ASEGURAMIENTO DE CALIDAD

SECCION DE ANALISIS FISICOQUIMICOS  
CONTROL DE SUSTANCIAS DE REFERENCIA

REPORTE DE ESTANDEARIZACION DE MATERIAS PRIMAS

INOMBRE:	DICLOFENACO	LOTE:	4-836
ING. CONTROL:	98.95	CANTIDAD ESTANDEARIZADA:	5000 mg.
FECHA ANALISIS:	03-FEB-95	PROVEEDOR:	PROQUIFIN
FECHA DE REESTANDEARIZACION:	03-DIC-95		
MÉTODO UTILIZADO: Espectrofotométrico			
REFERENCIA: STALCOFARICA: N/AUM			
ESTANDAR: Secundario			
LOTE: 9129009			
POTENCIA: 99.08%			
PESO STD: 50.2 mg		CONC. FINAL: 10 mcg/ml	
RESULTADOS EN PORCENTAJES:			
	ANALISTA 1		ANALISTA 2
	98.80%		99.27%
	97.96%		98.41%
	98.35%		98.35%
IPROMEDIO	98.37%		98.67%
DESV. MUEST	0.42%		0.51%
C.V.	0.42%		0.5%
IVALOR PROMEDIO GUAR. EN S.H.			98.52%
% DE HUMEDAD	0.196%	PROMEDIO EN B.S.	98.716%
CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO: Conservar bien cerrado en desecador.			
FECHA DE REPORTE: 04-FEB-95			
ANALIZO:	100.20	INDICTAMEN:	
IT.O.F.			ESTA MATERIA PRIMA
PATRICIA VALLA P.			PUEDEN SER UTILIZADA
IQ.F.B.			COMO ESTANDAR
FECHA DE REPORTE:			SECUNDARIO.

\*SE ANEXA CERTIFICADO INTERNO DE LA MATERIA PRIMA Y DEL PROVEEDOR.



**Laboratorios Chemia, S.A. de C.V.**  
 Yacatas No. 307. Col. Narvarte. C.P. 03020, México, D.F., Tels. 536-1505 al 07

DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD  
 CERTIFICADO DE ANALISIS  
 MATERIA PRIMA

DICLOFENACO SODICO

NOMBRE: \_\_\_\_\_ No. LOTE: 4-836 No. ANALISIS: 009-95-14  
 PROVEEDOR: Industria CANTIDAD: 25.00 KG.  
 No. ENVASES: 41 No. DE ENTRADA: 2912  
 FECHA ENTRADA: 6 enero 95 FECHA REANALISIS: 10 Enero 96  
 ORIGEN: Industria CANT. MUESTREADA: 80 grs. CLAVE: DOI  
 PROVEEDORES QUE SURTEN: Industria

DESCRIPCION	ESPECIFICACION	RESULTADO	REFERENCIA BIBLIOGRAFICA
1.-DESCRIPCION	Polvo cristalino de color blanco.	Polvo cristalino de color blanco.	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
2.-SOLUBILIDAD:	Soluble en agua y alcohol	Soluble agua y alcohol.	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
3.-IDENTIFICACION:	POSITIVO UV	Positivo UV.	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
4.-PUNTO DE FUSION	283 - 285 °C	283 °C.	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
5.-PERDIDA AL SECADO	Máximo 1.0%	0.196%	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN.
6.-SUSTANCIAS RELACIONADAS	Mancha igual Rf e intensidad que St	Mancha igual Rf e intensidad que St.	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
7.-VALORACION	98.0 - 102.0%	99.05% 85	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
8.-METALES PESADOS	Máximo 10 p.p.m.	H/R.	FEUM 54. Ed. P. 96, 199, 200
9.-pH	Alrededor de 7	6.99	" "
10.-CLORUROS	Máximo 0.02%	Menor 0.02%	" "
11.-ARSENICO	Máximo 2 p.p.m.	Menor 2ppm.	" "

FECHA MUESTREADO: 9 enero 95 FECHA ANALISIS: 10 enero 95 CONTROL DE CALIDAD FECHA CADUCIDAD: 10 Enero 96 FECHA DICTAMEN: 10 enero 95  
 INSPECTOR: [Signature] ANALISTA: [Signature] Vo. BOC.C. [Signature] DICTAMEN: Aprobado

CONTROL DE CALIDAD  
 FECHA CADUCIDAD: 10 Enero 96  
 Vo. BOC.C. [Signature]  
 AUXILIAR RESPONSABLE



PROQUIN S.A. de C.V.  
CERTIFICADO DE ANALISIS  
DICLOFENAC SODICO

At: Q.F.B.  
Covella  
Gutiérrez

LOTE No. 14-111 DE: 100.000 KG.  
ANALISIS NO. 19-115  
FECHA 1 JUNIO 17, 1991.

DESCRIPCION	ESPECIFICACIONES	RESULTADO
ASPECTO:	POLVO CRISTALINO BLANCO A LIGERAMENTE AMARILLENTO.	CORRECTO
SOLUBILIDAD:	SOLUBLE EN METANO, ETANOL, SOLUBLE EN AGUA (1:20), DIFÍCILMENTE SOLUBLE EN BENZOL, PRÁCTICAMENTE SOLUBLE EN CLOROFORMO, ACETONA Y ÉTER.	CORRECTO
p.H:	6.0 a 8.0	6.98
IDENTIFICACION I.R.:	SIMILAR AL DE UN ESTANDAR	SIMILAR AL ESTANDAR
IDENTIFICACION U.V.:	SIMILAR AL DE UN ESTANDAR	SIMILAR AL ESTANDAR
HUMEDAD:	NO MAS DE 0.5%	0.18
PUNTO DE FUSION:	278.0 - 285.0	274-276°C
METALES PESADOS:	MEHOS DE 10 p.p.m.	MEHOS DE 10 p.p.m.
PUREZA (TITULOMETRICA):	NO MEHOS DE 98.5%	100.11
PUREZA (CROMATOGRAFICA):	NO MAS DE 0.5% DE IMPUREZAS TOTALES	MEHOS DE 0.54 DE IMPUREZAS TOTALES
DENSIDAD (VOL.):	0.65 A 0.70 gr/ml	0.68 g/ml
CONTENIDO DE BROMO:	NO MAS DE 10 p.p.m.	NO MAS DE 10 p.p.m.
ARSENICO:	NO MAS DE 2 p.p.m.	NO MAS DE 2 p.p.m.

LIBERADO POR CONTROL DE CALIDAD  
ING. CRISPINIANO ORZCO C.



**Laboratorios Chemia, S.A. de C.V.**

Yácatas No. 307. Col. Narvarte, C.P. 03020, México, D.F., Tels. 536-1505 al 07

libro No 2  
No Folio 103

DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD  
CERTIFICADO DE ANALISIS  
MATERIA PRIMA

DIclofenaco SÓLIDO

NOMBRE: DIclofenaco SÓLIDO No. LOTE: DC 501/286 No. ANALISIS: 025-95-114  
 PROVEEDOR: Picquillo CANTIDAD: 170.10 kg.  
 No. ENVASES: 7 No. DE ENTRADA: 2903  
 FECHA ENTRADA: 2 Mayo 95 FECHA REANALISIS: 2 Mayo 95  
 ORIGEN: Nacional CANT. MUESTREADA: 50 g. CLAVE: DOT  
 PROVEEDORES QUE SURTIEN: \_\_\_\_\_

DESCRIPCION	ESPECIFICACION	RESULTADO	REFERENCIA BIBLIOGRAFICA
1.-DESCRIPCION	Polvo cristalino de color blanco.	Polvo cristalino de color blanco.	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
2.-SOLUBILIDAD	Soluble en agua y alcohol	Soluble en agua y alcohol.	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
3.-IDENTIFICACION	Positivo UV	Positivo UV.	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
4.-PUNTO DE FUSION	285 - 285 °C	283°C con descomposición	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
5.-PERDIDA AL SECADO	Máximo 1.0%	0.01%	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
6.-SUSTANCIAS RELACIONADAS	Mancha igual Rf e intensidad que St	Mancha igual Rf e intensidad que St.	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
7.-VALORACION	98.0 - 102.0%	98.28% AS.	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN FEUM 5a. Ed. P. 96,199,200
8.-METALES PESADOS	Máximo 10 p.p.m.		
9.-pH	Alrededor de 7	7.35	" "
10.-CLORUROS	Máximo 0.2%	Menor 0.02%	" "
11.-ARGENTOS	Máximo 2 p.p.m.	Menor 2 ppm.	" "

FECHA MUESTREADO:	FECHA RECIBIDO:	FECHA CADUCIDAD:	FECHA DICTAMEN:
3 Mayo 95	3 Mayo 95	Dec 99	3 Mayo 95
INSPECTOR: <u>MZU</u>	ANALISTA: <u>MZU</u>	NO. REC.C. <u>(72) Cecilia</u>	DICTAMEN: <u>Acabado</u>



PROQUIN S.A. de C.V.

Report No. AP-310/94-95

TEST REPORT

Name of Sample: Diclofenac Sodium B.P.

B. No. DS 501/286 Manufacturer's Name Amoli Organics Private Limited

Supplier's Name - do -

Quantity Recd. 250 Kgs. Date of Receipt 01/2/95 Qty. Recd. for analysis 2 x 25 gms.

Date of Analysis 01/2/95 Date of Mfg Jan '95 Date of Exp Dec '99

Description White crystalline powder slightly hygroscopic. It melts at 280°C. with decomposition. complies

Solubility Sparingly soluble in water, freely soluble in methanol & ~~ethyl~~ ethanol (96.0%) slightly soluble in acetone. complies

Identification: A) I.R

OTHER TESTS B) As per B.P. complies

Acidity or alkalinity Between 6.5 to 8.5 : 7.85 complies

Clarity and colour of the solution As per B.P complies

Light absorption As 440 nm NMT 0.05 : 0.015 complies

Related substance As per B.P. by H.P.L.C complies

Heavy metals NMT 20 ppm complies

Loss on drying NMT 0.5% : 0.22% complies

Assay Between 98.5% & 101.5% on dried basis : 99.25% complies

The Sample complies as per IP / B. P / ~~other~~ / other preparation standards of the above test only.

Analyst NML Date 01/2/95 Signature of [Signature] Signature of Q. C. Incharge



PROQUIM S.A. DE C.V.

Report No. AP-310/94-95

TEST REPORT

Name of Sample: diclofenac sodium B.P.  
B. No. DS 501/286 Manufacturers Name Amoli Organics Private Limited  
Supplier's Name - do -  
Quantity Recd. 250 Kgs. Date of Receipt 01/2/95 Qty. Recd. for analysis 2 x 25 gms.  
Date of Analysis 01/2/95 Date of Mfg. Jan '95 Date of Exp. Dec '99  
Description White crystalline powder slightly hygroscopic. It melts at  
280°C. with decomposition. complies  
Solubility sparingly soluble in water, freely soluble in methanol &  
methanol (96.0%) slightly soluble in acetone. complies  
Identification: A) I.R.  
OTHER TESTS B) As per, B.P. complies  
Acidity or alkalinity Between 6.5 to 8.5 7.85 complies  
Clarity and colour of the solution As per B.P. complies  
Light absorption At 440 nm NMT 0.05 0.015 complies  
Related substance As per B.P. by H.P.L.C complies  
heavy metals NMT 20 ppm complies  
Loss on drying NMT 0.5% 0.22% complies  
Assay Between 98.5% & 101.5% on dried basis 99.25% complies

The Sample complies as per ~~ICR~~ / B. P. / ~~606060606~~ / other preparation standards of the above test only.

Analyst NML

Date 01/2/95

[Signature]  
Signature of O. C. Incharge



**Laboratorios Chemia, S.A. de C.V.**

Yacatas No. 207, Col. Narvarte, C.P. 03020, México, D.F., Tels 536-1505 al 07

Libreta No 3  
Folio No 116

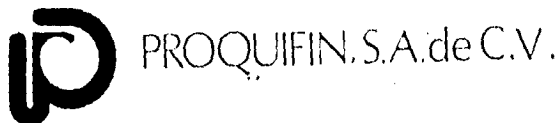
DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD  
CERTIFICADO DE ANALISIS  
MATERIA PRIMA

NOMBRE: DICLOFENACO SODICO No. LOTE: DS 411/204 No. ANALISIS: 183-95-14  
 PROVEEDOR: Picquatin CANTIDAD: 25.0 KG  
 No. ENVASE: 1 No. DE ENTRADA: 3043  
 FECHA ENTREGA: 26 Mayo 95 FECHA REANALISIS: 30 Mayo 95  
 ORIGEN: Nacional FECHA MUESTREO: 30 Mayo 95 CLAVE: DOT  
 PROVEEDOR DEL MUESTREREO: Picquatin

DESCRIPCION	ESPECIFICACION	RESULTADO	REFERENCIA BIBLIOGRAFICA
1.-DESCRIPCION	Polv. cristalino de color blanco.	Polv. cristalino blanco.	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
2.-SOLUBILIDAD:	Soluble en agua y alcohol	soluble en agua y alcohol	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
3.-IDENTIFICACION:	POSITIVO UV	Positivo UV	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
4.-PUNTO DE FUSION	283 - 285 °C	283 - 285 °C	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
5.-PERDIDA AL SECCADO	Máximo 1.0%	0.067%	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
6.-SUSTANCIAS RELACIONADAS	Mancha igual Rf e intensidad de St	Mancha igual Rf e intensidad que estándar.	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
7.-VALORACION	98.0 - 102.0%	100.057 % BS	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
8.-METALES PESADOS	Máximo 10 p.p.m.		FEUM 5a. Ed P. 96, 199, 200
9.-pH	Alrededor de 7	7.22	223
10.-CLORURO	Máximo 0.02%	Menor 0.02%	" "
11.-ARSENICO	Máximo 2 p.p.m.	Menor 2ppm	" "

FECHA MUESTREO: 28 Mayo 95 FECHA ANALISIS: 29 Mayo 95 FECHA CADUCIDAD: N/K FECHA DICTAMEN: 30 Mayo 95  
 INSPECCION: MJ ANALISIS: MJ Vo. BoC.C.: OTB Osvelia DICTAMEN: Aprobado  
 C.F.S. D.V.T. OTB. A.V.T.





PROQUIFIN, S.A. de C.V.

DICLOFENAC SODICO

CANTIDAD: 250 Kg.

FECHA DE FABRICACION: NOVIEMBRE 1994

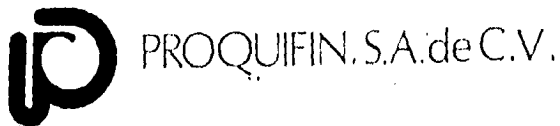
No. LOTE: DS411/204

FECHA DE CADUCIDAD: OCTUBRE 1999

DETERMINACION	RESULTADO
DESCRIPCION:	Polvo cristalino blanco.
SOLUBILIDAD:	Cumple.
IDENTIFICACION:	Positiva.
ACIDEZ O ALCALINIDAD:	7.3
CLARIDAD Y COLOR DE SOLUCION:	Cumple.
ABSORCION DE LUZ:	Cumple.
SUSTANCIAS RELATIVAS:	Cumple.
METALES PESADOS:	Cumple.
PERDIDA POR SECADO:	0.13%
ENSAYO:	99.25%

Los resultados del presente son copia-fiel del Certificado original.

  
\_\_\_\_\_  
QUIM. JUAN RANGEL GRANADOS



PROQUIFIN, S.A. de C.V.

DICLOFENAC SODICO

CANTIDAD: 250 Kg.


FECHA DE FABRICACION: NOVIEMBRE 1994

No. LOTE: DS411/204

FECHA DE CADUCIDAD: OCTUBRE 1999

DETERMINACION	RESULTADO
DESCRIPCION:	Polvo cristalino blanco.
SOLUBILIDAD:	Cumple.
IDENTIFICACION:	Positiva.
ACIDEZ O ALCALINIDAD:	7.3
CLARIDAD Y COLOR DE SOLUCION:	Cumple.
ABSORCION DE LUZ:	Cumple.
SUSTANCIAS RELATIVAS:	Cumple.
METALES PESADOS:	Cumple.
PERDIDA POR SECADO:	0.13%
ENSAYO:	99.25%

Los resultados del presente son copia-fiel del Certificado original.

  
\_\_\_\_\_  
QUIM. JUAN RANGEL GRANADOS



Laboratorios Chemia, S.A. de C.V.

Yucatán No. 30 Col. Narvarte. C.P. 03020, México, D.F., Tels. 536-1505 al 07

libreta No 2  
No Folio 094

DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD  
CERTIFICADO DE ANALISIS  
MATERIA PRIMA

DICLOFENACO SODICO

NOMBRE: No. LOTE: Ds 501/285 No. ANALISIS: 074-95-111  
PROVEEDOR: Picay (m) CANTIDAD: 250 kg  
No. ENVASES: 10 No. DE ENTRADA: 2963  
FECHA ENTRADA: 2 Marzo 95 FECHA REANALISIS: 3 Marzo 96  
ORIGEN: Nacional CANT. MUESTREADA: 80 g CLAVE: DOI  
PROVEEDORES QUE SURTIEN:

DESCRIPCION	ESPECIFICACION	RESULTADO	REFERENCIA BIBLIOGRAFICA
1.-DESCRIPCION	Polvo cristalino de color blanco.	Polvo cristalino de color blanco	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
2.-SOLUBILIDAD:	Soluble en agua y alcohol	soluble en agua y alcohol	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
3.-IDENTIFICACION:	POSITIVO UV	Positivo UV	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
4.-PUNTO DE FUSION	283 - 285 C°	283°C. con descomposición	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
5.-PERDIDA AL SECADO	Máximo 1.0%	0.036%	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
6.-SUSTANCIAS RELACIONADAS	Mancha equal Rf e intensidad que St	Mancha equal Rf e intensidad que St	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
7.-VALORACION	98.0 - 102.0%	99.95% BS.	F. ESTABLISHMENT-SCHAAN
8.-METALES PESADOS	Máximo 2 p.p.m		F. ESTABLISHMENT-SCHAAN FEUM 5a. Ed. P. 96,199,200
9.-pH	Aproximado de 7	7.25	" 223
10.-CLORUROS	Máximo 0.02%	Menor 0.02%	" "
11.-ARSENICO	Máximo 2 p.p.m.	Menor 2ppm.	" "

FECHA MUESTREADO:	FECHA ANALISIS:	FECHA CADUCIDAD	FECHA DICTAMEN
3 Marzo 95	3 Marzo 95	Dic 99	3 Marzo 95
INSPECTOR:	ANALISTA:	Vo. BoC.C.	DICTAMEN:
<u>MZL</u>	<u>MZL</u>	<u>(FEB) Concha</u>	<u>Aprobado</u>



Report No. AF-309/94-95

TEST REPORT

Name of Sample : Diclofenac Sodium B.P.

B. No. DS 501/285 Manufacturer's Name Amoli Organics Pvt. Ltd.

Supplier's Name - do -

Quantity Recd. 250 Kgs. Date of Receipt 01/2/95 Qty. Recd. for analysis 2 x 25 cms.

Date of Analysis 01/2/95 Date of Mfg Jan '95 Date of Exp Dec '99

Description White crystalline powder slightly hygroscopic. It melts at 280°c. with decomposition. complies

Solubility Sparingly soluble in water, freely soluble in methanol & ethanol (96.0%) slightly soluble in acetone. complies

Identification : A) I.R.

OTHER TESTS B) As per B.P. complies

Acidity or alkalinity L Between 6.5 to 8.5 : 7.2 complies

Clarity and colour of the solution : As per B.P. complies

Light absorption : At 440 nm NMT 0.05. : 0.022 complies

Related substance : As per B.P. by H.P.L.C complies

Heavy metals : NMT 20 ppm complies

Loss on drying : NMT 0.5% : 0.15% complies

Assay : Between 98.5% & 101.5% on dried basis : 99.40% complies

The Sample complies as per ~~IP~~ / B.P. ~~IP~~ other preparation standards of the above test only.

Analyst M.M.L. Date 01/2/95 Signature [Signature]