

## VALORACION DE UNA MEZCLA DE NIFUROXIMA Y NITROFURAZONA POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ADITIVIDAD

\* Luz Stella Ospina de Nigrinis

\*\* María Helena de Villegas

La asociación de sustancias medicamentosas con el fin de obtener un fármaco apropiado para un uso terapéutico particular, dificulta en cierta forma, en el campo del análisis la valoración de cada uno de los componentes del producto.

En el caso de algunos nitrofuranos son corrientes las asociaciones: furazolidona-nifuroxima, nitrofurazona-nifuroxima, furoxona-furazolidona, furacina-furadantina-furoxona (1,2,3); con el fin de potenciar la acción bacteriostática de estos compuestos.

En cualquiera de los casos anteriores la valoración requiere el empleo de métodos de separación para aislar previamente los diferentes compuestos y evitar de esta manera las interferencias.

Los métodos empleados pueden ser cromatografía en columna, capa fina y de papel (4) y electroforesis de papel (5). Posteriormente se cuantifican los compuestos aislados por algunos de los métodos reportados en la literatura tales como: análisis espectrofotométrico (1), volumétrico (6), polarográfico (7, 8), potenciométrico (9), o turbidimétrico (10). Los métodos anteriormente mencionados a pesar de ofrecer una buena reproducibilidad, no dejan de ser dispendiosos y costosos, además presentan la posibilidad de aumentar el porcentaje de error en la determinación, debido a las numerosas etapas requeridas en el proceso.

Puesto que la nitrofurazona y nifuroxima, poseen propiedades comunes tales como: absorción de radiaciones en la región ultravioleta y solubilidad en un disolvente común, proponemos el empleo de una técnica espectrofotométrica.

métrica para la cuantificación de los componentes de la mezcla sin separación previa, denominada espectrofotometría de aditividad (11, 12, 13, 14), la cual ofrece numerosas ventajas sobre los métodos anteriormente mencionados, pues es más rápida, reproducible, exacta, siendo a la vez más fácil de realizar y más económica.

Este método requiere, además de las condiciones anteriormente mencionadas (absorción al ultravioleta y posibilidad de solubilizarse en un disolvente común), que las sustancias presenten sus máximos de absorción a diferentes longitudes de onda (separadas por lo menos 10 nm), que cumplan independientemente con las leyes de Lambert y Beer y que sus absorbancias sean aditivas (14).

Estas características fueron experimentalmente comprobadas para la nitrofurazona y nifuroxima.

## I. PARTE EXPERIMENTAL

### 1. Patrones y reactivos

Se emplearon patrones de nitrofuraxona y nifuroxima calidad USP.

Los reactivos utilizados fueron: N,N-dimetilformamida y etanol absoluto calidad reactivo analítico.

### 2. Preparación de los patrones

Nifuroxima: se disolvieron 25 mg de nifuroxima patrón en etanol absoluto y se completó a 100 ml con el mismo disolvente (concentración 250 mcg/ml). A partir de la solución concentrada se preparó una dilución de concentración 10 mcg/ml utilizando etanol al 50% V/V.

Nitrofurazona: se disolvieron 25 mg de nitrofurazona patrón en 12.5 ml de N,N-dimetilformamida y se completó a 100 ml con agua. A partir de la solución anterior se preparó una dilución de concentración 5 mcg/ml, utilizando como disolvente etanol al 50% V/V.

### 3. Determinación de los espectros de absorción molecular

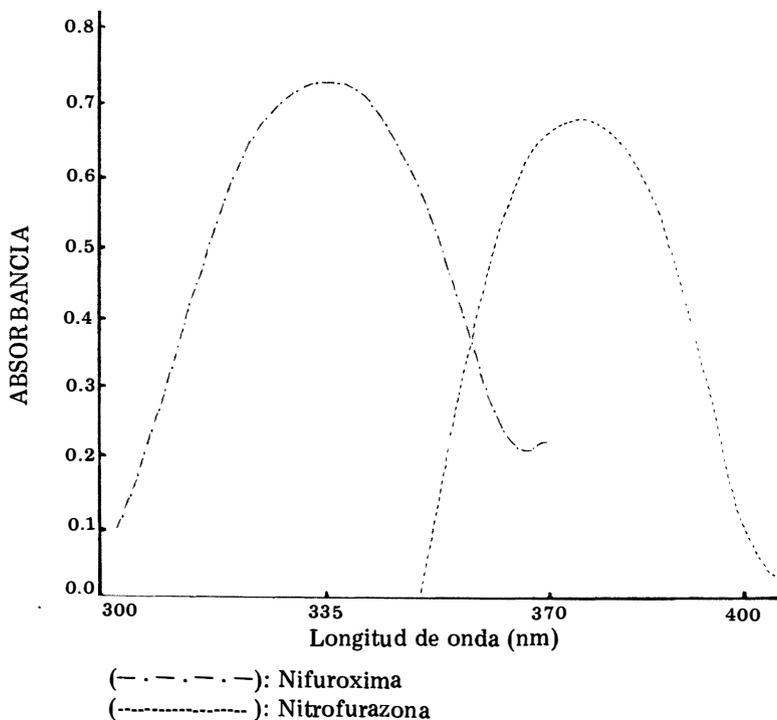
Con las diluciones de nitrofurazona y nifuroxima de 10 y 10 mcg/ml respectivamente, se determinaron los espectros de absorción molecular entre 300 y 400 nm (ver figura 1).

### 4. Comprobación de la aditividad de absorbancias

Se prepararon diluciones de nitrofurazona que contenían 2, 3, 5, 7 y 9 mcg/ml a partir de la solución patrón de nitrofurazona, completando a volumen con alcohol del 50% V/V. A partir de la solución patrón de nifuroxima se prepararon 5 diluciones que contenían 2, 4, 6, 8, y 10 mcg/ml, y se completó a volumen con el mismo disolvente.

FIGURA 1

## ESPECTROS DE ABSORCION MOLECULAR



Se prepararon mezclas de los dos nitrofuranos que contenían las siguientes concentraciones de nitrofurazona y nifuroxima respectivamente: 2:2; 3:4; 5:6; 7:8; y 9:10 mcg/ml usando como disolvente etanol al 50% V/V y se determinó la absorbancia de las diluciones de los compuestos puros y de las mezclas a las longitudes de onda de máxima absorción para los dos nitrofuranos (335 y 375 nm).

Los datos obtenidos pueden observarse en la Tabla I.

Es absolutamente necesario que el título del alcohol corresponda exactamente a la indicación, debido a que la nifuroxima presenta un efecto de hiper Cromicidad al disminuir el contenido de humedad del solvente, manifestándose éste fenómeno en mayor grado cuando se utiliza etanol absoluto.

##### 5. Comprobación del cumplimiento de la ley de Lambert-Beer

Nitrofurazona: se prepararon 5 diluciones de nitrofurazona de concentración 2.5, 4.0, 6.0, 8.0 y 10.0 mcg/ml a partir de la solución patrón de nitrofurazona completando a volumen con alcohol del 50% V/V y se determinó la absorbancia de estas diluciones a 335 y 375 nm.

TABLA I

## ADITIVIDAD DE ABSORBANCIAS PARA NITROFURAZONA-NIFUROXIMA

| Concentración |            | Absorbancia   |        |            |        | Absorbancia |        |
|---------------|------------|---------------|--------|------------|--------|-------------|--------|
| Nitrofurazona | Nifuroxima | Nitrofurazona |        | Nifuroxima |        | Mezcla      |        |
| mcg/ml        | mcg/ml     | 335 nm        | 375 nm | 335 nm     | 375 nm | 335 nm      | 375 nm |
| 2.0           | 2.0        | 0.070         | 0.130  | 0.140      | 0.030  | 0.210       | 0.160  |
| 3.0           | 4.0        | 0.150         | 0.260  | 0.270      | 0.090  | 0.420       | 0.350  |
| 5.0           | 5.0        | 0.190         | 0.370  | 0.440      | 0.145  | 0.630       | 0.520  |
| 7.0           | 7.0        | 0.290         | 0.540  | 0.605      | 0.200  | 0.900       | 0.750  |
| 9.0           | 10.0       | 0.370         | 0.660  | 0.760      | 0.250  | 1.130       | 0.920  |

Los datos obtenidos aparecen en la Tabla II y la curva de calibración puede observarse en la figura No. 2.

TABLA II

## COMPROBACION DE LA LEY DE LAMBERT-BEER PARA NITROFURAZONA

| Concentración<br>(mcg/ml) | Absorbancia |        |
|---------------------------|-------------|--------|
|                           | 335 nm      | 375 nm |
| 2.5                       | 0.106       | 0.165  |
| 4.0                       | 0.169       | 0.311  |
| 6.0                       | 0.245       | 0.456  |
| 8.0                       | 0.331       | 0.617  |
| 10.0                      | 0.414       | 0.755  |

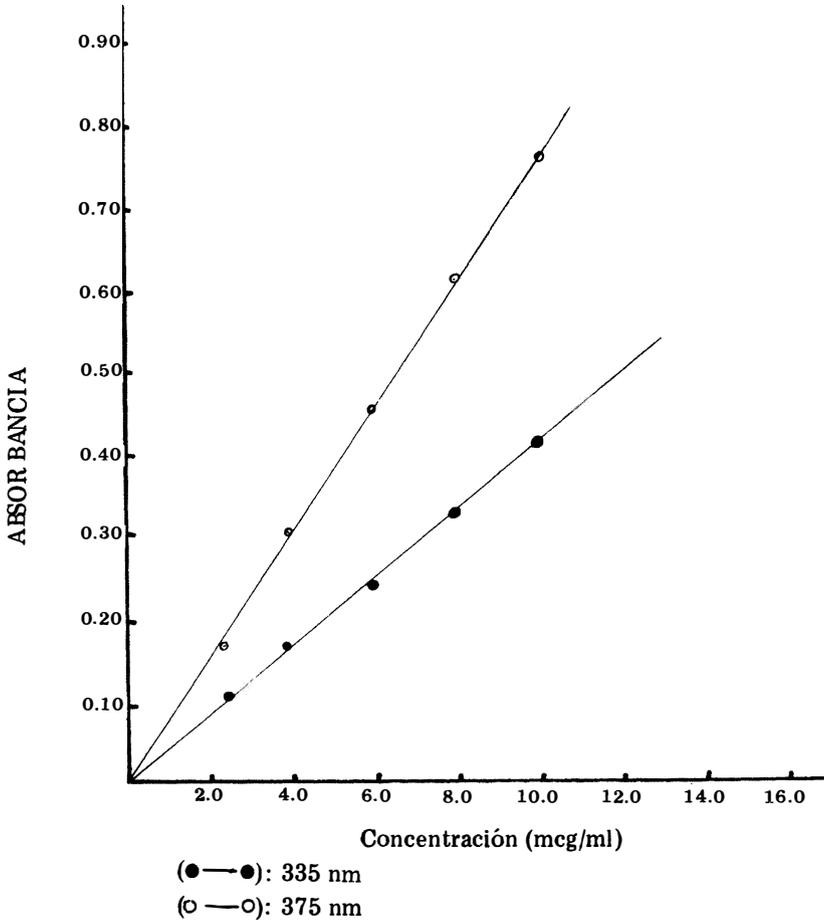
Nifuroxima: se prepararon 5 diluciones de nifuroxima de concentración 3.0, 5.0, 7.0, 9.0 y 11.0 mcg/ml a partir de la solución patrón de nifuroxima, se completó a volumen con alcohol del 50% V/V.

Se determinó la absorbancia de estas diluciones a 335 y 375 nm.

Los datos obtenidos aparecen en la Tabla III y las curvas de calibración pueden observarse en la figura No. 3.

FIGURA 2

COMPROBACION DE LA LEY LAMBERT-BEER PARA LA NITROFURAZONA



6. Determinación de una mezcla de nitrofurazona-nifuroxima en un producto comercial: forma líquida

6.1 Determinación de los coeficientes de extinción específico

Nitrofurazona: se prepararon a partir de la solución patrón 10 diluciones de concentración 2.0; 2.5; 3.0; 4.0; 5.0; 6.0; 7.0; 8.0; 9.0 y 10 mcg/ml completando a volumen con alcohol del 50% V/V.

Nifuroxima: se prepararon a partir de la solución patrón diez diluciones de concentración 2.0; 3.0; 4.0; 5.0; 6.0; 7.0; 8.0; 9.0; 10.0 y 12.0 mcg/ml. Se determinó la absorbancia de estas dos series de diluciones a 335 y 375 nm y

FIGURA 3

COMPROBACION DE LA LEY LAMBERT-BEER PARA NIFUROXIMA

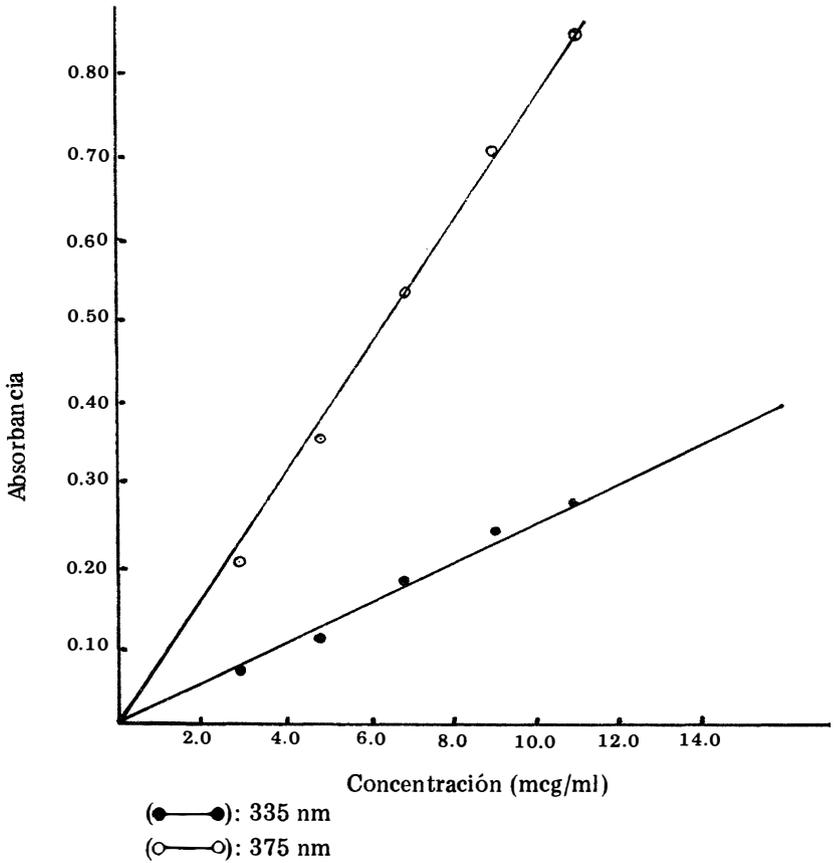


TABLA III

COMPROBACION DE LA LEY DE LAMBERT-BEER PARA NIFUROXIMA

| Concentración<br>(mcg/ml) | Absorbancia |        |
|---------------------------|-------------|--------|
|                           | 335 nm      | 375 nm |
| 3.0                       | 0.195       | 0.065  |
| 5.0                       | 0.328       | 0.100  |
| 7.0                       | 0.535       | 0.173  |
| 9.0                       | 0.700       | 0.245  |
| 11.0                      | 0.840       | 0.272  |

se calcularon los coeficientes de extinción específico para cada una de las sustancias a las dos longitudes de onda de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$a = \frac{A}{bc} \quad (1)$$

A: Absorbancia

b: espesor de la celda en cm

c: concentración en g/l

a: coeficiente de extinción en l/g · cm

Los datos y resultados obtenidos aparecen en la Tabla IV donde se incluye, además, los promedios y límites.

## 6.2 Valoración de nitrofurazona-nifuroxima en un producto comercial

Se midió una cantidad de la muestra que contuviera aproximadamente 1 mg de nitrofurazona y 2 mg de nifuroxima, se diluyó a 10 ml con alcohol del 50% V/V y se hicieron las diluciones correspondientes hasta obtener 3 mcg/ml de nitrofurazona y 5 mcg/ml de nifuroxima empleando el mismo disolvente.

**TABLA IV**  
**DETERMINACION DE LOS COEFICIENTES DE EXTINCION ESPECIFICO**  
**PARA NITROFURAZONA-NIFUROXIMA**

| Concentración<br>mcg/ml |                      | Absorbancia   |        |            |        |                 |                 |                 |                 |
|-------------------------|----------------------|---------------|--------|------------|--------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Nitro-<br>fura-<br>zona | Nifu-<br>roxi-<br>ma | Nitrofurazona |        | Nifuroxima |        | $a_1 \lambda_1$ | $a_1 \lambda_2$ | $a_2 \lambda_1$ | $a_2 \lambda_2$ |
|                         |                      | 335 nm        | 375 nm | 335 nm     | 375 nm |                 |                 |                 |                 |
| 2.0                     | 2.0                  | 0.080         | 0.150  | 0.140      | 0.050  | 40.00           | 75.00           | 70.00           | 25.00           |
| 2.5                     | 3.0                  | 0.110         | 0.190  | 0.220      | 0.070  | 44.00           | 76.00           | 73.33           | 23.33           |
| 3.0                     | 4.0                  | 0.130         | 0.230  | 0.280      | 0.090  | 43.33           | 76.66           | 70.00           | 22.50           |
| 4.0                     | 5.0                  | 0.170         | 0.310  | 0.380      | 0.100  | 42.50           | 77.50           | 76.00           | 20.00           |
| 5.0                     | 6.0                  | 0.200         | 0.370  | 0.440      | 0.150  | 40.00           | 74.00           | 73.33           | 25.00           |
| 6.0                     | 7.0                  | 0.240         | 0.460  | 0.540      | 0.170  | 40.00           | 76.66           | 77.14           | 24.29           |
| 7.0                     | 8.0                  | 0.290         | 0.540  | 0.610      | 0.200  | 41.42           | 77.14           | 76.25           | 25.00           |
| 8.0                     | 9.0                  | 0.330         | 0.620  | 0.690      | 0.220  | 41.25           | 77.50           | 76.66           | 24.44           |
| 9.0                     | 10.0                 | 0.380         | 0.670  | 0.760      | 0.250  | 42.22           | 74.44           | 76.00           | 25.00           |
| 10.0                    | 12.0                 | 0.410         | 0.750  | 0.900      | 0.320  | 41.00           | 75.00           | 75.00           | 26.66           |
| Promedio                |                      |               |        |            |        | 41.55           | 75.99           | 74.37           | 24.12           |
| Límite superior         |                      |               |        |            |        | 44.39           | 79.63           | 79.63           | 27.76           |
| Límite inferior         |                      |               |        |            |        | 38.71           | 72.35           | 69.11           | 20.48           |

Se cuantificaron los dos nitrofuranos en 5 muestras diferentes y los datos obtenidos aparecen en la Tabla V al igual que la concentración de las dos sustancias, calculada de acuerdo a las ecuaciones:

$$A \text{ sistema } (\lambda_1) = a_1 \lambda_1 bc_1 + a_2 \lambda_2 bc_2 \quad (2)$$

$$A \text{ sistema } (\lambda_2) = a_1 \lambda_2 bc_1 + a_2 \lambda_2 bc_2 \quad (3)$$

donde:

$a_1 \lambda_1$  : coeficiente de extinción específico de la nitrofurazona a 335 nm.

$a_2 \lambda_1$  : coeficiente de extinción específico de la nifuroxima a 335 nm.

$a_1 \lambda_2$  : coeficiente de extinción específico de la nitrofurazona a 375 nm.

$a_2 \lambda_2$  : coeficiente de extinción específico de la nifuroxima a 375 nm.

b: espesor de la celda en cm.

$c_1$  : concentración de la nitrofurazona en g/l

$c_2$  : concentración de nifuroxima g/l

TABLA V

VALORACION DE NITROFUZZAZONA-NIFUROXIMA EN MEZCLAS

| Muestra No. | Absorbancia de la mezcla |       | Concentración |          | m cantidad rotul. |            |
|-------------|--------------------------|-------|---------------|----------|-------------------|------------|
|             | 335                      | 375   | Nitrofur.     | Nifurox. | Nitrofur. %       | Nifurox. % |
| 1           | 0.550                    | 0.370 | 3.10          | 5.60     | 106.0             | 105.6      |
| 2           | 0.550                    | 0.370 | 3.00          | 5.70     | 106.3             | 107.5      |
| 3           | 0.540                    | 0.350 | 3.00          | 5.65     | 106.3             | 106.6      |
| 4           | 0.550                    | 0.320 | 2.60          | 5.68     | 92.5              | 107.1      |
| 5           | 0.560                    | 0.350 | 2.70          | 5.70     | 96.0              | 107.5      |

## II. RESULTADOS Y DISCUSION

De acuerdo a los espectros de absorción obtenidos se puede observar que la Nifuroxima presenta un máximo de absorción a 335 nm y la Nitrofurazona a 375 nm (ver figura No. 1).

A estas longitudes de onda la Nifuroxima cumple con la Ley de Lambert-Beer dentro de límites de concentración entre 2.0 y 12 mcg/ml y la Nitrofurazona entre 2.0 y 10.0 mcg/ml (ver figura No. 2 y 3).

Los dos Nitrofuranos estudiados presentan aditividad a las dos longitudes de onda de máxima absorción según se comprobó experimentalmente con 5 muestras de concentración Nifuroxima-Nitrofurazona: 2:2; 3:4; 5:6; 7:8; y 9:10 mcg/ml (ver tabla No. 1). Los valores de coeficiente de extinción específico calculados para los dos nitrofuranos a las longitudes donde éstos presentan su máximo de absorción son: 41.55 a 335 nm y 75.99 a 375 nm

para la Nitrofurazona y 74.37 a 335 nm y 24.12 a 375 para la nifuroxima, valores obtenidos a partir de 10 diluciones de cada una de las sustancias y posterior tratamiento estadístico (ver Tabla No. IV).

Los resultados obtenidos al aplicar el método propuesto a la valoración de Nifuroxima y Nitrofurazona en un producto comercial se observan en la tabla V. Estos datos se encuentran dentro de los límites especificados para el producto.

Esta técnica ofrece grandes ventajas sobre los métodos corrientes utilizados en la valoración de mezclas de Nitrofuranos debido a que no es necesaria una previa separación de los componentes de la mezcla obteniéndose resultados precisos y exactos. Además permite la cuantificación de un gran número de muestras en forma rápida, ya que conociendo los valores de los coeficientes de extinción específico para las dos sustancias, a las longitudes de onda de máxima absorción, solamente se requiere determinar la absorción del sistema a las dos longitudes de onda y posterior cálculo de la concentración a partir de las ecuaciones (2) y (3).

Es absolutamente necesario emplear alcohol del 50% V/V para las diluciones de las muestras que se quiera valorar por este método a fin de poder utilizar los valores de coeficientes de extinción hallados en esta experiencia, ya que la variación en el porcentaje de humedad del disolvente produce efectos hipso o hipercrómicos según que este disminuya o aumente. Este fenómeno se presenta muy especialmente en el caso de la Nifuroxima. Es además necesario proteger todas las soluciones de la luz directa pues los Nitrofuranos son degradados por ésta. La presencia de cualquier otro componente en la mezcla no interfiere en la aplicación de esta técnica siempre y cuando la sustancia no presente absorción entre 300 y 400 nm. En caso de que un tercer componente presente absorción dentro de esta región se aplicaría el método descrito pero para un sistema de tres componentes.

### III. RESUMEN

El método espectrofotométrico propuesto para la valoración de los Nitrofuranos en mezcla se basa en la aditividad de la absorbancia que estos compuestos presentan a las longitudes de onda donde cada uno de ellos posee un máximo de absorción.

Se comprobó el cumplimiento de la ley de Lambert-Beer por parte de cada uno de los compuestos analizados y la aditividad de las absorbancias. Se calcularon además los respectivos coeficientes de extinción específico y se aplicaron los anteriores datos en la cuantificación de una mezcla de Nitrofurazona y Nifuroxima en un producto comercial. Se observó la influencia del disolvente (alcohol de 50% V/V) en el comportamiento de los dos Nitrofuranos estudiados.

### IV. SUMMARY

The suggested spectrophotometrical method for the quantification of mixture of nitrofurans is based on the additivity of absorbances of these compounds at the wavelength of maximum absorbance for each compound.

The agreement with Lambert-Beer law and the absorbance additivity were tested.

The determination of the amount of Nitrofurazone and Nifuroxime in a commercial product was based on the specific extinction coefficients which were calculated, the influence of the solvent (alcohol 50%) on the behavior of the two Nitrofurans was studied.

## V. BIBLIOGRAFIA

1. The United States Pharmacopeia, 19 th. rev; Mack Publishing Co. Easton Pa. 341, 1975.
2. The National Formulary, 12 th. Edition, Published By the American Pharmaceutical Association, Washington D.D. 275-277, 1965.
3. Sue E. Hays, Lee T. Grady "Inclusion Compounds in Pharmaceutical Analysis II. Assay of a Cream Following Chemical Dehydration" J. Pharm. Sci. 60, 295, 1971.
4. Cohen V. "Paper Chromatography of Nitrofurans Derivatives" J. Chromatog, 23, 446-456 1966.
5. Apling, E. G. Applications of Analytical Techniques to the study of Nitrofurans. I, paper electrophoresis, Analytical Abstracts, 19 4369, 1970.
6. M. L. Determination of Nitrofurans in Non-Aqueous Medium. Analytical Abstracts, 18, 1969, 1970.
7. Baker, W.J. Polarography of some nitrated Heterocyclic Compounds, Analytical Abstracts 11, 5716, 1964.
8. Francis, Summa. Polarographic Method of Analysis for Pharmaceuticals. J. Pharm. Sci. 51,474, 1962.
9. A.R. Rogers, Instrumental Analysis of Nitrofurans Derivatives. Analytical Abstracts 13, 7096, 1966
10. Brickell E.G. Turbidimetric Assay of Nitrofurans. Analytical Abstracts 16, 3227, 1969.
11. Strobel H.A. Chemical Instrumentation, Addison - Wesley Publishing Co, Inc London England, 154, 1962.
12. Higuchi T. Pharmaceutical Analysis, Interscience Publishers N.Y, London, 436, 1961.