

COMPARACIÓN ENTRE ELECTRODOS POSAI Y ELECTRODOS COMERCIALES EN LA TITULACIÓN POTENCIOMÉTRICA DE SULFAMETOXAZOL Y TRIMETOPRIMA

COMPARATION BETWEEN POSAI ELECTRODES AND COMMERCIAL ELECTRODES IN POTENTIOMETRIC TITRATION OF SULFAMETHOXAZOLE AND TRIMETHOPRIM

Graciela Romero¹, Alvaro López¹, Sonia Rincón², José J. Pérez², Juan C. Pescador¹, Adir J. Pérez¹

(1) Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Departamento de Química Inorgánica, Prolongación de M. Carpio y Plan de Ayala s/n, Colonia Santo Tomás, C.P. 11340 México, D.F. - México

(2) Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Sección de Química Analítica, Av. 1º de Mayo s/n, Cuautitlán Izcalli, Estado de México - México
(e-mail: gcoronel@hotmail.com)

Recibido: 30/03/2011 - Evaluado: 31/05/2011 - Aceptado: 16/08/2011

RESUMEN

En este trabajo se compararon los electrodos POSAI (Película de Óxido Sobre Acero Inoxidable) con los electrodos comerciales en la determinación potenciométrica de las sustancias activas sulfametoxazol y trimetoprima presentes en el medicamento Bactrim. La determinación de trimetoprima se llevó a cabo a través de la reacción ácido-base en medio no acuoso empleando ácido perclórico como solución titulante, mientras que en la valoración de sulfametoxazol se empleó nitrito de sodio para efectuar una reacción de óxido-reducción. El uso de los electrodos prototipo platino/POSAI para la reacción de óxido-reducción y el electrodo prototipo POSAI como electrodo de referencia en la reacción ácido-base presentaron un funcionamiento equiparable con el electrodo de platino/Ag/AgCl y el electrodo de vidrio comercial al detectar los mismos volúmenes de solución titulante en el punto de equivalencia bajo las condiciones de estudio en las determinaciones que se efectuaron a microescala.

ABSTRACT

The POSAI electrodes (electrode made with ferric and ferrose oxides films over stainless steel) and commercial electrodes were compared in the potentiometric titration of sulfamethoxazole and trimethoprim included in Bactrim antibiotic. Trimethoprim determination was carried out by the acid-base reaction on non-aqueous medium with perchloric acid, while the sulfamethoxazole determination was made with sodium nitrite in a redox reaction. The use of prototype electrode platinum/POSAI by redox reaction, and the prototype electrode POSAI as reference electrode in an acid-base reaction, was similar to the use of platinum/Ag/AgCl electrode and the use of commercial electrode respectively, due to the equivalency in the results founded in the micropotentiometric titration employing such electrodes.

Palabras clave: electrodos-prototipo; micropotenciometría; sulfametoxazol; trimetoprima
Keywords: prototype electrodes; micropotentiometry; sulfamethoxazole; thrimethoprim

INTRODUCCIÓN

Los métodos que se basan en la electroquímica se han utilizado de manera importante en el análisis químico cuantitativo de diferentes analitos. Uno de estos métodos es la titulación potenciométrica, la cual consiste en medir el potencial de un electrodo indicador en función del volumen de titulante adicionado a una solución donde está presente el analito. En tales determinaciones es preciso disponer de un electrodo indicador, un electrodo de referencia y un recipiente donde llevar a cabo la reacción electroquímica (Skoog & West, 1989). En ocasiones, estos análisis resultan inaccesibles para los laboratorios farmacéuticos (de enseñanza o de pequeña industria), por lo que el empleo de técnicas en miniatura es una buena alternativa para remediar estas limitaciones (Carlsson & Karlberg, 2001).

Una determinación muy útil en la industria e investigación farmacéutica es la titulación con nitrito de sodio para cuantificar sulfamidas, p-aminofenoles y ciertos alcaloides utilizando un electrodo de platino, además de que algunos de los principios activos son ácidos o bases débiles que también se pueden cuantificar por un método potenciométrico utilizando el electrodo de vidrio como electrodo indicador (Qiang & Adams, 2004; Babić *et al.*, 2007).

Los electrodos POSAI (por las siglas: Película de Óxido Sobre Acero Inoxidable) representan una alternativa por el bajo costo en su elaboración, para la realización de determinaciones potenciométricas, dado que del mismo modo que el electrodo de vidrio, estos electrodos se basan en la ecuación de Nernst, que para el caso particular del FeO (óxido ferroso) se tiene:

$$E = E^{\circ}_{Fe} + \frac{0.0592}{2} \log \frac{[FeO][H^+]^2}{[Fe^{2+}][H_2O]}$$

$$E = E^{\circ}_{Fe} + \frac{0.0592}{2} * 2 \log [H^+]$$

$$E_T = E^{\circ}_{Fe} + 0.0592 \log [H^+]$$

$$E_T = E^{\circ}_{Fe} - 0.0592 \text{ pH}$$

De acuerdo con esto el electrodo POSAI es un electrodo sensible a la concentración de iones H^+ , por lo que se puede utilizar en titulaciones potenciométricas ácido-base (Romero *et al.*, 2005). Si el electrodo se mantiene inmerso en una concentración de iones H^+ constante, el potencial total sería constante y las variaciones de la lectura en el potenciómetro serían debidas al electrodo indicador, por lo que el electrodo POSAI se puede utilizar también como electrodo de referencia. Para hacer uso de esta propiedad es necesario tener en cuenta que se deben utilizar soluciones buffer o amortiguadoras en tal proceso (López *et al.*, 2006).

Las valoraciones ácido-base en medio no acuoso, son técnicas que se usan para la cuantificación de sustancias insolubles en agua o ácidos y bases de K_a o K_b inferiores de 10^{-7} . En estas valoraciones es conveniente utilizar la potencimetría para determinar el volumen de equivalencia en forma gráfica (Pietrzyk & Frank, 1983)

Anteriormente se mencionó que es posible cuantificar otros analitos que presentan una reacción redox con el titulante, en estos casos se requiere medir el cambio de potencial de la solución con el auxilio de un electrodo indicador de platino y un electrodo POSAI como electrodo de referencia, el cuál tendrá que estar sumergido en una solución amortiguadora de pH 7 (Romero *et al.*, 2005; López *et al.*, 2006).

Dado las características químicas de las sustancias activas del *Bactrim*, han sido propuestos diferentes métodos para la determinación de trimetoprima y sulfametoxazol (Givianrad *et al.*, 2011), de los cuáles el método potenciométrico es de los más utilizados. En éste método se emplea una reacción ácido base con $HClO_4$ para

conocer el contenido de trimetoprima; y en el caso del sulfametoxazol, una reacción redox con NaNO_2 para determinar la concentración del analito. En el presente trabajo se utilizó en ambos casos una técnica a microescala (5, 10, 14) con electrodos POSAI (electrodos prototipo que han sido elaborados en el Departamento de Química Inorgánica de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas) y con electrodos comerciales, con el propósito de verificar la posible equivalencia en los resultados obtenidos con electrodos prototipo.

METODOLOGÍA

Se utilizó el fármaco *Bactrim* el cual es un potente bactericida y bacteriostático, que contiene sulfametoxazol y trimetoprima como principios activos (400 mg y 80 mg respectivamente, de acuerdo a la fórmula presente en el medicamento). Para la cuantificación de sulfametoxazol se utilizaron los electrodos de platino comercial y el electrodo elaborado platino-POSAI debido a que la reacción de óxido-reducción que se presenta es la formación de una sal de diazonio que puede ser medida con estos electrodos bajo las condiciones adecuadas (Romero *et al.*, 2005); por otro lado, la trimetoprima da lugar a una reacción de ácido-base en medio no acuoso, por lo que se utilizaron electrodos de vidrio comercial y el electrodo POSAI/POSAI (López *et al.*, 2006; Pérez *et al.*, 2004a; Pérez *et al.*, 2004b). Para realizar la medición y comparación del potencial obtenido con cada uno de los electrodos (POSAI o comercial), la obtención de los datos se realizó de manera simultánea para cada electrodo con el potenciómetro (40 PHI pH-meter, Beckman Instruments, USA) tal como se observa en la Figura 1.

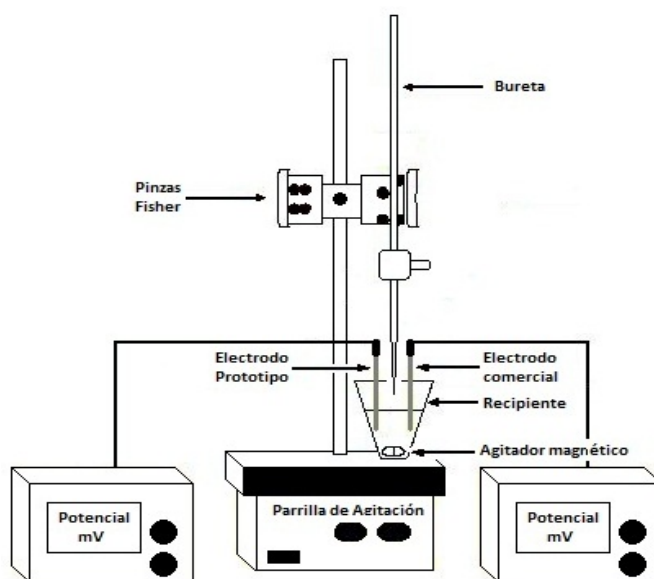


Fig. 1: Diagrama del equipo y material empleado en la determinación potenciométrica de trimetoprima y sulfametoxazol.

Las técnicas de valoración empleadas fueron las recomendadas por la US Pharmacopeia (USP, 1980), disminuyendo a la décima parte la cantidad de reactivos necesarios para dichas determinaciones, por lo que los métodos se consideran a microescala dado el tamaño de la muestra que se analizó en el intervalo de 1 a 10 mL (Helm *et al.*, 2009).

Inicialmente se realizaron las valoraciones potenciométricas de los estándares de trimetoprima y sulfametoxazol de acuerdo a los siguientes procedimientos: se colocaron 100 mg del estándar de trimetoprima en un matraz volumétrico y se aforaron con ácido acético glacial (Ácido acético glacial, 100 %, Merck), a un volumen de 50 mL. Se midió una alícuota de 5 mL (equivalentes a 10 mg de trimetoprima) y se realizó la titulación con adiciones de 0.2 mL de $\text{HClO}_4/\text{CH}_3\text{COOH}$ glacial como solución titulante con una concentración 0.0185 N, que se determinó a partir de la valoración con biftalato de potasio (100 % p/p, Fermont) previamente seco (120 °C, 2

h) de acuerdo a lo establecido por Costa *et al.* (2008). En el caso del estándar de sulfametoxazol se colocaron 50 mg en un recipiente, se añadieron 2 mL de CH_3COOH glacial, 1.5 mL de HCl (36.5-38 % p/p, Merck), 3 mL de agua, se agitó y se realizó la valoración con adiciones de 0.2 mL de NaNO_2 (99 % p/p, JT Baker) con una concentración de 0.05 N de acuerdo a lo propuesto por la USP (1980) con las modificaciones consideradas para la determinación a microescala.

Una vez obtenidos los valores de potencial para cada caso, se elaboraron las gráficas de potencial contra volumen de solución titulante. El volumen de la solución titulante en el punto de equivalencia se determinó por el método de la primera derivada.

Para la valoración de trimetoprima presente en tabletas comerciales (*Bactrim*) se determinó la masa de 20 tabletas, se obtuvo el promedio de cada una, y se trituraron en un mortero. Se midieron 0.1524 g (correspondientes a una cuarta parte de la tableta de *Bactrim*, equivalente a 20 mg del principio activo) y se llevaron al recipiente de titulación. Se añadieron 5 mL de ácido acético glacial, 3 mL de anhídrido acético y se agitó. Posteriormente se hicieron adiciones de 0.2 mL de $\text{HClO}_4/\text{CH}_3\text{COOH}$ glacial 0.0185 N como solución titulante y se midió el potencial. Una vez obtenidos los potenciales, se elaboró una gráfica de potencial contra volumen de titulante y se determinó el valor del volumen de la solución titulante en el punto de equivalencia por el método de la primera derivada.

En el caso de la valoración de sulfametoxazol contenida en la tableta (*Bactrim*), se colocaron en el recipiente de titulación 0.075g de tableta (equivalente a 50 mg de sulfametoxazol), se añadieron 2 mL de ácido acético glacial, 3 mL de agua, 1.5 mL de HCl concentrado y se agitó. Se realizaron adiciones de 0.2 mL de nitrito de sodio 0.05 N como solución titulante y se midió el potencial. Una vez obtenidos los potenciales de igual forma se generó una gráfica de potencial contra volumen de nitrito de sodio y se determinó el valor del volumen de la solución titulante en el punto de equivalencia por el método de la primera derivada.

Para realizar el ensayo de recuperación de trimetoprima se preparó en un matraz aforado de 50 mL una solución con 200 mg del estándar y ácido acético glacial. Posteriormente se midieron 0.1524 g de *Bactrim* y se realizó la determinación de acuerdo a lo anteriormente señalado para la valoración de trimetoprima contenida en las tabletas. Una vez encontrado el cambio de potencial debido a la adición de titulante, se añadió 5 mL de solución del estándar y se completó de nueva cuenta la valoración de trimetoprima. Con los potenciales obtenidos se elaboró una gráfica de potencial contra volumen de titulante y por el método de la primera derivada se determinó la cantidad de solución titulante para obtener el punto de equivalencia. El ensayo de recuperación de sulfametoxazol se realizó de la siguiente forma: se colocaron en el recipiente de titulación 0.075g de tableta (equivalente a 50 mg de sulfametoxazol) y se realizó la valoración de acuerdo a lo establecido en la valoración de sulfametoxazol contenida en las tabletas *Bactrim* con la adición de nitrito de sodio 0.05 N hasta encontrar el cambio de potencial correspondiente al punto de equivalencia. Posteriormente se adicionaron 2 mL de ácido acético glacial, 1.5 mL de HCl concentrado y 50 mg del estándar de sulfametoxazol para continuar con la valoración hasta encontrar de nueva cuenta el cambio de potencial.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la cuantificación del estándar de trimetoprima se emplearon los electrodos POSAI/POSAI y Vidrio/Ag/AgCl. En la Figura 2a se puede observar la gráfica correspondiente al método de la primera derivada para los cambios de potencial en función del volumen de adición de HClO_4 .

Para los dos electrodos, el promedio de la cantidad de solución titulante en el punto de equivalencia (1.9 ± 0.05 mL) fue aproximadamente el mismo en todas las titulaciones. A partir de tal volumen se determinó la presencia de 10.2 mg de trimetoprima en el recipiente de reacción, mientras el valor teórico fue de 10 mg. Es posible que este error se presente debido a que el volumen teórico estaba considerado en 1.86 mL, y el promedio del volumen experimental encontrado fue de 1.9 mL, por lo que ésta diferencia puede estar asociada al

instrumental empleado, ya que no es posible dar una lectura de 1.86 mL con el tipo de bureta empleada y se aproximó a 1.9 mL en todos los casos. Sin embargo, tanto los electrodos POSAI/POSAI como los electrodos comerciales (vidrio), demostraron consistencia en la detección y cuantificación de la trimetoprima al obtener resultados muy similares.

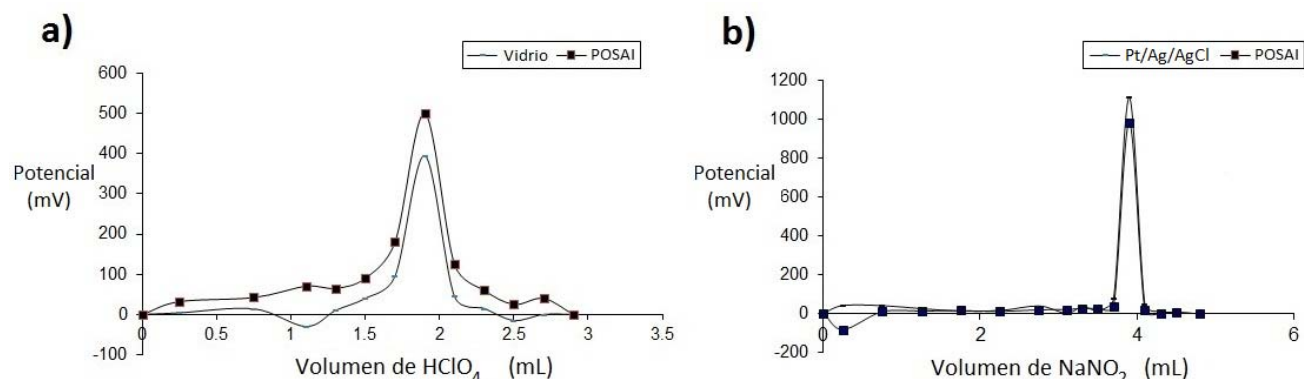


Fig. 2: a) Gráfica de la primera derivada en la determinación potenciométrica de trimetoprima. b) Gráfica de la primera derivada en la determinación potenciométrica de sulfametoxazol.

En el caso de la valoración del estándar de sulfametoxazol se observó un valor promedio de 49.89 ± 0.53 mg al emplear el electrodo platino/POSAI, mientras que con el electrodo de platino/Ag/AgCl el valor estimado fue de 50.1 ± 0.95 mg. Los valores obtenidos son muy parecidos entre sí, además de que son muy similares al valor teórico (50 mg), aunque cabe mencionar que el electrodo prototipo resultó más preciso en comparación al electrodo comercial. Los resultados de potencial para ambos electrodos sometidos al tratamiento de la primera derivada se pueden observar en la Figura 2b.

Se realizó el cálculo del intervalo de confianza al 95 %, utilizando como media muestral el promedio de los mg obtenidos en cada valoración. Los valores obtenidos fueron de 49.89 ± 0.63 mg para el electrodo platino/POSAI y de 50.1 ± 0.76 mg para el electrodo platino/Ag/AgCl, de tal forma que en la determinación potenciométrica con una reacción redox, es posible utilizar un electrodo prototipo o uno comercial sin afectar la calidad de la misma.

Una vez demostrada la posibilidad de cuantificar la trimetoprima y el sulfametoxazol mediante métodos potenciométricos alternativos, se procedió a la cuantificación de estos principios activos contenidos en la fórmula farmacéutica (*Bactrim* en tabletas).

La cantidad de trimetoprima contenida en las tabletas fue de 18.89 ± 0.63 mg, independientemente del electrodo empleado en la obtención del valor del volumen de la solución titulante en el punto de equivalencia (Figura 3a), aunque en el caso del electrodo POSAI/POSAI, éste presentó un menor cambio en el potencial debido a la adición de titulante, en comparación al electrodo de vidrio.

Como consecuencia, se sustituyó el electrodo de referencia del electrodo POSAI, por un electrodo de Ag/AgCl como referencia. En la Figura 3b es posible constatar que el cambio de potencial se presentó en la misma magnitud que con el electrodo de vidrio, aunque esto posiblemente fue a causa de que la diferencia de potencial entre la solución donde se encuentra el electrodo, y la solución donde se tiene al analito, no es lo suficientemente intensa, como la diferencia de potencial entre la solución del electrodo de vidrio comercial, por lo que el electrodo POSAI en el sistema POSAI/POSAI no se recomendaría en valoraciones de ácido-base de trimetoprima. Sin embargo, el electrodo POSAI detectó la cantidad de analito presente en el medio.

En la cuantificación de sulfametoxazol contenido en las tabletas *Bactrim* se obtuvieron valores de 51.42 ± 1.85 mg para el electrodo POSAI/POSAI y de 51.92 ± 1.57 mg para el electrodo de platino, mismos que se obtuvieron a partir del volumen de solución titulante empleado para obtener el punto de equivalencia (Figura 4). Los valores obtenidos fueron muy similares al valor que se exhibe en la fórmula del medicamento, además de que no hubo diferencia significativa entre ellos ($p < 0.05$).

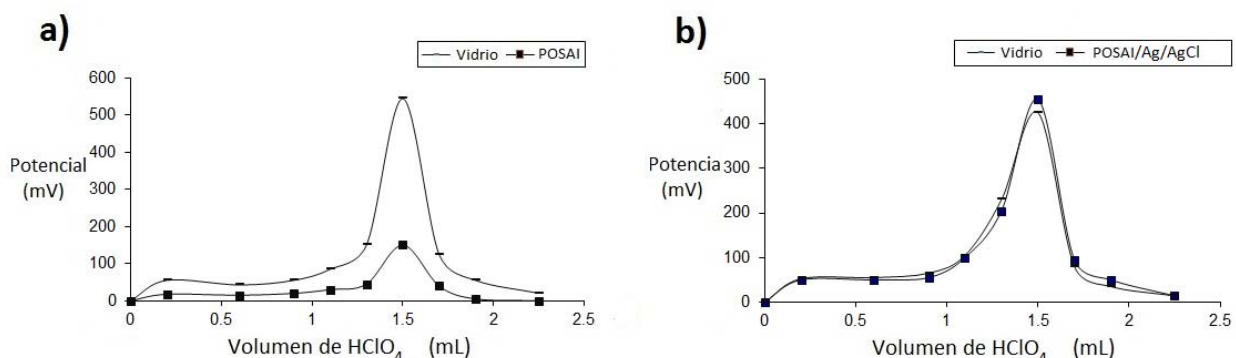


Fig. 3: a) Primera derivada de la curva de valoración de trimetoprima empleando el electrodo POSAI/POSAI.
b) Primera derivada de la curva de valoración de trimetoprima con electrodo POSAI/Ag/AgCl.

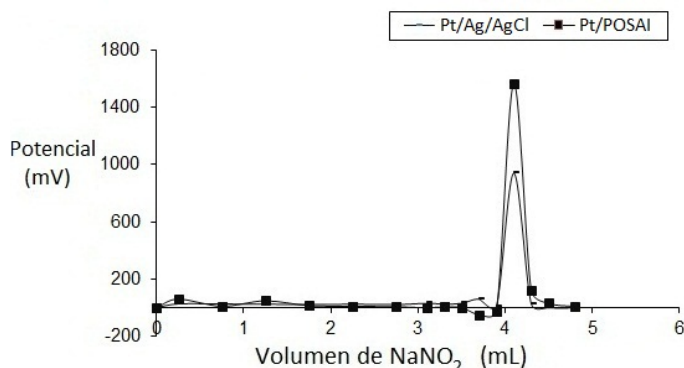


Fig. 4: Primera derivada de la curva de titulación de sulfametoxazol desde la tableta (bactrim).

El propósito de realizar el ensayo de recuperación en la valoración de trimetoprima fue constatar la precisión y exactitud del método, puesto que el compuesto se determina directamente sobre la formulación de la tableta, y es posible que se presente una interferencia por la presencia de otros compuestos químicos propios del producto. En la Figura 5 se observa la congruencia entre los dos electrodos empleados (POSAI y de vidrio), dado que ambos presentaron los mismos valores del volumen de la solución titulante en el punto de equivalencia (primer volumen de 1.6 mL, para valorar la trimetoprima contenida en tabletas; segundo volumen de 2.9 mL para valorar la trimetoprima adicionada en la solución estándar) en la valoración con HClO₄.

El porcentaje de recuperación para la trimetoprima fue de 92.9 % en la determinación independientemente del electrodo empleado para su determinación (electrodo POSAI o de vidrio). La precisión del método fue aceptable para ambos casos (desviación estándar de 0.75 mg), además de que los dos electrodos demostraron similitud en los resultados, al detectar la misma cantidad de principio activo, por lo que se deduce que la utilización de cualquiera de los electrodos fue adecuada.

En el caso del ensayo de recuperación para el sulfametoxazol se observó una consistencia en los resultados arrojados por el método con un porcentaje de recuperación de sulfametoxazol de 100.04 %, error debido

principalmente al material de medición empleado como se explicó anteriormente. En la Figura 6 se pueden apreciar los valores del volumen de la solución titulante en el punto de equivalencia obtenidos con el uso de ambos tipos de electrodos.

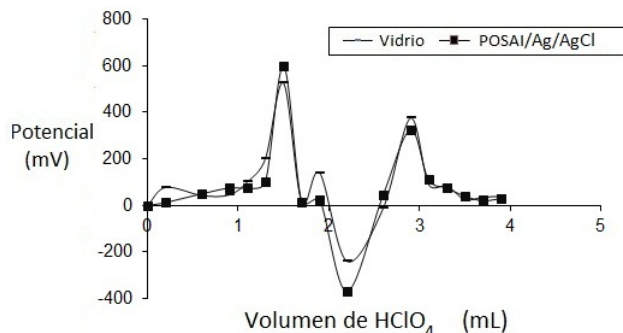


Fig. 5: Primera derivada de la curva de titulación para la prueba de recuperación de trimetoprima.

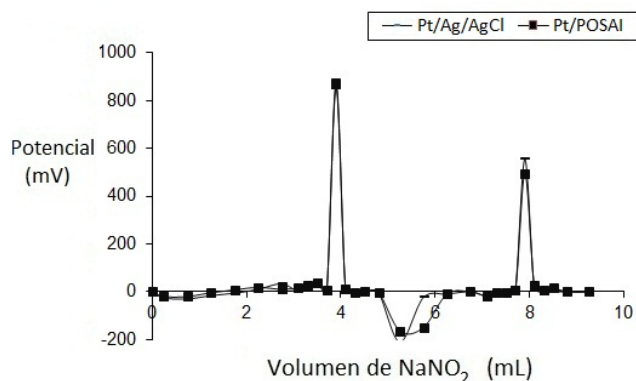


Fig. 6: Primera derivada de la curva de titulación para la prueba de recuperación de sulfametoxazol.

De acuerdo a los resultados se demostró de manera consistente que los electrodos POSAI ofrecen una buena detección y precisión con respecto a los electrodos comerciales, en la determinación de las sustancias activas (trimetoprima y sulfametoxazol) en las tabletas *Bactrim* bajo las condiciones de reacción.

CONCLUSIONES

Se logró aplicar un método alternativo de cuantificación potenciométrica para sulfametoxazol y trimetoprima en un producto Farmacéutico (*Bactrim* en tabletas) empleando los electrodos prototipo platino/POSAI para óxido-reducción, ya que se obtuvieron resultados semejantes con el electrodo de platino/Ag/AgCl comercial, al detectar el mismo volumen de equivalencia bajo las condiciones de estudio en la determinación de sulfametoxazol. De manera similar fue posible utilizar los electrodos prototipo POSAI/POSAI como electrodos indicadores y de referencia en la reacción ácido-base de trimetoprima y así ofrecer resultados muy semejantes a los obtenidos con el electrodo de vidrio comercial.

Conforme al ensayo de recuperación se observó que el método no presentó interferencias o errores considerables por la presencia de alguna sustancia presente en la composición de las tabletas, garantizando así la cuantificación de la concentración de sulfametoxazol y de trimetoprima a través de un método potenciométrico en microescala; que para efectos de la enseñanza a nivel universitario, puede ser propuesto como una práctica en la que los alumnos utilicen reacciones de óxido-reducción y ácido-base en medio no

acuoso para determinar la concentración de un analito de interés farmacéutico con el uso de electrodos prototipo.

El método a microescala permite reducir tanto las cantidades de reactivo como las de muestra empleadas y generar una menor cantidad de residuos contaminantes, es un análisis rápido, económico y eficiente que podría emplearse también, como prueba de andén en las instancias de recepción y evaluación de la calidad de materia prima y producto terminado de pequeños o medianos laboratorios farmacéuticos.

REFERENCIAS

1. Babić, S., Horvat, A.J.M., Pavlović, D.M. & Kaštelan-Macan, M. (2007). Determination of pK_a values of active pharmaceutical ingredients. *TrAC-Trend Anal. Chem.*: 26(11), 1043-1061.
2. Carlsson, K. & Karlberg, B. (2001). Micro-volume flow titration and screening the dissociation constants (pK_a) of weak acids. *Anal. Chim. Acta*: 434(1), 149-156.
3. Costa, C.I., Nogueira, F.H. & Pianetti, G.A. (2008). Comparison of HPLC, UV spectrophotometry and potentiometric titration methods for the determination of lumefantrine in pharmaceutical products. *Pharm Biomed Anal*: 48(1), 223-236.
4. Givianrad, M.H., Saber-Tehrani, M., Aberoomand-Azar, P. & Mohagheghian, M. (2011). H-point standard additions method for simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in pharmaceutical formulations and biological fluids with simultaneous addition of two analytes. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*: 78(3), 1196-1200.
5. Helm, I., Jalukse, L., Vilbaste, M. & Leito, I. (2009). Micro-Winkler titration method for dissolved oxygen concentration measurement. *Anal. Chim. Acta.*: 648(2), 167-73.
6. López, A.A., Romero, C.G., Pérez, S.J. de J. & Rincón, A.S. (2006). *Electrodos POSAI como referencia y su variación de potencial con respecto al pH*. XXVII Congreso Latinoamericano de Química. La Habana Cuba. DO96 16 al 20 de octubre.
7. Pérez, S.J. de J., Rincón, A.S., Romero, C.G., López, A.A. & Aranda, P.M. de los A. (2004a). Micropotenciometría de cafeína en medio no acuoso utilizando, como electrodo indicador, una película de óxido sobre acero inoxidable 316 (POSAI 316). *Revista Cubana de Química*: XVI(1), 34-38.
8. Pérez, S.J. de J., Rincón, A.S., Romero, C.G., López, A.A. & Aranda, P.M. de los A. (2004b). Micropotenciometría (en volumen) de ampicilina en medio no acuoso, utilizando como electrodo indicador una película de óxido como acero inoxidable 316 (POSAI 316). *Revista Cubana de Química*: XVI(1), 61-65.
9. Pietrzyk, D.J. & Frank, C.W. (1983). *Química Analítica*, 1ª ed. México Interamericana, 194-202 p.
10. Qiang, Z. & Adams, C. (2004). Potentiometric Determination of Acid Dissociation Constants (pK_a) for Human and Veterinary Antibiotics. *Water Res.*: 38, 2874-2890.
11. Romero, C.G., López, A.A., Rincón, A.S. & Pérez, S.J. de J. (2005). *Cuantificación potenciométrica de benzocaína mediante el empleo de electrodos prototipo*. XXXVIII Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas. Cancún Quintana Roo México. 16 p. 23 al 27 de octubre.
12. Skoog, D.A. & West, D.M. (1989). *Química analítica*. 8ª ed. México, Thomson, 632-636 p.
13. USP-United States Pharmacopeia (1980). Twentieth Revision, Mack Publishing Company. 744-751 p.