

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA



**ESTUDIO COMPARATIVO DE METODOS PARA LA
DETERMINACION DE Fe (II) Y Fe TOTAL EN
MULTIVITAMINICOS.**

T E S I S

MARIA DE LOS A. BERTHA OLVERA ROSAS

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

1980

M-21722



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.

PRESIDENTE: Prof. Ethelvina Medrano de Jaimes.

VOCAL : Prof. Andrés Zúñiga Padilla.

Jurado : SECRETARIO: Prof. Elsa Cruz Sanchez.

1er. SUPLENTE: Prof. Hector Jara Farjeat.

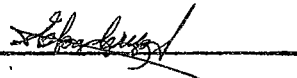
2do. SUPLENTE: Prof. Alfredo Garzón S.

Sitio donde se desarrolló el tema: Sección de Medicamentos
de la Dirección General de Laboratorios en Salud Pública.

Sustentante: Maria de los A. Bertha Olvera Rosas.



Asesor del Tema: Q.F.B. Elsa Cruz Sanchez.



Con mucho cariño a mi madre:
Profra. Ramona Rosas R. y a
mi abuelita Sra. Felicitas
Ramírez, de quienes tanto he
aprendido.

A Alejandro

y

Ulises

con AMOR.

Mi agradecimiento a la Sta.

Q.F.B. Elsa Cruz Sanchez por
su valiosa ayuda para la rea-
lización de este trabajo.

Asi como a los Sres. Profeso
res del jurado.

Agradesco a la Dirección General de La-
boratorios en Salud Publica el haber --
permitido realizar este trabajo en la -
Sección de Medicamentos.

A toda la Sección de Medicamentos
por su ayuda y orientación durante
el desarrollo de este trabajo.

C O N T E N I D O .

CAPITULO I

Introducción ----- 1

CAPITULO II. Generalidades.

2,2'-bipiridina ----- 8

Ensayos de Identidad para Fe ----- 8

Usos del Fe ----- 9

Metabolismo del Fe ----- 10

Absorción y Destino ----- 10

Formas Dosificadas ----- 12

CAPITULO III. Metodos y Reactivos.

i) Determinación Espectrofotométrica de Fe(II) y

Fe total. ----- 14

ii) Espectrofotometría de Absorción Atómica ---- 19

iii) Método Espectrofotométrico por Reducción a --

Cenizas ----- 22

CAPITULO IV. Resultados, Gráficas y Análisis Estadístico.

Resultados ----- 25

Gráficas ----- 27

Análisis Estadístico ----- 29

Conclusiones	38
Apéndice I	39
Apéndice II	45
Bibliografía	46

Capítulo I

Introducción.

En la actualidad se han desarrollado productos farmacéuticos en los que hay más de un principio activo, entre estos están los usados en el tratamiento de anemias ferropri_vas y como complementos dietéticos. La mayoría de estos productos contienen vitaminas y minerales en sus diversas formas farmacéuticas; en la mayor parte de las formas se encuentran juntos y algunas veces están por separado. Para su análisis se han desarrollado reacciones específicas para cada componente tratando de evitar las interferencias de los demás principios.

En diversos trabajos se ha estudiado la especificidad y la posibilidad de aplicar a mezclas complejas el compuesto 2,2'-bipiridina como agente cromogénico para la determinación de Fe(II). En 1938 Jackson⁶ reportó un método para la determinación de fierro, muy lento. Recientemente Sullivan¹² modificó la preparación de la muestra propuesta por Jackson eliminando la reducción a cenizas y el análisis de una curva estándar.

El proceso resulta rápido y conveniente; se obtienen resultados exactos y reproducibles ya que la reacción sigue la ley de Beer dentro de 1-3 mcg./ml.

Sullivan recomienda el método para la determinación de hierro en polivitamínicos sin que haya separación previa. Este método también distingue entre los diferentes estados de oxidación del hierro, cosa que no se hace en el método de reducción a cenizas. Este último, además de tedioso es quizá inexacto debido a la manipulación de la muestra.

Ambos métodos consisten en agregar a la muestra soluciones de amortiguador de acetatos, agua y 2,2'-bipiridina; agitar y medir la absorción después de un lapso determinado que depende del tipo de sal ferrosa que se tenga en dicha muestra. Este periodo de espera es necesario para asegurar que la reacción de Fe(II) y 2,2'-bipiridina ha sido completa. Si el color de la muestra causa interferencia en la absorción máxima, se puede omitir al usar un blanco de muestra (sin el reactivo de color) que se lee contra el blanco de reactivos en el método directo.

Ahora bien, la idea es dedicar este trabajo a la valoración de sales de fierro usando 2,2'-bipiridina en 14 muestras de multivitamínicos existentes en la industria farmacéutica con la intención de comprobar el método, que además de rápido, exacto y preciso es de bajo costo, en la valoración de dichas sales.

Posteriormente se compara este método con el de absorción atómica por ser muy preciso, exacto, rápido aunque de un costo elevado por el tipo de aparato que se utiliza, y, con el método de reducción a cenizas por ser el oficialmente conocido y utilizado para la valoración de estos iones en mezclas complejas. Con esto, los laboratorios pequeños a los cuales les es muy costoso el obtener un aparato de absorción atómica pueden realizar el análisis de sus productos multivitaminicos con un método rápido y de bajo costo.

Capítulo II

Generalidades.

El análisis químico es una rama de la Química al que corresponden técnicas de caracterización y medida, su función es establecer la composición química de la materia. Las formas de la materia a ser investigadas pueden ser desde elementos simples hasta compuestos en mezclas complejas.

El balance químico es de origen tan temprano que fué atribuido a los dioses en los documentos antiguos. El uso de pesos estandares, hechos de piedra, y el primer "Instituto de Estandares" se remonta a los tiempos de Babilonia (2600 - A.C.). Dos no metales: azufre y carbono; 7 metales (Cu, Au, Fe, Pb, Hg, Ag, Sb) y sus mezclas fueron usados desde tiempos remotos; el valor del oro y la plata dieron probablemente el mayor incentivo para la adquisición de conocimientos analíticos. La primera prueba húmeda fué: Un extracto de nueces se tornaba negro si el sulfato de hierro era un adulterante en el sulfato de cobre.

La intensidad del esfuerzo científico en los 100 años pasados ha producido un amplio rango de métodos para los aná

lisis más comunes. El escoger un método puede estar entre un método clásico o un instrumental moderno; los métodos varían en sensibilidad, selectividad, velocidad y exactitud; su aplicación puede depender de algunos otros componentes específicos que estén ausentes.

Haciendo un recordatorio de los métodos analíticos que se pueden emplear para la valoración de Fe(II), Fe(III) y Fe total ya sea en materiales hematínicos, alimentos, muestras biológicas y productos farmacéuticos, podemos citar los siguientes:

- 1.- Medición del cromóforo producido por reaccionar el ión ferroso con ferrozina¹.
- 2.- Determinación Complejométrica: Titulando Fe(III) con EDTA 0.1 M usando ác. mandelhidroxámico como indicador².
- 3.- Método colorimétrico con o-fenantrolina al 0.25%, citrato de sodio, hidroquinona al 1%, esperar 10 min., leer a 508 nm³.
- 4.- Determinación Espectrofotométrica de Absorción Atómica¹⁹.
- 5.- Método Colorimétrico con 2,2',2"-terpiridina como reactivo de color, leer a 522 nm⁵.
- 6.- Reduciendo la muestra a cenizas y desarrollando color -- con 2,2'-bipiridina, leer a 522 nm⁶.
- 7.- método directo por espectrofotometría usando 2,2'-bipiridina como reactivo de color¹².

Analizando cada uno de estos métodos, considero como el más sensible y específico el método de absorción atómica así como (aunque en menor escala) aquellos que usan reactivos altamente específicos para el Fe como es el caso de la 2,2'-bipiridina.

El método escogido en este trabajo es el espectrofotométrico por tener las cualidades anteriormente descritas y sobre todo bajo costo en los reactivos.

Este método usa la 2,2'-bipiridina que da una reacción de color por lo que debe cumplir con la teoría para los métodos colorimétricos, puesto que se trata de la medición a una longitud de onda de la intensidad de la radiación electromagnética en la región visible del espectro.

Los métodos espectrofotométricos son ampliamente usados para la identificación y determinación de concentraciones de sustancias que absorben luz y, se basa en la aplicación de 2 leyes fundamentales: una, la del científico francés Pierre -- Bouguer, la cual es también conocida como la ley de Lambert, -- que relaciona a la cantidad de luz absorbida y la distancia -- que viaja a través de un medio absorbente; y la otra, la ley de Beer, que se refiere a la absorción de la luz y la concentración del medio absorbente.

Las 2 leyes pueden ser combinadas y expresadas por la ecuación

$$\log I_0/I = Kcd^{(14)}$$

en donde: I_0 = Intensidad del haz de luz incidente.
 I = Intensidad transmitida.
 c = conc. de la sustancia absorbente
 d = distancia a travéz de la solución absorbente.
 K = cte. que depende de la absorción de la sustancia, la longitud de onda usada y de las unidades de c y d .

Una aplicación simple de esta expresión se encontró al comparar intensidades de radiación a través de capas de diferente espesor de 2 soluciones de la misma sustancia, una con una concentración conocida, la otra desconocida. Si la misma intensidad incidente es usada y si el espesor de las 2 soluciones son ajustados hasta que las intensidades transmitidas sean iguales entonces la concentración de la solución desconocida puede ser expresada por la razón de los espesores de las 2 soluciones, d_1/d_2 .

Si se usa una luz monocromática o una banda estrecha de radiación, el instrumento es llamado espectrofotómetro. Consiste esencialmente de un monocromador, una o más celdas de absorción para manejar la solución problema y la de referencia, y, un arreglo fotométrico para la medición de la intensidad de la luz transmitida.

Este instrumento no está limitado al espectro visible puesto que es a menudo empleado para hacer mediciones en el rango ultravioleta y hasta el infrarrojo.

La mayoría de los elementos químicos pueden ser determinados por espectrofotometría; es tan sensible que puede -- ser usado a concentraciones tan bajas como el de una parte -- de muestra en varios cientos de partes de el diluyente empleado.

A continuación daré algunas generalidades del reactivo utilizado para el desarrollo de color.

La 2,2'-bipiridina es un polvo cristalino de color blanco, inodoro y tiene la siguiente fórmula.



Estudios de la estructura de la biperidina revelan que los 2 anillos son coplanares, con átomos de N en la configuración trans.

La forma cisoides (arriba) es adoptada para la formación del anillo quelante con los iones metálicos.

Varios métodos han sido usados para preparar a la biperidina: Blau la sintetizó primero por pirrolisis de picolinato de cobre; otro método ha sido la acción del sodio sobre -- piridina seguido por una oxidación ¹¹.

El polvo cristalino blanco funde a 69.5° C, hierve a -- 273° y puede ser sublimada lo cual es útil para su purificación. Es soluble en 200 partes de agua, muy soluble en alcohol, éter, benceno, cloroformo, y éter de petróleo.

Antes de proseguir con la descripción de la parte experimental daré algunas generalidades sobre hierro.

Ensayos de Identidad para Hierro.

Los ensayos de identidad dependen del tipo de compuesto en que se encuentre el Fe, algunas pruebas de identificación pueden ser las siguientes: 1) Los compuestos ferrosos ó férricos en solución dan un precipitado negro con sulfuro de amonio S. R. Este precipitado se disuelve con HCl diluido desprendiéndose sulfuro de hidrógeno.

2) Sales férricas.- Las soluciones de estas sales dan un pp. azul oscuro con ferricianuro de potasio S.R., éste pp. es insoluble en HCl diluido pero lo descompone el NaOH S.R. - Con NaOH S.R. dan un pp. blanco verdoso que al agitar cambia rápidamente a verde y luego a pardo.

3) Sales férricas.- Las soluciones de sales férricas dan un pp. azul oscuro con ferricianuro de potasio S.R. Con un exceso de NaOH S.R. se forma un pp. pardo rojizo. Con tiocianato de amonio S.R. se produce color rojo intenso que no desaparece con ácidos minerales diluidos.

Los complejos de hierro son aquellos compuestos que en solución no responden a las pruebas ordinarias de iones Fe(II) y Fe(III) porque el Fe es parte del radical complejo. La durabilidad de estos compuestos difiere ampliamente, algunos son convertidos a Fe iónico por acción de ácidos diluidos, mientras que otros resisten el tratamiento con ácidos ó álcalis -

fuertes.

USOS.

El uso principal del hierro esta en el tratamiento de - anemias hipocrómicas o deficiencias de hierro esto es; en anemias caracterizadas por una deficiencia de hemoglobina. Las - causas más comunes de tales anemias son: deficiencia nutricional, pérdida crónica de sangre, absorción deficiente de hierro.

Dosis Usual.- Se ha demostrado que una dosis de 100 mg. de hierro como sal ferrosa diariamente es efectiva¹³.

Metabolismo.

La mayoría del hierro existe en el organismo en forma-compleja unido a proteínas como las porfirinas o compuestos-heme especialmente hemoglobina o mioglobina. El resto se guarda en el hígado y está presente en bajas concentraciones em-el plasma en combinación con la proteína no heme transferrina. La concentración de esta proteína limita la capacidad de union del hierro plasmático. El hierro inorgánico libre es - despreciable. Se ha estimado que 60-70% del hierro en un hombre adulto esta en la hemoglobina y 3% en mioglobina.

Entre organos y tejidos del cuerpo el hígado y el bazo tienen el más alto contenido de hierro seguido por el riñón, corazón, músculo esquelético. páncreas y cerebro; estos con-tienen normalmente de la mitad a una décima parte de la con-centración encontrada en el hígado y bazo.

Absorción y Destino.

La mayor parte de absorción de hierro tiene lugar en-

duodeno y yeyuno.

En medio alcalino, el hierro se oxida facilmente al estado férrico y tiende a formar complejos no absorbibles con el ácido fítico y los fosfatos de los alimentos. Durante la digestión, el HCl, al contrarrestar el efecto alcalinizante del jugo pancreático y la bilis, mantiene en el duodeno un pH vecino de 6.0. Para este valor, el hierro suele permanecer en estado ferroso, y no forma complejos; por lo tanto se absorbe facilmente.

Las células epiteliales del extremo de las vellosidades de la mucosa del intestino se esfacelan continuamente. Con una alimentación normal, las células de la mucosa del intestino delgado regulan la cantidad de hierro que se absorbe. La absorción de hierro por las células de la mucosa guarda relación inversa con su propio contenido de Fe(II) almacenado en una forma bastante fija. Este hierro fijo de la célula de la mucosa varía muy poco en toda la vida de la célula. Cuando el organismo posee mucho hierro, este estado se traduce en la cifra de hierro plasmático; las células recién formadas de la mucosa fijan una gran reserva de Fe(III). Esto inhibe la absorción activa del hierro por estas células durante toda su vida.

En caso de una importante pérdida de sangre, la mayor actividad eritropoyética de la médula roja reduce en 4 a 5 días las reservas corporales de hierro, y baja el hierro plas-

mático. En consecuencia las células de la mucosa intestinal - que se forman en este momento reciben una cantidad de hierro-fijo menor que la habitual, aumentando correspondientemente - su absorción de hierro de los alimentos. Esta absorción continúa hasta que las reservas corporales se reconstituyen, y las células de la mucosa vuelven a tener una cantidad normal de - hierro fijado.

De la misma manera, un aumento considerable de la inges-
tión de hierro con los alimentos disminuye la absorción de -
este elemento en plazo de uno o dos días. En este caso las cé-
lulas de la mucosa absorben más hierro, por el mayor conteni-
do de hierro de los alimentos; pero gran parte de este hierro
absorbido no llega al plasma, sino que se emplea en elevar --
las reservas de la célula en hierro fijo, frenando así la ab-
sorción de hierro por estas células durante el resto de su ci-
clo vital, se ve por lo tanto que la absorción de hierro esta
sometida a una autoinhibición.

Normalmente se absorbe de 7 a 10% del hierro de la ali-
mentación; esto representa un promedio de 1 mg. al día (lími-
tes, de 0.3-2 mg/día). El rango normal de hierro en sueros es
de 80-160 mcg/100 ml en el hombre y 65-130 mcg/100 ml en la -
mujer. valores altos de hierro sérico se encuentran en hemo--
cromatosis, anemia caracterizada por disminución de la forma-
ción de la hemoglobina y a menudo en hepatitis.

Formas Dosificadas.

Las formas más comunes de hierro empleadas en terapia - incluyen: Hierro reducido, sulfato ferroso, carbonato ferroso y citratos de hierro y amonio. Sin embargo desde 1957 un número de complejos orgánicos como hierro dextran ó sales como fumarato ferroso, gluconato ferroso etc. se han estado usando con frecuencia. Estas formas generalmente van acompañadas de vitaminas y otros minerales ya sea que se encuentren mezclados o por separado; a excepción de las inyecciones en las cuales el principio activo es solo el complejo de hierro (hierro dextran, hierro sorbitex).

Capítulo III.

Métodos y Reactivos.

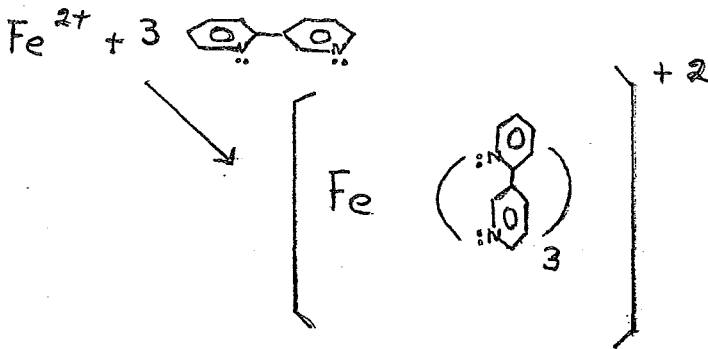
i) Determinación Espectrofotométrica de Fe(II) y Fe total.

Fundamento:

La muestra se disuelve en HCl ó H₂O y se hacen diluciones hasta llegar a una concentración de 3 mcg/ml. El Fe(II) se determina formando un complejo con 5 ml. de 2,2'-bipiridina a un pH entre 4.2-4.5; la absorbancia se mide a 523 nm.

El Fe(III) es reducido a Fe(II) con ácido ascórbico, se hace reaccionar con 2,2'-bipiridina en las mismas condiciones y se lee a la misma absorbancia.

La reacción de Fe(II) y 2,2'-bipiridina se puede representar de la siguiente manera:



En el procedimiento de esta técnica se deben analizar con juntamente la muestra problema, un blanco de muestra, un blanco - de reactivos y un standard de trabajo.

La preparación de reactivos y muestras fué la siguiente:

Reactivos.

- a) Solución de 2.2'-bipiridina al 0.1% p/v.
- b) Amortiguador de acetatos.- Se disuelven 273 g. de NaOAc.3H₂O en agua; se agregan 240 ml de ác. acético glacial y se diluyen a 2 lts. con agua.
- c) Solución del blanco de reactivos.- 4 ml. de HCl conc. se año ran a 200 ml. con agua. Se diluyen 10 ml. de esta solución a- 100 ml. con agua.
- d) Polvo de ácido ascórbico.- U.S.P.
- e) Solución patrón de hierro.- 1) Solución stock (0.3 mg. Fe/ml) Se pesan exactamente 300 mg. de alambre de hierro USP; se di- suelven en 20 ml. de HCl conc. calentando en un baño de ----

vapor; se adicionan 100 ml. de agua y se sigue calentando; se enfría, se diluye a un litro con agua y se mezcla.

2) Solución estándar de trabajo (0.03 mg Fe/ml).- Se diluyen 50 ml. de la solución 1 a 500 ml. con agua.

Muestras.

A) Grageas y cápsulas.- Se toma el peso promedio de 20 grageas ó el contenido de 20 cápsulas, reduciendo a polvo fino, se pesa exactamente una porción equivalente a 60 mg. de Fe y es llevada a matraces de 200 ml. aforados; se adicionan 100 ml. de agua y 4 ml. de HCl. Después de calentar en un baño de vapor por 30 min. (el gluconato y el sulfato ferroso no requieren calentamiento, únicamente agitación) se enfría a temperatura ambiente y se diluye a volumen con agua. Se filtra a través de papel Whatman número 1 ó equivalente. Se pipetea 10 ml. del filtrado pasandolo; a un matraz volumétrico de 100 ml; se aforan con agua.

B) Soluciones, jarabes e inyecciones.- Se mide una muestra que contenga 60 mg de Fe en un matraz volumétrico de 200 ml; se diluye a volumen con agua; se mezcla. Se pasan 10 ml a un matraz volumétrico de 100 ml, adicionando 2 ml de HCl y diluyendo a volumen con agua.

Procedimiento.

Se toma una alícuota de 10 ml de la muestra y se proce-

de a desarrollar el color como se indica en la tabla 1 para muestras con fierro ferroso y en la tabla 2 para muestras que contienen fierro férrico.

Tabla 1. Fierro Ferroso.

	Muestra	Blanco Muestra	Blanco Reactivos	Estandard de Trabajo
Alícuota.	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml
Amortiguador de Acetatos.	15 ml	15 ml	15 ml	15 ml
Agua.	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml
2,2'-bipiridina	5 ml	-----	5 ml	5 ml
Ac. Ascórbico.	-----	-----	-----	20-25 mg

Aforar a 100 ml y mezclar.

Tabla 2. Fierro Férrico.

	Muestra	Blanco Muestra	Blanco Reactivos	Estandard de Trabajo.
Alícuota.	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml
Amortiguador de Acetatos.	15 ml	15 ml	15 ml	15 ml
Agua.	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml
2,2'-bipiridina	5 ml	-----	5 ml	5 ml
Ac. Ascórbico.	20-25	20-25	-----	20-25 mg.

Aforar a 100 ml con agua, mezclar.

Para que la reacción sea completa en ambos tipos de sales de fierro son necesarias las condiciones que se dan en la tabla 3.

Tabla 3

Componente

Condiciones para el Desarrollo de Color.

Gluconato ferroso	3 horas a temperatura ambiente.
Sulfato ferroso	Leer a 523 nm contra el blanco de reactivos.
Fumarato ferroso	1) Una hora en baño de vapor. 2) Leer a 523 nm contra el blanco de reactivos a 25°C.
Hierro dextran	
Citrato de hierro y amonio.	
Peptonato de hierro	
Hierro reducido Fe (OH) ₂	

Cálculos.

Abs. de la muestra - Abs. del blanco de muestra =

Abs. real de la muestra.

$\frac{\text{Abs. real de la muestra}}{\text{Abs. del Estandard}} \times 100 = \% \text{ de Hierro presente en la muestra.}$

ii) Espectrofotometría de Absorción Atómica.

Fundamento :

La muestra se disuelve con HCl y agua; se hacen diluciones hasta llegar a una concentración de 5 mcg/ml.

Esta solución se hace llegar a una llama de aire acetileno en la cual los elementos se liberan al estado de átomos; estos reciben una radiación energética mediante una lámpara de cátodo hueco para hierro que hace que pasen a un estado primario de excitación. Al modificarse el estado energético hay una absorción de energía (absorción de resonancia) que conduce a un debilitamiento de la luz irradiada, y existe una proporción entre la concentración de los átomos de hierro en la llama y la disminución de la radiación observada. Esta relación es la que permite la determinación de la concentración del hierro en la muestra. Las lecturas se hacen a 248 nm.

Reactivos.

1.- Soluciones estándar de Hierro.- a) Solución stock (1 mg/ml) : Esta solución se puede preparar de alambre de hierro ó usando las sales más solubles en agua como $FeCl_3$.

En este caso se usó una ampolla titrisol de $FeCl_3$ en HCl

diluido, se aforó con agua desmineralizada a un litro.

b) Solución estándar de trabajo.- A partir de la solución stock se prepara una solución que tenga 5 mcg/ml.

2.- HCl al 30% suprapur.

Preparación de la muestra.

A) Muestras líquidas.- Se toma una alícuota de la muestra no menor a 2 ml, se adicionan 2 ml de HCl en un matraz volumétrico de 100 ml, se afora con agua desmineralizada. Se hacen diluciones hasta llegar a una concentración de 5 mcg/ml - usando como diluyente agua desmineralizada.

B) Grageas y cápsulas.- Se saca el peso medio de 20 unidades. Se pesa el equivalente a una gragea, se pasa a un matraz aforado de 100 ml; se adicionan 3 ml de HCl y 20 ml de agua desmineralizada; después de calentar en baño maría durante 15 min.; se afora con agua desmineralizada y se hacen las diluciones necesarias para llegar a una concentración de 5 mcg por ml.

Condiciones Estándar.

Longitud de onda: 248 nm.

Slit: 3 nm

Tipo de flama: Aire-acetileno.

El rango de trabajo para Fe es lineal a concentraciones

de 5 mcg/ ml aproximadamente en solución acuosa y en condiciones estandar.

Técnica.

Ajustar el aparato con el estándar de trabajo hasta -- que se registre una absorbancia de 0.18 y una concentración de 5 mcg. En seguida se aspira la muestra y se toman las lecturas de concentración que el aparato marque.

En este trabajo se usó un espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer y como fuente de luz una lámpara de cátodo hueco.

Este método comparativo se escogió por ser considerado como el más importante para la determinación de elementos inorgánicos, así como por su versatilidad, facilidad de manejo y sobre todo su alta especificidad; en este caso para el hierro.

Con los resultados obtenidos por este método, se puede observar si el método directo por espectrofotometría puede ser confiable debido a la última propiedad arriba mencionada.

iii) Método Espectrofotométrico por
Reducción a Cenizas.

Fundamento:

La muestra se reduce a cenizas hasta una liberación - completa de materia orgánica. Se disuelve en HCl 1:9. Se diluye hasta llegar a una concentración de 2 mcg/ml; se agrega $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ para reducir al Fe(III) y se forma un complejo con 2,2'-bipiridina. Se lee a 510 nm.

Reactivos.

a) Solución de Ortofenantrolina.- Se disuelven 100 mg en 80 ml de agua a 80°C , se enfría y se diluye a 100 ml.

b) Solución de 2,2'-bipiridina.- Se disuelven 100 mg en agua y se diluyen a 100 ml.

Estos reactivos se deben guardar en un lugar oscuro y frío para que permanescan estables por varias semanas.

c) Solución estándar de Fe.- 0.1 mg Fe/ml: Se disuelven 0.100 g de alambre de hierro grado analítico en 20 ml de HCl y 50 ml de agua, se diluye a un litro con agua. Tomar 100 ml de esta solución y se diluyen a un litro.

d) Solución de clorhidrato de hidroxilamina: Disolver 10 g en agua y se diluyen a 100 ml.

e) Solución buffer de acetatos.- Disolver 8.3 g NaOAc

añhíra en agua, se adicionan 12 ml de ác. acético, se diluyen a 100 ml .

Preparación de la curva estandard.

Se preparan soluciones que contengan 20, 40, 50, 60 y 70 ml respectivamente de la solución stock final, se pasan a matraces volumétricos de 100 ml, se adicionan 2 ml de HCl y se aforan con agua. Usando 10 ml de cada solución se procede como en la tecnica que abajo se describe a partir de la adición de 1 ml de $\text{NH}_2\text{OH.HCl}$.

Se hace una gráfica de absorbancia contra concentración.

Preparación de la muestra.

Se pesan ó se toma el equivalente a 5 mg de Fe, se reduce a cenizas en mufla a 500°C . Se enfria, se humedece con 20 ml de agua; se remueven las cenizas con agitador de vidrio; -cautelosamente adicionar 10 ml de HCl conc., cubriendo con vidrio de reloj. Se lava el agitador con agua dentro del crisol. Evaporar a sequedad en baño maría; se adicionan 50 ml de HCl 1:9, se calienta sobre baño maria durante 15 min. Se filtra recibiendo en matraz volumétrico de 200 ml. Se lava el papel filtro y el crisol con agua caliente, se diluye al volumen y se mezcla.

Se toma una alícuota de 20 ml, se pasa a un matraz volu

métrico de 100 ml, se adicionan 15 ml de HCl 1:9 y se aforan con agua.

Técnica.

En matraces volumétricos de 25 ml medir:

- 1) 10 ml de solución problema
- 2) 1 ml de solución de NH_4OH . HCl
- 3) 5 ml de solución buffer
- 4) 1 ml de ortofenantrolina ó 2 ml de 2,2'-bipiridina.

Se diluye al volúmen, se mezcla y se lee a 510 nm.

Preparar un blanco de reactivos.

Se puede determinar la concentración de la muestra por la interpolación de la absorbancia en la curva estándar ó se puede preparar un estándar a la misma concentración de la muestra y hacer el cálculo de acuerdo a la fórmula:

$$\frac{\text{D.O.m}}{\text{D.O.std.}} \times 100 = \% \text{ de hierro presente en la muestra.}$$

Este método solo se aplicó a algunas muestras con el fin de observar la variabilidad que pueda existir con respecto al método directo ya que en este método de reducción a cenizas hay una mayor manipulación de la muestra y puede haber un error mayor debido a una contaminación; además de llevarse más tiempo para su realización.

Capítulo IV

Resultados, Gráficas y Análisis Estadístico.

En el cuadro siguiente se presentan los valores porcentuales promedio de fierro encontrado en cada muestra.

Núm. de Muestra.	Método de Absorción Atómica	Métodos Espectrofotométricos.	
		Directo	Reducción a cenizas
1	104.00	103.51	
2.	104.47	105.99	
3	106.87	99.63	111.33
4	93.20	73.79	102.10
5	98.60	108.89	
6	106.80	107.11	
7	102.13	99.75	
8	103.07	109.23	97.73
9	97.8	93.18	90.67
10	61.30	32.50	
11	94.90	92.48	
12	105.40	110.74	
13	87.47	90.09	
14	76.47	77.51	

En los resultados anteriores se puede observar que en la mayoría de las muestras se obtienen resultados razonables por el método directo comparado con el de absorción atómica.

Las diferencias notables que se encuentran entre las columnas 3 y 2 en algunas muestras quizá provengan de la complejidad y variabilidad de las muestras debido a su manufactura la cual es desconocida.

Analicemos con más detalle algunas de ellas.

En la muestra núm. 10 la diferencia de valores probablemente se deba a la existencia de iones, como los fosfatos y el níquel, que interfieren en la reacción y no pueden ser removidos satisfactoriamente al agregar un exceso de reactivo⁵.

Las muestras número 4 y 9 difieren con respecto a las otras muestras en un componente que es el clorhidrato de ciproheptadina. La diferencia de resultados es mayor en la muestra 4 y en ésta se encuentra en mayor cantidad que en la 9 por lo que se puede pensar en la interferencia de dicha sustancia. Además en el método de cenizas se elimina toda la materia orgánica y el resultado obtenido por este método se aproxima más al de absorción atómica.

Muestra núm. 5.- En esta muestra se observó que al calentar a 80°C aprox. en el desarrollo de color, los valores eran

bajos y al calentar a 100°C , los valores son mayores que los obtenidos en absorción atómica por lo que conviene tener cuidado con la temperatura del baño. En las demás muestras no se observó esta dependencia de temperatura.

Gráficas.

Figura 1.

Se presentan las curvas de absorción del complejo 2,2'-bipiridina-Fe por el método directo, para las muestras 2, 5, 3, 1, y 4.

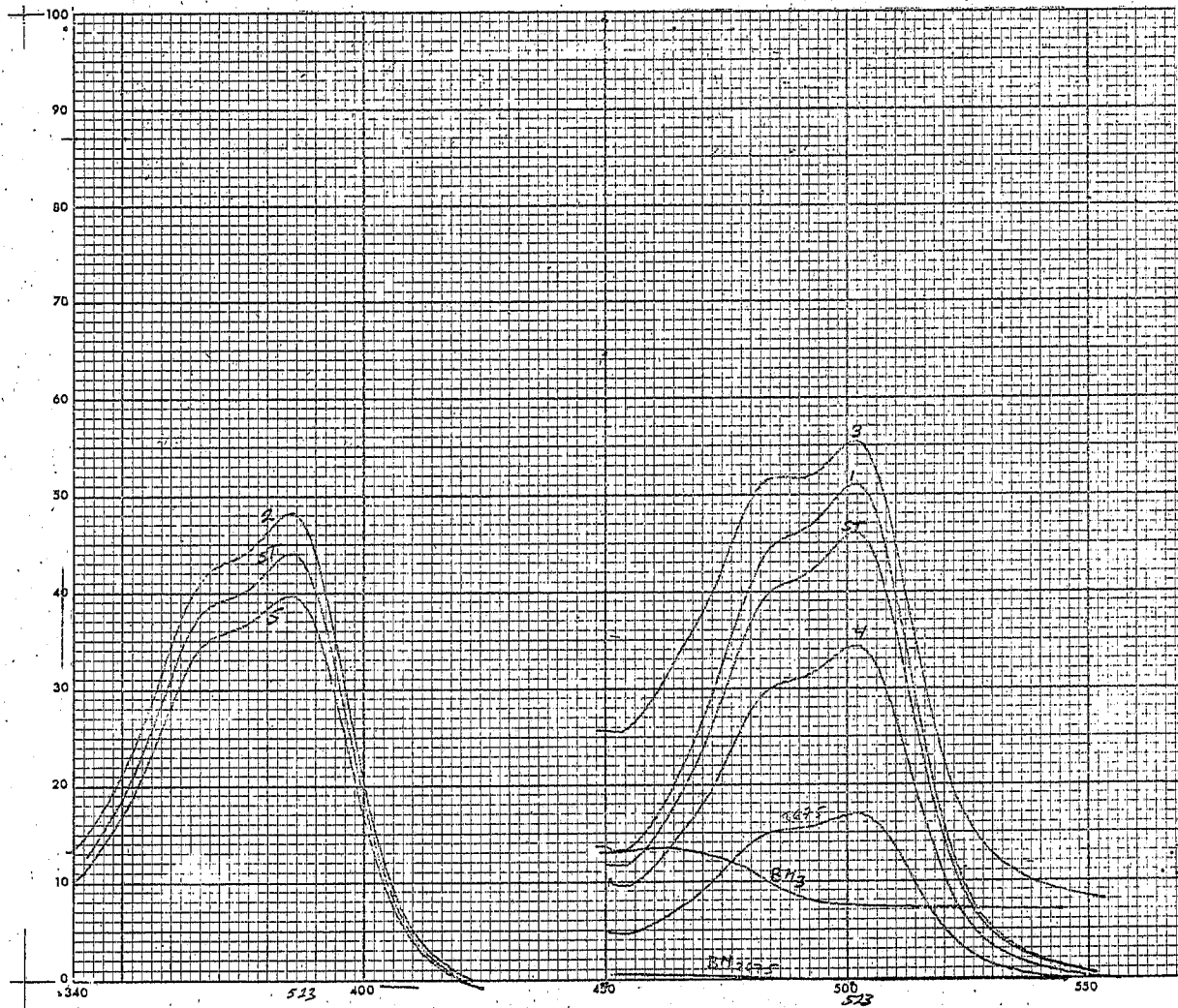
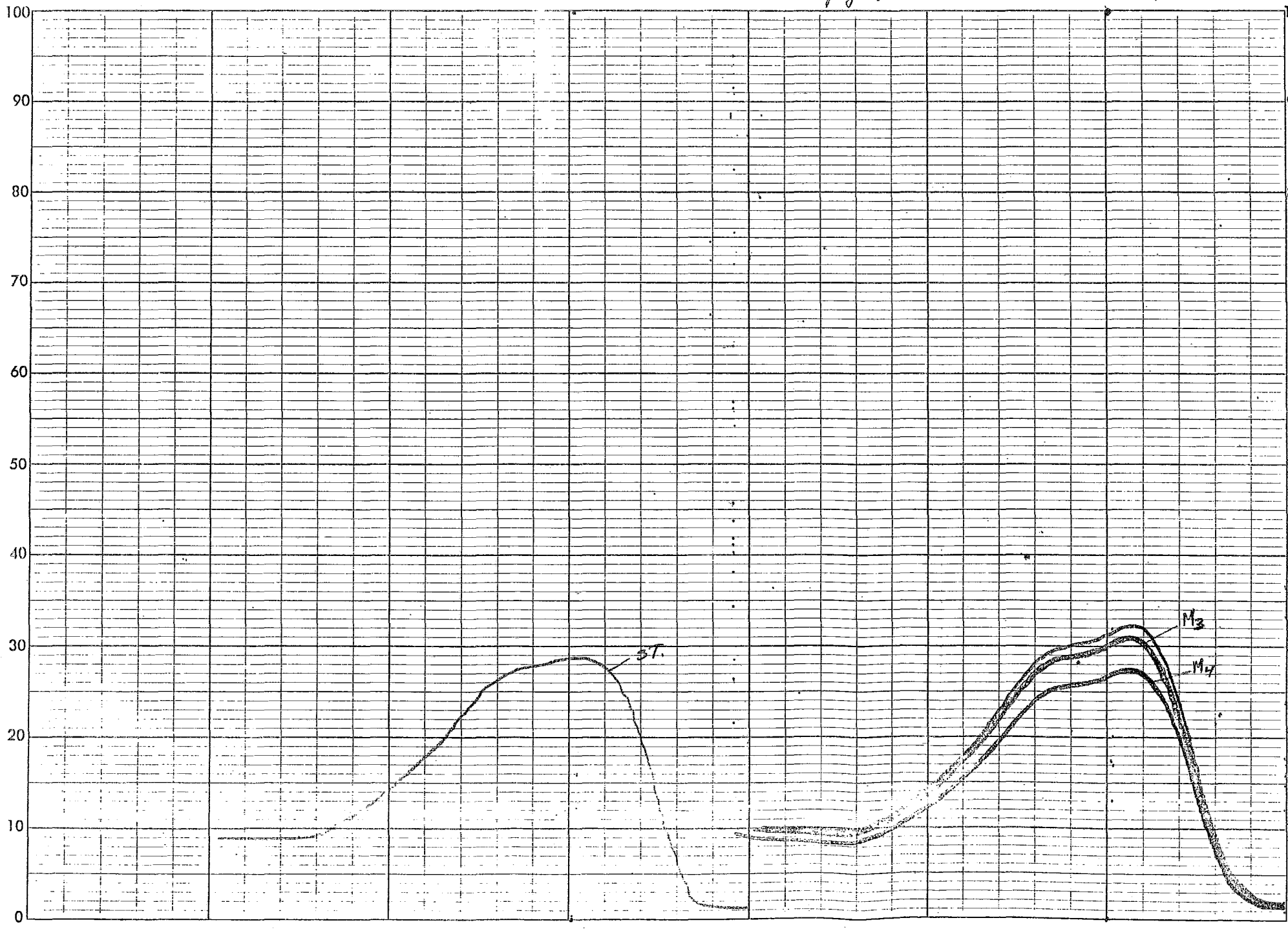


Figura 2

Curvas de absorción vs. longitud de onda del complejo 2,2'-bipiridina-Fe para las muestras núm. 3,4 y el estándar por el método de reducción a cenizas.

pag 28

Método de Cenizas



SAMPLE 3 y 4

PATH _____ cm

ORIGIN 600 nm
510 nm (máximo)

SOLVENT H₂O

REF _____

λ SPEED: _____
nm/min

SCALE 2x

SENS. _____

PERIOD _____

SOURCE: W X

H₂ _____

D₂ _____

DETECTOR: PM _____

PbS _____

ANALYST BAR

DATE 17-VII-79

Análisis Estadístico.

Es importante establecer estadísticamente si tal o cual método es más apropiado para su uso.

Se entiende como mejor, el más reproducible, sensible, rápido y de ser posible, de menor costo.

En este análisis se utilizan los siguientes parámetros estadísticos:

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n} = \frac{X_1 + X_2 + X_3 + \dots + X_n}{n}$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n}}$$

$$e = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

$$V = S^2 = \frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n}$$

$$C.V. = \frac{S \times 100}{\bar{X}}$$

En donde: \bar{X} = Media Aritmética.

X_i = Determinaciones.

n = número de determinaciones.

S = Desviación estandar,

V = Varianza.

e = Error estandar.

C.V. = % del coeficiente de variación.

Resultados.

Método Espectrofotométrico por Muestra Directa.

Núm. de Muestra.	1	2	3	4	5
\bar{X}	103.51	105.99	99.63	73.79	108.12
n	14	13	18	14	13
S	3.27	2.20	1.29	2.82	1.86
V	10.67	4.82	1.66	7.97	2.13
e	0.87	0.61	0.30	0.75	0.40
% C.V.	3.16	2.08	1.29	3.82	1.35

Núm. de Muestra.	6	7	8	9	10
\bar{X}	107.11	99.75	109.23	93.18	32.50
n	19	18	18	15	20
s	1.80	1.50	1.31	2.21	1.34
v	3.23	2.25	1.71	4.88	1.79
e	0.41	0.35	0.31	0.57	0.30
% C.V.	1.68	1.50	1.20	2.37	3.47

Núm. de Muestra.	11	12	13	14
\bar{X}	92.48	110.74	90.09	77.51
n	19	18	19	19
S	0.65	1.07	3.13	0.66
V	0.43	1.15	9.77	0.43
e	0.15	0.25	0.72	0.15
% C.V.	0.70	0.97	3.47	0.85

Método por Espectrofotometría de Absorción
Atómica.

Núm. de Muestra.	1	2	3	4	5
\bar{X}	104.00	104.47	106.87	93.20	98.60
n	15	15	15	15	15
S	0.93	0.64	1.51	0.94	1.35
v	0.86	0.41	2.27	0.89	1.83
e	0.24	0.17	0.39	0.24	0.35
% C.V.	0.89	0.61	1.41	1.01	1.37

Núm. de Muestra.	6	7	8	9	10
\bar{X}	106.80	102.13	103.07	97.80	61.30
n	15	15	15	15	15
S	0.86	0.64	0.88	0.86	0.98
V	0.74	0.41	0.78	0.74	0.95
e	0.22	0.17	0.23	0.22	0.25
% C.V.	0.81	0.63	0.85	0.88	1.60

Núm. de Muestra.	11	12	13	14
\bar{X}	94.90	105.04	87.47	76.47
n	15	15	15	15
S	0.70	0.51	0.52	0.52
V	0.50	0.26	0.27	0.27
e	0.18	0.13	0.13	0.13
% C.V.	0.74	0.48	0.59	0.68

Método Espectrofotométrico por Reducción
a Cenizas.

Núm. de Muestra.	3	4	8	9
\bar{X}	111.33	102.10	97.73	90.67
n	15	15	15	15
S	2.13	1.44	1.16	0.82
V	4.52	2.08	1.35	0.67
e	0.55	0.37	0.30	0.21
% C.V.	1.91	1.41	1.19	0.90

En el cuadro siguiente se resumen los parámetros estadísticos que se obtienen de los tres métodos de valoración.

	\bar{X}	\bar{V}	\bar{e}	$\overline{C.V.}$
Método Espectrofotométrico Directo.	1.77	3.78	0.26	1.50
Espectrofotometría de Absorción Atómica.	0.85	0.80	0.22	0.90
Método Espectrofotométrico por Reducción a Cenizas.	1.39	2.16	0.36	1.35

Conclusiones.

Podemos observar por los resultados obtenidos en el análisis estadístico mostrado en el cuadro anterior que la reproducibilidad de los resultados en el método directo es comparable a la obtenida por el de reducción a cenizas. Aunque la reproducibilidad obtenida por el método de absorción atómica es mejor, la alcanzada por estos métodos es muy razonable.

Como los resultados obtenidos por el método directo se comparan favorablemente con los obtenidos por el método de reducción a cenizas y aunado a la buena concordancia con los conseguidos por el método de absorción atómica, me permiten recomendarlo en la valoración de sales de fierro.

Por la facilidad de manejo de la muestra, el tiempo corto de análisis y el bajo costo, se puede decir que el método directo es el de más utilidad para los laboratorios que no tengan muchos productos con iones inorgánicos ó su producción sea pequeña para la valoración de sales de fierro en sus distintas formas farmaceuticas existentes.

El método por reducción a cenizas también es razonablemente bueno pero el inconveniente que tiene es el tiempo tan largo de análisis, el costo es mayor con respecto al método di

recto y puede haber un error grande debido a que la muestra en su manipulación se puede contaminar.

Apendice I

A continuación se presentan los resultados (de los tres métodos realizados en este trabajo) del % de Fe obtenido en la valoración de las muestras.

Método Espectrofotométrico Directo.

Por este método se realizaron 20 determinaciones por cada muestra.

Núm. de Muestra.	1	2	3		
105.04	95.90	108.01	101.61	102.13	102.4
101.06	97.14	107.90	102.15	101.90	92.66
105.94	98.57	107.60	103.00	99.10	100.2
106.59	99.64	107.80	104.15	99.30	98.66
106.79	101.24	107.90		98.72	
105.01		104.70		98.50	
104.89		103.30		98.90	
105.31		107.90		98.50	
105.10		106.80		98.72	
105.95		106.60		99.50	
90.37		95.51		100.19	
93.00		97.84		94.47	
93.00		98.20		94.85	
94.11		99.64		98.66	
95.54		100.53		100.19	
		101.07		99.04	

Núm. de Muestra.	4	5	6	7	8
	77.60	112.30	108.63	97.45	107.15
	77.10	109.13	108.21	97.23	107.15
	67.72	112.20	108.43	98.72	106.90
	65.60	105.37	108.43	99.57	106.90
	72.97	102.06	108.64	98.51	109.00
	72.97	106.80	109.34	99.15	110.10
	71.27	106.40	109.12	99.36	110.10
	70.20	107.70	108.60	100.43	110.70
	70.85	110.30	108.60	102.30	110.70
	71.70	112.30	108.60	102.70	110.70
	78.47	106.69	107.02	98.40	109.80
	76.95	108.72	105.95	100.0	111.30
	74.85	108.72	105.53	98.11	109.80
	72.95	108.24	105.74	101.80	109.60
	74.59	109.76	105.95	101.50	111.70
	67.87	108.24	104.89	101.32	109.80
	66.80	109.50	104.68	101.32	109.30
	68.08	111.00	104.46	100.37	109.30
	70.60	111.27	104.25	101.50	109.30
	67.45	111.27	103.61	101.13	109.80

Núm. de Muestra.	9	10	11	12	13	14
94.90	34.03	95.37	110.31	92.52	77.60	
94.26	33.19	92.85	111.78	92.52	76.80	
96.17	33.40	93.90	109.67	90.59	77.20	
95.11	34.24	92,85	113.50	92.52	77.60	
92.14	33.40	93,48	110.28	93.80	76.80	
90.02	34.24	91.81	112.95	92.94	77.02	
99.13	33.61	91.59	113.16	94.00	77.02	
100.00	33.82	91.59	111.39	94.00	77.02	
95.96	33.19	92.24	112.25	87.50	78.84	
97.23	30.46	92.82	111.61	87.50	78.60	
91.00	32.45	92,39	110.53	87.50	77.95	
90.00	32,89	92.60	109.89	87.00	78.80	
91.52	31.57	92.00	109.67	86.60	77.50	
89.56	32.01	93.00	110.10	87.30	77.70	
90.86	30.70	92.39	109.67	84.40	77.70	
91.73	30.48	92.60	109.24	86.00	77.50	
91.30	32.45	91.52	109.67	87.00	77.50	
91.51	30.26	92.60	111.39	86.50	76.60	
90.86	30.98	93.00	111.80	93.37	77.02	
93.04	32.60	91.81	111.10	92.52	73.00	

Método por Espectrofotometría de Absorción
Atómica.

Núm. de Muestra:	1	2	3	4	5	6	7
	103	104	106	94	98	107	102
	104	104	107	94	97	106	103
	105	104	106	94	98	106	102
	105	105	106	94	99	108	102
	103	105	106	91	98	107	102
	103	105	106	92	100	107	103
	105	105	106	93	101	107	103
	104	104	107	94	99	108	103
	104	104	106	92	96	108	102
	105	105	106	94	97	108	102
	103	105	109	94	98	106	102
	103	103	110	93	99	106	102
	103	104	110	93	99	106	101
	105	105	106	93	100	106	101
	105	105	106	93	100	106	102

Núm. de Muestra :	8	9	10	11	12	13	14
	101	99	62	95	105	88	76
	103	99	62	96	105	87	76
	103	99	62	96	105	87	76
	103	98	62	96	105	87	76
	102	99	63	95	106	87	76
	102	98	62	95	105	87	76
	103	98	62	95	106	88	77
	104	98	62	95	106	88	77
	103	97	61	95	106	88	77
	103	97	60	94	106	88	77
	104	97	60	94	106	88	77
	104	97	60	94	105	88	77
	103	97	60	94	105	87	77
	104	97	60	95	105	87	76
	104	97	60	95	105	87	77

Método de Espectrofotometría por Reducción
a Genizas.

Núm. de Muestra :	3	4	8	9
	111	104	98	91
	111	104	97	90
	110	101	97	90
	111	101	96	90
	115	104	98	91
	110	101	98	91
	111	104	96	91
	110	102	97	89
	109	101	97	90
	114	102	99	92
	114	100	99	92
	111	100	100	90
	109	103	97	91
	109	101	98	91
	115	102	99	91

Apendice II

A continuación se da el tipo de sal de hierro contenida en las 14 muestras comerciales ensayadas.

Muestra	Componente	mg/dosis	Fe total/dosis
1	Sulfato ferroso ^a	2.62g/100 ml	525 mg/100 ml
2	Citrato de hierro amoniacal. ^b	3.889g/100 ml	680 mg/100 ml
3	Gluconato ferroso. ^b	2000 mg/100ml	60 mg/100 ml
4	Gluconato ferroso. ^a	518 mg/100 ml	231.6mg/100ml
5	Hierro-dextran	-----	100 mg/ml
6	Sulfato ferroso. ^b	67.31mg/grag	20 mg
7	Fumarato ferroso. ^a	304 mg/caps.	100 mg
8	Sulfato ferroso. ^b	50.5 mg/grag.	15 mg
9	Fumarato ferroso. ^a	100mg/ grag.	32.5 mg
10	Sulfato ferroso. ^c	32mg/grag.	10 mg
11	Fumarato ferroso. ^b	91.27mg/grag.	30 mg
12	Sulfato ferroso. ^b	50.5 mg/ caps.	15 mg
13	Hierro peptonizado. ^c	48.6mg/grag.	8.74 mg
14	Hierro reducido. ^b	-----	10 mg

a = más vitaminas.

b = más vitaminas y otros minerales.

c = más otros minerales.

BIBLIOGRAFIA

- 1) J.Pharm. Scie. 1977, 66 (1)
- 2) Arb. Farm. 1976, 26(2), 137-139.
- 3) Robert C. Atkins, J. Chem. Educ. 1975, 52(8), 550
- 4) J. Drug. Res. 1975, 7(2), 151-8
- 5) Moss, Mellon, Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 1942, 14, 862/865
- 6) S.H. Jackson, Ind. Eng. Chem Anal. Ed. 1938, 10, 302
- 7) Official Methods of Analysis 1975, 12th Ed AOAC,
Washington DC, sec 36.056
- 8) U.S.P. 1975 19th Rev. Mack Publishing Co. Easton P.A.
pag 270-271
- 9) N.F. 1975 14th Ed. American Pharmaceutical Association,
Washington DC pag. 282, 361-2
- 10) C. Zacharides and W.C. Mc Gavock, J. Pharm. Scie. 1971,
60(6), 918
- 11) Smith, J. AM. Chem. Soc. 1951, 73, 3487
- 12) D.J. Sullivan, J. of the AOAC, 1976, 59(5)
- 13) Remington's Pharmaceutical Sciences.
15th Ed. Mack Publishing Co.
1975 pag. 824,1047
- 14) Colorimetric Methods of Analysis.
Snell and Snell. 3th Ed.
Vol I, pag. 316-18
Vol II, pag 12-17

- 15) Analytical Applications of 1,10-phenantroline.
Schilt pag 1-9
- 16) D.J. Sullivan, J. of the AOAC 1977, 60(6)
- 17) Atomic Absorption Spectroscopy.
Ramirez-Muñoz
Elsener Publishing Co. 1968
- 18) Atomic Absorption Spectroscopy.
B.V. L'VOV pag 109-110, 165
- 19) Atomic Absorption Spectroscopy. Applications in Agriculture, Biology and Medicine.
Christian and Feldman. pag 310-314
- 20) Colorimetric Determination of Traces of Metals.
Sandell E.B. 1965
Intersciences, New York NY pag. 93-113
- 21) Metodos de Laboratorio.
Lynch, Raphael. 2a Ed.
Ed. Interamericana. pag 172.173, 475.