



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“DESARROLLO DE UN MÉTODO AUTOMATIZADO
PARA LA DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS
CON DITIZONA MICELAR POR ANÁLISIS POR
INYECCIÓN EN FLUJO.”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

P R E S E N T A :

JOSÉ MANUEL OROZCO GÓMEZ



MÉXICO D. F. FEBRERO 2007



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.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: JOSEFINA ELIZALDE TORRES

VOCAL: MARIA DEL PILAR CAÑIZARES MACÍAS

SECRETARIO: MARIA DE LOS DOLORES CAMPOS ECHEVERRIA

1ER. SUPLENTE: BLANCA ESTELA RIVERO CRUZ

2DO. SUPLENTE: MARIA JOSEFA BERNAD BERNAD

El presente trabajo se desarrolló en:

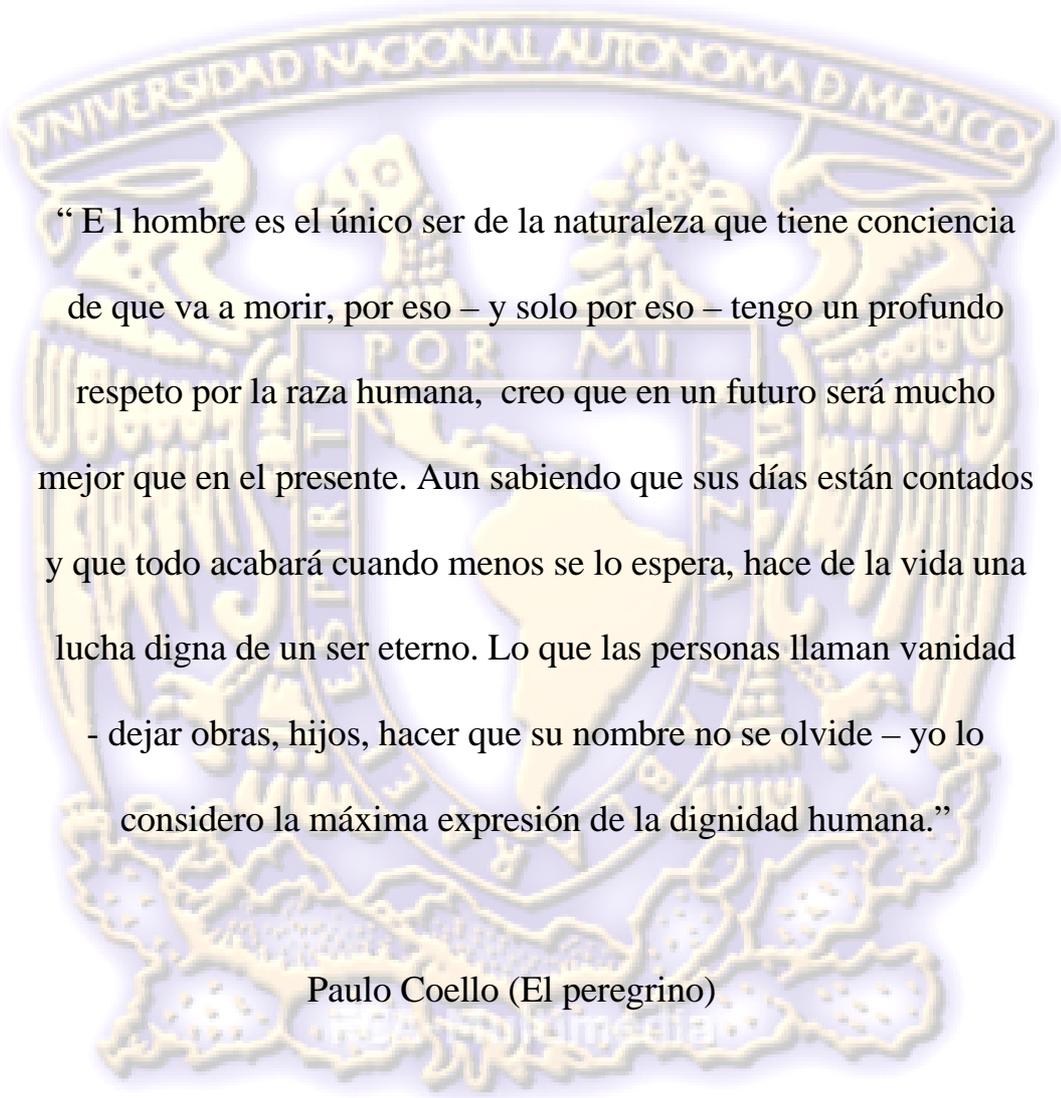
Laboratorio 105-106 de Química Analítica, Departamento de Química Analítica, Sótano del Edificio "B", Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria.

ASESOR DEL TEMA:

DRA. MA. DEL PILAR CAÑIZAREZ MACÍAS

SUSTENTANTE:

JOSÉ MANUEL OROZCO GÓMEZ



“ El hombre es el único ser de la naturaleza que tiene conciencia de que va a morir, por eso – y solo por eso – tengo un profundo respeto por la raza humana, creo que en un futuro será mucho mejor que en el presente. Aun sabiendo que sus días están contados y que todo acabará cuando menos se lo espera, hace de la vida una lucha digna de un ser eterno. Lo que las personas llaman vanidad - dejar obras, hijos, hacer que su nombre no se olvide – yo lo considero la máxima expresión de la dignidad humana.”

Paulo Coello (El peregrino)

DEDICATORIA

A Dios: A ti Señor, que me has iluminado, me has enseñado el camino correcto y me has dado muchas muestras de tu existencia. ¡Gracias! Por hacerme crecer en el seno de una familia, rodeado de muchos hermanos y hermanas, por estar siempre cerca de mi y por haberme dado la dicha de lograr uno mas de mis anhelos.

A mis papás: Pedro y Aurora, ustedes que me han acompañado y me han visto crecer, que junto a mi han vivido cada uno de los momentos importantes de mi vida; que con su amor, amistad, constancia y fe en mí siempre, me han dado cuanto he necesitado... gracias a ustedes hoy he podido ver hecho realidad uno de mis más grandes anhelos, un sueño lejano que ahora es una realidad, no olviden nunca que mis éxitos y logros son también suyos, todo cuanto tengo y he logrado se los debo a ustedes, gracias por darme esta oportunidad y por darme la mejor de las herencias, por hacer de mi una persona responsable y dedicada, con mis aciertos y mis errores... con toda mi admiración y mi cariño por toda una vida llena de constancia y buenos ejemplos ... Esta felicidad que siento en estos momentos me da mucho gusto poder compartirla con ustedes... Gracias y que Dios los Bendiga... Con Cariño ☺ Pepe.

A mis hermanos: Martha Patricia, Pedro, Roberto †; Raúl Napoleón, Fernando, Juan Carlos, José Luis, Alejandro, Juan Gabriel, María de Guadalupe, Aurora del Rocío y Gerardo Antonio... cada uno de ustedes es muy diferente y por ello cada uno ocupa un lugar muy especial en mi corazón, y aunque muchas veces hemos tenido momentos agradables y otros menos agradables, quiero que sepan que los amo y que gracias a ustedes a su comprensión, cariño, compañía, consejos ... a que siempre que me sentí solo, perdiendo el rumbo de mi vida y necesite de ustedes, siempre estuvieron ahí para ayudarme a encontrar el camino de regreso... gracias por enseñarme que la familia es lo mas fuerte que existe en cualquier circunstancia... gracias por compartir conmigo esta vida y este momento que es

muy importante para mi; les deseo que todos los proyectos que se propongan en su vida se vean concretados con éxito, los quiero mucho y que Dios los bendiga.

Especialmente...

A mi Hermana Patricia: Patty tu has sido en mi vida uno de los ejemplos más fuertes a seguir, de ti he aprendido lecciones que han marcado de forma muy significativa mi vida, podría decir sin temor a equivocarme que en mi vida vive parte de tu esencia; gracias por ser mi hermana, mi amiga, mi confidente... gracias por todo el apoyo que me has brindado durante toda mi vida y en particular para culminar este proyecto, el cual es muy importante para mi. Hermana quiero compartir contigo frases de una de mis escritoras favoritas este fragmento es para ti... "Vencer las trampas" Vuelves a sentir el calorcito en la yema de tus dedos, la cosquilla de escribir en el estómago y eres de nuevo poeta, mujer, pájaro. Estas otra vez fértil como la tierra de esta patria nuestra, y transformándote en alquimista haces de un sueño... vida, llenas de fuego líquido las venas de tu espíritu que creías apagadas como ríos mansos. Te alegras en el júbilo de tu despertar con trinos y susurros. En el fondo es como sentir que vuelves a nacer, como un fénix renaces de tus cenizas a pesar de todas las trampas de la mediocridad y del exilio (Gioconda Belli- adaptación José M. Orozco)... gracias por todo... con mi cariño y admiración de siempre, que Dios te Bendiga a ti y a tu familia. ☺

A mí Hermano Fernando: Fer gracias por compartir conmigo cuanto eres... gracias por ser uno de los que más me han impulsado a seguir adelante, a no mirar hacia atrás, a ver el pasado como algo que ya pasó, a vivir el presente y a planear el futuro... gracias por ser mi amigo uno de los más grandes que he conocido (en ocasiones me pregunto como algo tan grande como nuestra amistad cabe en alguien tan pequeño como lo somos nosotros; y mi respuesta es que las cosas importantes de tu vida se encuentran en los momentos pequeños que integran tu vida día con día) gracias por llenar de momentos pequeños mi vida, por estar conmigo en todo momento... con mi cariño y admiración de siempre, que Dios te Bendiga y te lleve siempre por bien.

A Armando y Gustavo Armando Aguirre: Gracias a ambos por permitirme ser parte de su familia, por darme la oportunidad de conocerlos más a fondo y por enseñarme que tu familia no siempre es en la que tu naciste, si no que hay otros lazos que no son de sangre los que te llevan a considerar a alguien mas como tu familia. Los quiero mucho y nunca terminare de agradecerles cuanto han hecho por mí.

A mis sobrinos: Gustavo Armando, Liliana Caritina, Jesús Napoleón, Aurora Elizabeth★, Candy Araceli, Ana Patricia, Ana Victoria, Alejandra y Karen Guadalupe... A ustedes que son las nuevas generaciones de mi familia, nunca dejen de llenar su vida de sueños y de luchar para que esos sueños se vuelvan realidades; espero en algún momento de sus vidas estar presente en el logro de sus anhelos, recuerden siempre que cuando me necesiten ahí estaré y que el futuro es suyo y que no dejen de llenarlo de muchos éxitos y felices recuerdos; los quiero mucho y los amo... que dios los bendiga y los lleve siempre por bien. ☺

A mis amigos: Ustedes son como otra familia para mi, gracias a todos por compartir conmigo cada uno de los momentos que han llenado mi vida de recuerdos agradables, quiero compartir con ustedes lo siguiente: “Cuando la vida te presente razones para llorar, sentirte derrotado y solo, demuéstrale que tienes mil y una razones para reír (anónimo)” A ustedes que forman parte de estas mil y una razones para reír en mi vida; A: Francia Solórzano, Adriana Minaya, Elva Maguey, Teresa Sánchez, Olivia Zamora, Armando Sanabria, Margarita Contreras, Patricia Santana, Lorena Borja, Adelina Rojas, Guadalupe Guerra, Haydee Álvarez, Jannely Cristal Álvarez, Jeanete Rosas, Lizzette Henestrosa, Margarito Paredes, Ricardo Juárez, Rodrigo Martínez, Sara Hernández, Maria del Rocío García, Selene Mondragón, Silvia Salazar, Soledad Quezada, Yolanda Jiménez, Jesús Rodríguez, América Martínez, Patricia Bolaños, Citlalli Anally Martínez, Mireya Amador, Miriam Aidé Castillo, Sandra Hernández, Sonia Alejandra Reyes, Alejandro Magaña, Patricia Piza, Adriana Álvarez, Nadia

Cossette, Claudia Valdez, Sonia Aguilar, Isaac Hernández, Gabriela Sánchez, Cristina Anaya, Adriana Martínez,

A todos mis amigos de la Centro Nacional de las Artes, especialmente ha mis amigos de la compañía nacional de danza contemporánea A: Nadia, Rubén, Violeta, Emilio, Luis Antonio, Karla, Mariana, John, Guadalupe, Cynthia, Oscar, Teresa, Héctor, América y Emmanuelle; chicos gracias por todos esos momentos en los que hablamos, lloramos, reímos, permanecemos en silencio, gritamos, vivimos... los quiero y admiro mucho.



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, mi alma mater, por darme la oportunidad de estudiar un carrera profesional y por llenar mi vida de conocimiento. Gracias a todos los profesores que me impartieron clases en las diferentes materias que tome durante mi formación profesional, sin su presencia mi vida no hubiera tomado el mismo rumbo... Gracias.

A la Dra. Ma. Del Pilar Cañizares Macías, por haberme brindado toda su confianza y paciencia, por darme todas las facilidades, el uso de las instalaciones y equipos indispensables para la realización del presente trabajo, GRACIAS por compartir conmigo sus conocimientos, por todo el interés y dedicación que le puso a mi tesis, por haberme hecho sentir útil; y por ultimo, por todo el apoyo incondicional y desinteresado que me dio; nunca olvidare que tengo una deuda con mi alma mater y con usted, las cuales me enseñaron a querer y valorar todo lo bueno que he recibido.

A la Dra. Yolanda Caballero, por todo el apoyo y cariño que he recibido de usted y de todos los que integran el laboratorio 2 B de Química Orgánica de la Facultad de Química, por brindarme su amistad, disposición incondicional y toda esa ayuda... por enseñarme que la sabiduría se encuentra al alcance de todos y que los limites de la vida los podemos cada uno de nosotros. Con mucho cariño y admiración...Gracias.

A la Dra. Josefina Elizalde Torres, gracias por ser parte de mi jurado en mi examen profesional y por tomarse el tiempo para la revisión de mi tesis; cuando usted termino de darme el curso de Química Analítica Instrumental II, nos dijo a cada uno de sus alumnos de ese curso, que pronto quería vernos terminar nuestra carrera y presentar nuestro examen profesional, para así cada uno continuar con su proyecto de vida; me da mucho gusto poder compartir con usted este momento...Gracias.

A la Q.F.B. Maria de los Dolores Campos Echeverría, gracias por todas las revisiones y asesorías que me brindó durante toda la parte experimental de mi tesis, no tengo palabras para agradecerle cuanto hizo por mí, gracias por ser parte de mi jurado y además por haber sido mi profesora en Análisis de Medicamentos, en el salón de clases y en el laboratorio aprendí lecciones que me ayudaron mucho a resolver los problemas que se me presentaron durante la realización de mi tesis y me dieron un criterio propio para decidir el rumbo a seguir...Gracias.

Al Dr. Bob Jhonson., director del programa de becas para material didáctico de la facultad de química, gracias por todo el apoyo obtenido durante toda mi formación profesional.

Al Laboratorio de Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Química, A la M en C. Socorro Alpizar, gracias por brindarme las muestras para analizar en el presente trabajo.

Al laboratorio 115 de Química Analítica, sótano del edificio B, Facultad de Química, por brindarme en muchas ocasiones algunos de los reactivos para la realización del presente trabajo, especialmente a la candidato al Doctorado Olivia Zamora: Olí nunca voy a terminar de agradecerte cuanto has hecho por mí, gracias por brindarme todo ese apoyo, consejos y por ser mi amiga (una de las mas grandes e incondicionales que he conocido)☺ Gracias.

A la Q.F.B. Elva E. Maguey... Elva los últimos serán los primeros... gracias por todo el apoyo, consejos y por todos esos detalles recibidos durante la realización de esta tesis, sin tu ayuda esto no hubiera sido lo mismo... Gracias.

ABREVIATURAS

FIA= Análisis por Inyección en Flujo por sus siglas en inglés, Flow Injection Analysis

CFA= Análisis en Flujo Continuo por sus siglas en inglés Continuous Flow Analysis

FEUM= Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos

IUPAC= Unión Internacional de Química Pura y Aplicada por sus siglas en inglés, International Union of Pure and Applied Chemistry

USP= Farmacopea de los Estados Unidos por sus siglas en inglés the Unitedstates Pharmacopeia

PB= Farmacopea Británica por sus siglas en inglés British Pharmacopoeia

EP= Farmacopea de la Unión Europea por sus siglas en inglés European Pharmacopoeia

MGA= métodos generales de análisis

PPM = partes por millón

UV= ultravioleta

RPM= revoluciones por minuto

DER= desviación estándar relativa

L D= límite de detección

L C= límite de cuantificación

D I= diámetro interno

CMC= concentración micelar crítica

Í N D I C E

Introducción	1
Objetivos	2
Capítulo I	
Antecedentes	
1.1 Métodos automatizados de análisis	3
1.2 Visión general de los equipos automáticos e instrumentación	3
1.3 Ventajas y limitaciones de los análisis automáticos	4
1.4 Operaciones unitarias en análisis químico	5
1.5 Tipos de sistemas analíticos automáticos	5
1.6 Análisis por inyección en flujo	7
1.7 Componentes de un sistema FIA	9
1.7.1 Sistema de transporte de muestras y reactivos	10
1.7.2 Inyectores de muestra	11
1.7.3 Zona de reacción	13
1.7.4 Zona de detección y sistema de detección (espectrofotómetro)	16
1.8 Metales pesados	18
1.8.1 Comportamiento de los metales pesados	19
1.8.2 Mercurio	20
1.8.3 Plomo	24
1.8.4 Cadmio	28
1.8.5 Importancia de las determinaciones de metales pesados en medicamentos	31
1.8.5.1 Métodos actuales para determinar metales pesados en medicamentos	32
1.9 Surfactantes (tensoactivos)	33
1.9.1 Formación Micelar	43
1.9.2 Clasificación de los tensoactivos	45
1.9.3 Constitución química...	47
1.9.4 Agentes tensoactivos cationicos	49

1.9.5 Agentes tensoactivos no-iónicos	49
1.9.6 Agentes tensoactivos anfóteros	51
1.9.7 Triton x- 100 (surfactante)	52

Capítulo II:

Desarrollo experimental:

2.1 Fundamento de la reacción	54
2.2 Metodología	55
2.2.1 Reactivos	55
2.3 Disoluciones	56
2.3.1 Ditzona micelar	56
2.3.2 Disoluciones madre de metales pesados (estándares)	57
2.3.3 Disoluciones de estándares certificados de metales pesados	58
2.3.4 Disoluciones amortiguadoras	58
2.4 Ácidos, bases y reactivos utilizados para la extracción de metales pesados (digestión de muestras)	59
2.5 Tratamiento de las muestras	60
2.5.1 Metales totales	60
2.5.2 Prueba límite de mercurio	60
2.6 Configuración	61
2.7 Elaboración de las curvas de calibración para mercurio, plomo y cadmio	62
2.8 Repetibilidad y reproducibilidad del método	64
2.9 Límites de detección y cuantificación	68

Capítulo III:

Resultados y discusión

3.1 Resultados de la optimización del sistema FIA	71
3.1.1 Parámetros químicos	71
3.1.2 Parámetros físicos e hidrodinámicos	81

3.2 Condiciones optimas de análisis	85
3.3 Curvas de calibración	86
3.4 Repetibilidad del método	87
3.5 Límites de detección y cuantificación	90
3.6 Análisis de muestras	91
3.6.1 Resultados para metales totales	91
3.6.2 Resultados para prueba límite de mercurio	94
3.7 Conclusiones	96
Anexos	
Anexo I. Diagramas obtenidos de las curvas de calibración de mercurio, plomo y cadmio	97
Anexo II. Repetibilidad del método, límites de detección y cuantificación para mercurio, plomo y cadmio...	101
Anexo III. Muestras analizadas	111
Anexo IV. Análisis de residuo por absorción atómica	117
Bibliografía	119

INTRODUCCIÓN

Los métodos automatizados hoy en día son de gran importancia debido a su gran apoyo dentro de la química analítica, ya que nos permiten que se tenga un mayor número de resultados en un tiempo menor y a un costo más bajo.

El término de metal pesado se refiere a cualquier elemento químico metálico que tenga una densidad relativa alta y sea tóxico o venenoso en concentraciones bajas, ejemplos de metales pesados incluyen al mercurio (Hg), cadmio (Cd), arsénico (As), cromo (Cr), talio (Tl), plomo (Pb), entre otros. Los metales pesados generalmente producen problemas de salud crónicos y degenerativos; y estos pueden presentarse, como contaminantes en alimentos, medicamentos, agua, suelos, aire, etc. Por ello es necesario contar con métodos analíticos que nos muestren con precisión y rapidez si los metales pesados están presentes en estos productos.

La ditizona es una difeniltiocarbazona y es un compuesto sólido de color verde, soluble en disolventes orgánicos no polares e insoluble en agua. Forma complejos hidrófobos rojos con la mayoría de los iones metálicos di y trivalentes. La ditizona se usa mucho en extracciones analíticas, para determinaciones colorimétricas de iones metálicos y para eliminar trazas de metales en tampones acuosos. Con la finalidad de hacer “Química Verde”, en este proyecto se utilizó la ditizona como reactivo, ésta se preparó en disoluciones acuosas, utilizando un surfactante que nos permitió la obtención de micelas (Ditizona Micelar), y con ello determinar los metales pesados sin necesidad de utilizar disolventes orgánicos los cuales son nocivos para el medioambiente y prohibitivos en muchos de los análisis en la industria dedicada a elaborar productos para el consumo humano.

En esta tesis se desarrolló un método de análisis por inyección en flujo para la determinación de metales pesados, mediante ditizona micelar, la cual se puede utilizar para el análisis espectrofotométrico de metales como: Hg, Cd y Pb, en matrices farmacéuticas.

OBJETIVOS:

OBJETIVOS GENERALES:

- ❖ Desarrollar un sistema automático por análisis por inyección en flujo y detección espectrofotométrica, para la determinación de metales pesados (Hg, Pb y Cd) en medicamentos, utilizando ditizona micelar.
- ❖ Desarrollar un método automático para determinar mercurio utilizando la configuración FIA propuesta.
- ❖ Desarrollar un método de química verde para la determinación de metales pesados y prueba límite de mercurio.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- ❖ Optimizar las condiciones de trabajo para la cuantificación de los metales pesados (Hg, Pb y Cd), por FIA y ditizona micelar.
- ❖ Estudiar y evaluar diferentes tratamientos de muestras y condiciones químicas e hidrodinámicas en la configuración FIA que nos permita especiar mercurio (prueba límite de mercurio).
- ❖ Comparar los diferentes resultados obtenidos en la determinación de Hg y metales totales en las muestras analizadas.

CAPITULO I

ANTECEDENTES

1.1 MÉTODOS AUTOMATIZADOS DE ANÁLISIS

Uno de los principales progresos de la Química Analítica, durante las tres últimas décadas, ha sido la aparición en el mercado de sistemas automáticos para análisis que proporcionan datos analíticos con la mínima intervención del operador. Inicialmente estos sistemas se diseñaron para solucionar las necesidades de los laboratorios clínicos, en los que hay que determinar, de forma rutinaria, unas treinta especies o más, con fines de diagnósticos y preventivos. Como anualmente se realizan cientos de millones de análisis clínicos, parece lógico que su costo se mantenga dentro de un nivel razonable. Estas dos consideraciones motivaron el desarrollo de los primeros sistemas analíticos automáticos. Sin embargo, hoy día estos instrumentos se utilizan en áreas tan distintas como el control de procesos industriales o las determinaciones rutinarias de distintas sustancias en el aire, agua, suelos, productos agrícolas, alimentos y productos farmacéuticos.

1.2 VISIÓN GENERAL DE LOS EQUIPOS AUTOMÁTICOS E INSTRUMENTACIÓN

Para comenzar, hay que señalar que la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada recomienda que se distinga entre sistemas automáticos y automatizados. Según la terminología de la IUPAC, un dispositivo automático es aquel que no modifica su funcionamiento como consecuencia de una señal de realimentación procedente de un detector analítico. Por ejemplo, un valorador automático ácido/base va añadiendo reactivo a una disolución, y a la vez registra el pH en función del volumen de reactivo. Por el contrario, un instrumento automatizado incorpora uno o varios sistemas de realimentación que controla el curso del análisis. Así, algunos valoradores automatizados van comparando el potencial de un electrodo de vidrio con su potencial teórico en el punto de equivalencia, y esta diferencia se utiliza para controlar la velocidad de adición de ácido o de base. Aunque esta distinción entre automático y automatizado pudiera ser útil, la mayoría de los autores no la siguen.

(1)(2)(3)

1.3 VENTAJAS Y LIMITACIONES DE LOS ANÁLISIS AUTOMÁTICOS

En el contexto apropiado, los instrumentos automatizados ofrecen una importante ventaja económica al ahorrar costes laborales, pero para llegar a obtenerla se requiere que el volumen de trabajo del instrumento sea lo suficientemente grande como para compensar la inversión inicial de capital, que suele ser muy elevada, y también el gran esfuerzo que normalmente hay que realizar para que el sistema automático trabaje a pleno rendimiento. En los laboratorios que diariamente realizan un elevado número de análisis de rutina, mediante la automatización, se puede lograr un ahorro enorme. Respecto al ahorro de costes laborales, debe señalarse que para trabajar con la mayoría de los instrumentos automatizados se requiere personal menos cualificado y, por tanto, menos costoso, pero por otra parte, se pueden necesitar supervisores mucho más preparados.

La segunda ventaja importante de los instrumentos automatizados es su velocidad, que suele ser significativamente mayor que la de los dispositivos manuales. De hecho esta velocidad posibilita el control continuo de la composición de los productos mientras se van fabricando y a su vez, esta información permite modificar las condiciones para mejorar la calidad o el rendimiento. El control continuo también es muy útil en medicina, ya que los resultados analíticos pueden usarse para establecer las condiciones normales de los pacientes y su respuesta a la terapia.

La tercera ventaja de la automatización es que con un buen analizador se pueden conseguir resultados, durante largos períodos de tiempo, más reproducibles que los que obtendrían con un operador utilizando un instrumento manual. Este aumento de la precisión de un dispositivo automatizado se considera que se debe a dos razones: Primero, las máquinas no se fatigan, lo que ya se ha demostrado que afecta de manera adversa a los resultados cuando se obtienen de forma manual, especialmente al final de la jornada laboral. Segundo, un factor que contribuye de manera muy importante a la precisión, es la elevada reproducibilidad de las medidas de los tiempos en las sucesivas operaciones de los instrumentos automatizados, una reproducibilidad que raramente se puede lograr con los métodos manuales. Por ejemplo, los analizadores automáticos permiten usar reacciones colorimétricas sin alcanzar el punto final, o las que dan lugar a productos cuya estabilidad no sea apta para medidas manuales.

Asimismo, las técnicas de separación como diálisis o extracción con disolventes, en las que la recuperación del analito es incompleta, siguen siendo aplicables si se utilizan sistemas automatizados. En ambos casos, la gran reproducibilidad de la medida del tiempo en la secuencia de las operaciones, garantiza que las muestras y los patrones se procesen exactamente igual y exactamente en el mismo período de tiempo. (1)(2)(4)(5)

1.4 OPERACIONES UNITARIAS EN ANÁLISIS QUÍMICO

Todos los métodos analíticos se pueden dividir en una serie de ocho etapas u operaciones unitarias, cada una de las cuales se puede automatizar. En la Tabla 1 se enumeran estas etapas ordenadas como se realizan en un análisis típico. A veces se puede prescindir de algunas, pero cualquier análisis siempre se compone de varias. En un método totalmente automático, todas estas operaciones unitarias se llevan a cabo sin intervención humana. Así, en un instrumento totalmente automático se introduce una muestra en el equipo, sin cuantificar y sin tratamiento previo, y al final se obtiene un resultado analítico en forma impresa o gráfica. En los laboratorios clínicos estos instrumentos son habituales pero en los laboratorios industriales o universitarios son menos frecuentes, ya que no hay ningún instrumento completamente automático que pueda adaptarse a la gran variedad de muestras, con distinta composición o diversas matrices, que hay en estos laboratorios. (3)(5)(6)

1.5 TIPOS DE SISTEMAS ANALÍTICOS AUTOMÁTICOS

Los sistemas analíticos automáticos son de dos tipos: analizadores discontinuos y analizadores de flujo continuo; pudiéndose encontrar, a veces, una combinación entre ambos. En un instrumento discontinuo, cada una de las muestras se mantiene como una entidad independiente, colocándose en recipientes separados durante las distintas operaciones unitarias indicadas en la Tabla 1. Por el contrario, en los sistemas de flujo continuo la muestra se va transportando desde el punto de inyección, o introducción, hasta el detector y de aquí al desecho; la muestra forma parte de la corriente en la que va fluyendo y en ella van transcurriendo los diferentes reactivos o analitos.

Tabla 1. Operaciones unitarias en un análisis químico

Operación	Ejemplos característicos	Tipo característico de automatización*
1. Preparación de la muestra	Trituración, homogenización, secado	D
2. Definición de la muestra	Determinación del peso o volumen de muestra	D
3. Disolución de la muestra	Tratamiento con disolventes y dilución Calentamiento, calcinación, fusión	C, D D
4. Separación	Precipitación y filtración Extracción, diálisis y cromatografiado	D C, D
5. Medida	Determinación de absorbancia, intensidad de emisión, potencial, intensidad de corriente y conductividad Valoración y pesada	C, D D
6. Calibración	Análisis de los patrones	C, D
7. Tratamiento de datos	Calcular el resultado, analizando la exactitud y precisión de los datos	C, D
8. Presentación de datos	Imprimir los resultados numéricos, representar gráficamente los datos	C, D

*D = flujo discontinuo; C = flujo continuo.

Operaciones unitarias. Ambos instrumentos, discontinuos y continuos, suelen controlarse mediante un ordenador. Como los instrumentos discontinuos se basan en el uso de recipientes individuales, se elimina totalmente la contaminación entre muestras. Sin embargo, en los sistemas continuos las interacciones entre las muestras siempre dan problemas, especialmente al aumentar la velocidad de muestreo. En este caso hay que tomar precauciones especiales para minimizar la contaminación de las muestras.

Los analizadores de flujo continuo modernos, en general son mecánicamente más sencillos y más baratos que sus equivalentes discontinuos. Generalmente, en muchos sistemas continuos, las únicas partes móviles son las bombas peristálticas y las válvulas interruptoras, siendo estos componentes baratos y fiables. Por el contrario, en

los sistemas discretos hay, a menudo, una serie de elementos móviles tales como jeringas, válvulas y dispositivos mecánicos para transportar las muestras o los recipientes de reactivos de una parte a otra del sistema. En los sistemas discontinuos más sofisticados, las diferentes operaciones unitarias son realizadas por unos robots, controlados por ordenador, y, que dadas su versatilidad, son capaces de hacerlo de forma muy similar a la de un operador humano. (2)(5)(7)(8)

1.6 ANÁLISIS POR INYECCIÓN EN FLUJO

Los métodos de inyección en flujo, en su forma actual, fueron descritos por primera vez a mediados de los años setenta por Ruzicka y Hansen en Dinamarca y Stewart y colaboradores en Estados Unidos. Los métodos de inyección en flujo son una consecuencia de los métodos de flujo segmentado, muy utilizados en los laboratorios clínicos entre los años sesenta y setenta para la determinación rutinaria y automática de distintas especies en sangre y orina para diagnóstico médico. En los sistemas de flujo segmentado, que únicamente los fabricaba una compañía en EE.UU., las muestras eran transportadas a través del sistema hasta el detector por medio de una disolución acuosa, que contenía una serie de burbujas de aire muy próximas entre sí. La misión de estas burbujas de aire era evitar la dispersión excesiva de la muestra, promover el mezclado turbulento entre muestras y reactivos y limpiar las paredes del conducto para evitar la contaminación entre muestras sucesivas. Sin embargo, los descubridores del análisis por inyección en flujo observaron que se podría eliminar, casi completamente, el exceso de dispersión y la contaminación entre muestras, si se diseñaba correctamente un sistema sin burbujas de aire y que realizara de forma sencilla la mezcla entre muestras y reactivos.

La ausencia de burbujas de aire le confiere, a las medidas de inyección en flujo, unas ventajas importantes, como son: (1) análisis más rápidos (típicamente entre 100 y 300 muestras/hora), (2) mejores tiempos de respuesta (a menudo menores de 1 minuto desde la inyección de la muestra hasta la respuesta del detector), (3) menor tiempo entre la aparición de la señal y el retorno a la línea base (menos de 5 min. para cada pico) y (4) equipo mucho más sencillo y versátil, exceptuando el sistema de inyección. Estas dos últimas ventajas tienen una especial importancia, porque hacen factible y económico aplicar medidas automáticas a un número de muestras, no

rutinarias, relativamente pequeño. Por tanto, los métodos de flujo continuo ya no deben de quedarse restringidos por más tiempo a situaciones en las que haya un gran número de muestras y el método analítico sea totalmente rutinario. Como consecuencia de estas ventajas, los sistemas de flujo segmentado han sido prácticamente reemplazados por métodos de inyección en flujo (y también por sistemas discretos que utilizan robots).

Una definición académica de FIA es la siguiente: obtención de información a partir de una zona de fluido bien definida, inyectada y dispersada en una corriente continua no segmentada de un fluido portador.

Mientras que una definición aplicativa es la siguiente: Una tecnología simple y versátil para la automatización del análisis químico por vía húmeda, basada en la manipulación física y química de una zona de muestra dispersada, formada a partir de la inyección de la muestra en una corriente de fluido portador, con detección en línea.

En resumen el FIA es un método automático de análisis en flujo continuo no segmentado, cuya característica fundamental es el uso de una corriente continua de líquido en la que se introduce la muestra; no tenemos segmentos de aire que nos separen las muestras. Después, esta corriente confluye con otra corriente de reactivo. La corriente líquida que se forma es transportada a través de un sistema de tubos hacia el reactor y seguidamente va al detector que mide el producto de reacción que nos interesa.

Los rasgos esenciales del FIA son:

- El flujo no está segmentado por burbujas de aire, lo que constituye la diferencia fundamental con los métodos clásicos de CFA (Análisis en Flujo Continuo).
- La muestra líquida es inyectada directamente en el flujo.
- Se realiza un transporte de la muestra inyectada a través de un sistema de canales en los cuales puede tener un proceso físico-químico adicional, como por ejemplo una reacción química.
- La dispersión o dilución parcial del analito en este transporte puede ser perfectamente manipulada mediante un control de las características geométricas e hidrodinámicas del sistema. Se produce una mezcla incompleta pero reproducible,

que da lugar a un gradiente de concentración variable con el tiempo a lo largo del sistema.

- La señal que proporciona el sistema de detección continua es transitoria.
- En el momento de la detección de la señal no se ha alcanzado ni el equilibrio químico ni el físico.
- El tiempo de operación debe ser reproducible, pues las medidas se realizan en condiciones de no-estabilidad y por lo tanto pequeñas variaciones del mismo pueden producir grandes alteraciones de los resultados. (2)(3)(4)(7)

1.7 COMPONENTES DE UN SISTEMA FIA

1) Sistema de propulsión: bomba peristáltica, bomba de jeringa, balón de gas a presión, gravedad, etc.

2) Sistema de inyección: válvula rotatoria, válvula de conmutación, jeringa y septum, inyección hidrodinámica “FIA sin inyección”.

3) Sistema de detección: espectrofotometría de absorción molecular, UV-visible e IR, fluorimetría, espectrometría de absorción atómica, fotometría de flama, potenciometría, conductimetría, amperometría, coulombimetría, voltametría, etc. (9)(10)

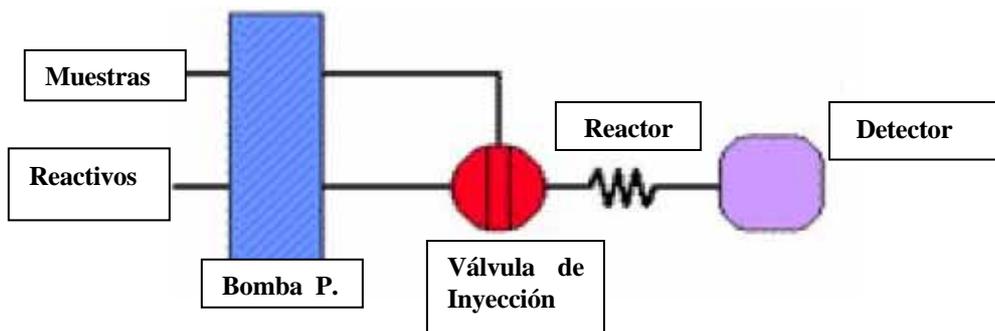


Figura 1. Esquema general del sistema FIA.

1.7.1 SISTEMA DE TRANSPORTE DE MUESTRAS Y REACTIVOS

Unidad de propulsión.

La unidad de propulsión tiene como misión establecer un flujo de caudal lo mas constante posible, ausente de impulsos y perfectamente reproducible. Esto se puede conseguir por la simple acción de la gravedad, mediante un sistema de presión gaseosa o con una bomba peristáltica.

Generalmente se utiliza una bomba peristáltica que consiste en un tambor que contiene una serie de rodillos que comprimen un tubo flexible por el que circula el reactivo o el portador.

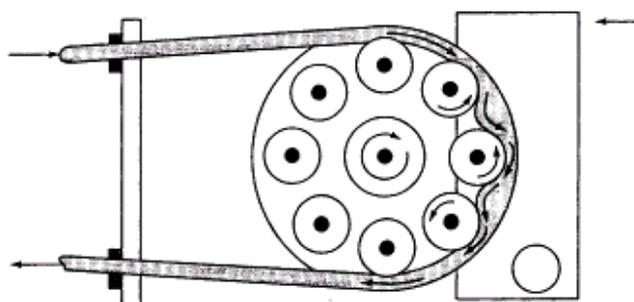


Figura 2. Representación de un canal de una bomba peristáltica.

Habitualmente, en un análisis por inyección en flujo la disolución circula a través del sistema por medio de una bomba peristáltica, un dispositivo que comprime, mediante unos rodillos, un fluido (gas o líquido) que se encuentra en el interior de un tubo de plástico. La Figura 2 ilustra el fundamento de una bomba peristáltica. En este caso, unas abrazaderas comprimen continuamente el tubo contra los rodillos, para lograr una corriente permanente de fluido a través del tubo. Las bombas modernas suelen tener 8 o 10 rodillos, dispuestos en configuración circular para que, en todo momento, la mitad de ellos presionen sobre el tubo. Este diseño produce un flujo relativamente libre de impulsos. El caudal se controla mediante el diámetro interno del tubo y la velocidad del rotor. En el mercado hay una amplia variedad de tamaños de tubo (d.i.= 0,25 a 4 mm) para lograr caudales tan pequeños como 0,0005 mL/min. y tan grandes como 40 mL/min. En las bombas peristálticas habituales los rodillos son lo suficientemente largos como para poder manipular varios tubos a la vez. (9)(10)



Figura 3. Foto de una bomba peristáltica (sistema de propulsión).

1.7.2 INYECTORES DE MUESTRA

Sistema de inyección.

Este componente del sistema tiene como misión situar una cantidad perfectamente definida de muestra en el portador.

En los sistemas antiguos de FIA utilizaban jeringas, pero su uso ocasionaba un cambio transitorio en el flujo, que producía un pico agudo e irreconocible. Por este motivo se tuvo que cambiar el sistema de inyección.

Actualmente se utilizan válvulas de inyección rotatorias. Tienen seis orificios, tres de entrada y tres de salida, que pueden estar en dos posiciones:

- De llenado
- De inyección

Con este sistema se consigue una buena reproducibilidad de los volúmenes suministrados, rapidez y facilidad de manejo, así como una aceptable capacidad de automatización.

En la figura 4 se muestra el mecanismo de acción de la válvula de inyección en sus dos posiciones de carga o llenado y de inyección.

MECANISMO VÁLVULA DE INYECCIÓN

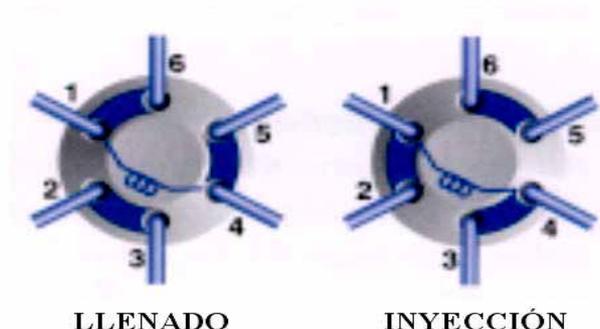


Figura 4. Posiciones de la válvula de inyección.

La válvula hexagonal consta según se muestra en la figura 4 de seis orificios, tres de entrada y tres de salida, pudiendo adquirir dos posiciones: en la posición de llenado la muestra entra en la válvula por el canal 6 llenando el bucle (canales 1 y 4) y saliendo continuamente por el canal de desecho 5; en tanto la corriente portadora entra en la válvula por el canal 2 saliendo hacia el reactor por el canal 3. En la posición de vaciado el canal 2 de entrada en la válvula comunica internamente con el canal 1 arrastrando el bolo de muestra a través de los canales 4 y 3 hacia el reactor, mientras la muestra entra a la válvula por el canal 6 saliendo por el canal 5 hacia los desechos (ver figura 4 mecanismo de inyección de la válvula).

Los inyectores y detectores empleados en análisis por inyección en flujo son similares en cuanto a tipo y requisitos de funcionamiento que los utilizados en cromatografía de líquidos. Los volúmenes de muestra en los procedimientos de inyección en flujo abarcan desde 5 a 200 μL , siendo los más usuales en la mayoría de las aplicaciones los de 10 a 30 μL . En un análisis bien hecho, es vital que la disolución de la muestra se inyecte rápidamente, de golpe o como un bolo de líquido, además, las inyecciones no deben alterar el flujo de la corriente portadora. Cuando la válvula de inyección está en la posición indicada, los reactivos fluyen por una derivación, mientras que la muestra fluye a través de la válvula. Cuando se gira la válvula 90 grados, la muestra entra en la corriente y forma una zona perfectamente definida. En la práctica, cuando la válvula está en esta posición, el flujo a través de la derivación cesa porque el

diámetro del bucle de muestra es mucho mayor que el del tubo de la derivación. Aunque a veces se usa la inyección con una jeringa, la mejor manera de introducir la muestra es mediante válvulas de bucle similares a las de cromatografía. (9)(10)

1.7.3 ZONA DE REACCIÓN

Puede ser diferente dependiendo de la cinética de la reacción. Si la cinética es rápida se utilizan reactores de corta longitud o reactores de tubo recto abierto. Si la cinética es lenta se pueden utilizar una cámara de mezcla o un serpentín de una determinada longitud. Esta zona de reacción también se le conoce como reactor.

El transporte de muestras en los sistemas FIA se produce en régimen laminar, lo que origina un perfil parabólico de velocidades al circular las partículas interiores del fluido más rápidas que las exteriores. Rápidamente el transporte se debe a la difusión axial -producida por un gradiente de concentración horizontal y a difusión radial- producida por la diferencia de concentración entre puntos situados perpendicularmente a la dirección del flujo. El que predomine un transporte u otro depende del tiempo que la muestra tarde en llegar desde el sistema de inyección a la zona de reacción. Con esto lo que se busca es que el transporte sea una mezcla de ambos tipos de difusión, para eso necesitamos controlar el caudal y la longitud del reactor. En FIA se suele trabajar con caudales de entre 0.5 y 3 mL/min y con reactores de entre 50 y 200 cm.

Los reactores son unidades dentro del sistema de transporte que actúan sobre el tiempo de residencia y perfil del bolo de muestra, de forma que a su paso por la unidad de detección este posea las características adecuadas para la medida o la detección de la respuesta. Pueden responder a diferentes tipos en función de las necesidades de cada sistema (Figura 5).

GEOMETRÍA DE LA ZONA DE REACCIÓN O REACTORES

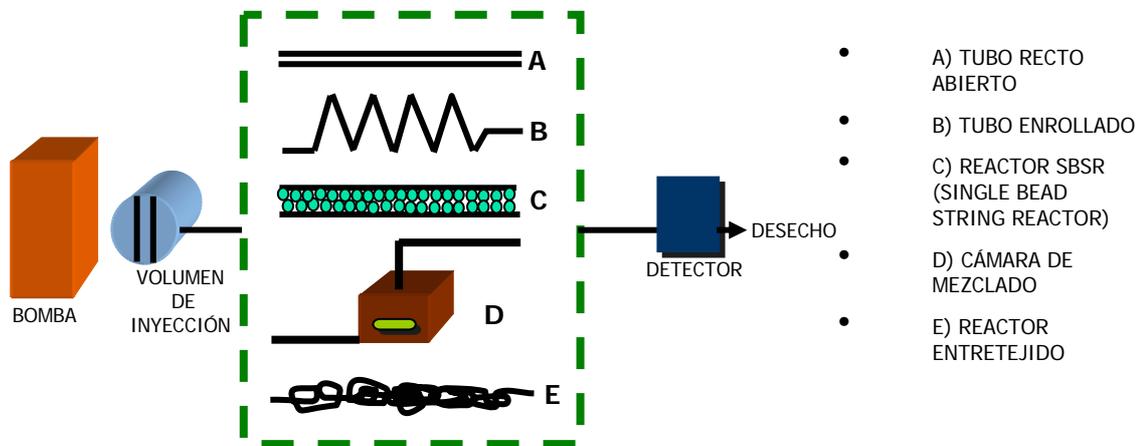


Figura 5. Tipos de reactores en FIA. Apuntes de FIA. Dra. Ma. Del Pilar Cañizares M.

A) Tubo recto abierto: Reciben este nombre los reactores constituidos por un tubo recto de diámetro y longitud variable, el cual se encuentra situado antes del sistema de inyección y/o en el de detección.

B) Tubo enrollado o serpentín: (figura 6) Estos reactores reciben este nombre, ya que se encuentran enrollados helicoidalmente en torno a un cilindro de diámetro variable (varilla de vidrio o plástico). La longitud de este tubo está en función del tiempo de residencia requerido para la mezcla más adecuada del portador o reactivo y la muestra. El diámetro del serpentín modifica la dispersión de la muestra. Este tipo de reactores es el más común y es el que más se utiliza tanto en la industria como en la investigación; es el tipo de reactor que se utilizó para esta investigación.



Figura 6. Reactor del tipo serpentin.

- C) Reactor SBSR o Single Bead String Reactor cuyo nombre en español sería: reactor de bolitas en cadena simple; consiste en un tubo de longitud variable relleno de bolitas de vidrio o de un polímero químicamente inerte cuyo diámetro es de un 60 a un 80 % del diámetro del tubo, de forma que en cualquier sección del mismo existe una única bolita. El volumen no ocupado por el relleno es grande, por lo que el flujo no encuentra mucha resistencia a su paso. El uso de este reactor presenta una serie de ventajas, como son: el aumento del tiempo de residencia (benéfico cuando la reacción es muy lenta), disminución ostensible de la dispersión (incremento de la señal, utilizando menos muestra o concentraciones muy bajas de ésta), y aislamiento de la línea base en relación con los tubos abiertos, probablemente debido a que las bolitas actúan como supresoras de impulsos. El tiempo de retorno a la línea base permanece razonablemente constante para diferentes longitudes del reactor.
- D) Cámara de Mezclado: Se utiliza cuando se precisa un mayor grado de mezcla (punto de confluencia o mini cámara sin agitación) o una total homogeneización de muestra y reactivo (mini cámara con agitación). Generalmente se requiere un mayor grado de mezcla cuando se utiliza un sistema eléctrico de detección y cuando las diferencias de viscosidad, gravedad específica, temperatura, contenido en detergentes, etc. entre el portador y la muestra son muy grandes. También se emplean para llevar a cabo las denominadas valoraciones FIA. (9)(10)

1.7.4 ZONA DE DETECCIÓN Y SISTEMA DE DETECCIÓN (ESPECTROFOTÓMETRO)



Figura 7. Celda de Peek. (Zona de detección).

El sistema de detección para que resulte adecuado en FIA deberá poseer las siguientes características: volumen pequeño, bajo nivel de ruido, señal independiente del caudal, respuesta rápida y lineal en un amplio margen de concentraciones y alta sensibilidad.

En la práctica utilizaremos como detector un espectrofotómetro uv/visible. La celda que utilizamos es una celda de flujo de peek. La señal analítica que se obtiene en un sistema FIA se denomina fiagrama y es una representación de la señal medida frente al tiempo. En este trabajo se midió absorbancia. Cuando una sustancia recibe radiación monocromática parte la absorbe y parte la transmite; la cantidad de radiación absorbida por una muestra viene dada por la Ley de Lambert-Beer:

$$A = \text{Log} (I/I_0) = Ebc$$

En el fiagrama tenemos muchos parámetros para obtener información, pero nosotros utilizaremos la absorbancia en el máximo de cada pico.

En la figura 7 se muestran dos ejemplos de celdas de flujo para FIA y en la figura 8 un equipo comercial FIA. (9)(10)

EJEMPLO DE UN EQUIPO COMERCIAL

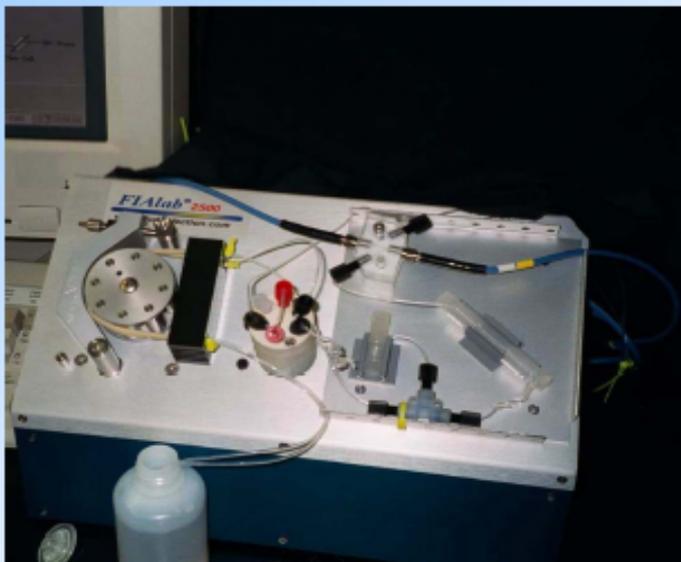


Figura 8. Ejemplo de un equipo comercial de FIA: incluye una bomba peristáltica (zona de propulsión), zona de reactor, zona de detección.

1.8 METALES PESADOS

Los metales pesados son un grupo de elementos químicos que presentan una densidad relativamente alta y cierta toxicidad para el ser humano.

Elemento	Densidad (g/cm ³)
Mercurio*	13,6
Talio	11,85
Plomo*	11,3
Cadmio*	8,65
Arsénico	5,7
Aluminio	2,70
Berilio	1,85

*Metales con los que se trabajo en esta tesis.

El término “metal pesado” no está bien definido, a veces se emplea el criterio de densidad, por ejemplo, metales de densidad mayor a 4,5 g/cm³, pero los valores en la bibliografía pueden ir desde 4 g/cm³ hasta 7 g/cm³. Otros criterios empleados son el número atómico y el peso atómico. Además, el término siempre suele estar relacionado con la toxicidad que presentan, aunque en este caso también se emplea el término “elemento tóxico” o “metal toxico”.

Muchos de los metales que tienen una densidad alta no son especialmente tóxicos y algunos son elementos esenciales en el ser humano, independientemente de que a determinadas concentraciones puedan ser tóxicos en alguna de sus formas. Sin embargo, hay una serie de elementos que pueden representar un serio problema de medioambiente y es común referirse a ellos con el término genérico de “metales pesados”.

Los metales pesados tóxicos más conocidos son el mercurio, el plomo, el cadmio y el talio. También se suele incluir un semimetal como es el arsénico y, en raras ocasiones, algún no metal como el selenio. A veces también se habla de contaminación por metales pesados incluyendo otros elementos tóxicos más ligeros, como el berilio o el aluminio.

1.8.1 COMPORTAMIENTO DE LOS METALES PESADOS

	Ácidos	Bases
Duros	H^+ , Li^+ , Na^+ , Be^{2+} , Cr^{3+} , Al^{3+}	O^{2-} , NO_3^- , F^- , OH^- , H_2O , NH_3 , SO_4^{2-}
Blandos	Au^+ , Ag^+ , Cu^+ , Tl^+ , Hg_2^{2+} , Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+}	R_2S , H^- , CN^- , SCN^- , CO , I^- , R^-

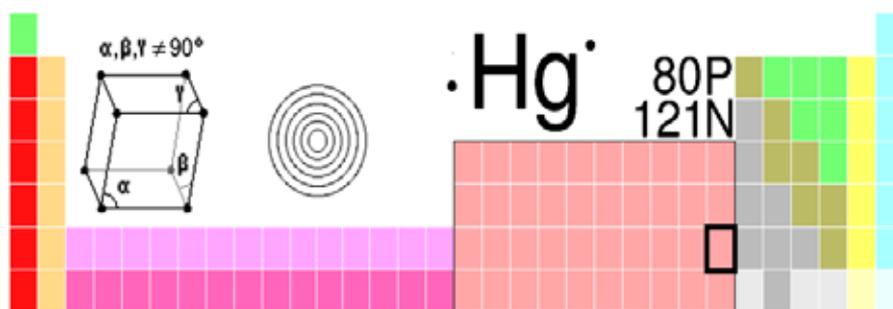
Desde el punto de vista químico se pueden dividir los cationes de los metales en ácidos de Lewis *duros* y en ácidos de Lewis *blandos*. La *blandura* o *dureza* de un catión o un anión se puede relacionar con su polarizabilidad y ésta con la relación carga/radio.

Los iones con una relación carga/radio alta son *duros*, mientras que los de relación carga/radio baja son *blandos*. Los ácidos blandos tienden a enlazarse con bases blandas y los ácidos duros con bases duras.

Según esta clasificación los considerados generalmente como metales pesados tóxicos como el cadmio, el mercurio o el plomo, tienen cationes, como por ejemplo el Cd^{2+} , Hg^{2+} o Pb^{2+} , que son ácidos de Lewis blandos. Estos ácidos de Lewis tienen tendencia a enlazarse a bases blandas, por ejemplo a los restos cisteinato (contienen el grupo RS, una base blanda) de proteínas, ejerciendo de esta forma su acción tóxica.

Sin embargo estos elementos tóxicos también pueden actuar de otras formas, por ejemplo sustituyendo a un catión metálico que realiza una función en el organismo, por tener características similares. Así, el Cd^{2+} puede sustituir al Zn^{2+} o al Ca^{2+} . En el primer caso afecta a proteínas que contienen zinc y en el caso del calcio afecta a los huesos. (11)(12)(13)

1.8.2 MERCURIO



El mercurio es un elemento químico de número atómico 80. Su nombre y abreviatura (Hg) procede de hidrargirio hoy ya en desuso, que a su vez procede del latín hidrargirium y de hydrargyrus, que a su vez proviene del griego hydrargyros (hydros = agua y argyros = plata).

Es un metal pesado plateado que a temperatura ambiente es un líquido inodoro. Es un mal conductor del calor comparado con otros metales, aunque no es mal conductor de la electricidad. Forma aleaciones fácilmente con muchos otros metales como el oro o la plata produciendo amalgamas, salvo con el hierro. Es insoluble en agua y soluble en ácido nítrico. Cuando aumenta su temperatura produce vapores tóxicos y corrosivos, más pesados que el aire. Es dañino por inhalación, ingestión, contacto y muy irritante para la piel, ojos y vías respiratorias. Es incompatible, con el acetileno, el amoníaco, el cloro y los metales.

Generalidades	
Nombre, símbolo, número	Mercurio, Hg, 80
Serie química	Metal de transición
Grupo, periodo, bloque	12, 6, d
Densidad, dureza	13579,04 kg/m ³ , 1,5 Mohs
Apariencia	Blanco plateado

Propiedades atómicas	
Peso atómico	200,59 uma
Radio medio	150 pm
Radio atómico calculado	171 pm
Radio covalente	149 pm
Radio de Van der Waals	155 pm
Configuración electrónica	[Xe]4f ¹⁴ 5d ¹⁰ 6s ²
Estados de oxidación (Óxido)	2, 1 (levemente básico)
Estructura cristalina	Romboédrica

Propiedades físicas	
Estado de la materia	Líquido
Punto de fusión	234,32 °K
Punto de ebullición	629,88 °K
Entalpía de vaporización	59,229 kJ/mol
Entalpía de fusión	2,295 kJ/mol
Presión de vapor	0,0002 Pa a 234 °K
Velocidad del sonido	1407 m/s a 293,15 °K

Es un metal noble, soluble únicamente en soluciones oxidantes. El mercurio sólido es tan suave como el plomo. El metal y sus compuestos son muy tóxicos.

En sus compuestos, el mercurio se encuentra en los estados de oxidación 2⁺, 1⁺ y más bajos; por ejemplo, HgCl₂, Hg₂Cl₂ o Hg₃ (AsF₆)₂. A menudo los átomos de mercurio presentan dos enlaces covalentes; por ejemplo, Cl-Hg-Cl o Cl-Hg-Hg-Cl. Algunas sales de mercurio (II), por ejemplo, Hg (NO₃)₂ o Hg (ClO₄)₂, son muy solubles en agua y por lo general están disociadas. Las soluciones acuosas de estas sales reaccionan como ácidos fuertes a causa de la hidrólisis que ocurre. Otras sales de mercurio (II), como HgCl₂ o Hg (CN)₂, también se disuelven en agua, pero en solución sólo están poco disociadas. Hay compuestos en que los átomos de mercurio están directamente enlazados a átomos de carbono o de nitrógeno; por ejemplo, H₃C-Hg-CH₃ o H₃C-CO-NH-Hg-NH-CO-CH₃. En complejos, como K₂ (HgI₄), a menudo tiene tres o cuatro enlaces.

Efectos del Mercurio sobre la salud

El mercurio es un elemento que puede ser encontrado de forma natural en el medio ambiente. Puede ser encontrado en forma de metal, como sales de mercurio o como mercurio orgánico.

El mercurio metálico es usado en una variedad de productos de las casas, como barómetros, termómetros, bombillas fluorescentes. El mercurio en estos mecanismos está atrapado y usualmente no causa ningún problema de salud. De cualquier manera, cuando un termómetro se rompe una exposición significativamente alta ocurre a través de la respiración. Esto puede causar efectos dañinos, como daño a los nervios, al cerebro y riñones, irritación de los pulmones, irritación de los ojos, reacciones en la piel, vómitos y diarreas.

El mercurio tiene un número de efectos sobre los humanos, que pueden ser todos simplificados en las siguientes categorías:

Daño al sistema nervioso.

Daño a las funciones del cerebro.

Daño al ADN y cromosomas.

Reacciones alérgicas, irritación de la piel, cansancio, y dolor de cabeza.

Efectos negativos en la reproducción, daño en el esperma, defectos de nacimientos y abortos.

Efectos ambientales del Mercurio.

El mercurio entra en el ambiente como resultado de la ruptura de minerales de rocas y suelos a través de la exposición al viento y agua. La liberación de mercurio desde fuentes naturales ha permanecido en el mismo nivel a través de los años. Todavía las concentraciones de mercurio en el medioambiente están creciendo; esto es debido a la actividad humana.

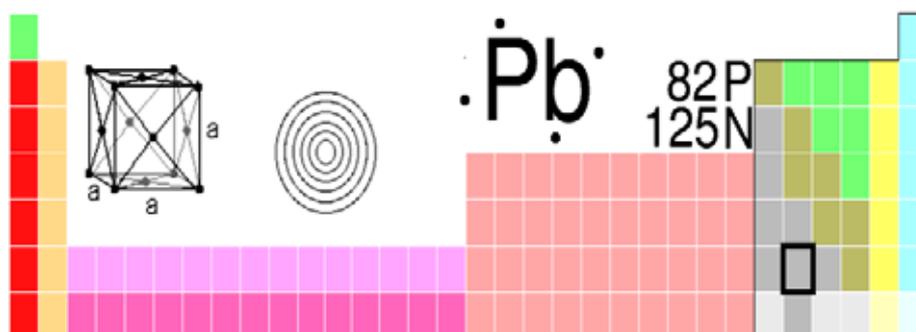
La mayoría del mercurio liberado por las actividades humanas es liberado al aire, a través de la quema de productos fósiles, minería, fundiciones y combustión de residuos sólidos. Algunas formas de actividades humanas liberan mercurio directamente al suelo o al agua, por ejemplo la aplicación de fertilizantes en la agricultura y los vertidos de aguas residuales industriales. Todo el mercurio que es liberado al ambiente eventualmente terminará en suelos o aguas superficiales.

Las aguas superficiales ácidas pueden contener significantes cantidades de mercurio. Cuando los valores de pH están entre cinco y siete, las concentraciones de mercurio en el agua se incrementarán debido a la movilización del mercurio en el suelo.

El mercurio que ha alcanzado las aguas superficiales o suelos, los microorganismos pueden convertirlo en metil mercurio, una sustancia que puede ser absorbida rápidamente por la mayoría de los organismos y es conocido que daña al sistema nervioso. Los peces son organismos que absorben gran cantidad de metil mercurio de agua superficial cada día. Como consecuencia, el metil mercurio puede acumularse en peces y en las cadenas alimenticias de las que forman parte.

Los efectos del mercurio en los animales son daño en los riñones, trastornos en el estómago, daño en los intestinos, fallos en la reproducción y alteración del ADN. (11)(12)(13)

1.8.3 PLOMO



Generalidades	
Nombre, símbolo, número	Plomo, Pb, 82
Serie química	Metales del bloque <i>p</i>
Grupo, periodo, bloque	14, 6, p
Densidad, dureza	11340 kg/m ³ , 1,5 Mohs
Apariencia	Azul blanquecino
Propiedades atómicas	
Peso atómico	207,2 uma
Radio medio	180 pm
Radio atómico calculado	154 pm
Radio covalente	147 pm
Radio de Van der Waals	202 pm
Configuración electrónica	[Xe]4f ¹⁴ 5d ¹⁰ 6s ² 6p ²
Estados de oxidación (Óxido)	4, 2 (anfótero)

Propiedades físicas	
Estado de la materia	Sólido
Punto de fusión	600,61 °K
Punto de ebullición	2022 °K
Entalpía de vaporización	177,7 kJ/mol
Entalpía de fusión	4,799 kJ/mol
Presión de vapor	4,21 x 10 ⁻⁷ Pa a 600 °K
Velocidad del sonido	1260 m/s a 293,15 °K

El plomo es relativamente resistente al ataque de los ácidos sulfúrico y clorhídrico. Pero se disuelve con lentitud en ácido nítrico. El plomo es anfótero, ya que forma sales de plomo de los ácidos así como sales metálicas del ácido plúmbico. El plomo forma muchas sales, óxidos y compuestos organometálicos.

Industrialmente, sus compuestos más importantes son los óxidos de plomo y el tetraetilo de plomo. El plomo forma aleaciones con muchos metales y, en general, se emplea en esta forma en la mayor parte de sus aplicaciones. Todas las aleaciones formadas con estaño, cobre, arsénico, antimonio, bismuto, cadmio y sodio tienen importancia industrial.

Los compuestos del plomo son tóxicos y producen envenenamiento en el ser humano. El mayor peligro proviene de la inhalación de vapor o de polvo. En el caso de los compuestos organoplúmbicos, la absorción a través de la piel puede llegar a ser significativa. Algunos de los síntomas de envenenamiento por plomo son dolores de cabeza, vértigo e insomnio. En los casos agudos, por lo común se presenta estupor, el cual progresa hasta el coma y termina en la muerte. El control médico de los empleados que se encuentren relacionados con el uso de plomo comprende pruebas clínicas de los niveles de este elemento en la sangre y en la orina. Con un control de este tipo y la aplicación apropiada de control de ingeniería, el envenenamiento industrial causado por el plomo puede evitarse por completo.

El plomo rara vez se encuentra en su estado elemental, el mineral más común es el sulfuro y la galeana, los otros minerales de importancia comercial son el carbonato, cerusita, y el sulfato, anglesita, que son mucho más raros. También se encuentra plomo en varios minerales de uranio y de torio, ya que proviene directamente de la desintegración radiactiva (decaimiento radiactivo). Los minerales comerciales pueden contener tan poco plomo como el 3%, pero lo más común es un contenido de poco más o menos el 10%. Los minerales se concentran hasta alcanzar un contenido de plomo de 40% o más antes de fundirse.

El uso del plomo en pigmentos ha sido muy importante, pero está decreciendo en volumen. El pigmento que se utiliza más, en que interviene este elemento, es el blanco de plomo $2\text{PbCO}_3 \cdot \text{Pb}(\text{OH})_2$; otros pigmentos importantes son el sulfato básico de plomo y los cromatos de plomo.

Se utilizan una gran variedad de compuestos de plomo, como los silicatos, los carbonatos y sales de ácidos orgánicos, como estabilizadores contra el calor y la luz para los plásticos de cloruro de polivinilo. Se usan silicatos de plomo para la fabricación de fritas de vidrio y de cerámica, las que resultan útiles para introducir plomo en los acabados del vidrio y de la cerámica. El azuro de plomo, $\text{Pb}(\text{N}_3)_2$, es el

detonador estándar para los explosivos. Los arsenatos de plomo se emplean en grandes cantidades como insecticidas para la protección de los cultivos. El litargirio (óxido de plomo) se emplea mucho para mejorar las propiedades magnéticas de los imanes de cerámica de ferrita de bario.

Efectos del Plomo sobre la salud

El Plomo es un metal blando que ha sido conocido a través de los años por muchas aplicaciones. Este ha sido usado ampliamente desde el 5000 antes de Cristo para aplicaciones en productos metálicos, cables y tuberías, pero también en pinturas y pesticidas. El plomo es uno de los cuatro metales que tienen un mayor efecto dañino sobre la salud humana. Este puede entrar en el cuerpo humano a través de la comida (65%), agua (20%) y aire (15%).

Las comidas como fruta, vegetales, carnes, granos, mariscos, refrescos y vino pueden contener cantidades significantes de plomo. El humo de los cigarrillos también contiene pequeñas cantidades de plomo.

El plomo puede entrar en el agua potable a través de la corrosión de las tuberías. Esto es más común que ocurra cuando el agua es ligeramente ácida. Este es el por qué en los sistemas de tratamiento de aguas públicas se requiere llevar a cabo un ajuste de pH en agua que sirve para el uso del agua potable. Que se sepa, el plomo no cumple ninguna función esencial en el cuerpo humano, este puede principalmente hacer daño después de ser tomado en la comida, aire o agua.

El plomo puede causar varios efectos no deseados, como son:

- Perturbación de la biosíntesis de hemoglobina y anemia.

- Incremento de la presión sanguínea.

- Daño a los riñones.

- Abortos y abortos sutiles.

- Perturbación del sistema nervioso.

- Daño al cerebro.

- Disminución de la fertilidad del hombre a través del daño en el esperma.

Disminución de las habilidades de aprendizaje de los niños.

Perturbación en el comportamiento de los niños, como es agresión, comportamiento impulsivo e hipersensibilidad.

El plomo puede entrar en el feto a través de la placenta de la madre. Debido a esto puede causar serios daños al sistema nervioso y al cerebro de los niños por nacer.

Efectos ambientales del plomo

El plomo ocurre de forma natural en el ambiente, pero las mayores concentraciones que son encontradas en el ambiente son el resultado de las actividades humanas.

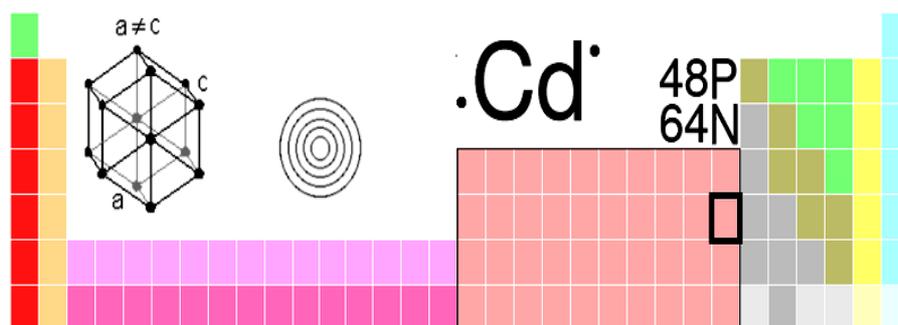
Debido a la aplicación del plomo en gasolinas un ciclo no natural del plomo tiene lugar. En los motores de los coches el plomo es quemado, eso genera sales de plomo (cloruros, bromuros, óxidos) se originarán.

Estas sales de plomo entran en el ambiente a través de los tubos de escape de los coches. Las partículas grandes precipitarán en el suelo o la superficie de aguas, las pequeñas partículas viajarán largas distancias a través del aire y permanecerán en la atmósfera. Parte de este plomo caerá de nuevo sobre la tierra cuando llueva. Este ciclo del plomo causado por la producción humana está mucho más extendido que el ciclo natural del plomo. Otras actividades humanas, como la combustión del petróleo, procesos industriales, combustión de residuos sólidos, también contribuyen.

El plomo se acumula en los cuerpos de los organismos acuáticos y organismos del suelo. Estos experimentarán efectos en su salud por envenenamiento por plomo. Los efectos sobre la salud de los crustáceos pueden tener lugar incluso cuando sólo hay pequeñas concentraciones de Plomo presente.

Las funciones en el fitoplancton pueden ser perturbadas cuando interfiere con el plomo. El fitoplancton es una fuente importante de producción de oxígeno en mares y muchos grandes animales marinos lo comen. Este es el por qué ahora se empieza a preguntar si la contaminación por plomo puede influir en los balances globales. Las funciones del suelo son perturbadas por la intervención del plomo, especialmente cerca de las autopistas y tierras de cultivos, donde concentraciones extremas pueden estar presentes. (11)(12)(13)

1.8.4 CADMIO



Generalidades	
Nombre, símbolo, número	Cadmio, Cd, 48
Serie química	metal de transición
Grupo, periodo, bloque	12, 5, d
Densidad, dureza	8650 kg/m ³ , 2 Mohs
Apariencia	Plateado gris metálico

Propiedades atómicas	
Peso atómico	112,411 uma
Radio medio	155 pm
Radio atómico calculado	161 pm
Radio covalente	148 pm
Radio de Van der Waals	158 pm
Configuración electrónica	[Kr]4d ¹⁰ 5s ²
Estados de oxidación (óxido)	2 (levemente básico)
Estructura cristalina	Hexagonal

Propiedades físicas	
Estado de la materia	Sólido
Punto de fusión	594,22 °K
Punto de ebullición	1040 °K
Entalpía de vaporización	100 kJ/mol
Entalpía de fusión	6,192 kJ/mol
Presión de vapor	14,8 Pa a 597 °K
Velocidad del sonido	2310 m/s a 293,15 °K

Hay ocho isótopos estables en la naturaleza y se han descrito once radioisótopos inestables de tipo artificial. El cadmio es miembro del grupo IIb (zinc, cadmio y mercurio), en la tabla periódica, y presenta propiedades químicas intermedias entre las del zinc metálico en disoluciones ácidas de sulfato. El cadmio es divalente en todos sus compuestos estables y su ión es incoloro.

El cadmio no se encuentra en estado libre en la naturaleza, y la greenockita (sulfuro de cadmio), único mineral de cadmio, no es una fuente comercial de metal. Casi todo el que se produce es obtenido como subproducto de la fundición y refinamiento de los minerales de zinc, los cuales por lo general contienen de 0.2 a 0.4%. Estados Unidos, Canadá, México, Australia, Bélgica, Luxemburgo y República de Corea son fuentes importantes, aunque no todos son productores.

En el pasado, un uso comercial importante del cadmio fue como cubierta electro depositada sobre hierro o acero para protegerlos contra la corrosión. La segunda aplicación es en baterías de níquel-cadmio y la tercera como reactivo químico y pigmento. Se recurre a cantidades apreciables en aleaciones de bajo punto de fusión semejantes a las del metal de Wood, en rociadoras automáticas contra el fuego y en cantidad menor, en aleaciones de latón (latón), soldaduras y cojinetes. Los compuestos de cadmio se emplean como estabilizadores de plásticos y en la producción de cadmio fosforado. Por su gran capacidad de absorber neutrones, en especial el isótopo 113, se usa en barras de control y recubrimiento de reactores nucleares.

Efectos del Cadmio sobre la salud

El cadmio puede ser encontrado mayoritariamente en la corteza terrestre. Este siempre ocurre en combinación con el zinc. El cadmio también se encuentra en las industrias como inevitable subproducto de extracciones de zinc, plomo y cobre.

La toma por los humanos de cadmio tiene lugar mayormente a través de la comida. Los alimentos que son ricos en cadmio pueden en gran medida incrementar la concentración de este metal en los humanos. Ejemplos son patés, champiñones, mariscos, mejillones, cacao y algas secas.

Una exposición a niveles significativamente altas ocurren cuando la gente fuma. El humo del tabaco transporta el cadmio a los pulmones. La sangre transportará el

cadmio al resto del cuerpo donde puede incrementar los efectos por potenciación del cadmio que está ya presente por comer comida rica en cadmio. Otra alta exposición puede ocurrir con gente que vive cerca de los vertederos de residuos peligrosos o fábricas que liberan cadmio en el aire y gente que trabaja en las industrias de refinerías del metal. Cuando la gente respira el cadmio este puede dañar severamente los pulmones. Esto puede incluso causar la muerte. El cadmio primero es transportado hacia el hígado por la sangre. Allí es unido a proteínas para formar complejos que son transportados hacia los riñones. El cadmio se acumula en los riñones, donde causa un daño en el mecanismo de filtración. Esto causa la excreción de proteínas esenciales y azúcares del cuerpo y el consecuente daño de los riñones. Lleva bastante tiempo antes de que el cadmio que ha sido acumulado en los riñones sea excretado del cuerpo humano.

Otros efectos sobre la salud que pueden ser causados por el cadmio son:

Diarreas, dolor de estómago y vómitos severos.

Fractura de huesos.

Fallos en la reproducción y posibilidad incluso de infertilidad.

Daño al sistema nervioso central.

Daño al sistema inmune.

Desordenes psicológicos.

Posible daño en el ADN o desarrollo de cáncer.

Efectos ambientales del Cadmio

El cadmio es fuertemente adsorbido por la materia orgánica del suelo. Cuando el cadmio está presente en el suelo este puede ser extremadamente peligroso, y la toma a través de la comida puede incrementar. Los suelos que son ácidos aumentan la toma de cadmio por las plantas. Esto es un daño potencial para los animales que dependen de las plantas para sobrevivir. El cadmio puede acumularse en sus cuerpos, especialmente cuando estos comen muchas plantas diferentes. Las vacas pueden tener grandes cantidades de cadmio en sus riñones debido a esto.

En ecosistemas acuáticos el cadmio puede bioacumularse en mejillones, ostras, gambas, langostas y peces. La susceptibilidad al cadmio puede variar ampliamente entre organismos acuáticos. Organismos de agua salada se sabe que son más resistentes al envenenamiento por cadmio que organismos de agua dulce. Animales que comen o beben cadmio algunas veces tienen la presión sanguínea alta, daños del hígado y daños en nervios y el cerebro. (11)(12)(13)

1.8.5 IMPORTANCIA DE LAS DETERMINACIONES DE METALES PESADOS EN MEDICAMENTOS

La evolución constante de los conocimientos farmacéuticos y su aplicación en el campo profesional, hace que exista una preocupación constante por mantener niveles de calidad y especificaciones equivalentes con los que se manejan en la comunidad internacional en los medicamentos e insumos para su fabricación; lo cual permite obtener para los usuarios, productos de calidad semejantes a los que se elaboran en otros países.

Esta preocupación por tener medicamentos de alta calidad tiene como meta importante y un gran desafío, llevar a cabo investigaciones para lograr métodos que contribuyan al mejoramiento de la calidad en los medicamentos y/o productos farmacéuticos, esto aplica en todos los ordenes y campos de la manufactura de un medicamento, tarea que en los últimos años ha adquirido un gran impulso.

Como la determinación de la calidad en los medicamentos es importante en cualquier nivel de la fabricación de estos, es igualmente importante tener métodos analíticos adecuados que nos permitan documentar y asegurar la calidad de los productos farmacéuticos elaborados, muchos de los métodos validados para las determinaciones analíticas de los medicamentos y/o materias primas destinadas a la fabricación de medicamentos, se encuentran compilados en la FEUM.

La FEUM es una publicación oficial que reúne los métodos analíticos y lineamientos bajo los cuales se evalúa la calidad de los medicamentos, materias primas e insumos farmacéuticos para el consumo humano, sirviendo como una importante herramienta tanto para laboratorios como para industrias dedicadas a la fabricación de estos.

Existen en la FEUM un gran número de métodos que nos permiten evaluar y asegurar la calidad de los medicamentos. Muchos de estos métodos nos ayudan a evaluar la calidad tanto de los insumos como de los productos finales que para este caso son el medicamento mismo.

Uno de los parámetros importantes que se evalúa en los medicamentos son los niveles de impurezas y específicamente las impurezas metálicas como ya se ha mencionado en el apartado 1.8 de este trabajo, los metales pesados son muy nocivos para los humanos, de ahí que es necesario contar con métodos analíticos que nos permitan determinar el grado de contaminantes metálicos presentes en los medicamentos y/o insumos destinados a la fabricación de productos farmacéuticos. (14)(15)(16)

1.8.5.1 METODOS ACTUALES PARA DETERMINAR METALES PESADOS EN MEDICAMENTOS

FEUM (FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS)

Metales totales (MGA 0561): Esta prueba se utiliza para la determinación del contenido de impurezas metálicas que son coloreadas por el ión sulfuro, bajo las condiciones específicas de la prueba, este ensayo pretende demostrar que el contenido de estas impurezas no excede el límite de metales pesados especificado en la monografía individual para cada medicamento o materia prima; en función del porcentaje en masa. Esta determinación se realiza mediante la comparación visual de un control preparado a partir de una disolución estándar de plomo y una disolución preparada de la sustancia bajo ensayo. Las impurezas metálicas que generalmente responden a esta prueba son: plomo, mercurio, bismuto, arsénico, antimonio, estaño, cadmio, plata, cobre y molibdeno.

Prueba límite de Mercurio: (MGA0551) Este método se basa en una reacción química entre el mercurio contenido como impureza en un medicamento dado, y una solución valorada de ditizona, formando ditizonato de mercurio como producto de la reacción.

Prueba límite de Plomo (MGA 0721): El método se basa en la determinación espectrofotométrica del complejo colorido, obtenido al hacer reaccionar con ditizona el plomo contenido como impureza, en un producto dado, bajo condiciones establecidas.

Prueba límite de Cadmio: No existe prueba Farmacopeica para este metal, debido a que es casi nula la existencia de este metal como contaminante en productos farmacéuticos.

USP (FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS)

Metales Pesados: Esta prueba se proporciona para demostrar que el contenido de impurezas metálicas coloreadas por el ion sulfuro, en las condiciones de prueba especificadas, no excede el límite de metales pesados especificado en la monografía individual correspondiente al porcentaje en masa de plomo en la sustancia de análisis, según se determina mediante comparación visual de una preparación de la muestra, con una preparación estándar obtenida a partir de una solución estándar de plomo. Las sustancias que aparentemente responden a esta prueba son el plomo, mercurio, arsénico, antimonio, estaño, cadmio, plata, cobre y molibdeno. Determinar la cantidad de metales pesados por este método a menos que se especifique algo diferente en la monografía correspondiente.

Las pruebas límite para mercurio, plomo y cadmio son iguales que la FEUM.

FARMACOPEA BRITANICA (BP) Y/ O FARMACOPEA EUROPEA

La prueba de metales totales es igual que en la USP.

Las pruebas límite para mercurio y plomo son iguales que la FEUM. (14)(15)(16)

1.9 SURFACTANTES (TENSOACTIVOS)

Probablemente, desde hace mucho tiempo se han utilizado los jabones, arcillas y algunas gomas como agentes humectantes o mojadores, detergentes y estabilizadores de las dispersiones, sin embargo, los agentes tensoactivos sintéticos no se habían desarrollado y aplicado ampliamente hasta hace relativamente pocos años.

Características de los agentes tensoactivos. Los agentes tensoactivos son adsorbidos en las interfases agua-aceite a causa de sus grupos hidrófilos ("amantes del agua") o polares, y de sus grupos lipófilos ("amantes del aceite") o no polares. Algunos de los grupos hidrófilos, los cuales se orientan hacia la fase polar, son: $-OH$, $-COOH$, $-SO_4H$, y como ejemplos de grupos lipófilos (también denominados hidrófobos), que se dirigen a la fase no polar, pueden citarse los hidrocarburos alifáticos y cíclicos. Como consecuencia de esta orientación en la interfase agua-aceite, las moléculas del

agente superficial forman una especie de "puente" entre las fases polar y no polar, haciendo así que la transición entre ambas sea menos brusca. El agente tensoactivo ha de estar equilibrado en cuanto a poseer la cantidad adecuada de grupos hidrosolubles y liposolubles para que se concentre en la interfase, y de esta forma haga descender la tensión interfacial. Si la molécula es demasiado hidrófila, permanecerá en el interior de la fase acuosa y no ejercerá efecto alguno sobre la interfase, de la misma forma que si es demasiado lipófila se disolverá por completo en la fase oleosa y aparecerá muy poca cantidad en la interfase. Por tanto, un agente superficialmente activo ha de estar formado por una porción hidrófila y otra lipófila, equilibradas de tal modo que cuando se disperse inicialmente en la fase oleosa o en la acuosa, emigre a la interfase y se oriente con el grupo hidrófilo en el agua y el grupo lipófilo. Siguiendo la sugerencia de WINSOR, los compuestos que contienen porciones hidrófilas y lipófilas reciben, frecuentemente, la denominación de agentes antifílicos o anfífilos. Este mismo autor ha demostrado la importancia del equilibrio hidrófilo-lipófilo de los agentes anfífilos en todo lo referente a los fenómenos de solubilización y emulsificación.

Clasificación hidrófila-lipófila de los sistemas: GRIFFIN ideó una escala arbitraria de valores que sirviese como medida del balance hidrófilo-lipófilo ("hydrophilic-lipophilic balance: HLB"), de los agentes superficialmente activos. Así, por medio de este sistema numérico de índices HLB, indicado en la figura 9, es posible establecer un intervalo de la máxima eficacia para cada tipo o clase de agente tensoactivo, deduciéndose de esta escala que cuanto más alto es el HLB de un agente, mayor es su carácter hidrófilo; así, los Spans, ésteres del sorbitán, fabricados por la Atlas Powder Company, son agentes lipófilos y, por tanto, tienen valores HLB bajos (de 1,8 a 8,6), mientras que los Tweens, derivados polioxietilénicos de los Spans, son hidrófilos y, en consecuencia, tienen valores HLB altos (de 9,6 a 16,7).

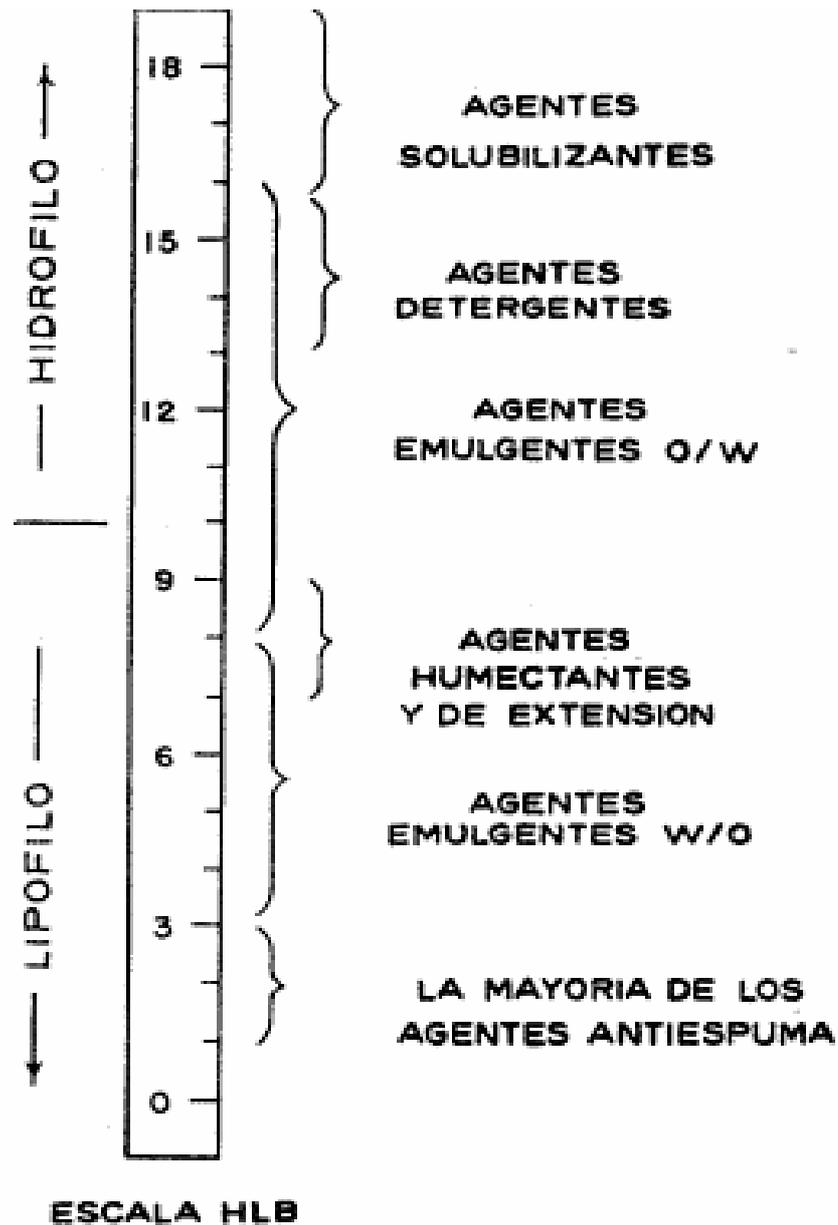


Figura 9. Escala de HLB de diversos agentes tensoactivos.

El HLB de algunos ésteres de ácidos grasos y alcoholes polihidroxilados, como, por ejemplo, el monoestearato de glicerina, puede calcularse mediante la fórmula:

$$HLB = 20 \left(1 - \frac{S}{A} \right)$$

en donde S es el índice de saponificación del éster, y A el de acidez del ácido graso.

Así, tendremos que el valor HLB del monolaurato del sorbitán polioxietilénico (Tween 20), para el cual S= 45,5 y A= 276, es:

$$HLB = 20 \left(1 - \frac{45,5}{276} \right) = 16,7$$

Para aquellas otras sustancias con las cuales no es posible obtener buenos índices de saponificación, por ejemplo, los derivados de la cera de abejas y de la lanolina, se emplea la fórmula siguiente:

$$HLB = \frac{E + P}{5}$$

en la que E es el tanto por ciento, en peso, de las cadenas oxietilénicas y P es el tanto por ciento; en peso, de los grupos alcohólicos polihidroxiados (por ejemplo, glicerina, sorbitan) en la molécula. Finalmente, cuando la porción hidrófila del agente tensoactivo está formada solamente por grupos oxietilénicos, la ecuación se transforma en:

$$HLB = \frac{E}{5}$$

donde, de nuevo, E es el tanto por ciento en peso de óxido de etileno existente en la molécula. Para obtener los valores HLB de los agentes tensoactivos iónicos de los compuestos que contienen óxido de propileno, nitrógeno, etc., y de muchos de los complejos emulgentes naturales debe emplearse el método original de Griffin, que comprende la preparación y observación de una serie de emulsiones. En la tabla 2 se dan los valores HLB de algunos agentes anfílicos de uso frecuente.

Tabla 2. Valores HLB de algunos agentes anfifílicos

Sustancia	HLB
Ácido oleico	1
Monoestearato de glicerina	3,8
Monooleato de sorbitán (Span 80)	4,3
Monolaurato de sorbitán (Sean 20)	8,6
Goma arábica	8,0
Gelatina (Farmagel B)	9,8
Métilcelulosa (Metocel, 15 cps)	10,5
Oleato de trietanolamina	12,0
Goma tragacanto . . . ,	13,2
Monooleato de sorbitán polioxietilénico (Tween 80)	15
Monoláurato de sorbitán polioxietilénico (Tween 20).	16,7
Oleato sódico	18,0
Lauril sulfato sódico	40

MOORE y BELL han ideado una clasificación similar del equilibrio hidrófilo-lipófilo asignando a los agentes anfifílicos, del tipo del polioxietileno, los llamados índices H/L, que vienen dados por la expresión:

$$H/L = \frac{\text{número de unidades de óxido de etileno}}{\text{número de átomos de carbono de la parte lipófila}} \times 100$$

Así, por ejemplo, un alcohol hexadecílico (16 carbonos) combinado con cuatro grupos polioxietilénicos tendría un valor H/L de:

$$H/L = \frac{4 \times 100}{16} = 25$$

El valor H/L de un agente muy lipófilo es aproximadamente 20, y el de otro altamente hidrófilo alrededor de 150.

GREENWALD, BROWN y FINEMAN proponen un método de valoración para determinar el carácter hidrófilo-lipófilo de los agentes tenso-activos y de los aceites, en el cual la disolución, en dioxano-benceno, del agente anfifílico o del aceite se valora con agua hasta un punto final de turbidez, y los resultados se expresan por el número de mililitros de agua añadidos para producir una turbidez pronunciada. Se ha comprobado que los valores de algunos ésteres de alcoholes polihidroxiados, obtenidos por este método, se podían equiparar con los valores HLB de Griffin.

Tabla 3 Comparación de las distintas clasificaciones hidrófilas-lipófilas.

Sustancia anfifílica	HLB	H/L	Resultados de la valoración con el agua
OPE ₁	3,5	7,1	13,8
OPE ₂	7,8	21,4	16,7
Triton X-45.....	10,3	35,7	18,4
Triton X-114.....	12,3	53,7	21,4
Triton X-100.....	13,5	69,3	23,0
Triton X-102.....	14,5	87,9	23,6

En la tabla 3 se expone una comparación de los tres sistemas de clasificación estudiados para algunos compuestos de las series Triton (alcoholes alquilarilpoliéter) y OPE (octilfenil polioxietileno) de Rhom y Haas. El subíndice de los compuestos OPE indica el número de moles de óxido de etileno unidos al radical alquifenílico.

Agentes humectantes. Los agentes tensoactivos han encontrado aplicación práctica como agentes mojadores o humectantes, dispersantes, defloculantes, detergentes, emulsificadores, suspensores y solubilizantes. Cualquier tensoactivo presenta todas

estas propiedades en algún grado, pero, en general, domina una de ellas sobre las demás, lo cual hace que se restrinja el empleo de cada agente a una aplicación determinada.

Un agente humectante es un tensoactivo que, cuando se disuelve en el agua, hace disminuir el ángulo de contacto y ayuda a desplazar la fase aérea de la superficie, reemplazándola por otra líquida. Entre los muchos ejemplos de aplicación en farmacia y medicina de la acción mojante se encuentran: el desplazamiento del aire de la superficie del azufre, carbón y otros polvos con el fin de alcanzar la dispersión de estos medicamentos en los vehículos líquidos; la separación del aire de la matriz de los algodones y vendajes, con objeto de que las disoluciones medicinales puedan ser adsorbidas por aquéllos para así poder aplicarlas a las diferentes partes del cuerpo; la eliminación del polvo y suciedad de las heridas mediante el uso de detergentes en los lavados de los mismos; y la aplicación de lociones y pulverizaciones medicinales a la superficie de la piel y a las membranas mucosas.

La acción más importante de un agente humectante es la de disminuir el ángulo de contacto entre el líquido y la superficie en que se apoya, entendiendo por ángulo de contacto el ángulo que existe entre la superficie de una gotita líquida y la superficie sobre la cual se encuentran. Como se observa en la figura 10, el ángulo de contacto entre un líquido y un sólido puede variar desde 0° , señal de que el líquido moja completamente al sólido, hasta aproximarse a 180° .

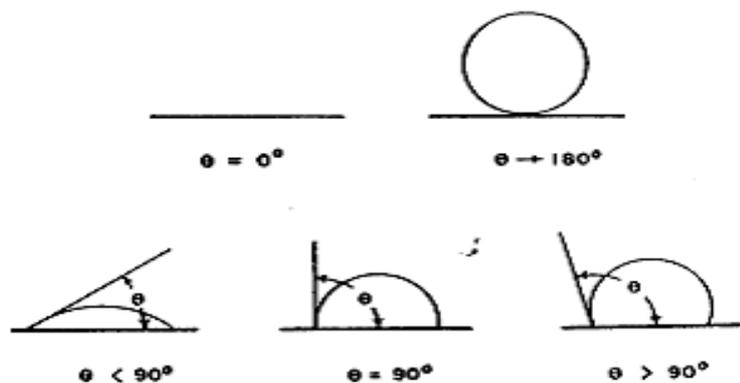


Figura 10. Ángulos de contacto desde 0 hasta 180 grados.

Cuando la acción mojante es insignificante; pudiendo también presentar cualquier valor intermedio entre estos límites, como se señala en esta figura 10, el ángulo de contacto que se forma entre una gota de agua y una superficie grasienta es debido a

que este líquido, al aplicarlo sobre la citada superficie, la moja de forma incompleta, pero cuando se coloca la gota de agua sobre una superficie de vidrio muy limpia, aquélla se extiende espontáneamente, no existiendo ángulo de contacto alguno, éste resultado puede interpretarse asignando al agua sobre el vidrio un coeficiente de extensión elevado o estableciendo que el ángulo de contacto entre el agua y el vidrio es cero. Si al agua se le añade un agente humectante apropiado, la disolución se extenderá espontáneamente sobre una superficie, aunque esté engrasada. Para que un agente humectante actúe con eficacia, es decir, para que presente un ángulo de contacto pequeño, deberá tener un valor HLB alrededor de 6 a 9.

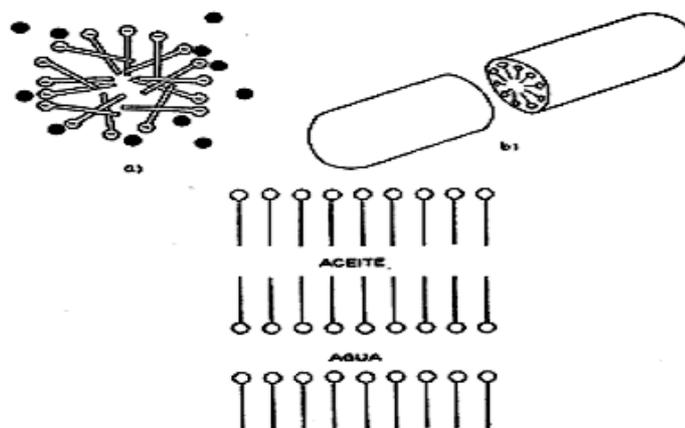


Figura 11. Tipos de micelas: a) esférica b) forma de salchicha y c) forma laminar.

Agentes solubilizantes. Cuando un tensoactivo se disuelve o se dispersa en un líquido, aquél queda adsorbido en la superficie de éste. Pero si la concentración de tensoactivo es elevada, existirá un exceso de éste que no puede ser adsorbido en la superficie del líquido y que ha de permanecer en él formando agregados moleculares coloidales, denominados micelas. Algunos autores estiman que estas micelas, corrientemente formadas por 50 a 150 moléculas o iones del agente tensoactivo, se encuentran en la disolución acuosa en forma esférica, cilíndrica (tipo salchicha) o incluso en forma de placas laminares con las porciones hidrocarbonadas no polares orientadas hacia el centro de la micela. Estas diferentes formas están esquematizadas en la figura 11.

WINSOR ha sugerido la existencia, en la disolución, de un equilibrio intermicelar entre las micelas esféricas y las laminares.

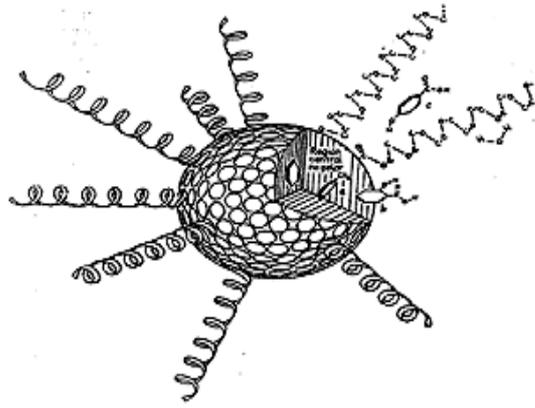


Figura 12. Representación idealizada de una micela esférica.

Los agentes solubilizantes son compuestos anfifílicos que permiten preparar disoluciones acuosas, de concentración un tanto elevada, de sustancias inmiscibles o parcialmente miscibles con el agua. El empleo de agentes solubilizantes en farmacia no es reciente, pues ya en 1892, dos farmacéuticos, ENGLER y DIECKHOF, solubilizaron un gran número de compuestos en disoluciones jabonosas.

El cresol, que solamente es soluble en agua en una proporción de alrededor del 3%, se disuelve en una disolución jabonosa hasta en un 50%, dando lugar a un producto denominado disolución jabonosa de cresol. Probablemente, lo que ocurre es que los hidrocarburos no polares se disuelven en el interior de las micelas del agente tensoactivo, mientras que las moléculas de las sustancias parcialmente miscibles en agua, como es el caso del cresol, se orientan con la parte no polar hacia el interior de la micela y la porción polar entre la capa de las cadenas del tensoactivo que sobresalen en la fase acuosa circundante de la micela, la cual recibe el nombre de capa empalizada.

En la figura 12 está representada esquemáticamente, en forma idealizada, una micela esférica de un agente solubilizante no iónico, monoestearato de polioxietileno, y las posiciones relativas de las diferentes sustancias solubilizadas en ellas. El esquema ha sido hecho de acuerdo con la sugerencia de REICH, según la cual una micela no iónica puede representarse como una gotita minúscula de aceite, formada por las proporciones hidrocarbonadas de las moléculas del agente tensoactivo, con los tentáculos ondulantes de polioxietileno sobresaliendo de la superficie de la gotita. En esta figura, la molécula de benceno y la de tolueno, no polares, están representadas como solubilizadas en el interior hidrocarbonado de la micela; la del ácido salicílico,

con más carácter polar, se encuentra orientada con la parte no polar de la molécula dirigida hacia la región central de la micela y el grupo polar hacia las cadenas hidrófilas, cuyas espirales están sumergidas en el medio acuoso y finalmente, la del ácido parahidroxibenzoico, molécula predominantemente polar, se encuentra completamente dentro de la región empalizada, es decir, entre las cadenas hidrófilas.

La solubilización ha sido empleada en farmacia para preparar esencias, preparados resinosos y de alquitrán de hulla, fenobarbital, sulfonamidas, vitaminas, hormonas y colorantes. O'MALLEY y Col. investigaron la acción solubilizante, en el agua, del Tween 20 (Atlas Powder Co.), sobre la esencia de menta piperita y presentaron sus resultados en forma de diagrama triangular, como se muestra en la figura 13, comprobando que al añadir gradualmente agua en una mezcla 50:50 de esencia de menta y Tween 20, el sistema pasaba de ser una mezcla homogénea (región I) a un gel viscoso (región II), pero añadiendo sucesivas cantidades de agua se formaba, de nuevo, una disolución clara (región III), que luego se separaba en dos capas (región IV). Esta sucesión de cambios corresponde a los resultados que se obtendrían al diluir un concentrado de esencia de menta en el proceso de mezcla y preparación del medicamento. Por tanto, los análisis de este tipo pueden proporcionar al investigador farmacéutico orientaciones importantes para la formulación de los sistemas de medicamentos solubilizados.

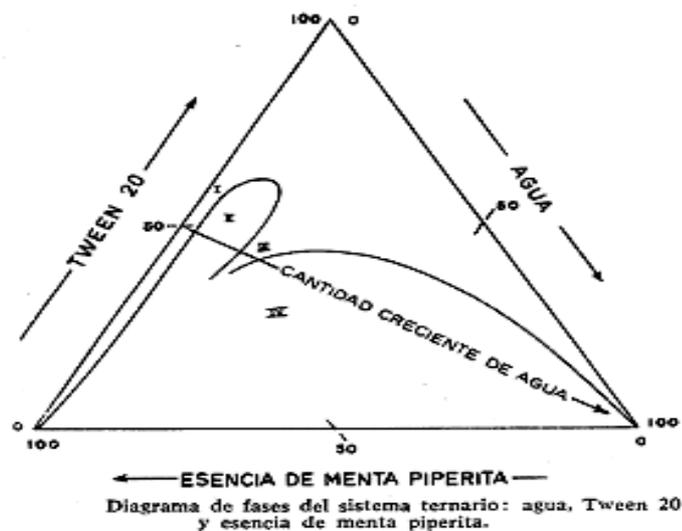


Figura 13. Diagrama ternario de la Esencia de Menta.

Agentes espumantes y antiespumantes. Muchas disoluciones de agentes tensoactivos producen espumas estables cuando se mezclan íntimamente con el aire.

La espuma es una estructura relativamente estable formada por bolsas o burbujas de aire encerradas en el interior de películas delgadas de líquido, es decir, una dispersión de un gas en un líquido que se estabiliza por medio de un agente espumante. La espuma se disipa o deshace a medida que se va eliminando el líquido de la zona que rodea a las burbujas de aire, pues finalmente la película líquida colapsa. Los agentes antiespumantes, como el alcohol, éter, aceite de ricino y algunos agentes tensoactivos pueden emplearse para destruir la espuma. Las espumas tienen, algunas veces, aplicaciones farmacéuticas, pero, en general, son incómodas y cuando es posible se evitan o destruyen. El inconveniente de la formación de espuma en las preparaciones farmacéuticas de líquidos solubilizados constituye un serio problema en la formulación.

Detergentes. Los detergentes son agentes tensoactivos que se emplean para separar la suciedad de cualquier tipo de superficie. La detergencia es un proceso complejo, por el cual se separan las sustancias extrañas de las superficies, en el que están incluidas muchas de las acciones características de los agentes tensoactivos específicos, como el mojar, inicialmente, la suciedad y la superficie que va a ser limpiada, la defloculación y suspensión, la emulsificación o solubilización de las partículas de suciedad y, algunas veces, la formación de la espuma para extraer y eliminar las partículas extrañas. Teniendo en cuenta que un detergente posee una combinación de diversas propiedades, su eficacia se comprueba mejor mediante ensayos reales practicados sobre los materiales que se desean limpiar. (19)(20)(21)(22)(23)

1.9.1 FORMACIÓN MICELAR

Cuando la estructura molecular de un compuesto es tal que su molécula contiene partes solubles en agua y otras insolubles, el comportamiento del compuesto frente al disolvente cambia, ya que no se distribuye uniformemente en el disolvente, siendo su concentración en la superficie de éste y en sus proximidades, mayor que en el resto del líquido.

Los tensoactivos debido a su estructura polar-apolar de su molécula presentan este fenómeno y disminuyen la tensión superficial del agua en concentraciones por debajo de la concentración en la que el tensoactivo ha cubierto la totalidad de la superficie.

Arriba de esta concentración las moléculas de tensoactivo se dirigen hacia al interior del líquido formando agregados de moléculas sencillas de tensoactivos resultando una estructura con una orientación específica de alto peso molecular a partir de la cual se observan cambios bruscos en las propiedades fisicoquímicas como en su conductividad, presión osmótica, turbidez, tensión superficial. A esta concentración a la cual se da este cambio se le llama concentración micelar crítica (CMC).

MEDICION DE LA CMC: para la determinación de esta concentración, tan importante de determinar, se puede acudir a la medición de tensión superficial. Se puede utilizar cualquiera de los métodos conocidos: pesada de la gota, ascenso capilar, tensiómetro de DuNouy.

Medición de la Conductividad. Un método muy utilizado para la determinación de valores de CMC de tensoactivos iónicos es por medio de la conductividad. La conductividad específica se incrementa con menor velocidad arriba de la CMC, sobretodo de la inclusión de iones contrarios (Na^+ en el caso de DSS o lo que es lo mismo dodecil sulfato de sodio) en la micela, reduciendo por ello esta contribución a la conductividad y decrece la carga micelar efectiva. La CMC se obtiene de la gráfica: conductividad equivalente Vs., la raíz cuadrada de la concentración.

Medición por cambio de espectro de un colorante. Este método mide la absorbancia emitida por el colorante naranja de acridina (NA) en varias concentraciones de dodecil sulfato de sodio (DSS) en solución. En la región cercana a la CMC del DSS se encuentra de pronto, un cambio de absorbancia en la solución. La absorbancia se mide a 500 nm de longitud de onda en el espectrofotómetro.

(19)(21)(25)(26)

1.9.2 CLASIFICACIÓN DE TENSOACTIVOS

La clasificación se fundamenta en el poder de disociación del tensoactivo en presencia de un electrolito y de sus propiedades fisicoquímicas. Pueden ser iónicos o no-iónicos; y dentro de los iónicos según la carga que posea la parte que presenta la actividad de superficie serán aniónicos, catiónicos o anfóteros.

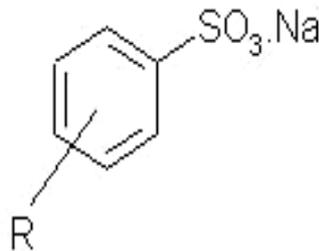
Los iónicos, con fuerte afinidad por el agua, motivada por su atracción electrostática hacia los dipolos del agua puede arrastrar consigo a las soluciones de cadenas de

hidrocarburos, por ejemplo el ácido palmítico, prácticamente no ionizable es insoluble, mientras que el palmitato sódico es soluble completamente ionizado.

Dentro de los que se ionizan en agua, se encuentran:

Los tensoactivos Aniónicos. En solución se ionizan, pero considerando el comportamiento de sus grupos en solución, el grupo hidrófobo queda cargado negativamente.

Fórmula general:



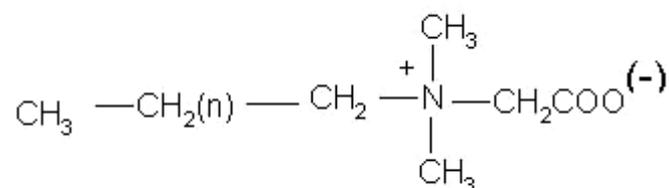
Están constituidos por una cadena alquílica lineal o ramificada que va de 10 a 14 átomos de carbono, y en su extremo polar de la molécula se encuentra un anión. Representantes de este grupo son derivados del ión sulfato o de sulfonatos como es el dodecil sulfato de sodio o dodecil bencen sulfonato de sodio.

Los Tensoactivos Catiónicos: Son aquellos que en solución forman iones, resultando cargado positivamente el grupo hidrófobo de la molécula.

Como representante de este grupo se encuentra el Bromuro de Cetil Amonio; en general, son compuestos cuaternarios de amonio o una amina grasa en medio ácido.

Los Tensoactivos Anfóteros ó anfotéricos: Como su nombre lo indica, actúan dependiendo del medio en que se encuentren, en medio básico son aniónicos y en medio ácido son cationicos.

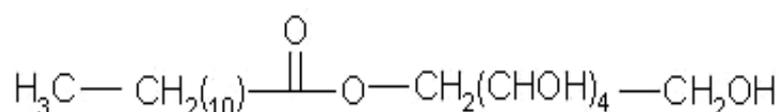
Fórmula: Alquil Dimetil Betaina



Tensoactivos No-iónicos: Los surfactantes o tensoactivos no-iónicos son aquellos que no pueden ionizarse, se solubilizan mediante un efecto combinado de un cierto número de grupos solubilizantes débiles (hidrófilos), tales como enlace tipo éter ó grupos hidroxilos en su molécula.

Como representantes están los alcoholes grasos o fenoles a los que se les agregan una o varias moléculas de óxido de etileno; ejemplo de ellos el nonil fenol etoxilado o el nonanol etoxilado.

Fórmula: Laurato de sorbitán



Las propiedades generales y comportamiento de los agentes tensoactivos se deben al carácter dual de sus moléculas (grupo hidrófilo y lipófilo); es así como el antagonismo entre estas dos secciones de su molécula y el equilibrio entre ellas es la que da al compuesto sus propiedades activas de superficie.

El grupo hidrófilo ejerce un efecto solubilizante y tiende a llevar a la molécula a disolución completa. El grupo hidrófobo, en cambio, debido a su insolubilidad tiende a contrarrestar la tendencia del otro. Si se logra el equilibrio adecuado entre los dos grupos se ve que la sustancia no se disuelve por completo, ni queda sin disolverse del todo, concentrándose en la interfase con sus moléculas orientadas de tal forma que los grupos hidrófilos se orientan hacia la fase acuosa, mientras que los hidrófobos hacia la no acuosa o a la fase vapor. (19)(20)(22)(23)(27)

1.9.3 CONSTITUCIÓN QUÍMICA

Todos los agentes de superficie activa o tensoactivos contienen en su molécula, uno o varios grupos hidrofílicos, de tipo iónico y no iónico y generalmente una estructura hidrocarbonada lipofílica no polar.

Es importante examinar algunos de los tipos más usuales de grupos lipofílicos y hidrofílicos que intervienen en la mayoría de los agentes tensoactivos comerciales.

Grupos Lipofílicos: La parte lipofílica de la molécula puede estar constituida por una variedad de estructuras alifáticas o alifático-aromáticas, puesto que las materias primas utilizadas en su preparación son hidrocarburos alifáticos saturados o insaturados, ramificados o lineales e hidrocarburos aromáticos formados por anillos simples o condensados. Dentro de estos grupos alquílicos, los de mayor uso en la industria de productos de superficie activa, son los de cadena ramificada ya que tienen la ventaja de ser biodegradables lo que no ocurre con los lineales.

- 1) Cadenas alquílicas lineales de C_8 a C_{18} derivados de ácidos grasos naturales. Estos se pueden usar como tal, o como intermediarios de síntesis de agentes tensoactivos.
- 2) Cadenas alquílicas de C_3 a C_6 frecuentemente unidos a núcleos aromáticos como benceno o naftaleno.
- 3) Cadenas alquílicas olefinicas de C_8 a C_{18} o más, obtenidas por polimerización de propeno, isobuteno e isómeros de penteno y hexeno. Estas olefinas se utilizan ampliamente en la alquilación de fenol y benceno.
- 4) Hidrocarburos lipofílicos derivados del petróleo, en el rango de C_8 a C_{20} o más, a partir de fracciones de querosina, aceites ligeros y ceras de parafina.
- 5) Obtención de alcoholes de alto peso molecular, por el proceso "oxo".

GRUPOS HIDRÓFILOS: Los grupos hidrófilos pueden estar cargados eléctricamente, debido a la presencia de un par de iones de carga opuesta, o presentar cargas residuales, positivas o negativas que ponen de manifiesto la presencia de un dipolo. Es importante tomar en consideración los grupos hidrofílicos no-iónicos, conteniendo uniones etéreas, hidroxilos etc.

- a) Grupos ácidos, como carboxilos, monoester sulfúrico, sulfónicos, fosfatos.
- b) Grupos básicos, como aminas primarias, aminas secundarias, aminas terciarias, derivados de amonio cuaternario.
- c) Grupos no-iónicos : $-\text{COO}^-$, $-\text{CONH}^-$, $-\text{NH}^-$, $-\text{O}^-$, $-\text{CH}(\text{OH})^-$.

Los agentes tensoactivos aniónicos: Están caracterizados por la existencia en su molécula de cationes orgánicos e inorgánicos (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} , NH_4^+) y una parte hidrofílica que contiene los grupos aniónicos ($-\text{COO}^-$, $-\text{SO}_3^-$, $-\text{O}^-$, PO_3^{2-} etc.), unido a la fracción orgánica.

Dentro de esta clasificación, exceptuando los jabones, los alquilaril sulfatos y alcoholes sulfatados son de la mayor importancia por su empleo en la formulación de detergentes de uso doméstico e industrial.

Además de los productos anteriores, podemos citar otros agentes de superficie activa aniónica:

* Tipo sulfonato - SO_3^- ejemplos: alquil bencensulfonato de sodio, alquil sulfonato de sodio, alfa olefin sulfonato de sodio.

* Tipo sulfato - O, - SO_3^- ejemplos: alquil sulfato de sodio, alquil etersulfato de sodio, monoglicérido sulfato de sodio, nonilfenileter sulfato de sodio.

* Tipo fosfato - O, - P, - O_3^{2-} ejemplos: alquil fosfato de sodio, ácido oleileter fosfórico alquil eter fosfato de sodio.

*Tipo sulfosuccinatos - CO, - CH_2 , - CH, - SO_3^- , - CO_3^- , ejemplos: alquileter sulfosuccinato de sodio, alquilmonoetanolamidasulfosuccinato disódico, dialquilsulfosuccinato de sodio.

* Tipo sulfoacetato ejemplo: lauril sulfoacetato de sodio $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_n - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{CO} - \text{CH}_2 - \text{SO}_3^- \text{Na}^+$.

* Tipo derivados de aminoácidos ejemplo: n-lauril sarcocinato de sodio, alquilamido polipeptidato de sodio. (27)(29)(30)(31)(32)

1.9.4 AGENTES TENSOACTIVOS CATIONICOS

El término "surfactante catiónico" se refiere a los compuestos que contienen por lo menos una cadena de 8 a 25 átomos de carbono, derivada de un ácido graso o de un derivado petroquímico y un nitrógeno cargado positivamente, el anión suele ser un Cl^- , Br^- , OH^- , SO_4^{2-} .

La mayoría de los agentes catiónicos están constituidos por una cadena larga de sales de amonio cuaternarios o sales de alquilaminas. La cadena larga constituye el grupo hidrofóbico, en tanto que el hidrofílico pequeño y altamente ionizado, lo constituye el nitrógeno tetravalente en forma de sales de amonio cuaternario. Estos surfactantes son

de menor interés que los agentes aniónicos y no-iónicos pero reside su importancia por su eficiencia bactericida, germicida, algicida etc.

En el catión, el radical R, representa la cadena larga (grupos alquílicos o arílicos); los otros radicales pueden estar reemplazados por átomos de hidrógeno u otros radicales alquílicos. Como ejemplos podemos citar: cloruro de alquil dimetilbencilamonio, cloruro de cetil trietil amonio. (30)(32)(33)(34)

1.9.5 AGENTES TENSOACTIVOS NO-IÓNICOS

El término "surfactante no-iónico" se refiere principalmente a los derivados polioxietilenados y polioxipropilenados, también se incluyen en esta categoría los derivados de anhídridos del sorbitán alcanolamidas grasas etc.

Los surfactantes no-iónicos tienen la ventaja de que son estables con la mayoría de los productos químicos en las concentraciones usuales de empleo. Al no ionizarse en agua, no forman sales con los iones metálicos y son igualmente efectivos en aguas blandas y duras. Su naturaleza química los hace compatible con otros tensoactivos aniónicos, catiónicos y coloides cargados positiva y negativamente. Estas características, los hace valiosos como materia prima para la formulación de diversos productos industriales como:

Agricultura: concentrados emulsionables y polvos mojables.

Látex: emulsionantes primarios y co-emulsionantes.

Curtido: desengrase, teñido, engrasado.

Textiles: mercerizado, blanqueado, teñido, descrude.

Procesos de metales: limpiadores alcalinos.

Pinturas en emulsión: humectación y dispersión de pigmentos.

Petróleo: tratamiento de pozos de gas, aditivos para lodos de perforación.

Pulpa y papel: lavado de pulpa, desentintado de papel, humectantes y suavizantes.

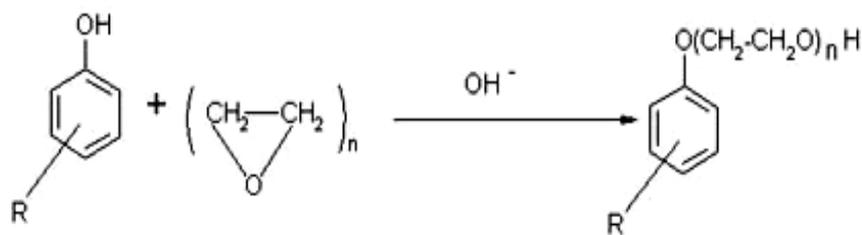
Química: intermediario de síntesis de otros surfactantes aniónicos y catiónicos.

Limpiadores en general: limpiadores de pisos, detergentes de lavandería combinados en pequeña proporción con los tensoactivos aniónicos.

En los agentes no-iónicos el grupo hidrofóbico está formado por una cadena larga que contienen una serie de grupos débilmente solubilizantes (hidrofilicos), tales como enlaces etéreos o grupos hidroxilos en sus moléculas. La repetición de estas unidades débiles tiene el mismo efecto que un hidrófilo fuerte, pero no hay ninguna ionización.

Los primeros tensoactivos no-iónicos se obtuvieron en Alemania en 1930, por reacción de alcoholes grasos o alquifenoles sustituidos con óxido de etileno en presencia de catalizadores básicos.

La longitud de la cadena se puede variar controlando la reacción de óxido de etileno a alquifenol sustituido como se indica en la siguiente reacción:



"n" puede ser de 15 a 30 o más carbonos. Esto hace posible una variedad de productos de diferentes propiedades y aplicaciones como humectante, detergente, emulsionante, dispersante etc. Prácticamente, cualquier compuesto hidrofóbico que contenga un su estructura grupos hidrofílicos, hidroxilos, aminos, o aminos con un hidrógeno lábil puede reaccionar con óxido de etileno para formar tensoactivos no-iónicos.

Como ejemplo de ellos pueden ser:

Alcoholes grasos polioxietilenados: alcohol láurico etoxilado, alcohol oleílico.

Alquil fenol polioxietilenados: nonilfenol etoxilado.

Acidos grasos polioxietilenados: ácido oleico etoxilado.

Derivados de óxidos de etileno y propileno: alcohol graso etoxilado ó propoxilado.

Amidas de ácidos grasos polioxietilenados: lauril dietanolamida polioxietilenada.

Aminas grasas polioxietilenadas : laurilamina polioxietilenada.

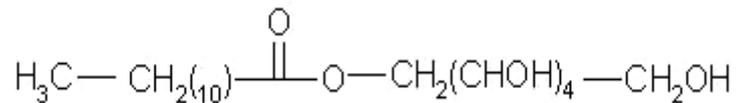
Esteres de ácidos grasos: monoestearato de etilenglicol.

Alcanolamidas: lauril monoetanolamida.

Derivados de azúcar: monolaurato de sacarosa.

Esteres de ácidos grasos derivados del sorbitol: laurato de sorbitán. (33)(34)(36)

Fórmula :



1.9.6 AGENTES TENSOACTIVOS ANFOTERICOS

Presentan en su molécula grupos aniónicos y catiónicos, constituidos por una cadena grasa y un nitrógeno cuaternario conteniendo un radical aniónico, son productos completamente estables en sistemas ácidos y alcalinos, son básicos en el área cosmética por su inocuidad a la piel, también tienen aplicación en inhibidores de la corrosión y en neutralización de cargas.

Ejemplo de ellos son las betaínas y derivados de imidazolinas: alquil dimetil betaína, alquil amida propil dimetil betaína.

Finalmente cabe mencionar otra clasificación elaborada por el comité internacional de la detergencia en base decimal, que considera los siguientes aspectos:

- * grupo hidrófilo determinante.
- * grupo hidrófobo determinante.
- * caracteres complementarios de la parte hidrófoba.
- * caracteres complementarios del grupo hidrófilo determinante. (37)(38)

1.9.7 TRITON X-100 (SURFACTANTE- TENSOACTIVO)

Triton[®]-X 100 Surfactante no iónico: Fórmula molecular: $C_{14}H_{22}O(C_2H_4O)_n$ donde el número promedio de unidades de óxido de etileno se estima en 9 o 10 CAS #: 9002-93-Sinónimos: octil fenol etoxilato, polioxietilen Octil fenil eter.

Aspecto: Líquido.

Solubilidad: Agua, alcohol etil isopropílico, tolueno, xileno y la mayoría de los solventes clorados. pH: 4.0 a 6.0 en solución acuosa al 5%.

El surfactante no iónico Triton-X 100 tiene muchas aplicaciones en un amplio intervalo de disciplinas. Como agente humectante en los laboratorios de histología y microscopía, se emplea como solución diluida para humectar durante algunos protocolos de tinción y también es empleado durante la limpieza de cuchillas de diamante.

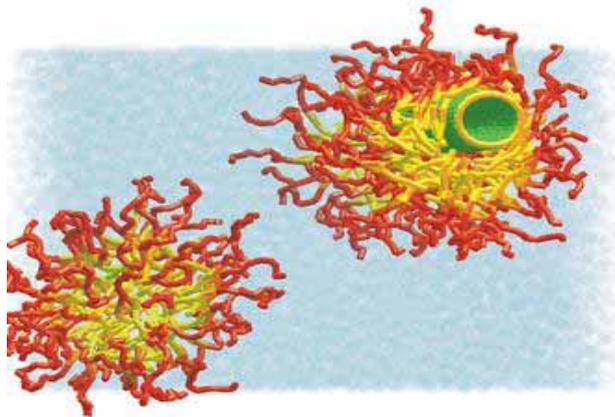


Figura 14. Simulación granulada del Triton X-100 (grupos hidrófobos en amarillos, grupos hidrófilos en rojo) a un mismo congregado en una micela esférica (ditizona micelar vista por fuera) y en una micela de ditizona mostrada en verde, a su centro (ditizona micelar vista por dentro).

En el campo de ciencias de la vida, es frecuentemente usado como un auxiliar de disolución para proteasa en agua; no obstante debe ser usado a la concentración mínima posible con el objeto de no contaminar las muestras, lo que generaría un efecto negativo en la determinación de trazas en espectroscopía de masas de la solución resultante.

Es también comúnmente usado en algunas formulaciones para polimerización de emulsiones.

Información general: Como surfactante aniónico, también puede ser usado como detergente. Se le considera un agente 100% activo y biodegradable en forma líquida. Tiene numerosos usos generales como agente humectante, emulsificador o como detergente suave. (38)(39)

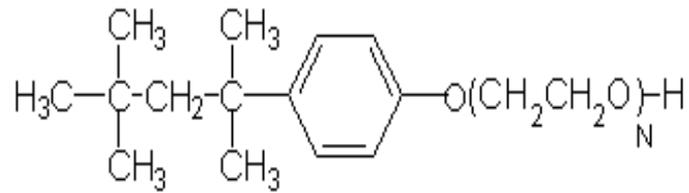


Figura 15. Estructura del Triton X-100.

CAPITULO II

2 DESARROLLO EXPERIMENTAL:

2.1 FUNDAMENTO DE LA REACCIÓN

La ditizona (difeniltiocarbazona) es un compuesto verde, soluble en disolventes orgánicos no polares e insoluble en agua. Forma complejos hidrófobos rojos con la mayoría de los iones metálicos di y trivalentes. La ditizona se usa mucho en extracciones analíticas, para determinaciones colorimétricas de iones metálicos y para eliminar trazas de metales de tampones acuosos.

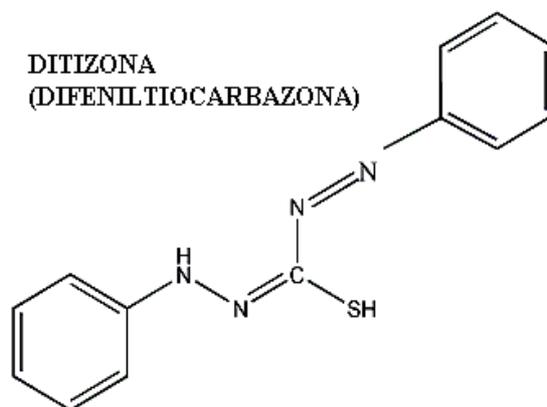


Figura 16. Estructura de la Ditizona.

Desarrollo de un método de química “verde”

Los procedimientos químicos que producen menos residuos o residuos menos peligrosos se llaman “verdes” porque reducen los efectos perjudiciales para el medio ambiente. En los análisis químicos con ditizona se puede sustituir la fase orgánica (que ha sido tradicionalmente cloroformo, CHCl_3) por micelas acuosas para prescindir de un disolvente clorado y de la tediosa extracción.

En la Figura 17 se muestra la reacción general que ocurre cuando dos moléculas de la ditizona reaccionan o se complejan con una molécula del metal pesado, para fines didácticos se muestra el plomo, pero esto mismo ocurre con el resto de los metales pesados.

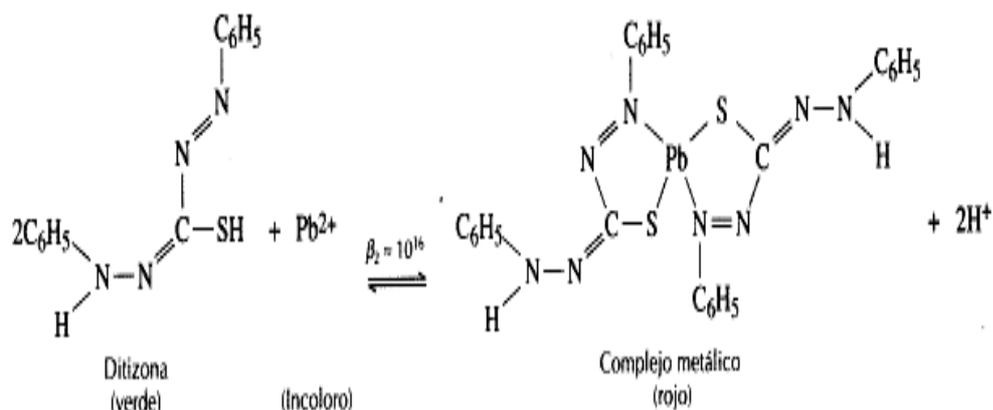


Figura 17. Reacción General de ditizona con un metal.

Este cambio en el color de la ditizona es el que se mide espectrofotométricamente a una longitud de onda de 512 nm.

En este trabajo para la determinación de metales pesados se inyectó la muestra en un buffer de pH conocido en la configuración FIA propuesta y se hizo confluir con un flujo de ditizona micelar. (38)(39)

2.2 METODOLOGÍA:

2.2.1 REACTIVOS

Todos los reactivos usados en este trabajo, fueron grado analítico. A continuación se mencionan los datos de cada uno de ellos.

Ditizona. Sigma, CAS 60-10-6 , $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{S}$, PM: 256.33, Lote: 085k1362.

Nitrato de cadmio tetrahidratado, Baker, $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, PM: 308.47, Lote: 033100.

Acetato de plomo trihidratado, Baker, $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, PM: 379.35, Lote: 35536.

Cloruro de Mercurio, Sigma – Aldrich, CAS 7487-94-7, HgCl_2 , PM: 271.5, Lote: 095k028.

Triton X-100, Merck Lote: 1226-11.

- Estándar certificado de mercurio, disolución espectrofotométrica de mercurio para análisis en FIA, Merck, 1000 mg/L \pm 0,00001% Lote: A7045027.

- Estándar certificado de plomo, disolución espectrofotométrica de plomo para análisis en FIA, Merck, 1000mg/L \pm 0,00001% Lote: BE3475609.
- Estándar certificado de cadmio, disolución espectrofotométrica de cadmio para análisis en FIA, Merck, 1000mg/L \pm 0,00001% Lote: A7639475.
- Hidróxido de amonio 28.0-30.0% Lote: y41c19.
- Ácido clorhídrico 36.5-38.0 % Lote: v10c22.
- Ácido sulfúrico Lote: x02c08.
- Ácido acético glacial.
- Ácido nítrico Lote: t45C04.
- Fosfato de potasio monobásico, Mallinckrodt Analytical Reagent, CAS- 7778-77-0, KH_2PO_4 PM= 136.09, Lote: 7100V01D06.
- Hidróxido de potasio, Reactivos analíticos Reasol.
- Agua destilada.
- Agua deionizada.

2.3 DISOLUCIONES:

2.3.1 DITIZONA MICELAR

Para preparar 100 mL de ditizona micelar se pesó con precisión 0.005 gramos de ditizona, posteriormente se pesaron en el mismo contenedor 3.5 gramos de tritón X-100 (el tritón es líquido por lo tanto se pesan aproximadamente 4 a 5 mililitros de tritón, lo cual es equivalente a los 3.5 gramos), después se calentó esta mezcla a 50 ± 10 ° C con agitación magnética, hasta observar que la ditizona se mezcló homogéneamente y se incorporó al tritón (esta mezcla toma un color rojo intenso). Posteriormente se agregaron 80 mL de agua destilada y se agitó en frío hasta que la disolución resultante tomara una coloración verde intenso, se dejó enfriar y se aforó con agua destilada a 100 mL. Cabe mencionar que la ditizona micelar no siempre toma la misma coloración, esto depende de la temperatura de calentamiento, pH resultante y de la exactitud con la que se pesen los reactivos, por ello es importante cuidar los parámetros como son el pH, la temperatura y el tiempo de exposición para

no desnaturalizar la ditizona micelar. Al mezclar la ditizona con el buffer de pH 3 en la configuración FIA utilizada en las determinaciones de metales totales; esta toma una coloración uniforme y siempre es de color verde intenso (verde esmeralda), mientras que para la prueba límite de mercurio a pH 0 es de color amarillo ámbar (esta tonalidad la adquiere solo cuando se trata con la disolución amortiguadora de Nítrico-Sulfúrico).

2.3.2 DISOLUCIONES MADRE DE METALES PESADOS (ESTÁNDERES)

Disolución de 1000 mg/L de Mercurio (Hg): para preparar 100 mL de la disolución madre de mercurio se pesaron con precisión 0.1353 gramos de Cloruro de Mercurio, esto se llevó a un matraz volumétrico y se aforó con agua destilada a 100 mL.

Disolución de 1000 mg/L de Plomo (Pb): para preparar 100 mL de la disolución madre de plomo se pesaron con precisión 0.1833 gramos de Acetato de plomo tri hidratado, esto se llevó a un matraz volumétrico y se aforó con agua destilada a 100 mL.

Disolución de 1000 mg/L de Cadmio (Cd): para preparar 100 mL de la disolución madre de cadmio se pesaron con precisión 0.2744 gramos de Nitrato de Cadmio, esto se llevó a un matraz volumétrico y se aforó con agua destilada a 100mL.

Nota: antes de llevar al aforó final, es necesario observar que las sales correspondientes a cada una de las disoluciones anteriores se encuentren disueltas totalmente; si se observa turbidez u opalescencia en las disoluciones, es necesario agregar unas gotas (cuatro o cinco) de HCl 1 M agitar hasta observar una disolución translúcida y cristalina y llevar al aforo final con agua destilada.

2.3.3 DISOLUCIONES DE ESTÁNDARES CERTIFICADOS DE METALES PESADOS

Disolución estándar de 20 mg/L de Mercurio (Hg), plomo (Pb) y Cadmio (Cd): como la concentración de los estándares certificados de metales pesados tienen la misma concentración se sigue el mismo procedimiento para preparar la disolución estándar de 20 mg/L para cada metal según sea el caso, partiendo de la disolución

estándar de 1000 mg/L correspondiente se toma 1 mL y se lleva a un matraz volumétrico de 50 mL, que se aforó con agua desionizada, obteniendo una solución de 20 mg/L. Con estas soluciones se realizaron las pruebas de repetibilidad, reproducibilidad y exactitud, haciendo la dilución correspondiente para obtener la concentración deseada para dichas pruebas.

2.3.3 DISOLUCIONES AMORTIGUADORAS

pH 0 Conc. 0.1 M: para preparar 500 mL se toman 25 mililitros de una mezcla (1:1) de ácido nítrico-sulfúrico V/V y se afora a 500 mL con agua destilada. La disolución resultante tiene un pH entre 0.2 - 0.4

pH 3 Conc. 0.1 M: se pesan con precisión 6.8045 gramos de fosfato de potasio monobásico y se colocan en un vaso de precipitados; se le agregan 450 mL de agua destilada y se ajusta el pH con HCl 1 M, posteriormente se afora a 500 mL con agua destilada.

pH 7 Conc. 0.1 M: se pesan con precisión 6.8045 gramos de fosfato de potasio monobásico y se colocan en un vaso de precipitados y se le agregan 450 mL de agua destilada y se ajusta el pH con KOH 1 N, posteriormente se lleva a un matraz volumétrico de 500 mL y se lleva al aforo final con agua destilada. Es importante lavar analíticamente el vaso para no variar la concentración final del buffer.

pH 11 Conc. 0.1 M: se prepara una disolución madre de amonio/amoniaco 1 M, de esta disolución se hace una dilución para obtener una solución de 0.1 M. A esta disolución se le mide el pH resultante y se lleva al pH deseado con una solución de KOH 1N.

2.4 ACIDOS, BASES Y REACTIVOS UTILIZADOS PARA LA EXTRACCIÓN DE METALES PESADOS (DIGESTIÓN DE MUESTRAS)

Para la digestión de las muestras, éstas fueron sometidas a tratamientos de extracción dependientes del pH, ya que si un soluto es ácido o básico, su carga varía cuando cambia el pH. Una especie neutra es más soluble en un disolvente orgánico y una especie cargada es más soluble en disolución acuosa. El pH es muy importante en este

caso ya que se desea tener a los metales pesados con una carga 2^+ y por medio del pH se intenta especiar cada uno de los metales problema, para su posterior detección.

Tabla 4. Preparación de disoluciones de ácidos más comunes utilizados en la parte experimental.

Solución	Concentración mínima (% p/p)	Densidad (g/cm ³)	PM	Molaridad	mL para 1 L 1 M	mL para 1 L 0.1 M
Ácido acético	99%	1,05	60,05	17	58,8	5,9
Ácido acético glacial	100%	1,05	60,05	17,48	57,2	5,7
Amoníaco en solución	35%	0,88	17,03	18	55,6	5,6
Amoníaco en solución	30%	0,89	17,03	15,7	63,7	6,4
Amoníaco en solución	25%	0,91	17,03	13,4	74,6	7,5
Ácido clorhídrico	35%	1,18	36,46	11,6	86,2	8,6
Ácido clorhídrico	32%	1,16	36,46	10,2	98	9,8
Peróxido de hidrógeno	30%	1,1	34,01	9,7	103,1	10,3
Ácido nítrico	69%	1,42	63,01	15,6	64,1	6,4
Ácido nítrico fumante	95%	1,5	63,01	22,6	44,2	4,4
Ácido perclórico	70%	1,7	100,46	12	83,3	8,3
Ácido perclórico	60%	1,54	100,46	9,2	108,7	10,9
Ácido sulfúrico	98%	1,84	98,08	18	55,6	5,6

2.5 TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

2.5.1 METALES TOTALES

Con esta prueba se determina la cantidad de impurezas metálicas que contienen las muestras a analizar determinando la cantidad de metales pesados como se indica a continuación: se pesó una cantidad adecuada de muestra, la cual se determinó en función de la cantidad de muestra con la que se contaba de muestra (ya fuese sólida o líquida) y se transfirió a un vaso de precipitados de 100 mililitros; posteriormente se le agregaron cuidadosamente 3 mililitros de una mezcla de ácido sulfúrico / ácido nítrico (1:1) y se mezcló suavemente mientras se inicia la reacción (digestión), se dejó que la reacción disminuyera hasta observar que la mezcla no emitía burbujas debido a la digestión ácida; una vez finalizada la reacción anterior se agregó con mucho cuidado 1 mL de agua destilada y se agitó la mezcla hasta observar que ésta ya no burbujea, esta operación se repitió hasta haber adicionado 5 mL de agua destilada, después se agregaron 10 mL de agua destilada y se midió el pH con tira reactiva, el pH debe estar entre 1 y 3; posteriormente se agregó gota a gota una disolución de hidróxido de potasio saturada hasta ajustar el pH entre 6 y 7. Una vez ajustado el pH, la mezcla se llevó a un matraz volumétrico de 25 mL y se aforó con agua destilada. Esta disolución final se pasó por el sistema FIA y se determinaron metales totales.

2.5.2 PRUEBA LÍMITE DE MERCURIO

Se transfirió una cantidad adecuada de muestra (sólida o líquida cuyo tamaño, estuvo en función de la cantidad de muestra que se tenía), a un vaso de precipitados de 100 mL, se agregó 2 mL de una mezcla de ácido sulfúrico / ácido nítrico (1:1), se mezcló suavemente mientras iniciaba la reacción (digestión), se esperó que la reacción disminuyera hasta observar que la mezcla no emita burbujas debido a la digestión ácida; una vez finalizada la reacción anterior se agregó con mucho cuidado de 1 a 2 mL de agua destilada y se agitó la mezcla hasta observar que esta ya no emitiera burbujas, esta operación se repitió hasta haber adicionado 8 mililitros de agua destilada, después se llevó la mezcla a un matraz volumétrico de 25 mililitros y se aforo con agua destilada. Esta disolución se pasó por el sistema FIA y se determinó exclusivamente mercurio.

2.6 CONFIGURACIÓN

Evaluación de las condiciones óptimas de trabajo para la determinación de metales pesados con ditizona micelar por FIA.

Para optimizar los parámetros en FIA se siguió el siguiente esquema de trabajo:

Optimización:

Parámetros Químicos

Concentración de la Ditizona en medio acuoso (disolución de ditizona).

Concentración del Surfactante/ tensoactivo (Tritón X-100) necesario para disolver la Ditizona utilizada.

pH

Concentración de la disolución amortiguadora.

Parámetros Físicos e Hidrodinámicos

Longitud de onda.

Caudal (mL/min).

Volumen de Inyección en μL .

Longitud del Reactor en cm.

La siguiente figura 18 muestra la configuración FIA utilizada para estas determinaciones:

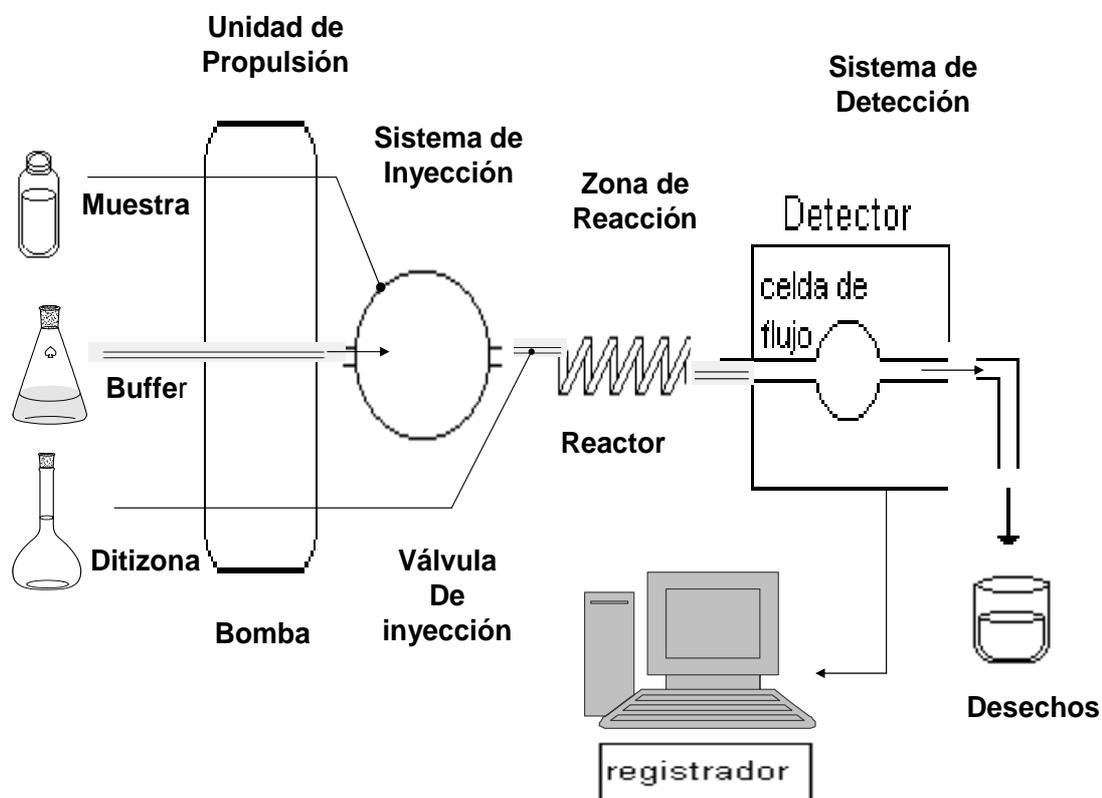


Figura 18. Configuración FIA utilizada para metales pesados totales y prueba límite de mercurio con ditizona micelar.

2.7 ELABORACIÓN DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN PARA MERCURIO, PLOMO Y CADMIO

La capacidad de las técnicas de análisis instrumental para manejar un intervalo amplio de concentraciones de analito significa que se calculan los resultados y se evalúan los errores aleatorios de una manera concreta, que difiere de la que se utiliza cuando se repite una sola medición varias veces. El procedimiento habitual es como sigue: El analista toma una serie de muestras (normalmente de cuatro a cinco, y posiblemente algunas más) en la que se conoce la concentración del analito. Estas calibraciones estándar se miden en el instrumento analítico en las mismas condiciones que las usadas para las muestras problema (es decir, las desconocidas. Una vez que se ha

establecido la gráfica de calibración, se puede obtener la concentración del analito en cualquier muestra problema por interpolación, como se indica en la figura 19.

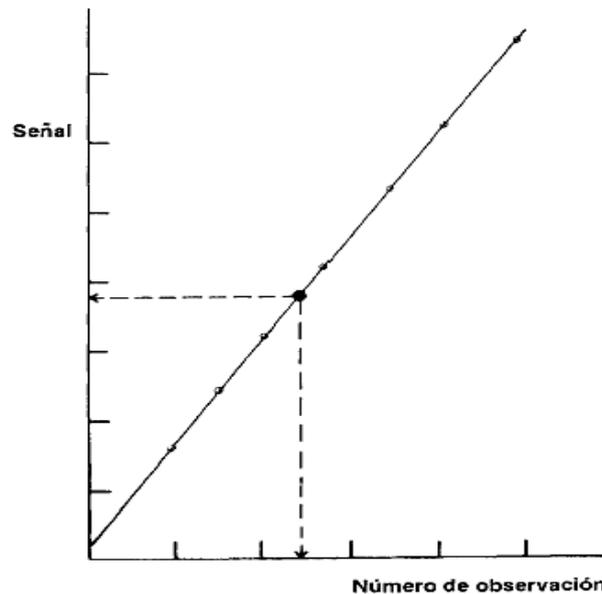


Figura 19. Procedimiento de calibración en análisis instrumental: puntos de calibración (\circ), Muestras (\bullet).

Este procedimiento general plantea varias preguntas estadísticas importantes:

- ¿Es lineal la gráfica de calibración?
- Teniendo en cuenta que cada uno de los puntos de la línea de calibración está sujeto a errores, ¿Cuál es la mejor línea recta que pasa por esos puntos?
- Suponiendo que la calibración es realmente lineal, ¿Cuáles son los errores estimados y los límites de confianza para la pendiente y la ordenada en el origen de la recta?
- Cuando la gráfica de calibración se usa para el análisis de una muestra problema, ¿Cuáles con los errores y los límites de confianza para la concentración determinada?
- ¿Cuáles el límite de detección del método? Esto es, ¿Cuál es la menor concentración de analito que se puede detectar con un nivel de confianza predeterminado?

Se prepararon las curvas de calibración a partir de las disoluciones madre de metales pesados para mercurio, plomo y cadmio, cuyas concentraciones fueron desde 0.5 mg/L a 8 mg/L con un total de 9 puntos para cada curva a pH 3.

De igual modo se preparó la curva de calibración para mercurio a pH 0, partiendo de la disolución madre de mercurio, las concentraciones para esta curva fueron de 0.5 mg/L a 8 mg/L con un total de 9 puntos en la curva. Para elaborar esta curva se trató los puntos de la siguiente forma: se preparo la curva de calibración de la misma forma que para pH 3 solo que aquí se agregó 2 mL de la mezcla de ácido sulfúrico – ácido nítrico (1:1) antes de llevar al aforo final, este tratamiento previo nos asegura la eliminación del plomo y del cadmio que pudieran estar presentes. (17)(18)

2.8 REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD DEL MÉTODO

La precisión es el grado en que concuerdan las diferentes mediciones de una misma propiedad. La precisión puede calcularse tanto para el sistema como para el método. La precisión del método puede expresarse como la reproducibilidad y la repetibilidad. La repetibilidad es la concordancia entre determinaciones independientes de disoluciones con una concentración cercana al 100 % proveniente de una disolución madre. Los ensayos son realizados por un mismo analista y en las mismas condiciones de operación. La diferencia con la reproducibilidad es que los análisis los pueden realizar diferentes analistas en diferentes equipos y/o en diferentes laboratorios.

La repetibilidad es afectada por errores aleatorios, estos errores aleatorios provocan que los resultados individuales caigan a ambos lados del valor medio. Los errores aleatorios no se detectan fácilmente con sólo observar los resultados, sino que también tiene orígenes muy distintos en cuanto a la técnica experimental y al equipo que se utiliza.

Para medir la repetibilidad del método en este trabajo, se realizo la curva de calibración para cada uno de los metales Hg, Pb y Cd a pH 3 y prueba límite de mercurio a pH 0. Cada uno de los puntos de la curva de calibración se determinó por triplicado. Para cada una de las curvas de calibración se inyecto 7 veces una disolución que contenía 4.48 mg/L de cada metal (Hg, Pb y Cd), de estos valores se calculó la media y la desviación estándar. La precisión del método se representó como la desviación estándar relativa (D.E.R.).

Repetibilidad y reproducibilidad entre y dentro de días

Homogeneidad o Análisis de Varianzas: La varianza de los subgrupos ha de ser homogénea $\sigma^2_1 = \sigma^2_2 = \dots = \sigma^2_k$ ya que están debidas al error. Se comprobarán mediante la prueba de ANOVA de un factor como se indica en la siguiente forma:

$$\begin{array}{rcc} \sum \sum (Y_{ij} - \bar{y})^2 & = & \sum \sum (Y_{ij} - \bar{y}_{i.})^2 + n \sum_{i=1}^k (\bar{y}_{i.} - \bar{y})^2 \\ \text{S.C.T.} & = & \text{S.C.I.} \qquad \qquad \qquad + \qquad \text{S.C.E.} \end{array}$$

Donde: S.C.T. = SUMA DE CUADRADOS TOTAL

S.C.I. = SUMA DE CUADRADOS INTRA-GRUPOS (within-groups)

S.C.E. = SUMA DE CUADRADOS ENTRE-GRUPOS (between-groups)

En el caso de NO ser BALANCEADO, no habría una solo n sino k distintos valores.

la descomposición quedaría entonces así:

$$\begin{array}{rcc} \sum \sum (Y_{ij} - \bar{y})^2 & = & \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ij} - \bar{y}_{i.})^2 + \sum_{i=1}^k n_i (\bar{y}_{i.} - \bar{y})^2 \\ \text{S.C.T.} & = & \text{S.C.I.} \qquad \qquad \qquad \text{S.C.E.} \end{array}$$

S.C.T. será la suma de las desviaciones de cada Y_{ij} respecto a la media general \bar{y}

S.C.I. será la variación total de las observaciones alrededor de cada una de las medias muestrales

S.C.E. será la variación de las medias muestrales de cada grupo alrededor de la media general

SI DIVIDIMOS LA DESCOMPOSICIÓN DE LA VARIABILIDAD POR LA VARIANZA

$$\frac{S.C.T.}{\sigma^2} = \frac{S.C.I.}{\sigma^2} + \frac{S.C.E.}{\sigma^2}$$

Dado que las observaciones de las k muestras son independientes, cada uno de los tres sumatorios desde $i = 1$ hasta $i = k$ es la suma de k variables aleatorias que tienen distribuciones χ^2 de tal manera que

$$\begin{aligned} S.C.T. / \sigma^2 &\longrightarrow \chi^2 \text{ con } (N-1) \text{ grados de libertad} \\ S.C.I. / \sigma^2 &\longrightarrow \chi^2 \text{ con } k(n-1) \text{ grados de libertad} \\ S.C.E. / \sigma^2 &\longrightarrow \chi^2 \text{ con } (k-1) \text{ grados de libertad} \end{aligned}$$

en el caso de diseño NO BALANCEADO $S.C.I. / \sigma^2 \rightarrow \chi^2$ con $(n_1-1) + (n_2-1) \dots (n_k-1)$ grados de libertad

Bajo la hipótesis nula, la variabilidad entre grupos no deberá superar significativamente a la variabilidad intra grupo luego el cociente **S.C.E / S.C.I. no deberá ser significativamente grande**. Esa **Significabilidad** nos la dará una distribución de probabilidad asociada. Así:

$$\frac{S.C.E.}{S.C.I.} \longrightarrow \frac{\chi^2_{(k-1)}}{\chi^2_{k(n-1)}} \text{ ó bien } \chi^2_{(N-k)} \text{ si multiplicamos el cociente por } N-k / k-1$$

$$\frac{S.C.E. \cdot (N-k)}{S.C.I. \cdot (k-1)} \longrightarrow \frac{\chi^2_{(k-1)} / (k-1)}{\chi^2_{(N-k)} / (N-k)} \longrightarrow F_{(k-1), (N-k)} \Rightarrow \mathbf{F}$$

Así para un nivel de significación α

Si $\mathbf{F} > F_{\alpha}$ se rechaza la H_0 medias de los grupos no son iguales.

Si $\mathbf{F} < F_{\alpha}$ no se puede rechazar la H_0 ; luego medias de los grupos son iguales

no influye el factor

no hay diferencias significativa entre los niveles

TABLA " ANOVA " DE UN FACTOR .

FUENTE DE VARIACIÓN	G.L	SUMA DE CUADRADOS	F (k-1)(N-k)
ENTRE-GRUPOS	k-1	S. C. E.	
INTRA-GRUPOS	N-1 $(n_1-1)+(n_2-1)+\dots+(n_k-1)$ no balanceado	S. C. I.	
TOTAL		S. C. T.	

Figura 20. Tabla de ANOVA para un solo factor.

Para determinar la homogeneidad de la varianza se realizaron pruebas durante siete días consecutivos, estas pruebas consistieron en inyectar las disoluciones descritas en el apartado de disoluciones (apartado 2.3.3), de estándares certificados de metales pesados, en la configuración FIA propuesta tanto para metales totales (Hg, Pb y Cd) como para la prueba límite de mercurio. Con cada uno de los datos obtenidos por día se llevo a cabo el tratamiento de ANOVA para un solo factor.

El resultado de una ANOVA le da el valor estadístico de la "F." En este caso el valor de la "F" o la variación entre grupos. Para saber si los resultados son significativos (o sea, si la probabilidad "P" tiene un valor menor a 0.05), el valor de la "F" necesita ser al menos igual al valor crítico para F. Si el valor de F es mayor al valor crítico para F los resultados de nuestras pruebas son significativos. La probabilidad demuestra a qué nivel los resultados son estadísticamente significativos.

Con la tabla de ANOVA se obtienen la suma de cuadrados, los grados de libertad y las medias de cuadrados entre grupos y dentro de grupos (estos grupos son los días.

La variación entre grupos o repetibilidad (S_r^2) se determinó tomando en cuenta que S_r^2 es igual a la medida de cuadrados dentro de grupos. Mientras que para calcular la reproducibilidad dentro de grupos (S_{WR}^2), se determinó de acuerdo a las ecuaciones siguientes:

$$S_{\text{entre}}^2 = (\text{SUMA DE CUADRADOS}_{\text{entre}} - \text{SUMA DE CUADRADOS}_{\text{dentro}}) / nj$$

donde: nj es el número de replicas por grupo (día) y S^2 es la medida de cuadrados dentro de grupos (días)

$$\text{dando : } S_{WR}^2 = S_r^2 + S_{\text{entre}}^2 \quad (17)(18)$$

2.9 LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

Una de las ventajas de utilizar métodos instrumentales de análisis es que son capaces de detectar y determinar cantidades de analito mucho más pequeñas que los métodos de análisis clásicos. Esta ventaja permite apreciar la importancia de las concentraciones en el nivel de trazas en muchos materiales, contribuyendo así con el desarrollo de muchas otras técnicas en las cuales los límites de detección bajos son el mejor criterio para aplicarlas con éxito.

Es evidente que los métodos estadísticos son importantes para la evaluación y la comparación de los límites de detección.

El límite de detección es un número, expresado en unidades de concentración o cantidad que define la menor concentración o cantidad de un compuesto o elemento que un químico analítico puede determinar y que sea estadísticamente diferente de la señal generada por un blanco.

Según la IUPAC, el límite de detección expresado como una concentración C_L o cantidad Q_L se deriva de la mención más pequeña, X_L , que pueda ser detectada con un razonable nivel de confianza, para un procedimiento analítico.

Una definición que se utiliza en la bibliografía de química analítica es que el límite de detección es la concentración de analito que proporciona una señal igual a la señal del blanco, Y_B , más tres veces la desviación estándar del blanco, S_B .

$$Y = Y_B + 3 S_B$$

La significación de esta última definición se aclara con mayor detalle en la figura 21.

Un analista que estudia concentraciones traza se enfrenta a dos problemas, por un lado no desea dar un informe de la presencia de analito cuando esta realmente ausente, pero por otro lado, tampoco pretende informar que el analito está ausente cuando de hecho está presente. En la figura 21 la curva A representa la distribución normal de valores medidos de la señal del blanco. Sería posible identificar un punto $Y = P$, hacia el borde superior de esta distribución, y pretender que sería improbable que una señal más grande que esta se debiese al blanco, mientras que se supondría que una señal menor que P indica una muestra en blanco. Sin embargo para que una muestra de una señal promedio P, el 50 % de las señales observadas será menor que está, ya que tendrá una distribución normal que se prolonga por debajo de P (curva B). La probabilidad de concluir que esta muestra no difiere de la del blanco cuando de hecho lo hace es por lo tanto del 50 %. El punto P, llamado el límite de decisión, es insatisfactorio como un límite de detección, ya que soluciona el primero de los problemas mencionados antes, pero no el segundo. Un punto más adecuado está en $Y = Q$, de manera que Q está situado al doble de la distancia que existe entre Y_B y P, siendo Q el límite de detección.

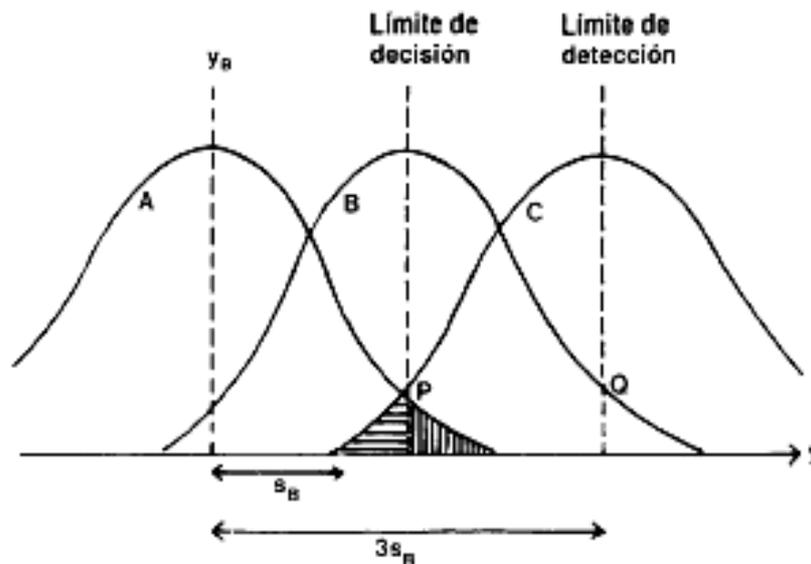


Figura 21. Límite de decisión y Límite de detección.

Para calcular el límite de detección (L.D.) y de cuantificación (L.C.) se puede utilizar la recta de la regresión obtenida para el analito. En este caso basándonos en los valores obtenidos, los correspondientes para la regresión lineal son los siguientes:

$$\text{Regresión Lineal: } \mathbf{Y = bx + a.}$$

Un supuesto fundamento del método de mínimos cuadrados, es que cada punto en la representación gráfica (incluido el que representa al blanco o ruido de fondo), tiene una variación distribuida normalmente (solo en la detección de Y), con una desviación estándar estimada por S_Y / x , el cual equivaldría a S_B del blanco.

$$\mathbf{S_{Y/x} = \sqrt{(\sum Y_i - \hat{Y}_j)^2 / n - 2}}$$

Donde se utiliza los residuos de Y, $Y_i - \hat{Y}_j$. Los valores de \hat{Y}_j son los puntos sobre la recta de regresión calculada, correspondiente a los valores individuales de X, los valores de Y ajustados.

El valor de la ordenada al origen calculada, puede ser utilizada como una estimación de Y_B , la propia señal del blanco y será una estimación más exacta de Y_B que sólo de la medición del blanco, Y.

Sustituyendo el valor de Y en la ecuación de la recta se tiene por lo tanto:

$$\mathbf{Y = Y_B + 3 S_B}$$

la siguiente Ecuación:

$$\mathbf{X = (Y - a) / b}$$

donde X = L. D.

Para el límite de cuantificación el criterio que se utiliza es $10 S_B$; por lo tanto:

$$\mathbf{Y = Y_B + 10 S_B}$$

así, sustituyendo Y en la ecuación de la recta y despejando X :

$$\mathbf{X = (Y - a) / b}$$

se obtiene que X = L. C. (17)(18)

CAPITULO III

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

3.1 RESULTADOS DE LA OPTIMIZACIÓN DEL SISTEMA FIA

Para fines didácticos los resultados de la parte de optimización del sistema FIA se presentaran por separado, pero cabe mencionar que en la práctica, tanto los parámetros químicos como los físicos e hidrodinámicos se optimizaron simultáneamente.

3.1.1 PARÁMETROS QUÍMICOS

Determinación de la Concentración de Ditizona y de Tritón X-100: para determinar la concentración de la ditizona, fue necesario elaborar diagramas ternarios (figura 22) que nos ayudaran a encontrar una o varias posibles concentraciones de ditizona. Cabe mencionar que la ditizona es una difeniltiocarbazona la cual es insoluble en agua y muy soluble en cloroformo y tetracloruro de carbono, por ello fue necesario utilizar un surfactante/tensoactivo (Triton X-100) para formar ditizona micelar en medio acuoso. Los surfactantes/tensoactivos son muy utilizados en diversas áreas tanto de la industria como en la investigación. Estos agentes tienen una estructura molecular que actúa como un enlace entre el agua y las partículas insolubles en agua, las cuales se encuentran en menor concentración en este caso. La molécula produce este efecto porque uno de sus extremos es hidrófilo (atrae el agua) y el otro es hidrófobo (atraído por las sustancias no solubles en agua). El extremo hidrófilo es similar en su estructura a las sales solubles en agua. La parte hidrófoba de la molécula está formada por lo general por una cadena hidrocarbonada, que es similar en su estructura al aceite y a muchas grasas. El resultado global de esta peculiar estructura permite al surfactante/tensoactivo reducir la tensión superficial del agua (incrementando la humectación), adherir y hacer solubles en agua sustancias que normalmente no lo son. Muchas de estas sustancias son jabones, y en específico el tritón X-100 es un detergente, el cual es utilizado en análisis de grasas difíciles de solubilizar como son: mantecas, mantequillas y grasas de origen animal, también es muy útil en investigaciones en biología molecular y genética.

En la figura 22 se muestra un esquema de un triángulo ternario sin datos, estos triángulos son útiles para encontrar de forma teórica las concentraciones de los diferentes componentes que integran un sistema micelar (agua-aceite).

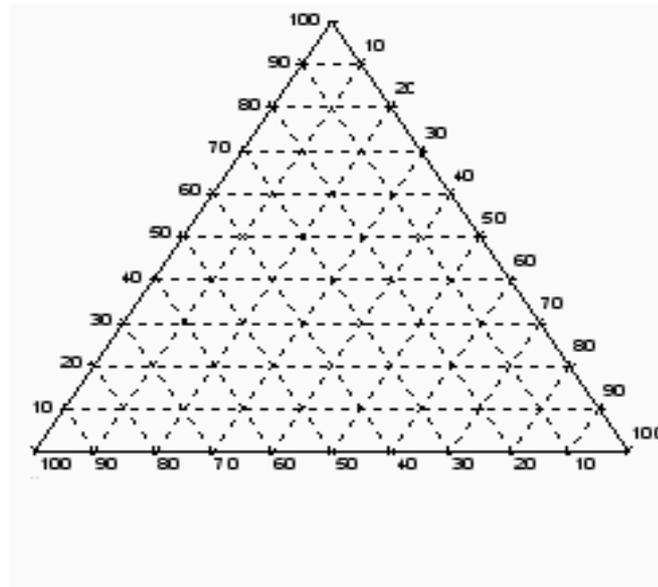


Figura 22. Esquema de un triángulo ternario.

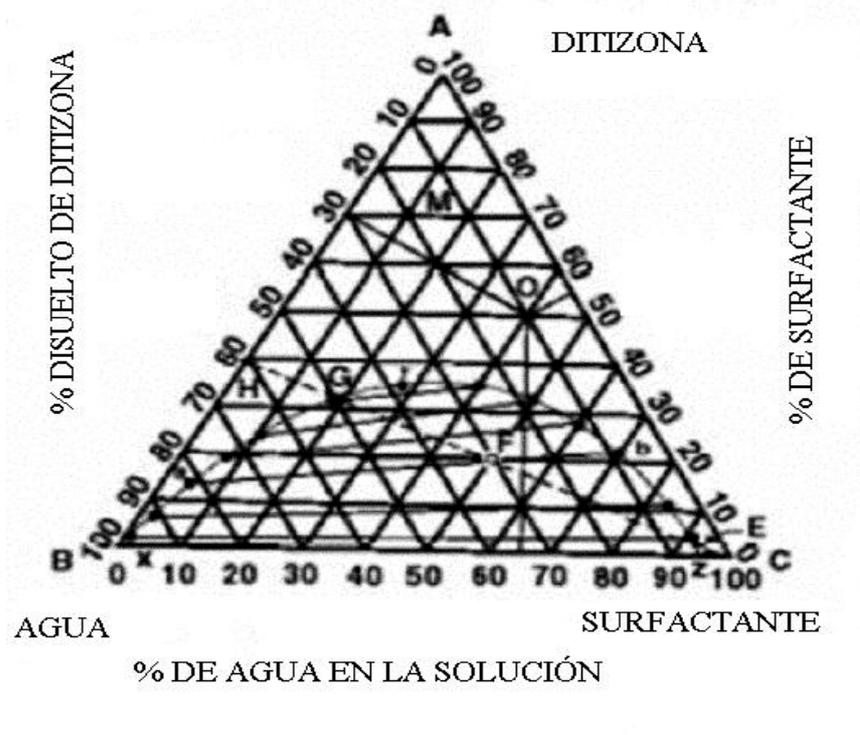


Figura 23. Figura del triángulo ternario que se obtuvo para la Ditzona-Agua-Triton X-100.

Ditizona Micelar y Triton X-100

En la figura 23 se muestra el triángulo ternario obtenido para determinar la concentración de la ditizona. Para tener disuelto un % mayoritario de ditizona en un medio acuoso, es necesario agregar un porcentaje de surfactante para obtener micelas de ditizona; por lo que se introducen estos datos en el diagrama ternario, esto es, en un extremo se coloca la ditizona (A), en otro el surfactante (Triton X-100) (C) y en el último el medio que se desea tener, en este caso es el agua ya que esta es la que usaremos como disolvente (H₂O) (B). Como resultado tenemos que el medio de disolución es el que tendremos en mayor proporción por lo que fijamos un porcentaje mayor o igual al 95 % en la escala del triángulo ternario que corresponde al agua (B), posteriormente se toman proporciones de ditizona (A) y del surfactante (C) para completar el 100 % de la disolución acuosa, esto nos resulta una “X” cantidad de ditizona y una “Y” cantidad de surfactante necesaria para obtener una disolución acuosa con las características que se desean para las determinaciones. Con lo anterior tenemos un número determinado de posibles concentraciones, tanto de ditizona como del surfactante, por lo que se probó experimentalmente cinco concentraciones para con ello decidir la concentración ideal para las determinaciones. Estas cinco concentraciones se fijaron como se indica a continuación y corresponden a los puntos F, G, H, M y O del triángulo de la figura 23.

AGUA (VOLUMEN)	DITIZONA (GRAMOS)	TRITON X-100 (GRAMOS- VOLUMEN)	TOTAL
95% V	0,025 % P	4,975 % P/V	100%
95% V	0,015 % P	4,985 % P/V	100%
* 95% V	0,005 % P	4,995 % P/V	100%
95% V	0,010 % P	4,990 % P/V	100%
95% V	0,030 % P	4,970 % P/V	100%

**Condiciones óptimas de agua, ditizona y Triton X-100, para la determinación de metales pesados y prueba límite de mercurio.*

Nota: Los datos anteriores fueron obtenidos de los cálculos realizados para obtener la concentración óptima de ditizona y Triton X-100.

Basándose en la bibliografía de Harris Daniel C. Análisis Químico Cuantitativo, una disolución que contenga $\pm 5,0\%$ p. del tensioactivo Triton X-100, que forma micelas, disuelve una disolución de ditizona $8,3 \times 10^{-5}$ M esto es 0,005 gramos de ditizona entre 50 y 60 °C y un $\text{pH} \leq 7$ (pH del agua destilada). La concentración de ditizona dentro de las micelas, que constituye una pequeña fracción del volumen de la disolución, es mucho mayor que $8,3 \times 10^{-5}$ M. Las disoluciones micelares acuosas de ditizona se pueden usar para el análisis espectrofotométrico de metales como Zn (II), Cd (II), Hg (II), Cu (II) y Pb (II) con resultados comparables a los que se obtienen con un disolvente orgánico. Con lo anterior y al realizar los ensayos de proporciones de ditizona, Triton X-100 y agua, se logró corroborar el dato proporcionado en la bibliografía.

Una vez optimizada la concentración óptima de ditizona y de Tritón X-100, el siguiente paso fue sacar el espectro de absorción de la ditizona micelar en medio acuoso y con ello elegir una longitud de onda de trabajo para la determinación de metales pesados.

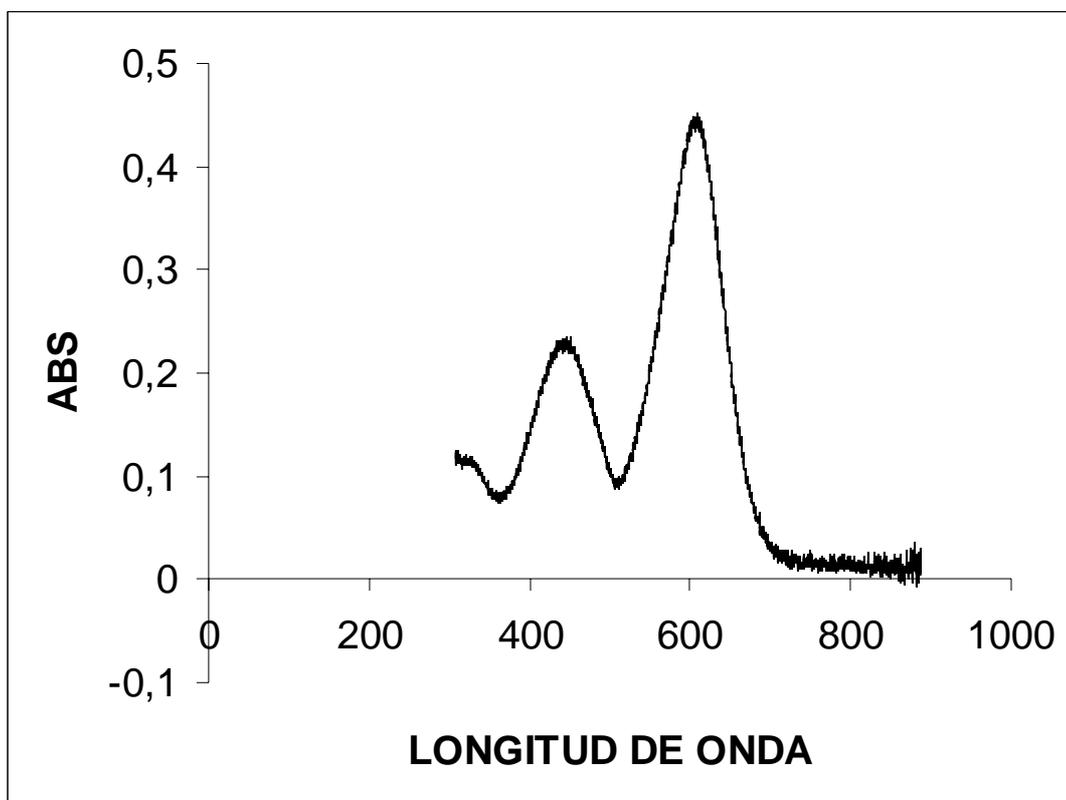


Figura 24. Espectro de absorción de la ditizona micelar.

En la figura 24 se muestra el espectro de absorción de la ditizona micelar; en este espectro se pueden observar los dos máximos de absorción, uno a 450 nm y otro a 600 nm. Cabe mencionar que este espectro corresponde a una disolución a pH 3 dando como resultado un color verde esmeralda de la disolución.

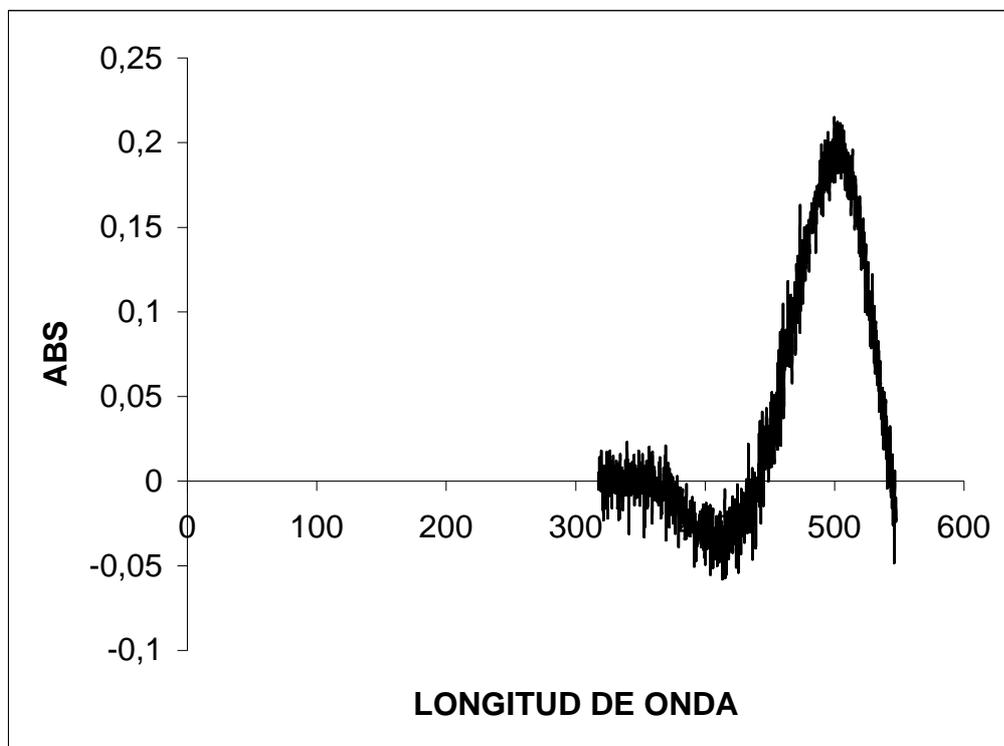


Figura 25. Espectro de absorción de la ditizona micelar con Pb.

En la figura 25 se muestra el espectro de absorción de la ditizona en medio micelar acomplejada con un metal, plomo en este caso; podemos observar como en presencia de metal muestra un máximo alrededor de 500 nm. El cambio de color se debe a que la ditizona sin metal es de color verde y en presencia de metal es de color rojo (complejo que forma la ditizona con el metal) esta reacción se explica en la figura 17.

Estudio del pH en la disolución micelar

En la figura 26 se muestra los espectros de absorción de la ditizona micelar acuosa a diferentes pH's de reacción (de pH 0 hasta pH 11), se puede observar como al aumentar el pH de reacción la señal a 600 nm disminuye mientras que la señal a 450 nm aumenta, esta ditizona se encuentra en ausencia de metales pesados, lo que nos corrobora junto con la figura 20 que un pH de reacción tentativo para metales.

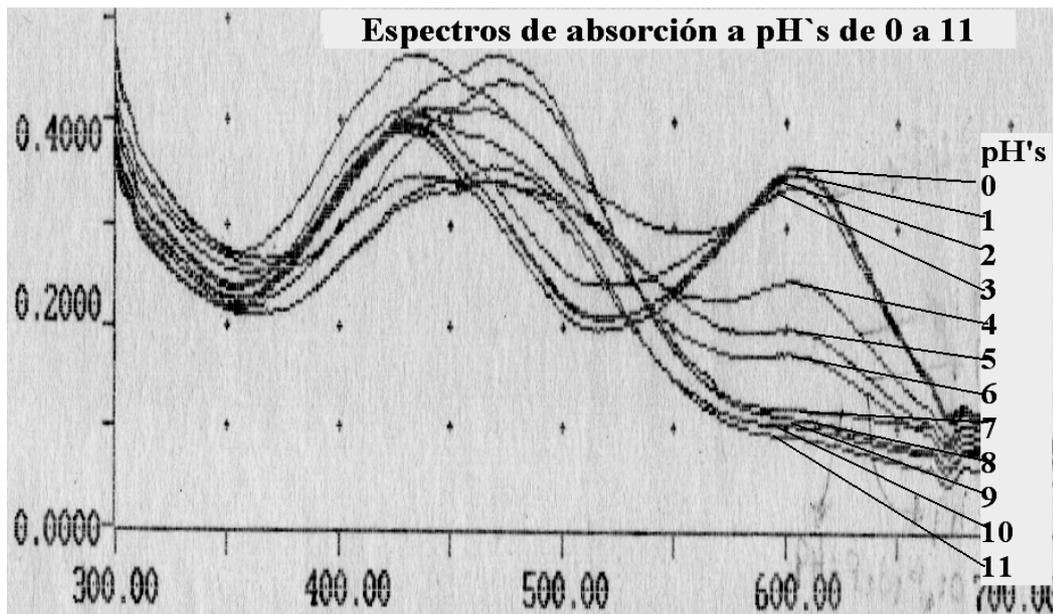


Figura 26. Estudio del pH de reacción en ausencia de metales pesados.

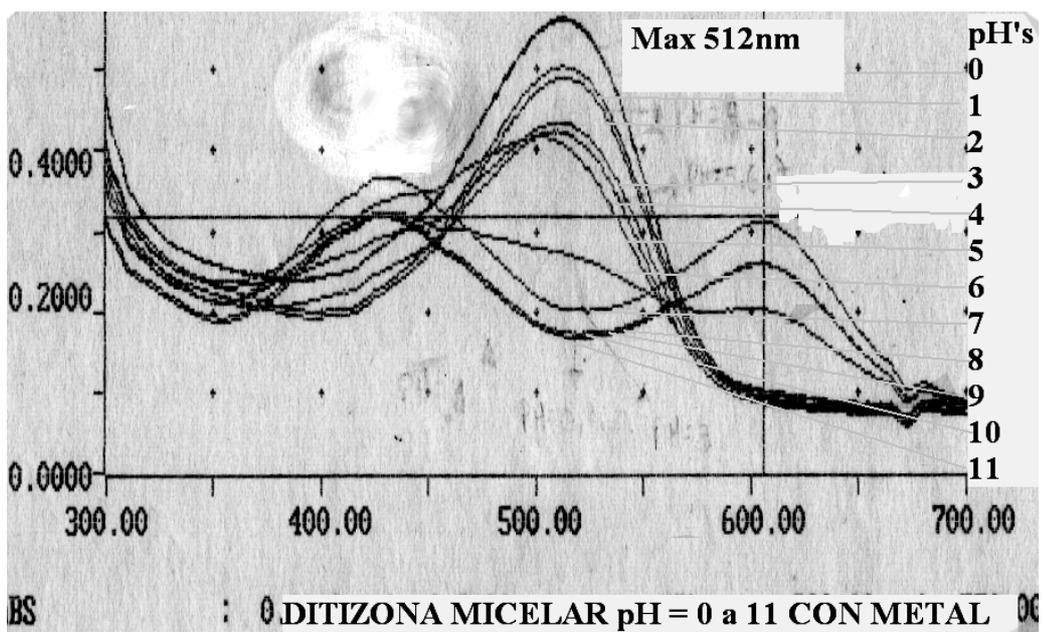


Figura 27. Espectros de absorción del estudio de pH de reacción en presencia de metales pesados.

En la figura 27 se muestran los espectros de absorción del estudio de pH de reacción en presencia de metales pesados, podemos observar que la ditizone micelar acuosa a diferentes pH's de reacción (de pH 0 hasta pH 11) con adición de un metal (Pb), se comportan muy diferente que en la figura 26; este cambio de color en la ditizone micelar sin metales y con metales se debe al complejo formado entre la ditizone y el metal dando como resultado este cambio en la longitud de onda.

También se puede observar como al aumentar el pH la señal a 600 nm aumenta mientras que la señal a 450 nm disminuye; otro punto que podemos observar es como la señal en 500 nm se ve más favorecida a pH's ácidos, esto es a pH 0 una señal mayor, entre pH 1 y 2 no hay diferencia entre las señales y a pH's de 3, 4 y 5, casi no hay diferencia entre ellos. Aquí nuevamente podemos corroborar que el pH que más favorece la determinación de metales totales es el pH 3.

Con los resultados obtenidos en los espectros de absorción de las figuras 26 y 27, podemos deducir que la longitud de onda a la cual se trabajara es de 512 nm y dependiendo de la determinación que se desee cuantificar (metales totales o prueba límite de mercurio), será el pH de la solución amortiguadora de trabajo, así mismo la concentración de la ditizona y del tritón X-100 es la misma para ambos ensayos.

Para poder optimizar el pH de la disolución amortiguadora a utilizar se fijó sólo cuatro pH's de trabajo, esto basándose en los resultados obtenidos anteriormente, estos son: 0, 3, 7 y 11, ya que a estos pH's se cubre toda la escala de pH.

Para decidir cual de los pH's propuestos nos permite obtener mejores resultados, se realizaron pruebas cualitativas para observar el color de la ditizona micelar en presencia de una disolución amortiguadora de pH 0, 3, 7 y 11. Los resultados se compararon y se muestran en la figura 28 donde podemos observar el cambio de color de la ditizona en presencia de cada uno de las soluciones amortiguadoras de pH 0, 3, 7 y 11, además de un testigo en agua. Se puede observar que entre más ácido es el pH, la ditizona tiene un color mucho más verde, mientras que a un pH más básico los colores varían desde rojo-naranja hasta un amarillo-durazno; cabe mencionar que la ditizona forma complejos coloridos de color rojo con la mayoría de los iones metálicos di y tri-valentes, y que el color de dichos complejos también varían con el pH dependiendo del ión metálico que se trate.

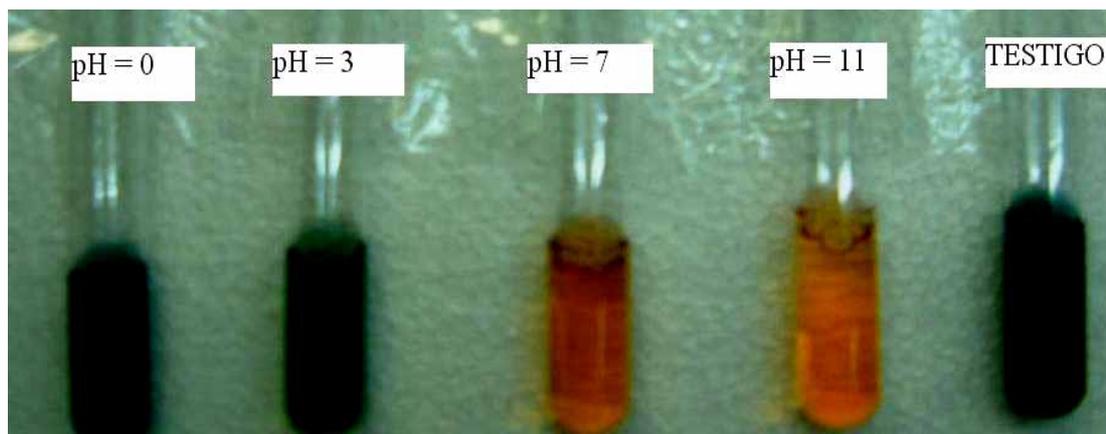


Figura 28. Pruebas cualitativas de la ditizona micelar a diferentes pH's

En la figura 29 se muestra la reacción de ditizona con un ión metálico, en este caso plomo (Pb).

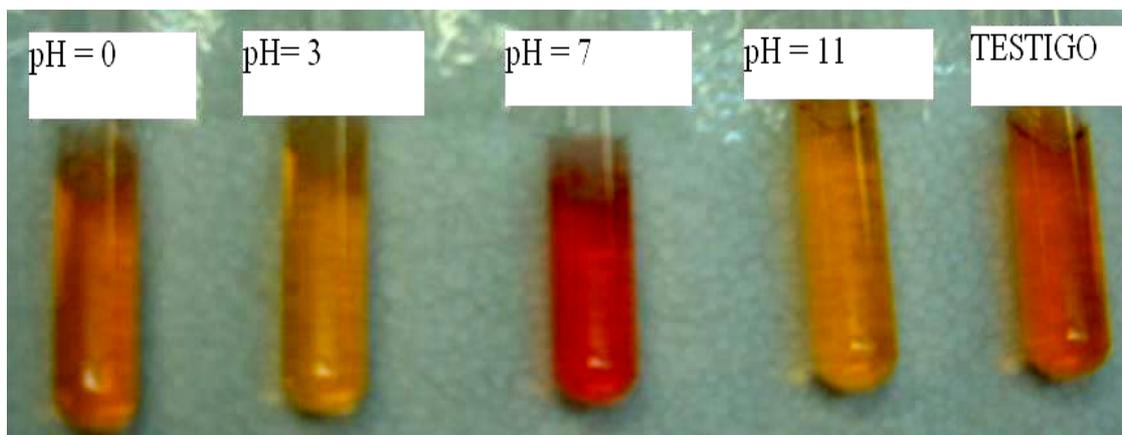


Figura 29. Pruebas cualitativas de la ditizona micelar a diferentes pH's con plomo.

Los resultados observados en la figura 29 muestran la coloración característica del plomo a pH 0 complejo de color amarillo- naranja, pH 3 amarillo, pH 7 rojo-naranja, pH 11 amarillo pálido y el testigo de color naranja.

Este comportamiento de la ditizona a los diferentes pH's de trabajo varían según el metal adicionado; la ditizona con plomo presenta complejos de color rojo-naranja a amarillo, mientras que con mercurio son de color rojo-rosa a un color rosa-violeta intenso, y por último en presencia de cadmio estos complejos son de color rojo-rosa a amarillo-durazno muy ligero.

Con los resultados anteriores se probaron los mismos valores de pH en la configuración FIA, para observar la influencia del pH en las señales; con esto se fijó el pH óptimo para cada prueba y/o metal (metales pesados totales y prueba límite de mercurio).

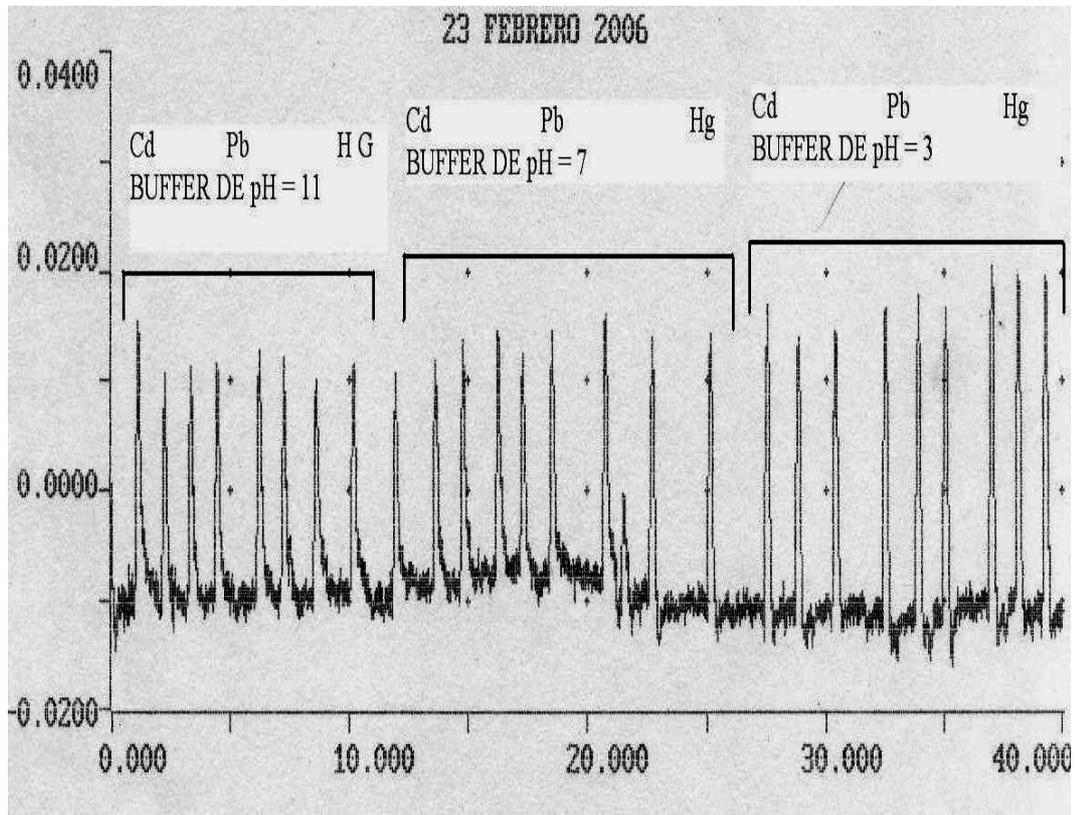


Figura 30. Fiagrama obtenido para cada metal a pH = 3, 7 y 11.

En el fiagrama de la figura 30, se muestra las diferentes señales que se obtuvieron al probar pH 3, 7 y 11 en presencia de los tres metales a analizar. Como se puede observar el comportamiento de los tres metales es muy similar, esto es que las señales emitidas por cada uno de los metales no varía mucho de metal a metal en un mismo pH, mientras que al comparar las señales entre pH's, se observa una diferencia muy significativa, esto es que a un pH 3 las señales son mayores que a pH 7 y 11. Con esto se corrobora que un pH 3 obtenemos señales mucho más sensibles y nos permite cuantificar los tres metales.

También se probó la influencia a pH 0, obteniéndose resultados muy interesantes, ya que a este pH el plomo y el cadmio a diferentes concentraciones tienen una lectura igual que la del blanco (agua), mientras que el mercurio muestra una señal mucho

mayor. Este comportamiento nos permite especificar en este caso el mercurio del plomo y el cadmio. Así, para la prueba límite de mercurio el pH óptimo para trabajar fue de 0. Esto se observa en la figura 31.

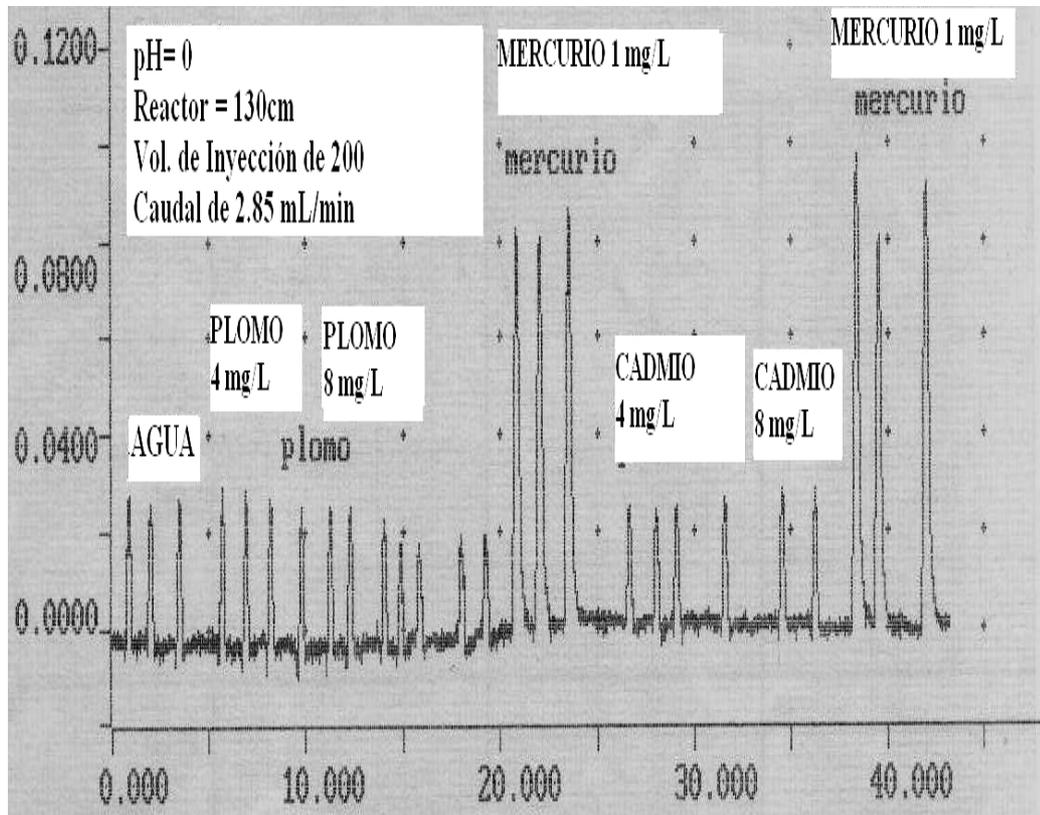


Figura 31. Diagrama obtenido para cada metal a pH 0

Una vez optimizado el pH de trabajo pH 3 y pH 0 para metales pesados totales y prueba límite de mercurio, respectivamente, se optimizó la concentración de las disoluciones amortiguadoras a los pH's anteriores.

Disoluciones Amortiguadoras: para determinar la concentración de la disolución amortiguadora fue necesario realizar varios ensayos a diferentes concentraciones de amortiguador, con esto se logra obtener una concentración óptima que cumpla con las necesidades experimentales. En la tabla 5, se muestran las concentraciones de las disoluciones amortiguadoras que se prepararon y los pH's a los cuales se probaron cada una.

Tabla 5. Disoluciones amortiguadoras.

Disolución Amortiguadora	Concentración Final	pH	Concentración Final	pH
Ácido nítrico sulfúrico	1 M	0	0.1 M	0 - 0.5
Fosfatos	1 M	3	0.1 M	3 - 4

Con las disoluciones a una concentración 1 M uno de los principales problemas era que al mezclarse la disolución amortiguadora con la ditizona micelar en el reactor, la ditizona precipitaba y se adhería a las paredes del reactor cambiando con ello las propiedades hidrodinámicas de la configuración FIA, por lo que se decidió probar disoluciones amortiguadoras a los mismos pH's pero de concentración 0.1 M. Otro problema que se presentó durante esta parte experimental fue que al ajustar los pH's de las diferentes disoluciones amortiguadoras con ácido clorhídrico y/o con hidróxido de sodio se observó que en el caso de este último, el sodio interfería en la prueba ya que la ditizona micelar da positiva en presencia de este ión dando falsos positivos o enmascarando los resultados. Así, se probó con otros álcalis para resolver este problema y finalmente se ajustó el pH de algunas disoluciones amortiguadoras con hidróxido de potasio 1N.

3.1.2 PARÁMETROS FÍSICOS E HIDRODINÁMICOS

Para fijar los diferentes parámetros hidrodinámicos fue necesario fijar algunos parámetros mientras se optimizaba el resto; por ejemplo para optimizar el caudal se usó un reactor de 130 cm y un volumen de inyección de 500 μ L; con ello se fue discerniendo uno a uno los diferentes parámetros hidrodinámicos a optimizar. Estos datos de optimización se basaron en los diferentes textos de FIA, los cuales sugieren algunas condiciones hidrodinámicas para algunos análisis que ya han sido realizados en FIA.

Caudal en mL/min: para optimizar el caudal para la determinación de metales pesados y prueba límite de mercurio, se estudio un intervalo entre 0.70 – 2.85 mL/min; siendo este último el óptimo. Se eligió este caudal debido a que la señal obtenida (pico) resulta más alta y el análisis más rápido, ya que a caudales más bajos

la señal es menor y el tiempo de análisis más largo; mientras que a caudales más altos la señal es un poco menor y hay mucho gasto de reactivo.

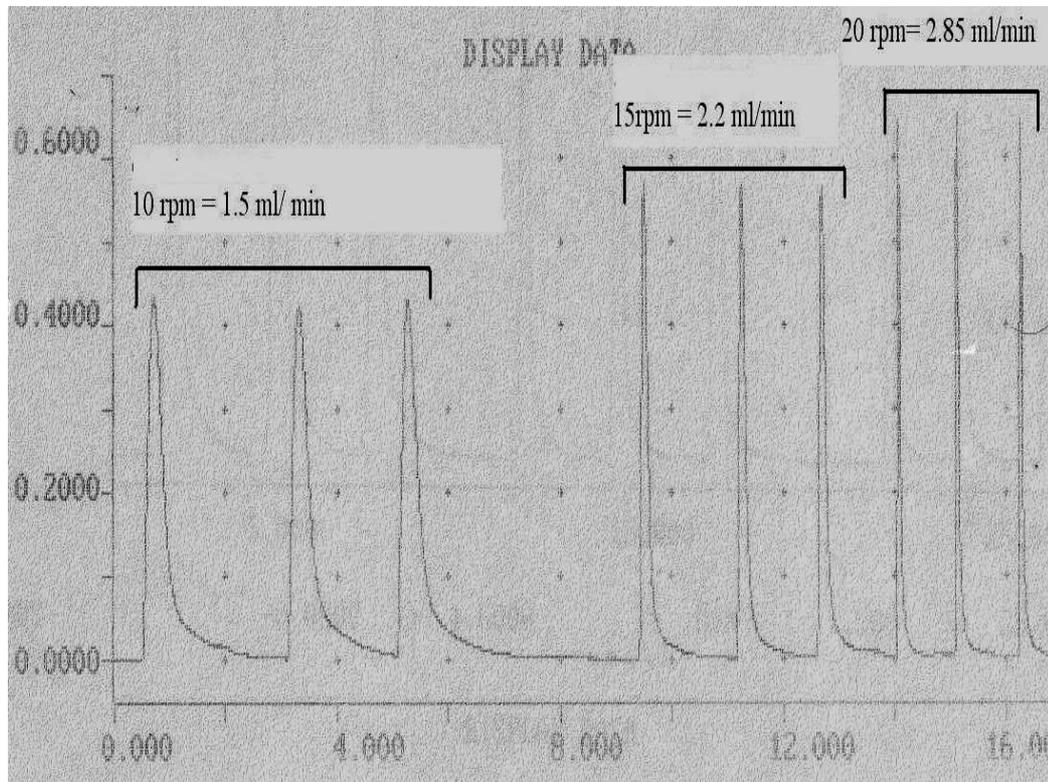


Figura 32. Optimización del caudal.

En la figura 32 se muestra la optimización del caudal, donde se observa como cambian las señales al cambiar la velocidad del caudal, el pico más grande y más fino corresponde al caudal que se utilizó para los fines experimentales.

Volumen de Inyección en μL .

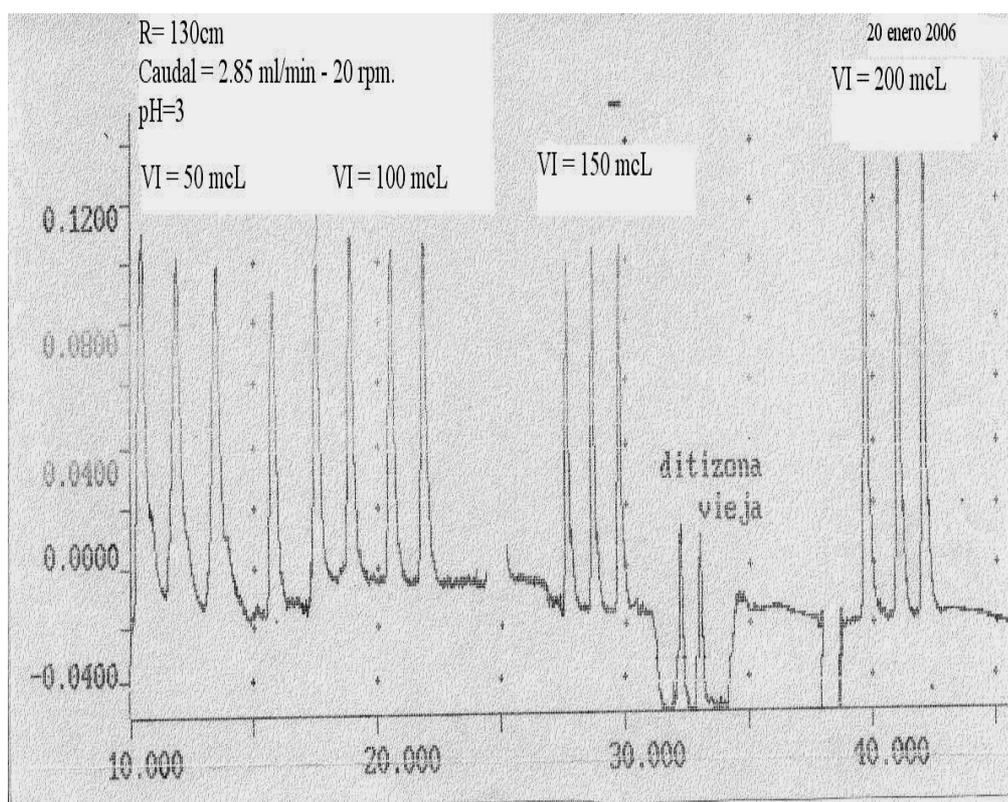


Figura 33. Fiagrama para la optimización del volumen de inyección.

En la figura 33 se muestran los resultados cuando se cambia el volumen de inyección. En este caso el reactor es de 130 cm, el caudal de 2.85 mL/min y el pH 3. El volumen de inyección se fue variando para observar el tamaño del pico que se obtiene. Los volúmenes de inyección que se probaron son los siguientes: 50 μL , 100 μL , 150 μL y 200 μL ; como podemos observar en la figura 33 los picos de mayor altura corresponden a un volumen de inyección de 200 μL , por lo que se tomó este volumen como óptimo para la configuración FIA.

Longitud del Reactor

La optimización de la longitud del reactor, se basó en la longitud de los reactores que fueron utilizados en diferentes artículos experimentales, y con estas referencias se probaron 3 longitudes diferentes: 50, 100 y 130 cm. Dando el fiagrama siguiente figura 34.

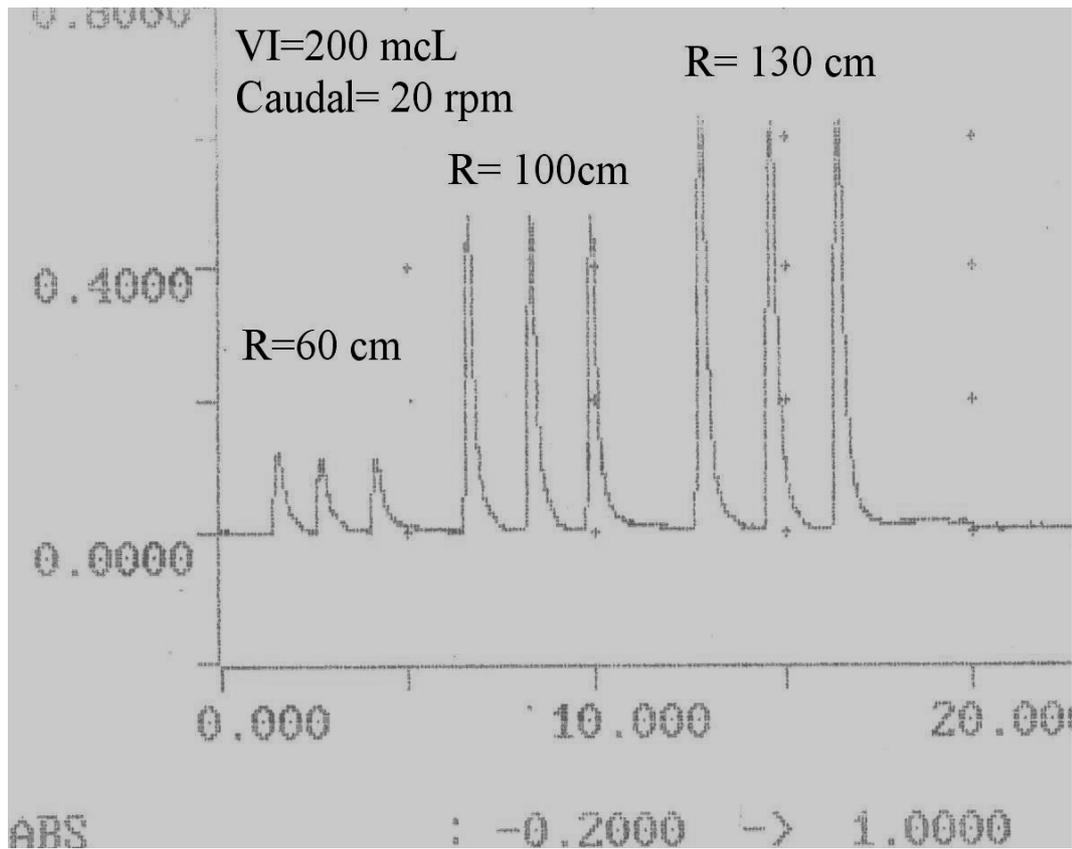


Figura 34. Fiagrama para la optimización del reactor.

Este fiagrama de la figura 34, muestra los picos obtenidos al probar tres de los reactores. Como se puede observar el reactor de 130 cm, es el que muestra los picos más grandes y mejor definidos; cabe mencionar que el reactor de 100 cm muestra buenos picos para la configuración FIA utilizada, pero los picos obtenidos con el reactor de 130 son un poco más altos por lo que se utilizó este reactor con para la determinación final.

3.2. CONDICIONES ÓPTIMAS DE ANÁLISIS

Caudal..... 2.85 mL/min.

Volumen de inyección..... 200 µL.

Longitud del reactor.....130 cm.

Concentración de la ditizona..... 8.3×10^{-5} M.

Concentración del triton X100.....5% P/V.

Concentración de la

disolución amortiguadora.....0.1 M.

pH para prueba límite de mercurio.....0

pH para prueba de metales totales.....3

Longitud de onda.....512 nm.

3.3 CURVAS DE CALIBRACIÓN

En este apartado se muestran los resultados obtenidos de las curvas de calibración descritas anteriormente (apartado 2.7). Aquí podemos verificar que las gráficas obtenidas son lineales con un coeficiente de regresión de por lo menos tres nueves y ecuaciones de la recta que satisfacen la obtención de las concentraciones de los analitos de interés en las muestras problema.

En el Anexo I se muestran los fiagramas obtenidos para elaborar las curvas de calibración cuyas ecuaciones e intervalos lineales se presentan a continuación.

- ♣ Curva de calibración para mercurio a pH 3

Ecuación de la recta: $Y = 0,0116 X + 0,0386$

Intervalo lineal = 0.5 – 8 mg/L

Coeficiente de correlación = 0,9995

- ♣ Curva de calibración para plomo a pH 3

Ecuación de la recta $Y = 0,0091 X + 0,0446$

Intervalo lineal = 0.5 – 8 mg/L

Coeficiente de correlación = 0,9990

- ♣ Curva de calibración para cadmio a pH 3

Ecuación de la recta $Y = 0.0456 X + 0.0386$

Intervalo lineal = 0.5 – 8 mg/L

Coeficiente de correlación = 0,9997

- ♣ Curva de calibración para mercurio a pH 0 (Prueba límite de mercurio).

Ecuación de la recta $Y = 0,0141 X + 0,0070$

Intervalo lineal = 0.5 – 8 mg/L

Coeficiente de correlación = 0,9990

3.4 REPETIBILIDAD DEL MÉTODO

Desviación Estándar Relativa (D.E.R.)

Como ya se ha mencionado anteriormente (apartado 2.8), para conocer la repetibilidad expresada como D.E.R., del método lo que se hizo fue preparar la curva de calibración en las condiciones óptimas y después se inyectaron 7 veces una disolución de 4.48 mg/L de cada uno de los analitos (Hg, Pb y Cd). En los diagramas del Anexo I se muestran en la parte final de estos el resultado gráfico de estas inyecciones. Los valores de cada inyección se muestran en el Anexo II (tablas 6-9).

A continuación se muestran los resultados obtenidos para cada analito.

D.E.R. para mercurio pH 3..... 0.69 %

D.E.R. para plomo pH 3..... 0.19 %

D.E.R. para cadmio pH 3..... 0.69 %

D.E.R. para mercurio pH 0.....1.70 %

La repetibilidad del método como lo podemos apreciar en los resultados obtenidos de las D.E.R. es muy buena, ya que se obtuvieron desviaciones menores al 2 %, esto se traduce en una concordancia muy cercana al 100 % (los resultados tienen una concordancia entre el 98.3% y el 99.8%).

Repetibilidad y reproducibilidad dentro y entre días

Análisis de varianza (ANOVA)

Para determinar la ANOVA para un solo factor se realizaron las pruebas de 7 días (ver apartado 2.8), con las disoluciones descritas en el apartado 2.3.3. Con los resultados obtenidos se calculó la ANOVA y se obtuvieron los resultados para F y para el valor crítico de F (ver Anexo II).

A continuación se muestran los valores para F experimentales donde el valor crítico de F para todos los casos es de 4.7472

F experimentales Obtenidos
MERCURIO pH 3
1.0962
PLOMO pH 3
0.1813
CADMIO pH 3
0.0019
MERCURIO pH 0
0.4508

Como se puede observar en los resultados anteriores de ANOVA para que estos fueran estadísticamente significativos era necesario que el valor de F resultara mayor al valor crítico para F. Como se puede apreciar en todos los casos el valor de F es menor al valor crítico, por lo tanto podemos afirmar que la varianza del método es estadísticamente no significativa.

En el Anexo II se muestran las tablas (de la 10 a la 13), para ANOVA de los datos obtenidos para este análisis, las tablas muestran la suma de cuadrados, los grados de libertad, las medias de cuadrados entre grupos (días) y dentro de grupos (días) y los totales

A continuación se muestran los resultados obtenidos para S^2 (variación entre grupos (días) o repetibilidad) y S^2_{WR} (reproducibilidad dentro o intra grupos (días)). Estos resultados están expresados en % y entre más pequeño, mayor es el grado de repetibilidad y reproducibilidad.

REPETIBILIDAD	REPRODUCIBILIDAD
MERCURIO pH 3	
2.2142	2.2668
PLOMO pH 3	
1.2779	0.9821
CADMIO pH 3	
0.9885	0.6975
MERCURIO pH 0	
0.6640	0.5655

Como se puede observar en los resultados anteriores la repetibilidad y reproducibilidad expresadas como D.E.R. demuestran que el sistema FIA propuesto es adecuado para la cuantificación de metales totales y prueba límite de mercurio, con una buena precisión.

Para determinar la exactitud del método se utilizaron las mismas mediciones realizadas para conocer la precisión, solo que para la exactitud se compararon el promedio de los valores obtenidos para los siete días y se comparo contra el valor del estándar certificado. Finalmente podemos concluir que la exactitud del método para mercurio pH 3 es de 97.8 %, para plomo pH 3 es de 98.9 %, para cadmio pH 3 es de 99.2 % y para mercurio pH 0 es de 99.4 %, por lo tanto el método propuesto resulta exacto en las determinaciones de metales totales y prueba límite de mercurio.

3.5 LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

Las tablas que describen el tratamiento de los datos obtenidos se describen en el Anexo II, en estas se muestran los cálculos necesarios para la determinación del Límite de Detección y del Límite de Cuantificación.

A continuación se muestran los resultados de los Límites de Detección (L.D.) y de los Límites de Cuantificación (L.C.).

L.D. mg/L	L.C. mg/L
MERCURIO pH 3	
0,27	0,91
PLOMO pH 3	
0,36	1,21
CADMIO pH 3	
0.17	0,58
MERCURIO pH 0	
0,37	1,22

Considerando los datos obtenidos para los límites de detección, podemos ver que permiten asegurar la presencia de metales a concentraciones menores a 0.5 mg/L.

Ahora para los datos obtenidos para los límites de cuantificación, se observa que estos valores caen entre el primer punto y el segundo punto de la curva de calibración (0,5 a 1.3 mg/L), esto lo podemos interpretar como que a partir de estos valores nuestros resultados son más confiables. El resultado es adecuado ya que los valores son cercanos a las concentraciones más bajas de la curva de calibración, lo cual podemos asegurar que estamos logrando cuantificar cuantitativamente concentraciones muy bajas de analito de forma precisa.

3.6 ANÁLISIS DE MUESTRAS

El método desarrollado y optimizado se utilizó para la determinación de metales totales y prueba límite de mercurio en muestras de medicamentos, materias primas y/o insumos destinados a la fabricación de medicamentos. Los resultados que se obtuvieron se muestran en el Anexo III. En este Anexo se muestran los datos y diagramas de cada una de las muestras analizadas así como los resultados encontrados.

3.6.1 RESULTADOS PARA METALES TOTALES

Se realizaron dos replicas de la misma muestra y una de estas replicas se fortificó con una concentración conocida de metales pesados (Hg, Pb y Cd), con ello se evaluaron algunos parámetros como son el % de recuperación en las muestra fortificadas, la cuantificación de las impurezas metálicas contenidas en las muestras sin fortificar y el comportamiento o la influencia del tratamiento de las muestras en la cuantificación de las impurezas metálicas. Antes de analizar las muestras con el sistema FIA propuesto se inyectaron el blanco de reactivos, y un estándar con una concentración conocida de metales pesados la cual es igual que en las muestras fortificadas y recibe el mismo tratamiento que las muestras.

Antes de llevar acabo este análisis, se hizo un tratamiento previo de las muestras y blanco de reactivos, el cual se describe en el apartado 2.4–2.4.1. Este tratamiento se basó en una digestión ácida, una vez que se finalizó dicho tratamiento las muestras fueron cuantificadas con el sistema FIA optimizado. La altura de la señal que se obtuvo es directamente proporcional a la concentración de metales en las muestras. Las muestras se inyectaron por cuatriplicado y el promedio de los cuatro datos es el valor reportado para cada muestra. Para conocer la concentración de las impurezas contenidas en cada muestra se tomó la curva de calibración de mercurio pH 3 y con la ecuación de la recta de esta curva de calibración se obtuvieron las concentraciones de las impurezas metálicas totales en las muestras analizadas.

Se decidió tomar la curva de calibración de mercurio para la determinación de metales totales en las muestras, porque después de evaluar las tres curvas de calibración (para Hg, Pb y Cd) era la que mejor resultados proporcionaba en una mezcla de metales.

El ensayo farmacopeico actual para la determinación de metales pesados compara la muestra con una disolución estándar de plomo y precipitación, (para mayor información ver el apartado 1.8.5.1) pero la curva de calibración de plomo que se obtuvo en nuestro caso no interpreta de forma adecuada los resultados deseados, esto es el complejo formado por la ditizona y el plomo no es tan colorido como el que se forma con el mercurio y el cadmio los cuales muestran señales mayores que en el caso del plomo. Esta limitante no permite una interpolación correcta de la curva de plomo con las muestras analizadas. De igual modo la curva de cadmio se comporta a la inversa que la de plomo esto es, el complejo cadmio - ditizona es mucho más colorido que el de Hg y Pb, por lo tanto las señales obtenidas son mayores y por ello no permite una adecuada interpolación a la curva de cadmio con las muestras analizadas.

Para estar seguro de que la curva de calibración de mercurio es la adecuada para interpolar los resultados de las muestras analizadas para metales totales se realizaron una serie de ensayos de mezclas con los metales pesados de estudio (Hg, Pb y Cd).

Enseguida se muestran los resultados de estos ensayos:

Concentración de cada metal en la mezcla (mg/L)			Concentración total mg/L	Absorbancia (nm)
Cd	Hg	Pb		Promedio
1	1	1	3	0,085325
1	2	2	5	0,095475
2	1	2	5	0,101500
2	2	1	5	0,100950
1	5	1	7	0,122000
5	1	1	7	0,264250
1	1	5	7	0,122075

En los datos anteriores se muestran las proporciones de las mezclas realizadas de metales pesados, aquí podemos observar como las proporciones señaladas en rojo, así como las absorbancias indicadas, al sustituirlas en la ecuación de cada una de las rectas obtenidas de las curvas de calibración para cada metal muestran resultados muy distintos para cada ecuación y solo en la de mercurio se tiene una cantidad muy cercada a la esperada.

Ecuaciones de la recta de las curvas de calibración para cada metal					
Cadmio $Y = 0.04528162 X + 0.04119121$					
Mercurio $Y = 0,01162628 X + 0,03857118$					
Plomo $Y = 0,00907138 X + 0,0445846$					
RESULTADOS USANDO CADA UNA DE LAS CURVAS					
Para cadmio	0,9747	Para mercurio	4,0214	Para plomo	8,9145
	1,1988		4,8944		10,0334
	1,3319		5,4126		10,6975
	1,3197		5,3653		10,6369
	1,7846		7,1759		12,9574
	4,9260		19,411		28,6386
	1,7862		7,1823		12,9657

En los resultados obtenidos podemos observar que solo en la ecuación de mercurio se tienen resultados que satisfacen y justifican el uso de esta curva de calibración para la interpolación de muestras analizadas para metales totales, a excepción de cuando se tiene una proporción 5:1:1 de Cd, – Hg, – Pb.

A continuación se muestran los resultados obtenidos para las muestras analizadas en la prueba de metales totales.

En la tabla 14 del anexo III se muestran los resultados de metales totales en diferentes muestras. En esta tabla también se muestran los resultados de las fortificaciones obteniéndose recuperaciones por arriba del 99 %.

A continuación se muestran los resultados de las muestras que si fueron positivas para la prueba de metales totales.

MUESTRA	CONCENTRACIÓN DE IMPUREZAS EN mg / g DE MUESTRA
CELULOSA	0.0897
ALMIDON	0.1929
AGUA INDUSTRIAL-METALURGICA	4.0088

3.6.2 RESULTADOS PARA PRUEBA LÍMITE DE MERCURIO

A continuación se muestran los resultados obtenidos para las muestras analizadas que resultaron positivas en la prueba límite de mercurio. Cabe mencionar que para esta prueba las muestras se analizaron con las mismas replicas y blancos que para metales totales y con el tratamiento para prueba límite de mercurio.

MUESTRA	CONCENTRACIÓN DE MERCURIO EN mg / g DE MUESTRA
PENICILINA	0.307
COMPLEJO VITAMINICO	0.1246
AGUA INDUSTRIAL METALURGICA	1.825

Para corroborar que el método propuesto en este trabajo (prueba límite de mercurio), fuera comparable con algún método actual, la muestra de penicilina sobrante se envió a analizar el laboratorio de absorción atómica de la USAI (ver Anexo IV), en dicho análisis se reporta que la muestra enviada tiene un 0.0354 % de mercurio. Para calcular la cantidad de mercurio en μg de mercurio por mg de muestra es necesario sacar el promedio de las muestra el cual es de 15275 μg y también es necesario

sacar el promedio una vez que se multiplico por el factor de dilución este promedio es 4.9057 μg . Con los datos anteriores se divide el promedio del factor de dilución entre el promedio de los pesos de las muestras obteniendo los μg de mercurio contenidos en los μg de muestra pesados.

$$4.9057 \mu\text{g} / 15275 \mu\text{g} = 3.2116 \times 10^{-4} \mu\text{g de Hg}/\mu\text{g de Muestra}$$

por lo que tenemos 0.3216 μg de Hg/mg de Muestra.

Mientras que por FIA los resultados son los siguientes:

1.228 mg de Hg/L esto es:

1.228 mg de Hg1000 mL de Muestra

X=25 mL

X= 0.0307 mg de Hg entre lo que se pesó de muestra lo cual es 0.1g.

0.0307 mg Hg / 0.1 g de Muestra = 0.307 mg de Hg/g de Muestra

= 0.307 μg de Hg/ μg de Muestra

Como podemos observar la proporción es la misma y los resultados son muy cercano entre ambos valores (con solo una diferencia de tan sólo el 4.75 %), por lo que podemos decir que el método propuesto (FIA), es adecuado para cuantificar mercurio.

3.7 CONCLUSIONES

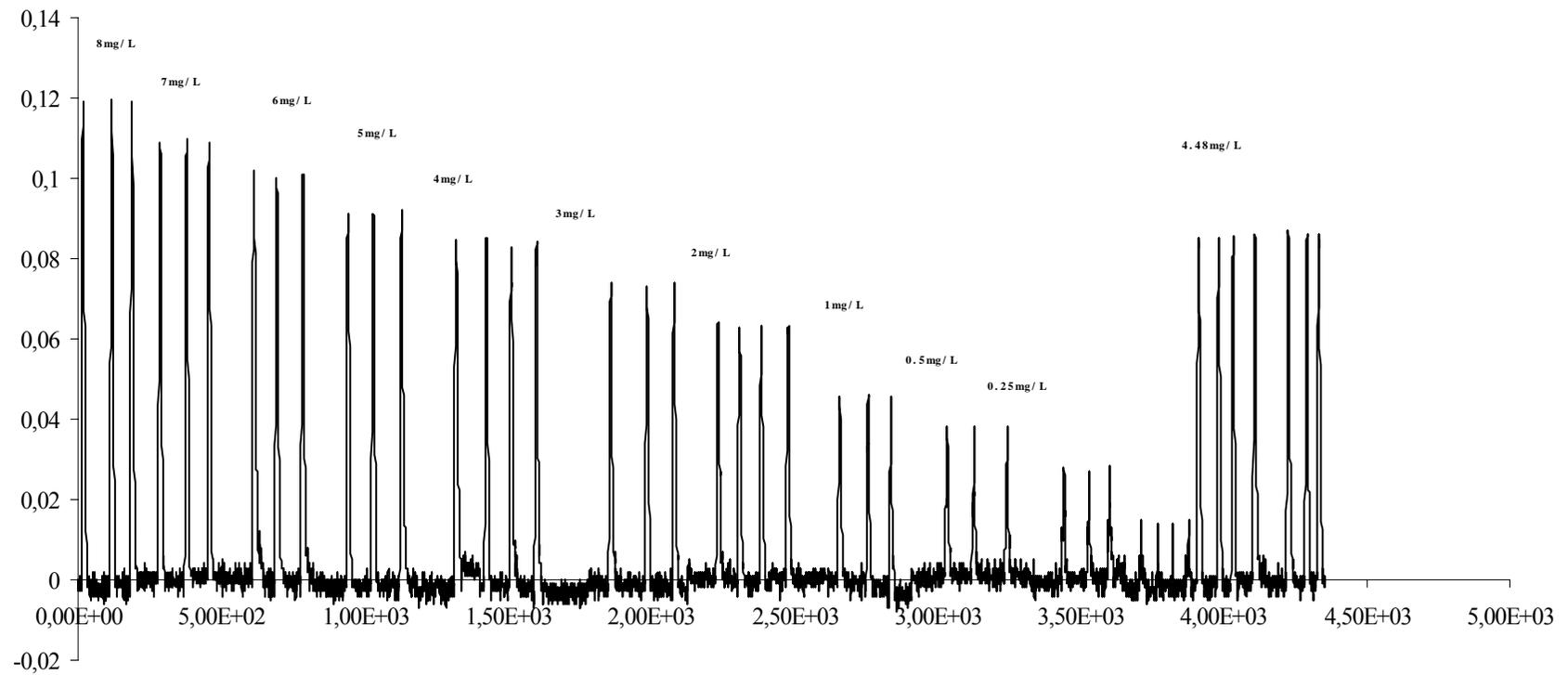
Una vez realizado y terminado todo el trabajo experimental, se puede concluir que sí se cumplieron los objetivos propuestos al inicio de este trabajo y con ello concluir lo siguiente:

- ❖ Se desarrolló un sistema automatizado por análisis por inyección en flujo y detección espectrofotométrica para la determinación de metales pesados (Hg, Pb y Cd) en medicamentos, utilizando ditizona micelar, por lo que se evita el uso de disolventes clorados los cuales son nocivos para la salud y el medio ambiente. Con ello se propone un método alternativo de química verde.
- ❖ Se logró desarrollar un método para especiar mercurio utilizando la configuración FIA propuesta. Con este método también se proponen alternativas en el tratamiento de la muestras, evitando la engorrosa extracción de los metales pesados utilizadas en otros métodos, y con ello proponer un método alternativo para realizar dicha prueba en matrices farmacéuticas.
- ❖ Se optimizaron las condiciones de trabajo para la cuantificación de los metales pesados (Hg, Pb y Cd) por FIA y ditizona micelar en muestras de medicamentos y/o materias primas. Además se comprobó que esta optimización es un método alternativo para la cuantificación de impurezas metálicas a nivel trazas en dichas matrices.
- ❖ Se logro estudiar y evaluar los posibles tratamientos de muestras o condiciones químicas e hidrodinámicas en la configuración FIA propuesta que nos permitieran especiar mercurio (prueba límite de mercurio), en muestras de medicamentos y/o materias primas.
- ❖ Se pudo comparar los diferentes resultados obtenidos en la determinación de Hg y metales totales en las muestras analizadas y con ello se logró generar toda la documentación necesaria para validar dichos métodos y proponer métodos analíticos que nos permitan determinar las impurezas metálicas contenidas en matrices farmacéuticas de forma más rápida y con alta precisión.

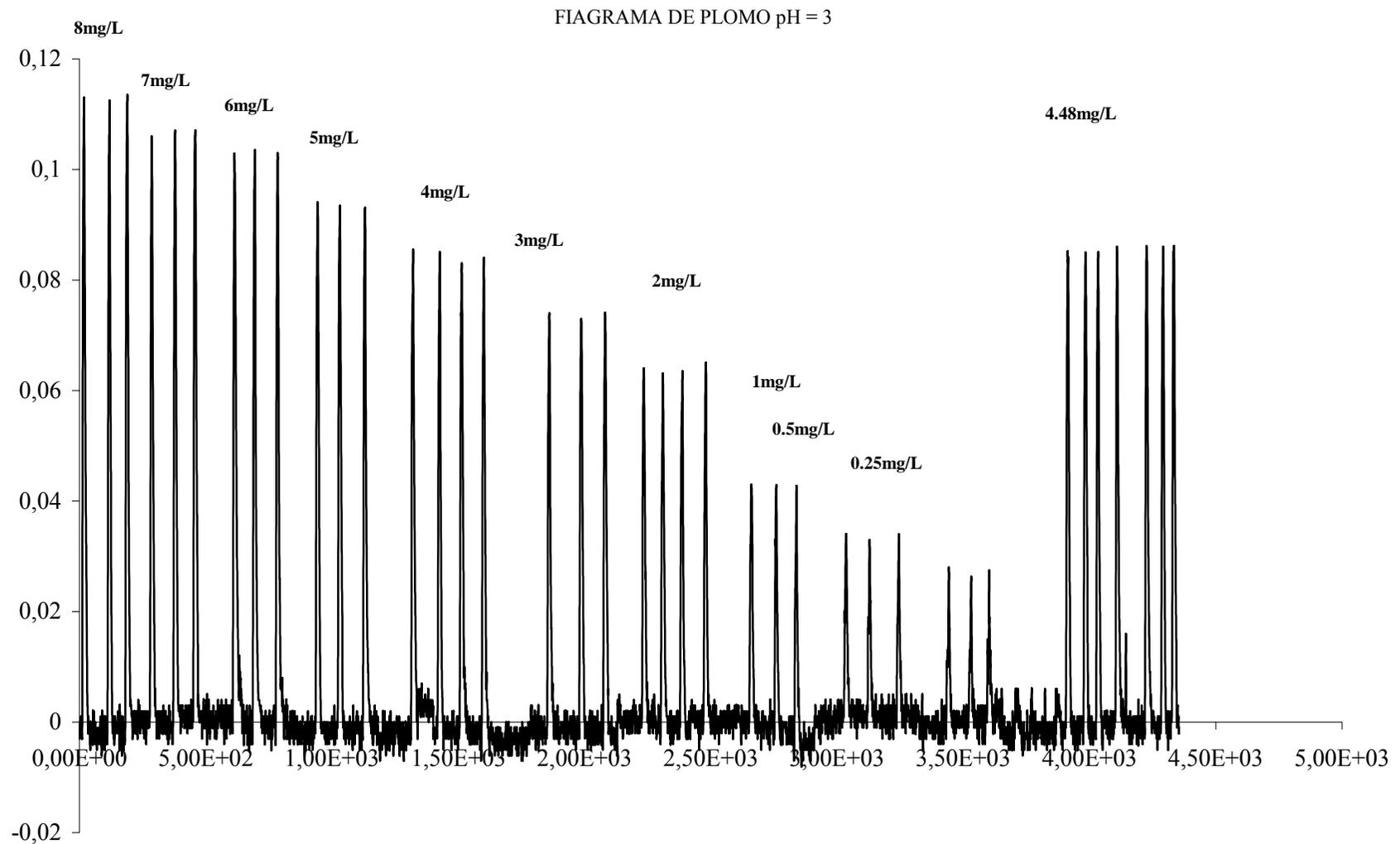
ANEXO I

FIAGRAMAS

FIAGRAMA DE MERCURIO pH = 3

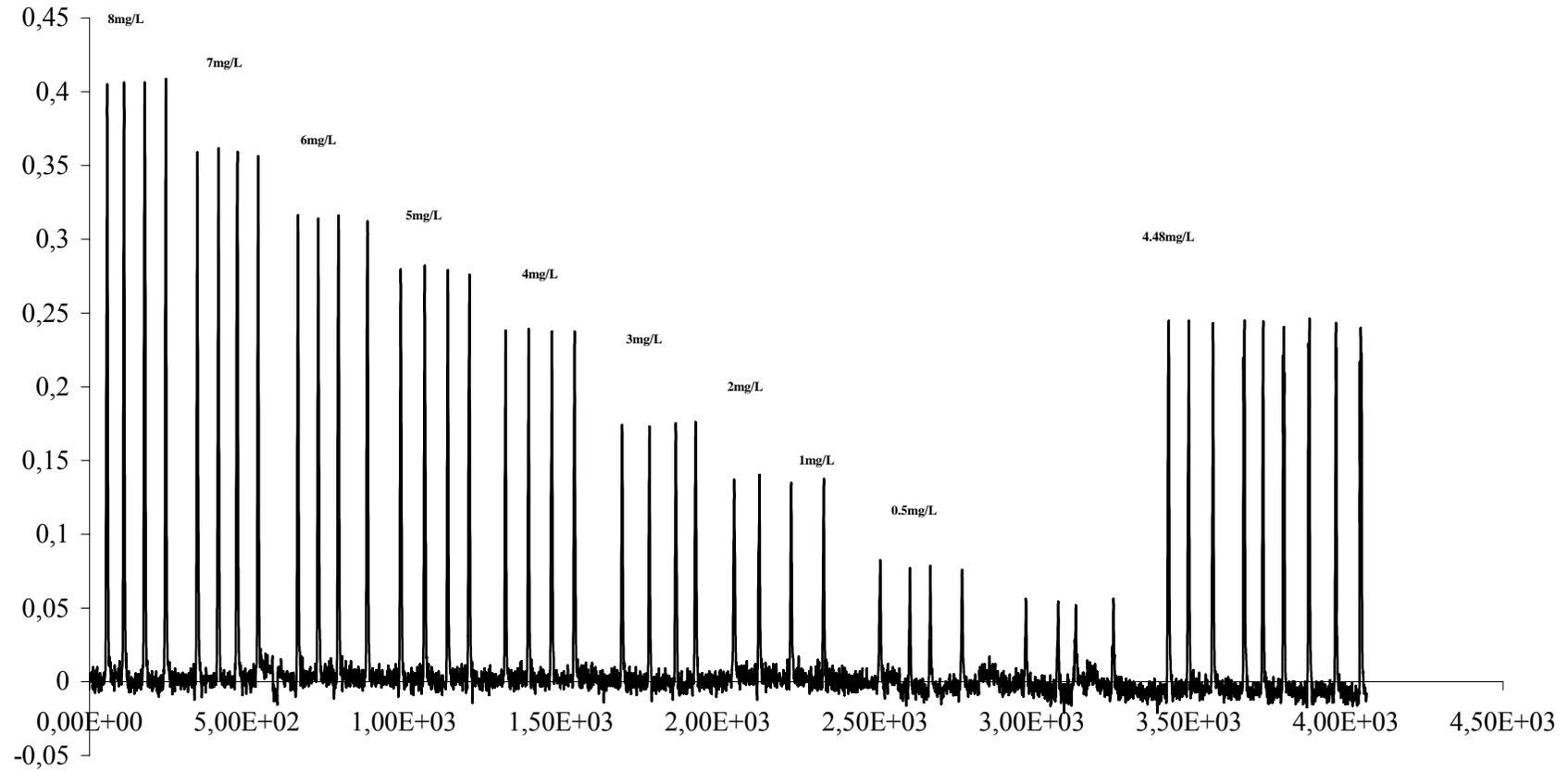


Figurama 1. Figurama obtenido para la curva de calibración de mercurio cuyas concentraciones se encuentran entre 0.5 y 8 mg/L.



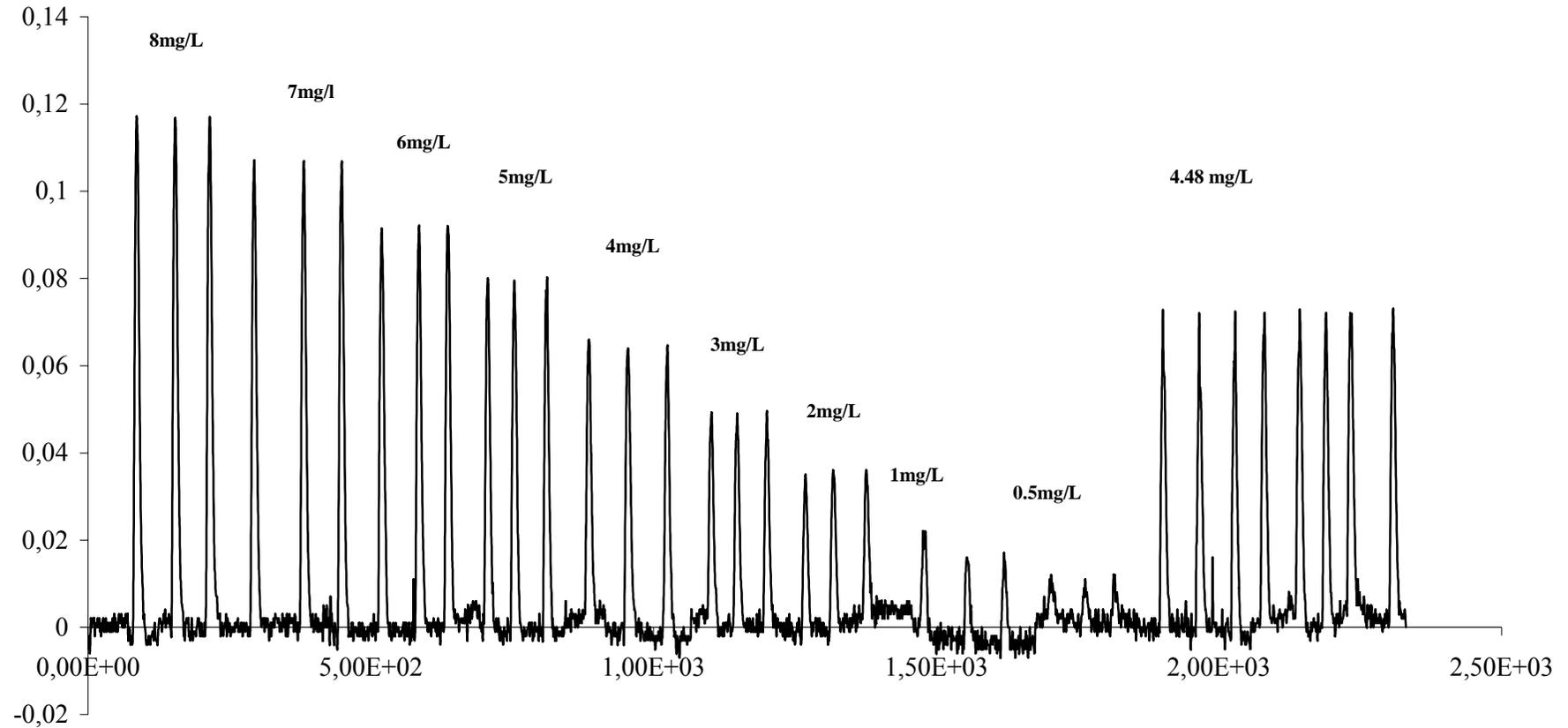
Figurama 2. Figurama obtenido para la curva de calibración de plomo cuyas concentraciones se encuentran entre 0.5 y 8 mg/L.

FIAGRAMA DE CADMIO pH = 3



Figurama 3. Figurama obtenido para la curva de calibración de cadmio cuyas concentraciones se encuentran entre 0,5 y 8 mg/L.

FIAGRAMA DE MERCURIO pH = 0



Figarama 4. Fiagrama obtenido para la curva de calibración de mercurio pH 0, cuyas concentraciones se encuentran entre 0.5 y 8 mg/L.

ANEXO II
REPETIBILIDAD, LIMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

Tabla 6. Repetibilidad para mercurio pH 3

REPETIBILIDAD		Conc. Inyectada 4.48 mg/L
Absorbancia	Concentración mg/L	
0,089	4,3375	Promedio 4,4481
0,09	4,4235	DESVESTA 0,0957
0,09	4,4235	
0,091	4,5095	
0,091	4,5095	
0,092	4,5955	D.E.R. 0.6883 %
0,089	4,3375	

Tabla 7. Repetibilidad para plomo pH 3

REPETIBILIDAD		Conc. Inyectada 4.48 mg/mL
Absorbancia	Concentración mg/L	
0,0850	4,4553	Promedio 4,4594
0,0850	4,4553	DESVESTA 0,0086
0,0848	4,4432	
0,0860	4,4655	
0,0860	4,4655	
0,0860	4,4655	D.E.R. 0.1931 %
0,0860	4,4655	

Tabla 8. Repetibilidad para cadmio pH 3

REPETIBILIDAD		Conc. Inyectada 4.48 PPM
Absorbancia	Concentración mg/L	
0,2430	4,4567	Promedio 4,4284
0,2420	4,4347	DESVESTA 0,0305
0,2410	4,4126	
0,2420	4,4347	
0,2390	4,3684	
0,2420	4,4347	D.E.R. 0.6882 %
0,2430	4,4567	

Tabla 9. Repetibilidad para mercurio pH 0

REPETIBILIDAD		Conc. Inyectada 4.48 PPM
Absorbancia	Concentración mg/L	
0,0492	4,4049	Promedio 4,445
0,0492	4,4049	DESVESTA 0,0752
0,0498	4,6107	
0,0492	4,4049	
0,0496	4,4423	D.E.R. 1.6918 %
0,0496	4,4423	
0,0492	4,4049	

Tabla10. Resultados de las pruebas de 7 días.

Resultados de las pruebas de siete días con los estándares certificados De mercurio a pH 3 con ditizona micelar mg/L							
Día							
Mercurio	1	2	3	4	5	6	7
Análisis 1	3,9053	4,0063	3,9861	3,6859	3,8697	3,8653	3,9053
Análisis 2	3,9956	3,9805	3,9810	3,8666	3,8646	3,8795	3,9956

Tabla de ANOVA para los datos de la tabla 10

Análisis de varianza						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para f
Entre grupos	0,00823028	1	0,00823028	1,0962	0,315735471	4,747221283
Dentro de los grupos	0,090097121	12	0,007508093			
Total	0,098327401	13				
S _r	0,086649255	D.E.R.	2,214182013	REPETIBILIDAD		
S ² entre días	0,000361093					
S ² _{wr}	0,007869187					
S _{wr}	0,088708437	D.E.R.	2,266801091	REPRODUCIBILIDAD		

Tabla 11. Resultados de las pruebas de 7 días.

Resultados de las pruebas de siete días con los estándares certificados De plomo a pH 3 con ditizona micelar mg/L							
Día							
Plomo	1	2	3	4	5	6	7
Análisis 1	4,0749	3,9658	3,9543	3,9203	3,9266	3,9795	4,0749
Análisis 2	4,0116	3,9655	3,9713	3,9368	3,9346	3,9840	4,0115

Tabla de ANOVA para los datos de la tabla 11

Análisis de varianza						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,0005	1,0000	0,0005	0,1813	0,6778	4,7472
Dentro de los grupos	0,0310	12,0000	0,0026			
Total	0,0315	13,0000				
S_R	0,0509	D.E.R.	1,2779	REPETIBILIDAD		
$S^2_{\text{entre días}}$	-0,0011					
S^2_{WR}	0,0015					
S_{WR}	0,0391	D.E.R.	0,9821	REPRODUCIBILIDAD		

Tabla 12. Resultados de las pruebas de 7 días.

Resultados de las pruebas de siete días con los estándares certificados cadmio a pH 3 con ditizona micelar mg/L							
Día							
Cadmio	1	2	3	4	5	6	7
Análisis 1	3,9076	3,9380	3,9719	3,9662	3,9656	4,0313	3,9076
Análisis 2	3,9148	3,9479	3,9634	3,9617	3,9639	4,0153	3,9148

Tabla de ANOVA para los datos de la tabla 12

Análisis de varianza						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,0000	1,0000	0,0000	0,0019	0,9660	4,7472
Dentro de los grupos	0,0182	12,0000	0,0015			
Total	0,0182	13,0000				
S_R	0,0390	D.E.R.	0,9855	REPETIBILIDAD		
S^2 entre días	-0,0008					
S^2_{WR}	0,0008					
S_{WR}	0,0276	D.E.R.	0,6975	REPRODUCIBILIDAD		

Tabla 13. Resultados de las pruebas de 7 días.

Resultados de las pruebas de siete días con los estándares certificados De mercurio a pH 0 con ditizona micelar mg/L							
Día							
Mercurio	1	2	3	4	5	6	7
Análisis 1	4,0431	4,0467	4,0573	4,0537	4,0236	4,0041	4,0857
Análisis 2	4,0236	4,0573	4,0485	4,0342	4,0077	3,9988	4,0768

Tabla de ANOVA para los datos de la tabla 13

Análisis de varianza						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,0003	1,0000	0,0003	0,4508	0,5147	4,7472
Dentro de los grupos	0,0086	12,0000	0,0007			
Total	0,0090	13,0000				
S _R	0,0268	D.E.R.	0,6640	REPETIBILIDAD		
S ² entre días	-0,0002					
S ² _{WR}	0,0005					
S _{WR}	0,0228	D.E.R.	0,5655	REPRODUCIBILIDAD		

Límite de detección y cuantificación

Datos para los cálculos de límite de detección y cuantificación de mercurio para pH 3											
								No. De puntos	9		
Xi	Xi ²	Yi	Ŷi	[yi - ŷi]	(yi - ŷi) ²	Xi - x	(xi - x) ²	N-2	7		
8	64	0,1305	0,1316	0,0011	0,0000	3,9444	15,5586	Pendiente	0,0116	RI	0,9995
7	49	0,1190	0,1200	0,0010	0,0000	2,9444	8,6698	Ordenada	0,0386		
6	36	0,1096	0,1083	0,0013	0,0000	1,9444	3,7809				
5	25	0,0973	0,0967	0,0006	0,0000	0,9444	0,8920	T	2,3600		
4	16	0,0857	0,0851	0,0006	0,0000	- 0,0556	0,0031	95%(n-2)			
3	9	0,0748	0,0735	0,0014	0,0000	- 1,0556	1,1142				
2	4	0,0616	0,0618	0,0003	0,0000	- 2,0556	4,2253				
1	1	0,0496	0,0502	0,0006	0,0000	- 3,0556	9,3364				
0,5	0,25	0,0434	0,0444	0,0010	0,0000	- 3,5556	12,6420				
4,0556	204,25				0,0000		56,2222				

Sy/x =	0,00106								
Sm =	0,00014						0,00035		
Sb =	0,00067						0,00165		
r =	0,99948								
LD(mg/L)	0,27349								
LC(mg/L)	0,91162								
Ecuación Y=	0,011626		±	0,000334	+	0,038571	±	0,001589	

El valor de Y en el límite de detección está dado por $0,03857 + 3(0,00106)$, es decir, 0,04175. El uso de la ecuación de regresión conduce a un límite de detección de $X = (0,04175 - 0,03857)/0,011616128 = 0,2735$ mg/L.

El valor de Y en el límite de cuantificación está dado por $0,03857 + 10(0,00106)$, es decir, 0,04917. El uso de la ecuación de regresión conduce a un límite de cuantificación de $X = (0,04917 - 0,03857)/0,011616128 = 0,9116$ mg/L.

Limite de detección y cuantificación

Datos para los cálculos de límite de detección y cuantificación de plomo para pH 3											
Xi	Xi ²	Yi	Ŷi	[yi - ŷi]	(yi - ŷi) ²	Xi - x	(xi - x) ²	No. De puntos	9		
								N-2	7		
8	64	0,1164	0,1172	0,0008	0,0000	3,9444	15,5586	Pendiente	0,0091	RL	0,9991
7	49	0,1069	0,1081	0,0012	0,0000	2,9444	8,6698	Ordenada	0,0446		
6	36	0,1003	0,0990	0,0013	0,0000	1,9444	3,7809				
5	25	0,0903	0,0899	0,0004	0,0000	0,9444	0,8920	T	2,3600		
4	16	0,0813	0,0809	0,0005	0,0000	- 0,0556	0,0031	95%(n-2)			
3	9	0,0726	0,0718	0,0008	0,0000	- 1,0556	1,1142				
2	4	0,0639	0,0627	0,0012	0,0000	- 2,0556	4,2253				
1	1	0,0524	0,0537	0,0012	0,0000	- 3,0556	9,3364				
0,5	0,25	0,0482	0,0491	0,0009	0,0000	- 3,5556	12,6420				
4,0556	204,25				0,0000		56,2222				

Sy/x =	0,0011								
Sm =	0,00015							0,00036	
Sb =	0,0007							0,00171	
r =	0,99909								
LD(mg/L)	0,3637								
LC(mg/L)	1,2122								
Ecuación Y=	0,009071		±	0,000346	+	0,044585	±	0,001649	

El valor de Y en el límite de detección está dado por $0.044585 + 3(0.0011)$, es decir, 0.047885. El uso de la ecuación de regresión conduce a un límite de detección de $X = (0.047885 - 0.044585)/0.00907138 = 0.3637$ mg/L.

El valor de Y en el límite de cuantificación está dado por $0.044585 + 10(0.0011)$, es decir, 0.055585. El uso de la ecuación de regresión conduce a un límite de cuantificación de $X = (0.055585 - 0.044585)/0.00907138 = 1.2122$ mg/L.

Limite de detección y cuantificación

Datos para los cálculos de limite de detección y cuantificación de cadmio para pH 3											
Xi	Xi ²	Yi	Ŷi	[yi - ŷi]	(yi - ŷi) ²	Xi - x	(xi - x) ²	No. De puntos N-2	9 7		
8	64	0,4060	0,4038	0,0022	0,0000	3,9444	15,5586	Pendiente	0,0456	Rl	0,9997
7	49	0,3573	0,3581	0,0009	0,0000	2,9444	8,6698	Ordenada	0,0386		
6	36	0,3143	0,3125	0,0018	0,0000	1,9444	3,7809				
5	25	0,2665	0,2668	0,0003	0,0000	0,9444	0,8920	T 95%(n-2)	2,3600		
4	16	0,2175	0,2212	0,0037	0,0000	- 0,0556	0,0031				
3	9	0,1745	0,1755	0,0010	0,0000	- 1,0556	1,1142				
2	4	0,1265	0,1299	0,0034	0,0000	- 2,0556	4,2253				
1	1	0,0870	0,0842	0,0028	0,0000	- 3,0556	9,3364				
0,5	0,25	0,0640	0,0614	0,0026	0,0000	- 3,5556	12,6420				
4,0556	204,25				0,0000		56,2222				

Sy/x =	0,00266								
Sm =	0,00035						0,00087		
Sb =	0,00169						0,00413		
r =	0,99969								
LD(mg/L)	0,17455								
LC(mg/L)	0,58184								
Ecuación Y=	0,045647		±	0,000836	+	0,038597	±	0,003982	

El valor de Y en el limite de detección está dado por $0,038597 + 3(0,00266)$, es decir, 0,046577. El uso de la ecuación de regresión conduce a un límite de detección de $X = (0,046577 - 0,038597) / 0,045647 = 0,1746 \text{ mg/L}$.

El valor de Y en el límite de cuantificación está dado por $0,038597 + 10(0,00266)$, es decir, 0,065197. El uso de la ecuación de regresión conduce a un límite de cuantificación de $X = (0,065197 - 0,038597) / 0,045647 = 0,5818 \text{ mg/L}$.

Limite de detección y cuantificación

Datos para los cálculos de limite de detección y cuantificación de mercurio para pH 0 con tratamiento nítrico-sulfúrico											
								No. De puntos	9		
Xi	Xi ²	Yi	Ŷi	[yi - ŷi]	(yi - ŷi) ²	Xi - x	(xi - x) ²	N-2	7		
8	64	0,1170	0,1198	0,0028	0,0000	3,9444	15,5586	Pendiente	0,0141	RI	0,9991
7	49	0,1069	0,1057	0,0012	0,0000	2,9444	8,6698	Ordenada	0,0070		
6	36	0,0915	0,0916	0,0001	0,0000	1,9444	3,7809				
5	25	0,0798	0,0775	0,0023	0,0000	0,9444	0,8920	T	2,3600		
4	16	0,0644	0,0634	0,0010	0,0000	-	0,0031	95%(n-2)			
3	9	0,0493	0,0493	0,0001	0,0000	-	1,1142				
2	4	0,0352	0,0352	0,0000	0,0000	-	4,2253				
1	1	0,0218	0,0211	0,0007	0,0000	-	9,3364				
0,5	0,25	0,0119	0,0141	0,0022	0,0000	-	12,6420				
4,0556	204,25				0,0000		56,2222				

Sy/x =	0,00172								
Sm =	0,00023						0,00056		
Sb =	0,0011						0,00268		
r =	0,99907								
LD(mg/L)	0,36698								
LC(mg/L)	1,22328								
Ecuación Y=	0,014096		±	0,000543	+	0,007032	±	0,002585	

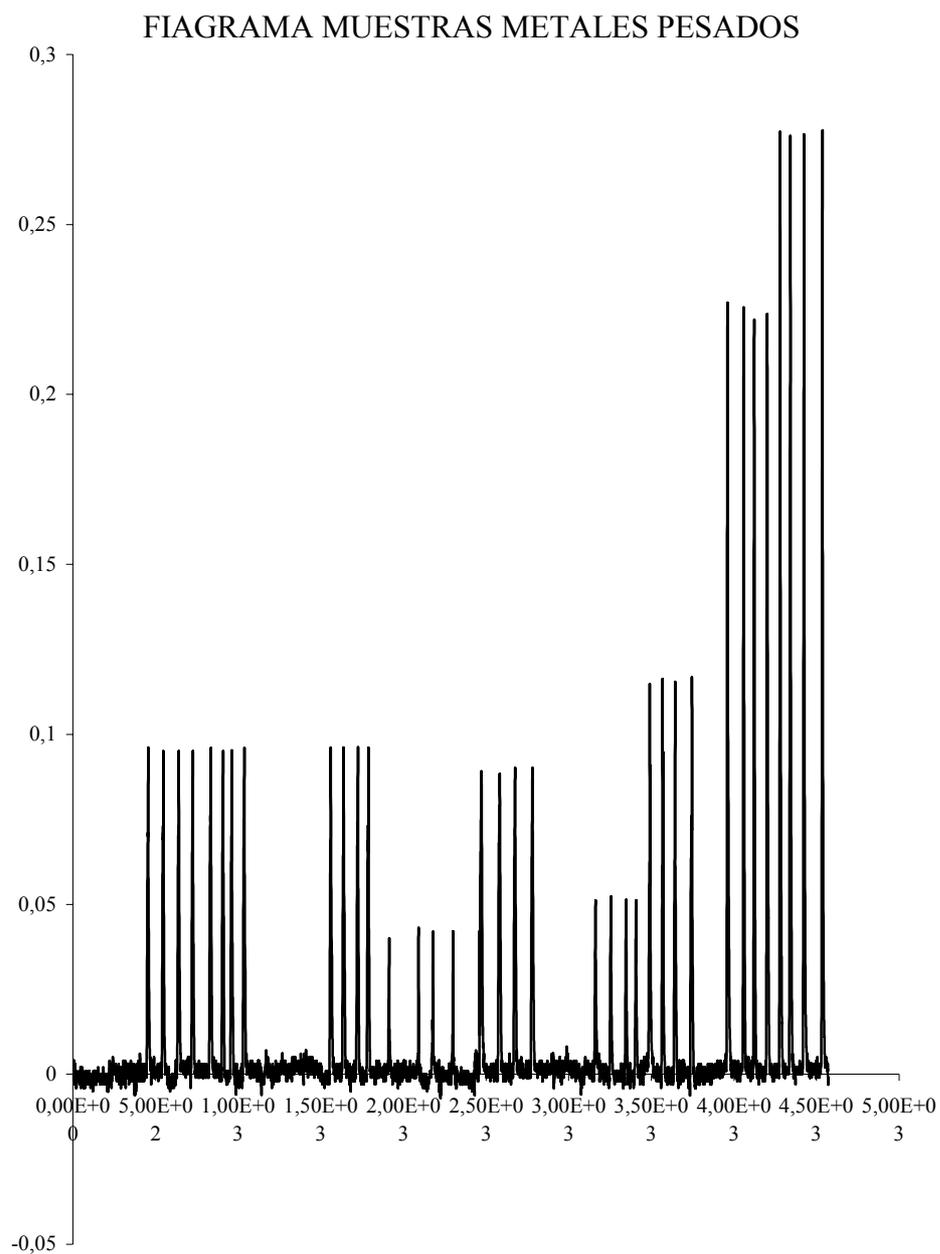
El valor de Y en el límite de detección está dado por $0,007032 + 3(0,00172)$, es decir, 0.012192. El uso de la ecuación de regresión conduce a un límite de detección de $X = (0,012192 - 0,007032) / 0,014096 = 0,3670 \text{ mg/L}$.

El valor de Y en el límite de cuantificación está dado por $0,007032 + 10(0,00172)$, es decir, 0.024232. El uso de la ecuación de regresión conduce a un límite de cuantificación de $X = (0,024232 - 0,007032) / 0,014096 = 1,2233 \text{ mg/L}$.

ANEXO III

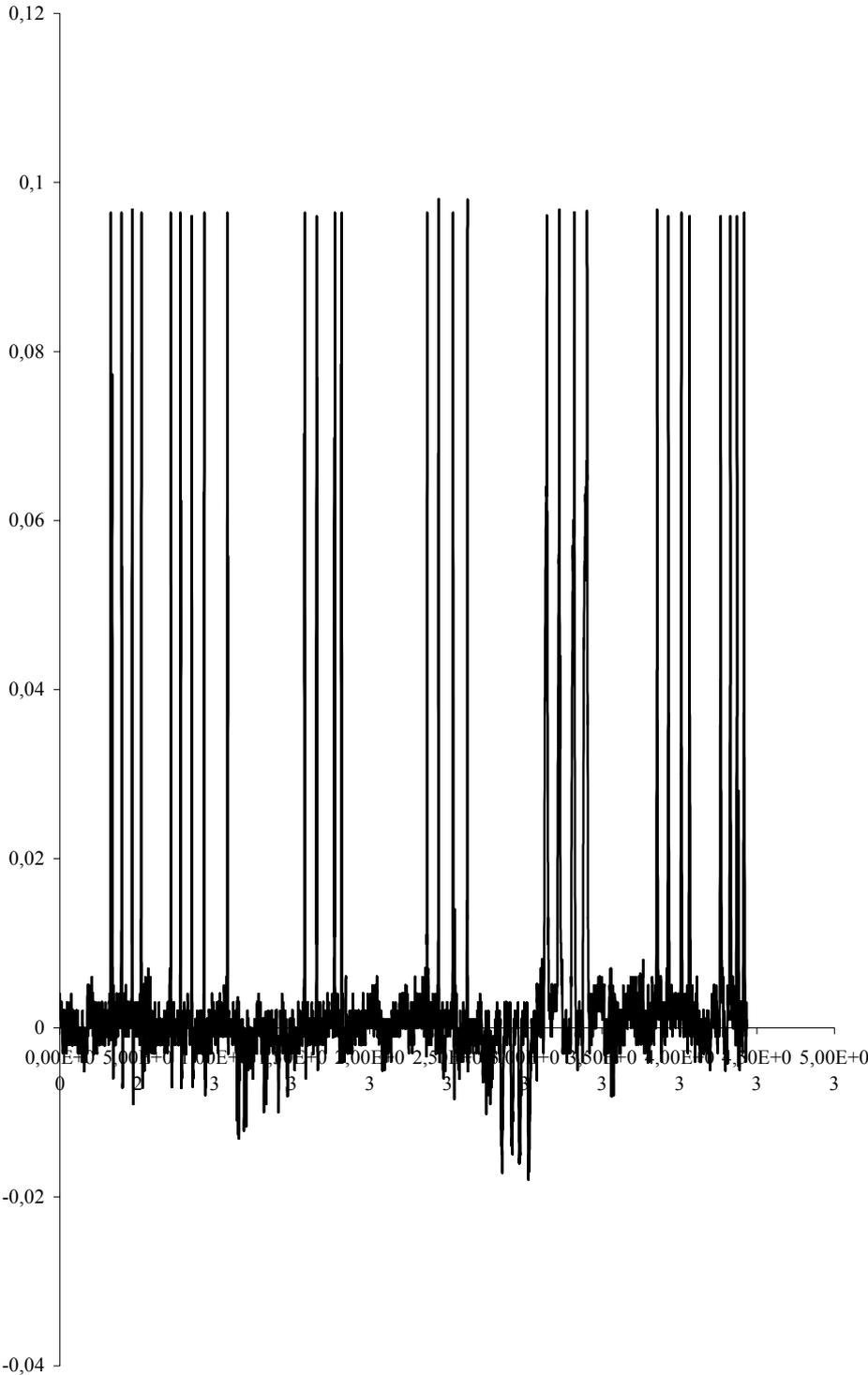
MUESTRAS ANALIZADAS

FIAGRAMA



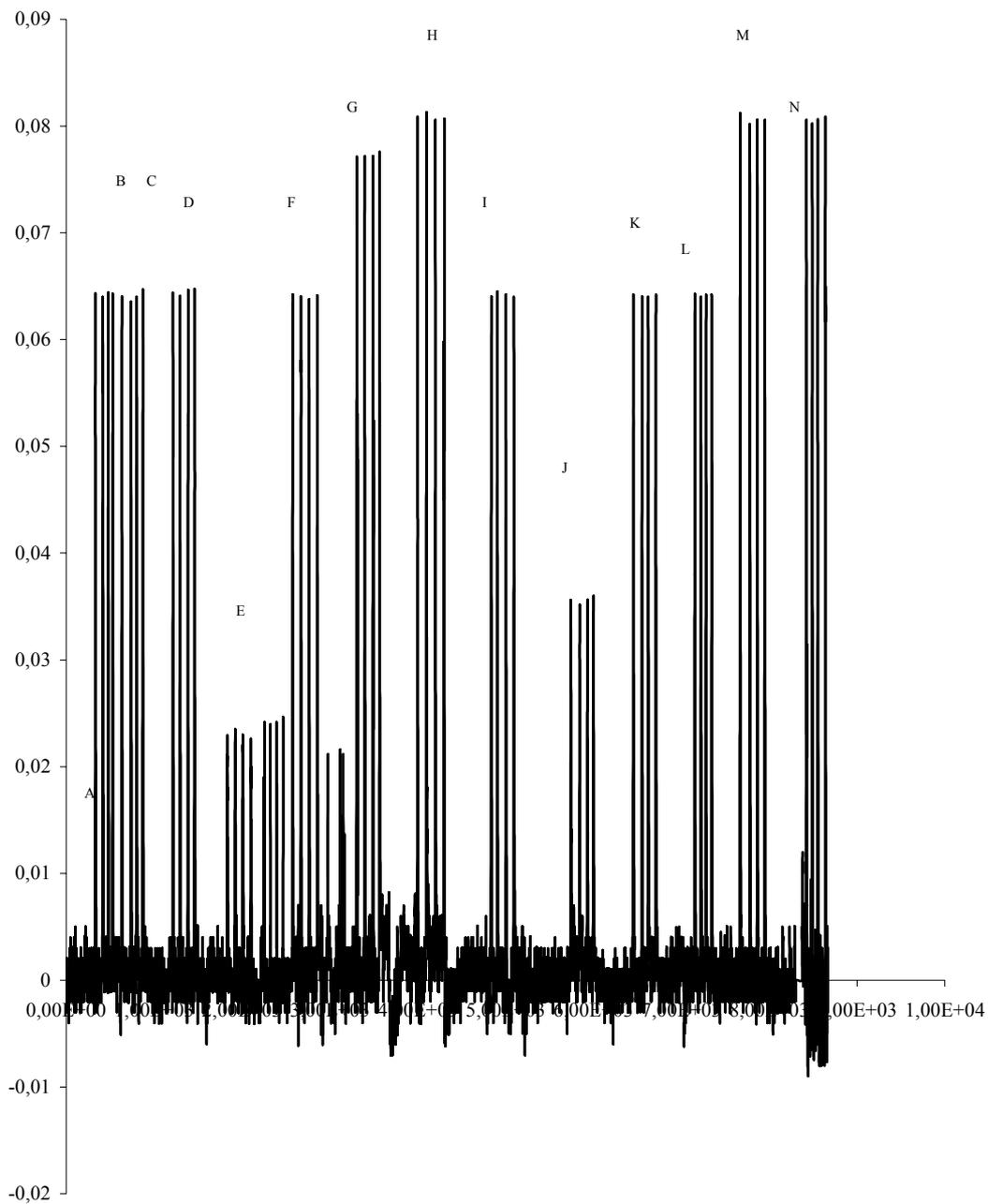
Figurama 5. Muestras (Metales Totales).

FIAGRAMA PRUEBA LIMTE DE METALES
TOTALES



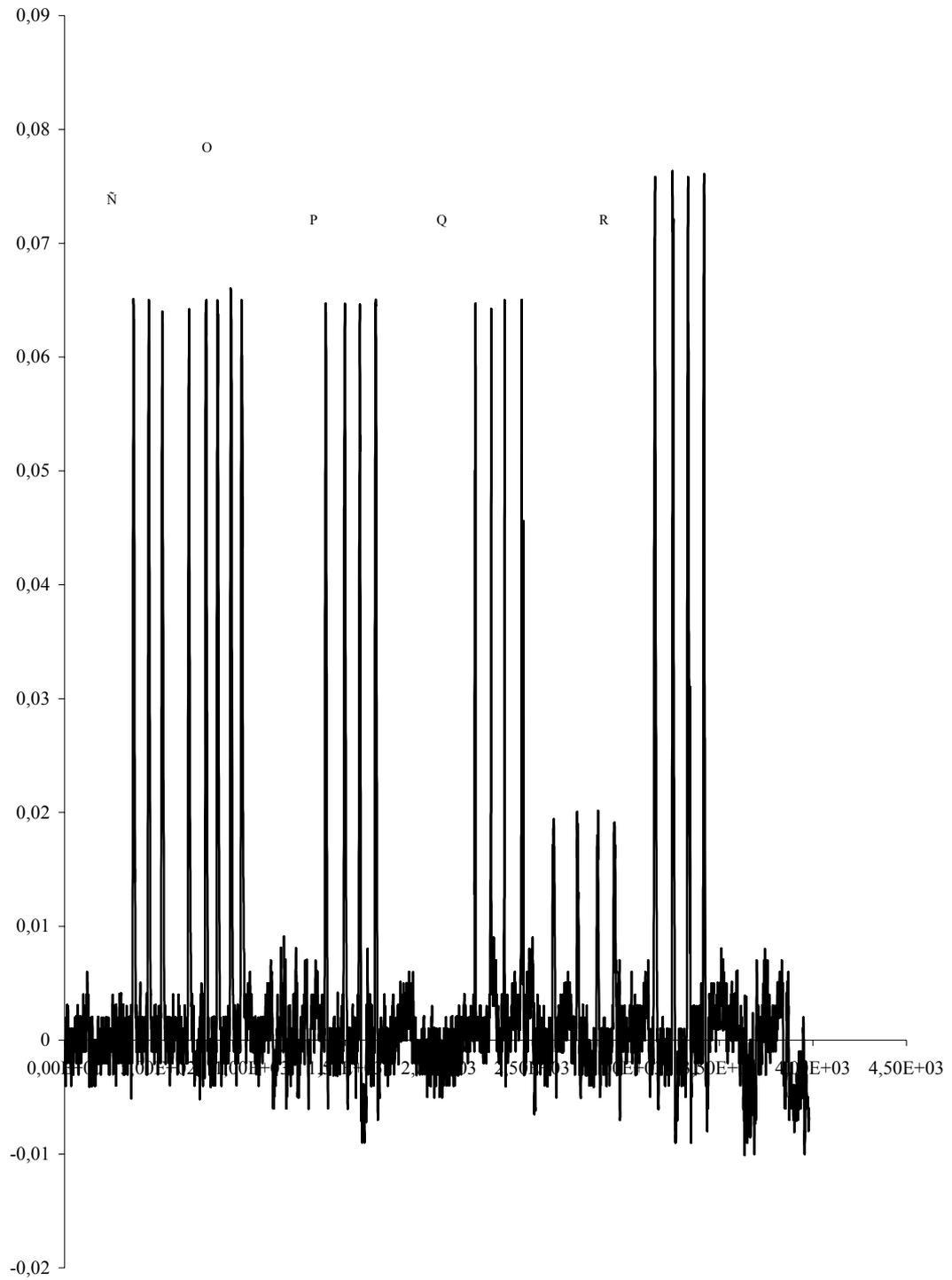
Figarama 6. Muestras (Metales Totales).

FIAGRAMA DE LAS MUESTRAS PARA PRUEBA LIMITE DE MERCURIO



Figurama 8. Muestras (Prueba Limite de Mercurio).

FIGRAMA DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS PARA
PRUEBA LIMITE DE MERCURIO



Figrama 7. Muestras (Prueba Limite de Mercurio).

Los resultados para la determinación de metales totales y prueba límite de mercurio, en muestras de medicamentos y/o materias primas se muestran en la tabla 14 y 15.

Tabla 14. Muestras analizadas para metales totales.

PRUEBA DE METALES TOTALES				
Muestras	Concentración encontrada en la disolución mg/ L	mg de metales/ g muestra	Adición de Hg/Pb/Cd mg/L	% De Recuperación
a) Blanco	0		0	0
b)Blanco Fortificado	≤ L. D.		- 2 - 2 - 1-	99,6
c)Punto en la Curva	≤ L. D.		- 2 - 2 - 1-	99,4
d)Escaflan	≤ L. D.		- 2 - 2 - 1-	99,4
e)Espacil	≤ L. D.		- 2 - 2 - 1-	99,2
f)Afazol	≤ L. D.		- 2 - 2 - 1-	99,4
g)D- Sorbitol	≤ L. D.		- 2 - 2 - 1-	99,4
h)Afrinex	≤ L. D.		- 2 - 2 - 1-	99,4
i)AAS	≤ L. D.		- 2 - 2 - 1-	99,4
j)Sacarina	≤ L. D.		- 2 - 2 - 1-	99,4
k)Aspartame	≤ L. D.		- 2 - 2 - 1-	99,2
l)Ácido cítrico	≤ L. D.		- 2 - 2 - 1-	99,7
m)Celulosa	0.89	0.11	- 2 - 2 - 1-	99,9
n)Almidón	1.95	0.24	- 2 - 2 - 1-	99,9
ñ)Sacarosa	≤ L. D.		- 2 - 2 - 1-	99,6
o)Broncolin	≤ L. D.		- 2 - 2 - 1-	99,4
p)Agua contaminada	16.06	2.01	- 2 - 2 - 1-	99,9

Tabla 15. Muestras analizadas para prueba límite de mercurio.

Muestras	Concentración encontrada en la disolución mg/ L	mg de metales/ g muestra	Adición de Hg	% De Recuperación
A) Blanco	0		0	0
B) Blanco Fortificado	≤ L. D.		4	100.7
C) Punto Curva Calibración	≤ L. D.		4	101.0
D) Carbowax	≤ L. D.		4	101.2
E) Espacil	≤ L. D.		1	103.2
F) Respencil *	1.228	0.307	4	100.0
G) Dexavion	0.998	0.125	4	99.6
H) Eskafan	≤ L. D.		4	99.98
I) Afozol	≤ L. D.		4	101.1
J) Flamicina	≤ L. D.		2	101.4
K) Sacarina	≤ L. D.		4	101.1
L) Aspartame	≤ L. D.		5	100.1
M) AAS	≤ L. D.		5	100.2
N) Celulosa	≤ L. D.		4	101.5
Ñ) Almidón	≤ L. D.		4	101.2
O) Ácido cítrico	≤ L. D.		4	101.2
P) Sacarosa	≤ L. D.		4	101.5
Q) Broncolin	≤ L. D.		4	101.2
R) Agua contaminada	7.3	0.9125	4	101.1

* Esta muestra (Respencil) se envió al laboratorio de absorción atómica de la USAI Facultad de Química, para comparar y corroborar el resultado del método propuestos con absorción atómica. En el Anexo IV se cita dicho estudio.

ANEXO IV



FACULTAD DE QUÍMICA - UNAM
UNIDAD DE SERVICIOS DE APOYO A LA INVESTIGACIÓN
LAB. DE ABSORCIÓN ATÓMICA
TEL. 56232527- FAX 56232522- OFNA 56232521

U.S.A.I.

Clave análisis: 30-141106-AT

INFORME DE ANÁLISIS

Dra. Ma. Del Pilar Cañizares Macías
Depto de Química Analítica, Facultad de Química UNAM
P R E S E N T E

A continuación, se presentan los resultados obtenidos para el análisis cuantitativo de Mercurio a una muestra de penicilina liofilizada. La cual se encontraba envasada en un vial de vidrio transparente.

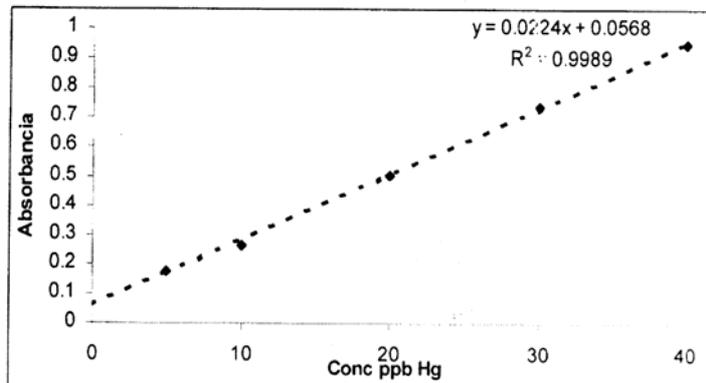
Resultados:

Muestra	Mercurio %
Penicilina liofilizada	0.0354

NOTA: Se anexan: curva de calibración obtenida durante el análisis, lecturas obtenidas y los cálculos necesarios para llegar a la concentración reportada:

Mercurio

Conc. ppm	Absorbancia
5	0.178
10	0.2657
20	0.5039
30	0.7375
40	0.9455





UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE QUÍMICA - UNAM
UNIDAD DE SERVICIOS DE APOYO A LA INVESTIGACIÓN
LAB. DE ABSORCIÓN ATÓMICA
TEL. 56232527- FAX 56232522- OFNA 56232521

U.S.A.I.

Labels	Hg Abs	Hg ug/L	muestra- blanco	multiplico * 0.025= µg	multiplico * factor de dilución= 20	peso de la muestra en µg	% Hg en, la muestra	Promedio
sc	0.3126	11.4196						
blanco	0.2882	10.3304						
1	0.5088	20.1786	9.8482	0.2462	4.9241	14200.0	0.0347	
2	0.5112	20.2857	9.9554	0.2489	4.9777	22600.0	0.0220	
3	0.5081	20.1473	9.8170	0.2454	4.9085	15100.0	0.0325	
4	0.5038	19.9554	9.6250	0.2406	4.8125	9200.0	0.0523	0.0354
sc	0.3171	11.6205						

sc = concentración de chequeo (dada por el fabricante y es característica para cada elemento), en el caso del Mercurio esta concentración es de 11.5 ppb. Esta solución se intercala en el análisis, si la concentración obtenida es de $\pm 10\%$ el análisis continua, en caso contrario se procede a la recalibración del equipo.

Parámetros instrumentales:

Mercurio	
Longitud de onda (nm)	253.7 nm
Slit (ancho de ventana) (nm)	0.5 nm
Método	Curva de calibración
Método atomización	Generador de hidruros (vapor frío)

La muestra fue puesta a peso constante antes de ser tratadas con HNO_3 suprapuro, por triplicado. El tratamiento de la muestra se realizó en un horno de microondas marca CEM, modelo MDS 2000.

Equipo empleado: Varian Spectr AA220, con sistema generador de hidruros VGA77.

Ciudad Universitaria, México D.F., a 30 de noviembre, 2006

Q. ARACELI TOVAR TOVAR.
Responsable del Laboratorio
de Absorción Atómica

BIBLIOGRAFÍA

- 1) J. Ruzicka & E. H. Hansen, *Analytica Chimica Acta*, 78 (1975) 145 – 157.
- 2) J. Ruzicka & E. H. Hansen, *Analytical Chemistry*, March 1 (2000) 212 – 217.
- 3) R. P. Sartini, E. A. G. Zagatto & C. C. Oliveira; *J. Chem. Ed.* 77(6), 2000 (735 – 737).
- 4) <http://www/GlobalFIA.com>, FIA – SIA Tutorial, Lesson 1, pp1.
- 5) Kate Grudpan, Colin Taylor, Ans Sitter & Cornelius Keller; *Fresenius J. Anal. Chem.* 1993; 346: 882-884.
- 6) • J. Ruzicka & e. H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, 1975, 78,145.
 - K. K. Stewart, g. R. Beecher & p. E. Hare, *anal. Biochem.*, 1976, 70 167.
- 7) J. K. Foreman y P. B. Stockwe11, *Automatic Chemical Analysis*. New York: Wiley, 1975; M. Valcárcel.
- 8) M. D. Luque de Castro, *Automatic Methods of Analysis*. New York: Elsevier, 1988; V. Cerda.
- 9) G. Ramis, *an Introduction to Laboratory Automation*. New York: Wiley, 1990.
- 10) G. D. Clark, D. A. Whitman, G. D. Christian.
- 11) <http://es.wikipedia.Org/wiki/Hg>
- 12) <http://es.wikipedia.Org/wiki/Pb>
- 13) <http://es.wikipedia.Org/wiki/Cd>
- 14) *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos*, paginas: 485-486, 4887-489 y 522-524. 8ª Edición.
- 15) *The United Estates Pharmacopeia, NF USP 30* paginas: 1727-1732.
- 16) *European Pharmacopoeia, 5.0 vol. 1* 5ª Edición, paginas: 104-107.
- 17) J. C Miller J. N Miller, *Estadística para Química Analítica, Segunda Edición*, 1988. Capítulos del I al V.

- 18) Annual Book of ASTM Standards. American Society for Testing and Materials. Vol. 11.01 (D3370-3382) (D 3867-3890) Philadelphia, PA. 1991.
- 19) W. D. HARKINS y H. F. JORRAN: J. Am. Chem. Soc. 52, 1751, 1930; H. L. CUPPLES: J. Phys. Chem. 51, 1341, 1947.
- 20) T. A. CAMPBELL, J. E. CHRISTIAN y J. R. EATON: J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed. 44, 509, 1955.
- 21) W. D. HARKINS: Physical Chemistry of Surface Films, Reinhold Publishing Co., Nueva York, 1952, p. 96.
- 22) I. LANGMUIR: J. Am. Chem. Soc. 39, 1865, 1917.
- 23) N. K. ADAM: The Physics and Chemistry of Surfaces, Oxford University Press, Londres, 1941, Cap. 2.
- 24) W. D. HARKINS: The Physical Chemistry of Surface Films, Reinhold Publishing Co., Nueva York, 1952, p. 119.
- 25) H. SABOTKA: Monomolecular Layers, Amer. Assoc. Adv. Sci., Washington, 1954.
- 26) N. EVCIM y M. BARR: J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed. 44, 570, 1955.
- 27) M. BARR y S. ARNISTA: J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed. 46, 486, 490, 493, 1957.
- 28) N. A. BATUYIOS y E. A. BRECHT: J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed. 46, 524, 1957.
- 29) P. A. WINSOR: Solvent properties of Anaphiphilic Compounds, Butterworth's Scientific Publications, Londres, 1954; Mfg. Chemist 27, 89, 1956.
- 30) W. C. GRIFFIN: J. Soc. Cosmetic Chemists 1, 311, 1949.
- 31) C. D. MOORE y M. BELL: Soap, Perfumery and Cosmetics 29, 893, 1956.
- 32) H. L. GREENWALD, G. L. BROWN y M. N. FINEMAN: Anal. Chem. 28, 1693, 1956.
- 33) C. ENGLER y E. DIECKHOFF: Arch. Pharm. 230, 561, 1892.

- 34) I. REICH: J. Phys. Chem. 60, 260, 1956.
- 35) A. J. MONTEBOVI: J. Am. Pharm. Assoc., Pract. Ed. 11, 107, 1950; 12. 565, 725, 1951; 15, 162, 1954; W. J. O'MALLEY, L. PENNATI y A. N. MARTIN: J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed. 47, 334, 1958.
- 36) R. J. AONOVAN, L. M. OHMART y M. J. STOKLOSA: J. Am. Pharm. Assoc., Pract. Ed. 15, 166, 1954; M. J. STOKLOSA y L. M. OHMART: 1.5, 228. 1954.
- 37) R. W. APPLEWHITE, A. P. BUCKLEY y L. W. NOBLES: J. Pharm. Assoc, Pract. Ed. 15, 164, 1954.
- 38) J. F. YANIELLI: Cell Physiology and Pharmacology, Elsevier Publ. Co., Inc., Amsterdam, 1950, p. 48.
- 39) HARRIS DANIEL C. Análisis Químico Cuantitativo, 2da. Edición, E Editorial Reverté, España 2001.