



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**Determinación de mercurio en materia prima y
medicamentos mediante la formación de ditizonato
de mercurio, en medio cloroformo.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
LICENCIADO EN QUÍMICA**

PRESENTA:

Luis Arturo Caballero Montesinos

ASESORES:

Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez

M. en C. Pablo Hernández Matamoros

CUAUTITLÁN IZCALLI. ESTADO DE MÉXICO, 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN



UNAM
CUAUTITLÁN

DEPARTAMENTO
DE TITULACIÓN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: DRA. MARIA DEL CARMEN VALDERRAMA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de tesis y examen profesional.**

Determinación de mercurio en materia prima y medicamentos mediante la formación de ditizonato de mercurio, en medio cloroformo.

Que presenta el pasante: **Luis Arturo Caballero Montesinos**
Con número de cuenta: **314128942** para obtener el título de: **Químico**

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 18 de Enero de 2024.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	D.A.R. Juan José Díaz Esquivel	
VOCAL	Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez	
SECRETARIO	Dra. Miriam Aidé Castillo Rodríguez	
1er. SUPLENTE	M. en C. Gabriel Israel Nava Nabté	
2do. SUPLENTE	Dra. Gabriela Rodríguez Patiño	

NOTA: Los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.
En caso de que algún miembro del jurado no pueda asistir al examen profesional deberá dar aviso por anticipado al departamento.

Índice General

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM 13va Ed.)	1
1.2 Hierro.....	1
1.3 Mercurio.....	5
1.4 Extracción líquido-líquido	7
1.5 Reacciones complejométricas.....	8
1.5.1 Complejo de Hg-Dz.....	8
1.6 Ditizona.....	9
1.7 Valoración por retroceso	12
1.8 Optimización de la farmacopea.....	13
2. OBJETIVOS	14
2.1 OBJETIVO GENERAL	14
2.2 OBJETIVOS PARTICULARES.....	14
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	15
3.1 MGA 0551 PRUEBA LÍMITE DE MERCURIO, (quelometría).....	18
3.2 Investigación y análisis para justificar las condiciones experimentales óptimas de la determinación de mercurio reportadas.	19
3.3 Propuesta 1: Reducción de las cantidades utilizadas (a partir de la metodología farmacopeica).....	20
3.4 Propuesta 2: Valoración en continuo con agitación mecánica y sin separación de fases.....	21
3.5 Evaluación de los posibles metales interferentes	22
3.5.1 Valoración de mercurio con presencia de interferentes a diferentes concentraciones.....	24
3.6 Determinación de mercurio en medicamentos comerciales mediante valoración en continuo.	25
3.6.1 Croferron	25
3.6.2 Hemobion	26
3.6.3 Salud Total.....	26
3.6.4 Medicamentos fortificados	27
3.7 Determinación de mercurio en materia prima (sulfato ferroso) mediante una valoración por retroceso.	27

4	RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	28
4.1	Replica de la metodología MGA 0551 PRUEBA LÍMITE DE MERCURIO, método I (quelometría) de la FEUM 13va Ed.....	28
4.2	Reducción de cantidades para la metodología farmacopeica.	30
4.3	Valoración en continuo con agitación mecánica y sin separación de fases.....	32
4.4	Justificación de las condiciones experimentales en la metodología farmacopeica (posibles interferencias por otros metales).....	35
4.5	Evaluación de los interferentes	37
4.6	Determinación de mercurio en medicamentos comerciales mediante valoración en continuo.	38
4.6.1	Croferron	39
4.6.2	Salud total.....	40
4.6.3	Hemogen	42
4.7	Valoración por retroceso.	43
4.7.1	Materia prima sulfato ferroso granular LEDEFAR	45
4.7.2	Reactivo analítico Baker contaminado	49
4.7.3	Materia prima de sulfato ferroso desecado Alparma	51
4.7.4	Estimaciones teóricas de los volúmenes esperados al punto de equivalencia .	54
5.0	Conclusiones.....	55
6.0	Referencias.....	56

Índice de Tablas

Tabla 1: Dosis recomendada de Hierro diaria. (Health information, 2022).	4
Tabla 2: Variación de cantidades molares asociada al método farmacopeico.....	19
Tabla 3. Constantes de equilibrio reportadas (Ringbom, 1979).....	20
Tabla 4. Tabla de variación de cantidades molares para titulación de Ditizona....	49
Tabla 5. Resultados obtenidos para la valoración de Hg en el reactivo contaminado “Baker Analyzed reactive”	51
Tabla 6. Resultados obtenidos para la valoración de Hg en la materia prima de Alpharma.....	53
Tabla 7. Gasto esperado (mL) empleando como valorante $[Hg^{2+}] = 2.5724 \times 10^{-5}$ mol/L Hg (5.0 ppm) al emplear diferentes concentraciones de ditizona y 2.0g de muestra.	54
Tabla 8. Comparación de las metodologías evaluadas	55

Índice de Figuras

Figura 1. Estructura del grupo hemo (Villacencio, A., 2012)	3
Figura 2. Quelación de ditizona con metales pesados: M = Fe(II), Cd (II), Hg (II) y Pb (II), etc. (Falfán, 2018)	9
Figura 3. Espectros de absorción para Ditizona y Ditizonato de Mercurio a diferentes cantidades de Hg (II) en picogramos: a) 0, b) 10, c) 25, d) 50, e) 100 (Tomado de Théraulaz F., Thomas O, 1994).	10
Figura 4. Señales FIA obtenidos para Cd (II), Hg (II) y Pb (II), izquierda: pH de 3, 7 y 11; derecha: pH de 0; (Orozco G., 2010).	11
Figura 5. Medicamentos comerciales analizados.	25
Figura 6. Determinación de mercurio con la metodología	29

Figura 7. Determinación de mercurio con la metodología FEUM 13va Ed.; para un blanco reactivo	30
Figura 8. Metodología FEUM 13va Ed. modificada, reducción del volumen de la fase acuosa.	31
Figura 9. Valoración en continuo en un matraz Erlenmeyer y agitación mecánica. 32	
Figura 10. Cambio de color de las fases en la determinación de mercurio con ditizona (bureta) en la valoración en continuo. (a) inicio, (b) antes del PE, (c) PE y después del PE	33
Figura 11. Determinación de mercurio (valorante-bureta) con ditizona (analito), (a) inicio, (b) antes del PE, (c) PE y después del PE.....	34
Figura 12. Diagrama Log D' para los ditizonatos de Hg (II), Pb (II) y Fe (II) en cloroformo. Elaboración propia.....	35
Figura 13. Porcentaje de recuperación (extracción) en función del pH para los ditizonatos de Pb (II), Fe (II) y Hg (II) en cloroformo. Elaboración propia.....	36
Figura 14. Valoración de mezcla de metales posibles interferentes.....	37
Figura 15. Valoración de la solución problema a partir de CROFERRON.....	39
Figura 16. Valoración de mercurio en la muestra fortificada de CROFERRON....	40
Figura 17. Valoración de muestra de salud total sin presencia de mercurio	41
Figura 18. Valoración de fármaco salud total dotado de mercurio.....	41
Figura 19. Valoración de muestra fármaco Hemogen	42
Figura 20. Valoración de Hemogen fortificado de mercurio.....	43
Figura 21. Fotografía de envase que la muestra de sulfato ferroso granular.	45
Figura 22. Fotografía del punto de equivalencia para la valoración del reactivo sulfato ferroso granular LEDEFAR	46
Figura 23. Código QR al video obtenido para apreciar la valoración y cambio de color.	47

Figura 24. Fotografía del frasco de Sulfato Ferroso contaminado.....	50
Figura 25. Fotografía del punto de equivalencia para la valoración del reactivo “Baker Analyzed reactive”	51
Figura 26. Fotografía del envase que contiene el sulfato ferroso desecado.	52
Figura 27. Fotografía durante la valoración de la materia prima de “Alpharma” después de agregar 3 mL de Hg STD 5.16 ppm (antes del punto de equivalencia).	52
Figura 28. Fotografía de la valoración al punto de equivalencia.....	53
Figura 29. Fin de valoración de Alpharma.....	53

Abreviaturas:

- FEUM: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.
- MGA: Metodología General Aplicada.
- Hg: Mercurio.
- Dz: Ditizona.
- Hg-Dz; Ditizonato de Mercurio.
- M: Molaridad.
- Ppm: partes por millón.
- FIA: Flow Injection Analysis inyección de flujo.
- PE: Punto de equivalencia.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM 13va Ed.)

La Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM 13va Ed.), “es un documento expedido por la Secretaría de Salud que contiene los métodos generales de análisis y los requisitos sobre identidad, pureza y calidad de los fármacos, aditivos, medicamentos, productos biológicos y demás insumos para la salud” (FEUM., 2021) Promueve la salud a través de soportes tecnológicos, los estándares de calidad para cada sección de proceso de producción, a la venta, incluyendo la producción y el almacenamiento de medicamentos y materia prima. Es de carácter obligatorio para los establecimientos que se dediquen al proceso de los medicamentos y demás insumos para la salud, en los términos del artículo 258 de la Ley General de Salud. (FEUM, 2021).

1.2 Hierro

El hierro es un elemento químico, el cuarto más abundante en el planeta. Es un metal maleable, tenaz, de color gris plateado y magnético. Se encuentra en conjunto con otros minerales y está presente en las aguas freáticas. También puede ser encontrado en la carne, productos integrales, patatas y vegetales.

Las propiedades más importantes del hierro (Rodríguez, H., 2022) son:

- No se encuentra en la naturaleza en su forma pura, sino formando parte de numerosos minerales, generalmente en forma de óxido.
- El punto de ebullición del hierro se encuentra a los 3,000 °C y el punto de fusión a los 1,536 °C.
- El hierro es un metal extremadamente duro y denso, maleable, de color gris plateado, y presenta propiedades magnéticas.
- Los estados de oxidación más comunes del hierro son el +2 y +3.

- El hierro en la naturaleza está compuesto por una mezcla de cuatro isótopos estables: ^{56}Fe , ^{54}Fe , ^{57}Fe y ^{58}Fe , cuyas abundancias relativas son del 91,66 %, 5,82%, 2,19% y 0,33% respectivamente.
- Para obtener el hierro en estado puro se han de reducirse primero los óxidos de los minerales y someter el producto a un proceso de refinado para eliminar las impurezas.
- Los minerales de hierro de mayor importancia son: la hematita (Fe_2O_3), la limonita, (Fe_2O_3), la magnetita (Fe_3O_4) y la siderita (FeCO_3).

El metabolismo del hierro incluye una serie de importantes procesos, como la regulación de la absorción del hierro intestinal, el transporte de hierro a las células, el almacenamiento del hierro, la incorporación de hierro a las proteínas y el reciclado del hierro tras la degradación de los eritrocitos. En condiciones normales, al no haber un mecanismo de excreción del hierro activo, la homeostasis del hierro se controla estrictamente a nivel de absorción intestinal. El contenido medio de hierro en el organismo es de 3-4 g, distribuido en eritrocitos, macrófagos del sistema reticuloendotelial (SRE), hígado, médula ósea, músculos y otros tejidos.

La mayor parte de este hierro es hemoglobínico, contenido en los eritrocitos circulantes y en la médula ósea. La función de los eritrocitos es el transporte del oxígeno desde los pulmones al resto del organismo. Y la proteína que facilita este proceso es la hemoglobina, que contiene oxígeno y es la responsable de dar el color rojo a la sangre. (Villaplana, M. 2001)

Cada globina contiene un grupo prostético (grupo hemo) formado por un átomo de hierro y un anillo de porfirina. El átomo de hierro se encuentra en estado de oxidación ferroso (II) y puede formar cinco o seis enlaces de coordinación.

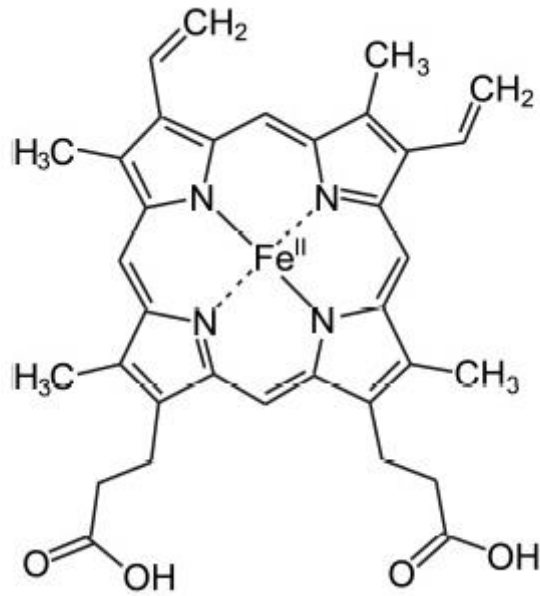


Figura 1. Estructura del grupo hemo (Villacencio, A., 2012)

El hierro divalente (Fe^{2+}) es un ion importante para la vida de cualquier organismo vivo, cuando hay una deficiencia de éste, los sistemas biológicos muestran diversas enfermedades, entre ellos la anemia. El fumarato y el sulfato ferroso son dos compuestos iónicos, que pueden administrarse como suplementos de Fe (II), para superar las deficiencias de hierro o evitarlas, en los sistemas vivos (Sawakinome, 2022).

La cantidad diaria de hierro que una persona necesita varía según la edad y el sexo, depende también de si su alimentación consiste principalmente en productos de origen vegetal o animal. A continuación, en la tabla 1, se indican las cantidades diarias promedio de hierro recomendadas en miligramos (mg). Los vegetarianos que no consumen carne, aves ni mariscos necesitan casi el doble de las cantidades de hierro indicadas a continuación, porque el cuerpo absorbe mejor el hierro “hemo” de origen animal que el hierro “no hemo” de los vegetales y alimentos fortificados con hierro (Health information, 2022).

Tabla 1: Dosis recomendada de Hierro diaria. (Health information, 2022).

Etapas de la vida	Cantidad recomendada
Bebés hasta los 6 meses de edad	0,27 mg
Bebés de 7 a 12 meses de edad	11 mg
Niños de 1 a 3 años	7 mg
Niños de 4 a 8 años	10 mg
Niños de 9 a 13 años	8 mg
Adolescentes (varones) de 14 a 18 años	11 mg
Adolescentes (niñas) de 14 a 18 años	15 mg
Hombres adultos de 19 a 50 años	8 mg
Mujeres adultas de 19 a 50 años	18 mg
Adultos de 51 o más años	8 mg
Adolescentes embarazadas	27 mg
Embarazadas	27 mg
Mujeres que están amamantando	9 mg

Al ser deficiente la cantidad de hierro se habla de una anemia, la cual se puede deber a varias causas como lo son: dieta deficiente de hierro, sangrado, embarazo, incapacidad para absorber el hierro (consecuencia típica de la enfermedad celíaca, esteatorrea, diarrea crónica y cirugía gástrica), menstruación abundante.

Existen medicamentos para tratar esta deficiencia, los cuales de acuerdo con Al-Air (2022) son los siguientes:

- Sulfato ferroso (p. Ej., Ferrograd): anti anémico por excelencia, el sulfato ferroso se usa ampliamente en la terapia marcial (anemia por deficiencia de hierro). Normalmente, el fármaco está disponible en forma de 595 mg comprimidos de liberación controlada de principio activo. Se recomienda tomar 1 comprimido al día con agua. El medicamento requiere una receta. Para mejorar la absorción, se recomienda tomar el medicamento con vitamina C (por ejemplo, con un vaso de jugo de naranja).

- Hierro dextrano (p. Ej., Solución inyectable de ATI 100 de hierro): de forma indicativa, tome 25-100 mg de intramuscular activo o intravenoso. Consulte a su médico.
- Fumarato de hierro (p. Ej., Hierro orgánico): inicie la terapia para la anemia sideropénica con 325 mg de medicamento oral, una vez al día. Continuar con la terapia de mantenimiento tomando 325 mg de activo, tres veces al día. La dosis para el tratamiento de la anemia por deficiencia de hierro asociada con enfermedades renales sigue siendo la misma; Se recomienda someter al paciente a controles periódicos.
- Gluconato de hierro (por ejemplo, Sidervim, Chromatonferro, Bioferal, Losferron): disponible en tabletas y gránulos efervescentes. La dosis de este medicamento para el tratamiento de la anemia por deficiencia de hierro es similar a la del fumarato de hierro.
- Carbonil hierro (por ejemplo, Icar): la dosis para adultos con anemia sideropénica es de 50 mg de activo, tomado por vía oral, tres veces al día.
- Hierro sacarizado (p. Ej., Ferrum Hausmann Orale, Venofer): disponible en viales para uso oral, se recomienda tomar el medicamento en caso de anemia sideropénica en una dosis de 2-3 viales (cada uno con 40 mg de hierro), después de las comidas. La dosis debe reducirse a 1-2 viales por día para el tratamiento de la anemia sideropénica en niños. Alternativamente, es posible tomar el medicamento también para inyección intravenosa lenta (5 mL de solución contienen 100 mg de activo), con una duración de 2 a 5 minutos.

1.3 Mercurio

El mercurio es un elemento químico considerado como metal pesado, encontrado como líquido plateado a temperatura ambiente, siendo sólo soluble en soluciones oxidantes, sin embargo, las sales de mercurio son muy solubles en agua. Se puede

encontrar naturalmente como forma de metal, sales de mercurio o como mercurio orgánico. Se encuentra de forma natural en pequeñas cantidades en el medio ambiente, procedente de los minerales de las rocas y del suelo gracias a la ruptura de estos y exponiéndose al viento y agua, también se libera con el uso de combustibles fósiles y la incineración de basura. Puede ser inhalado a través del aire que respiramos, absorbido a través de la piel e ingerido con la comida. Algunos espejos, medicamentos o productos agrícolas también pueden contener mercurio, al igual que ciertos tipos de fluorescentes, cables e interruptores (SEQC, 2021).

El mercurio liberado naturalmente ha permanecido en niveles similares a través de los tiempos, sin embargo, las concentraciones por actividades humanas liberado al aire, o directamente al suelo o agua en quema de productos fósiles, minería o agricultura, minería o incluso aguas residuales industriales.

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 de éste en el suelo. El mercurio que ha alcanzado las aguas superficiales o suelos los microorganismos pueden convertirlo en metil mercurio, una substancia 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 (Lenntech, 1999).

Es tóxico para el ser humano, dañando el sistema nervioso, las funciones cerebrales, el ADN y cromosomas, causando reacciones alérgicas, irritación de piel, cansancio, y dolor de cabeza, así como efectos adversos en la reproducción como lo son defectos de nacimiento y abortos (Lenntech, 1999).

Por lo anterior, es importante controlar su presencia tanto en materias primas como en medicamentos a fin de garantizar la seguridad de los pacientes. Existe para ello reportado en la FEUM 13va Ed. el método general de análisis respectivo (MGA

0551: PRUEBA LÍMITE DE MERCURIO), que indica una metodología para el control de su presencia, mediante la formación del ditizonato de mercurio en cloroformo, (método I: quelometría), mediante una extracción líquido-líquido.

1.4 Extracción líquido-líquido

La extracción líquido-líquido es un método de separación de un soluto, incluidos los compuestos metálicos, esto gracias a las solubilidades relativas entre dos líquidos inmiscibles, siendo mejorable con la adición de agentes formadores de complejos neutros para llevarse a cabo con mayor facilidad.

Este tipo de extracción utiliza por lo general agua y un líquido orgánico inmiscible en agua, como ejemplo el cloroformo, tetracloruro de carbono, hexano, etc. (Watty, 1982).

La relación del soluto en dos disolventes está dada por la constante de partición, distribución o reparto, representada por la siguiente expresión:

$$K_D = \frac{c_1}{c_2}$$

donde:

K_D = coeficiente de partición o distribución.

c_1 = concentración del soluto en el disolvente orgánico.

c_2 = concentración del soluto en el disolvente acuoso.

El disolvente orgánico aparece por lo general en el numerador y el acuoso en el denominador. La K_D es un factor que nos permite predecir la preferencia del soluto a transferirse con mayor facilidad a alguna de las fases orgánica-acuosa.

Para llevar a cabo una buena extracción líquido-líquido hay que considerar los disolventes, solubilidad máxima del soluto en los disolventes, solubilidad mínima entre los disolventes, separación rápida de las fases, fácil transferencia de masa,

los volúmenes de solventes orgánico-acuoso y diversos factores químicos como pH, concentración de ligante, etc. (Watty, 1982).

1.5 Reacciones complejométricas

Las reacciones complejométricas funcionan cuando iones metálicos reaccionan con especies donadoras de pares de electrones formando compuestos de coordinación o complejos. La especie donadora se conoce como ligando y debe disponer al menos de un par de electrones sin compartir para la formación del enlace. Los iones metálicos son ácidos de Lewis, especiesceptoras de pares de electrones, y los ligandos son bases de Lewis (Campillo Seva, 2011).

Los complejos de quelatos (o quelatos) se refieren a compuestos en los que un ligando polidentado se une a por lo menos dos puntos de unión del átomo central; el ligando se llama quelante en este caso. El átomo central suele ser un ion metálico con doble carga positiva (por ejemplo, Fe^{2+} , Cu^{2+}). Los ligandos y los átomos centrales se unen a través de compuestos coordinados. Los complejos quelatados son más estables que los mismos complejos con ligandos mono-dentados, no interconectados. Este "efecto de quelación" tiene dos causas: en primer lugar, la disminución de la entropía en la formación del complejo es menor, lo que resulta en un efecto de estabilización termodinámica. En segundo lugar, un ligando de quelato sólo puede separarse del átomo central después de la disolución de todos los enlaces (lo que significa que el quelante se disocia mucho más del ion metálico). German technology. (2022).

1.5.1 Complejo de Hg-Dz

Este complejo es producido por la reacción de ditizona con mercurio disuelto en solución acuosa extraíble en una solución orgánica, en este caso con cloroformo. Los complejos metálicos se forman cuando algunos metales reemplazan a uno o a ambos hidrógenos ácidos de la ditizona, los que actualmente se conocen como

ditizonatos primarios y secundarios. Este complejo es cuantificable mediante espectrofotometría a 490nm.

Considerando los posibles interferentes hay que tomar en cuenta los otros probables colores que podrían llegar a tener otros complejos como lo son: el Ditizonato de Plomo (II) a 520 nm o el Ditizonato de Hierro (II) a 560 nm.

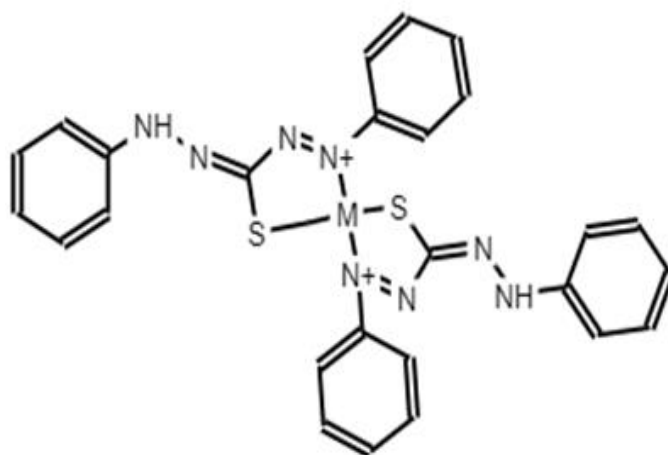


Figura 2. Quelación de ditizona con metales pesados: M = Fe(II), Cd (II), Hg (II) y Pb (II), etc. (Falfán, 2018)

1.6 Ditizona

La ditizona es una molécula insoluble en soluciones acuosas a pH menores de 7, al contener grupos azo y tiol puede formar complejos estables con iones metálicos, del tipo quelato, por lo que es muy usada en la extracción líquido-líquido, ya que los quelatos presentan color y permiten determinaciones visuales, por ejemplo, mediante una valoración.

La ditizona en un medio orgánico como el cloroformo o tetracloruro de carbono reacciona al contacto con diversos metales proporcionando una coloración

específica a cada metal, en el caso del ditizonato de mercurio $\text{Hg}(\text{Dz})_2$, presenta coloración naranja brillante.

En el trabajo “Complexometric Determination of Mercury(II) in Waters by Spectrophotometry of its Dithizone Complex” se presentan los espectros de la Ditizona (figura 3) y el cambio en el espectro al formarse el complejo con Mercurio (Ditizonato de Mercurio) a diferentes concentraciones de mercurio.

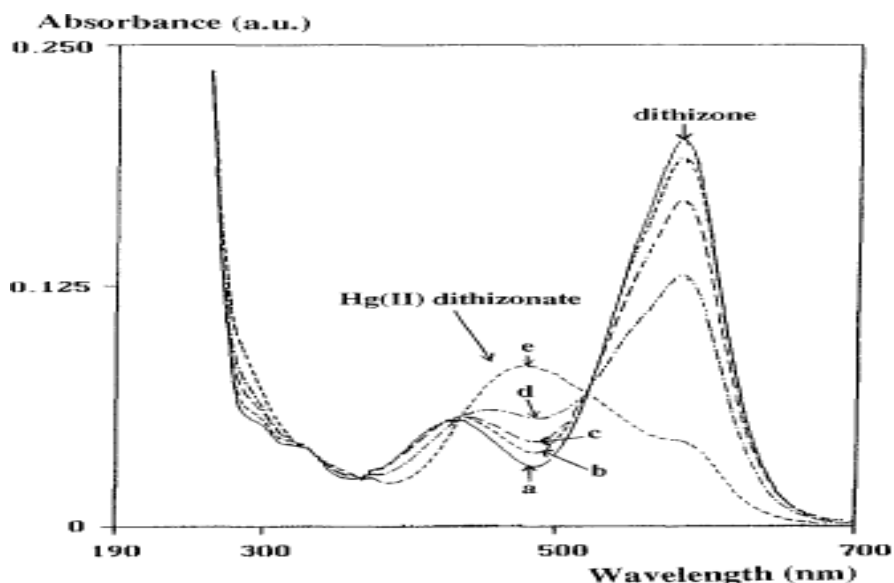


Figura 3. Espectros de absorción para Ditizona y Ditizonato de Mercurio a diferentes cantidades de Hg (II) en picogramos: a) 0, b) 10, c) 25, d) 50, e) 100 (Tomado de Théraulaz F., Thomas O, 1994).

Orozco G. (2010) en su trabajo “Determinación de Mercurio en formulaciones farmacéuticas utilizando un sistema de flujo continuo y ditizona en medio micelar”, muestra que los metales como el Cadmio y Plomo presentan señales a pH de 3, 7 y 11, mientras a pH de 0, el mercurio presenta una mayor señal aun cuando está presente a menor concentración (figura 4).

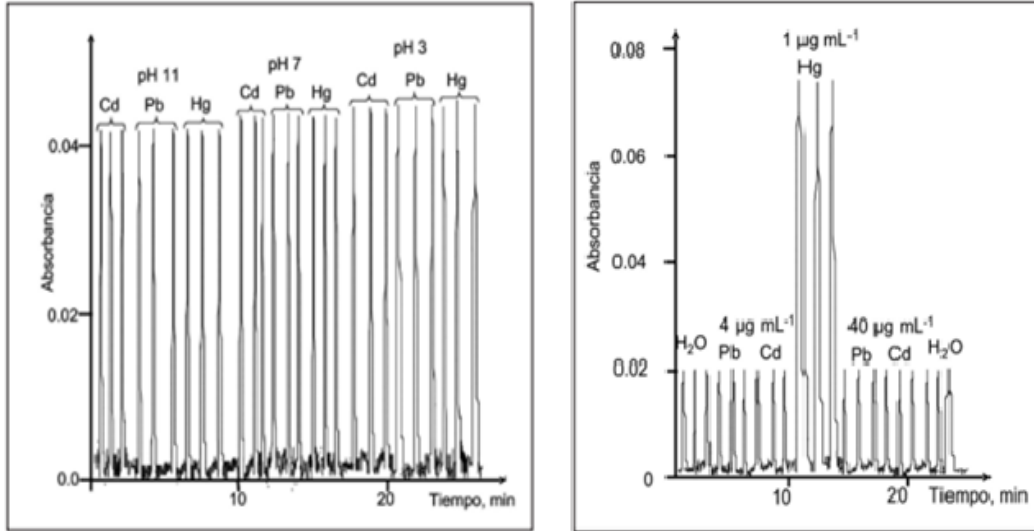


Figura 4. Señales FIA obtenidos para Cd (II), Hg (II) y Pb (II), izquierda: pH de 3, 7 y 11; derecha: pH de 0; (Orozco G., 2010).

Como puede inferirse, es conocida la reacción entre la ditizona con diversos cationes metálicos, y que el control del pH asegura la selectividad de la reacción con mercurio con respecto a otros metales. En la figura 4 muestra la alta selectividad hacia la formación del Ditizonato de Mercurio a pH = 0 en comparación con los pH's 3,7,11.

Por lo anterior, la metodología reportada en la FEUM 13va Ed. para la prueba límite de mercurio, propone la determinación en medio ácido, sin embargo, maneja volúmenes absurdamente altos para la preparación de soluciones, como son por ejemplo 250 mL de ácido sulfúrico y 1,125 mL de cloroformo para las diversas soluciones de ditizona necesarias para la determinación. Además, la proporción fase acuosa: fase orgánica en cuanto a volumen está muy desproporcionada, lo que seguramente dificulta la determinación visual del punto de equivalencia de la valoración planteada.

En este trabajo se realiza la optimización de la metodología farmacopeica a fin de disminuir el gasto de reactivos y generación de residuos, así como mejorar la determinación visual, utilizando la misma reacción complejométrica en medio clorofórmico.

1.7 Valoración por retroceso

En la valoración de retroceso o retro-valoración se debe tener tres elementos, el analito, el valorante y un reactivo estándar, conociendo las cantidades y concentraciones de valorante y el reactivo estándar.

Para esta metodología se lleva en los siguientes pasos:

- a) Adición en exceso conocido de la solución valorante al analito a cuantificar.
- b) Permitir que la reacción entre el valorante y al analito se complete, quedando un exceso de valorante.
- c) Posteriormente realizar la cuantificación de la solución valorante excedida, con la solución reactivo estándar.
- d) Esto permite conocer la cuantificación la cantidad de analito presente en la valoración mediante la diferencia de la solución valorante inicial y final, considerar la estequiometria de las reacciones involucradas.

Esta metodología de retro-valoración se realiza:

- Si el analito es volátil o una sal insoluble.
- Si la reacción entre el analito y valorante es de cinética lenta, que no permite una titulación directa práctica.
- Si se trata de reacciones ácido débil-base débil.
- Cuando no se dispone de un método indicador adecuado para una titulación directa.

1.8 Optimización de la farmacopea.

La Farmacopea Mexicana fue publicada en 1846 sólo después que la USP publicada en 1820 (en América), esa publicación esperada por los científicos permitió el aprovechamiento e impulso de la materia médica local con una nación recientemente independiente.

Los cambios más llamativos fueron en 1930 apareció una farmacopea nacional editada por el mismo departamento de salubridad Pública, para lo cual los medicamentos y fármacos estaban destinados para este mismo departamento, para que cualquier aplicación terapéutica no existente en esta farmacopea fuera excluida, subsecuentemente en 1988 cambió hasta de nombre conociéndose a partir de ese momento como la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) siendo incluso el doble de tamaño que sus antecesoras.

En la historia hasta la actualidad la farmacopea se ha tenido que actualizar u optimizar debido a los avances tecnológicos y de metodologías nuevas, incluso por las problemáticas nacionales o mundiales como la contaminación recursos limitados y costos, por consiguiente, es necesario proponer nuevas metodologías que permitan hacer medicamentos, fármacos, loa análisis de estos y limitantes de estos. (Schifter L., 2023).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Optimizar la metodología farmacopeica reportada para la determinación de mercurio con ditizona, evaluando diferentes volúmenes, proporciones y soluciones para facilitar la determinación visual y disminuir tanto el gasto de reactivos como la generación de residuos, así como; justificar las condiciones experimentales utilizadas.

2.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Aplicar la metodología farmacopeica reportada para detectar las problemáticas en la determinación visual y los volúmenes necesarios para su realización.
- Emplear las constantes reportadas para mercurio y ditizona, para trazar los diagramas de distribución y porcentaje de extracción vs pH, a fin de justificar las condiciones experimentales empleadas en la determinación.
- Proponer una metodología alternativa que disminuya el gasto de reactivos, facilite la determinación visual y reduzca la generación de residuos químicos.
- Evaluar el efecto de la presencia de otros metales como impurezas y ver si se detecta alguna interferencia por ellos en la determinación de mercurio.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Reactivos:

Agua destilada

Cloruro mercurioso, JT Baker Analyzed, 99.24% pureza

Ditizona, MERCK, 98% pureza

Sulfato ferroso, Monterrey, 100% pureza

Sulfato férrico, Productos químicos Monterrey, 98% pureza

Nitrato de plomo, Analit, 100% pureza

Arsenito de sodio, JT Baker, 100% pureza

Ácido sulfúrico, EMSURE, 95-97% pureza

Ácido nítrico, Tecsiquin, 68-70% pureza

Cloroformo, JT Baker, 99.8% pureza

Clorhidrato de hidroxilamina, JT Baker, 98.9 pureza

Salud total (Sulfato ferroso)

Hemogen (Sulfato ferroso)

CROFERRON (Fumarato ferroso),

Equipo:

Parrilla de laboratorio con agitador, Fisher Scientific, Isoterm

Agitador magnético CORNING, PC-353 STRIPPER

Balanza analítica BOECO, BPS 41 Plus.

Material de laboratorio:

Embudo de separación de 200 y 60 mL, (Kymax, México).

Bureta 10 mL, (Kymax, México).

Vasos de precipitado 10, 50, 100 mL, (Kymax, México).

Pipeta volumétrica 0.5, 1, 2, 5, 10 mL, (Kymax, México).

Matraz aforado 10, 20, 25, 50, 250 mL, (Kymax, México).

Matraz Erlenmeyer 25, 50 mL, (Kymax, México).

Soluciones propuestas en la FEUM 13va Ed.

- **Solución concentrada de ditizona.** Pesar exactamente 40 mg de ditizona, transferirlos a un matraz volumétrico de 1 000 mL, disolver y llevar al aforo con cloroformo.
- **Solución titulante de ditizona.** Transferir 30 mL de la solución anterior a un matraz volumétrico de 100 mL, llevar al aforo con cloroformo y mezclar. Esta solución contiene 0.012 mg/mL de ditizona.
- **Solución concentrada de mercurio.** Transferir 67.7 de cloruro mercúrico, exactamente pesados, a un matraz volumétrico de 50 mL, disolver y llevar al aforo con solución de ácido sulfúrico 1 N. Esta solución contiene el equivalente a 100 mg de mercurio en 100 mL
- **Solución de mercurio para valorar la solución titulante de ditizona.** Transferir 2 mL de la solución concentrada de mercurio a un matraz volumétrico de 100 mL, llevar al aforo con solución de ácido sulfúrico 1 N y mezclar. Cada mililitro de esta solución contiene el equivalente a 20 µg de mercurio. Las soluciones siguientes se utilizan para la determinación de la prueba límite de mercurio en las monografías de Fumarato y Sulfato ferrosos.
- **Solución de clorhidrato de hidroxilamina.** Pesar 20 g de clorhidrato de hidroxilamina y transferirlos a un embudo de separación; agregar 65 mL de agua y cinco gotas de SI de azul de timol e hidróxido de amonio hasta que la solución tome color amarillo, agregar 10 mL de solución de dietilditiocarbamato de sodio al 4 %, mezclar y dejar reposar durante 5 min. Extraer la solución con porciones sucesivas de 10 mL a 15 mL de cloroformo, hasta que una porción de 5 mL del extracto clorofórmico no tome color amarillo al agitarlo con SR de sulfato cúprico. Agregar solución de ácido clorhídrico 3 N, hasta que la solución presente un color rosa. Si es necesario, agregar una o

dos gotas más de SI de azul de timol; transferir la solución a un matraz volumétrico de 100 mL llevar al aforo con agua y mezclar.

Preparación de soluciones utilizadas en este trabajo.

- **Solución madre de mercurio 4.985×10^{-3} M (1,000 ppm) en medio ácido.** Se pesaron 0.013 g de HgCl_2 (cloruro mercurioso), se disuelve y se lleva a marca de aforo 10 mL con la solución de ácido sulfúrico 0.5M
- **Solución de mercurio dilución 1, $[\text{Hg}] = 9.97 \times 10^{-5}$ M (20 ppm) en medio ácido.** De la solución madre de mercurio, se preparó una dilución, tomando una alícuota de 1 mL y se afora a 50 mL con solución de ácido sulfúrico 0.5M.
- **Solución de mercurio dilución 2, $[\text{Hg}] = 1.59 \times 10^{-5}$ M (3.2 ppm) en medio ácido.** De la solución de mercurio dilución 1, se toma una alícuota de 8 mL y se llevó a marca de aforo a 50 mL con H_2SO_4 0.5 M.
- **Solución de mercurio dilución 3 $[\text{Hg}] = 4.99 \times 10^{-5}$ M (10 ppm) en medio ácido.** De la solución de madre de mercurio, se hizo una dilución tomando una alícuota de 0.5 mL y se llevó a marca de aforo a 50 mL con ácido sulfúrico, 0.5 M.
- **Solución Madre de Ditizona 1.56×10^{-3} M (400 ppm) en medio cloroformo.** Se pasaron aproximadamente exacto 10 mg de ditizona, se disuelven y se llevó a marca de aforo de 25 mL en cloroformo.
- **Solución de Ditizona 6.24×10^{-5} M (16 ppm) en medio cloroformo.** A partir de la solución madre de ditizona, se realizó una dilución tomando una alícuota de 1 mL y se llevó a marca de aforo a 25 mL con cloroformo.
- **Solución de Ditizona 3.9×10^{-5} M (10 ppm) en medio cloroformo.** A partir de la solución madre de ditizona, se realizó una dilución tomando una alícuota de 0.5 mL, la cual se llevó a marca de aforo a 20 mL con cloroformo.
- **Solución de Ditizona 3.12×10^{-5} M (8 ppm) en medio cloroformo.** A partir de la solución madre de ditizona, se realizó una dilución tomando una alícuota de 0.5 mL, la cual se llevó a marca de aforo a 25 mL con cloroformo.

- **Solución de ácido sulfúrico 0.5M.** Se colocaron aproximadamente 50 mL de agua destilada en un matraz de 250 mL y se añaden 7 mL del reactivo analítico de ácido sulfúrico (H_2SO_4), se agitó y posteriormente se llevó a marca de aforo con agua destilada.

3.1 MGA 0551 PRUEBA LÍMITE DE MERCURIO, (quelometría)

Se llevó a cabo la metodología reportada en la FEUM 13va Ed., la cual es:

Valoración de la solución titulante de ditizona. Transferir 1.0 mL de una solución de mercurio (**20 ppm**) para valorar una solución titulante de ditizona (**16 ppm**) a un embudo de separación de 250 mL, agregar 100 mL de solución de ácido sulfúrico 0.5 M, 90 mL de agua con clorhidrato de hidroxilamina, 1 mL de ácido acético glacial. Valorar la solución con la solución titulante de ditizona (**16 ppm**), la cual se adiciona desde una bureta de 10 mL con adiciones de 0.5 mL, tapar el embudo de separación y agitar la mezcla 20 veces después de cada adición, destapar el embudo de separación para permitir el escape de gases y separar la capa clorofórmica y descartarla. Continuar la titulación hasta que la adición final de la solución titulante de ditizona presente color verde después de la agitación.

Preparación de la muestra. Transferir 2 g de la muestra, exactamente pesados, a un matraz Erlenmeyer de 250 mL con tapón esmerilado, agregar 20 mL de una mezcla de ácido nítrico: ácido sulfúrico (1:1), adaptar a un condensador adecuado y calentar a reflujo la mezcla durante 1 h, enfriar y diluir con agua; calentar a ebullición hasta que no se perciban vapores de ácido nitroso, enfriar la solución, diluir con agua cuidadosamente y transferir a un matraz volumétrico de 200 mL, llevar al aforo con agua, mezclar y filtrar.

Procedimiento para la determinación: Transferir 50 mL de la preparación de la muestra a un embudo de separación de 250 mL y extraer sucesivamente con

pequeñas porciones de cloroformo, hasta que el último extracto sea incoloro, descartar la fase orgánica y agregar a la preparación de la muestra extraída 50 mL de solución de ácido sulfúrico 1 N, 90 mL de agua clorhidrato de hidroxilamina, 1 mL de ácido acético glacial y proceder exactamente igual como se indica en el párrafo de Valoración de la **solución titulante de ditizona**.

Valoración de una solución blanco. El experimento se repite sustituyendo el volumen de la solución de mercurio con 1mL de agua destilada, para corroborar como se observa la mezcla sin la formación del quelato con mercurio.

Considerando las cantidades utilizadas en la determinación se plantea una tabla de variaciones molares (Tabla 2), para así estimar el volumen al punto de equivalencia esperado.

Tabla 2: Variación de cantidades molares asociada al método farmacopeico.

$\text{Hg}^{2+} + 2\text{Dz} \leftrightarrow \text{Hg}(\text{Dz})_2$ $9.97 \times 10^{-5} \text{M}$ $V(6.24 \times 10^{-5} \text{M})$	$V_{\text{peq}} = \frac{9.97 \times 10^{-5} \text{M Hg} * 2}{6.25 \times 10^{-5} \text{M Dz}} = 3.20 \text{ mL}$
---	--

3.2 Investigación y análisis para justificar las condiciones experimentales óptimas de la determinación de mercurio reportadas.

La determinación farmacopeica de mercurio indica ciertas condiciones experimentales como pH, concentración de ditizona y medio cloroformo. A fin de evaluar si éstas son las condiciones óptimas para el análisis, se utilizan las constantes reportadas de las especies involucradas (Tabla 3) tanto del Hg(II) como los posibles metales interferentes Pb(II) y Fe(II) que son común en este tipo de medicamentos y materia primas. La finalidad es la de elaborar los diagramas de zona de predominio para los complejos en fase acuosa, los diagramas de

distribución en dos fases y el diagrama de porcentaje de recobro o extracción de los ditizonatos metálicos, todos ellos en función del pH.

Tabla 3. Constantes de equilibrio reportadas (Ringbom, 1979).

Ditizona = HDz	*Log D _{HDz}	pKa _{HDz}		*medio cloroformo
	5.7	4.5		
Hidroxo complejos				Mn ⁺ + nDz ⁻ <==> M(Dz) _n
M ⁿ⁺	Log β ₁	Log β ₂	Log β ₃	Log K extracción
Hg (II)	10.3	21.7	x	43.8
Pb (II)	6.2	10.3	13.3	20.4
Fe (II)	4.5	x	x	15.4

Con las constantes reportadas, se realizaron los diagramas de zonas de predominio, diagramas de extracción y de recobro, relacionados con la extracción de mercurio con ditizona en medio cloroformico, contemplando el pH en la fase acuosa.

3.3 Propuesta 1: Reducción de las cantidades utilizadas (a partir de la metodología farmacopeica)

Se realizaron reducciones en las cantidades planteadas en la metodología farmacopeica debido a que los volúmenes ocupados son muy grandes, lo que produce gasto excesivo y una problemática en la generación de residuos, situación que debe evitarse. Por lo tanto, para esta propuesta se utilizan las siguientes soluciones:

- **Solución de ditizona 6.24×10^{-5} M (16 ppm) en medio cloroformo.**
- **Solución de ácido sulfúrico 0.5 M en agua.**

- **Solución de mercurio dilución 1, [Hg]= $9.97 \times 10^{-5} \text{M}$ (20 ppm) en medio ácido.**

Procedimiento propuesto

a) Solución de referencia

Se colocan en un embudo de separación de 60 mL, 1 mL de **Solución de mercurio dilución 1, [Hg]= $9.97 \times 10^{-5} \text{M}$ (20 ppm) en medio ácido**, 10 mL **Solución de ácido sulfúrico 0.5 M en agua**, 0.5 mL de ácido acético glacial y en una probeta se miden 10 mL de agua destilada a la cual se le agregan 2.03 g de hidroxilamina; el volumen planteado es aproximadamente 10 veces menor al indicado en el método farmacopeico.

A partir de esto, se realiza la valoración con adiciones de 0.5 mL de Ditizona **Solución de Ditizona $6.24 \times 10^{-5} \text{M}$ (16 ppm) en medio cloroformo**, agitando 20 veces la mezcla tras cada adición y retirando la fase clorofórmica.

b) Solución blanco

El experimento se repite sustituyendo el volumen de la solución de mercurio con 1 mL de agua destilada, para corroborar como se observa la mezcla sin la formación del quelato con mercurio.

3.4 Propuesta 2: Valoración en continuo con agitación mecánica y sin separación de fases.

Otra problemática es lo arduo y tardado del método planteado por la farmacopea ya que la valoración exige agitar la mezcla para llevar a cabo la reacción y con la metodología planteada, no permite una agitación sencilla por lo que se pierde tiempo al realizarla, por consiguiente se plantea realizar la valoración en continuo empleando un matraz Erlen Meyer de 50 mL utilizando un agitador

magnético para tener una agitación mecánica vigorosa empleando una barra magnética y permitiendo conservar una reducción de volúmenes.

Se utilizaron las siguientes soluciones:

- **Solución de ditizona 6.24×10^{-5} M (16 ppm) en medio cloroformo.**
- **Solución de ácido sulfúrico 0.5 M en agua.**
- **Solución de mercurio dilución 1, $[\text{Hg}] = 9.97 \times 10^{-5}$ M (20 ppm) en medio ácido.**

Se realizó la siguiente metodología:

Se colocaron 5 mL de **Solución de ditizona 6.24×10^{-5} M (16 ppm) en medio cloroformo** en un matraz Erlenmeyer al cual previamente se le colocó una barra magnética, colocar el matraz sobre un agitador magnético a una velocidad de agitación vigorosa y se valoran con la **Solución de mercurio dilución 1, $[\text{Hg}] = 9.97 \times 10^{-5}$ M (20 ppm) en medio ácido**, haciendo adiciones de 0.5 mL con una pequeña pausa de 10 a 20 segundos, permitiendo realizarse la agitación.

Posteriormente, se realizó una nueva valoración (invirtiendo el orden y mismas concentraciones) colocando como alícuota la solución de mercurio (estándar o problema) en el vaso y haciendo adiciones de 0.5 mL de ditizona (en la bureta), esto para comprobar en que orden se puede llevar a cabo de manera más cómoda la metodología.

3.5 Evaluación de los posibles metales interferentes

Debido a que las materias primas o medicamentos para las cuales está propuesta la MGA 0551 Prueba límite de mercurio, pueden contener algunos otros elementos, se evaluó si estos pueden interferir en la determinación de mercurio, de igual manera comprobando si la investigación y análisis para justificar las condiciones

experimentales óptimas de la determinación de mercurio reportadas. Los metales interferentes evaluados son: Fe (III), Fe (II), Pb (II) y As (III).

Se prepararon las siguientes soluciones:

- **Solución de Fe (II)** [5.03×10^{-3} M]: Se pesaron 0.014 g de sulfato ferroso se disolvieron y se llevó a marca de aforo a 10 mL con ácido sulfúrico, **(solución concentrada)**.
- **Solución de Fe (II)** [1.006×10^{-4} M]. De la solución anterior, se tomó 1 mL y se llevó a marca de aforo a 50 mL con ácido sulfúrico 0.5M **(solución diluida)**.
- **Solución de Fe (III)** [4.75×10^{-3} M]: Se pesaron 0.019 g de sulfato férrico se disolvieron y se llevó a marca de aforo a 10 mL con ácido sulfúrico **(solución concentrada)**.
- **Solución de Fe (III)** [9.5×10^{-5} M]: De la solución anterior se tomó 1 mL de la solución anterior, llevándose a marca de aforo 50 mL de ácido sulfúrico 0.5 M **(solución diluida)**.
- **Solución de As (III)** [5.27×10^{-3} M]: Se pesaron 0.017 g de Arsenito de sodio con agua destilada hasta diluir y se llevó a marca de aforo a 25 mL con ácido sulfúrico **(Solución concentrada)**.
- **Solución de As (III)** [1.04×10^{-4} M]: De la solución anteriormente realizada se tomó 1 mL de la solución anterior y se llevó a marca de aforo de 50 mL con ácido sulfúrico 0.5 M **(Solución diluida)**.
- **Solución de Pb (II)** [4.83×10^{-3} M]: Se pesaron 0.016 g de Nitrato de Plomo, se disuelve y se llevó a marca de aforo a 10 mL con ácido sulfúrico diluido **(solución concentrada)**.
- **Solución de Pb (II)** [9.66×10^{-5} M]: Se hace una dilución de 1 mL de la solución anterior y se llevó a marca de aforo 50 mL con ácido sulfúrico diluido; posteriormente se valoró con la solución de ditizona **(solución diluida)**.

- **Mezcla de interferentes:** se mezclan 2 mL de las **soluciones concentradas** de cada interferente y se llevó a marca de aforo a 50 mL de ácido sulfúrico 0.5M obteniendo una mezcla diluida de interferentes (**solución mezcla**).

Se realizaron las valoraciones para cada solución de interferente de los anteriormente planteados, para ello se colocan 5 mL de **Solución diluida (cada interferente)** en un matraz Erlenmeyer de 50 mL y se valoran con una bureta de 10 mL con la **Solución de ditizona 6.24×10^{-5} M (16 ppm)** en medio cloroformo previamente añadida, haciendo adiciones de 0.5 mL permitiendo que se lleve a cabo por un pequeño tiempo de 10 a 20 segundos, la agitación entre cada añadido.

3.5.1 Valoración de mercurio con presencia de interferentes a diferentes concentraciones.

Para corroborar las informaciones obtenidas anteriormente se propuso realizar un procedimiento final con la intención de corroborar el actuar de los interferentes esto al realizar la valoración de mercurio añadiendo una solución de interferente como parte de la mezcla a valorar, comprobando así que no haya una interacción no vista en los pasos anteriores, por lo que se realizó lo siguiente:

Con las soluciones concentradas de las interferentes vistas en la sección **“Evaluación de los posibles metales interferentes”** se realizó una mezcla interferente/mercurio tomando 1 mL de la **solución concentrada** y 1 mL de la **Solución madre de mercurio 4.985×10^{-3} M (1,000 ppm)** en medio ácido y se llevó a marca de aforo a 50 mL con la solución de ácido sulfúrico diluido, esto con cada interferente.

Finalmente se colocan 5 mL de **Solución diluida (mezcla interferente/mercurio)** en un matraz Erlenmeyer de 50 mL y se valoran con una bureta de 10 mL con la **Solución de ditizona 6.24×10^{-5} M (16 ppm)** en medio cloroformo previamente

añadida, haciendo adiciones de 0.5 mL permitiendo que se lleve a cabo por un pequeño tiempo de 10 a 20 segundos la agitación entre cada añadido.

3.6 Determinación de mercurio en medicamentos comerciales mediante valoración en continuo.

Se considera aplicar la misma metodología en algunos medicamentos que contengan la misma base de sulfato o fumarato ferroso. Esto para comprobar en este tipo de formulación la aplicación para una prueba de calidad, por lo que se procedió a realizarla con los siguientes medicamentos:

Salud total (Sulfato ferroso) y Hemogen (Sulfato ferroso) y CROFERRON (Fumarato ferroso), empleando Ditizona a 16 ppm en cloroformo como valorante.

Primeramente, se realiza la estandarización de la Ditizona se procede a preparar la valoración con Ditizona **Solución de Ditizona 6.24×10^{-5} M (16 ppm) en medio cloroformo, y se estandariza con Hg Solución de mercurio dilución 1, $[Hg] = 9.97 \times 10^{-5}$ M (20 ppm) en medio ácido.**



Figura 5. Medicamentos comerciales analizados.

3.6.1 Croferron

Para CROFERRON se tiene un promedio de peso de comprimido de 0.3028g. Se pesaron 0.307g de polvo de comprimido, se adicionan 20 mL de una mezcla de

ácido nítrico: ácido sulfúrico (1:1), se calienta durante 60 minutos, se filtra y se llevó a marra de aforo a 50 mL con ácido sulfúrico 0.5M y se procede a la valoración. Se colocan 5 mL de **Solución de ditizona 6.24×10^{-5} M (16 ppm) en medio cloroformo** en un matraz Erlenmeyer al cual previamente se le coloco una barra magnética, colocar el matraz sobre un agitador magnético a una velocidad de agitación vigorosa y se valoran con la solución del medicamento preparado haciendo adiciones de 0.5 mL con una pequeña pausa de 10 a 20 s permitiendo realizarse la agitación.

3.6.2 Hemobion

En el caso de Hemobion se tiene un peso promedio de 0.323g por grajea. Se pesan 0.306g de polvo de grajea, se les adicionan 20 mL de una mezcla de ácido nítrico: ácido sulfúrico (1:1), se calienta durante 45 minutos, se filtra y llevan a 50 mL se llevó a marra de aforo con ácido sulfúrico 0.5M; se procede a hacer la valoración. Se colocan 5 mL de **Solución de ditizona 6.24×10^{-5} M (16 ppm) en medio cloroformo** en un matraz Erlenmeyer al cual previamente se le coloco una barra magnética, colocar el matraz sobre un agitador magnético a una velocidad de agitación vigorosa y se valoran con la solución del medicamento preparado haciendo adiciones de 0.5 mL con una pequeña pausa de 10 a 20 s permitiendo realizarse la agitación.

3.6.3 Salud Total

El peso promedio fue de 0.36 g de grajea. Se pesan 0.35 g de polvo de grajea, se adicionan 20 mL de una mezcla de ácido nítrico: ácido sulfúrico (1:1), se calienta durante 50 minutos, se filtra, se afora a 50 mL con ácido sulfúrico 0.5 M y se procede a hacer la valoración. Se colocan 5 mL de **Solución de ditizona 6.24×10^{-5} M (16 ppm) en medio cloroformo** en un matraz Erlenmeyer al cual previamente se le coloco una barra magnética, colocar sobre un agitador magnético a una velocidad

de agitación vigorosa y se valoran con la solución del medicamento preparado haciendo adiciones de 0.5 mL con una pequeña pausa de 10 a 20 s permitiendo realizarse la agitación.

3.6.4 Medicamentos fortificados

Para fortificar los medicamentos con mercurio se adicionó de la solución de mercurio **Solución madre de mercurio 4.985×10^{-3} M (1,000 ppm) en medio ácido** 1 mL se llevó a marca de aforo con la solución de medicamento anteriormente obtenida a 50 mL, para posteriormente realizar la valoración con la solución de ditizona (6.24×10^{-5} M), gracias a esto en la solución se tiene una solución final obtenida con 20 ppm, 9.97×10^{-5} M de Hg.

3.7 Determinación de mercurio en materia prima (sulfato ferroso) mediante una valoración por retroceso.

Para las muestras de materia prima de fumarato y sulfato ferroso se considera que el límite de mercurio es de 3 ppm (es decir, 3 mg de Hg por 1 Kg muestra), por lo que en 2 g de polvo serían solamente 0.006 mg de mercurio, cantidad de mercurio realmente pequeña, lo cual dificulta la valoración directa, por ello se plantea hacer una valoración por retroceso.

Se utilizan las siguientes soluciones:

- **Solución de mercurio dilución $[Hg] = 2.57 \times 10^{-5}$ M (5.16 ppm)**
- **Solución de Ditizona 6.24×10^{-5} M (16 ppm) en medio cloroformo**

Estandarización de la solución de ditizona (16 ppm) en medio ácido con la Solución de mercurio $[Hg] = 2.57 \times 10^{-5}$ M (5.16 ppm): se colocaron 5 mL de la Solución de ditizona 6.24×10^{-5} M (16 ppm) en medio cloroformo en un matraz Erlenmeyer de 25 mL. Se lleno una bureta de 10 mL con la solución de mercurio antes mencionada, y

se hace la valoración de la alícuota de la solución de ditizona (16 ppm) haciendo adiciones de 0.2 mL con agitación vigorosa y dejando reaccionar por 10 a 20 segundos entre cada volumen añadido.

Teniendo la concentración de la ditizona estandarizada, se procedió a realizar la valoración de la materia prima seleccionada en este trabajo se utilizaron dos diferentes “Alpharma” Sulfato ferroso y “Baker Analyzed reactive” Sulfato ferroso.

Valoración de la materia prima: pesar aproximadamente exacto 2 g de la materia prima (sulfato/fumarato ferroso) en el matraz Erlen Meyer de 25 mL y adicionar 5mL de ácido sulfúrico 0.5 M y agitar hasta lograr una disolución. Adicionar 5 mL de la **disolución de Ditizona (16 ppm)** y agitar vigorosamente por 30 s. Por otro lado, llenar una bureta de 10 mL con la **solución de mercurio (5.16 ppm)**. Realizar la valoración con adiciones de 0.2 mL manteniendo una agitación vigorosa y dejar reaccionar de 20 a 30 segundos antes de la siguiente adición.

4 RESULTADOS Y ANÁLISIS.

Con los procedimientos descritos en el apartado anterior se llevaron a cabo los experimentos y se obtuvieron los resultados que se reportan a continuación.

4.1 Replica de la metodología MGA 0551 PRUEBA LÍMITE DE MERCURIO, método I (quelometría) de la FEUM 13va Ed.

A fin de conocer y determinar las posibles problemáticas relacionadas con la metodología reportada en la FEUM 13va Ed., se procedió a realizar el procedimiento tal cual se reporta, utilizando para ello una **Solución de mercurio [Hg]= 9.97×10^{-5} M (20 ppm)** y una **Solución de Ditizona 6.24×10^{-5} M (16 ppm)**.

La porción de fase acuosa es mucho mayor que la fracción orgánica (figura 6), por ello, al observar el sistema, la parte naranja brillante que es la fase orgánica que contiene el complejo, es decir, el ditizonato de mercurio se observa muy pequeña.



Figura 6. Determinación de mercurio con la metodología FEUM 13va Ed., empleando una solución estándar de mercurio.

Dado que el volumen total es muy grande, abarcando aproximadamente un 80% del embudo, dificulta la agitación y genera preocupación al analista en cuanto a que pueda haber fuga o posibilidad de pérdida de líquido durante la agitación, por lo que se realiza preferentemente de manera suave, aunque en la FEUM 13va Ed. se reporta que debe ser agitación vigorosa. Por otro lado, debido a que tras cada adición se debe agitar y separar la fase orgánica, el procedimiento se considera tardado y cansado, además de que la fase a separar es muy pequeña.

En este caso, se gastó 4.75 mL de ditizona al punto de equivalencia para la solución de mercurio estándar empleado. El punto de equivalencia se aprecia una vez que al agregar ditizona, no se aprecia un cambio de color a naranja (indicador de la

formación de ditizonato de mercurio) y la fase orgánica permanece de color verde (debido a la ditizona en medio cloroformo).

Se realizó también la determinación, empleando un blanco reactivo (solución ácida), para este caso, después de cada adición no se observa cambio de color de la fase orgánica, solamente se aprecian las dos fases (orgánica y acuosa); el color verde observado en todo momento es debido a la ditizona en medio cloroformo (Figura 7).

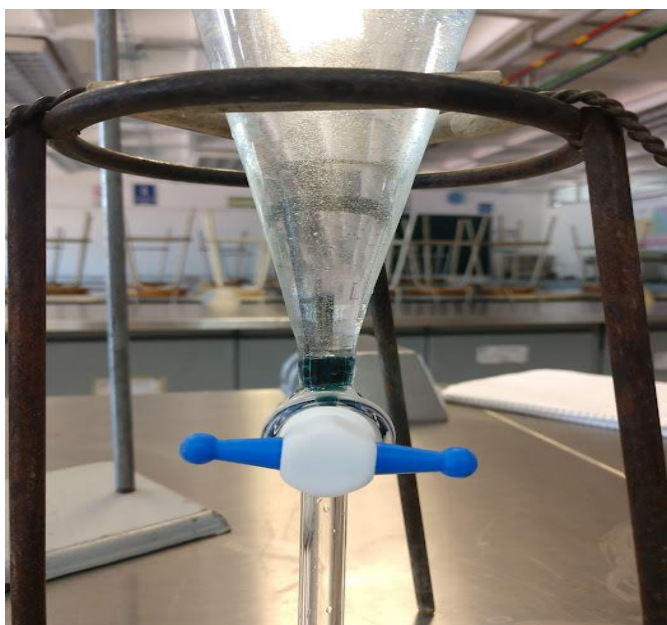


Figura 7. Determinación de mercurio con la metodología FEUM 13va Ed.; para un blanco reactivo

Una vez detectados los problemas en la metodología farmacopeica, se considera que es viable hacer una modificación sencilla, que consiste en reducir los volúmenes empleados para la fase acuosa, a fin de facilitar la determinación visual y de igual manera facilitar la agitación al tener menor volumen.

4.2 Reducción de cantidades para la metodología farmacopeica.

Al realizar el procedimiento con la reducción de volúmenes en el sistema, en particular, 10 veces menor el volumen de la fase acuosa, se puede emplear un embudo de 60 mL y, además, se aprecia una mejora en la parte visual de la valoración (Figura 8).



Figura 8. Metodología FEUM 13va Ed. modificada, reducción del volumen de la fase acuosa.

Al comparar la figura 8 con respecto a la figura 6, se observa que el volumen de la fase orgánica sea lo más semejante respecto a la fase acuosa permite que se visualice y aprecie mejor cada fase, por lo tanto, el color de cada fase de manera de manera más sencilla y clara, por ende, se observa mejor el cambio de color cuando se pasa del color naranja del ditizonato de plomo, al color verde del exceso de ditizona (después del punto de equivalencia). Por otra parte, la agitación necesaria es más fácil de realizar con un embudo más pequeño y la separación de las fases es más simple, ya que se requiere retirar la fase orgánica después de cada adición de ditizona. Sin embargo, sigue persistiendo el problema de tener un procedimiento lento y cansado al tener que hacer la valoración en un embudo de separación, teniendo que agitar manualmente y separar las fases varias veces, por lo que se considera que la metodología puede ser mejorada.

4.3 Valoración en continuo con agitación mecánica y sin separación de fases.

A fin de agilizar la determinación, debido a que se hace muy tardado el análisis al tener que agitar y separar las fases, se plantean los siguientes cambios (Fig. 9):

- 1) Sustituir el embudo de separación por un matraz Erlenmeyer.
- 2) Utilizar un agitador y barra magnética para lograr una agitación mecánica vigorosa.
- 3) No retirar la fase orgánica, sino trabajar una valoración en continuo.

Se espera que estos cambios ayuden a reducir el tiempo de análisis a la vez que simplifiquen el procedimiento al analista.



Figura 9. Valoración en continuo en un matraz Erlenmeyer y agitación mecánica.

Se procede a evaluar la valoración con la solución estándar de mercurio como referencia. El sistema al inicio (a) de la titulación es incoloro, ya que se colocó en el matraz la solución de mercurio estándar y en la bureta la ditizona. Al adicionar ditizona, se observa la formación del color naranja (ditizonato de mercurio) en la fase clorofórmica (antes del punto de equivalencia) y se aprecian las dos fases

inmiscibles (b). Después del punto de equivalencia y tener un exceso de ditizona, la fase orgánica se observa café-verdosa (c) (figura 10).

Debido a que la interacción de los analitos presentes en dos fases inmiscibles requiere que entren en contacto, es importante tener una agitación vigorosa, pero también un tiempo de interacción para el proceso de extracción del mercurio hacia la fase orgánica, por ello antes del punto de equivalencia, mientras se está dando la reacción y hay presente ditizona sin reaccionar, se ve la mezcla de naranja con verde por algunos segundos, hasta llegar a un naranja homogéneo, lo cual puede confundir al analista, por lo que es importante esperar unos 20 s antes de la adición siguiente y observar apropiadamente el volumen al punto de equivalencia.

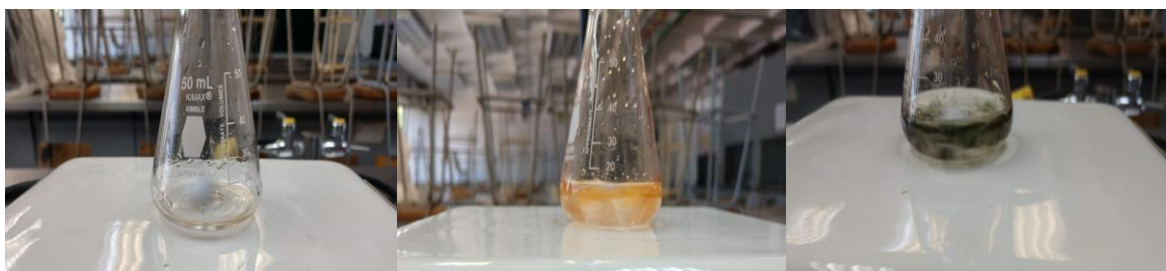


Figura 10. Cambio de color de las fases en la determinación de mercurio con ditizona (bureta) en la valoración en continuo. (a) inicio, (b) antes del PE, (c) PE y después del PE

Con la finalidad de no tener la mezcla de colores, debido a la presencia de dos especies coloridas en la fase orgánica, se plantea intercambiar la posición del analito y valorante en el sistema de valoración, es decir, se coloca en la bureta la solución de mercurio estándar y la ditizona en el matraz Erlenmeyer.

Como se observa en la figura 11, el cambio de color es más fácil de visualizar con esta propuesta, porque al inicio se tiene el color verde de la ditizona (a), al valorar con el mercurio de la bureta se presenta la formación del ditizonato de mercurio y la presencia de la ditizona (antes del punto de equivalencia), se tiene la mezcla de especies resultando en una mezcla de colores debido a que todavía no ha

reaccionado completamente la ditizona y a la presencia del ditizonato de mercurio, el resultado es un color café observado (b). Se finaliza en el punto de equivalencia, dado que toda la ditizona ha reaccionado se observa y persiste solamente el color naranja (c) brillante, el cual se mantiene aún con un exceso de titulante y quedando el color naranja brillante.

Con esta propuesta, colocando una alícuota de ditizona en el matraz y en la bureta la solución de mercurio (estándar o problema) se evitan problemas para visualizar el volumen al punto de equivalencia, por lo que se decidió proceder con este procedimiento para las pruebas siguientes, realizando una agitación mecánica vigorosa y esperando 20 s antes de la siguiente adición cerca del volumen al punto de equivalencia, es decir, cuanto se observa el color café.



Figura 11. Determinación de mercurio (valorante-bureta) con ditizona (analito), (a) inicio, (b) antes del PE, (c) PE y después del PE.

4.4 Justificación de las condiciones experimentales en la metodología farmacopeica (posibles interferencias por otros metales).

Empleando las constantes mencionadas en la Tabla 3 (página 19), se realizan los diagramas respectivos para justificar las condiciones indicadas en la metodología reportada en la FEUM 13va Ed., donde se trabaja a pH de 1.0.

Como se observa en las figuras 12 y 13, la extracción del Ditizonato de Mercurio se puede realizar de manera selectiva en el intervalo de pH de 0 a 3, sin la interferencia de otros metales como Fe(II) o Pb(II); en cuanto a otros metales que pudieran estar presentes, no se encontraron datos reportados para quelatos de ditizona con Fe(III) o As, ambos son impurezas reportadas en la FEUM 13va Ed., que deben ser evaluadas en la materia prima (FEUM, 2022).

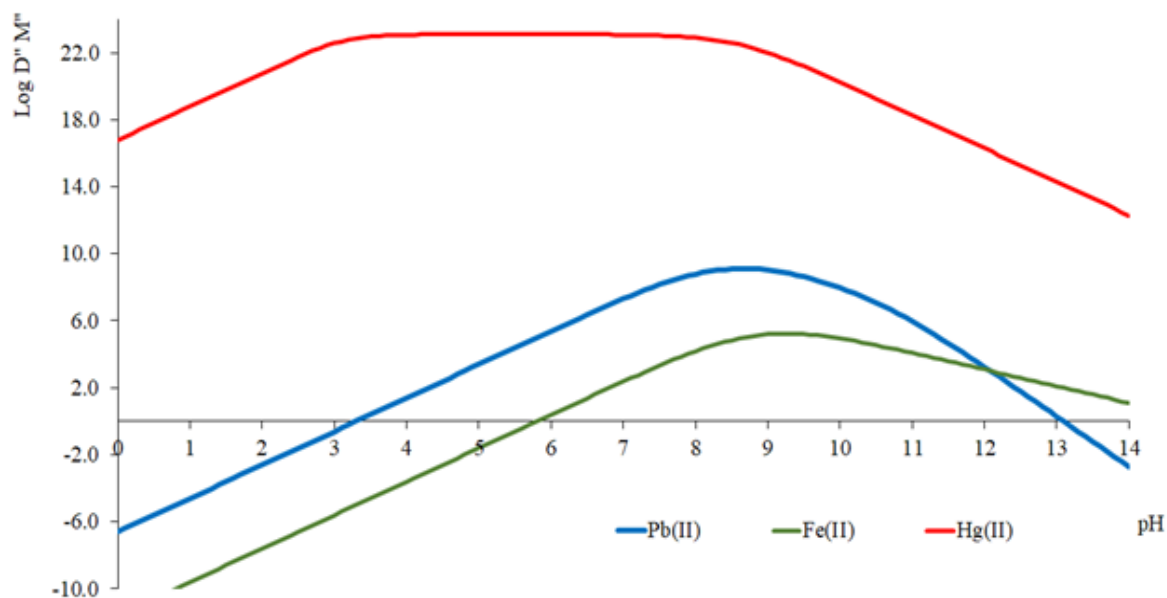


Figura 12. Diagrama Log D' para los ditizonatos de Hg (II), Pb (II) y Fe (II) en cloroformo. Elaboración propia.

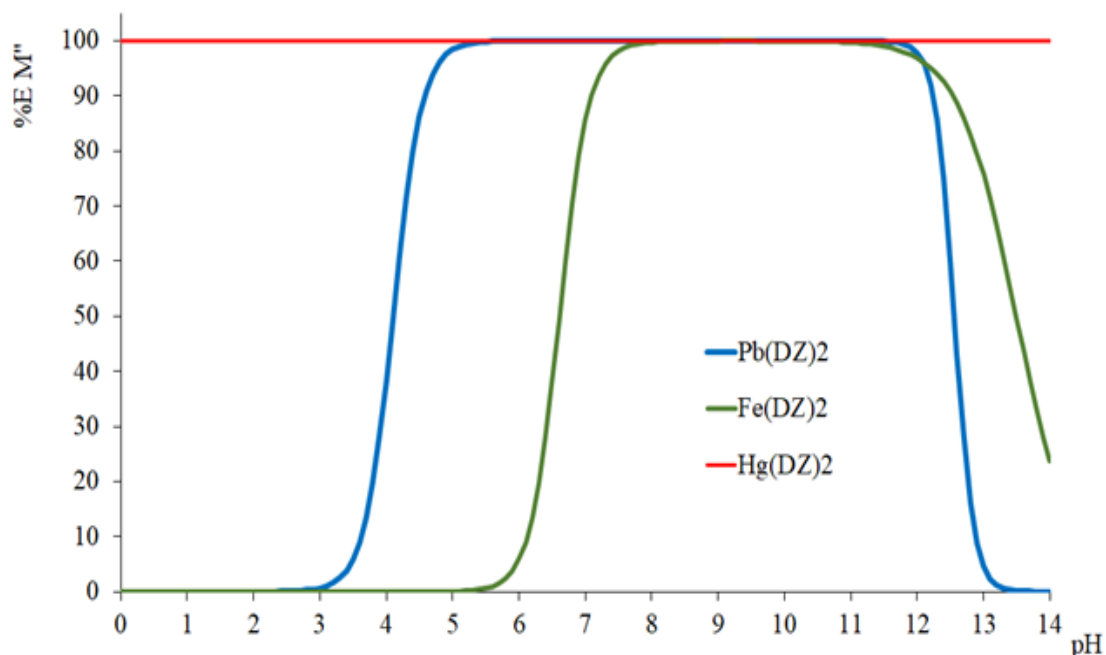


Figura 13. Porcentaje de recuperación (extracción) en función del pH para los ditizonatos de Pb (II), Fe (II) y Hg (II) en cloroformo. Elaboración propia.

La extracción de Fe(II), principio activo y componente principal de la materia prima y del medicamento, presente como Fe^{2+} a pH ácido, comienza a ser significativa a valores de pH superiores de 6.0 (fig. 13), por lo que, en este caso, el control del pH de trabajo, siendo menor a pH de 3.0 se estima sea suficiente para asegurar la selectividad de la extracción del mercurio, con rendimientos cercanos al 100%, aún en presencia de Fe(II) en alta concentración.

Dado que la solución de mercurio es incolora, la solución clorofórmica de ditizona posee un color verde oscuro y el ditizonato de mercurio presenta un color naranja brillante (en cloroformo), esto es suficiente para poder realizar la valoración y determinar de manera visual el punto de equivalencia; es decir, no es necesario añadir ningún indicador.

4.5 Evaluación de los interferentes

A fin de comprobar experimentalmente la selectividad de la extracción de mercurio a pH menor de 3.0 se realizó la valoración de mezclas de mercurio estándar en presencia de cada interferente que se considera pueda afectar, así como con soluciones simples de los interferentes.

De conformidad con lo esperado según los diagramas realizados ninguna de las soluciones simples o mezclas que involucran a los posibles interferentes sufrió el más mínimo cambio de coloración, incluso con la mezcla de todos los posibles interferentes, por lo que se confirma que la quelación de los otros metales no se lleva a cabo por lo tanto no presentan interferencia al pH de trabajo en la valoración de mercurio.

La presencia de una gran cantidad como Fe^{2+} , siendo el metal más abundante en la solución, no reacciona con la ditizona, lo cual es congruente con lo observado en los diagramas de distribución y extracción. Por otro lado, el Fe^{3+} y As, tampoco reaccionan con la ditizona, debido a que no hay un cambio de color en la solución, siendo conocido que los ditizonatos presentan diferentes colores (naranja-rosado) de acuerdo con el metal con el cual interacciona la ditizona. Dado lo anterior, al preparar las soluciones de mercurio, se debe asegurar un pH menor a 3.0, por ello se propone se utilice ácido sulfúrico 0.5 M para ello.

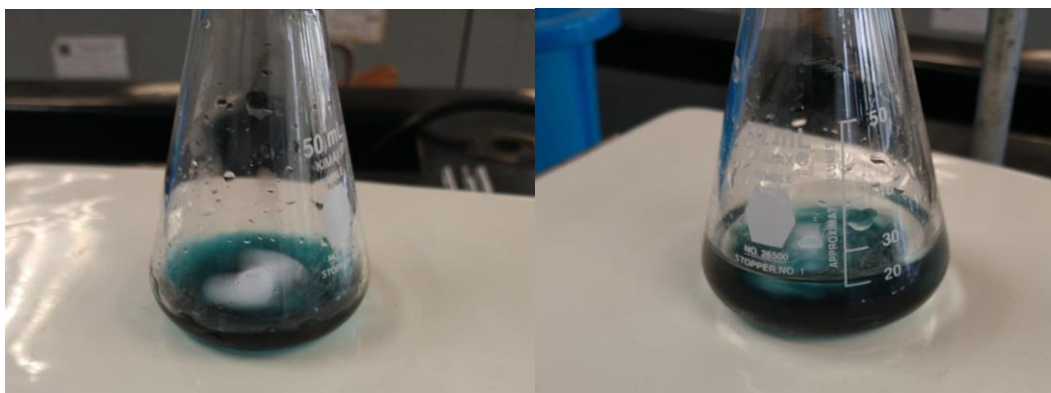


Figura 14. Valoración de mezcla de metales posibles interferentes.

También se eliminó el uso de hidroxilamina en la metodología, debido a que esta ocasiona la reducción del Fe(III) a Fe(II), pero al apreciar que este metal en ninguno de los dos estados de oxidación que puede tener en solución afecta a la valoración, por ende, no es necesario su uso.

La mezcla de mercurio con interferentes tuvo un comportamiento similar a la solución de mercurio estándar, por lo que se puede afirmar que los metales mencionados no afectarán la determinación, como lo demuestran los diagramas de %E vs pH, siempre que el pH este en un intervalo de 0-3, siendo así un ensayo específico de Mercurio.

4.6 Determinación de mercurio en medicamentos comerciales mediante valoración en continuo.

Se procedió a realizarse la determinación de mercurio en los tres medicamentos antes mencionados. Como son productos comerciales, los cuales son analizados por el fabricante antes de ser liberados al mercado, es de esperar que cumplan con la regulación indicada para mercurio en el MGA 0551 Prueba límite de mercurio, que indica la materia prima (principio activo) debe de tener no más de 3 ppm (FEUM, 2022). Por lo anterior, se analiza también el medicamento fortificado con mercurio, para observar el cambio de color y determinar el volumen al punto de equivalencia relacionado a la concentración de mercurio adicionada.

Al estandarizar la ditizona utilizada en este punto se obtuvo una ditizona de 14 ppm o 5.5832×10^{-5} M, por lo que se procedió utilizando esta ditizona en las pruebas con medicamentos.

4.6.1 Croferron

Una vez preparada la solución problema, se llevó a cabo la determinación de mercurio con la metodología propuesta, sin embargo, no se observó nunca la formación del ditizonato de mercurio (figura 15), solamente se pudo apreciar en todo momento el color verde de la ditizona en cloroformo, por lo que se asume que no se tiene la presencia de mercurio.

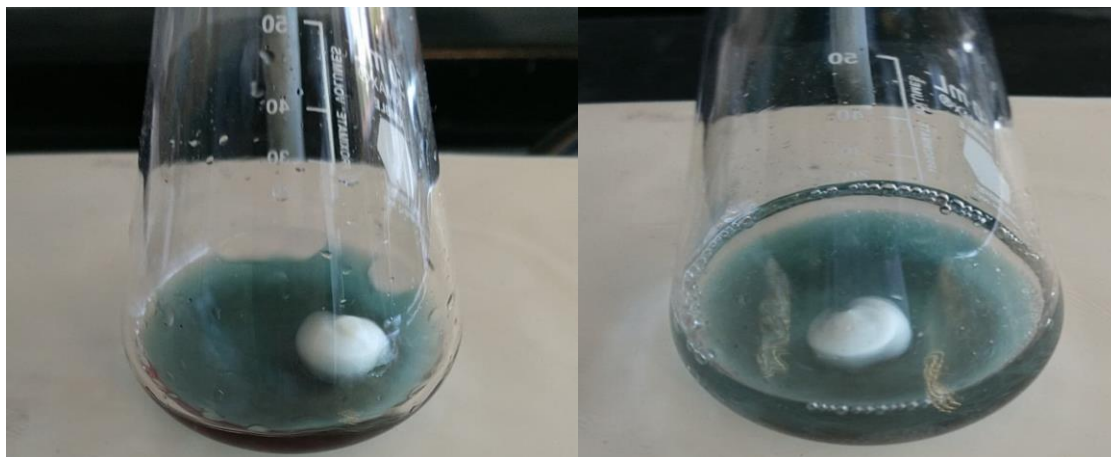


Figura 15. Valoración de la solución problema a partir de CROFERRON.

A continuación, se hizo una adición de una solución de mercurio como se indica en el apartado “**Medicamentos fortificados (página 27)**”, se logró apreciar el cambio requerido por lo que si en dado caso de que la muestra hubiera tenido una cantidad de mercurio se podría haber visto el cambio de color, al agregar 1.6 mL de ditizona, donde se tiene el punto de equivalencia (figura 16).

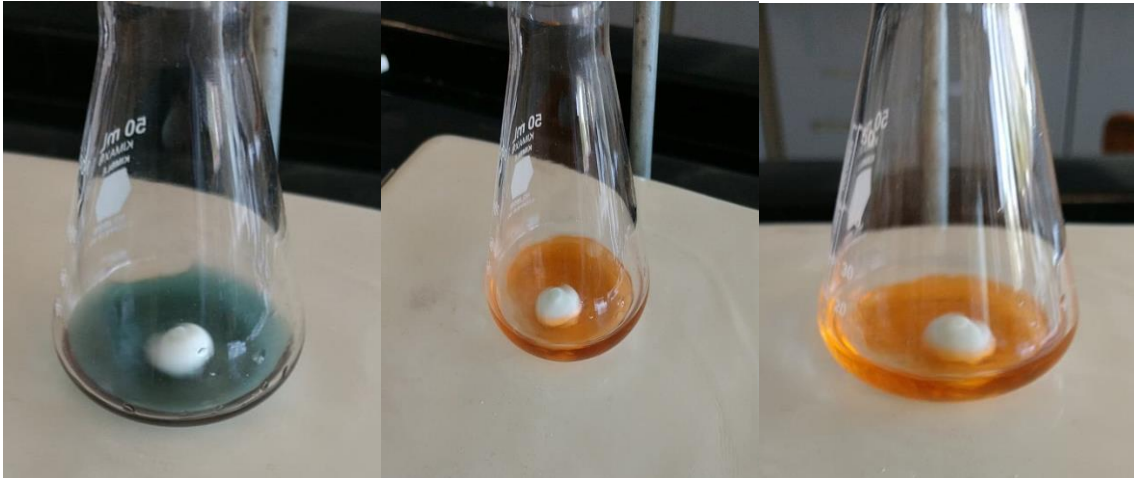


Figura 16. Valoración de mercurio en la muestra fortificada de CROFERRON

Al obtener un volumen gastado de 1.4 mL de medicamento gastado se obtuvo una concentración de $9.97 \times 10^{-5} \text{M}$ de mercurio lo que concuerda con la cantidad adicionada en el medicamento.

4.6.2 Salud total

En el caso de Salud total se aprecia el mismo caso en el que por sí sólo al agregar la ditizona no se aprecia el cambio de la fase orgánica como se observa en la figura 17 por lo que correspondió a volver a hacer el procedimiento marcado en el apartado “Medicamentos fortificados”,

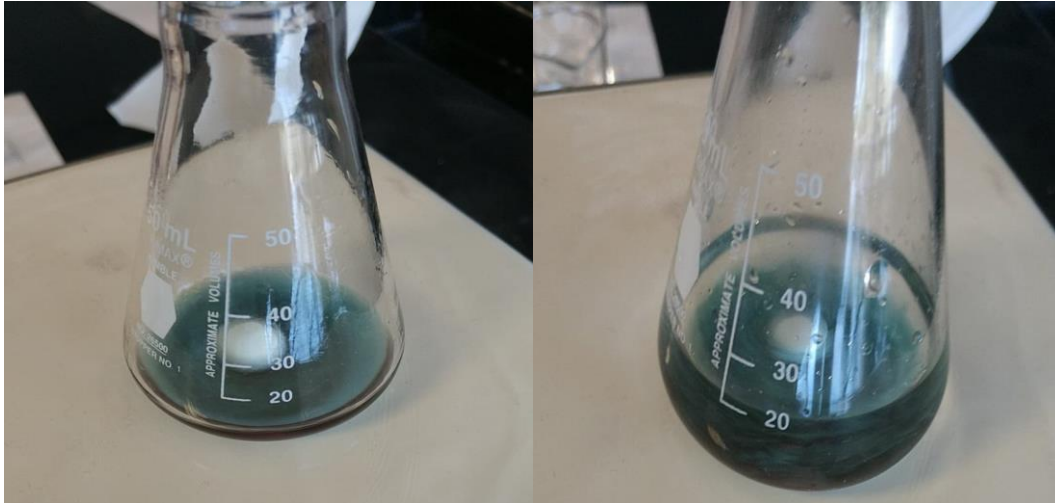


Figura 17. Valoración de muestra de salud total sin presencia de mercurio.

Al hacer la adición de la solución de mercurio se aprecia que, si tiene cambio de coloración por lo que de haber tenido mercurio en el medicamento se hubiera relevado, como se muestra en la figura 18.

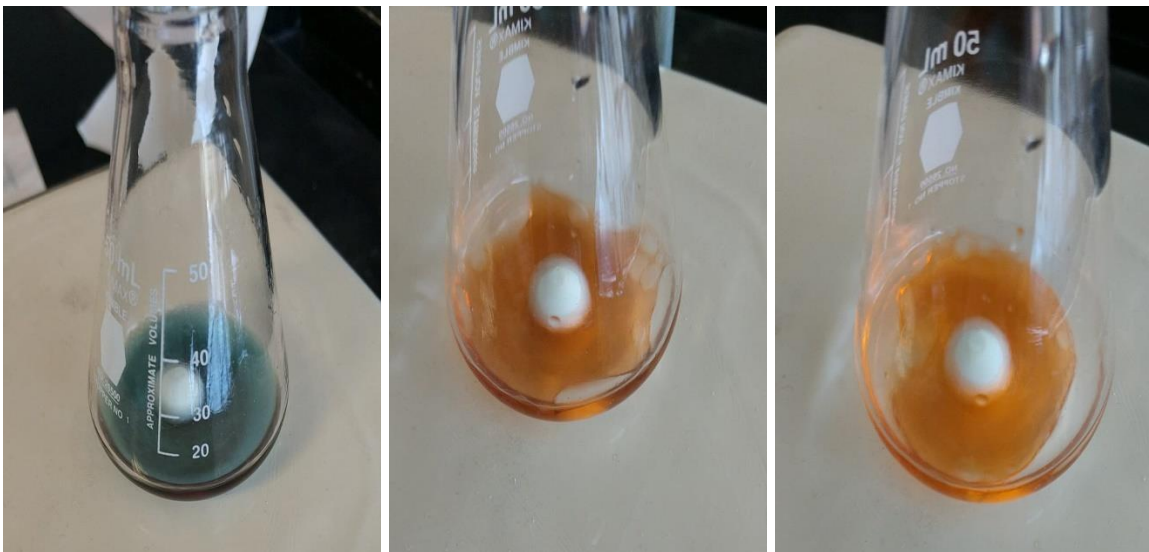


Figura 18. Valoración de fármaco salud total dotado de mercurio

Al haber sido fortificado el medicamento se gastaron 1.5 mL de medicamento gastado se obtuvo una concentración de $9.20 \times 10^{-5} \text{M}$ de mercurio agregado teniendo un muy pequeño cambio, pero nada significativo a la concentración de

mercurio agregado en el medicamento, permitiendo ver cómo se comporta el sistema en la presencia de mercurio.

4.6.3 Hemogen

Finalmente, para el medicamento Hemogen se puede apreciar que de la misma manera la solución preparada con solamente el medicamento no se aprecia un cambio de coloración por lo que se procedió a hacer una adición de mercurio de nuevo como se marca en el apartado “**Medicamentos fortificados (página 27)**”, para permitir ver el cambio en caso de poseer mercurio.

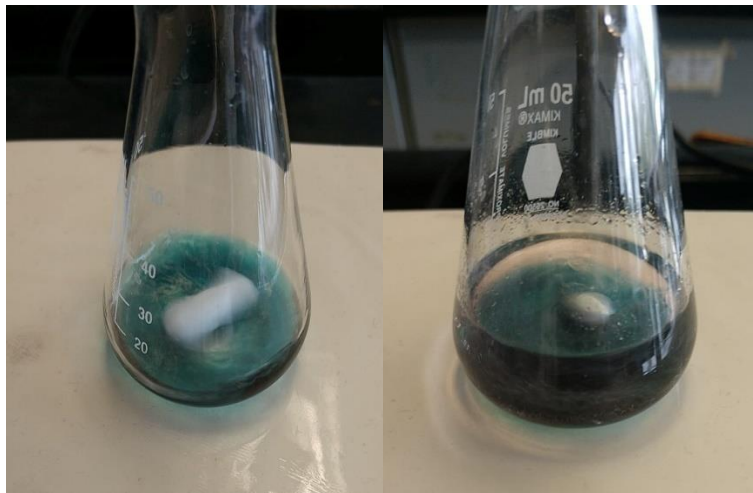


Figura 19. Valoración de muestra fármaco Hemogen

Al hacer la adición de mercurio se logró apreciar el cambio de color distinguible de la formación del complejo de ditizonato de mercurio, lo que permite ver que si el fármaco hubiera tenido mercurio hubiera sucedido este cambio.

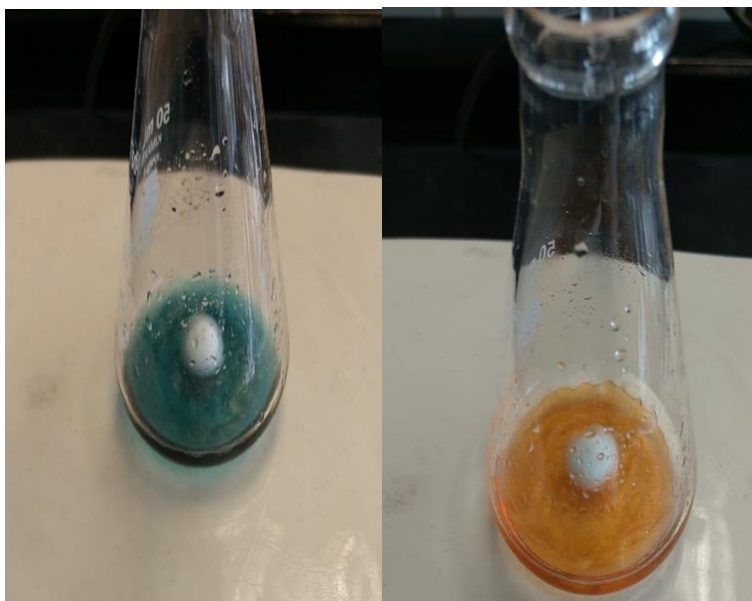


Figura 20. Valoración de Hemogen fortificado de mercurio

Como se aprecia en la figura 20, a partir de la dosificación de mercurio se aprecia el cambio en la valoración con 1.4 mL de medicamento gastado en la valoración se obtuvo una concentración de $9.97 \times 10^{-5} \text{M}$ de mercurio lo que concuerda con lo adicionado en el medicamento.

Con las adiciones de mercurio en los medicamentos se apreció el que pasaría si en el caso de que las muestras tuvieran una cantidad mayor de mercurio que la cantidad permitida. En general, era de esperar que los medicamentos NO contuvieran mercurio, esto debido a que el control estricto del medicamento desde la materia prima utilizada para la fabricación de este asegura la ausencia de este metal pesado. Siendo que durante la producción no es viable la incorporación de mercurio, no es posible que la cantidad de mercurio aumente en este proceso, a no ser por alguna contaminación accidental, lo cual es poco probable.

4.7 Valoración por retroceso.

Si bien la metodología propuesta en el apartado anterior se consideró adecuada, debido a que la cantidad de mercurio permitida en materia prima es baja,

3 ppm, que implican 3 mg de Hg por 1000 g de sulfato/fumarato ferroso, se propuso realizar la determinación empleando una valoración por retroceso, a fin de que la percepción del cambio de color sea más adecuada.

Lo anterior, debido a que, si la muestra tiene menos de 3 ppm, el cambio de color sería más difícil de visualizar, porque el color del complejo sería muy tenue y además la cantidad de mercurio problema a utilizar para la valoración sería muy grande, o bien, sería imposible de prepararse una solución problema, debido a la gran cantidad de muestra a pesar para tener una concentración de mercurio en la solución valorante*. Por tanto, se consideró factible utilizar una valoración indirecta que permita apreciar el cambio de color de manera más simple sin complicar la preparación de la muestra y que en el peor de los casos, pudiera no ser una solución homogénea, lo vital, es disolver el mercurio, no todo el sulfato/fumarato ferroso.

**Para preparar una solución de 1 ppm de Hg utilizando la materia prima que se suponga tiene 2 mg Hg/Kg muestra, sería necesario pesar 25 g y disolver en 50 mL, siendo poco probable que se forme una solución homogénea, que se pueda colocar en la bureta.*

Cabe recordar, que, para cuantificar la cantidad de mercurio en las muestras, primeramente, como se marca en la FEUM 13va Ed. y en este trabajo, se debe estandarizar la solución de ditizona, en especial debido a que el cloroformo se evapora fácilmente y la ditizona se degrada de manera muy rápida porque es fotosensible, por lo que también se recomienda la preparación de la solución el mismo día que se vaya a utilizar, así como las diluciones necesarias, antes de realizar la valoración.

4.7.1 Materia prima sulfato ferroso granular LEDEFAR

Se realiza la determinación empleando una solución de mercurio a 10 ppm, para ello se preparan las soluciones siguientes:

- Solución de Ditizona 200 ppm en cloroformo
- Dilución de Ditizona 16 ppm en cloroformo (se debe estandarizar)
- Disolución de HgCl_2 1290 ppm en ácido sulfúrico 0.5 M
- Mercurio estándar: 12.9 ppm en ácido sulfúrico 0.5 M

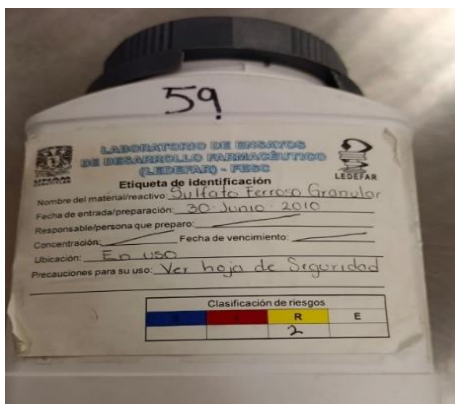


Figura 21. Fotografía de envase que la muestra de sulfato ferroso granular.

Se realizó la titulación de ditizona tres veces para estandarizar y obtener su concentración real, los volúmenes al punto de equivalencia para las 3 repeticiones fueron: 2.2, 2.25 y 2.25 mL de mercurio estándar (12.9 ppm), con lo que se pueden determinar las milimoles que reaccionaron durante la valoración y obtener que la concentración de ditizona promedio es 5.75×10^{-5} M Ditizona (14.73 ppm). Se procedió a la determinación de mercurio en dos ensayos diferentes, sin embargo, en el primer ensayo se adiciona una alícuota de 5 mL mientras que para el segundo ensayo se adicionan 4mL de ditizona en cloroformo, esto a fin de evaluar el cambio de coloración con diferente alícuota y ver si existe alguna diferencia.

Para el primer ensayo:

- **Cálculo de mmol de Ditizona totales:**

$$5\text{mL Dz} \frac{5.75 \times 10^{-5} \text{mmol Dz}}{\text{ml Dz}} = 2.87 \times 10^{-4} \text{mmol Dz}$$

- **Cálculo de mmol de Ditizona que reaccionan con Hg STD dado un volumen al punto de equivalencia de 2.20 mL:**

$$2.2 \text{ mL Hg} \times \frac{12.9 \text{ mg Hg}}{1000 \text{ mL Hg}} \times \frac{1 \text{ mmol Hg}}{200.59 \text{ mg Hg}} \times \frac{2 \text{ mmol Dz}}{1 \text{ mmol Hg}} = 2.83 \times 10^{-4} \text{ mmol Dz}$$

- **Milimoles de Dz que reaccionaron con el mercurio presente en la muestra.**

$$2.87 \times 10^{-4} - 2.83 \times 10^{-4} = 4.36 \times 10^{-6} \text{ mmol de Dz}$$

- **Miligramos de mercurio y partes por millón de mercurio en la muestra analizada**

$$4.36 \times 10^{-6} \text{ mmol Dz} \times \frac{1 \text{ mmol Hg}}{2 \text{ mmol Dz}} \times \frac{200.59 \text{ mg Hg}}{1 \text{ mmol Hg}} = 4.37 \times 10^{-4} \text{ mg Hg}$$

$$4.37 \times 10^{-4} \text{ mg Hg} \times \frac{1000 \text{ g muestra MP}}{2.1000 \text{ g mta pesada}} = 0.208 \text{ mg} \frac{\text{Hg}}{\text{Kg}} \text{ muestra}$$

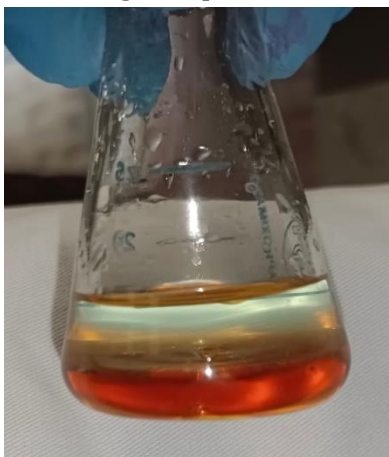


Figura 22. Fotografía del punto de equivalencia para la valoración del reactivo sulfato ferroso granular LEDEFAR

La valoración se puede ver en el enlace QR siguiente:



Figura 23. Código QR al video obtenido para apreciar la valoración y cambio de color.

En el caso del segundo ensayo, en el primer experimento se tiene:

- **Cálculo de mmol de Ditizona totales:**

$$4 \text{ mL Dz} \left(\frac{5.75 \times 10^{-5} \text{ mmol Dz}}{1 \text{ mL Dz}} \right) = 2.30 \times 10^{-4} \text{ mmol Dz}$$

- **Cálculo de mmol de Ditizona que reaccionan con Hg STD, siendo el volumen al punto de equivalencia de 1.85 mL:**

$$1.85 \text{ mL Hg} \times \frac{12.9 \text{ mg Hg}}{1000 \text{ mL Hg}} \times \frac{1 \text{ mmol Hg}}{200.59 \text{ mg Hg}} \times \frac{2 \text{ mmol Dz}}{1 \text{ mmol Hg}} = 2.38 \times 10^{-4} \text{ mmol Dz}$$

- **Milimoles de Dz que reaccionaron con el mercurio presente en la muestra.**

$$2.30 \times 10^{-4} - 2.38 \times 10^{-4} = -8.088 \times 10^{-6} \text{ mmol de Dz}$$

Al obtener una diferencia negativa, la cual no tiene sentido químico, quiere decir que el volumen al punto de equivalencia determinado es mayor al real, por lo que es necesario el repetir la determinación, poniendo más atención a la agitación y el tiempo de reacción.

Segundo ensayo, repetición. Se espera al menos 20 s de agitación vigorosa antes de hacer la siguiente adición de volumen.

- **Cálculo de mmol de Ditizona que reaccionan con Hg STD siendo el volumen al punto de equivalencia de 1.75 mL:**

$$1.75 \text{ mL Hg} \times \frac{12.9 \text{ mg Hg}}{1000 \text{ mL Hg}} \times \frac{1 \text{ mmol Hg}}{200.59 \text{ mg Hg}} \times \frac{2 \text{ mmol Dz}}{1 \text{ mmol Hg}} = 2.25 \times 10^{-4} \text{ mmol Dz}$$

- **Diferencia de mmoles de Dz totales contra mmoles equivalentes a estándar de mercurio.**

$$(2.30 \times 10^{-4}) - (2.25 \times 10^{-4}) = 4.77 \times 10^{-6} \text{ mmol de Dz}$$

- **Miligramos de mercurio y partes por millón de mercurio en la muestra analizada**

$$4.77 \times 10^{-6} \text{ mmol Dz} \times \frac{1 \text{ mmol Hg}}{2 \text{ mmol Dz}} \times \frac{200.59 \text{ mg Hg}}{1 \text{ mmol Hg}} = 4.79 \times 10^{-4} \text{ mg Hg}$$

$$4.79 \times 10^{-4} \text{ mg Hg} \times \frac{1000 \text{ g muestra MP}}{2.2816 \text{ g mta pesada}} = 0.210 \text{ mg} \frac{\text{Hg}}{\text{Kg}} \text{ muestra}$$

Por tanto, para esta muestra se obtuvieron 0.208 y 0.210 mg Hg por Kg de sulfato ferroso granular (ppm Hg en la muestra), respectivamente para cada ensayo. Debido a los resultados antes mostrados son similares entre sí, sin importar la alícuota de 4 o 5 mL, se decide utilizar 5 ml de alícuota de ditizona para que el volumen al punto de equivalencia sea mayor. Además, se propone disminuir la concentración de mercurio estándar a utilizar, en este caso a 5 ppm, lo cual aumentará el volumen al punto de equivalencia al doble y ayudará a visualizar mejor el cambio de color.

4.7.2 Reactivo analítico Baker contaminado

Se preparó una solución de Ditizona a 16 ppm (concentración teórica con base en los datos del reactivo analítico empleado) y se realizó la titulación de una alícuota de 5 mL por retroceso, observando volúmenes al punto de equivalencia de 5.3, 5.4 y 5.3 mL de mercurio estándar, para cada análisis; la solución de mercurio estándar tenía una concentración de 5.16 ppm ($2.5747 \times 10^{-5} M$), con lo que se pueden determinar las milimoles que reaccionaron durante la valoración.

Al poseer una concentración de $2.57 \times 10^{-5} M$ con un gastó promedio de 5.3 mL

$$\frac{2.5747 \times 10^{-5} \text{ mmol}}{\text{mL}} \times 5.3 \text{ mL} = 1.3646 \times 10^{-4} \text{ mmol}$$

Los cuales son los milimoles gastados para consumir la cantidad de Ditizona que se encuentra en la solución, ya que la estequiometria de la reacción es por cada mmol de mercurio se deben consumir 2 mmol de Ditizona se observa la siguiente tabla:

Tabla 4. Tabla de variación de cantidades molares para titulación de Ditizona

	$\text{Hg}^{2+}_{\text{STD}}$	+	$2\text{Dz}^{-}_{(\text{org})}$	\leftrightarrow	$\text{Hg}(\text{Dz})_{2(\text{org})}$
In	1.3646E-04 mmol				
Rxn	1.3646E-04 mmol		2.7293E-04 mmol		
Eq	0		0		1.3646E-04 mmol

Se determinó que hay 2.7293×10^{-4} mmol de Dz que reaccionan con 1.3646×10^{-4} mmol de Hg^{2+} en el punto de equivalencia (esto por la estequiometria). La concentración en la solución de ditizona es, por tanto:

$$\frac{2.7293 \times 10^{-4} \text{ mmol Dz}}{5 \text{ mL}} = 5.4586 \times 10^{-5} M \text{ Dz}$$

$$\frac{2.7293 \times 10^{-4} \text{ mmol Dz}}{5 \text{ mL}} \times \frac{256.33 \text{ mg}}{1 \text{ mmol Dz}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} = 13.992 \frac{\text{mg}}{\text{L}} (\text{ppm}) \text{ Dz}$$

Por tanto, una vez que se conoce la concentración real de la Ditizona, se procede a hacer las valoraciones por retroceso de las muestras.

Se realizó una valoración para un reactivo contaminado de sulfato ferroso marca Baker. Los cristales de dicho reactivo deben de ser verdes, sin embargo, se observa la mezcla de cristales verdes y amarillos (figura 24).



Figura 24. Fotografía del frasco de Sulfato Ferroso contaminado.

La valoración de este reactivo fue simple debido a que la solución obtenida al verter el ácido sulfúrico sobre la materia prima fue de color azul muy claro, lo que permite ver fácilmente el cambio de color en la fase orgánica.

El volumen al punto de equivalencia fue menor a lo esperado, siendo menor de 1.5 mL de Hg^{2+} (5.16 ppm), para el análisis por triplicado y el color observado fue intenso (figura 25).



Figura 25. Fotografía del punto de equivalencia para la valoración del reactivo “Baker Analyzed reactive”

La concentración calculada de mercurio en el reactivo se determinó (tabla 5) con los resultados obtenidos de la valoración.

Tabla 5. Resultados obtenidos para la valoración de Hg en el reactivo contaminado “Baker Analyzed reactive”

g MTA	V_{peqv} (ml)	ppm Hg
2.0052	1.4	10.047
1.9952	1.5	9.789
1.9971	1.3	10.304
Promedio		10.05
CV (%)		2.56

Como se aprecia en la figura 24, el reactivo no reporta la cantidad de mercurio presente pero no se considera despreciable, sin embargo, es un reactivo para análisis químico, no es para uso en medicamentos u otro fin que conlleve a la ingesta de este.

4.7.3 Materia prima de sulfato ferroso desecado Alpharma

Se realizó también la determinación de mercurio para una muestra de sulfato ferroso desecado, proporcionado por la empresa Alpharma (figura 26), la cual se espera cumpla con las especificaciones establecidas por la FEUM 13va Ed., al ser

materia prima, la cual se utiliza para la producción de medicamentos. Cabe mencionar que esta muestra era un polvo muy fino.

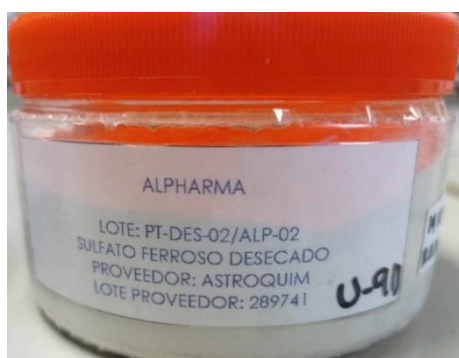


Figura 26. Fotografía del envase que contiene el sulfato ferroso desecado.

Como se aprecia en la figura 27, la fase acuosa se observa lechosa, es decir, no como una solución homogénea, más bien se ve como una dispersión, sin embargo, las dos fases inmiscibles se separan y distinguen sin ningún problema, por lo que la valoración se realizó sin ningún inconveniente.

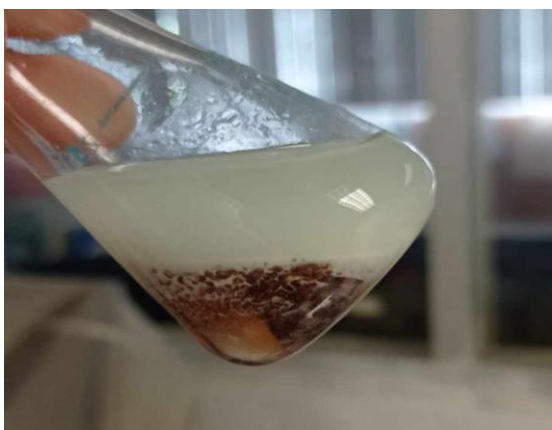


Figura 27. Fotografía durante la valoración de la materia prima de “Alpharma” después de agregar 3 mL de Hg STD 5.16 ppm (antes del punto de equivalencia).

Al punto de equivalencia, el sistema se apreciaba con una fase acuosa lechosa y la fase orgánica con el color naranja brillante (figura 28).



Figura 28. Fotografía de la valoración al punto de equivalencia.



Figura 29. Fin de valoración de Alpha.

Como se puede notar en la figura 29, al dejar reposar el sistema, la fase acuosa se visualiza como una solución traslúcida y el color de la fase orgánica se puede apreciar de manera más sencilla, por lo que se supone que la apariencia lechosa (dispersión) tiene que ver con la agitación vigorosa y el proceso de disolución que se tardó en llevar a cabo del sulfato ferroso. La concentración calculada de mercurio en la materia prima de sulfato ferroso desecado se determinó con los resultados obtenidos de la valoración (tabla 6).

Tabla 6. Resultados obtenidos para la valoración de Hg en la materia prima de Alpha

g MTA	V_{peqv} (ml)	ppm Hg
1.9930	4.4	2.341
2.0065	4.7	1.554
1.9759	4.5	2.083
	Promedio	1.99

La muestra, aunque presenta presencia de mercurio, no rebasa el límite permitido de 3 ppm, por lo que cumple con la normativa respectiva. Hay que apreciar que en la segunda valoración hubo un aumento de volumen gastado (por ende, de concentración) esto debido a que en la valoración no se dejó el tiempo de reposo entre añadido y añadido lo que dificultó el apreciar el fin de la valoración.

4.7.4 Estimaciones teóricas de los volúmenes esperados al punto de equivalencia

Una vez comprobado que la metodología es viable, se muestra el estimado teórico de gasto al volumen al punto de equivalencia, al emplearse diferentes concentraciones de ditizona, de acuerdo con la concentración de mercurio presente en una muestra (Tabla 8), empleando la valoración por retroceso.

Tabla 7. Gasto esperado (mL) empleando como valorante $[Hg^{2+}] = 2.5724 \times 10^{-5}$ mol/L Hg (5.0 ppm) al emplear diferentes concentraciones de ditizona y 2.0g de muestra.

[Dz]	mol/L ppm	3.12×10^{-5} 8	3.90×10^{-5} 10	4.68×10^{-5} 12	5.46×10^{-5} 14	6.24×10^{-5} 16
[Hg] (ppm) en la muestra	0.5	3.030	3.813	4.596	5.378	6.161
	1.0	2.930	3.713	4.496	5.278	6.061
	1.5	2.830	3.613	4.396	5.178	5.961
	2.0	2.730	3.513	4.296	5.078	5.861
	2.5	2.630	3.413	4.196	4.978	5.761
	3.0	2.530	3.313	4.096	4.878	5.661

Al apreciar la anterior tabla se puede obtener un aproximado de la cantidad de mercurio en una muestra o de la concentración de ditizona al ser valorada con mercurio estándar, esto con el fin de facilitar la planeación de las valoraciones a realizar en el laboratorio de control de calidad.

De las metodologías propuestas en este trabajo, la valoración por retroceso se considera la óptima a emplear para la determinación de mercurio con ditizona en dos fases inmiscibles, debido a que la presencia de mercurio en los materiales indicados por la FEUM 13va Ed., el contenido de este será en general menor a las 3 ppm.

La tabla 8 compara la disminución en reactivos, uso de disolventes (cloroformo) y generación de residuos entre la metodología farmacopeica y la propuesta final de este trabajo. Resalta que el gasto de disolvente y generación de residuos es considerable, además de que la metodología es más sencilla y rápida.

Tabla 8. Comparación de las metodologías evaluadas

Metodología	FEUM 13va Ed.	Propuesta final
Cantidad de reactivos a usar	Ditizona: 40mg Mercurio: 135.4mg Cloroformo: 1,100mL	Ditizona: 5 mg Mercurio:13mg Cloroformo: 75mL
Componentes usados durante la metodología (estandarización y valoración de la muestra, n=3)	3mL de mercurio estándar (20 ppm) 6mL de ácido acético 60mL de Hidroxilamina 600 mL de solución ácida (ácido sulfúrico 1M) 50 ml de ditizona (12 ppm)	30 mL de Ditizona (16 ppm) 50 mL de Mercurio estándar (5 ppm) 30 mL de solución ácida (ácido sulfúrico 1 M)
Procedimiento	Tras cada adición realizar agitación manual y separar la orgánica, repetir hasta el cambio de color esperado	Tras cada adición agitar vigorosamente por 20s, observar el color de la fase orgánica y repetir hasta el cambio de color
Tiempo de análisis	30 min	10 min
Residuos generados	1,500 mL	Menos de 100 mL

5.0 Conclusiones.

Se realizó la metodología reportada en la FEUM 13va Ed. y se observaron las desventajas y complicaciones de esta, así como la gran cantidad de disolvente y reactivos empleados para realizarla. La generación de residuos relacionada también se considera otro problema relacionado aunado a la laboriosidad de tener que separar las fases tras cada adición en una relación de fases muy desigual.

Se trataron las problemáticas señaladas, entre las cuales figuraban la cantidad y volúmenes de reactivos, la dificultad de la metodología y el tiempo en la cual se llevaba a cabo la valoración finalmente se eligió y se recomienda la

valoración por retroceso tanto para fármacos como para medicamentos ya que permite la visualización del cambio de color de manera más sencilla y es la más adecuada para la determinación de una concentración pequeña en este caso de menos de 3 ppm de mercurio en las muestras.

Se propuso, la agitación mecánica y una valoración en continuo que simplifique al analista la determinación y sea más rápida.

Se demostró mediante los diagramas de existencia predominio, diagramas de extracción y de recobro, que las condiciones experimentales, es decir, el realizar la extracción a pH menor de 3.0, garantiza que la reacción de la ditizona sea selectiva a mercurio, por lo que es un método utilizable y confiable; específico para mercurio.

Al ahorrar todas las cantidades mencionadas en el transcurso de este trabajo permite hacer más análisis de fármacos y considerando los costos de reactivos como lo son de 1000 g de cloruro de mercurio tienen un costo aproximado 10,000 – 15,000 \$ MXN, Ditizona 25 g cuesta aproximadamente 4,800 \$ MXN, el costo de ácido sulfúrico con costos de 1,200 a 1,500 \$ MXN siendo estos los reactivos de mayor cantidad de uso en esta metodología lo que permite hacer un ahorro de costo de análisis significativo.

6.0 Referencias.

1. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) 13 ed. México 2021, secretaria de Salud, Comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
2. Candia M. (2016). Diseño, construcción y evaluación de un método para la determinación de plomo (II) y Mercurio (II) en solución, AREQUIPA-2016. Perú: Universidad Católica de Santa María.
3. Falfán E. (2018) Cinética de Isomerización de Ditizonato de Mercurio (II). Octubre 16, 2021, de Universidad Nacional Autónoma de México Sitio web:

https://www.academia.edu/37405647/Cin%C3%A9tica_de_isomerizaci%C3%B3n_del_ditizonato_de_mercurio_II

4. Lenntech. (1999). Propiedades químicas del Mercurio- Efectos del Mercurio sobre la salud - Efectos ambientales del Mercurio. Octubre 16, 2021, de Lenntech Sitio web: <https://www.lenntech.es/periodica/elementos/hg.htm>
5. Orozco G., José Manuel; Cañizares Macías, del Pilar M. (2010). Determinación de mercurio en formulaciones farmacéuticas utilizando un sistema de flujo continuo y ditizona en medio micelar. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, vol. 41, pp. 37-43.
6. Ringbom, A. (1979). Formación de complejos en química analítica. España: Alhambra.
7. FEUM. Misión/Visión. Octubre 16, 2021, de Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos Sitio web: <https://www.farmacopea.org.mx/>
8. Théraulaz F., Thomas O. (1994). Complexometric Determination of Mercury(II) in Waters by Spectrophotometry of its Dithizone Complex. Austria: Mikrochimica Acta.
9. Campillo S. (2011). Equilibrios y volumetría de complejación. España: Universidad de Murcia.
10. Oregon. (2020). Cloroformo, Usos y aplicaciones. agosto 26, 2022, de PQC Sitio web:
11. Sawakinome (2022). (1). Diferencia entre fumarato ferroso y sulfato ferroso. Agosto 26, 2022, de Sawakinome Sitio web: <https://es.sawakinome.com/articles/chemistry-science-nature/difference-between-ferrous-fumarate-and-ferrous-sulfate.html#:~:text=El%20fumarato%20ferroso%20y%20el%20sulfato%20ferroso%20son,las%20deficiencias%20de%20hierro%20en%20los%20sistemas%20vivos>
12. Watty M. (1982) Química Analítica España: Universidad Iberoamericana.
13. Lenntech. (1999). Hierro – Fe Octubre 14, 2021, de Lenntech Sitio web: <https://www.lenntech.es/periodica/elementos/fe.htm>

14. Health information (2022) Hierro Octubre 19, 2022, de Health information Sitio web: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/iron-datosenespanol/>
15. Villavicencio-Queijeiro, Alexa. (2012). La mitocondria como fábrica de cofactores: biosíntesis de grupo hemo, centros Fe-S y nucleótidos de flavina (FMN/FAD). TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas, 15(2), 116-132. Recuperado en 14 de noviembre de 2022, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-888X2012000200005&lng=es&tlng=es.
16. SEQC (2021) Mercurio (Hg) labtestonline recuperado 14 de noviembre de 2022, de <https://www.labtestsonline.es/tests/mercurio-hg>
17. Jiménez, B. Dolores, M. Sabanza, M. López, M. Molinos, A. Ciprian, G. (2021) Hemoglobina, estructura y trastornos, revisión bibliográfica. Revista Sanitaria de Investigación. Recuperado en 14 de noviembre del 2022, de <https://revistasanitariadeinvestigacion.com/hemoglobina-estructura-y-trastornos-revision-bibliografica/>
18. Vilaplana, M. (2021) El metabolismo del hierro y la anemia ferropénica. El sevier recuperado en 14 de noviembre del 2022, de <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-el-metabolismo-del-hierro-anemia-12004009>
19. Rodríguez, H. (2022) Propiedades del Hierro (Fe) National Geographic España recuperado en 14 de noviembre del 2022, de https://www.nationalgeographic.com.es/ciencia/propiedades-hierro-fe_18218#:~:text=Propiedades%20químicas%20del%20hierro,-El%20átomo%20de&text=El%20punto%20de%20ebullición%20del,el%20%2B2%20y%20%2B3
20. German technology. (2022) Quelatos HUMINTECH recuperado en 14 de noviembre del 2022, de <https://www.humintech.com/es/glosario/quelatos>
21. Al-Air (2022). Anemia perniciosa: medicamentos para el tratamiento de la anemia perniciosa - drogas <https://energymedresearch.com/52612-drugs-to-treat-pernicious-anemia>

22. Qué considerar durante la titulación por retroceso. (2023, marzo 27). Metrohm.com. https://www.metrohm.com/es_mx/discover/blog/20-21/what-to-consider-during-back-titration.html
23. Caballero L. (2023, 18 septiembre). Valoración de Mercurio con ditizona [Vídeo]. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=RM5jXmV7xck>
24. Schifter L. (2023, 20 de noviembre) Las Farmacopeas Mexicanas en la construcción de la identidad nacional. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952014000200006