

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA

METODOS COMPARATIVOS PARA LA
VALORACION DE TIMEROSAL EN
UN PRODUCTO FARMACEUTICO

T E S I S

Que Para Obtener el Título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P r e s e n t a

ARMANDO LOPEZ TENORIO

1 9 7 8



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

CLAS TESIS 1978
ABR M. T. 260 257
FECHA 264
PRSC _____
S _____



JURADO ASIGNADO	PRESIDENTE	Q.F.B.	Ramón Ulacia Esteve
ORIGINALMENTE	VOCAL	Q.F.B.	Ethelvina Medrano de Jaimes
SEGUN EL TEMA	SECRETARIO	Q.F.B.	Miguel Angel Cevallos Leal
	1 ^{er} SUPLENTE	Q.F.B.	Héctor Jara Farjeat
	2 ^o SUPLENTE	Q.F.B.	Rafael Zendejas Guizar

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

Laboratorios Grupo Roussel, S.A.

SUSTENTANTE:

Armando López Tenorio

ASESOR DEL TEMA:

Q.F.B. Ethelvina Medrano de Jaimes

A MIS PADRES:

Guillermo López López

Alicia Tenorio de López

A MI MAESTRA:

ETHELVINA MEDRANO DE JAIMES

A MIS MAESTROS

A MIS COMPAÑEROS

Y A TI

Con agradecimiento a los Laboratorios de Microanálisis, al Ing. Raúl Escobar Márquez; así como a los Laboratorios "Grupo Roussel, S. A.", y a la Srta. Q. Ma. - Libia García Ruiz por haber colaborado - en la realización de esta Tesis.

I N D I C E

	Página
1. INTRODUCCION.....	1
2. GENERALIDADES.....	4
3. METODOS DE VALORACION....	12
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	20
5. RESULTADOS.....	36
6. CONCLUSIONES.....	56
10. BIBLIOGRAFIA.....	58

I INTRODUCCION

La conservación de las formas farmacéuticas líquidas es de suma importancia, entre ellas se encuentran los inyectables.

Los productos inyectables que presentan problemas de estabilidad por una deficiente conservación en la esterilidad darán lugar al crecimiento fúngico o bacterial, podrían ocasionar problemas tanto en la estabilidad del inyectable como en la salud del usuario.

En ocasiones la presencia de microorganismos no patógenos no afecta la salud del usuario, pero sí al principio activo del producto, aún más, hay microorganismos que no afectan al principio activo, pero sí provocan cambios físicos en el vehículo.

Debido a esto, en algunas soluciones de uso inyectable es recomendable el uso de conservadores, que son sustancias que evitan el crecimiento microbiano.

Toda sustancia utilizada como conservador debe reunir cier
tas condiciones.⁶ Entre ellas se encuentran:

1. Que sea efectivo contra una gran
variedad de microorganismos.
2. Que sea químicamente activo.
3. Que no sea tóxico a las dosis --
usuales.
4. Que sea compatible con otros aditiu
vos.

Existe una gran variedad de conservadores, así como de cla
sificaciones. Una clasificación⁷ es:

1. Acídicos: Fenol, Cresol, Nipagin,
Nipasol.
2. Neutros: Clorobutanol, Alcohol -
Bencílico.
3. Mercuriales: Timerosal, Acetato
de Fenil Mercurio.
4. Cuaternarios de Amonio: Cloruro
de Benzalconio.

El uso de Timerosal como conservador en soluciones inyectables, como un estabilizador en el caso específico de esta Tesis y la dificultad encontrada en su valoración, nos hizo pensar en comparar varios métodos de ensayo para su determinación y así encontrar el más adecuado para su uso rutinario, tomando en cuenta su evaluación estadística, para comprobar su reproducibilidad y exactitud.

II GENERALIDADES

Desde el tiempo de los alquimistas el Mercurio ha sido usado en varias de sus formas en Medicina, pero fué Roberto Koch - el que popularizó su uso como antiséptico.

Inmediatamente después en sus famosas condiciones experi--mentales con esporas Antrax,³ descubrió que tenía un fuerte poder germicida, ya que tenía demostrado que el Bicloruro Mercúrico diluido mataba a las esporas de los organismos más resistentes.

Después Geppert (1889-1891) con nuevos experimentos mostró que el Bicloruro Mercúrico es un pobre germicida, pero que posee efectiva acción bacteriostática. Por lo que en Medicina tiene extensas aplicaciones.

Es de hacerse notar que muchas preparaciones mercuriales -

contienen como vehículo Alcohol Bencílico o Etilico, que ayudan a la actividad bacteriostática.

El Timerosal pertenece a los compuestos mercuriales orgánicos, de origen sintético, con el Mercurio unido a un anillo aromático y muy poco ionizado.¹³ Presenta en su estructura una combinación orgánica compleja.

Es uno de los más bacteriostáticos, menos irritantes y tóxicos en comparación con las sales mercuriales inorgánicas.

TIMEROSAL (23)

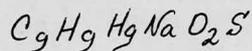
NOMBRES QUIMICOS

o-Etil Mercuribenzoato de Sodio, Etil Mercuritiosalicilato de Sodio, Mercurotiolato de Sodio.

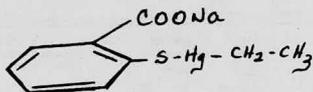
SINONIMOS

Timerosal, Tiomersal Sódico, Tiomersalate, Merthiolate⁸

FORMULA CONDENSADA



FORMULA DESARROLLADA



PESO MOLECULAR

404.81

DESCRIPCION

Polvo cristalino de color crema claro y olor característico.

SOLUBILIDAD

Muy soluble en agua, soluble en alcohol, casi in soluble en eter y benceno.

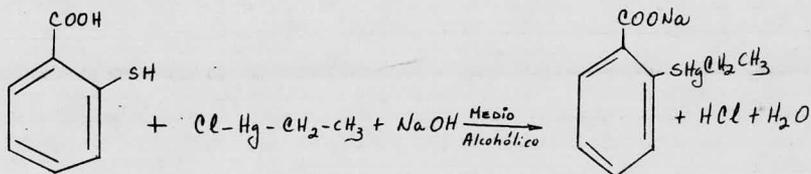
pH

En una solución al 1% es alrededor de 6.7.

PERDIDA AL SECADO

No más de 0.5% secado por Pentóxido de Fósforo - al vacío durante 24 horas.

PREPARACION (16)



ACCION FARMACOLOGICA (12, 13)

El Timerosal actúa como antiséptico, ya que al aplicarse localmente en la piel o membranas mucosas, destruye o previene el crecimiento de bacterias u otros microorganismos patógenos.

La acción antiséptica del Timerosal es lenta, debido a que actúa en dos tiempos: Primero los iones mercurio se absorben en la superficie bacteriana, luego penetran inhibiendo al microorganismo, de tal manera, que si se precipitan los iones mercurio después de 4 días de contacto, las bacterias reanudan su crecimiento.⁴

MECANISMO DE ACCION (11)

El hecho de que el ión mercuríco sea un precipitante de las proteínas hizo atribuir al Timerosal su acción antibacterial.

Pero así es difícil explicar la potencia antiséptica de los compuestos mercuriales orgánicos poco ionizables, - que sin embargo pueden ser más activos que los ionizables.

Han sido propuestas numerosas teorías sobre el - mecanismo de acción antibacterial de los compuestos mercuriales.

La explicación más válida es que el ión mercurio inhibe las enzimas sulfhídrilas, interfiriendo así en su metabolismo, y consecuentemente inactivándolas.

Esta inhibición es reversible, es decir, si el - metal es removido de la enzima la actividad es restaurada.

Esta es la base de la acción del Dimecaprol en -

el tratamiento de envenenamiento por mercurio.

Bacterias y ciertos virus inactivados por mercurio pueden ser reactivados por tioles.

Ratones infectados con dosis letales de -----
Streptococcus hemolíticos pueden ser protegidos por la administración de un compuesto mercurial orgánico, pero si se les administra después Dimecaprol, los animales mueren por la infección.

El mecanismo indicado es especialmente válido para las soluciones diluídas; no hay duda que para las soluciones concentradas de sales inorgánicas, interviene la acción precipitante de las proteínas, en cuyo caso puede existir una acción bactericida.

USOS

La solución acuosa de 1:1000 se aplica directa--

mente a las heridas o a la piel desnudada, también se utiliza en la esterilización de material quirúrgico.

Las soluciones acuosas de 1:5,000 y 1:10,000 se utilizan para fines oftálmicos, así como en la irrigación uretral. En las aplicaciones a las membranas mucosas nasales se emplean en soluciones acuosas 1:2000 y 1:5000.

En el tratamiento de infecciones cutáneas micóticas puede emplearse una crema conteniendo 0.1% de Timerosal.

Pueden utilizarse soluciones acuosas al 0.01% en la preservación de productos biológicos y farmacéuticos.

Otro de los usos que puede dársele al Timerosal, es como agente estabilizador en soluciones al 0.004% tal es el caso de las soluciones de Hidroxacobalamina acetato. Se vio que cada 6 meses a 20°C el aumento de impurezas coloridas fue menor de 1.0% y corresponde con un gran decrecimiento en la --

actividad microbiana.²

TOXICOLOGIA

La DL₅₀ por vía subcutánea es de 66 mg/kg de ratón.

En algunos individuos puede causar alergia, produciendo erupciones eritematosas, papulares o vesiculares.

No se han citado casos de intoxicación mercurial por el Timerosal.

CONSERVACION

Guárdese en recipientes bien cerrados y al abrigo de la luz.

III METODOS DE VALORACION

Los métodos más factibles para la valoración del Timerosal en inyectables son:

- A. ESPECTROFOTOMETRICO
- B. POLAROGRAFICO
- C. ABSORCION ATOMICA

A. ESPECTROFOTOMETRICO (1, 24)

La espectrofotometría ha simplificado muchos problemas en el análisis de fármacos.

El análisis químico fotométrico en el visible se basa en la medición de la cantidad de luz absorbida por una solución coloreada.

En caso de que la sustancia que se determina es incolora se puede transformar en un compuesto coloreado por medio de una reacción química conveniente.

Se usa como fuente luminosa, luz de longitud de -

onda definida, al instrumento se le denomina espectrofotómetro.

Cuando un haz de luz monocromática cae sobre una capa homogénea de una sustancia, parte de la luz se refleja, -- parte se absorbe y parte se transmite.

Para compensar esta luz que se refleja al hacer incidir el haz de luz monocromática sobre la solución en prueba, se comparan las intensidades de los haces transmitidos a través de la solución y del solvente contenidas en la misma cubeta o - cubetas similares.

Lambert (1760) fué el primero que investigó la - relación que existe entre las intensidades de luz incidente y - transmitible, luego Beer (1852) realizó investigaciones similares en las soluciones.

La Ley de Lambert dice:

1) La cantidad de luz monocromática absorbida por

un cuerpo es proporcional a la cantidad de --
luz incidente.

- 2) Las capas del mismo espesor, de la misma sustancia absorben la misma fracción de luz incidente

Beer en sus estudios encontró la misma relación entre transmisión y concentración que Lambert había hallado entre transmisión y espesor de la capa.

Por tanto, de acuerdo a los estudios hechos por estos dos investigadores podemos decir que la absorción obtenida por una capa homogénea de una sustancia es proporcional a la concentración de dicha sustancia.

A mayor concentración existe una mayor absorción.

Un espectrofotómetro es la unión de un fotómetro

(instrumento fotográfico, visual o fotoeléctrico para medir la intensidad relativa o absoluta de la luz) con monocromador - - (instrumento para aislar la luz de una sola longitud de onda).

B. POLAROGRAFICO (14, 24)

Es un método electroquímico basado en la medición de la intensidad de corriente, resultado de la electrólisis de una solución a un microelectrodo, como una función al voltaje aplicado.

Es decir, cuando se verifica la electrólisis de un soluto en una célula, formada por un electrodo despolarizado y otro polarizado, aparecen relaciones intensidad-potencial de características especiales. A las curvas intensidad-potencial se les denomina polarogramas.

Este polarograma obtenido proporciona tanto medición cualitativa, como cuantitativa de la sustancia electro-reducible y electro-oxidable.

El rango de concentración de las sustancias a analizar es de 10^{-2} a 10^{-5} M.

El polarograma presenta una onda en la curva polarográfica y el punto que se obtiene a la mitad de la onda en el eje de potencial tiene un valor que se conoce con el nombre de potencial de media onda.

Este valor es característico de cada compuesto y por tanto, nos permite identificar la presencia de una sustancia. Esto es hacer análisis cualitativo. La altura de la onda es proporcional a la concentración y esto nos permite hacer --- cuantitativo.

Para ello se hace uso de sustancias de referencia, donde se compara la altura de la curva del problema con la de la sustancia de referencia.

Se puede usar como cátodo un electrodo de goteo de Mercurio (Electrodo indicador) y como Anodo una capa de Mer-

curio, o un Electrodo de calomel (referencia).

Se pone la muestra por analizar en un buffer o -
electrolito tal como solución de Sulfocianuro de Potasio 0.1M,
Solución de Cianuro de Potasio 0.1M y se burbujea nitrógeno en
la muestra por unos 10 minutos para eliminar el oxígeno disuell
to que de otra manera nos daría curvas indeseables. Al encen-
der el aparato el electrodo de goteo de Mercurio adquiere el -
potencial del electrodo de referencia y los iones en solución
irán a depositarse al electrodo de goteo de Mercurio, hasta --
que al hacer un barrido de voltaje se va variando éste hasta -
llegar al punto en que empieza a haber una corriente de difu--
sión que en la curva o polarograma es el punto en que la curva
deja ser casi horizontal y empieza a subir gradualmente.

A la primera parte de la curva que es casi horiz
zontal se le llama corriente residual, al dejar de aumentar la
corriente la curva vuelve a verse casi horizontal y así perma-
necerá hasta que encuentre un nuevo elemento.

C. ABSORCIÓN ATÓMICA (1,15)

Los principios básicos de absorción atómica, fueron establecidos por Kirchoff en 1860, el descubrimiento de Absorción Atómica y emisión se deben a Tywaman en 1951, y las aplicaciones analíticas a Alan Walsh, un físico australiano ---- 1955. Otros investigadores también usaron la técnica simultáneamente. Los instrumentos comerciales aparecieron a principios de los años sesenta.

En la práctica regular de la espectrofotometría de absorción atómica una solución de la muestra es rociada sobre la flama, usualmente de Acetileno y Aire. En la flama el solvente es evaporado; los compuestos químicos son destruidos y los átomos libres del elemento son liberados. La flama se encuentra en el camino de una línea de luz producida por una lámpara de cátodo hueco. Los átomos libres en la flama pueden absorber cierta cantidad de la energía de la línea espectral comúnmente llamadas líneas de resonancia, a continuación se encuentra el monocromador. El propósito del monocromador es el de aislar una línea de resonancia particular del elemento que -

será determinado.

Cuando los átomos del elemento a ser analizado - aparece en la flama parte de la luz producida por la lámpara de cátodo hueco es absorbida y la intensidad de la línea espectral disminuye. Después del monocromador se encuentra el fotodetector, mide solamente la línea de resonancia disminuida y con este registro por comparación con sustancias de referencia se obtiene la concentración del elemento deseado. Si la muestra se encuentra en solución acuosa, se diluye solo a la concentración deseada y se inyecta al aparato.

En caso de que la muestra tenga trazas de materia orgánica, ésta deberá destruirse antes de alimentar el aparato con una solución acuosa de los residuos.

IV PARTE EXPERIMENTAL

PLAN DE TRABAJO

Se eligieron dos métodos para la valoración de Timerosal:

1. Espectrofotométrico. (Previa extracción con Ditizona).
2. Absorción Atómica.

Se ajustaron los métodos de valoración, efectuando posteriormente 25 determinaciones para cada método.

Utilizando muestras del mismo lote para todas las determinaciones.

Para la valoración espectrofotométrica se utilizó un estándar USP de Timerosal y para la valoración por absorción atómica una solución tipo de Cloruro Mercuríco equivalente.

lente a 50 partes por millón de Mercurio. Las muestras están contenidas en un inyectable de 1 ml que contiene como principio activo al acetato de Hidroxocobalamina y al Timerosal como estabilizador.

MATERIAL UTILIZADO

- 1) Matraces aforados de 100 ml.
- 2) Pipetas volumétricas de 1, 2, 3, 4, 5, 10 y 20 ml.
- 3) Pipetas graduadas de 10 ml.
- 4) Vasos de pp. de 100 ml.
- 5) Matraces Erlemeyer de 50 y 250 ml.
- 6) Embudos de Separación de 250 ml.
- 7) Embudos de filtración chicos.
- 8) Papel filtro Whatman del No. 42.
- 9) Tubos de ensaye chicos.
- 10) Espectrofotómetro Beckman DB-GT.
- 11) Aparato de Absorción Atómica Perkin-Elmer.

REACTIVOS UTILIZADOS.

- 1) Solución de Timerosal 0.01%
- 2) Solución de Cloruro Mercúrico 50 P.P.M.
- 3) Solución de Ditizona 0.005%.
- 4) Solución de Edta Disódico 0.1M.
- 5) Solución Reguladora de Acetatos PH= 4.5
- 6) Tolueno.
- 7) Acido Sulfúrico concentrado.
- 8) Cloruro Mercúrico R.A.
- 9) Agua destilada.

1. TITULACION ESPECTROFOTOMETRICA

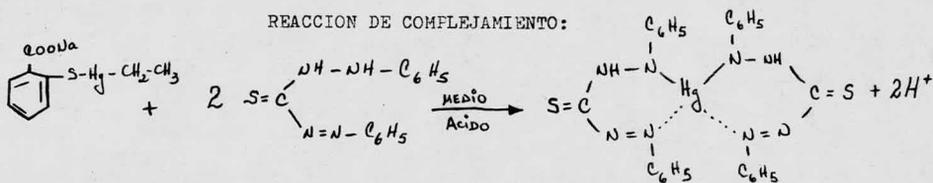
(Previa extracción con Ditizona).

FUNDAMENTO DEL METODO

Basado en la propiedad de algunas sustancias a formar complejos con los metales como Plomo, Cobre, Zinc, Cadmio, Cobalto, MERCURIO. Tal es el caso de la Ditizona, EDTA.

En el caso de este trabajo, con una posterior lectura espectrofotométrica del complejo formado (Ditizona-Mercurio) tanto en la curva tipo, como en el problema, basada en la propiedad de algunas sustancias de absorber luz a una longitud de onda determinada y de acuerdo con la Ley de Beer, la absorción es directamente proporcional a la concentración de la sustancia dada.²⁴

A veces se puede usar una combinación de sustancias complejantes para capturar un metal o metales que están interfiriendo en la reacción principal. Un ejemplo clásico es la pareja Ditizona, Edta, donde este último previene la extracción por Ditizona de Plomo, Zinc, Bismuto, Cadmio, Niquel, --- COBALTO y Talio a algún pH.⁹



AJUSTE DEL METODO

Se hace una previa extracción del Mercurio de la muestra con una solución de Ditizona en Cloroformo para su lectura al Espectrofotómetro a una longitud de onda de 500 nm.⁸

Selección de la Longitud de Onda

Se corrió el espectro de absorción en el visible de la coloración, obtenida por la siguiente técnica:

En un embudo de separación agregar 5 ml de Timerosal 0.01%, agua suficiente para 9 ml, 5 ml de regulador de Acetato y 4 ml de EDTA.

Agitar vigorosamente, agregar 20 ml de tolueno y 9 ml de solución de Ditizona 0.005%.

Agitar, decantar y filtrar las fases toluénicas.
Hacer un blanco en las mismas condiciones.

Correr el espectro de la coloración obtenida -- desde 800 nm a 340 nm.

El espectro reporta 2 máximos:

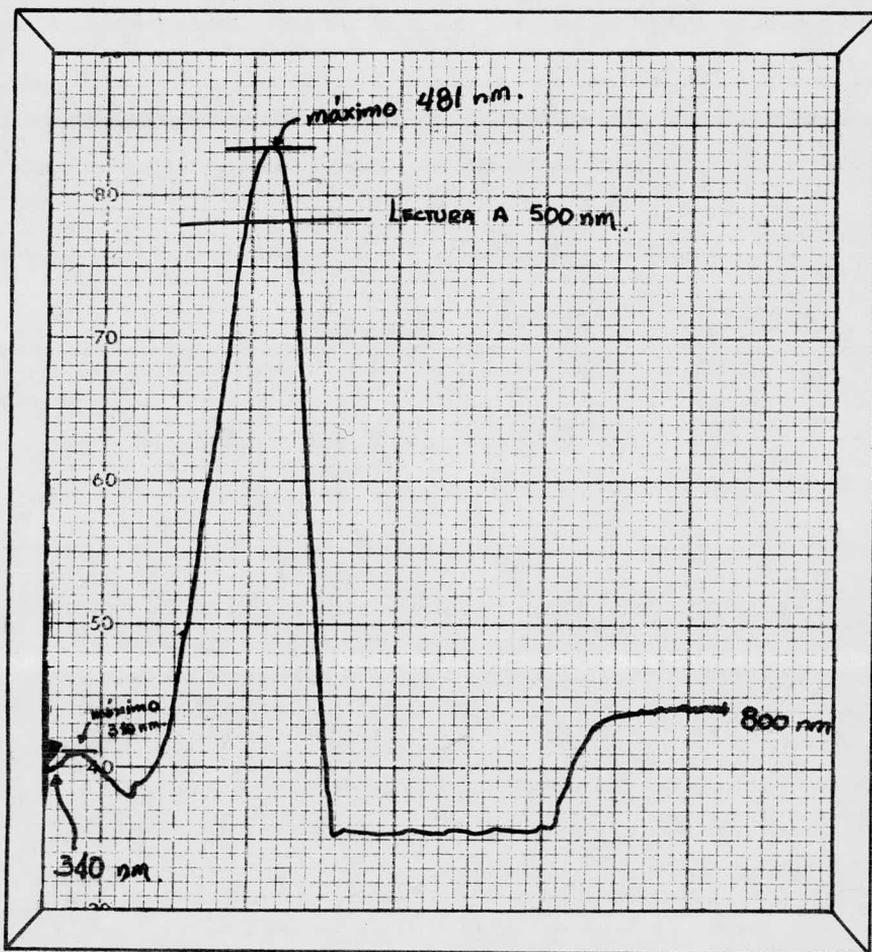
481 y 310 nm.

La literatura nos muestra que las lecturas deben hacerse a 500 nm.⁸ Como el máximo de absorción no se encuentra a 500 nm, como era de suponerse, se hicieron 3 curvas tipo de -- acuerdo a la siguiente técnica:

TUBO	TIMEROSAL 0.01%	Conc. mg	REGULADOR ACETATOS ml.	EDTA 0.1M ml.	TOLUENO ml.	DITIZONA 0.005% ml.
1	0.0	0.0	5.0	4.0	20.0	9.0
2	1.0	0.1	5.0	4.0	20.0	9.0
3	2.0	0.2	5.0	4.0	20.0	9.0
4	3.0	0.3	5.0	4.0	20.0	9.0
5	4.0	0.4	5.0	4.0	20.0	9.0
6	5.0	0.5	5.0	4.0	20.0	9.0
7	6.0	0.6	5.0	4.0	20.0	9.0

Espectro de Absorción (visible)

λ 800 nm a λ 340 nm.

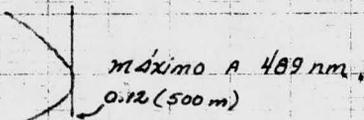
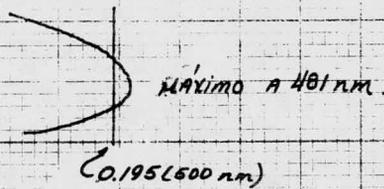
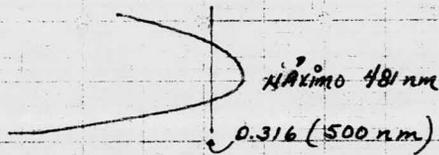
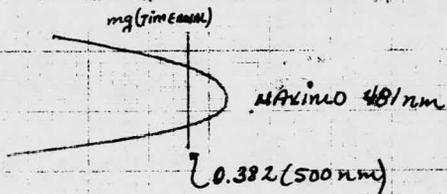
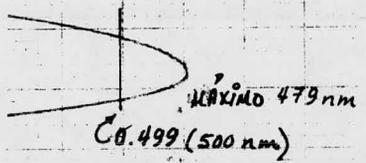
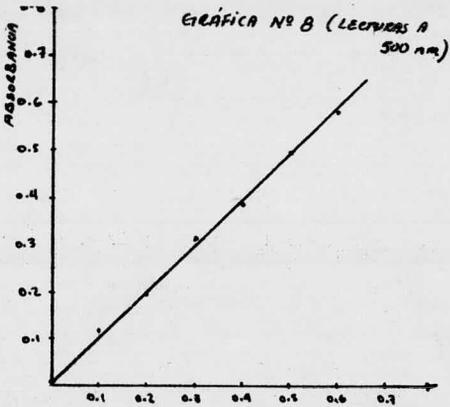


Agitar, decantar y filtrar las fases toluéni---
cas. Leer a 500 nm.

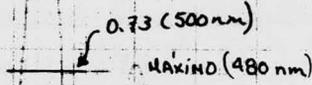
Los máximos en los 3 experimentos fueron 481 --
nm, 480 nm y 479 nm. Por lo que la longitud de onda que se to
mó para la técnica de valoración fue la que reporta la litera-
tura.

Tomando las lecturas a 500 nm de los 3 experi--
mentos anteriores, se prosiguió a corroborar si seguía la Ley -
de Lambert y Beer el método de extracción, [?]graficándose en las
absisas las concentraciones expresadas en mg Timerosal/9 ml y
en las ordenadas las absorbancias leídas a 500 nm, obteniéndose
una línea recta, lo cual nos indica que la sustancia sigue
la Ley de Lambert y Beer. Gráficas No. 8, 9 y 10.

Las valoraciones se llevaron a cabo de la si---
guiente manera:



MÁXIMO (480 nm)



0.62 (500 nm)

MÁXIMO (481 nm)

0.50 (500 nm)

MÁXIMO (480 nm)

0.37 (500 nm)

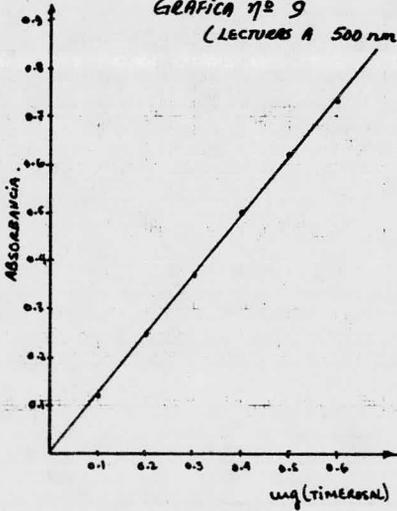
MÁXIMO (481 nm)

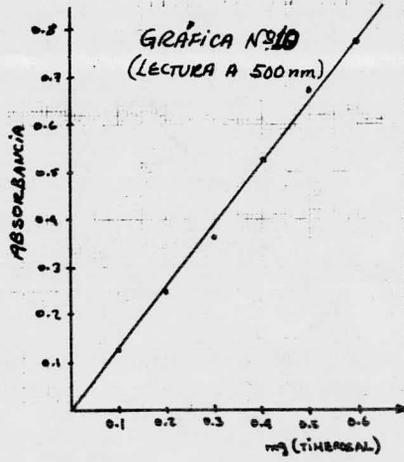
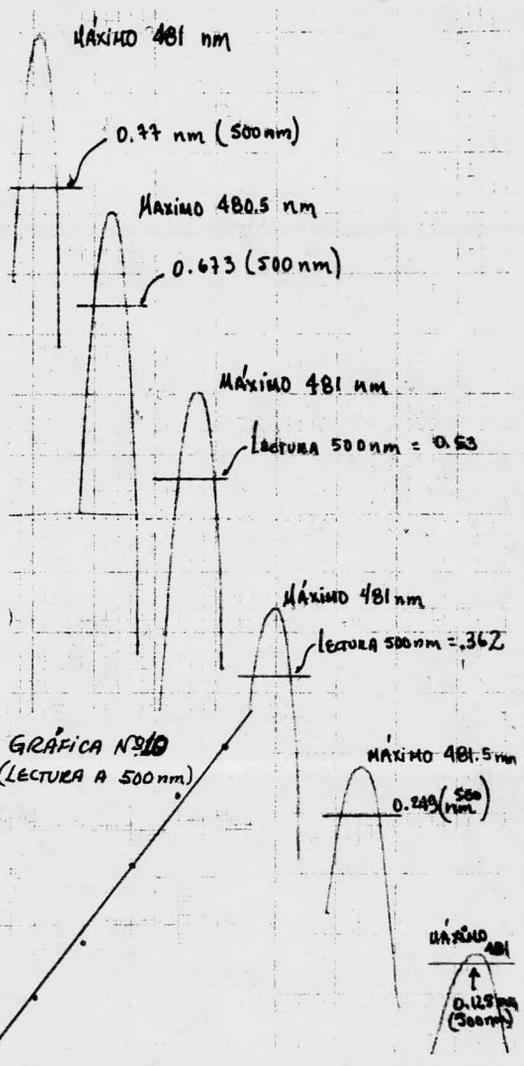
0.249 (500 nm)

MÁXIMO (481 nm)

0.12 (500 nm)

GRÁFICA Nº 9
(LECTURAS A 500 nm.)





Vaciar el contenido de 10 ampolletas y medir 9 ml, pasarlos a un embudo de separación.

Paralelamente, en otros embudos de separación - medir 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 ml de solución de Timerosal 0.01%, completar con agua a 9 ml.

A todos los embudos agregar 5 ml de regulador - de Acetatos pH= 4.5, 4 ml de solución de Edta 0.1M y agitar. Posteriormente agregar 20 ml de Tolueno y 9 ml de solución de Ditizona 0.005% en Cloroformo preparada al momento de usarse.

Agitar, decantar y filtrar las fases toluéni-- cas sobre papel filtro Wathman No. 42.

Efectuar las lecturas de las coloraciones a -- 500 nm.

Trazar la curva estandar graficando en las ab-

sisas los mg de Timerosal y en las ordenadas la absorbancia --
resultante.

Deducir de esta curva estandar los mg de Timero
sal y en las ordenadas la absorbancia resultante.

Deducir de esta curva estandar los mg de Timero
sal existente en el problema, interpolando la absorbancia obte
nida en el problema.

El pH con el cual se está trabajando en el expe
rimento es de 4.7.

La cantidad teórica de Timerosal es:

0.04mg/ml como se usan 9 ml tenemos:

0.36 mg.

Los límites de especificaciones para esta valo
ración son:

$0.36\text{mg}/9\text{ml} \pm 7\% (0.3348 - 0.3852)$

Los límites de especificaciones por inyectable:

0.04 mg de Timerosal/ml \pm 7% (0.0372 - 0.0428)

La curva estandar de acuerdo a la técnica anterior tiene una concentración de Timerosal de:

0.1 mg/ml.

0.2 mg/ml.

0.3 mg/ml.

0.4 mg/ml.

0.5 mg/ml.

0.6 mg/ml.

La concentración teórica del problema de 0.36 mg/9ml .*. La media de especificaciones por inyectable es de 0.0400 mg/ml.

Se hizo una curva estandar para cada experimento.

SOLUCIONES UTILIZADAS:

a) Solución de Timerosal 0.01%

Pesar 0.01 gramos de Timerosal y aforar a --
100 ml. con agua.

b) Solución de Edta 0.1M.

Pesar 37.3 gr. de Edta Disódico y aforar con
agua a 1000 ml.

c) Buffer de Acetatos pH= 4.5(8)

Acetato de Sodio..... 56 gr.

Acido Acético puro..... 24 ml.

Agua cbp.....1000 ml.

d) Solución de Ditizona 0.005% (en Cloroformo).

Disolver 0.005 gr. de Ditizona en 10.0 ml. de --
Cloroformo en un matraz aforado de 100 ml, agitar y aforar a -
100 ml con cloroformo.

2. VALORACION POR ABSORCION ATOMICA.

FUNDAMENTO DEL METODO.

La absorción atómica es el estudio de energía de radiación absorbida por átomos.

El proceso analítico envuelve la conversión de e lementos combinados a átomos.

Está basada en la disociación o separación de -- las ligaduras químicas del elemento de interés para que esté en estado de no excitación o no ionizado "Ground State".

En este estado, es capaz de absorber radiaciones de líneas discretas de longitud de onda angosta. A estas lí---neas se les llama "Líneas de Resonancia" o "Línea Espectral".

Estas radiaciones que serán absorbidas por las - muestras son generalmente obtenidas por medio de lámparas de cá todo hueco que emiten el espectro del elemento deseado.

Este espectro se hace pasar a través de la muestra vaporizada (sin excitar) interpuesta entre la fuente de radiación y la rendija de entrada a un monocromador dispuesto para seleccionar la línea espectral que interese en cada caso. Así la muestra absorbe una cantidad de energía.

El descenso de intensidad observado es proporcional al número de átomos del elemento que se investiga, que se encuentra en el camino del haz.¹⁵

La intensidad de la línea espectral se mide mediante un tubo fotomultiplicador y un amplificador.

AJUSTE DEL METODO.

Se utilizó una solución de Cloruro Mercúrico equivalentes a 50 ppm. de Mercurio.

La lectura obtenida en el aparato de Absorción Atómica es corregida por medio de los pesos moleculares del Mercurio y Timerosal.

El aparato de Absorción Atómica se cambió a 5 -- ppm., por tanto todas las lecturas tienen un factor común de -- 10, para así obtener la cantidad real de Timerosal.

METODO:

1. Se coloca la lámpara de cátodo hueco de Mercurio.
2. Se enciende la flama.
3. Se selecciona la longitud de onda y abertura "slit" deseados.
4. Se aspira la solución estandar de 50 ppm. de Mercurio y se ajusta el aparato a 100 de absorción. Se calibró el aparato a 5 ppm., -- por consiguiente hay un factor de 10.
5. Se ajustó el flujo del gas y la altura del quemador hasta obtener la máxima deflección en el medidor.
6. Se aspiran las muestras problema y se anota la lectura dada.

NOTA: A cada aspersion de muestra, se hace una de agua --
deionizada para lavar el conducto y así evitar erro
res.

CALCULOS:

$$\text{Lectura corregida en ppm.} = \frac{\text{Lectura X P.M. Timerosal}}{\text{P.M. Mercurio}}$$

$$\text{p.p.m. Timerosal} = \text{Lectura corregida en ppm X fac} \\ \text{tor. Factor} = 10$$

Condiciones Usadas: ¹⁸ Longitud de onda: 253.7 nm.

"Slit": 160

Corriente de la lámpara: 3 ma.

Escala Sensitiva: 2.5

SOLUCIONES:

SOLUCION DE CLORURO MERCURICO DE 50 ppm.

Disolver 135.4 mg de Cloruro Mercúrico, cuidado-
samente pesados, en ácido sulfúrico diluido (1:35) en un matraz
aforado de 1000 ml., aforar con el ácido diluido y mezclar.

Tomar 50 ml. de esta solución y aforar a 100 ml.
con la solución de ácido sulfúrico (1:35).

Cada ml. de esta solución contiene el equivalente de 50 mcg. de Mercurio.

V RESULTADOS

ANALISIS ESTADISTICO.

A) Valoración Espectrofotométrica.

La absorbancia del problema se interpoló en -
la curva estandar para obtener los mg. de Timerosal.

EXPERIMENTO	ABSORBANCIA	MG. TIMEROSAL (9 ML DE MUESTRA)	MG. TIMEROSAL/ml (INYECTABLE)
1	0.440	0.335	0.03722
2	0.370	0.335	0.03944
3	0.365	0.360	0.04000
4	0.474	0.360	0.04000
5	0.460	0.360	0.04000
6	0.410	0.360	0.04000
7	0.479	0.360	0.04000
8	0.458	0.360	0.04000
9	0.450	0.360	0.04000
10	0.465	0.360	0.04000
11	0.460	0.360	0.04000

EXPERIMENTO	ABSORBANCIA	MG. TIMEROSAL (9 ML DE MUESTRA)	MG. TIMEROSAL/ml (INYECTABLE)
12	0.472	0.340	0.03777
13	0.451	0.365	0.04055
14	0.465	0.340	0.03777
15	0.460	0.345	0.03833
16	0.459	0.365	0.04055
17	0.420	0.335	0.03722
18	0.455	0.360	0.04000
19	0.458	0.370	0.04111
20	0.412	0.350	0.03888
21	0.470	0.360	0.04000
22	0.470	0.360	0.04000
23	0.452	0.345	0.03833
24	0.423	0.360	0.04000
25	0.438	0.355	0.03944

Tiempo promedio de análisis: 2 horas 35 minutos;

Costo: mínimo.

CALCULOS:

Los valores están multiplicados por 10^{-3} .

X_i	F	FX_i	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$	$F(X_i - \bar{X})^2$
37.22	2	74.44	-2.28	5.1984	10.3968
39.44	2	78.88	-0.06	0.0036	0.0072
40.00	13	520.00	0.50	0.2500	3.25
37.77	2	75.54	-1.73	2.9929	5.9858
40.55	2	81.10	1.05	1.1025	2.2050
38.33	2	76.66	-1.17	1.3689	2.7378
41.11	1	41.11	1.61	2.5921	2.5921
38.88	1	<u>38.88</u>	-0.62	0.3844	<u>0.3844</u>

$$\sum FX_i = 986.61 \dots$$

$$\sum F(X_i - \bar{X})^2 = 27.5591 \dots$$

$$\sum FX_i = 986.61 \times 10^{-3}$$

$$\sum F(X_i - \bar{X})^2 = 27.5591 \times 10^{-3}$$

1) MEDIA

$$\bar{X} = \frac{\sum FX_i}{N}$$

$$\bar{X} = 39.4644 \times 10^{-3}$$

$$\bar{X} = \frac{986.61}{25} \times 10^{-3}$$

$$\bar{X} = \underline{\underline{3.9464 \times 10^{-2} \text{ mg.}}}$$

2) DESVIACION ESTANDAR

$$s = \sqrt{\frac{\sum F(X_i - \bar{X})^2}{N-1}}$$

$$s = \sqrt{1.14829 \times 10^{-3}}$$

$$s = \sqrt{\frac{27.5591}{25-1} \times 10^{-3}}$$

$$s = \underline{1.0715 \times 10^{-3} \text{ mg.}}$$

3) VARIANZA

$$V = s^2$$

$$V = \underline{1.147 \times 10^{-6} \text{ mg.}}$$

$$V = (1.0715 \times 10^{-3})^2$$

4) ERROR

$$E = \frac{s}{\sqrt{N}}$$

$$E = \frac{1.0715 \times 10^{-3}}{5}$$

$$E = 0.00021419$$

$$E = \frac{1.0715 \times 10^{-3}}{\sqrt{25}} = \frac{.0010715}{5}$$

$$E = \underline{2.1419 \times 10^{-4} \text{ mg}}$$

5) COEFICIENTE DE VARIACION

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

$$C.V. = 0.2714 \times 10^{-1}$$

$$C.V. = \frac{1.0715 \times 10^{-3}}{3.9464 \times 10^{-2}}$$

$$C.V. = \underline{2.7\%}$$

LIMITES DE PROCESO PARA ESTA VALORACION ESPECTROFOTOMETRICA.

A. PASOS A SEGUIR:

1. Hacer una gráfica de # mg. de Timerosal obtenido VS No. de Experimento.

De esta manera obtenemos el recorrido analítico.

2. Marcar en esta gráfica los límites de especificaciones y la media de especificaciones.

Así sabemos si todos los resultados se encuentran dentro de especificación.

3. Obtener media del proceso (\bar{X})

$$\bar{X} = \frac{\sum X}{N}$$

4. Obtener la desviación estandar (S).

$$S = \sqrt{\frac{\sum F(X-\bar{X})^2}{N-1}}$$

5. Obtener los límites del proceso:

a) Por Medias

$$LS = \bar{X} + 3S \quad LS = \text{Límite Superior}$$

$$LI = \bar{X} - 3S \quad LI = \text{Límite Inferior}$$

6. Marcar en la gráfica de control los límites de proceso para medias y la media de proceso.

B. DESARROLLO:

Media del Proceso *Calculada Anteriormente.

$$* \bar{X} = 3.9464 \times 10^{-2} \text{ mg.}$$

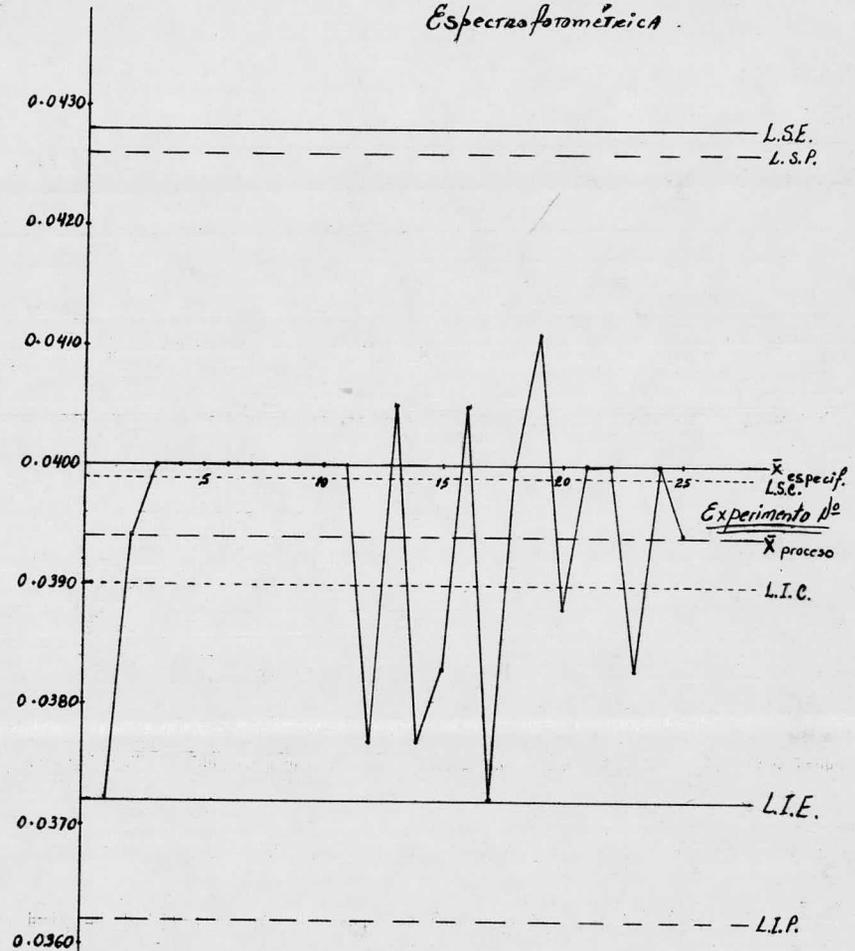
Desviación Estandar del Proceso

$$*S = 1.0715 \times 10^{-3}$$

Cálculo de los límites de proceso:

mg. Timersal

GRÁFICA DE CONTROL PARA LA Vibración Espectrofotométrica.



- L.S.E. = Límite Superior Especificaciones.
- L.S.P. = Límite Superior de Proceso,
- L.S.C. = Límite Superior de Confianza.
- L.I.E. = Límite Inferior de Especificaciones.
- L.I.P. = Límite Inferior de Proceso.
- L.I.C. = Límite Inferior de Confianza.

A) MEDIAS

$$LS = \bar{X} + 3S$$

$$LS = 3.9464 \times 10^{-2} + 3(1.0715 \times 10^{-3})$$

$$LS = 3.9464 \times 10^{-2} + 3(0.10715 \times 10^{-2})$$

$$LS = 3.9464 \times 10^{-2} + 0.32145 \times 10^{-2} \therefore$$

$$LS = 4.2678 \times 10^{-2} \text{ mg.}$$

$$\therefore \underline{LS = 0.0426 \text{ mg.}}$$

$$LI = \bar{X} - 3S$$

$$LI = 3.9464 \times 10^{-2} - 3(1.0715 \times 10^{-3})$$

$$LI = 3.9464 \times 10^{-2} - 3(0.10715 \times 10^{-2})$$

$$LI = 3.9464 \times 10^{-2} - 0.32145 \times 10^{-2} \therefore$$

$$LI = 3.6249 \times 10^{-2}$$

$$\therefore \underline{LI = 0.0362 \text{ mg.}}$$

Los límites del proceso por medias es:

$$\text{Límite Superior (LS)} = 0.0426 \text{ mg.}$$

$$\text{Límite Inferior (LI)} = 0.0362 \text{ mg.}$$

∴

Los límites del proceso en porciento:

0.039 mg.= 100%

L.S.= 0.0426 mg= 109.2%

L.I.= 0.0362 mg= 92.8% .*

Límites (92.8% - 109.2%)

LIMITES DE CONFIANZA DE LA MEDIA

Tabla de Distribución de Student.

L.C. = $\bar{X} \pm t. \text{ error}$

L.C. = Límites Confianza

L.C.S. = $\bar{X} + t. \text{ error}$

L.C.S. = Límite de Confianza Superior

L.C.I. = $\bar{X} - t. \text{ error}$

L.C.I. = Límite de Confianza Inferior

- Probabilidad 0.05 (95% de Aciertos)

- Grados de Libertad = $N-1 = 25-1 = 24$

- $t = 2.06$

$$\text{L.C.} = 0.03946 \pm (2.06) (2.1419 \times 10^{-4}) = 0.03946 \pm 0.000441$$

$$\text{L.C.S.} = 0.0399 \text{ mg.}$$

$$\text{L.C.I.} = 0.0390 \text{ mg.}$$

Límites (0.0399 - 0.039 mg.)

B) Valoración por Absorción Atómica:

EXPERIMENTO	LECTURA (ppm) CORREGIDA	FACTOR	ppm TIMEROSAL mg	TIMEROSAL/ml (INYECTABLE)
1	4.250	10	42.50	0.04250
2	3.985	10	39.85	0.03985
3	4.000	10	40.00	0.04000

EXPERIMENTO	LECTURA (ppm) CORREGIDA	FACTOR	ppm TIMEPOSAL mg	TIMEPOSAL/ml (INYECTABLES)
4	4.050	10	40.50	0.04050
5	4.000	10	40.00	0.04000
6	3.980	10	39.80	0.03980
7	4.050	10	40.50	0.04050
8	3.963	10	39.63	0.03963
9	4.027	10	40.27	0.04027
10	3.975	10	39.75	0.03975
11	4.020	10	40.20	0.04020
12	4.000	10	40.00	0.04000
13	4.100	10	41.00	0.04100
14	4.000	10	40.00	0.04000
15	4.000	10	40.00	0.04000
16	3.990	10	39.90	0.03990
17	4.000	10	40.00	0.04000
18	3.900	10	39.00	0.03900
19	4.023	10	40.23	0.04023
20	4.011	10	40.11	0.04011

EXPERIMENTO	LECTURA (ppm) CORREGIDA	FACTOR	ppm TIMEROSAL mg	TIMEROSAL/ml (INYECTABLE)
21	4.012	10	40.12	0.04012
22	4.002	10	40.02	0.04002
23	4.000	10	40.00	0.04000
24	3.929	10	39.29	0.03929
25	3.975	10	39.75	0.03975

Tiempo promedio de análisis: 3 minutos; Costo:

mínimo.

CALCULOS:

Los valores están multiplicados por 10^{-3} .

X_i	F	FX_i	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$	$F(X_i - \bar{X})^2$
42.50	1	42.50	2.40	5.7600	5.7600
39.85	1	39.85	-0.25	0.0625	0.0625
40.00	7	280.00	-0.10	0.0100	0.0700
40.50	2	81.00	0.40	0.1600	0.3200

X_i	F	FX_i	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$	$F(X_i - \bar{X})^2$
39.80	1	39.80	-0.30	0.0900	0.0900
39.63	1	39.63	-0.47	0.2209	0.2209
40.27	1	40.27	0.17	0.0289	0.0289
39.75	1	39.75	-0.35	0.1225	0.1225
40.20	1	40.20	0.10	0.0100	0.0100
41.00	1	41.00	0.90	0.8100	0.8100
39.90	1	39.90	-0.20	0.0400	0.0400
39.00	1	39.00	-1.10	1.2100	1.2100
39.00	1	39.00	-1.10	1.2100	1.2100
40.23	1	40.23	0.13	0.0169	0.0169
40.11	1	40.11	0.01	0.0001	0.0001
40.12	1	40.12	0.02	0.0004	0.0004
40.02	1	40.02	-0.08	0.0064	0.0064
39.29	1	39.29	-0.81	0.6561	0.6561
39.75	1	<u>39.75</u>	-0.35	0.1225	<u>0.1225</u>

$$FX_i = 1002.42 \therefore$$

$$F(X_i - \bar{X})^2 = 9.5472 \therefore$$

$$FX_i = 1002.42 \times 10^{-3}$$

$$F(X_i - \bar{X})^2 = 9.5472 \times 10^{-3}$$

1) MEDIA

$$\bar{X} = \frac{\sum FX_i}{N}$$

$$\bar{X} = 40.09 \times 10^{-3}$$

$$X = \frac{1002.42}{25} \times 10^{-3}$$

$$\bar{X} = \underline{4.009 \times 10^{-2} \text{ mg.}}$$

2) DESVIACION ESTANDAR

$$S = \sqrt{\frac{\sum F(X_i - \bar{X})^2}{N-1}}$$

$$S = 0.63072 \times 10^{-3}$$

$$S = \sqrt{\frac{9.547}{25-1}} \times 10^{-3}$$

$$S = \underline{6.307 \times 10^{-4} \text{ mg.}}$$

$$S = \sqrt{0.3978} \times 10^{-3}$$

3) VARIANZA

$$V = S^2$$

$$V = \underline{3.981 \times 10^{-7} \text{ mg.}}$$

$$V = (6.307 \times 10^{-4})^2$$

4) ERROR

$$E = \frac{S}{\sqrt{N}}$$

$$E = \frac{6.307 \times 10^{-4}}{\sqrt{25}}$$

$$E = \frac{6.307 \times 10^{-4}}{5}$$

$$\underline{E = 1.2614 \times 10^{-4}}$$

5) COEFICIENTE DE VARIACION

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

$$C.V. = 1.5732 \times 10^{-2}$$

$$C.V. = \frac{6.307 \times 10^{-4}}{4.009 \times 10^{-2}}$$

$$\underline{C.V. = 1.57\%}$$

Los pasos a seguir para obtener los límites de proceso de este método de valoración son idénticos a los del Método Espectrofotométrico, por consiguiente, el desarrollo para obtener estos límites es:

Media de Proceso:

$$\bar{X} = 4.009 \times 10^{-2} \text{ mg.}$$

Desviación Estandar del Proceso:

$$S = 6.307 \times 10^{-4} \text{ mg.}$$

Cálculo de los límites de Proceso:

Medias

$$LS = \bar{X} + 3S$$

$$LS = 4.009 \times 10^{-2} + 3(6.307 \times 10^{-4})$$

$$LS = 4.009 \times 10^{-2} + 3(0.06307 \times 10^{-2})$$

$$LS = 4.009 \times 10^{-2} + 0.1892 \times 10^{-2} \dots$$

$$LS = 4.1982 \times 10^{-2} \text{ mg.}$$

$$\underline{LS = 0.04198 \text{ mg.}}$$

$$LI = \bar{X} - 3S$$

$$LI = 4.009 \times 10^{-2} - 3(6.307 \times 10^{-4})$$

$$LI = 4.009 \times 10^{-2} - 3(0.06307 \times 10^{-2})$$

$$LI = 4.009 \times 10^{-2} - 0.1892 \times 10^{-2} \dots$$

$$LI = 3.819 \times 10^{-2}$$

$$LI = \underline{0.03819 \text{ mg.}}$$

Los límites del proceso por medias es:

$$\text{Límite Superior (LS)} = 0.04198 \text{ mg.}$$

$$\text{Límite Inferior (LI)} = 0.03819 \text{ mg.}$$

Los límites del proceso en porciento:

$$0.04009 \text{ mg} = 100\%$$

$$L.S. = 0.04198 \text{ mg} = 104.7\%$$

$$L.I. = 0.03819 \text{ mg} = 95.2\%$$

$$\text{Límites (95.2 mg - 104.7 mg)}$$

LIMITES DE CONFIANZA DE LA MEDIA

Tabla de Distribución de Student.

$$L.C. = X \pm t. \text{ error}$$

L.C. = Límites de Confianza

$$L.C.S. = X + t. \text{ error}$$

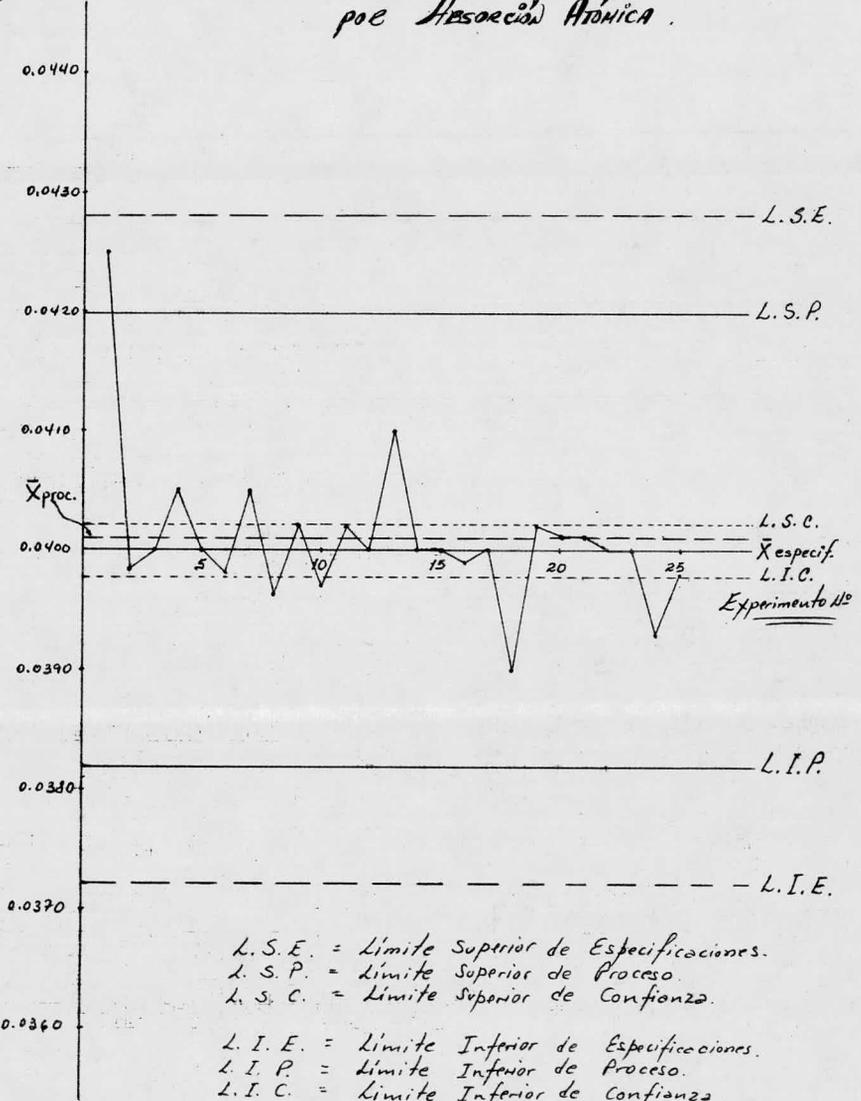
L.C.S. = Límites de Confianza Superior

$$L.C.I. = X - t. \text{ error}$$

L.C.I. = Límites de Confianza Inferior

mg. Timersal

Gráfica de Control para la valoración por Absorción Atómica.



- Probabilidad 0.05 (95% de Aciertos)

- Grados de Libertad= $N-1= 25-1= 24$

- $t= 2.06$

$$L.C.= 0.04009 \pm 2.06 (1.2614 \times 10^{-4})$$

$$L.C.S.= 0.04009 + 2.06 (1.2614 \times 10^{-4})$$

$$L.C.I.= 0.04009 - 2.06 (1.2614 \times 10^{-4})$$

$$L.C.S.= 0.04026 \text{ mg.}$$

$$L.C.I.= 0.03974 \text{ mg.}$$

Límites (0.03974 mg - 0.04026 mg.)

Tabla y cálculos comparativos de la Valoración Espectro--
fotométrica y Valoración por Absorción Atómica.

Datos:

ESPECTROFOTOMETRICO

$$\bar{X}= 3.9464 \times 10^{-2} \text{ mg.}$$

$$S= 1.0715 \times 10^{-3} \text{ mg.}$$

ABSORCION ATOMICA

$$\bar{X}= 4.009 \times 10^{-2} \text{ mg.}$$

$$S= 6.307 \times 10^{-4} \text{ mg.}$$

ESPECTROFOTOMETRICO

$$V = 1.147 \times 10^{-6} \text{ mg.}$$

$$E = 2.1419 \times 10^{-4} \text{ mg.}$$

$$C.V. = 2.7\%$$

ABSORCION ATOMICA

$$V = 3.981 \times 10^{-7} \text{ mg.}$$

$$E = 1.2614 \times 10^{-4} \text{ mg.}$$

$$C.V. = 1.57\%$$

$$t_{\text{exp.}} = \frac{\bar{X} - \bar{X}_i}{\sqrt{\frac{E^2}{n} + E_i^2}} = \frac{4.009 \times 10^{-2} - 3.9464 \times 10^{-2}}{\sqrt{(1.2614 \times 10^{-4})^2 + (2.1419 \times 10^{-4})^2}}$$

$$t_{\text{exp.}} = \frac{4.009 \times 10^{-2} - 3.9464 \times 10^{-2}}{\sqrt{1.59 \times 10^{-8} + 4.58 \times 10^{-8}}} = \frac{0.000626}{\sqrt{6.17 \times 10^{-8}}} = \frac{6.26 \times 10^{-4}}{\sqrt{2.485 \times 10^{-4}}}$$

$$t_{\text{exp}} = 2.51$$

La $t_{\text{teórica}}$ para $(2n) - 2 = 2(25) - 2 = 48$ grados de libertad y una probabilidad de 0.05 es:

$$t_{\text{teórica}} = 2.686 \quad \therefore$$

$$t_{\text{teórica}} = 2.686 \text{ y } t_{\text{experimental}} = 2.51 \dots$$

$$t_{\text{teórica}} > t_{\text{experimental}}$$

Por lo tanto la diferencia no es significativa.

ANALISIS DE VARIANZAS

$$F = \frac{V_1}{V} \dots$$

$$F = \frac{0.000001147}{0.0000003981} = 2.88$$

$$V_1 = \text{Grados de Libertad } n-1 = 24$$

$$V = \text{Grados de libertad } n-1 = 24$$

$$F_{\text{teórica}} = 1.98$$

$$F_{\text{experimental}} = 2.88$$

$$F_{\text{teórica}} < F_{\text{experimental}}$$

Por tanto la diferencia es significativa.

Esto nos indica que no hay diferencia significativa en los valores promedio de los dos métodos, pero sin embargo hay diferencia en la medida de dispersión de los dos métodos.

VI CONCLUSIONES

Por lo tanto de acuerdo a lo obtenido en el análisis estadístico de los resultados.

El método por absorción atómica propuesto en el presente trabajo es el más adecuado, ya que es el que tiene la medida de dispersión más pequeña con respecto al otro método, la media del proceso se acerca demasiado a la media de especificaciones todo esto indica que es reproducible. El tiempo de análisis es corto, las cantidades de muestra son pequeñas, la facilidad y rapidez con que se efectúa es máxima.

Como método alternativo se puede usar el espectrofotométrico, ya que aunque es verdad que el Método por Absorción Atómica tiene menor dispersión que el Espectrofotométrico, la dispersión y el error de éste no es gravoso, ya que no tiene una variación considerable. Esto se llegó a pensar porque no en todas las Compañías se cuenta con el aparato de absorción atómica y el mandar a analizar el producto a un laboratorio de análisis particular sí cuesta caro.

Con todo lo anteriormente dicho se concluye que el Método por Absorción Atómica es el mejor y el Espectrofotométrico en trabajo de rutina el más práctico.

VII BIBLIOGRAFIA

1. Ayres H. Gilbert. Análisis Químico Cuantitativo. Second Edition in English. Harper & Row Publishers Inc. 1970.
2. Birner J. and Garnet Ros J. Timerosal como preservativo en preparaciones biológicas. Aplicación de la polarografía en la determinación de Timerosal en soluciones acuosas y vacunas. Journal of Pharmaceutical Science. 53, - No. 10, (1964).
3. Brewer H. John. The antibacterial effects of the organic mercurial compounds. Jour. Amer. Med. Assoc. May 20, 1939. Vol. 112 No. 20.
4. Brewer H. John; Mercurials as antiseptics. Ann. New York Acad. 53: 211, (1950).
5. Burrell V.W. Estabilidad de Timerosal por EDTA. Journal-- of Pharmacy and Pharmacology 5, 1019 (1953).
6. Clausen Ole G. Medd. Worsk Farm Selskap. 17, 313-326 - - (1925).
7. Connors Kenneth A. A textbook of Pharmaceutical Analysis First Edition. John Wiley and Sons. Inc. New York, - - London, Sydney (1967)

8. Charlot Gaston, Bezier Denise. Analyse Quantitative - -
Mimerale Troisieme Edition. Paris Masson et Cie Editeurs
(1955).
9. Charlot Gaston, Chimie Analytique Quantitative I, - - - -
Methodes Chimiques et Physico - Chimiques. Sexieme - - -
Edition Masson et Cie Editeurs (1974).
10. Christensen Poul Elo. Evaluation of the antibacterial --
effect of preservatives, with special reference to - - -
Phemerol and Thiomerosal.
11. Enciclopedia Farmacéutica Tomo II. Farmacotecnia. Técni-
cas preparatorias y medicamentos. Ed Científico Médica,
Barcelonas (1963).
12. Engley F.B. Jr. Evaluation of Mercurial Compounds as - -
Antiseptics Ann. New York Acad. Sci. 53: 157, 1950.
13. Goodman Louis S. and Gilman Alfred. The Pharmacological
Basis of Therapeutics. Fourth Edition. The Mac Millan -
Company (1970).

14. International Científica, S. A. Avances Científicos.
Principios de polarografía, Karl Fischer es el método - -
adecuado. Artículos 9:2.
15. International Cientifical, S. A. Avances Científicos.
¿Absorción Atómica? 1971, 2:3.
16. Kharasch. Thimerosal, preparado por reacción de cloruro
Etil Mercúrico U.S. Pat. 1, 672, 615 (1928).
17. Kirk Bright and Sargente. Atomic Absorption and Fluor -
escence Espectroscopy. 1972.
18. Morgenthaler L.P. The determination of trace quantities
of Mercury by Atomic Absorption Spectrometry. MPI aplicaca
tions notes. Nov. 1970, Vol 5, No. 5.
19. Morton, H.E., North Ll. Jr. & Engley, F.B. The bacteriostata
tic and bactericidal actions of some mercurial compounds on
hemolytic streptococci. Jour Amer. Med. Ass. 136:37, - -
1948.
20. Remington's Pharmaceutical Sciences. Fourteenth Edition.
Mack Publishing Company, Easton, Pensylvania 18042 (1970).

21. Salle A. J. and Wesley Cathin B. Profile evaluations of --
Germicides. Jour. Am. Pharm. Ass. Mayo 1947 Vol. XXXVI --
No. 5.
22. The Merk Index. Elgth Edition, Merk, and Co. Inc. Rehaway.
(1968).
23. The United States Pharmacopeia XIX. Nineteenth revision --
official from July 1, 1975. United States Pharmacopeial --
Convention, Inc.
24. Willard H. Merritt L. Dean, J. Métodos Instrumentales de --
Análisis. Tercera Edición (Traducción). Ed. Continental,
S. A. México, D. F. (1965).