

Trabajo completo

Desarrollo de un método para la determinación del contenido límite de plomo en materias primas farmacéuticas por complejación con ditizona en medio micelar acuoso

RECIBIDO: 04/08/2014

REVISIÓN: 25/08/2014

ACEPTADO: 20/09/2014

Torregiani, L.¹ • De Zan, M. M. • Cámara M. S. • Robles, J. C.

Laboratorio de Control de Calidad de Medicamentos (LCCM), Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Ciudad Universitaria, Paraje El Pozo S/N, S3000ZAA, CC 242, Santa Fe, Argentina.

¹ Teléfono: 54-342-4224745.

E-mail: lucitorregiani@gmail.com

RESUMEN: Los métodos oficiales para la determinación del contenido límite de plomo en materias primas farmacéuticas (USP 37) se basan en la formación del complejo coloreado plomo-ditizona [Pb(HDz)₂], seguida de extracciones con cloroformo, compuesto tóxico y potencial carcinógeno. El objetivo de este trabajo fue desarrollar un método alternativo sin utilizar solventes organoclorados, basado en la generación de un sistema micelar acuoso con el surfactante lauril sulfato de sodio (SDS) para solubilizar el complejo [Pb(HDz)₂]. Se optimizó la sensibilidad del método utilizando un diseño central compuesto y se encontró que a un pH de 7,60 y una concentración de SDS de 0,15 mol L⁻¹ la respuesta fue máxima. El cambio de color se determinó en forma visual e instrumental. El método fue aplicado satisfactoriamente en materias primas y resultó ser superior al oficial, ya que es selectivo, sencillo, económico, de mayor sensibilidad, y utiliza un volumen menor

de reactivos de baja toxicidad.

PALABRAS CLAVE: plomo, ditizona, lauril sulfato sódico, materias primas farmacéuticas.

SUMMARY: *Development of a method for the determination of the limit lead content in pharmaceutical raw materials by complexation with dithizone in aqueous micellar medium.*

The official methods for determining the limit for lead in pharmaceutical raw materials (USP 37, FA 7^o Ed) are based on the formation of a colored lead-dithizone complex [Pb(HDz)₂], followed by extraction with chloroform, a toxic and potential carcinogenic compound. The aim of this work was to develop an alternative method, without the use of chlorinated solvents, based on the generation of an aqueous micellar system with the surfactant sodium lauryl sulfate (SDS) to solubilize the complex.

The sensitivity of the method was optimized using a central composite design, finding an optimum

at a pH=7.60 and an SDS concentration of 0.15 mol L⁻¹. The color change was determined visually and monitored instrumentally.

The method was applied successfully to raw material analysis. It's performance show to be better

than the official method, because it is selective, simple, inexpensive, of high sensitivity, and uses a smaller volume of reagents of low toxicity.

KEYWORDS: lead, dithizone, sodium lauryl sulfate, pharmaceutical raw materials.

1. Introducción

El plomo (Pb) es un metal tóxico que se acumula en el organismo y, aun en bajos niveles de exposición, puede provocar alteraciones muy diversas, incluyendo inmunotoxicidad, toxicidad reproductiva y daño neurológico, siendo la mayoría de sus efectos irreversibles. Se ha confirmado que, cuanto mayor es el nivel de exposición a este metal, más aumentan los efectos asociados a él (1, 2).

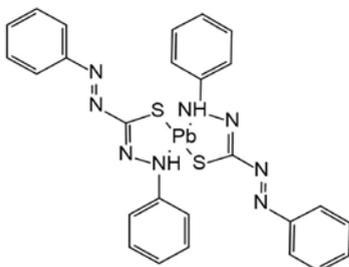
El Pb puede encontrarse como impureza en materias primas de la industria farmacéutica, tanto en principios activos como excipientes, proviniendo del proceso de síntesis o por contaminación (3, 4, 5). El contenido límite de plomo permitido por las farmacopeas varía ampliamente para cada sustancia, encontrándose por lo general entre 2.0 y 20.0 $\mu\text{g g}^{-1}$. Estas variaciones en los contenidos límites permitidos en las materias primas se deben a la naturaleza de la sustancia, la ruta de síntesis o purificación que se emplea en su obtención, como también a la utilización que se hará de la misma en la formulación farmacéutica. Según establece USP 37, los productos farmacéuticos no deben aportar más de 5 μg de plomo por día cuando se administran en dosis habituales. En este sentido, es indispensable el control riguroso de las cantidades de Pb que pudieran estar presentes en las materias primas para la producción de medicamentos a fin de asegurar la calidad de las mismas.

El método oficial para la determinación del contenido límite de Pb codificado en la Farmacopea de los Estados Unidos (6) y en la Farmacopea Argentina (7) se basa en la generación de un complejo coloreado insoluble en agua, formado por plomo-ditizona [$\text{Pb}(\text{HDz})_2$] (Fig. 1), seguido de extracciones sucesivas con cloroformo, utilizando aproximadamente medio litro del solvente por muestra que se analiza. Esta gran demanda de solvente y de tiempo de trabajo trae aparejado un alto costo del ensayo, además del peligro de su manipulación y la generación de residuos contaminantes. El cloroformo es tóxico, puede causar efectos nocivos en el sistema nervioso central, hígado y riñón; además es considerado carcinógeno humano potencial (8, 9, 10).

Actualmente existe un nuevo desafío para las investigaciones en química analítica impulsado por el creciente auge de la química verde: el de aplicar metodologías amigables con el medio ambiente, es decir, que utilicen reactivos no tóxicos o pequeñas cantidades de los mismos (11, 12).

Para estos fines, los solventes organoclorados pueden reemplazarse por el uso de surfactantes que, debido a su estructura molecular anfipática, permiten aumentar la solubilidad de compuestos orgánicos no polares en agua mediante la formación de micelas (Fig. 2) (13, 14, 15, 16).

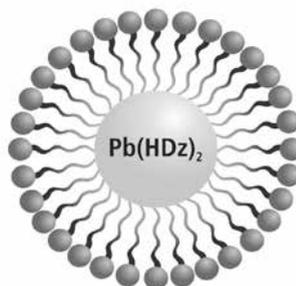
Figura 1. Estructura molecular del complejo plomo–ditizona



En este sentido, el objetivo de este trabajo fue desarrollar un método analítico para determinar el contenido límite de Pb en materias primas farmacéuticas en un medio micelar acuoso de lauril sulfato de sodio (SDS) a fin de superar las desventajas del método oficial.

La optimización experimental es un recurso basado en métodos matemáticos y estadísticos que permiten mejorar los resultados de un procedimiento, determinando la combinación de los niveles de las variables más influyentes que resulte en la mejor respuesta (17). La Metodología de Superficie de Respuesta posibilita encontrar las condiciones experimentales óptimas a partir del modelado de la relación entre la respuesta y los efectos de los factores influyentes (18). Para llevar a cabo este modelado de una manera eficiente es necesario, en primer lugar, planificar perfectamente los experimentos a realizar mediante la utilización de un Diseño Estadístico de Experimentos, y en segundo lugar tomar todos los recaudos necesarios para minimizar el error experimental.

Figura 2. Esquema de una micela de SDS en medio acuoso, conteniendo en su interior hidrófobo el complejo plomo–ditizona $[Pb(HDz)_2]$.



2. Materiales y métodos

2.1. Reactivos

Se utilizó lauril sulfato de sodio calidad USP (Anedra, India). Se prepararon soluciones de ditizona (Mallinckrodt, USA) 3×10^{-5} mol L⁻¹ en soluciones de SDS de concentración variable según el diseño. Para preparar las soluciones estándar de Pb se utilizó nitrato de plomo p.a. (Cicarelli, Argentina). Se prepararon soluciones reguladoras de Tris–HCl de concentración 2,0 mol L⁻¹ de diferentes valores de pH según el diseño experimental. Para la determinación de interferencias de otros cationes se prepararon las siguientes soluciones de 10 mg L⁻¹ de cada metal a partir de: acetato de mercurio (II), nitrato de plata, sulfato de cobre (II), acetato de cadmio y sulfato de zinc. Para lograr la selectividad del método se utilizaron soluciones enmascarantes de cianuro de potasio 1,5 mol L⁻¹ (SCP) y citrato de amonio 2,0 mol L⁻¹ (SCA).

2.2. Muestras

Las materias primas utilizadas fueron: povidona K30 (Laformed SA, Argentina) y glicina p.a. (Merck, Argentina).

2.3. Instrumental

A fin de determinar la longitud de onda (λ) a la cual es máxima la diferencia de absorbancia entre las soluciones blanco y estándar, se realizaron barridos espectrales en el rango de λ de 400 a 600 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Vis (Perkin Elmer Lambda 20).

2.4. Formación del complejo coloreado

En un tubo de Nessler se agregaron 10,0 mL de solución estándar de plomo de 1 mg L⁻¹. Se adicionaron 100 μ L de SCA y 400 μ L de SCP para eliminar las principales interferencias metálicas posibles, tales como mercurio, plata, cadmio, cobre y zinc (19). Se agregaron 2,0 mL de solución reguladora de Tris-HCl pH=9,00; 8,0 mL de solución de ditizona en SDS 0,035 mol L⁻¹ y se homogeneizó. La concentración de ditizona en SDS se fijó en 3x10⁻⁵ mol L⁻¹, según antecedentes en la bibliografía consultada (13, 16). Simultáneamente, se realizó un blanco de reactivos que se preparó igual que el estándar, reemplazando la solución de plomo por 10,0 mL de agua de ósmosis.

Pudo observarse a simple vista la diferencia de color entre el blanco (amarillo)

y estándar (rojo-anaranjado) debida a la formación del complejo [Pb(HDz)₂]. Sin embargo, a pesar de que se pretende desarrollar un ensayo sencillo de observación visual, el cambio de color se monitoreó instrumentalmente para optimizar el ensayo.

3. Diseño experimental, optimización y validación

En una primera etapa, se aplicó un diseño experimental central compuesto (DCC 1) para 3 factores ($k=3$), con 6 réplicas del punto central (17). Esto arrojó un total de 20 experimentos ($N=2^k + 2k +$ puntos centrales). Los factores que se consideraron influyentes y sus respectivos entornos experimentales se muestran en la Tabla 1. Posteriormente, se aplicó un diseño experimental central compuesto (DCC 2) para 2 factores ($k=2$) con 5 réplicas del punto central, lo que arrojó un total de 13 experimentos. Los factores que se consideraron influyentes en esta segunda etapa y sus respectivos entornos experimentales se muestran en la Tabla 1.

La respuesta estudiada en ambos casos fue la diferencia de absorbancia entre una solución estándar de Pb y una solución blanco.

Tabla 1. Diseños experimentales

factores	DCC 1		factores	DCC 2	
	entorno experimental [-1; +1]	réplicas punto central		entorno experimental [-1; +1]	réplicas punto central
pH	[8,70; 9,30]	6	pH	[7,65; 8,35]	5
SDS ^a	[0,02; 0,05]		SDS ^a	[0,06; 0,14]	
M/D ^b	[0,80; 1,70]				

^a Concentración de SDS en mol L⁻¹.

^b Relación entre volúmenes de solución muestra y solución de ditizona (3x10⁻⁵ mol L⁻¹) en SDS.

Se utilizó la metodología de superficie de respuesta para optimizar la respuesta, analizando cómo ésta se relaciona con cada factor estudiado.

El diseño experimental y la metodología de superficie de respuesta se realizaron por medio del programa Stat Ease-Desing Expert trial Version 7.0.0.

Las respuestas obtenidas se relacionaron con los efectos de los factores mediante la construcción de modelos matemáticos. En cada modelo, los términos fueron evaluados individualmente mediante ANOVA y se aplicó el procedimiento de regresión *backward* para eliminar aquellos no significativos ($\alpha = 0,10$). De esta forma, se obtuvieron los modelos simplificados y se evaluó mediante ANOVA la significancia y la falta de ajuste de los mismos.

La metodología de validación utilizada se realizó respetando las normativas internacionales para ensayos límite de impurezas en medicamentos (20). Se realizaron ensayos de selectividad para probar la discriminación de Pb en presencia de las impurezas metálicas comunes: mercurio, plata, cobre, cadmio y zinc, adicionando cada impureza en la cantidad límite especificada ($10 \mu\text{g g}^{-1}$) a las materias primas ensayadas (6, 7). Se determinó el límite de detección (LD) del método mediante la fórmula $LD = (3,3S)/b$, donde S es la desviación estándar de la absorbancia de 10 soluciones blanco; y b corresponde a la pendiente de la curva de calibrado, construida a partir de las mediciones de absorbancia a $\lambda = 525 \text{ nm}$ de soluciones estándares de plomo de 2,0; 5,0; 15,0; y 20,0 mg L^{-1} . Finalmente, se efectuaron ensayos de recuperación en las muestras de materias primas adicionadas con la cantidad límite de plomo especificada.

3.1. Pretratamiento de las muestras

Se ensayaron diferentes tratamientos de las materias primas, a aplicarse previamente a la determinación de Pb (6, 7). Por un lado, se realizó un ataque con ácido sulfúrico y oxidación con ácido nítrico, con la posterior calcinación en mufla a $600 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 2 horas. Por otro lado, se hizo en caliente un ataque con ácido sulfúrico y se utilizó como oxidante peróxido de hidrógeno 30 %, llevando luego a sequedad. En ambos casos, al final del tratamiento se agregó agua de ósmosis, se llevó a pH neutro con hidróxido de amonio $6,0 \text{ mol L}^{-1}$ y se completó a un volumen final de 10,0 mL.

4. Resultados y discusión

4.1. Selección de la longitud de onda de trabajo

En la Fig. 3 se muestran los barridos espectrales obtenidos de una solución blanco (agua de ósmosis) y una solución estándar de 10 mg L^{-1} de Pb. Se observa que la máxima diferencia de absorbancia entre ambas se da a λ entre 520 y 530 nm, por lo que se fijó una $\lambda = 525 \text{ nm}$ para las determinaciones de absorbancia en los distintos experimentos.

Los barridos espectrales obtenidos de soluciones de distintas condiciones de pH, concentración de SDS y relación M/D mostraron un comportamiento similar, manteniéndose la mayor diferencia de absorbancia a la λ seleccionada.

4.2. Optimización de la sensibilidad

Los experimentos realizados y las respuestas obtenidas para el DCC1 y DCC2 se presentan en la Tabla 2 y en la Tabla 3 respectivamente.

Figura 3. Absorbancia en función de longitud de onda de una solución blanco (—) y solución estándar (----) de 10,0 mg L⁻¹ de Pb. Conc. SDS = 0,035 mol L⁻¹; conc. ditizona = 3x10⁻⁵ mol L⁻¹; M/D = 1,25; solución reguladora de Tris-HCl pH = 9,00.

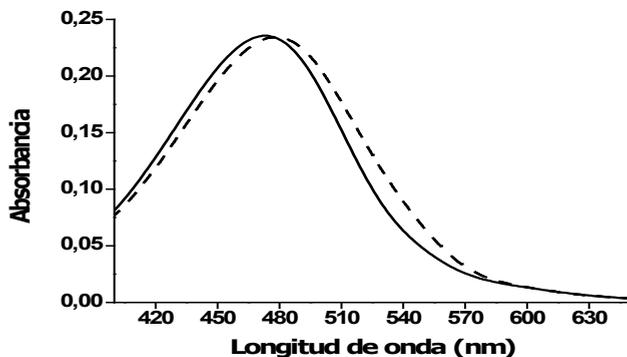


Tabla 2. Diseño central compuesto 1. Experimentos y respuestas.

Est ^a	Alt ^a	Factores (k)			Respuesta
		pH	SDS ^b	M/D ^c	ΔA^d
1	13	8,70	0,020	0,80	0,043
2	7	9,30	0,020	0,80	0,017
3	4	8,70	0,020	1,70	0,010
4	18	9,30	0,020	1,70	0,021
5	11	8,70	0,050	0,80	0,071
6	14	9,30	0,050	0,80	0,056
7	1	8,70	0,050	1,70	0,079
8	8	9,30	0,050	1,70	0,036
9	17	8,50	0,035	1,25	0,073
10	2	9,50	0,035	1,25	0,031
11	10	9,00	0,035	0,50	0,046
12	15	9,00	0,035	2,00	0,053
13	12	9,00	0,010	1,25	0,011
14	5	9,00	0,060	1,25	0,079
15	20	9,00	0,035	1,25	0,059
16	19	9,00	0,035	1,25	0,068
17	3	9,00	0,035	1,25	0,033
18	6	9,00	0,035	1,25	0,027
19	16	9,00	0,035	1,25	0,062
20	9	9,00	0,035	1,25	0,042

^a Est: orden estándar del punto en el diseño, Alt: orden aleatorio en el que se realizó el experimento.

^b Concentración de SDS en mol L⁻¹.

^c Relación entre volúmenes de solución muestra y solución de ditizona (3x10⁻⁵ mol L⁻¹) en SDS.

^d Diferencia de absorbancia ($\lambda=525$ nm) entre solución estándar de Pb y solución blanco.

Tabla 3. Diseño central compuesto 2. Experimentos y respuestas.

Est ^a	Alt ^a	Factores (k)		Respuesta
		pH	SDS ^b	ΔA^d
1	12	7,65	0,06	0,076
2	9	8,35	0,06	0,061
3	6	7,65	0,14	0,083
4	8	8,35	0,14	0,077
5	2	7,50	0,10	0,074
6	3	8,50	0,10	0,060
7	1	8,00	0,05	0,074
8	5	8,00	0,15	0,080
9	13	8,00	0,10	0,062
10	10	8,00	0,10	0,072
11	11	8,00	0,10	0,064
12	7	8,00	0,10	0,063
13	4	8,00	0,10	0,066

^a Est: orden estándar del punto en el diseño, Alt: orden aleatorio en el que se realizó el experimento.

^b Concentración de SDS en mol L⁻¹.

^c Diferencia de absorbancia ($\lambda=525$ nm) entre solución estándar de Pb y solución blanco.

Mediante la aplicación del DCC1 pudo obtenerse una ecuación de primer orden que ajustó adecuadamente los datos experimentales ($R^2 = 0,7050$). La Tabla 4 muestra el análisis de varianza (ANOVA) del modelo completo obtenido, donde puede observarse que la respuesta estudiada

depende sólo del pH y la concentración de SDS, mientras que el factor relación M/D no influye significativamente en la misma (valor $p > 0,050$). Se obtuvo una ecuación del modelo ajustado con los términos significativos:

$$\Delta A = 0,318 - 0,035 \text{ pH} + 1,307 \text{ SDS}$$

Tabla 4. Análisis de varianza para la superficie de respuesta del modelo completo obtenido.

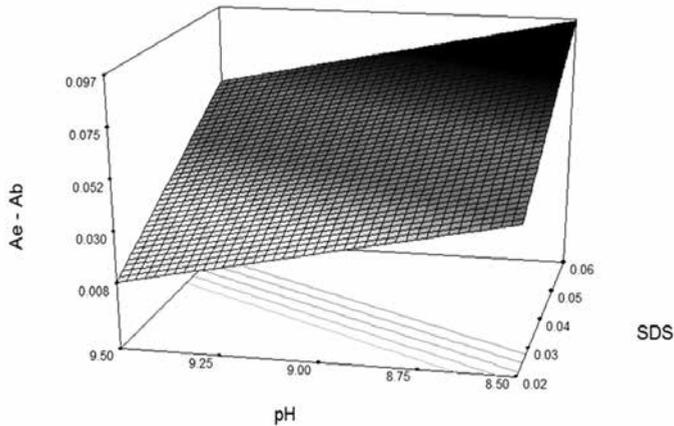
Fuente	Suma de cuadrados	GL ^a	Cuadrado medio	Valor p ^b
Modelo	0,006729	3	0,002243	0,0001
pH	0,001511	1	0,0015110	0,0089
M/D	0,000063	1	0,0000626	0,5532
SDS	0,005156	1	0,0051560	<0,0001
Residual	0,002727	16	0,0001704	
Falta de ajuste	0,001310	11	0,0001191	0,8929
Error	0,001418	5	0,0002835	
Total	0,009457	19		

^a grados de libertad. // ^b valores p menores a 0,050 indican significancia.

La Fig. 4 muestra la superficie de respuesta para ΔA , donde puede verse que a mayores concentraciones de SDS y bajos

valores de pH la respuesta es máxima, y es mayor la influencia del factor concentración de SDS.

Figura 4. Superficie de respuesta de la diferencia de absorbancia entre la solución estándar y la solución blanco, en función del pH y la concentración de SDS (mol L^{-1}), correspondiente al DCC1.



El hecho de encontrar un ajuste de los datos a un modelo lineal indica que aún se está en una región experimental alejada del óptimo del sistema (17), por lo que se decidió experimentar nuevamente en el sentido de mayor aumento de la respuesta. Con el objeto de encontrar el punto óptimo, se

aplicó entonces el segundo diseño, en el cual a ambos factores influyentes se les asignó un nuevo entorno experimental. Se obtuvo un modelo simplificado de segundo orden ($R^2 = 0,8192$), cuyo ANOVA se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Análisis de varianza para la superficie de respuesta del modelo lineal simplificado obtenido.

Fuente	Suma de cuadrados	GL ^a	Cuadrado medio	Valor <i>p</i> ^b
Modelo	0,0006027	3	0,0002009	0,0011
pH	0,0002081	1	0,0002081	0,0045
M/D	0,0001239	1	0,0001239	0,0177
SDS ²	0,0002707	1	0,0002707	0,0021
Residual	0,0001330	9	0,0000148	
Falta de ajuste	0,0000698	5	0,0000140	0,5634
Error	0,0000632	4	0,0000158	
Total	0,0007357	12		

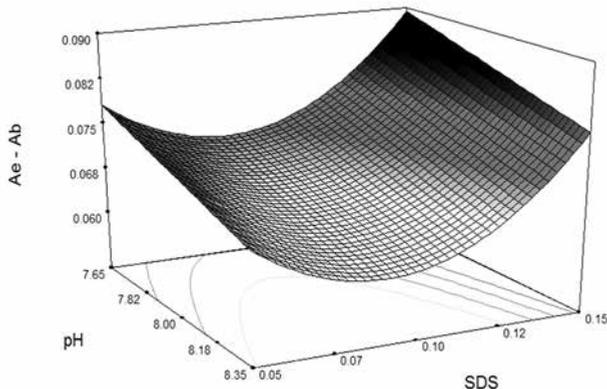
^a grados de libertad. // ^b valores *p* menores a 0,050 indican significancia.

El modelo se representó mediante una gráfica de superficie de respuesta con curvatura, aportada por el factor concentración de SDS (Fig. 5). En la misma puede observarse que, a altas concentraciones de SDS y bajos valores de pH, la respuesta es máxima, aun sin encontrarse el punto óptimo del sistema en el entorno experimental analizado. En esta instancia, podría plantearse experimentar en un nuevo entorno para los factores a fin de lograr fehacientemente la localización del óptimo supuesto. Sin embargo, los valores que pueden tomar las variables están a veces acotados por limitantes experimentales, tal como sucede

en este sistema. En el caso de la concentración de SDS, su valor no puede aumentarse más, ya que se advirtió que a partir de una concentración de $0,20 \text{ mol L}^{-1}$ se produce la gelificación del SDS en presencia de las sales aportadas por la solución reguladora. Por otro lado, para lograr la disolución de la ditizona en medio acuoso, se necesita un medio ligeramente alcalino, lo que limita la disminución de los valores de pH.

Por lo tanto, se fijaron como condiciones óptimas de trabajo una concentración de SDS igual a $0,15 \text{ mol L}^{-1}$, y un valor de pH de 7,60.

Figura 5. Superficie de respuesta de la diferencia de absorbancia entre la solución estándar y la solución blanco, en función del pH y la concentración de SDS (mol L^{-1}), correspondiente al DCC2.



5. Materias primas analizadas

5.1. Pretratamiento de las muestras

El tratamiento de las muestras que incluye la oxidación con ácido nítrico no arrojó resultados favorables, ya que probablemente los vestigios remanentes de óxidos de nitrógeno oxidan la ditizona, lo que impide la formación del complejo.

El ataque en caliente con ácido sulfúrico,

junto con la oxidación con peróxido de hidrógeno, resultó un tratamiento satisfactorio para todas las materias primas ensayadas. Para cada ensayo se utilizó 1 gramo de muestra.

5.2. Procedimiento analítico

Se realizaron en simultáneo los ensayos blanco, estándar y muestra. Para la prepa-

ración del blanco se agregaron 10,0 mL de agua de ósmosis a un tubo de Nessler; en el caso del estándar se adicionaron 10,0 mL de solución estándar de plomo de 1 mg L⁻¹. La muestra tratada se agregó disuelta en 10,0 mL de agua de ósmosis. Posteriormente, se agregaron a cada tubo las siguientes soluciones: 100 μL de SCA; 400 μL de SCP y 2,0 mL de solución reguladora de Tris-HCl pH= 6,80 para lograr un pH final de 7,60. Se homogenizó por inversión. Se agregaron 10,0 mL de solución de diti-zona (3x10⁻⁵ mol L⁻¹) en SDS (0,15 mol L⁻¹). Se homogenizó y se leyó inmediatamente en espectrofotómetro a λ = 525 nm.

La lectura espectrofotométrica se puede obviar, ya que la diferencia de color entre la solución blanco (amarillo) y la solución estándar (rojo-anaranjado) puede detectarse a simple vista.

5.3. Validación

En la Tabla 6 se detallan las absorbancias obtenidas para las soluciones blanco, estándar de Pb y de cada posible interferencia estudiada (Hg, Ag, Cu, Cd y Zn). Como puede observarse para Ag, Cu y Zn, la señal obtenida es comparable con el blanco, por lo que se concluye que estos metales no producen interferencia en las condiciones ensayadas.

Para Hg y Cd, cuyas señales son significativas, se calcularon los coeficientes de selectividad (Cs):

$$Cs = \frac{b_A}{b_I}$$

donde b_A es la pendiente de la recta de calibración para el Pb y b_I la pendiente de la señal de la interferencia (21).

Los mismos resultaron de 8,8 para el Cd y de 11,7 para el Hg, ampliamente satis-

factorios para el tipo de ensayo desarrollado, ya que indican que el método es unas nueve veces más sensible para plomo que para el cadmio y unas doce veces más que para el mercurio. Las normas internacionales para validación no establecen el valor mínimo que debe alcanzar este coeficiente para considerarse satisfactorio; sin embargo, de sus valores se puede deducir que las materias primas deberían estar altamente contaminadas por cadmio (más de 88 μg g⁻¹) o mercurio (más de 117 μg g⁻¹) para dar un ensayo falso positivo. En estos casos debería confirmarse la naturaleza de la contaminación mediante la utilización de una técnica analítica específica, tal como absorción atómica.

Tabla 6. Valores de absorbancia (A) a λ=525 nm de soluciones blanco y estándares de 10 mg L⁻¹ de impurezas metálicas adicionadas con 100 μL de SCA y 400 μL SCP. Conc. SDS = 0,015 mol L⁻¹; conc. diti-zona = 3x10⁻⁵ mol L⁻¹; solución reguladora de Tris-HCl pH = 6,80.

Impureza	A	ΔA
Blanco	0,114	0,000
Pb	0,183	0,069
Hg	0,120	0,006
Ag	0,115	0,001
Cu	0,116	0,002
Cd	0,122	0,008
Zn	0,115	0,001

En la Fig. 6 se muestra la curva de calibrado obtenida a partir de las lecturas de absorbancia de soluciones estándares de Pb, cuya pendiente igual a 0,007 se utilizó para el cálculo del límite de detección (LD).

Las mediciones de la absorbancia de 10 soluciones blanco realizadas para el cálculo de S se muestran en la Tabla 7.

El límite de detección del método fue de $0,47 \text{ mg L}^{-1}$, unas ocho veces menor que el obtenido en el método oficial (4 mg L^{-1}).

Figura 6. Curva de calibrado de medidas de absorbancia a $\lambda=525 \text{ nm}$ de soluciones estándares de plomo de 2,0; 5,0; 15,0 y 20,0 mg L^{-1} . Conc. SDS = $0,015 \text{ mol L}^{-1}$; conc. ditizona = $3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; solución reguladora de Tris-HCl pH = 6,80.

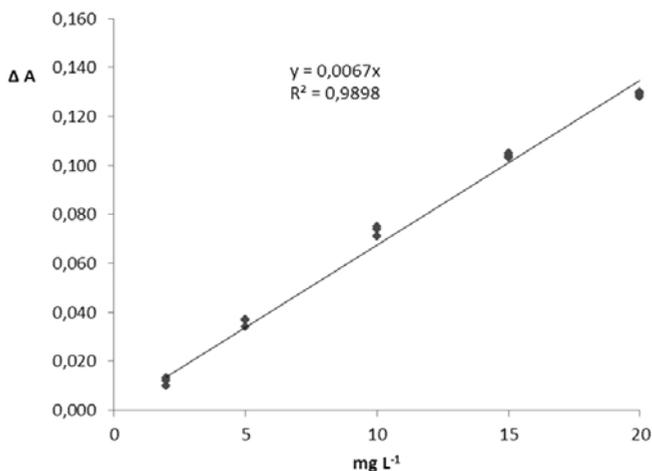


Tabla 7. Absorbancia (A) a $\lambda=525 \text{ nm}$ de soluciones blanco. Conc. SDS = $0,015 \text{ mol L}^{-1}$; conc. ditizona = $3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; solución reguladora de Tris-HCl pH = 6,80.

N° solución	A
1	0,099
2	0,100
3	0,099
4	0,099
5	0,098
6	0,098
7	0,099
8	0,099
9	0,098
10	0,098
promedio	0,099
S	0,001

El ensayo sobre la muestra adicionada desarrolló el mismo color que el ensayo estándar (determinado tanto en forma instrumental como visual). De esta manera, pudo lograrse la recuperación total de Pb en la muestra tratada. En la Tabla 8 se muestran los resultados del ensayo de recuperación sobre materias primas de glicina y povidona.

Tabla 8. Recuperación de Pb en muestras adicionadas en el nivel límite permitido.

Muestra	Pb agregado (mg L ⁻¹)	Pb recuperado (mg L ⁻¹)	% Recuperación
Glicina	20,0	18,9	94,3
Povidona	10,0	10,3	102,9

6. Conclusiones

Se logró desarrollar, optimizar y validar un método analítico eficiente, rápido y seguro para la determinación de concentraciones trazas de plomo en materias primas de la industria farmacéutica, que puede aplicarse en reemplazo del método oficial en los análisis de control de calidad de materias primas y medicamentos. El nuevo método, que puede aplicarse como ensayo límite en los controles de rutina, resultó ser superior al método oficial, ya que es selectivo, más sencillo, económico y de mayor sensibilidad, sin el uso de solventes organoclorados tóxicos. Emplea además una menor cantidad de reactivos, con la consecuente disminución de desechos generados. También puede utilizarse en determinaciones cuantitativas de plomo en caso de ser requerida su valoración.

Referencias bibliográficas

- OMS (2013, septiembre). Intoxicación por plomo y salud. Nota descriptiva N°379. Recuperado de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs379/es/>. Fecha de acceso: 25/06/2014.
- Kauffman, J. F.; Westenberger, B. J.; Robertson, D.; Guthrie, J.; Jacobs, A.; Cummins, S. K. (2007). Lead in pharmaceutical products and dietary supplements. *Regul. Toxicol. Pharm.* **48**: 128–134.
- Ahuja, S. (2007). Assuring quality of drugs by monitoring impurities. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **59**: 3–11.
- Gorog, S. (2007). Drug safety, drug quality, drug analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **48**: 247–253.
- ICH (2006). Impurities in new drug substances Q3A (R2). International Conference on Harmonization. Genova, Suiza.
- USP 37: The United States Pharmacopeia (37th ed. 2014), United States Pharmacopeia Convention, Rockville.
- Farmacopea Argentina. 7ª edición (2003).
- Fawell, J. (2000). Risk Assessment Case Study—Chloroform and Related Substances. *Food Chem. Toxicol.* **38**: 91–95.
- Golden, R. J.; Holm, S. E.; Robinson, D. E.; Julkunen, P. H.; Reese, E. A. (1997). Chloroform Mode of Action: Implications for Cancer Risk Assessment. *Regul. Toxicol. Pharm.* **26**: 142–155.
- Luttrell, W. E. (2005). Toxic tips: Chloroform. *J. Chem. Health Saf.*, **12**(3): 36–37.
- Farré, M.; Pérez, S.; Goncalves, C.; Alpendurada, M. F.; Barcelo, D. (2010). Green analytical chemistry in the determination of organic pollutants in the aquatic environment. *Trends Anal. Chem.*, **29**(11): 1347–1362.
- Wardencki, W.; Curylo, J.; Namiesnik, J. (2007). Trends in solventless sample preparation techniques for environmental analysis. *J. Biochem. Biophys. Meth* **70**: 275–288.
- Acuña Ruiz, V. A. (2012). Determinación espectrofotométrica de plomo (II) con ditzona en solución micelar aniónica (Tesis Profesional Químico, Fac. de Química, Ingeniería Química e Ingeniería Agroindustrial, Universidad Nacio-

nal Mayor de San Marcos. Lima, Perú). Recuperado de http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/3421/1/acuna_rv.pdf. Fecha de acceso: 01/04/2014.

14. Das, D.; Sen, K. (2012). Species dependent aqueous biphasic extraction of some heavy metals. *J. Ind. Eng. Chem.*, **18**: 855–859.

15. Khan, H.; Ahmed, M. J.; Iqbal Bhangar, M. (2006). A simple spectrophotometric method for the determination of trace level lead in biological samples in the presence of aqueous micellar solutions. *Spectroscopy*, **20**: 285–297.

16. Shar, G. A.; Bhangar, M. I. (2001). Spectroscopic determination of Zinc with dithizone in anionic micellar media of dodecyl sulphate salt. *J. Chem. Soc. Pak.*, **23** (2): 74–79.

17. Myers, R. H.; Montgomery, D.; Anderson–Cook, C. M. (third ed., 2009). *Response Surface Methodology: Process and product optimization using designed experiments*. New Jersey: Wiley.

18. Almeida Bezerra, M.; Erthal Santelli, R.; Padua Oliveira, E., Silveira Villar, L., Escalera, L. A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta* **76**(5): 965–977.

19. Irving, H. M.; Butler, E. J. (1953). A reversion method for the absorptiometric determination of traces of lead with dithizone. *Analyst*, **78**: 571–580.

20. ICH (2005). *Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (R1)*. International Conference on Harmonization. Genova, Suiza.

21. International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) (2002). *Harmonized Guidelines for Single Laboratory Validation of Methods of Analysis*. *Pure Appl. Chem.* **74**(5): 835–855.

Nota

Parte del trabajo fue presentado en XVIII Encuentro de Jóvenes Investigadores de la UNL, Santa Fe.

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado en el marco del Proyecto CAI+D 2011 "Diseño y validación de estrategias analíticas para el análisis de muestras complejas relacionadas con la industria farmacéutica y la alimentación. Aplicación de métodos quimiométricos y procedimientos para la estimación de la incertidumbre de medición".