

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA



Guatemala, febrero de 1997

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

**JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

DECANO	Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Secretario	Lic. Oscar Federico Nave Herrera
Vocal I	Lic. Miguel Angel Herrera Gálvez
Vocal II	Lic. Gerardo Leonel Arroyo Catalán
Vocal III	Lic. Rodrigo Herrera San José
Vocal IV	Br. Ana María Rodas Cardona
Vocal V	Br. Hayro Oswaldo García García

DEDICATORIA

A mis padres:

Hugo y Dora por su amor, apoyo y confianza en todo momento, les dedico mi triunfo.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad de San Carlos de Guatemala.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

A la Licda. Aracely de León por su asesoría, confianza y colaboración en la elaboración del presente trabajo.

Al Laboratorio Unipharm, S.A. por la ayuda brindada para la realización del presente trabajo de investigación, en especial al Departamento de Garantía de Calidad, Laboratorio de Químicos.

A todas las personas que en una u otra forma me brindaron su colaboración en el desarrollo del presente trabajo.

INDICE

	Página
1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCION.....	2
3. ANTECEDENTES.....	3
4. JUSTIFICACION.....	9
5. OBJETIVOS.....	10
6. HIPOTESIS.....	11
7. MATERIALES Y METODOS.....	12
8. RESULTADOS.....	20
9. DISCUSION DE RESULTADOS.....	34
10. CONCLUSIONES.....	39
11. RECOMENDACIONES.....	40
12. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	41
13. ANEXOS.....	43

1. RESUMEN

En el presente estudio, se compararon los parámetros de validación (linealidad, precisión, exactitud, especificidad, límite de detección y límite de cuantificación) de los métodos espectrofotométrico y titrimétrico, para cuantificar hierro elemental en la estructura quelada con aminoácidos (hierro aminoquelado) en jarabe, con el propósito de determinar las ventajas entre ambos y al mismo tiempo sugerir una técnica alternativa de análisis.

Para efectuar dicho estudio se fabricaron lotes piloto de acuerdo a la fórmula y procedimientos maestros del jarabe, variando únicamente las concentraciones entre 50% y 150% de hierro elemental. El análisis de las muestras se realizó por triplicado aplicando los dos métodos de análisis a validar.

El análisis estadístico de los resultados, para evaluar la concordancia entre ambos métodos se realizó por medio de la prueba de colinealidad y el análisis de correlación, se evaluó la pendiente y el intercepto por medio de la "t" de student, encontrándose que no existe diferencia significativa entre ambos métodos a un nivel de significancia del 95%, lo que indica que ambos métodos de análisis son comparables y sustituibles. Por lo tanto el método espectrofotométrico cumple con los requerimientos para su aplicación como método alternativo, ya que resulta ser semejante al método usual (método titrimétrico) en el análisis de hierro, para los parámetros evaluados, además es importante señalar que el método espectrofotométrico disminuyó el costo en un 83% y el tiempo de análisis en un 95% al compararlo con el método titrimétrico.

2. INTRODUCCION

La validación de los procesos o equipos son necesarios para determinar la efectividad y las limitaciones de los mismos. Cualquier proceso de validación es único para cada procedimiento u operación y se diseña específicamente de acuerdo al objetivo de la validación y aplicabilidad (8).

Los programas de control de calidad no han sido suficientes para evitar que lotes que no cumplan los requisitos o especificaciones mínimas requeridas salgan al mercado, por lo tanto, es imprescindible validar los métodos de análisis para garantizar que los resultados de los mismos sean confiables.

Las Buenas Prácticas de Manufactura y las Buenas Prácticas de Laboratorio exigen que todo método analítico nuevo o modificado sea validado para asegurar resultados reproducibles y confiables.

En el presente trabajo de investigación se validaron y compararon los métodos titrimétrico y espectrofotométrico para la cuantificación del hierro en la estructura quelada con aminoácidos (hierro aminoquelado) en un lote piloto de jarabe. La comparación de los métodos se realizó por medio del análisis de correlación y prueba de colinealidad, dando como resultado que el método espectrofotométrico cumple con los requerimientos para su aplicación como método alternativo en la cuantificación de hierro en jarabe antianémico (producto terminado).

3. ANTECEDENTES

Según las referencias bibliográficas revisadas, no se encontró reporte de algún estudio de validación y comparación entre el método titrimétrico y espectrofotométrico para cuantificar hierro elemental en la estructura quelada con aminoácidos.

Actualmente no existe un método oficial para el análisis de hierro en la estructura quelada con aminoácidos (hierro aminoquelado), debido a que no es una materia prima incluida en Farmacopea (USP, BP, Italiana, y Europea).

Dentro de los preparados más comunes a base de hierro se encuentran: sulfato ferroso, fumarato ferroso, gluconato ferroso, etc. (1). Los métodos de análisis descritos en farmacopeas para cuantificar hierro en producto terminado en estos preparados, se incluyen los métodos titrimétricos y espectrofotométricos (2-4).

El método titrimétrico se basa en una serie de reacciones oxidación-reducción (redox), en donde :

- a). La determinación cuantitativa directa de hierro (+2) por medio de soluciones volumétricas oxidantes (sulfato cérico amónico, permanganato, dicromato etc.) (2,5-7).
- b). La determinación cuantitativa indirecta de hierro (+2), con soluciones volumétricas reductoras (tiosulfato de sodio, etc.) (2,5-7).

El método espectrofotométrico se basa en la determinación directa del hierro (+3) a través de la absorción de energía radiante visible de los complejos coloreados que se forman al reaccionar con compuestos como el tiocianato de potasio (2,5-7).

3.2. VALIDACION DE METODOS ANALITICOS

Las regulaciones actuales como las “Buenas Prácticas de Manufactura” y las “Buenas Prácticas de Laboratorio” exigen que todos los métodos nuevos o modificados sean validados” (8). Esto se aplica aún a métodos oficiales cuando se establecen por primera vez en el laboratorio (9).

La validación de un método analítico es el proceso por el cual se establece, por estudios de laboratorio, que el mismo satisface los requerimientos de la aplicación deseada (2,8).

El propósito de las validaciones analíticas es asegurar que un procedimiento es capaz de proporcionar resultados reproducibles y confiables. Por lo tanto es necesario definir las condiciones y propósitos bajo las cuales el procedimiento propuesto se utiliza (5).

Los parámetros analíticos que se utilizan en un ensayo de validación deberán incluir: 1. Precisión, 2. Exactitud, 3. Linealidad, 4. Rango, 5. Límite de Detección, 6. Límite de Cuantificación, 7. Selectividad, 8. Sensibilidad 9. Robustez (2,5,8 -11).

3.2.1. PRECISION

La precisión de un método analítico es el grado de concordancia de los resultados obtenidos cuando el procedimiento del método se aplica repetidamente en múltiples corridas dentro de una muestra homogénea.

Precisión es una medida del grado de reproducibilidad de un método analítico bajo circunstancias normales de operación (2,8).

3.2.2. EXACTITUD

Es la medida de la fidelidad de los resultados obtenidos por el método comparados a los valores reales. La exactitud frecuentemente, se expresa como el porcentaje que el método puede detectar del valor real de un principio activo cuya concentración es conocida (2,8,10,11).

3.2.3. LINEALIDAD

Es la habilidad de un método analítico para producir resultados que estén directamente, o por una bien definida transformación matemática, proporcionales a la concentración del analito en las muestras dentro de un rango dado (2).

3.2.4. RANGO

Es el intervalo entre los límites superior e inferior en el que el analito se determina con una precisión, exactitud y linealidad aceptable (2,8,10).

3.2.5. LIMITE DE DETECCION

Es la mínima cantidad del analito que permite su detección (aunque no necesariamente su cuantificación) por el método instrumental (cantidad mínima detectable), se expresa en unidades de medida del analito (10,11).

3.2.6. LIMITE DE CUANTIFICACION

Es la cantidad mínima del analito que permite ser cuantificada por el método instrumental (cantidad mínima cuantificable), que cumpla con las exigencias de exactitud y precisión (10,11).

3.2.7. SELECTIVIDAD (ESPECIFICIDAD)

También denominada especificidad, se define como la habilidad de medir con exactitud y específicamente un analito en presencia de otros componentes que pueden esperarse que estén presentes en una matriz. La selectividad puede sin embargo ser expresada como el grado de desviación o sesgo de los resultados obtenidos por el análisis de muestras que contienen impurezas, productos de degradación o con ingredientes placebo. La selectividad es una medida de el grado de interferencia (o ausencia de esta) en el análisis de muestras de mezclas complejas (2,10).

3.2.8. SENSIBILIDAD

Es el intervalo que incluye los niveles alto y bajo del analito que pueden ser determinados en la región lineal del método. La sensibilidad está dada en relación a la concentración del analito presente y se expresa como la relación del cambio en la respuesta instrumental medida al cambio de la concentración del analito presente en la muestra (10,11).

3.2.9. ROBUSTEZ

Es el grado de reproducibilidad del método cuando se analiza la misma muestra bajo diversas condiciones, como diferentes laboratorios, analistas, instrumentos, lotes de reactivos, tiempo transcurrido entre ensayos, cambios de temperatura y ambiente, etc. Es decir la pérdida de influencia en los resultados de la prueba, de las variables ambientales y operacionales (8,10).

3.2.10. GUIA PARA LA APLICACION DE LAS CARACTERISTICAS ANALITICAS

• DE VALIDACION:

No todas las características descritas pueden ser requeridas en todos los casos. Si se considera la variedad de los procedimientos analíticos, es lógico aceptar que cada método a examinar requieren diferentes esquemas de validación. La siguiente clasificación es una guía de que parámetros de validación deben aplicarse en diferentes casos: (2, 5)

CLASE A: Método de análisis que establece la identidad de las sustancias o drogas en materia prima o en producto terminado.

CLASE B: Método de análisis designado a detectar y cuantificar impurezas estimada u otras sustancias relacionadas en la materia prima de una droga en producto terminado.

CLASE C: Método de análisis para cuantificar la cantidad de una sustancia o droga en materia prima, o su concentración en producto terminado.

CLASE D: Metodología para evaluar otras características del producto final tales como grado de solución y uniformidad.

CUADRO No.1

Características aplicables a varios tipos de materiales farmacéuticos

CARACTERÍSTICA	A	B	C	D
PRECISION	---	+	+	+
EXACTITUD	---	+	+	+
LINEALIDAD	---	+	+	+
RANGO	---	+	+	+
LIMITE DE DETECCION	+	+	---	---
LIMITE DE CUANTIFICACION	---	+	---	---
SELECTIVIDAD	+	+	+	---
SENSIBILIDAD	+	+	+	+
ROBUSTEZ	+	+	+	+

A pesar de la generalización del Cuadro No.1, puede haber ocasiones donde ciertas características indicadas no son requeridas o necesarias.

4. JUSTIFICACION

Para garantizar la calidad de los productos farmacéuticos es necesario validar los métodos de análisis, ya que de ellos depende la aprobación o rechazo de un producto. Si la metodología de análisis no es confiable pueden salir al mercado productos que no cumplan con las especificaciones mínimas de calidad, y es por ello que las Buenas Prácticas de Manufactura y Buenas Prácticas de Laboratorio exigen que todos los procedimientos implicados en el análisis o manufactura de un producto sean válidos y confiables.

Otra razón que justifica este estudio es que el método espectrofotométrico podría ser utilizado como método alternativo para la cuantificación del hierro quelado con aminoácidos en jarabe, al validarse y determinar las ventajas de éste con respecto al método titrimétrico que se utiliza actualmente en el Laboratorio Unificado de Calidad de Alimentos y Medicamentos (LUCAM).

5. OBJETIVOS

5.1. GENERAL

Contribuir con el estudio de un método alternativo de análisis para la cuantificación de hierro quelado con aminoácidos en jarabe.

5.2. ESPECIFICOS

- 5.2.1. Validar los métodos espectrofotométrico y titrimétrico de acuerdo a los parámetros de precisión, exactitud, linealidad, sensibilidad, reproducibilidad, especificidad, límite de detección y límite de cuantificación.
- 5.2.2. Comparar las ventajas y desventajas del método espectrofotométrico con respecto al método titrimétrico de acuerdo a los parámetros de la validación, tiempo y costo de análisis.
- 5.2.3. Demostrar que el método propuesto por espectrofotometría, satisface los requerimientos necesarios para su aplicación como método alternativo de cuantificación del hierro quelado con aminoácidos.

6. HIPOTESIS

El método espectrofotométrico para cuantificar el hierro quelado con aminoácidos ofrece mayor precisión, exactitud, linealidad, sensibilidad, reproducibilidad, especificidad, límite de detección y límite de cuantificación que el método titrimétrico.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1. UNIVERSO DE TRABAJO

El universo de trabajo está constituido por los métodos de análisis espectrofotométrico y titrimétrico para cuantificar hierro quelado con aminoácidos en producto terminado.

7.2. MEDIOS

7.2.1. RECURSOS HUMANO

Autor: Br. Myra Patricia Pensamiento Barrientos.

Asesor: Licda. Aracely de León Amézquita.

7.2.2. RECURSOS MATERIALES

Reactivos y cristalería comunes de laboratorio.

Espectrofotómetro UV/VIS.

Balanza analítica.

Mufla.

Papelería y equipo de oficina.

7.3. PROCEDIMIENTO

7.3.1. CUANTIFICACION DE LA MATERIA PRIMA

La cuantificación del hierro quelado con aminoácidos (materia prima) se realizó con patrón secundario (ver anexo 1, pag. 44).

7.3.2 FABRICACION DEL JARABE (LOTES PILOTO)

Se fabricaron 7 lotes piloto de acuerdo a la fórmula (ver anexo 2, pag. 47) y procedimientos maestros del jarabe. Cada lote piloto contiene todos los componentes del jarabe, variando únicamente las concentraciones entre 50 - 150 % con respecto a la cantidad hierro elemental: 15mg/5mL, 20mg/5mL, 25mg/5mL, 30mg/5mL, 35mg/5mL, 40mg/5mL, 45mg/5mL.

7.3.3. CUANTIFICACION DE HIERRO EN PRODUCTO TERMINADO

7.3.3.1. METODO ESPECTROFOTOMETRICO

Preparación de la Curva Patrón de Hierro:

Pesar exactamente de 49.78 mg de sulfato ferroso heptahidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) y trasvasarlo a un balón aforado de 100mL con agua, aforar y mezclar. Concentración final de la solución: 100ug/mL de hierro elemental.

A partir de la solución anterior, preparar la curva patrón de hierro de la siguiente manera:

Concentración de Hierro (ug/mL)	Concentración del Patrón	Volumen de Agua (mL)	Vol. de Acido Nítrico 2M (mL)
Blanco	0.0	5.0	5
1	0.1	4.9	5
2	0.2	4.8	5
3	0.3	4.7	5
4	0.4	4.6	5
6	0.6	4.4	5
8	0.8	4.2	5
10	1.0	4.0	5

Preparación de la muestra:

Transferir 5 mL de la muestra a un balón aforado de 50mL, aforar con agua y agitar. Medir 10 mL de la solución anterior y transferirlos a un balón aforado de 50 mL. Aforar con agua y agitar para lograr la solución total del hierro. Concentración final: 120 ug/mL de hierro elemental.

Medir 0.5 mL de la solución anterior y agregarle 4.5 mL de agua y 5 mL de ácido nítrico 2M, y agitar. **Nota:** Dejar en contacto por 10 minutos tanto la solución de la muestra como cada una de las soluciones de la curva patrón.

Cuantificación de Hierro

Medir 5 mL de la solución de la muestra y de cada una de las soluciones de la curva patrón y transferirlos a tubos de ensayo. A cada uno agregar 5 mL de tiocianato de potasio 1 M y agitar. Para el blanco, medir el volumen total obtenido (10 mL) y agregar 10 mL de tiocianato de potasio 1M y agitar. **Nota:** agregar el tiocianato de potasio hasta el momento que se realizarán las lecturas.

Leer las absorbancias de las soluciones a 480 nm usando el blanco para colocar el cero del aparato.

Graficar absorbancia versus concentración de hierro de cada solución de la curva patrón, y extrapolar la absorbancia de la muestra para obtener la concentración.

Cálculos:

$$\text{mg}/5\text{ml} = \text{Concentración de la muestra (ug/ml)} \times 5$$

7.3.3.2. METODO TITRIMETRICO

Preparación de la Muestra:

Medir 5 mL de la muestra y agregar en un crisol, calentar a sequedad en una estufa y luego en una mufla a 550°C por 12 horas. Dejar enfriar.

Preparación del Patrón:

Pesar cerca de 150 mg del patrón sulfato ferroso heptahidratado en un crisol y calentar en la mufla a 550°C por 12 horas. Dejar enfriar.

Cuantificación de Hierro:

Calentar suavemente los crisoles con 3mL de ácido clorhídrico concentrado hasta que la solución se aclare, luego trasvasar cuidadosamente a un erlenmeyer de tapón esmerilado de 250 mL con ayuda de una varilla, lavar el crisol y la varilla con agua no más de 20 - 25mL (si es necesario se puede agregar otros 3 mL adicionales de ácido clorhídrico concentrado).

Agregar 4g de KI (Yoduro de Potasio) e insertar el tapón y dejar reposar en la oscuridad por 5 minutos.

Luego agregar 75 mL de agua y titular con tiosulfato de sodio 0.1N VS, añadiendo 3 mL de almidón TS.

Cálculos:

$$\text{mg hierro muestra} = P_p \times \text{Pureza P} \times V_m/V_p \times 55.847/278.01$$

En donde:

P_p = mg del patrón pesados.

V_m = Volumen en mL gastados en la muestra.

V_p = Volumen en mL gastados en el patrón.

55.847 = Peso molecular del hierro.

278.01 = Peso molecular del sulfato ferroso heptahidratado.

7.4. DISEÑO ESTADÍSTICO

7.4.1. VALIDACION DE LOS METODOS ANALITICOS

Los parámetros desarrollados para la validación de los métodos son: linealidad especificidad, sensibilidad, límite de detección, límite de cuantificación, precisión, exactitud. Para la realización de estos parámetros, el método estadístico se desarrolló de la siguiente forma:

7.4.1.1. ESPECIFICIDAD

En este caso se determinó que si existen interferentes en la matriz (componentes de la formulación sin hierro quelado con aminoácidos) que puedan dar una respuesta cruzada con el hierro. El estudio se realizó en dos grupos:

A: Matriz sin hierro quelado con aminoácidos.

B: Matriz con hierro quelado con aminoácidos.

Se analizó 7 muestras de cada grupo (para el grupo B se utilizaron diferentes concentraciones entre 50 y 150% con respecto a la

cantidad de hierro elemental: 15mg/5mL, 20mg/5mL, 25mg/5mL, 30mg/5mL, 35mg/5mL, 40mg/5mL, 45mg/5mL).

El análisis de las muestras de cada grupo se realizó en triplicado. Con los datos se realizó diferencia entre ambos grupos.

7.4.1.2. LINEALIDAD

Determina el rango lineal de la respuesta analítica. Con los datos del grupo B (matriz con hierro quelado con aminoácidos), se aplicó análisis de regresión lineal (concentración conocida en el eje X y respuesta analítica eje Y). Se evaluó la ecuación de regresión por medio de análisis de varianza " t " de Student para el coeficiente de correlación " r ".

7.4.1.3. SENSIBILIDAD

Con los datos del grupo B (matriz con hierro quelado con aminoácidos) se aplicó la prueba " t " de Student para la hipótesis nula ($H_0: b = 1$) y se determinó la varianza de la pendiente.

7.4.1.4. LIMITE DE DETECCION:

Con los datos del grupo A (matriz sin hierro quelado con aminoácidos) se determinó el promedio y desviación estándar de los resultados. El límite de detección se determinó por el promedio más un factor que es 3 veces la desviación estándar.

7.4.1.5. LIMITE DE CUANTIFICACION

Con los datos del grupo A, se determinó el promedio y desviación estándar de los resultados. El límite de cuantificación se determinó por el promedio más un factor que es 10 veces la desviación estándar.

7.4.1.6. PRECISION

7.4.1.6.1 Repetibilidad: Se analizó mínimo 10 veces una sola concentración dentro del rango analítico, las mediciones realizaron bajo las mismas condiciones y el mismo experimentador. Se determinó el promedio y desviación estándar, con estos datos se estableció el coeficiente de variación el cual no es mayor a 3%.

7.4.1.6.2. Perfil de Precisión: Con los datos del grupo B se determinó el coeficiente de variación y se graficó en función de las concentraciones.

7.4.1.7. EXACTITUD

Con los datos del grupo B se determinó el porcentaje de recuperación (% r):

$$\% r = \frac{\text{Cantidad encontrada}}{\text{Cantidad conocida}} \times 100$$

Se calculó el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación. Luego se analizó la ecuación de la recta en función de la hipótesis nulas $b = 1$ y $a = 0$.

7.4.2. COMPARACION DE LOS METODOS ANALITICOS

- 7.4.2.1 Con los datos de las curvas de linealidad, se realizó una prueba de colinealidad para determinar si los dos métodos son equivalentes o no, de acuerdo a la siguientes hipótesis: $H_0: b_1 = b_2$ y $H_0: a_1 = a_2$. Para ambos casos se realizó la prueba de " t " de Student.
- 7.4.2.2. Se realizó un análisis de correlación por medio de la " t " de student, con los resultados de cada método, evaluando las hipótesis nulas $b = 1$ y $a = 0$.
- 7.4.2.3. Se realizó un análisis descriptivo (comparativo) entre los resultados de todos los aspectos analizados en la validación.

8. RESULTADOS

En el análisis de los datos obtenidos durante la etapa de validación de los métodos se obtuvo que:

El método espectrofotométrico y titrimétrico demostraron tener linealidad y sensibilidad dentro del rango establecido (50% - 150%), siendo el coeficiente de correlación r de 0.9995 (tabla 1, pag. 23) y 0.9983 (tabla 2, pag. 24) respectivamente. La evaluación de la pendiente en las ecuaciones de regresión se realizó por medio del análisis de varianza, siendo para el método espectrofotométrico igual a 0.02143 (tabla 1, pag. 23) y para el método titrimétrico igual a 0.008025 (tabla 2, pag. 24). Por último, el análisis de las ecuaciones de regresión se realizó por medio de la prueba " t " de student para la comprobación de las hipótesis nulas ($H_0: b = 1$ y $a = 0$), obteniendo para el método espectrofotométrico una $t = 3.73$ para la pendiente y $t = -14.48$ para el intercepto, rechazando en ambos la hipótesis nula por ser mayor al valor " t " teórico = ± 2.093 ; y para el método titrimétrico se obtuvo una $t = 0.03$ para la pendiente y una $t = -1.42$ para el intercepto, en ambos casos no se rechazó las hipótesis nula por no ser mayor al valor de " t " teórico = ± 2.093 .

La evaluación de la precisión se realizó por medio del coeficiente de variación (CV) siendo para el método espectrofotométrico 1.36% (tabla 3, pag. 25) y para el método titrimétrico 2.86% (tabla 5, pag. 26), así mismo se evaluó el coeficiente de variación en las diferentes concentraciones del rango establecido (50% - 150%) por medio del perfil de precisión (tabla 4, pag. 25; tabla 6 pag. 26; Fig. 1).

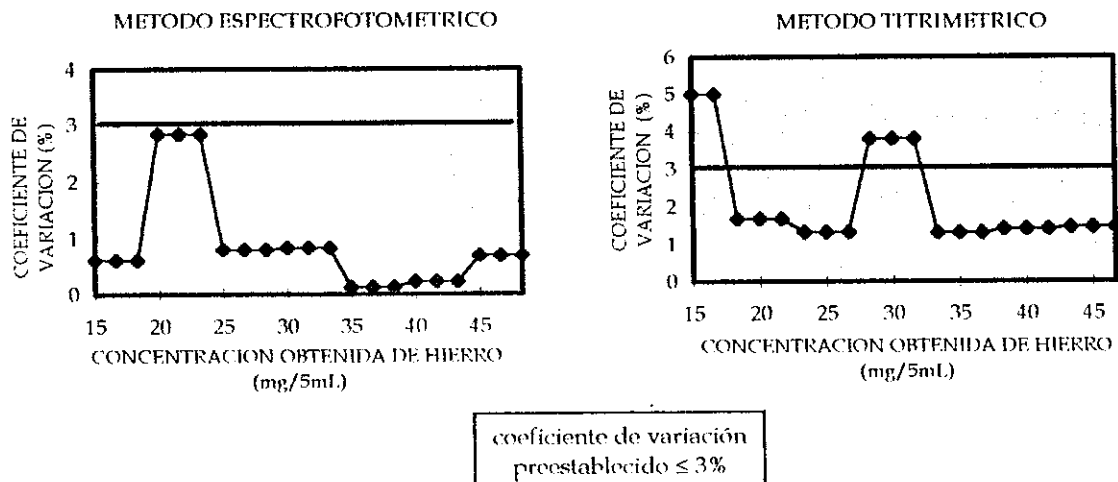


Fig. 1 Perfil de Precisión de los métodos espectrofotométrico y titrimétrico.

La especificidad de los métodos se evaluó por la interferencia en la matriz que pueda dar una respuesta cruzada con el hierro, siendo para el método espectrofotométrico menor (tabla No.7, pag. 27), que en el método titrimétrico (tabla 8, pag. 28), las cuales más adelante se discuten.

La exactitud se determinó por medio del porcentaje de hierro recuperado en donde se aplicó "t" student para la comprobación de las hipótesis ($H_0: m = 100$ y $H_a: m \neq 100$), rechazando en ambos métodos la hipótesis nula por ser "t" mayor que el valor de "t" teórico = ± 2.086 . En el promedio de los resultados se obtuvo que el método espectrofotométrico tiene una exactitud 97% (97% - 102%) (tabla 9, pag. 29) y el método titrimétrico 98% (98% - 102) (tabla 10, pag. 30)

El límite de detección y cuantificación que se obtuvo en el método espectrofotométrico es de 0.1245 mg/5ml (0.41%) y 0.3048mg/5ml (1.01%) (tabla, 11, pag. 31) respectivamente y para el método titrimétrico es de 0.6045mg/5ml (2.015%) y 1.3334 mg/5ml (4.44%) (tabla No. 12, pag 31) respectivamente.

El estudio comparativo de los métodos para determinar la relación entre ambos se realizó por medio del análisis de correlación (Fig. 2), donde se obtuvo que el coeficiente de correlación r igual a 0.9979 (tabla 13, pag. 32), así mismo se evaluó la pendiente y el intercepto por medio de la " t " de student para las hipótesis nulas $H_0: b = 1$ y $H_0: a = 0$, dando como resultado en ambos casos que no se rechazan las hipótesis nulas.

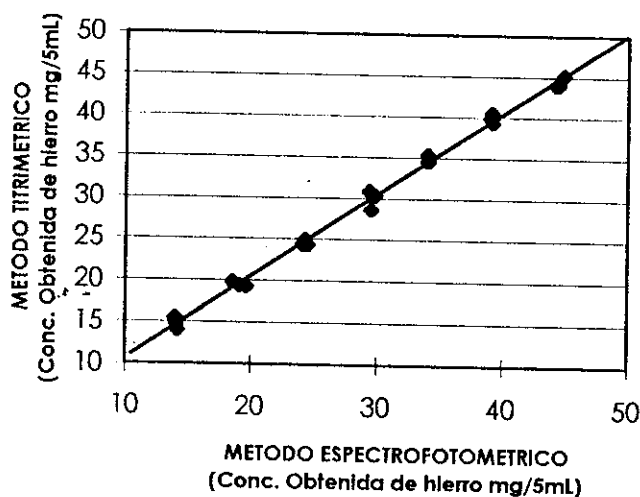


Fig. 2 Análisis de Correlación para la comparación de los métodos espectrofotométrico y titrimétrico.

Además se realizó la prueba de colinealidad (tabla 14 y 15, pag. 33) en donde se obtuvo una $t = 0.54$ para la pendiente y $t = - 41.75$ para el intercepto, rechazando la hipótesis nula $H_0: a = 0$ por ser el valor " t " mayor al " t " teórico ± 1.96 .

8.1 VALIDACION DE LOS METODOS ANALITICOS

8.1.1 LINEALIDAD Y SENSIBILIDAD

TABLA No. 1
METODO ESPECTROFOTOMETRICO

RANGO ESTABLECIDO DE HIERRO (%)	CONC. ORIGINAL (mg/5ml)	CONC. OBTENIDA (mg/5ml)
50.0	15.00002	14.1500
	15.00002	14.0530
	15.00002	13.9800
66.6	20.0004	19.6420
	20.0004	18.5570
	20.0004	19.1000
83.3	25.0007	24.1137
	25.0007	24.3135
	25.0007	24.5000
100.0	30.0004	29.5790
	30.0004	29.4114
	30.0004	29.8920
116.6	35.0271	34.0286
	35.0271	34.0610
	35.0271	34.1000
133.3	40.0028	39.2075
	40.0028	39.0400
	40.0028	39.1211
150.0	45.0124	44.2567
	45.0124	44.4241
	45.0124	44.8562

Ecuación de regresión lineal: $Y = -0.982197 + 1.007747 X$

Coefficiente de correlación: $r = 0.99956$

Varianza de la Pendiente: $S^2b = 0.02143$

TABLA No. 2
METODO TITRIMETRICO

RANGO ESTABLECIDO DE HIERRO (%)	CONC. ORIGINAL (mg/5ml)	CONC. OBTENIDA (mg/5ml)
50.0	15.01960	14.0045
	15.01960	14.7416
	15.01960	15.4787
66.6	20.00040	19.2327
	20.00040	19.7984
	20.00040	19.2327
83.3	25.00170	24.3238
	25.00170	24.3238
	25.00170	24.8894
100.0	30.00004	28.5980
	30.00004	30.2802
	30.00004	30.8410
116.6	35.00040	35.2803
	35.00040	34.4845
	35.00040	34.4845
133.3	40.00280	39.2913
	40.00280	39.8608
	40.00280	40.4302
150.0	45.01240	44.0012
	45.01240	44.0012
	45.01240	45.1294

Ecuación de regresión lineal: $Y = -0.361413 + 1.00029 X$

Coefficiente de correlación: $r = 0.998341$

Varianza de la pendiente: $S^2b = 0.008025$

TABLA No. 3
METODO ESPECTROFOTOMETRICO

No.DE MUESTRA	CONC. OBTENIDA (%)
1	98.96
2	98.04
3	97.50
4	98.90
5	99.67
6	100.67
7	100.54
8	99.80
9	99.70
10	102.03

No. de muestras: $n = 10$
 Media: $X = 99.55\%$
 Desviación estándar: $S = 1.355$
 Coeficiente de variación: $CV = 1.36\%$

PERFIL DE PRECISION

TABLA No. 4
- METODO ESPECTROFOTOMETRICO

RANGO ESTABLECIDO DE HIERRO (%)	CONC. ORIGINAL (mg/5mL)	CONC. OBTENIDA (mg/5mL)	*S	*CV (%)
50.0	15.00002	14.1500	0.853	0.61
		14.0530		
		13.9800		
66.6	20.00040	19.6420	0.540	2.84
		18.5570		
		19.1000		
83.3	25.00070	24.1137	0.190	0.80
		24.3135		
		24.5000		
100.0	30.00040	29.5790	0.250	0.83
		29.4114		
		29.8920		
116.6	35.02710	34.0286	0.040	0.12
		34.0610		
		34.1000		
133.3	40.00280	39.2075	0.085	0.22
		39.0400		
		39.1211		
150.0	45.01240	44.2567	0.310	0.69
		44.4241		
		44.8562		

*S = Desviación estándar

*CV = Coeficiente de variación

TABLA No. 5
METODO TITRIMETRICO

No. DE MUESTRA	CONC. REPORTADA (%)
1	100.93
2	95.33
3	100.93
4	102.80
5	102.80
6	100.93
7	95.33
8	100.93
9	102.80
10	102.80

No. de muestras: $n = 10$
 Media: $X = 100.56\%$
 Desviación estándar: $S = 2.88$
 Coeficiente de variación: $CV = 2.86\%$

PERFIL DE PRECISION

TABLA No. 6
METODO TITRIMETRICO

RANGO ESTABLECIDO DE HIERRO (%)	CONC. ORIGINAL (mg/5mL)	CONC. OBTENIDA (mg/5mL)	S *	C.V (%)
50.0	15.0196	14.0045 14.7416 15.4787	0.7371	5.00
66.6	20.0004	19.2327 19.7984 19.3227	0.3266	1.68
83.3	25.0017	24.3238 24.8894 24.3238	0.3265	1.33
100.0	30.0000	28.5980 30.8410 30.2802	1.1660	3.80
116.6	35.0004	35.2803 34.4845 34.4845	0.4594	1.32
133.3	40.0028	39.2913 39.8605 40.4302	0.5694	1.42
150.0	45.0124	44.0012 44.0012 45.1294	0.6514	1.46

* S = Desviación estándar

* CV = Coeficiente de variación

8.1.3 ESPECIFICIDAD

TABLA No. 7
METODO ESPECTROFOTOMETRICO

No. MUESTRA	INTERFERENCIA DE MATRIZ (mg/5ml)	CONC. OBTENIDA DE MUESTRA (mg/5ml)	DIFERENCIA
1	0.0473	14.1500	14.1027
2	0.0473	14.0530	14.0057
3	0.0473	13.9800	13.9327
4	0.0473	19.6420	19.5947
5	0.0473	18.5570	18.5097
6	0.0473	19.1000	19.0527
7	0.0473	24.1137	24.0664
8	0.0473	24.3135	24.2662
9	0.0473	24.5000	24.4527
10	0.0473	29.5790	29.5317
11	0.0473	29.4114	29.3641
12	0.0473	29.8920	29.8447
13	0.0473	34.0286	33.9813
14	0.0473	34.0610	34.0137
15	0.0473	34.1000	34.0527
16	0.0473	39.2075	39.1602
17	0.0473	39.0400	38.9927
18	0.0473	39.1211	39.0738
19	0.0473	44.2567	44.2094
20	0.0473	44.4241	44.3768
21	0.0473	44.8562	44.8089

TABLA No. 8
METODO TITRIMETRICO

No. MUESTRA	INTERFERENCIA DE MATRIZ (mg/5ml)	CONC. OBTENIDA DE MUESTRA (mg/5ml)	DIFERENCIA
1	0.2991	14.0045	13.7054
2	0.2991	14.7416	14.4425
3	0.2991	15.4787	15.1796
4	0.2991	19.2327	18.9336
5	0.2991	19.7984	19.4993
6	0.2991	19.3227	19.0236
7	0.2991	24.3238	24.0247
8	0.2991	24.8894	24.5903
9	0.2991	24.3238	24.0247
10	0.2991	28.5980	28.2989
11	0.2991	30.8410	30.5419
12	0.2991	30.2802	29.9811
13	0.2991	35.2803	34.9812
14	0.2991	34.4845	34.1854
15	0.2991	34.4845	34.1854
16	0.2991	39.2913	38.9922
17	0.2991	39.8605	39.5614
18	0.2991	40.4302	40.1311
19	0.2991	44.0012	43.7021
20	0.2991	44.0012	43.7021
21	0.2991	45.1294	44.8303

8.1.4 EXACTITUD

TABLA No. 9
METODO ESPECTROFOTOMETRICO

RANGO ESTABLECIDO DE HIERRO(%)	CONC.ORIGINAL (mg/5ml)	CONC.OBTENIDA (mg/5ml)	% DE RECUPERACION
50.0	15.00002	14.1500	94.33
		14.0530	93.70
		13.9800	93.20
66.6	20.00040	19.6420	98.21
		18.5570	92.80
		19.1000	95.50
83.3	25.00070	24.1137	96.45
		24.3135	97.25
		24.5000	98.99
100.0	30.00040	29.5790	98.60
		29.4114	98.04
		29.8920	99.70
116.6	35.02710	34.0286	97.15
		34.0610	97.24
		34.1000	97.35
133.3	40.00280	39.2075	98.92
		39.0400	97.60
		39.1211	97.80
150.0	45.01240	44.2567	98.33
		44.4241	98.70
		44.8562	99.70

Media: $X = 97.05\%$

Desviación Estándar: $S = 1.976$

Coefficiente de Variación: $CV = 2.04\%$

t (teórica) = ± 2.086

t (calculada) = $- 6.77$ ($H_0: m = 100$) * Se rechaza

($H_a: m \neq 100$) * No se rechaza

TABLA No. 10
METODO TITRIMETRICO

RANGO ESTABLECIDO DE HIERRO (%)	CONC. ORIGINAL (mg/5ml)	CONC. OBTENIDA (mg/5ml)	% DE RECUPERACION
50.0	15.0196	14.0045	93.24
		14.7416	98.15
		15.4787	103.06
66.6	20.0004	19.2327	96.20
		19.7984	99.00
		19.3227	96.61
83.3	25.0017	24.3238	97.30
		24.8894	99.60
		24.3238	97.30
100.0	30.00004	28.5980	95.33
		30.8410	102.80
		30.2802	101.00
116.6	35.0004	35.2803	100.85
		34.4845	98.53
		34.4845	98.53
133.3	40.0028	39.2913	98.22
		39.8605	99.64
		40.4302	101.10
150.0	45.0124	44.0012	97.75
		44.0012	97.75
		45.1294	100.26

Media $X = 98.70 \%$

Desviación Estándar: $S = 2.38$

Coefficiente de Variación: $CV = 2.42\%$

t (teórico) $= \pm 2.086$

t (calculada) $= 2.596$ ($H_0: m = 100\%$) *Se rechaza

($H_a: m \neq 100\%$) *No se rechaza

8.1.5 LIMITE DE DETECCION Y CUANTIFICACION

TABLA No. 11
METODO ESPECTROFOTOMETRICO

No DE MUESTRA	INTERFERENCIA MATRIZ EN CONC.(mg/5ml)
1	0.0486
2	0.0270
3	0.0378
4	0.0702
5	0.0648
6	0.0702
7	0.0270
8	0.0918
9	0.0180
10	0.0180

Media: $X = 0.0473$
 Desviación Estándar: $S = 0.0257$
 Límite de Detección: 0.1245 mg/5ml
 Límite de Cuantificación: 0.3048 mg/5ml

TABLA No. 12
METODO TITRIMETRICO

No. DE MUESTRA	INTERFERENCIA MATRIZ EN CONC.(mg/5ml)
1	0.2544
2	0.2654
3	0.2484
4	0.2484
5	0.4974
6	0.4974
7	0.2454
8	0.2454
9	0.2454
10	0.2454

Media: $X = 0.2919$
 Desviación de Estándar $S = 0.1042$
 Límite de Detección: 0.6045 mg/5ml
 Límite de Cuantificación: 1.3334 mg/5ml

INSTITUTO VENEZOLANO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
 Biblioteca Científica

8.2 COMPARACION DE LOS METODOS

8.2.1 ANALISIS DE CORRELACION DE LOS METODOS ANALITICOS

TABLA No. 13

RANGO ESTABLECIDO DE HIERRO EN %	CONC. OBTENIDA (mg/5ml) ESPECTROFOTOMETRICO X	CONC. OBTENIDA (mg/5ml) TITRIMETRICO Y
50.0	14.1500	14.0045
	14.0530	14.7416
	13.9800	15.4787
66.6	19.6420	19.2327
	18.5570	19.7984
	19.1000	19.3227
83.3	24.1137	24.3238
	24.3135	24.8894
	24.5000	24.3238
100.0	29.5790	28.5980
	29.4114	30.8410
	29.8920	30.2802
116.6	34.0286	35.2803
	34.0610	34.4845
	34.1000	34.4845
133.3	39.2075	39.2913
	39.0400	39.8605
	39.1211	40.4302
150.0	44.2567	44.0012
	44.4241	44.0012
	44.8562	45.1294

Ecuación de regresión lineal: $Y = 0.653140 + 0.991219 X$

Coefficiente de correlación: $r = 0.99799039$

Varianza de la pendiente = $S^2b = 0.0268$

8.2.3 PRUEBA DE COLINEALIDAD

TABLA No 14

METODO	INTERCEPTO	PENDIENTE	* SCtotal	*SCmodelo	* n
ESPECTROFOTOMETRICO	-0.982	1.008	2136.612	2134.746	21
TITRIMETRICO	-0.361	1	2107.671	2100.682	21

TABLA No 15

METODO	* SCxx	* SCyy	* SCxy	* g.l.
ESPECTROFOTOMETRICO	2100.995607	2136.612	2117.8036	19
TITRIMETRICO	2100.682	2107.671	2100.682	19
TOTAL	4201.677607	4244.283	4218.4856	38

t pendiente : 0.54 (Ho: $b_1 = b_2$) * No se rechaza

t intercepto: - 41.75 (Ho: $a_1 = a_2$) * Se rechaza

t teórico: ± 1.96

* SC = Suma de cuadrados

n = Número de muestras

g.l = grados de libertad

9. DISCUSION DE RESULTADOS

Los resultados demuestran que los métodos espectrofotométrico y titrimétrico presentan linealidad y sensibilidad en las distintas concentraciones de hierro del rango establecido (50% - 150%), ya que los valores obtenidos de r (coeficiente de correlación) son muy cercanos a 1, siendo estos igual a 0.9995 y 0.9983 respectivamente, así mismo se determinó la dispersión de estos valores alrededor de la línea de la ecuación de regresión por medio del análisis de varianza de la pendiente, en donde se obtuvo que el método espectrofotométrico presenta una varianza de 0.02143 y el método titrimétrico de 0.08025, estos resultados determinan que la varianza por ser pequeña, la dispersión de los puntos dentro del rango establecido es mínima, y por lo tanto su reproducibilidad interna es buena.

La precisión se evaluó por medio del coeficiente de variación (CV), obteniendo que ambos métodos son precisos, ya que no superaron el coeficiente de variación preestablecido en la investigación (3%), sin embargo se observó que el método espectrofotométrico es más preciso que el método titrimétrico, esto se debe a que en el último método se involucran procedimientos en el análisis que en cierto modo pueden afectar los resultados (mayor tiempo para el análisis de las muestras, la cantidad pequeña de mL que se gastan de titulante, etc); así mismo se evaluó el perfil de precisión en las distintas concentraciones de hierro del rango establecido (50 % - 150 %), donde se obtuvo que el método espectrofotométrico presenta precisión en todo el rango ya que ningún valor obtenido de coeficiente de variación

superó el preestablecido 3% (Fig. 1 pag. 21; tabla 4 pag. 25), mientras que el método titrimétrico superó el coeficiente de variación preestablecido (3%) en las concentraciones de 50% y 100% (Fig 1 pag. 21; tabla 6 pag. 26), al analizar las desviaciones se observó que el coeficiente de variación es mayor en la concentración de hierro al 50 % debido a que existe variación de los valores entre sí, mientras que en la concentración al 100% varían solamente 1 valor por lo que no es representativo, por tal razón, estas variaciones posiblemente se deben a los factores externos antes mencionados, los cuales afectaron la precisión del método en esas concentraciones, principalmente en la concentración menor de hierro (50 %).

En cuanto a la especificidad el método espectrofotométrico y titrimétrico presentaron interferencia de la matriz que afectó en 0.1% (tabla 7, pag. 27) y 0.9% (tabla 8, pag 28) respectivamente la exactitud de los mismos. La mayor interferencia la presentó el método titrimétrico, en donde la interferencia no se debe específicamente a la matriz sino a factores externos tales como los crisoles de porcelana que con el uso continuo se depositan residuos aparentemente despreciables de analito, pero al realizarse el análisis se van liberando, y por tal razón en el momento de analizar la matriz estos residuos de hierro afectaron los resultados, mientras que la interferencia que se presentó en el método espectrofotométrico no es significativa (gráfico 2, pag. 50).

La exactitud se expresó como porcentaje de hierro recuperado, a partir del promedio de los resultados en las diferentes concentraciones de hierro del rango

establecido (50%-150%) menos la interferencia de la matriz, donde se obtuvo que la exactitud del método espectrofotométrico es de 97% y la del método titrimétrico es de 98%, encontrándose que ambos métodos están dentro del límite inferior establecido (97% - 103%), para el método espectrofotométrico y (98 - 102%) para el método titrimétrico. El criterio de aceptación para el porcentaje de recuperación es mayor en los métodos espectrofotométricos que en los titrimétricos, debido a que los primeros son métodos de análisis mas complejos y por lo tanto, la probabilidad de error es menor, mientras que en los métodos titrimétricos existen factores intrínsecos como precisión y exactitud de analistas, subjetividad en el color en el punto final, etc. que pueden inducir a errores si no se aplican bien las técnicas de análisis, por lo tanto estos criterios de aceptación son más estrictos. Además es importante que por encontrarse los resultados de exactitud de ambos métodos en el límite inferior, es necesario que al realizar el análisis se tomé en cuenta factores que afectan en el procedimiento del análisis, que se entrene al analista sobre el mismo, el análisis se realice con la mayor precisión, obteniéndose de esta forma mayor exactitud en los resultados.

El límite de detección y cuantificación se calculó en base al promedio de la respuesta de la matriz mas 3 veces su desviación estándar y 10 veces su desviación estándar respectivamente, la suma de estos valores dan un estimado confiable de la cantidad de hierro mínima detectable y cuantificable, para el límite de detección el valor que se suma es menor ya que solo da un valor aproximado de la cantidad de hierro que se detecta por el método de análisis, mientras que el valor que se suma

es mayor en el límite de cuantificación debido a que se requiere de un rango mayor que sea confiable para determinar en que punto se cuantifica el analito y no otras interferencias. El límite de detección y cuantificación para el método espectrofotométrico es de 0.1245 mg/5mL (0.41%) y 0.3048mg/5mL (1.016%), para el método titrimétrico de 0.6045 (2.015%) y 1.333mg/5mL (4.44%) respectivamente. El método espectrofotométrico obtuvo valores de límites de detección y cuantificación por debajo del rango establecido (50-150%), en donde la cantidad mínima de hierro se detecta cuando la muestra esta a una concentración al 0.41% y la cantidad mínima se cuantifica cuando esta a una concentración de hierro al 1.016%, mientras que el método titrimétrico presentó límites de detección y cuantificación mayores que el método anterior, pero siempre por debajo del rango establecido (50 - 150%), encontrándose que la cantidad mínima de hierro se detecta cuando esta al 2.015 % y se cuantifica cuando esta al 4.44%. La diferencia entre los límites de detección y cuantificación entre los métodos se debe a la interferencia que presenta la matriz en el método titrimétrico se manifiesta con mayor intensidad como se mencionó anteriormente.

En lo que respecta a la comparación de los métodos se determinó por medio de análisis de correlación y prueba de colinealidad (tablas 13,14,15, pags. 32, 33) que no existe diferencia significativa entre ambos métodos (Fig. 2, pag. 21), indicando con ello que el método espectrofotométrico cumple con los requerimientos para ser utilizado como método alternativo en el análisis del hierro, quelado con aminoácidos en jarabe.

10. CONCLUSIONES

- 10.1 El método espectrofotométrico cumple con los requerimientos de linealidad, sensibilidad, precisión, exactitud, reproducibilidad, especificidad, límite de detección y límite de cuantificación, para su aplicación como método alternativo en el análisis del hierro quelado con aminoácidos en jarabes.
- 10.2 Los métodos espectrofotométrico y titrimétrico no presentan diferencia significativa, lo que indica que ambos métodos son comparables y sustituibles para la cuantificación de hierro en jarabe.
- 10.3 El método espectrofotométrico, disminuye en un 83% el costo de reactivos y en un 95% en tiempo de análisis del hierro quelado con aminoácidos, al compararlo con el método titrimétrico.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1 Al aplicar el método espectrofotométrico, es necesario dejar aproximadamente 10 minutos las muestras en ácido nítrico, para lograr que el hierro se libere, así mismo el tiocianato de potasio se debe agregar hasta al momento que se realizarán las lecturas en el espectrofotómetro, logrando de esta forma obtener mayor exactitud y precisión en los resultados.
- 11.2 Realizar un estudio de cinética química para determinar la velocidad de reacción del complejo hierro-tiocianato de potasio en la técnica espectrofotométrica, con el fin de conocer la estabilidad de la misma, principalmente cuando el método se aplique para análisis de muestras en serie en donde se requiere mayor tiempo para el análisis.
- 11.3 Los crisoles que se utilizan en el método titrimétrico, deben ser de un material inerte, para evitar que afecten la exactitud y precisión de los resultados. Así mismo es importante llevar a cabo un estudio de validación respecto al tiempo de uso de los mismos, para evitar que afecten los resultados al aplicar dicho método.

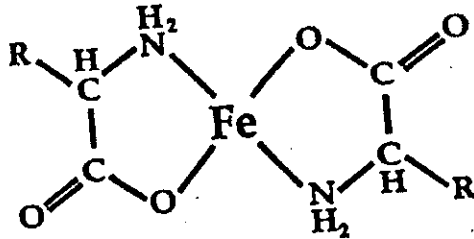
12. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 12.1. Remington. **Farmacía**. 17ava edición. Argentina: Editorial Médica Panamericana. 1987. (1149 - 1152pp).
- 12.2. **The United States Pharmacopeia 23nd**. USA: Mack Printing. 1995. (1710-1712pp).
- 12.3. **British Pharmacopeia BP**. vol 2. London: Typeselling by the British Pharmacopeia commission. 1993. (540-542pp).
- 12.4. Helmh K. **Official Methods of analysis**. XV de. USA: Association of official analytical chemistry. vol 1. 1990. (220-222pp).
- 12.5. Sethi PD. **Quantitative Analysis of Drugs in Pharmaceutical Formulation** 2nd edition Shadhara, India: CBS Publishers & Distributors. 1993. (33 - 37pp).
- 12.6. Ayres G. **Análisis Químico Cuantitativo**. México: Editorial Harla. 1980. (350 - 360pp, 380 - 385pp).
- 12.7. Peters D ; Fischer R. **Compendio de Análisis Químico Cuantitativo**. México: Editorial Interamericana. 1981. (322 - 325, 328 - 431, 342 - 351pp).
- 12.8. **Guía de Validación en HPLC**. Guatemala: Manual de Trabajo, Perkin Elmer-Anaquí. 1993. (1 - 6pp).
- 12.9. Mazariegos DL. **Manual de Procedimientos para la Validación, Caracterización y Evaluación de Métodos Analíticos de Química y**

- Bioquímica.** Guatemala: Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá - INCAP- (3 - 10pp).
- 12.10. **Validación de Métodos Analíticos y Comparación de dos Métodos.** Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas -IIQB-.
- 12.11. Valdés, E. **Validación de Métodos Analíticos .** II Congreso Nacional del Colegio de Farmacéuticos y Químicos de Guatemala. Abril 1996.
- 12.12. Solomons, G. **Fundamentos de Química Orgánica.** México: Editorial. Limusa. 1990. (664, 824, 825 pps.)
- 12.13. Mendenhall W. **Introducción a la Probabilidad y a la Estadística.** México: Grupo Editorial Iberoamericana S.A. de C.V. 1982.

13. ANEXOS

ANEXO 1
HIERRO AMINOQUELADO
 (MATERIA PRIMA)



“ Hierro aminoquelado contiene no menos de 18% de hierro elemental “

1. ALMACENAMIENTO Y EMPAQUE

Mantener en recipientes protegidos de la luz y la humedad.

2. DESCRIPCIÓN

Física:

Polvo fino color entre café y verde.

Química:

La estructura química esta constituida por el ion metal central hierro +2 el cual se encuentra unido por medio de enlaces covalentes coordinados al aminoácido glicina. El aminoácido glicina es un ligando polidentado el cual actúa como un agente quelante, ya que proporciona dos pares de electrones al hierro +2.

3. SOLUBILIDAD

Libremente soluble en agua, no se debe usar con solventes orgánicos (acetona, alcohol, benceno, etc.), no mezclar con soluciones alcalinas de pH mayor o igual a 10.

4. pH

Entre 6 y 7 de una solución de 1g en agua destilada.

5. PERDIDA POR IGNICIÓN

De 72 - 75% al mantenerlo 8 horas a 650°C.

6. HUMEDAD

Secada a 105°C hasta peso constante, entre 3 y 8%

7. DENSIDAD

0.420 - 0.440 g/mL.

8. ENSAYO

Preparación de la muestra: Pesar alrededor de 400mg de muestra y colocarlo en un crisol, luego dejarlo en la mufla a 550 °C por 12 horas. Dejar enfriar.

Preparación del patrón : Pesar cerca de 370 mg de sulfato de hierro heptahidratado en un crisol, luego colocarlo a la mufla a 550°C por 12 horas. Dejar enfriar.

Procedimiento: Calentar suavemente los crisoles con 3mL de ácido clorhídrico concentrado hasta que la solución se aclare, luego trasvasar cuidadosamente a un erlenmeyer de tapón esmerilado de 250mL con ayuda de una varilla, lavar

el crisol y la varilla con no más de 20-25mL de agua (si es necesario se puede agregar otros 3 mL adicionales de ácido clorhídrico concentrado). Agregar 4g de yoduro de potasio e insertar el tapón y dejar reposar el erlenmeyer en la oscuridad por 5 minutos. Luego agregar 75ml de agua y titular con tiosulfato de sodio 0.1 VS, añadiendo 3 mL de almidón TS.

Cálculos:

$$\%Fe: P_p \times \%P \times \frac{V_m}{V_p} \times \frac{P_{m Fe}}{P_{m P}} \times 100\%$$

en donde:

P_p = Peso del patrón en mg.

V_m = Volumen de titulante gastado por la muestra en mL.

$\%P$ = Pureza del patrón en mg.

V_p = Volumen de titulante gastado por el patrón en mL.

$P_{m Fe}$ = Peso molecular hierro (55.845g/mol).

$P_{m P}$ = Peso molecular de sulfato ferroso heptahidratado (278.02g/mol)

ANEXO 2

FORMULA CUALITATIVA DEL LOTE PILOTO DE JARABE DE HIERRO AMINOQUELADO

Hierro Aminoquelado

Acido Fólico

Azúcar

Benzoato de Sodio

Glicerina

Polietilenglicol

Fosfato Monobásico de Sodio

Fosfato Dibásico de Sodio

Sabor Menta

Alcohol etílico desnaturalizado

Agua destilada

ANEXO 3

3.1 Datos obtenidos al determinar el costo de reactivos por análisis:

<u>Método Espectrofotométrico (PROPUESTO)</u>		<u>Método Titrimétrico</u>	
Sulfato ferroso heptahidratado		Sulfato ferroso heptahidratado	
49.78mg..... Q. 0.02		150mg.....Q. 0.04	
Acido nítrico 2M, 5mL (preparado a partir de 53.4mL de ácido en 250 mL de agua)..... Q.0.03		Acido clorhídrico conc. 6ml...Q. 0.16	
Tiocianato de potasio 1M, 10mL (preparado a partir de 24.3g en 250mL de agua).....Q.1.13		Yoduro de potasio 4g.....Q. 6.21	
		Tiosulfato de sodio 0.1N, aprox. 6mLQ.0.47	
		Almidón 3 mL (preparado a partir de 1g en 100mL de agua).....Q.0.02	
TOTAL	Q. 1.18	TOTAL	Q. 6.90

Reducción total: 83 %

3.2 Datos obtenidos al determinar el tiempo requerido por análisis:

<u>Método Espectrofotométrico (PROPUESTO)</u>	<u>Método Titrimétrico</u>
Promedio de tiempo por análisis de una muestra:	
45 minutos	885 minutos

Reducción total: 95%

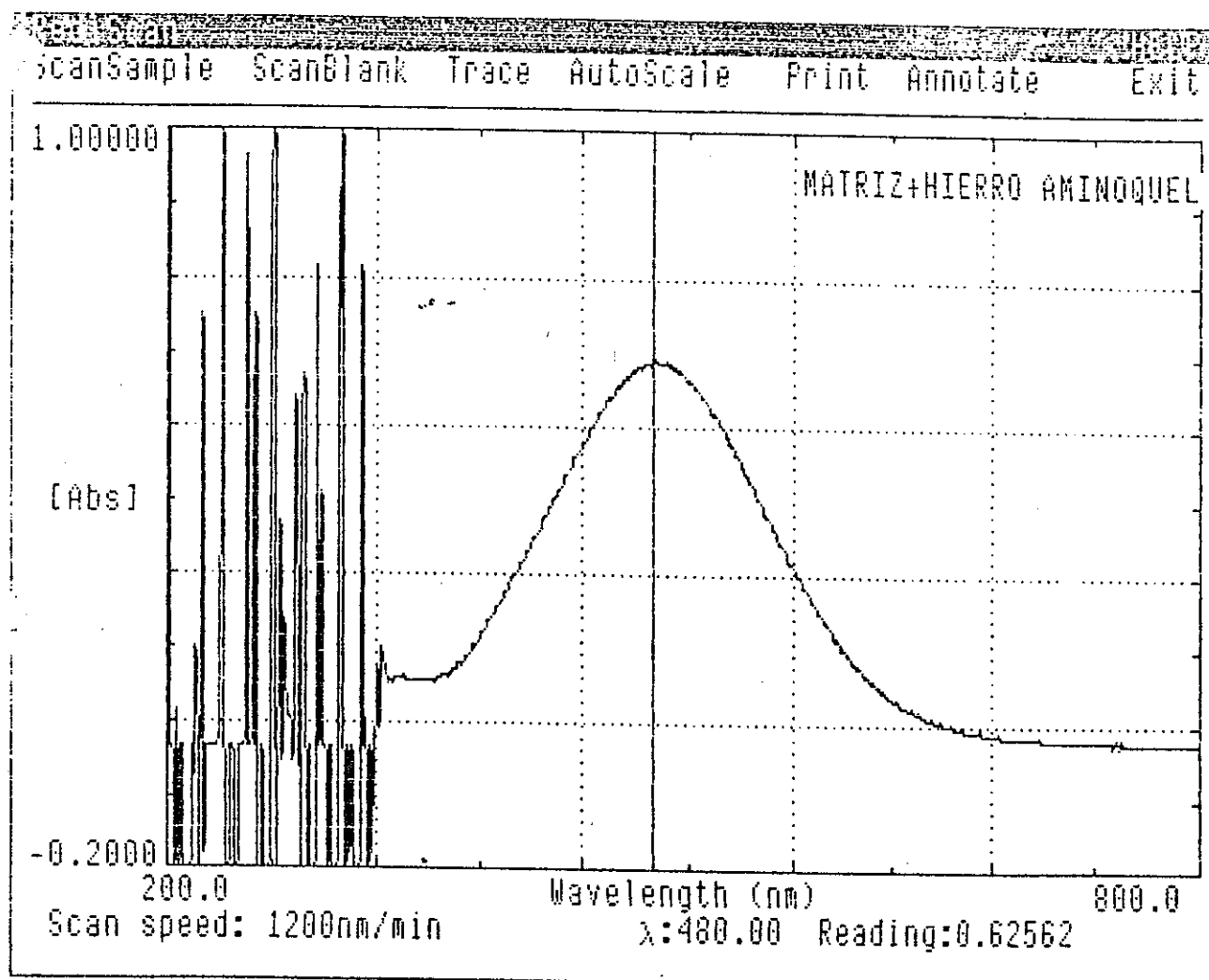
ANEXO 4

GRAFICO No.1

ESPECTRO DE ABSORCION EN VIS DEL HIERRO AMINOQUELADO EN JARABE

Laboratorio Unipharm S.A.
Departamento de Quimicos

Date: 05/29/96
Time: 03:28



Longitud de onda del máximo pico de absorción del hierro disuelto en jarabe: 480 nm.

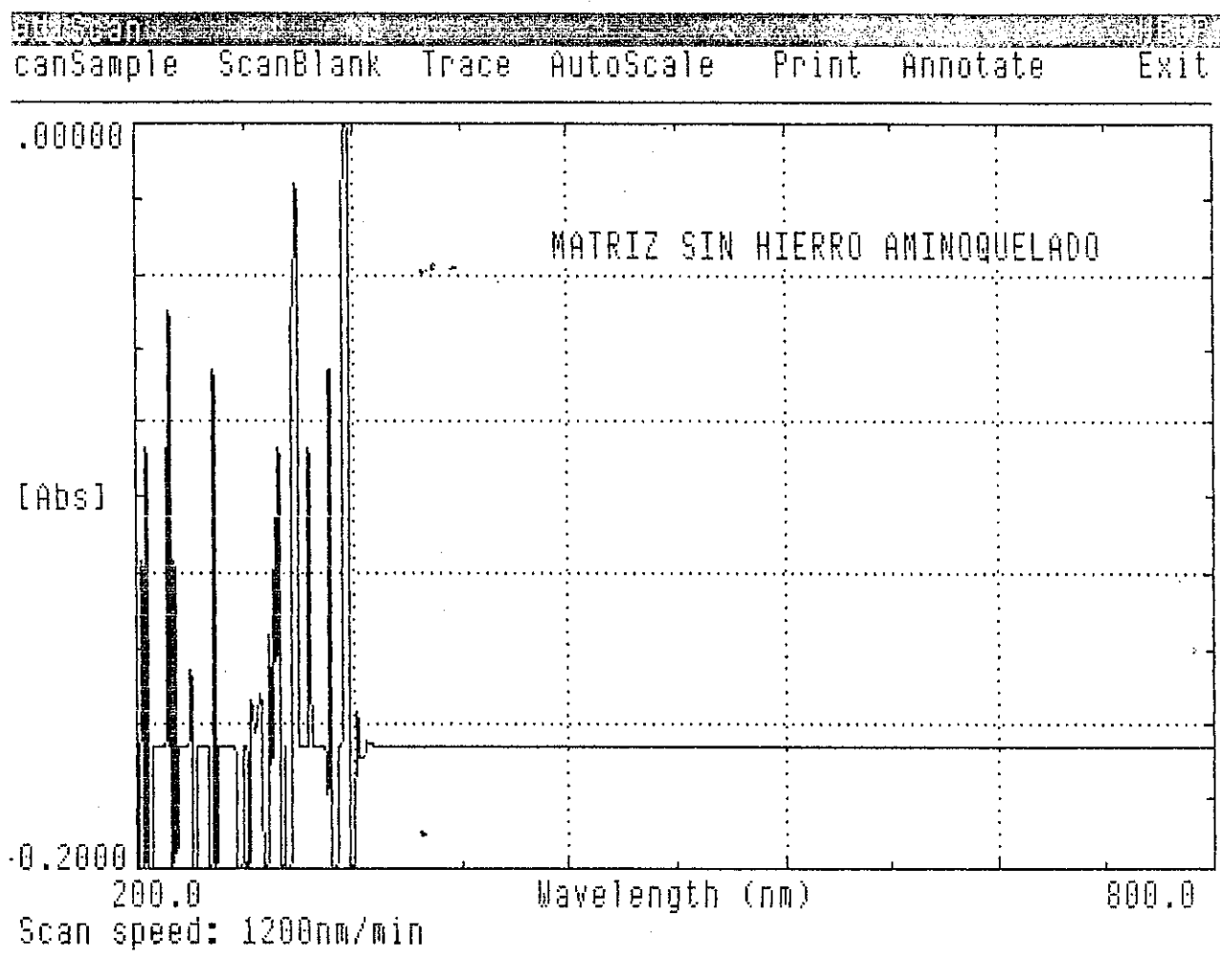
Solvente: Agua Destilada + Acido nítrico 2M + Tiocianato de potasio 1M

GRAFICO No. 2

ESPECTRO DE ABSORCION EN VIS DE LA MATRIZ DEL JARABE

Laboratorio Unipharm S.A.
Departamento de Quimicos

Date: 05/29/96
Time: 03:34



La matriz (componentes de la formulación sin hierro aminoquelado) no presentó absorción significativa en el rango visible de 300 a 800 nm..

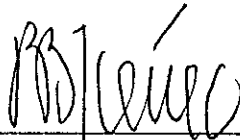
Solvente: Agua Destilada + Acido nítrico 2M + Tiocianato de potasio 1M



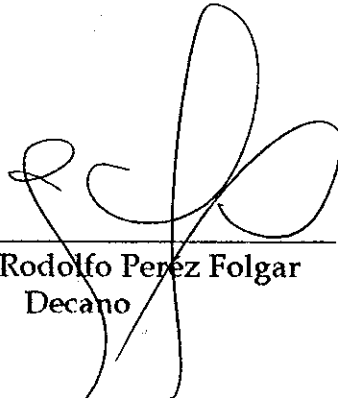
Myra Patricia Pensamiento Barrientos
Autora



Licda. Aracely de León Amézquita
Asesora



Licda. Beatriz Batres de Jiménez
Directora



Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Decano

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central