

Determinación de plomo en preparados farmacéuticos de origen natural por voltamperometría de onda cuadrada de redisolución anódica

SABINO MENOLASINA, MARIA LOBATON, CARMEN LOZANO, EUMELY MOLINA
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS,
DEPARTAMENTO DE ANÁLISIS Y CONTROL, LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL
E-MAIL: SABINO@ULA.VE

Recibido septiembre 2005 - Aceptado junio 2006

RESUMEN

En el presente trabajo se analizó un suplemento rico en calcio de origen natural proveniente de una marca comercial que tiene una gran demanda en farmacias del Estado Mérida (Venezuela), con la finalidad de comprobar la presencia de plomo y estimar su concentración. El método de adición estándar fue utilizado para determinar la concentración de plomo presente en un suplemento rico en calcio de origen natural. Se utilizó como sensor electroquímico un electrodo de disco de carbón vítreo modificado electroquímicamente con una película de mercurio electrodepositada a -1V vs. Ag/AgCl simultáneamente con el plomo presente en la muestra de análisis. La técnica de Voltamperometría de Onda Cuadrada de Redisolución anódica (VOCRA) permitió la cuantificación del plomo presente en la muestra. La cantidad de plomo expresada en microgramos presente por gramo del suplemento rico en calcio fue de $2,76 \mu\text{g g}^{-1} \pm 0,04$. Se obtuvieron porcentajes de recuperación entre el 94 y 104 %. El límite de detección (LD) se determinó a partir de la relación: $LD = \frac{3 \times S.D.}{B}$, donde $S.D.$ es la desviación estándar y B es la pendiente de la curva obtenida por el método de adición estándar. El límite de detección fue de $0,4 \mu\text{g g}^{-1}$.

PALABRAS CLAVES

Detección electroquímica de plomo, Voltamperometría de onda cuadrada.

ABSTRACT

In the present paper, a calcium rich commercial supplement which is of natural origin and is sold widely in the pharmacies of Mérida (Venezuela), was analyzed in order to determine the presence of lead and its concentration. The standard addition method was

used in the determination of lead in the calcium rich supplement of natural origin. A glass carbon disc was modified by electrochemical deposition of mercury to -1V vs. Ag/AgCl together with the sample for analysis, was used as electrochemical sensor. The Anodic Stripping of Square Wave Voltamperometry technique (ASSWV) allowed the determination of lead concentration which was $2.76 \mu\text{g g}^{-1} \pm 0.04$ in the calcium rich supplement. Recovery was between 94 and 104%. The detection limit was determined by using the follow equation: $LD = \frac{3 \times S.D.}{B}$, where $S.D.$ is the standard deviation and B is the slope of the curve obtained by the standard addition method. The detection limit was $0.4 \mu\text{g g}^{-1}$.

INTRODUCCIÓN

El número de consumidores de suplementos ricos en calcio, en particular de origen natural a base de conchas de ostras se ha incrementado en los últimos años y el desconocimiento del daño que pueden causar estos preparados por el contenido de plomo presente en ellos es aún mayor (Scelfo et al., 2000; Gulson et al., 2001). En nuestro país, la mayoría de estos suplementos dietéticos no son sometidos a análisis exhaustivo de control de calidad y son pocas las investigaciones que se han realizado con la finalidad de conocer el nivel de contaminación de estos suplementos dietéticos con plomo y poder alertar a la población sobre las consecuencias de su consumo indiscriminado que podrían constituir riesgos de salud pública. Desde hace varios años, diversos estudios toxicológicos han sido realizados a productos nutricionales a base de calcio. Estos estudios han demostrado que los suplementos de carbonato de calcio suministrados a mujeres en su etapa de embarazo y de lactancia así como en mujeres postmenopáusicas con alto riesgo de sufrir osteoporosis, contienen ciertas cantidades de plomo que podrían afectar

especialmente a los infantes (Bourgoing et al., 1993; Ross et al., 2000). De acuerdo a Barltrop, 1975, terapéuticamente se suple el calcio en las mujeres con concentraciones farmacológicas tanto en la etapa del embarazo como en la lactancia para evitar la descalcificación ósea. Sin embargo, si estos productos farmacéuticos contienen cantidades apreciables de plomo, esta sustancia puede distribuirse en otros tejidos produciendo alteraciones que conllevan a anemias, estreñimiento y parálisis en ciertas partes del cuerpo (Barltrop, 1975). Estudios realizados por Ross et al., 2000, mostraron que en ciertos suplementos a base de carbonato de calcio analizados existían niveles apreciables de plomo que variaban entre 1,3 μg y 2,3 μg por gramo de calcio. De acuerdo a organismos internacionales como el que se encarga de la administración de alimentos y drogas en Estados Unidos (FDA), el límite máximo permitido de plomo en un suplemento rico en calcio debe ser de 7,5 μg por gramo de calcio (Ross et al., 2000).

La Voltamperometría de Onda Cuadrada (VOC) es una técnica electroquímica que permite determinar elementos trazas en fluidos biológicos y muestras ambientales por su alta sensibilidad y rapidez de análisis con respecto a otras técnicas voltamperométricas (Menolasina, 2004). En el presente trabajo se empleará la técnica VOC para la cuantificación de plomo presente suplementos ricos en calcio de origen natural.

MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los reactivos utilizados fueron de grado analítico (alta pureza) provenientes de la Merck. Una solución stock de iones metálicos de Pb^{2+} fue preparada a partir de su sal de nitrato, la cual fue secada a 100 °C por dos horas y enfriada antes de su utilización en la preparación de la misma. Esta solución fue preparada y estabilizada con pequeñas cantidades de HNO_3 en agua desionizada de 18M Ω .cm. Soluciones de más baja concentración de Pb^{2+} fueron preparadas por dilución de la solución stock con agua desionizada de 18M Ω .cm.

Las muestras que se analizaron fueron obtenidas de un suplemento rico en calcio de origen natural a base de conchas de ostras. Se analizaron tres muestras, las cuales fueron preparadas siguiendo el siguiente tratamiento: un gramo del suplemento rico en calcio previamente triturado fue tratado por digestión húmeda con HNO_3 concentrado, usando como fuente de calentamiento un horno de microondas previamente modificado para la extracción de los vapores de los gases que se originaba durante el calentamiento. A la muestra pretratada se le adicionó 1 mL de HNO_3

concentrado y agua desionizada, se filtró y se diluyó hasta 50 mL. Alícuotas de 10 mL de la solución diluida fueron usadas dentro de la celda electroquímica previamente limpia para su análisis electroquímico. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Se utilizó una celda electroquímica de un sólo compartimiento y tres bocas, con tres electrodos, un electrodo de disco de carbón vítreo (electrodo de trabajo), un electrodo de platino (electrodo secundario) y un electrodo de Ag/AgCl como electrodo de referencia. Para las mediciones electroquímicas se utilizó un analizador electroquímico Ecochemie, marca AUTOLAB acoplado a un computador Pentium. Todo el material de vidrio utilizado fue lavado inicialmente con detergente y abundante agua desionizada. Posteriormente el material fue remojado en ácido nítrico concentrado durante 48 horas con la finalidad de remover impurezas metálicas presentes en el material de vidrio. La electrodeposición de la película de mercurio sobre la superficie de carbón vítreo se realizó una vez pulida dicha superficie con alumina 3,0 y 0,5 micrómetro de diámetro de la LECO y utilizando agua desionizada como lubricante, aplicando un potencial de -1V durante 300 s. Bajo estas condiciones experimentales se obtiene una película de mercurio homogénea, estable y reproducible.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La funcionabilidad del electrodo de disco de carbón vítreo de construcción propia fue chequeada por Voltamperometría Cíclica (VC), **figura 1A**. La forma del voltamperograma **A** obtenido al variar el potencial tanto en la dirección catódica como en la dirección anódica es característico de la respuesta electroquímica que se debe observar al utilizar un electrodo de disco de carbón vítreo que está bien construido y presenta buena conductividad eléctrica. En el voltamperograma **B** de esta **figura 1A**, se muestra además el comportamiento electroquímico del sensor modificado con una película de mercurio una vez conseguida las condiciones experimentales de potencial de deposición: -1 V, tiempo de deposición: 300 s, amplitud del pulso: 0,075 V y frecuencia: 25 Hz, en las cuales se observa una buena reproducibilidad de la señal de la corriente de oxidación de pico del metal que se analiza cuando se realizan experimentos repetitivos.

La **figura 1B** muestra los voltamperogramas obtenidos por VOCRA de soluciones patrones de Pb^{2+} a diferentes concentraciones. En esta figura se puede observar que existe una relación proporcional entre la corriente de pico de cada voltamperograma con la concentración de iones Pb^{2+} presente en la muestra. La **figura 1C** muestra la familia de voltamperogramas

por VOCRA obtenidos al aplicar el método de adición estándar a una de las muestra previamente tratada (muestra 1). En dicha figura se muestra también que existe una relación proporcional entre la corriente de pico y la concentración de iones Pb^{2+} .

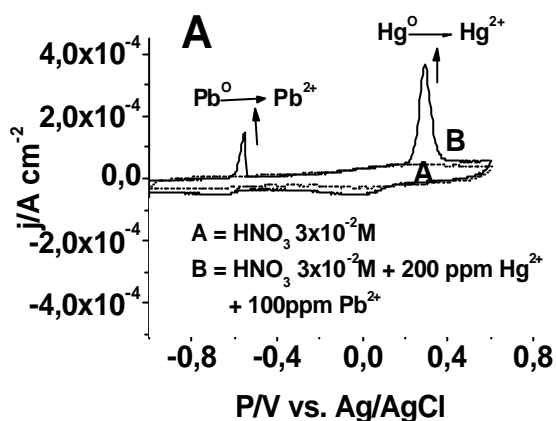


Figura 1A) Respuesta electroquímica del electrodo de carbón vítreo sin modificar (A) y modificado electroquímicamente con una película de mercurio (B) por VC a 200 mV s^{-1}

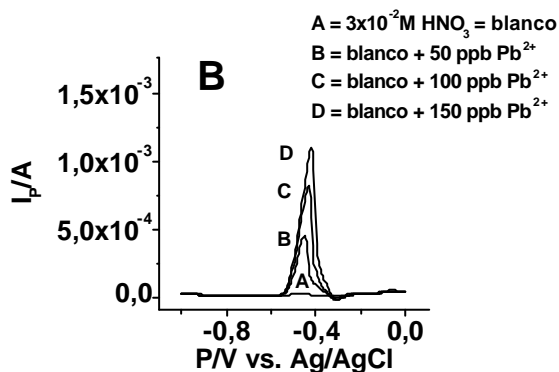


Figura 1B) Respuesta electroquímica de la oxidación de Pb en muestras patrones por VOCRA.

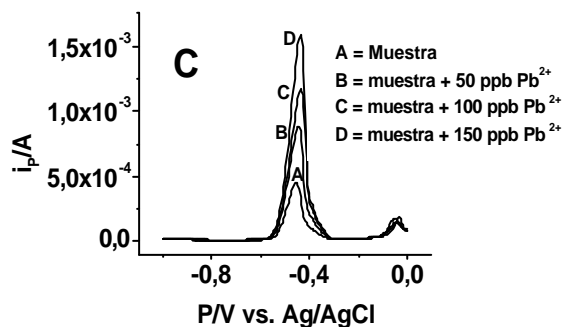


Figura 1C) Respuesta electroquímica de la oxidación de Pb por adición estándar de Pb a una muestra pretratada de un suplemento de calcio a base de conchas de ostras

La figura 2 muestra el comportamiento lineal de las corrientes de pico de oxidación de Pb^0 a Pb^{2+} con la concentración de plomo a partir de los datos en las figuras 1b y 1c. Se observa que el comportamiento de la corriente del pico de oxidación tanto de los patrones como el de la muestra más patrones, en función de la concentración de Pb^{2+} , guarda una relación lineal y ambas rectas presentan casi la misma pendiente, lo cual es atribuido a que no existe efectos por la matriz de la muestra.

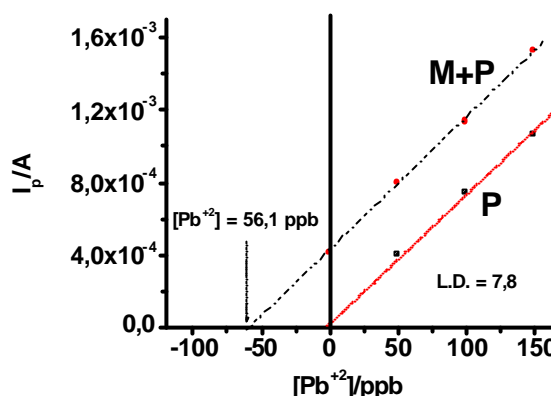


Figura 2 Comportamiento lineal de I_p en función de la concentración de plomo por el método de adición estándar (Muestra 1).

Para comprobar la exactitud del método se procedió a realizar estudios de recuperación en la muestras del suplemento rico en calcio de origen natural a base de conchas de ostras que fueron pretratadas de acuerdo al procedimiento descrito en materiales y métodos. Para ello se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% R = \frac{I_{total} - I_{muestra}}{I_{patrón}} \cdot 100$$

Donde: I_{total} es la intensidad de corriente del pico oxidación del Pb que está en la muestra problema más el adicionado (patrón); $I_{muestra}$ es la intensidad de corriente del pico oxidación del Pb que está en la muestra problema; $I_{patrón}$ es la intensidad de corriente del pico oxidación del Pb que está en la muestra patrón. Los resultados en la tabla 1, muestran los estudios de recuperación que se realizaron sobre las muestras pretratadas del suplemento rico en calcio. Un porcentaje de recuperación entre 94 y 104 % fue obtenido en dicha investigación.

Los valores de las intensidades de corriente expresadas en la tabla 1, son valores corregidos con respecto a la corriente de fondo en el potencial de oxidación del metal, que se obtiene en la solución utilizada como solución blanco.

La cantidad de plomo expresada en microgramos presente por gramo del suplemento rico en calcio fue de $2,76 \mu\text{g g}^{-1} \pm 0,04$. El límite de detección (LD) se determinó a partir de la relación: $LD = \frac{3 \times S.D}{B}$, donde $S.D$ es la desviación estándar y B es la pendiente de la curva obtenida por el método de adición estándar. El límite de detección fue de $0,4 \mu\text{g g}^{-1}$.

TABLA 1

Porcentaje de recuperación en la determinación de Pb en un suplemento rico en calcio de origen natural a base de conchas de ostras.

Muestras	Conc. de Pb adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	I_{total}	$I_{patrón}$	$I_{muestra}$	% R
1	0	$4,17 \times 10^{-4}$	0	$4,17 \times 10^{-4}$	---
	50	$8,00 \times 10^{-4}$	$4,04 \times 10^{-4}$		94
	100	$11,34 \times 10^{-4}$	$7,42 \times 10^{-4}$		97
	150	$15,30 \times 10^{-4}$	$10,65 \times 10^{-4}$		104
2	0	$4,30 \times 10^{-4}$	0	$4,30 \times 10^{-4}$	---
	50	$8,15 \times 10^{-4}$	$4,10 \times 10^{-4}$		94
	100	$11,48 \times 10^{-4}$	$7,51 \times 10^{-4}$		96
	150	$15,44 \times 10^{-4}$	$10,70 \times 10^{-4}$		104
3	0	$4,25 \times 10^{-4}$	0	$4,25 \times 10^{-4}$	---
	50	$7,91 \times 10^{-4}$	$3,90 \times 10^{-4}$		94
	100	$11,19 \times 10^{-4}$	$7,32 \times 10^{-4}$		95
	150	$15,26 \times 10^{-4}$	$10,77 \times 10^{-4}$		102

CONCLUSIONES

La técnica de VC permitió caracterizar la funcionabilidad del electrodo de carbón vítreo construido y su comportamiento una vez modificado con la película de mercurio.

La técnica de VOCRA permitió la detección y cuantificación de la concentración de Pb en el orden de μg por gramo de muestra con gran exactitud. El porcentaje de recuperación de las cantidades adicionadas de Pb a varias muestras estuvo entre 94 y 104 %, lo que significa que el método electroquímico empleado es aceptable. Sin embargo, se deben realizar otros experimentos en los cuales las cantidades adicionadas de Pb se incrementen con la finalidad de mejorar la precisión en la determinación de la cantidad estimada desde el punto de vista estadístico.

A través de la técnica de VOCRA se obtuvo un límite de detección de $0,4 \mu\text{g g}^{-1}$ en el análisis del contenido de plomo presente en suplementos ricos en calcio de origen natural lo que permite apreciar el alto

grado de sensibilidad de dicha técnica electroquímica.

Para la valoración del método y su estandarización se deben ampliar los estudios de otras características analíticas, tales como rango de trabajo, límite de cuantificación, precisión y robustez.

La concentración de plomo en el suplemento rico en calcio preparado a base de conchas de ostras fue de $2,76 \mu\text{g g}^{-1} \pm 0,04$. Esta concentración muestra que existen niveles apreciables de plomo en estos preparados farmacéuticos. A pesar de que dicha concentración está por debajo de la concentración máxima permitida por organismos internacionales, la cuantificación de plomo a través de la técnica de VOCRA en otros lotes de este medicamento debe realizarse con la finalidad de asegurarse que los niveles de concentración estén por debajo de los permitidos y así asegurar la inocuidad de la concentración del plomo contenido en estos suplementos.

AGRADECIMIENTO

A los Dres. Edgar Nieto y Rafael Salinas por su orientación profesional y científica en la realización del presente trabajo

A los miembros del Laboratorio de Análisis Instrumental y en particular a la licenciada Gladis Hernández por su valiosa colaboración en el suministro y mantenimiento de materiales de laboratorio durante la realización del presente trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bartrop D. 1975. **The Influence of Nutritional on Lead Absorption**. Postgraduate Medical Journal. Vol. 51: 795-800.
- Bourgoing, BP., Evans, DR., Cornett, JR., Lingard, SM., Quattrone AJ. 1993. **Lead content in 70 brands in of dietary Calcium Supplements**. Am. J. Public. Health. Vol. 83(8): 1155-1160.
- Gulson, BL., Mizon, KJ., Palmer, JM., Korsch, MJ., Taylor, AJ. 2001. **Contribution of lead from Calcium Supplements to blood lead**. Vol. 109(3): 283-288.
- Menolasina Sabino. 2004. **Fundamentos y Aplicaciones de Electroquímica**. Mérida-Venezuela. Consejo de Publicaciones de la Universidad de Los Andes, Mérida. Venezuela, P.113-156.
- Ross, EA., Szabo, NJ., Tebbett, IR. 2000. **Lead Content of Calcium Supplements**. Jama. Vol. 284 (11):1425-1429.
- Scelfo, GM., Flegal, AR. 2000. **Lead in Calcium Supplements**. Environ Healthperspect. Vol. 108(4):309-319.