

# Indagación físico-química para la implementación de un método fotométrico de llama para determinar calcio en soluciones parenterales

*Physical-chemical indication for the implementation of a photometric flame method for determining calcium in parenteral solutions*

Esteban Pérez López<sup>1</sup>  
Johanna Carranza Rodríguez<sup>2</sup>

Recibido: 19-2-2017 Aprobado: 18-10-2017

## Resumen

El trabajo investigativo consistió en la indagación analítica de una propuesta fotométrica para la determinación de calcio en cinco distintas soluciones parenterales, en un laboratorio (A) del ámbito de la salud en Costa Rica. Primero, se determinó la concentración de calcio presente en las cinco soluciones parenterales mediante un método volumétrico con EDTA en el Laboratorio A, cuyos resultados se tomaron como referencia ya que el método se validó por un ente acreditado para tal fin. Seguidamente, se realizaron pruebas con el método fotométrico recomendado por el proveedor del fotómetro en el mismo Laboratorio A y en estas, se presentaron problemas de precisión y exactitud; razón por la cual, se acudió a la realización de las pruebas en un Laboratorio B con un instrumento idéntico, en el cual no ocurrieron problemas de precisión. Los resultados de ambos laboratorios se compararon estadísticamente con una prueba de t-Student y se afirmó que existe suficiente evidencia estadística para decir que la diferencia entre los resultados de ambos laboratorios es significativa. Aun así, se mantuvieron interferencias irremediables fotométricamente, en las matrices de estudio. Se determinó que el sodio ocasiona una interferencia generadora de mayor intensidad en la emisión, que produce un error positivo en la concentración de calcio esperada. Por último, se confirmó la idoneidad del método para cuantificar calcio por fotometría de llama en otra matriz libre de sodio, y se obtuvieron resultados satisfactorios para el contenido de calcio.

**Palabras clave:** métodos espectrofotométricos, calcio, fotometría de llama, interferencia.

## Abstract

The investigative work consisted in the analytical investigation of a photometric proposal for the determination of calcium in five different parenteral solutions, in a laboratory (A) in the field of health in Costa Rica. First, the concentration of calcium present in the five parenteral solutions was determined by a volumetric method with EDTA in Laboratory A, the results of which were taken as reference since the method was validated by a body accredited for this purpose. Subsequently, the photometric method recommended by the photometer supplier was tested in the same Laboratory A, presenting problems of precision and accuracy; So we went to the tests in a laboratory B with an identical instrument, which did not give precision problems. The results from both laboratories were statistically compared with a t-Student test and it was stated that there is enough statistical evidence to say that the difference between the results of both laboratories is significant. However, irreversible interferences were maintained photometrically in the study matrices, determining that sodium causes an interference that generates greater intensity in the emission, producing a positive error in the expected calcium concentration. Finally, the suitability of the methodology to quantify calcium by flame photometry in another free sodium matrix was confirmed, obtaining satisfactory results for the calcium content.

**Keywords:** spectrophotometric methods, calcium, flame photometry, interference.

<sup>1</sup> Máster en Sistemas Modernos de Manufactura y Bachiller en Laboratorista Químico. Profesor UCR-Recinto Grecia. Correo electrónico: esteban.perezlopez@ucr.ac.cr

<sup>2</sup> Egresada de Bachillerato en Laboratorista Químico, Universidad de Costa Rica. Correo electrónico: joha\_mcr283@hotmail.com

## I. Introducción

La determinación de calcio en diferentes productos es de gran importancia. Actualmente se han hecho estudios de determinación de calcio en distintos productos del sector salud. En cuanto a la técnica analítica para las determinaciones, la espectrometría atómica ha sido la más utilizada para metales como el Ca, Cu y Na en múltiples matrices, ya sea por espectrometría atómica de absorción (de llama, FAAS) o de emisión (fotometría). (González, Prieto y Pistón, 2013).

Wiley (1996) de la Universidad de Santiago de Compostela, habla sobre la fotometría de llama y solubilidad de un precipitado, explica, además, que en análisis cuantitativo la precipitación del calcio como oxalato se supone generalmente completa, cuando se opta por esta metodología.

Chen & Abreu (2005) realizan un estudio en Caracas sobre fotometría de llama, en el que mencionan que esta técnica es aplicable a cualquier análisis elemental, entre los que incluye el calcio, cuya determinación es importante en medicina y botánica. Las principales ventajas analíticas de la fotometría de llama son su simplicidad y rapidez. Se han realizado estudios sobre la determinación de calcio por fotometría de llama en variedades de fréjol, suero, líquido cerebrospinal, orina, bilis, líquido de edemas, suelos, alimentos, entre otros.

Gómez, González y Mollineda (2008), en el Laboratorio de Diagnóstico Molecular de la Unidad de Investigaciones Biomédicas, perteneciente al Instituto Superior de Ciencias Médicas de Villa Clara en Cuba, estudian el comportamiento de varios parámetros bioquímicos en muestras de sangre; particularmente, el conocimiento de los niveles de calcio es de importancia vital pues, tanto el déficit como el exceso de este elemento puede ser relacionado con las diferentes investigaciones que se realizan en el laboratorio. Los autores realizan una comparación de las técnicas espectrofotométricas ultravioleta visible y de absorción atómica para cuantificar calcio en suero, describen que la cuantificación del calcio sérico total es más útil y común en biomedicina, por lo que se han descrito varias

técnicas para este fin: volumétricas, fluorimétricas, espectroscópicas por emisión (fotometría de llama) y por absorción atómica, y espectrofotométricas ultravioleta visible (UV-VIS).

Por otra parte, en el 2009 la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Veracruzana, en el área de química industrial realizó estudios sobre la determinación de calcio por la técnica de espectrofotometría de absorción atómica, en varias muestras de propóleo, higuera, gigantón y colorín; para realizar los análisis se utilizó una lámpara de cátodo hueco de calcio. Esta como una de las prácticas más comunes de análisis elemental.

González, Prieto y Pistón (2013), realizaron un estudio sobre la determinación de sodio, calcio y cobre en vinos uruguayos por medio de espectrometría de absorción atómica de llama. Con los resultados obtenidos en el estudio se demuestra que es posible determinar calcio en vinos mediante dilución o medida directa con detección a través de fotometría de absorción y emisión, lo que simplifica el proceso y permite analizar un gran número de muestras en un lapso corto, sin la necesidad de un tratamiento previo drástico.

Crudo (2014), explica que el fotómetro de llama ahorra tiempo sobre los otros métodos, colorimétricos o volumétricos, asimismo, puede ser utilizado para determinar calcio en soluciones parenterales. Este proyecto es de gran importancia ya que las soluciones en estudio, deben cumplir con los parámetros de calcio establecidos según la farmacopea oficial, porque el exceso de calcio en las personas desarrolla hipercalcemia, padecimiento relacionado con las enfermedades cardíacas, y la carencia desarrolla hipocalcemia, que provoca sobre los huesos raquitismo, osteoporosis, descalcificación y retrasos en el crecimiento.

El método validado con el que cuenta el Laboratorio A, para la determinación de calcio en las soluciones parenterales, es por valoración volumétrica con EDTA, el cual implica la preparación de varios reactivos, un procedimiento más extenso y con mayor posibilidad de error, por lo que se evidencia la necesidad de desarrollar una técnica que reduzca el consumo de

reactivos y las horas de trabajo, asimismo, que aumente la precisión y exactitud de los resultados al disminuir la posibilidad del error humano.

El método volumétrico ha venido a presentar algunas limitaciones ya que el procedimiento requiere de la preparación y manipulación de varios reactivos. Entre los reactivos está el EDTA Sal Disódica 2-Hidrato, el cual es nocivo, combustible e irritante leve, provoca irritaciones en las membranas mucosas, tos, estornudo; irritación, enrojecimiento e inflamación en la piel, e irritación en los ojos (Winkler, 2007) y el KOH, que es tóxico, inflamable, extremadamente corrosivo, nocivo por inhalación, ingestión y en contacto con la piel causa quemaduras graves, daño en la piel expuesta (deseccación, agrietamiento e inflamación), visión borrosa, náuseas, excesiva salivación y vómitos (EcuRed, 2016). Estudios reportan que además el KOH causa cáncer en el esófago en individuos por vía de ingestión (Winkler, 2007).

Es importante destacar que al utilizar estos reactivos se generan desechos, a los cuales se les debe dar el tratamiento adecuado, para que no contaminen significativamente el ambiente.

Este es un método largo, por lo que requiere de más tiempo de análisis y de mayor cantidad de horas de trabajo. También se puede presentar menor exactitud y precisión de los resultados de los análisis, debido a la presencia del error humano, que se puede dar en la preparación de la muestra y la obtención del punto final de viraje en la valoración, por tanto, se analiza la opción de implementar un método fotométrico, el cual viene a solventar estas necesidades que presenta el laboratorio.

La mejora analítica se logra al implementar la técnica de fotometría de llama o similar, ya que se espera que el método fotométrico presente menos variación y mayor exactitud en los resultados del análisis, además de reducir los tiempos de análisis.

## II. Fundamento

La técnica de fotometría de llama se trata principalmente de un método de análisis cuantitativo y es uno de los más sencillos y precisos para analizar los elementos de las dos primeras columnas del sistema periódico tales como sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, estroncio y bario, cuya determinación es importante en medicina y botánica (Chen y Abreu, 2005).

La espectrometría de emisión atómica de llama o fotometría de llama se fundamenta en la excitación sufrida por los electrones de un átomo al serles aplicada una fuente de energía térmica procedente de la combustión de una llama; al retornar al estado fundamental, los átomos emiten una cierta cantidad de energía en forma cuantificada. Concretamente, en la espectrometría de emisión atómica de llama solo se observan líneas, bien definidas para cada átomo, originadas por transiciones entre los niveles energéticos más bajos y el estado fundamental (Fuentes, 1997).

Los metales tienen propiedad, al ser ionizados en una fuente de calor intenso, de dar una coloración específica a la llama. Dicha ionización produce un espectro de líneas características de cada ion del metal que está excitado; se verán distintas bandas o líneas espectrales (Crudo, 2014).

Cada elemento de la Tabla Periódica posee una estructura electrónica propia. Los átomos de un determinado elemento cuando son excitados dan origen a un espectro de líneas que es diferente al de cualquier otro elemento y en consecuencia, los espectros de líneas pueden utilizarse para identificar los elementos. Además, las intensidades de las líneas en un espectro de emisión, son proporcionales a las concentraciones de los átomos presentes en una muestra, de modo que, es posible un análisis cuantitativo (Beltrán, 1974); por tanto, si se ioniza una mezcla de varios metales, las líneas espectrales quedarán separadas, de modo que se distinguen ambos fácilmente. Así ocurre, aun, cuando la mezcla es muy compleja (Crudo, 2014).

Las soluciones parenterales de gran volumen (SPGV), se definen como aquellas soluciones estériles destinadas a la administración por vía parenteral que tengan un volumen de 100 mL o superior. Estas soluciones contienen un número de componentes en una variedad de combinaciones para su uso en circunstancias clínicas específicas; los solutos incluyen sales de: sodio, potasio, calcio, amonio, azúcares y polímeros de carbohidratos sintéticos (Delgado y Romero, 2002).

El calcio es el elemento químico de número atómico 20 y símbolo Ca. Se trata de un metal de color blanco o gris, que suele encontrarse en forma de sulfato (como el yeso) o carbonato (la calcita) y que es muy abundante en la corteza de la Tierra (Pérez y Gardey, 2009).

El calcio es el macroelemento mineral más abundante del cuerpo humano junto al fósforo. La mayor parte de él reside en los huesos y los dientes, de manera que conforma más del 99% de su estructura, pero también puede encontrarse en la sangre, los músculos y el líquido entre las células (Medicina, Salud y Bienestar, 2016).

La ingesta de calcio es vital para el buen funcionamiento del cuerpo, ya que participa en la transmisión neuromuscular (en el funcionamiento de los músculos), regula el tránsito de nutrientes a nivel de membrana celular y es necesario para que se pueda producir una correcta coagulación sanguínea (Enciclopedia salud, 2016). Sin embargo, consumir más calcio del que necesita el cuerpo puede causar efectos adversos, como cálculos renales, micción frecuente, dolor estomacal, náuseas/vómitos y fatiga (Familydoctor, 2016). El exceso de calcio se denomina hipercalcemia y el primer síntoma es la excreción excesiva de orina (poliuria) con una marcada necesidad de beber constante y abundantemente (polidipsia) también es común la calcificación renal y la formación de cálculos (acumulación de partículas que forman una masa compacta) (Londoño, 2013).

La enfermedad propia de la carencia de calcio es la hipocalcemia y provoca sobre los huesos raquitismo,

osteoporosis, descalcificación y retrasos en el crecimiento. La mala absorción de calcio se produce por el exceso de grasas, fosfatos o déficit de magnesio, insuficiencia del páncreas, colitis o diarreas y la inmovilidad. La tensión psicoemocional a la insuficiencia renal hacen perder el calcio a través de la orina (Londoño, 2013).

Los valores normales de calcio en suero son de 8.5 a 10.9 meq/L, valores menores de 6 puede causar tetania y valores superiores a 14 pueden causar coma y parada cardiaca (Tuotromedico, 2016).

Es importante que el calcio sea controlado en la preparación de las soluciones parenterales. Según la farmacopea (2016), las concentraciones de calcio permitidas en la fabricación de soluciones parenterales corresponden a: electrolitos en solución con dextrosa al 1,5% y 4,25% (4,22-5,15) meq/L, baño concentrado para hemodiálisis normal (3,00-3,67) meq/L, solución electrolítica balanceada (5,97-7,29) meq/L y solución cardiopléjica para perfusión cardiaca (2,86-3,49) meq/L.

Con respecto a la técnica de espectroscopia de absorción atómica, la concentración de un elemento en una muestra se determina por comparación de la absorbancia de la solución muestra, con la absorbancia de soluciones estándar de concentración conocida. Si cualquier constituyente de la muestra altera uno o más pasos en el proceso de formación de átomos en su estado fundamental en la llama, se provocará un error en la medida de la concentración. Las interferencias que se pueden producir en espectroscopia de absorción atómica se clasifican en: físicas, químicas, de ionización y espectrales (Razmilic, 1994).

Las interferencias físicas se relacionan con la efectividad con que la solución es transportada a la llama y son causadas por diferencias en las propiedades físicas de las soluciones: viscosidad, tensión superficial o presión de vapor (Razmilic, 1994).

Interferencia química es cualquier alteración en el número total de átomos libres formados por unidad de volumen debido a la formación de compuestos químicos termoestables, el efecto del fosfato en la determinación de calcio es un ejemplo de este tipo de interferencia.

Estas interferencias se pueden minimizar con la adición de lantano o estroncio en la determinación de calcio en presencia de fosfato. Existen especies refractarias que disminuyen la población de átomos en la llama como son los silicatos, los aluminatos o los piro sulfatos de calcio, magnesio, estroncio y bario (INTEF, 2016).

Las interferencias químicas pueden ser minimizadas al utilizarse llamas con temperaturas más elevadas como la llama acetileno/óxido nitroso o mediante la adición de un elemento que forme un compuesto más estable con el interferente (INTEF, 2016).

Algunos elementos, como los alcalinotérreos, por ejemplo, tienen la propiedad de formar óxidos o hidróxidos relativamente estables que pueden permanecer como tales en la llama si la temperatura de esta no es muy elevada y a su vez, pueden originar bandas de emisión muy intensas. La formación de estas especies disminuye la intensidad de emisión de las líneas del estado atómico. En el caso del calcio, por ejemplo, a bajas temperaturas de llama se encuentra en buena medida asociado como Ca-OH y la radiación que provoca esta especie es utilizada para su determinación en algunos fotómetros de filtro con llama de gas-aire. Para disociar estas especies a modo de obtener mayor concentración del estado atómico, se deben utilizar llamas de mayor temperatura (como la de óxido nitroso-acetileno) combinadas con el uso de un buffer de ionización en caso necesario. Si estos elementos se encuentran acompañados en la muestra por iones como  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{SiO}_3$  o  $\text{AlO}^+$ , pueden formar uniones de tipo Ca-O-P o Ca-O-Al más estables aún que los hidróxidos y más difíciles de vaporizar (compuestos refractarios). El aumento de la concentración de  $\text{PO}_4^{3-}$  en una solución de Ca, provoca una disminución en la señal de emisión de este, cuya gráfica puede resultar una línea recta, dentro de un cierto intervalo de concentraciones (Universidad Nacional de La Plata, 2008).

La determinación de Ca, Mg, Na y K se realiza con aire-acetileno. Para evitar interferencias en la determinación de Ca y Mg se requiere la adición de lantano a patrones y muestras. Generalmente, para encontrar Ca y Na es necesaria la dilución previa de la

muestra en agua, con el fin de que las medidas se realicen dentro del rango de linealidad del procedimiento (Morell, 1994).

Esparza y González (2010), analizaron el efecto de la presencia de distintos interferentes químicos en una determinación por fotometría de llama y utilizaron como referencia Ca, en el cual, determinaron que todos los interferentes con excepción del sodio, dan una intensidad de emisión menor a la de 80 mg/L, asimismo, indicaron que el sodio causa interferencia en la determinación de calcio.

## Metodología

En síntesis, la investigación consistió en probar la idoneidad de la metodología fotométrica para la determinación de calcio en cinco soluciones parenterales, según lo recomendado por el fabricante del fotómetro de llama BWB-XP, con el que cuenta el Laboratorio A. Las soluciones parenterales involucradas corresponden a electrolitos en solución con dextrosa al 1,5% y 4,25%, baño concentrado para hemodiálisis normal, solución electrolítica balanceada y solución cardiopléjica para perfusión cardiaca.

El Laboratorio A utiliza un método de valoración volumétrica con EDTA para la cuantificación de calcio en las cinco soluciones parenterales el cual, fue validado por CETRATEC- $\alpha$  en el año 2013, de manera que garantiza las buenas prácticas estadísticas que menciona Florez (2013), y se utilizó como método de referencia en este estudio. La primera prueba que se realizó fue la determinación de la concentración de calcio presente en las cinco soluciones parenterales mediante el método volumétrico.

Se realizaron pruebas a nivel de sistema y método analítico para la determinación fotométrica de calcio, ligado con el involucramiento de los diferentes componentes presentes en la matriz de las cinco soluciones parenterales. Además, se acudió al criterio de un segundo instrumento en un Laboratorio B.

Por último, se finalizó con la confirmación de la idoneidad de la determinación de calcio por fotometría

de llama al utilizar tabletas de carbonato de calcio, de la marca Caprimida D, elaboradas por Laboratorios Recalcine S.A., para Gynopharm S.A.

En detalle, para determinar la concentración de calcio presente en las soluciones parenterales mediante el método volumétrico validado, se analizarán cuatro muestras de cada una de las cinco soluciones parenterales con concentraciones de calcio entre 2,86 y 7,29 meq/L, a las cuales se les agrega agua destilada, KOH 8N, indicador de calcio y se valoran con EDTA 0,02N hasta obtener el punto de viraje, que corresponde a un color azul. Los mL de EDTA consumidos son equivalentes a la concentración en g/L de Ca y según la ecuación (1) se obtienen los meq/L de Ca presente en las muestras.

$$\text{meq/L Ca} = \frac{\text{g/L Ca} \times N \text{ EDTA} \times 73,51}{\text{ml muestra}} \times \frac{40,08 \text{g Ca}}{110,98 \text{g CaCl}_2} \times \frac{1000 \times \text{valencia (Ca 2)}}{\text{PM (40,08g/mol)}}$$

Ecuación 1

Posteriormente, se realizó la determinación de calcio en las soluciones parenterales por la técnica fotométrica y se utilizó el procedimiento proporcionado por el proveedor del equipo, en el cual se preparó una curva de calibración de seis patrones disueltos en agua destilada, con concentraciones entre 1,27 y 10,12 meq/L de calcio. Se tomó una alícuota de 0,5mL de los patrones y 5 mL de diluyente, el mismo procedimiento se utilizó para la preparación de las muestras analizadas por triplicado. Se analizaron las muestras al tomar una alícuota de 0,5mL de ellas y agregar 0,5mL de óxido de lantano 2% y 4,5mL de diluyente. También se realizaron pruebas con controles, para determinar la precisión del equipo, en las que se sigue el mismo procedimiento, tanto con óxido de lantano, como sin él.

Seguidamente, se realizó el mismo procedimiento, tanto con óxido de lantano como sin óxido de lantano en un laboratorio externo (Laboratorio B) para efectuar la comparación de los resultados.

Además, se analizaron por separado cada uno de los componentes presentes en la matriz de las

cinco soluciones parenterales, que corresponden a lo mostrado en el cuadro 1. De cada componente se tomó una alícuota de 0,5 mL, se agregó 5 mL de diluyente y se determinó por fotometría de llama, para verificar si emitía alguna señal de intensidad (falso positivo) en comparación con la curva de calibración de calcio antes mencionada. Las muestras se analizaron por triplicado, con el fin de determinar si alguno de los componentes interfiere en la señal (intensidad) de calcio, al analizarlo fotométricamente.

Por último, se estimó la idoneidad de la determinación de calcio por fotometría de llama al utilizar una matriz libre de sodio, para lo cual, se emplearon tabletas de carbonato de calcio de la marca Caprimida D, elaboradas por Laboratorios Recalcine S.A., para Gynopharm S.A. Se tomaron 10 tabletas y se morterizaron hasta obtener un polvo fino y homogéneo, se pesó 40mg de ese polvo y se aforó con HCl 0,1M en balones de 100mL. Se prepararon seis soluciones de manera idéntica, de cada solución se tomó 0,5mL, se agregó 0,5mL de óxido de lantano 2% y 4,5mL de diluyente. Se determinaron los meq/L de calcio que contenían, para calcular el porcentaje de lo etiquetado, y se verificó si cumplían con la especificación 90-110% establecida por la farmacopea, con el fin de demostrar si es posible determinar calcio con el fotómetro de llama BWM-XP.

En el cuadro 2 se incluyen los datos comparativos de los dos fotómetros utilizados en este estudio.

**Cuadro 1.** Composición de las soluciones parenterales investigadas

Solución Parenteral	Componente %
Electrólitos en solución con dextrosa al 1,5%	Dextrosa 1,500
	NaCl 0,560
	CaCl <sub>2</sub> 0,026
	MgCl <sub>2</sub> 0,015
	Lactato de sodio 0,500
Electrólitos en solución con dextrosa al 1,5%	Dextrosa 4,250
	NaCl 0,560
	CaCl <sub>2</sub> 0,026
	MgCl <sub>2</sub> 0,015
	Lactato de sodio 0,500
Baño concentrado para hemodiálisis normal	Dextrosa 8,180
	NaCl 18,660
	CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> Na 16,320
	KCl 0,634
	CaCl <sub>2</sub> 0,605
	MgCl <sub>2</sub> 0,492
	NaCl 0,496
Solución electrolítica balanceada	KCl 0,075
	CaCl <sub>2</sub> 0,037
	MgCl <sub>2</sub> 0,031
	CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> Na 0,748
Solución cardiopléjica para perfusión cardiaca	NaCl 0,643
	CaCl <sub>2</sub> 0,018
	MgCl <sub>2</sub> 0,325
	KCl 0,119

**Cuadro 2.** Características de los fotómetros utilizados en la comparación

Equipo	Laboratorio A	Laboratorio B
Nombre	Fotómetro de Llama	Fotómetro de Llama
Marca	BWB	BWB
Modelo	XP	XP
Serie	20140096	2018004C
Límites de detección	0,50 - 49,90 meq/L	0,50 - 49,90 meq/L

Nota: La única diferencia que se presenta entre los equipos, es que el fotómetro de llama, marca BWB-XP serie 2018004C, contiene un estándar interno de litio.

### III. Resultados y discusión

#### Determinación de calcio con el método de referencia

En el cuadro 3, se observan los resultados obtenidos de las muestras en la determinación de calcio por el método volumétrico con EDTA, la precisión se evalúa mediante el cálculo del porcentaje del coeficiente

de variación (%CV) y el criterio de aceptación para métodos instrumentales es  $\leq 2\%$  de CV (Cánez y García, 2015). Para este análisis no se obtuvo desvío entre las réplicas pues, la variabilidad entre los datos es nula y por tanto, aceptable. Todos los porcentajes de etiquetado se encuentran entre el 90 y 110% establecidos por la farmacopea oficial, es decir, las cinco soluciones parenterales cumplen con la concentración de calcio establecida en el reglamento y los valores son aceptables.

**Cuadro 3.** Resultados obtenidos de las muestras en la determinación de calcio por el método volumétrico con EDTA

Solución Parenteral	Valor Cn Teórica (meq/L) Ca	Promedio Cn Experimental (meq/L) Ca	%CV	% Etiquetado
Electrólitos en solución con dextrosa al 1,5%	4,69	4,66	0	99,52
Electrólitos en solución con dextrosa al 4,25%	4,69	4,72	0	100,65
Baño concentrado para hemodiálisis normal	3,34	3,13	0	93,71
Solución electrolítica balanceada	6,63	6,57	0	99,08
Solución cardiopléjica para perfusión cardiaca	3,17	2,86	0	90,16

Con los resultados anteriores se confirma que las soluciones cumplen con lo etiquetado de calcio y se tienen como referencia, para comparar los resultados de las pruebas por el método fotométrico.

#### Estudios con controles y uso de óxido de lantano

Luego de las pruebas se presentaron problemas en la linealidad de los datos ya que en la curva de calibración se obtuvo un  $R^2$  0,9502 y lo mínimo aceptado es  $R^2$  0,995, que indica que no existe linealidad en los datos, debido a que el equipo presentaba mucha variación.

Se realizaron controles al agregar óxido de lantano y sin agregarlo, ya que el calcio presenta interferencias químicas al ser analizado por fotometría de llama y estas interferencias se pueden minimizar con la adición de lantano o estroncio en la determinación de calcio en presencia de fosfato (INTEF, 2016). Los resultados obtenidos se pueden apreciar en el cuadro 4, todos los coeficientes de variación son mayores al 2%, por lo tanto, no son aceptables.

**Cuadro 4.** Resultados obtenidos de los controles en la determinación de calcio por el método fotométrico en el Laboratorio A

	Control	Teórico (meq/L) Ca	Experimental (meq/L) Ca	Intensidades Ca	%CV
Sin Óxido de Lantano	1	4,05	4,21	84	4,52
	2	6,07	6,19	124	5,26
	3	10,12	10,33	207	4,68
Con Óxido de Lantano	1	4,05	4,27	126	3,35
	2	6,07	6,29	216	5,22
	3	10,12	10,76	86	3,99

Debido a los problemas que se presentaron con la variación del equipo y con la exactitud de las muestras, se realizaron las mismas pruebas en el Laboratorio B, con el fin de observar el comportamiento de las muestras y los controles en otro fotómetro de llama.

**Cuadro 5.** Resultados obtenidos de los controles en la determinación de calcio por el método fotométrico en el Laboratorio B

	Control	Teórico (meq/L) Ca	Experimental (meq/L) Ca	Intensidades Ca	%CV
<b>Sin Óxido de Lantano</b>	1	4,05	4,09	82	0,81
	2	6,07	6,12	123	0,73
	3	10,12	10,27	206	1,18
<b>Con Óxido de Lantano</b>	1	4,05	4,03	81	0,78
	2	6,07	6,04	121	0,51
	3	10,12	10,26	206	1,59

Las muestras en el Laboratorio B al igual que en el Laboratorio A, emiten intensidades por encima de la curva de calibración de calcio correspondiente para dichas muestras. En el cuadro 5 se observan los resultados obtenidos de los controles tanto con óxido de lantano como sin óxido de lantano, todos los coeficientes de variación son menores al 2%, lo que indica que la variabilidad entre los datos es muy baja y por lo tanto, aceptable.

Como se ilustra en el cuadro 6, con los resultados obtenidos en el Laboratorio A y el Laboratorio B de los controles preparados con óxido de lantano, se realizó una prueba t-student, para determinar si existe o no diferencia significativa entre los resultados de los fotómetros de llama utilizados.

**Cuadro 6.** Resultados obtenidos de la prueba t-student para controles de los Laboratorios A y B, preparados con óxido de lantano

Control	Promedio meq/L Ca		T. Obtenido	T. Tabla 95%	Hipótesis Ho:
	Laboratorio A	Laboratorio B			Laboratorio A = Laboratorio B
1	4,275	4,033	6,560	2,11	Se Rechaza
2	6,197	6,295	0,420	2,45	No se Rechaza
3	10,329	10,27	1,319	2,45	No se Rechaza

Al calcular el estadístico t de la prueba de contraste, se emplea un nivel de confianza del 95% y un contraste de dos colas, si el t obtenido es menor al t teórico, se acepta la hipótesis nula. La hipótesis nula aplicada se fundamenta en que no existe diferencia significativa entre los resultados de ambos laboratorios.

Se puede observar en el cuadro 6 que el resultado obtenido para el control dos fue  $t=0,420$  y para el control 3 fue  $t=1,319$ , cada uno de estos valores es menor al valor t teórico que corresponde a 2,45 y por lo tanto, la hipótesis nula no se rechaza. Sin embargo, el resultado obtenido para el control 1 fue  $t=6,560$ , el cual es mayor que el valor t teórico

que corresponde a 2,11, por lo tanto, la hipótesis nula se rechaza. De este modo se puede afirmar que existe suficiente evidencia estadística que demuestra que la diferencia entre los resultados obtenidos por ambos métodos es significativa. Al observar el resultado del control uno, se puede interpretar que hay información que demuestra la existencia de errores sistemáticos y aleatorios los cuales, influyen en las variaciones obtenidas, por lo que, no se acepta la hipótesis nula para el caso del control uno.

El problema de exactitud de las muestras se presenta en ambos laboratorios, sin embargo, el problema de precisión no se presenta en el fotómetro de llama del Laboratorio B el cual, es un equipo que a diario se calibra y se limpia profundamente.

La importancia de calibrar un equipo, consiste en tener la plena certeza de que el instrumento efectúa las mediciones de forma correcta, y la única forma de conocer la desviación de algún instrumento es calibrándolo para saber qué tan exactas son las mediciones (Instrumet, 2011).

Proporciona la seguridad de que los productos o servicios que se ofrecen reúnen las especificaciones requeridas, con el fin de responder a los requisitos establecidos en las normas de calidad ISO/IEC 17025:2005, garantiza la fiabilidad y trazabilidad de las medidas (QuimiNet, 2007).

Luego de implementar un lavado profundo con surfactante en el equipo del Laboratorio A, se analizaron de nuevo las muestras, los resultados se observan en el cuadro 7. Es apreciable que se mejoró la precisión del fotómetro, pues todos los coeficientes de variación son menores a 2%, y se obtuvo un  $R^2=0,9995$ , que indica la existencia de linealidad entre los datos, sin embargo, la exactitud de las muestras aún fue un problema, los porcentajes de etiquetado sobrepasan por mucho el 110% permitido por la farmacopea, y al comparar los valores de las concentraciones teóricas con las concentraciones experimentales se evidencia la gran diferencia que existe entre ambas.

**Cuadro 7.** Resultados obtenidos en la determinación de calcio por el método fotométrico en el Laboratorio A

Solución Parenteral	Teórico (meq/L) Ca	Experimental (meq/L) Ca	Intensidades Ca	%CV	% Etiquetado
Electrólitos en solución con dextrosa al 1,5%	4,69	31,31	2873	0,084	668,32
Electrólitos en solución con dextrosa al 4,25%	4,69	30,74	2828	0,149	656,04
Baño concentrado para hemodiálisis normal	3,34	30,52	2811	0,110	914,93
Solución electrolítica balanceada	6,63	33,46	3043	0,116	504,59
Solución cardiopléjica para perfusión cardiaca	3,17	26,95	2529	0,109	849,21

### Estudio de interferencias fotométricas por la matriz

Debido a que la exactitud fue el problema principal, se examinaron por aparte todos los componentes de las cinco soluciones parenterales. Se prepararon soluciones según los porcentajes etiquetados de cada componente, para un total

de 20 soluciones y se analizaron por triplicado. El análisis se realizó con la curva de calibración, con el fin de determinar si alguno de los componentes emite señal de intensidad bajo las condiciones que se determina el calcio y, por lo tanto, interfiere en la determinación de este.

**Cuadro 8.** Resultados obtenidos de las señales de intensidad emitidas por los componentes de las cinco soluciones en la curva de calibración de calcio, por el método fotométrico

Componente	%	Intensidad	Falso Positivo de Ca Cn (meq/L)
MgCl <sub>2</sub>	0,015	448	0,36
	0,492	448	0,35
	0,031	447	0,35
	0,033	448	0,35
NaCl	0,56	2150	23,83
	18,66	12190	162,26
	0,49	2029	22,17
Dextrosa	0,64	2295	25,82
	1,50	470	0,66
	4,25	466	0,61
C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> NaO <sub>3</sub>	8,18	464	0,58
	0,50	1058	8,78
	16,32	7278	94,54
KCl	0,63	485	0,87
	0,08	485	0,86
	0,12	485	0,86
CaCl <sub>2</sub>	0,03	648	3,11
	0,61	4985	62,68
	0,04	779	4,92
	0,02	596	2,38

Los resultados del cuadro 8, hacen referencia a las señales de intensidad emitidas por los diferentes porcentajes de los componentes en las cinco soluciones parenterales que se indicaron en el cuadro 1. Se observa que el cloruro de sodio, lactato de sodio y acetato de sodio emiten señales de intensidad muy altas en la curva

de calibración para la determinación de calcio. Se obtiene como resultado que el sodio genera una interferencia que aumenta la señal de emisión al determinar calcio en los productos, debido a que el sodio posee una línea de emisión característica de 589nm, la cual está muy cercana a la banda del calcio, que está alrededor de los

600nm. El filtro para calcio deja pasar esta radiación emitida por el sodio, por lo que da como resultado una mayor intensidad de emisión y se produce un error relativo porcentual positivo (Esparza & González, 2010). La presencia de sodio en las soluciones parenterales es lo que provoca que las muestras emitan una señal mayor a la esperada y por lo tanto, el fotómetro detecte una concentración mayor a la etiquetada.

Algo importante de mencionar es que en ninguno de los manuales de los fotómetros de llama BWB-XP serie 20140096 y BWB-XP serie 2018004C, se encuentra especificado que el calcio muestra interferencia en presencia de sodio, solo se indica que no es posible determinar calcio en presencia de litio.

#### Prueba confirmatoria para determinar calcio en productos farmacéuticos que no tengan sodio

Por último, para confirmar la idoneidad de la determinación de calcio en el fotómetro de llama BWB-XP serie 20140096 del Laboratorio A, se realizó la determinación de calcio en tabletas de carbonato de calcio de la marca Caprimida D, elaboradas por Laboratorios Recalcine S.A., para Gynopharm S.A, las cuales no contienen sodio.

En el cuadro 9 se observan los resultados de las pruebas realizadas a las tabletas de carbonato de calcio, los porcentajes de etiquetado se encuentran entre el 90-110% permitido por la farmacopea,

el coeficiente de variación es menor que 2% y la desviación estándar es de 0,02, así, la variabilidad entre los datos es muy baja y por lo tanto, aceptable. Con estos resultados se demuestra que es posible determinar calcio en el fotómetro de llama BWB-XP serie 20140096, siempre y cuando el producto que se esté analizando no contenga sodio, ya que interfiere en el análisis.

#### IV. Conclusiones

- ✓ Según los resultados de referencia obtenidos por el método volumétrico con EDTA, se puede concluir que las soluciones parenterales de alto volumen elaboradas por el Laboratorio A y que se distribuyen en Costa Rica, sí cumplen con la concentración de calcio etiquetada en el producto.
- ✓ Se evidencia que en la determinación de calcio por fotometría de llama es necesario agregar óxido de lantano a muestras y patrones, ya que el calcio presenta interferencias químicas al ser analizado con esta técnica, y estas interferencias se pueden minimizar con la adición del reactivo ante la presencia no deseada del fosfato. Además, la prueba de hipótesis suministró evidencia estadística de que existe diferencia significativa entre los datos obtenidos para los controles de ambos laboratorios.

**Cuadro 9.** Resultados obtenidos de la determinación de calcio en las tabletas Caprimida D, por fotometría de llama

Muestra	Teórico (meq/L) Ca	Experimental (meq/L) Ca	Intensidades Ca	% Etiquetado
1	7,74	7,29	958	94,22
2		7,31	959	94,39
3		7,35	962	94,89
4		7,36	963	95,06
5		7,32	960	94,56
6		7,33	961	94,72
Promedio				94,64
Desviación Estándar				0,31
%CV				0,33

- ✓ El estudio realizado evidencia de manera contundente, que la presencia de sodio en las soluciones parenterales es lo que provoca que las muestras presenten mayor intensidad de emisión y se produzca un error positivo en la concentración de calcio detectada por el fotómetro, debido a que el sodio genera interferencia por poseer una línea de emisión muy cercana a la banda del calcio. Por lo cual, no es posible utilizar la técnica de fotometría de llama para determinar calcio en las soluciones parenterales estudiadas.
- ✓ Con los resultados obtenidos para las tabletas de carbonato de calcio se demuestra que es posible determinar calcio en el fotómetro de llama BWB-XP serie 20140096, siempre y cuando el producto por analizar no contenga sodio en su composición o en la matriz de estudio, ya que interfiere en el análisis.

## Referencias

- Beltrán, J. (1974). *Química avanzada Nuffield*. Editorial Reverté S.A. España. Pp 100.
- Crudo, F. (2014). *Manual de instrucciones: Fotómetro de llama*. Laboratorios Norte S.R.L.
- Delgado, P. y Romero, X. (2002). *Elaboración de un manual de métodos alternos para la preparación de soluciones parenterales de gran volumen de uso hospitalario*. Universidad de el Salvador, Facultad de Química y Farmacia.
- Esparza, C. y González, A. (2010). *Fotometría de Llama*. Universidad de Concepción.
- Fuentes, A. (1997). *Bioquímica clínica y patología molecular*. Segunda Edición. Editorial Reverte, Barcelona. Pp. 217-238.
- Florez, G. (2013). *Importancia del análisis estadístico de los datos*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia.
- Gómez, T., González, O. y Mollineda, A. (2008). *Comparación de las técnicas espectrofotométricas ultravioleta visible y de absorción atómica para cuantificar calcio en suero*. Laboratorio de Diagnóstico Molecular de la Unidad de Investigaciones Biomédicas. Instituto Superior de Ciencias Médicas.
- INTEF. (2016). *La Química Analítica y las etiquetas*. Instituto Nacional de Tecnologías Educativas y de Formación del profesorado.
- Londoño, D. (2013). *Validación del método de determinación de calcio y magnesio por espectroscopia de absorción atómica de llama para el laboratorio de análisis de aguas y alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira*. Laboratorio de análisis de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira.
- Morell, I. (1994). *Investigación en zona no saturada. Colección Summa*. Ciencias Experimentales. Universidad Jaumei. Pp 35.
- Razmilic, B. (1994). *Espectroscopia de absorción atómica*. Depósito de Documentos de la FAO.
- “The United States Pharmacopeia Convention. USP 38 - NF 33”: (2016). Farmacopea de los Estados Unidos de América. Rockville, Maryland: The United States Pharmacopeial Convention.
- Universidad Nacional de La Plata. (2008). *Espectrometría de Emisión de Llama*. Licenciatura en Química. Química Analítica III.
- Universidad Veracruzana. (2009). *Manual de prácticas del espectrofotómetro de absorción atómica GBC 932 AA*. Facultad de Ciencias Químicas. Química Industrial.
- Wiley, J. (1966). *Química Inorgánica Práctica Avanzada*. Editorial Reverté S, España. A. Pp 21.

- Cánez, M; García, A. (2015). "Validación de un método analítico para la determinación de fósforo por espectrofotometría ultravioleta-visible". *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. Biotecnia. Universidad de Sonora. Volumen XVII, Número 1.
- Chen, W., Abreu, Y. (2005). *Fotometría de Llama; Informe de Laboratorio*. Recuperado el 11 de agosto del 2016 a las 10:45 am de: <http://www.geocities.ws/chex88chex/analitica/FotometriaLlama.pdf>
- EcuRed. (2016). *Hidróxido de potasio*. Recuperado el 17 de agosto del 2016 a la 1:40 pm de: [http://www.ecured.cu/Hidr%C3%B3xido\\_de\\_Potasio](http://www.ecured.cu/Hidr%C3%B3xido_de_Potasio)
- Enciclopedia salud. (2016). *Definición de calcio*. Recuperado el 17 de agosto del 2016 a las 11:02 am de: <http://www.encyclopediasalud.com/definiciones/calcio>
- Familydoctor. (2016). *Calcio: lo que usted necesita saber*. Recuperado el 17 de agosto del 2016 a las 10:52 am de: <http://es.familydoctor.org/familydoctor/es/prevention-wellness/food-nutrition/nutrients/calcium-what-you-need-to-know.html>
- González, P., Prieto, V., Pistón, M. (2013). "Determinación de sodio, calcio y cobre en vinos uruguayos y estudio de la relación de estos elementos con el tipo de vino". *Avances en Ciencias e Ingeniería*. Vol. 4(3), 27-35.
- Instrumet. (2011). *Por qué Calibrar*. Calibración y metrología de instrumentos. Recuperado el 20 de noviembre del 2016 a las 10:45 pm de: <http://www.calibracion.com.mx/calibrar.html>
- Medicina, salud y bienestar. (2016). *Calcio. Editorial Revistas, S.L.U.* Recuperado el 17 de agosto del 2016 a las 10:31 am de: <http://www.dmedicina.com/vida-sana/alimentacion/diccionario-de-alimentacion/calcio.html>
- Pérez, J., Gardey, A. (2009). *Calcio*. Recuperado el 17 de agosto del 2016 a las 10:37am de: <http://definicion.de/calcio/>
- QuimiNet. (2007). *Importancia de la calibración y mantenimiento preventivo de un equipo*. Recuperado el 20 de noviembre del 2016 a las 3:12 pm de: <https://www.quiminet.com/articulos/importancia-de-la-calibracion-y-mantenimiento-preventivo-de-un-equipo-21014.htm>
- Tuotromedico. (2016). *Calcio en suero*. Recuperado el 31 de agosto del 2016 a las 9:45 pm de: [http://www.tuotromedico.com/temas/calcio\\_en\\_suero.htm](http://www.tuotromedico.com/temas/calcio_en_suero.htm)