



TEORÍA Y APLICACIONES DE LA QUÍMICA ANALÍTICA EN MÉXICO

Teoría y Aplicaciones de la Química Analítica en México

C O L E C C I Ó N
HÉCTOR OCHOA BACELIS
Textos de enseñanza de Ciencias Básicas

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

Guillermo Narváez Osorio
Rector

Teoría y Aplicaciones de la Química Analítica en México

Editores

María Teresa Ramírez Silva

Alberto Rojas Hernández

Carlos Mario Morales Bautista



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

“ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE”

Primera edición, 2021

D. R. © Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
Av. Universidad s/n, Zona de la Cultura
Col. Magisterial, C. P. 86040
Villahermosa, Centro, Tabasco.
www.ujat.mx

ISBN: 978-607-606-568-6

Esta obra fue dictaminada mediante el sistema de pares ciegos, así como por el Consejo Divisional Editorial de la División Académica de Ciencias Básicas de la UJAT.

Queda prohibida su reproducción comercial sin contar previamente con la autorización expresa y por escrito del titular, en los términos de la Ley Federal de Derechos de Autor. Se autoriza su uso no comercial siempre y cuando se cite la fuente.

Maquetación y diseño: Walk Iria Chi Balan
Foto de portada: Secretaría de Relaciones Públicas de la UJAT.

Hecho en Villahermosa, Tabasco, México.

La presente obra es el producto de una compilación de trabajos profesionales de aplicación e investigación, realizada por la Asociación Mexicana de Química Analítica, como un esfuerzo para preservar la importante labor de Química Analítica que se desarrolla en México. Para ello se invitó a profesores, investigadores y profesionales de la Química Analítica a presentar contribuciones que quisieran se publicarán en este compendio. La Junta de Representantes de la AMQA se encargó del arbitraje de dichos trabajos para su publicación en esta obra. Es necesario establecer que el contenido científico y las aseveraciones que aparecen en cada trabajo es responsabilidad de sus autores.

ÍNDICE

PRÓLOGO	15
----------------	-----------

APORTACIONES DE JÓVENES INVESTIGADORES

DETERMINACIÓN DE CAFEÍNA EN BEBIDAS ENERGIZANTES POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV/VIS- REGULACIÓN POR NORMA	17
DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE MERCURIO EN VACUNAS CONTRA LA HEPATITIS B EN DOSIS OBTENIDAS EN CLÍNICAS DEL INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL (IMSS)	24
DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS Y CUANTIFICACIÓN DE ZINC, CADMIO, PLOMO Y COBRE EN ORECHROMIS AUREUS DEL LAGO DE CHAPALA	31
CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DE 4 PRESAS DE USO AGRÍCOLA DE LAS REGIONES DE VALLES Y LAGUNAS DEL ESTADO DE JALISCO	38
CUANTIFICACIÓN DE TARTRAZINA Y AMARILLO OCASO EN POLVO SOLUBLE PARA PREPARAR DE AGUA FRESCA	45
VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS COMO TEMA DE TESIS EN LA UNAM	52
ESTUDIO FISCOQUÍMICO DE LA FORMACIÓN DEL COMPLEJO $[\text{Fe}(\text{fen})_3]^{2+}$	58
COMPARACIÓN DE DOS FASES PARA LA EXTRACCIÓN SIMULTÁNEA DE OCHO ANTIBIÓTICOS MEDIANTE LA TÉCNICA MEPS PARA SU APLICACIÓN EN EL ANÁLISIS DE EFLUENTES DE PLANTAS TRATADORAS DE AGUA RESIDUAL	64
DETERMINACIÓN DE CONSTANTES DE FORMACIÓN CONDICIONAL DE Ni (II) Y Co (II) CON DMG	72
CONTROL ANALÍTICO Y CUANTIFICACIÓN DEL ÁCIDO CHELIDÓNICO MEDIANTE TÉCNICAS ELECTROQUÍMICAS	80
ESTUDIO QUÍMICO ANALÍTICO DE LA COMPOSICIÓN METÁLICA PRINCIPAL DE ALGUNAS METEORITAS MEXICANAS	87
ESTUDIO DEL EFECTO DE LA CANTIDAD DE Ni SOBRE LA ACTIVIDAD EN HIDRODESULFURACIÓN DE CATALIZADORES Ni-Mo SOPORTADOS EN ÓXIDOS MIXTOS DE MgO-TiO ₂	96
RECUPERACIÓN DE YODURO DE POTASIO	104
DETERMINACIÓN DE ANIONES Y CATIONES MAYORITARIOS EN DISOLUCIONES SATURADAS DE SUELO MEDIANTE CROMATOGRAFÍA IÓNICA CON DETECCIÓN CONDUCTIMÉTRICA	111
VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA REALIZAR LA DETERMINACIÓN DE YODUROS POR ESPECTROFOTOMETRÍA	119
INCREMENTO DE LA LUMINISCENCIA DE Eu ³⁺ Y Tb ³⁺ POR LA PRESENCIA DE OXALATO	127

CUANTIFICACIÓN DE LA RUTINA	135
AUTENTIFICACIÓN DE TEQUILAS MEDIANTE TÉCNICAS DE CLASIFICACIÓN SUPERVISADA (CURVAS DE POTENCIA Y FUNCIONES DE POTENCIA) A PARTIR DE DATOS DE ESPECTROFOTOMETRÍA DE INFRARROJO MEDIO	143
DESARROLLO DE MÉTODOS ELECTROQUÍMICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS CUANTITATIVOS DE LA CALIDAD DE VINOS	150
DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO ROSMARÍNICO EN EXTRACTOS NATURALES Y MUESTRAS COMERCIALES MEDIANTE TÉCNICAS POLAROGRÁFICAS	159
CUANTIFICACIÓN DE METALES EN SUELO PARA CULTIVO DE <i>Allium sativum</i> L.	167
DIFERENCIACIÓN ENTRE TEQUILAS AUTÉNTICOS Y DESTILADOS DE AGAVE POR TÉCNICAS NO SUPERVISADAS DE CLASIFICACIÓN	173
EVALUACIÓN DE <i>Flourensia cernua</i> DC COMO BIOABSORBENTE NATURAL DE METALES PESADOS	179
DETERMINACIÓN PRELIMINAR DE HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO EN SUELOS	187
CUANTIFICACIÓN DE Ca, Na y K POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA PRESENTES EN MASA Y TORTILLA DE SORGO	192
PRECONCENTRACIÓN DE ATRAZINA EN MUESTRAS ACUOSAS, MEDIANTE EXTRACCIÓN POR SORCIÓN EN BARRA DE AGITACIÓN (SBSE)	200
OPTIMIZACIÓN Y VALIDACIÓN DE UNA METODOLOGÍA DE ANÁLISIS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE TRIMETOPRIM EN MATRICES ACUOSAS AMBIENTALES	210
ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO DE UN BIOSENSOR AMPEROMÉTRICO DE GLUCOSA EN MEDIOS NO ACUOSOS	219
EXTRACCIÓN DE MANGANESO (II) DE MUESTRAS ACUOSAS EMPLEANDO UNA RESINA QUELANTE IMPREGNADA CON ROJO DE ALIZARINA S	226
APLICACIÓN DE LA ELECTROFORESIS CAPILAR A LA DETERMINACIÓN DE LOS POLIFENOLES DEL MARRUBIO (<i>Marrubium Vulgare</i> L)	235
DETERMINACIÓN DE CONSTANTES DE ACIDEZ DE QUININA MEDIANTE EL USO DE SQUAD A PARTIR DE DATOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS	244
DETERMINACIÓN SIMULTÁNEA DE ÁCIDO ACETILSALICÍLICO Y CAFEÍNA EN TABLETAS MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA UV	250
COMPARACIÓN DE LA DETERMINACIÓN DE NARINGINA POR ELECTROFORESIS CAPILAR CON 3 MÉTODOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS EN CITRUS PARADISI	257
RECUPERACIÓN DE CADMIO DE BATERÍAS MEDIANTE MICROCÁPSULAS DE ACETATO DE CELULOSA-CYANEX 923	266
CARACTERIZACIÓN DE CATALIZADORES NiW SOPORTADOS EN Al ₂ O ₃ Y MgO-Al ₂ O ₃	273
DIFERENCIACIÓN DE TEQUILAS MIXTOS Y 100% AGAVE MEDIANTE LA COMBINACIÓN DE LA ESPECTROSCOPIA FT-MIR Y TÉCNICAS NO SUPERVISADAS	281

DETERMINACIÓN DE CIPROFLOXACINO EN MUESTRAS DE CARNE DE ORIGEN VACUNO MEDIANTE LA APLICACIÓN DE ELECTRODOS DE PASTA DE CARBÓN MODIFICADOS CON NAFIÓN	287
EXTRACCIÓN DE PARABENOS Y FILTROS UV EN MÚSCULO DE TILAPIA MOJARRA MEDIANTE DMFS Y ANÁLISIS POR EFS-CLAR EN LÍNEA	294
MONITOREO DE LA REMOCIÓN DE PARABENOS Y FILTROS UV EN CULTIVOS DE MICROALGAS UTILIZANDO DMFS, EFS Y CLAR	301
ANÁLISIS DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN MUESTRAS DE MÚSCULO DE MANTARRAYA GIGANTE	309
EVALUACIÓN DEL EFECTO INHIBITORIO DE EXTRACTOS DE <i>Verbesina persicifolia</i> SOBRE EL CRECIMIENTO DE BACTERIAS PATÓGENAS Y DETERIORADORAS PRESENTES EN ALIMENTOS	316
CARACTERIZACIÓN DE ELECTRODO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO CON ÁCIDO PIRIDINDICARBOXAMIDA BIS-BORÓNICO PARA LA DETERMINACIÓN DE DEXTROSA	324
OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE LA IONIZACIÓN POR ESI-JET STREAM DE SEIS FLAVONOIDES PARA EL ANÁLISIS POR HPLC-MS/MS-QqQ: APLICACIÓN EN ESTUDIOS DE BIODISPONIBILIDAD ORAL	330
DETERMINACIÓN DE ÁCIDO SALICÍLICO Y ÁCIDO BENZOICO EN ASEPXIA POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN	340
EVALUACIÓN DEL PROCESO DE DEPÓSITO ELECTROQUÍMICO DE OXALATO DE HIERRO USANDO UN REACTOR FM01-LC	348
OBTENCIÓN DE SÍLICA GEL FUNCIONALIZADA CON ÁCIDOS HÚMICOS Y SU UTILIZACIÓN EN LA EXTRACCIÓN DE COBRE(II)	354
ELIMINACIÓN DE Cr(VI) CON RESIDUOS DE PIMIENTA MODIFICADA POR XANTACIÓN Y PARTÍCULAS DE Fe(II)	362
REMOCIÓN Y BIOADSORCIÓN DE Cr(VI) EN SOLUCIÓN ACUOSA UTILIZANDO RESIDUOS DE CÁSCARAS DE MARACUYÁ (<i>Passiflora edulis</i>)	369
ANÁLISIS DE ESTEROIDES EN AGUA RESIDUAL MEDIANTE EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPE) Y CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS (GC-MS)	375
APORTE ANALÍTICO AL CONOCIMIENTO DE LAS PROPIEDADES QUÍMICAS DE LA BETANINA	382

ALIMENTOS

DETERMINACIÓN ELECTROQUÍMICA DE CAFEÍNA EN EXTRACTO DE GRANOS DE CAFÉ VERDE	390
EVALUACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DE UN MÉTODO PARA ANÁLISIS DE PLAGUICIDAS EN PAPAYA Y AGUACATE MEDIANTE QUECHERS-CG-MS	396
DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA PLAGUICIDAS EN MANGO UTILIZANDO MICRO-EXTRACCIÓN EN UNA SOLA GOTTA Y CROMATOGRAFÍA DE GASES-ESPECTROMETRÍA DE MASAS	403

ESTUDIO ELECTROQUÍMICO DEL ROJO ALLURA UTILIZANDO UN ELECTRODO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO CON NANOTUBOS DE CARBONO MULTIPARED TIPO BAMBÚ	411
CARACTERIZACIÓN DEL BAGAZO, RESIDUO GENERADO EN EL PROCESO DE LA ELABORACIÓN DE CERVEZA ARTESANAL	419
APLICACIÓN DE CELULOSA MICROCRISTALINA EXTRAÍDA DE AGAVE SALMIANA OTTO PARA LA ADSORCIÓN COLESTEROL	427
CUANTIFICACIÓN DE TIAMINA EN LECHE POR FLUORESCENCIA	436
DETERMINACIÓN ELECTROQUÍMICA DE LA TARTAZINA UTILIZANDO UN ELECTRODO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO CON NANOTUBOS DE CARBONO MULTIPARED TIPO BAMBÚ	443
DETERMINACIÓN DE HIERRO TOTAL EN VINO BLANCO POR ANÁLISIS DE INYECCIÓN EN FLUJO	450
APLICACIÓN DE ANÁLISIS POR INYECCIÓN EN FLUJO EN LA DETERMINACIÓN DE COBRE EN VINOS	458
CARACTERIZACIÓN DE LOS POLIFENOLES DE LOS RESIDUOS DEL FRUTO DE CAFÉ POR ELECTROFORESIS CAPILAR PARA EL DESARROLLO DE UNA TISANA	466
DETERMINACIÓN ENZIMÁTICA DE UREA EN LECHE POR FIA	473

AMBIENTAL

DETERMINACIÓN ELECTROQUÍMICA EN LÍNEA DE Cr(VI) EMPLEANDO UN ELECTRODO MODIFICADO CON UN POLI (LÍQUIDO IÓNICO) MAGNÉTICO	434
OPTIMIZACIÓN Y VALIDACIÓN DE UNA METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE PARAQUAT EN MATRICES ACUOSAS AMBIENTALES	491
ADMINISTRACIÓN DE ALUMINIO Y METILNITROSOUREA (MNU) Y BIODISPONIBILIDAD DE HIERRO, COBRE Y ZINC EN SANGRE DE RATAS CUANTIFICADOS POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA	500
DETERMINACIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES EN MUESTRAS DE AGUA EMPLEANDO HF-LPME Y UPLC-MS/MS	507
OPTIMIZACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO POR EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA PARA LA PRECONCENTRACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE PARAQUAT EN MUESTRAS DE AGUA EPICONTINENTAL	514
CINÉTICA DE LACCASA Y SU MECANISMO DE INHIBICIÓN PARA LA DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE IONES MERCURIO	523
MICROEXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA EN LA PRECONCENTRACIÓN DE FIPRONIL EN MUESTRAS ACUOSAS	528
DESARROLLO DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE PIROXICAM SOBRE UN ELECTODO DE PASTA DE CARBONO	536
CUANTIFICACIÓN DE FLUORUROS EN AGUA DE DIFERENTES POZOS DE LA COMARCA LAGUNERA MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA VISIBLE	543

DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS TOTALES DEL PETRÓLEO: UN ANÁLISIS DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS EMPLEADOS PARA LA ELABORACIÓN DE UNA LÍNEA BASE AMBIENTAL	550
DETERMINACIÓN DE PLOMO-DITIZONA-TRITON X100 MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS	558
DESARROLLO DE UN SISTEMA DE SEPARACIÓN Y ANÁLISIS DE IONES METÁLICOS POR COMPLEJOMETRÍA EN ELECTROFORESIS CAPILAR	564
DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE Fe ²⁺ , Fe ³⁺ y Fe TOTAL EN LIXIVIADOS MINEROS MEDIANTE ESPECTROSCOPÍA VISIBLE	573
ESTUDIO DE LA TOXICIDAD EN CHLORELLA VULGARIS DE Pb, Cd Y As PARA SU POSIBLE USO EN BIORREMEDIACIÓN	581
CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE ACEITE DE SOYA GASTADO PARA SU USO EN LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL	587
MODIFICACIÓN DE UN ELECTRODO DE PASTA DE CARBONO CON GLUCONOLACTONA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE DICLOFENACO	594
EVALUACIÓN DE LA MODIFICACIÓN DEL CONTENIDO PROTEICO DE LACTOSUERO ÁCIDO MEDIANTE UN SISTEMA BIOELECTROQUÍMICO CON ELECTRODOS DE TITANIO	602
TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES MUNICIPALES MEDIANTE UN SISTEMA DE ELECTROCOAGULACIÓN	608

APLICACIONES DIVERSAS

DESARROLLO DE UNA FIBRA DE MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA CON RECUBRIMIENTO BASADO EN TETRAFLUOROBORATO DE 1-DECIL-3-METILIMIDAZOLIO	616
ELECTROFORESIS CAPILAR: SEPARACIÓN DE ISÓMEROS OXIDADOS DE LOS HIDROXIBENZALDEHÍDOS	623
ANTIOXIDANTES NATURALES Y SU PODER REDUCTOR FRENTE A IONES PLATA	632
ESTUDIO ELECTROQUÍMICO ANALÍTICO DEL ÁCIDO CLOROGÉNICO EN EXTRACTO DE GRANOS VERDES DE CAFÉ	638
EVALUACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE CdTe/CdS EN EL ANÁLISIS DE GLIFOSATO MEDIANTE EL ANÁLISIS POR INYECCIÓN EN FLUJO	645
DETERMINACIÓN DE HIDROXILOS FENÓLICOS Y ALCOHÓLICOS EN LIGNINAS POR RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ¹³ C {1H}	652
DETERMINACIÓN SIMULTÁNEA DE GLUCOSA Y COLESTEROL POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ULTRAVIOLETA VISIBLE EMPLEANDO CALIBRACIÓN MULTIVARIANTE	659
DESARROLLO DE UN BIOSENSOR PARA LA DETERMINACIÓN DE GLUCOSA Y ÁCIDO ASCÓRBICO MEDIANTE VOLTAMPEROMETRÍA LINEAL	667
ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE Y REGRESIÓN PARCIAL POR MÍNIMOS CUADRADOS EN LA ESTIMACIÓN DE COORDENADAS CROMÁTICAS EN CIELAB	676

DESARROLLO DE UN SISTEMA DE PRE-CONCENTRACIÓN EN LÍNEA EN ELECTROFORESIS CAPILAR EN EL ANÁLISIS DE COLORANTES AZOICOS	684
EVALUACIÓN POTENCIOMÉTRICA DE UN ELECTRODO MODIFICADO CON UN NUEVO MATERIAL METAL-ORGÁNICO	692
DETERMINACIÓN DE LA ESTEQUIOMETRÍA Y LA CONSTANTE DE COMPLEJACIÓN DEL COMPLEJO FORMADO POR CAPSAICINA Y β -CICLODEXTRINA EMPLEANDO EL MÉTODO DE VARIACIONES CONTINUAS	698
VALIDACIÓN DE UN MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN POR RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE REBAUDIOSIDO A EN ENDULZANTES COMERCIALES	708
IMPLEMENTACIÓN DE UN SISTEMA DE GESTIÓN CALIDAD EN LA UNIDAD DE GEOQUÍMICA DE FLUIDOS GEOTÉRMICOS, BAJO LA NORMA ISO/IEC 17025	717
VALIDACIÓN DE LA DETERMINACIÓN MULTIELEMENTAL EN SUELO POR FLUORESCENCIA PORTATIL DE RAYOS X	725
ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE UN MÉTODO SEMICUANTITATIVO: FLUORESCENCIA PORTÁTIL DE RAYOS X	731
ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DE UN MÉTODO ANALÍTICO A MICROESCLA	739
DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIONES SOLUBLES DE METALES Y METALOIDES EN JALES CON BASE EN LA NOM-141-SEMARNAT-2003	747
EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DE UN ANALIZADOR PORTÁTIL DE FLUORESCENCIA DE RAYOS X EN LA DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN MULTIELEMENTAL DE RESIDUOS MINEROS	756
ÍNDICE DE CALIDAD DE GRASAS (ICG) Y SU APLICACIÓN EN LA EVALUACIÓN DE TRATAMIENTOS DE PURIFICACIÓN DE MANTECA DE CERDO	764
APLICACIÓN DEL ÍNDICE DE CALIDAD DE GRASAS (ICG) PARA LA CARACTERIZACIÓN DE GRASA RESIDUAL DE LA INDUSTRIA AVÍCOLA	770

EDUCACIÓN

REVISIÓN DE MÉTODOS VOLUMÉTRICOS INDICADOS PARA LA DETERMINACIÓN DE PUREZA DE FÁRMACOS EN LA FEUM	777
LA INVESTIGACIÓN EXPLORATORIA APLICADA COMO ESTRATEGIA DIDÁCTICA EN EL LABORATORIO	784
FLEXIBILIZACIÓN CURRICULAR ¿UNA OPCIÓN PARA ENSEÑAR QUÍMICA ANALÍTICA?	792

ESTUDIOS FUNDAMENTALES

APORTES ANALÍTICOS PARA LA ESTABILIZACIÓN DEL ÁCIDO CARMÍNICO NATURAL CON CATIONES METÁLICOS	800
ESTUDIO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE LA CURCUMINA EN PRESENCIA DE β -CICLODEXTRINA EN MEDIO ACUOSO	808

DETERMINACIÓN DE LA RELACIÓN MOLAR DEL COMPLEJO O-ETILDITIOCARBONATO DE POTASIO CON Cu(II)	815
MODELO PARA CONSTRUIR CURVAS DE VARIACIONES CONTINUAS EN SISTEMAS DE DOS COMPONENTES CON VARIAS REACCIONES DE CUALQUIER CUANTITATIVIDAD EN SISTEMAS POLIDONADORES DE LA PARTÍCULA L	822
ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN CICLODEXTRINA CON COBRE(II) EN DISOLUCIÓN ACUOSA	832
FUENTES POSIBLES DE CONTAMINACIÓN EN CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS- ESPECTROMETRÍA DE MASAS (CL-EM)	838
ANÁLISIS ELECTROQUÍMICO E HIDRODINÁMICO DE UN REACTOR DE COMPARTIMENTOS SEPARADOS	845
EVALUACIÓN FUNDAMENTAL DE LOS MECANISMOS DE FORMACIÓN DE DEPÓSITO DE Ag ₂ S DURANTE LA RECUPERACIÓN DE PLATA DE LAS SOLUCIONES REVELADORAS RESIDUALES	853
MATERIALES	
OBTENCIÓN DE UNA FORMULACIÓN PARA LA DEGRADACIÓN DEL POLÍMERO BASE EN PIEZAS DE IMPRESIÓN 3D	862
OBTENCIÓN DE PELÍCULAS TERMOPLASTIFICADAS DE ARABINOXILANOS EXTRAÍDOS DE BAGAZO DE CEBADA Y SU APLICACIÓN COMO MATRICES DE LIBERACIÓN DE CAFÉINA	869
EFFECTO DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO TIPO BAMBÚ SOBRE LA RESPUESTA ELECTROQUÍMICA DE LA L-DOPA	876
ESTUDIO CRONOPOTENCIOMÉTRICO DE UNA CELDA DE PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO	883
CONSTRUCCIÓN DE UN ELECTRODO POTENCIOMÉTRICO SELECTIVO A IONES DE ACETILCOLINA Y MODIFICADO CON NANOPARTICULAS DE ORO	888
FUNCIONALIZACIÓN DE MAGNETITA CON FIBROÍNA PARA SU POSIBLE USO COMO SOPORTE MAGNÉTICO EN EXTRACCIONES EN FASE SÓLIDA DISPERSIVA	895
ELECTROXIDACIÓN DE METANOL SOBRE NPs DE Pt/C SINTETIZADAS A TRAVÉS DEL MÉTODO POLIOL EN PRESENCIA DE Ag ⁺	904
COMPARACIÓN DE DEPÓSITOS DE ZINC Y CADMIO FORMADOS EN DISOLVENTES EUTÉCTICOS PROFUNDOS Y SU EFECTO EN LA CORROSIÓN DE ACERO AL CARBÓN 1018	912
ESTUDIO DE LA OXIDACIÓN DE ÁCIDO FÓRMICO SOBRE NANOPARTÍCULAS DE Pt/C Y Au@Pt	918
MEDICINA, FARMACIA Y SALUD	
FORMACIÓN DE UN COMPLEJO MANGIFERINA/ β -CICLODEXTRINA Y DETERMINACIÓN DE SU CONSTANTE DE INCLUSIÓN POR EL MÉTODO DE HIGUCHI-CONNORS	928
CARACTERIZACIÓN Y CUANTIFICACIÓN ELECTROANALÍTICA DE DICLOFENACO USANDO OPTIMIZACIÓN BOX-BEHNKEN Y ELECTRODOS A BASE DE NANOTUBOS DE CARBONO MULTIPARED Y NANOPARTÍCULAS DE TiO ₂	934

DETERMINACIÓN DE CUERPOS CETÓNICOS EN MUESTRAS FORENSES POR CROMATOGRAFÍA DE GASES CON INYECCIÓN POR ESPACIO DE CABEZA	943
IMPLEMENTACIÓN DE UN MÉTODO PARA LA EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE IBUPROFENO DE TABLETAS DE MEDICAMENTOS NACIONALES DE DIFERENTES MARCAS PARA ENSAYOS DE IDENTIDAD	951
VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CAPTOPRIL EN JARABE (FORMULACIÓN MAGISTRAL PARA USO PEDIÁTRICO)	958
DETERMINACIÓN DE LA QUERCETINA EN MEDIO MICELAR USANDO FLUORESCENCIA	965
ESTUDIO DE COMPLEJOS DE INCLUSIÓN DE ISOXICAM (ISX) CON 2-HIDROXIPROPIL- β -CICLODEXTRINA (CD) MEDIANTE POLARIMETRÍA	971
BIOSENSOR DE AGLUTININA DE VICIA VILLOSA PARA LA DETECCIÓN DEL ANTÍGENO T _n ASOCIADO A CARCINOMAS	978
CARACTERIZACIÓN Y CUANTIFICACIÓN ELECTROQUÍMICA DE CEFTIOFUR EN ELECTRODOS DE PASTA DE CARBONO MODIFICADOS CON β -CICLODEXTRINA	986
ESTUDIO ELECTROQUÍMICO 3, 3', 4', 5, 7-PENTAHIDROXIFLAVONA, FLAVONOIDE CON PROPIEDADES ANTIOXIDANTES	993

PRÓLOGO

La Asociación Mexicana de Química Analítica está tratando de construir una tradición y un legado en México para los profesionales de la Química Analítica, con la edición de compendios de Química Analítica titulados “Teoría y Aplicaciones de la Química Analítica en México”.

La presente obra es una muestra de los trabajos Química Analítica que se realizan en México en la actualidad, los cuales fueron sometidos a arbitraje por la Junta de Representantes de la Asociación (para garantizar la calidad académica de la obra) de manera que en los años venideros se puedan confrontar los progresos que se van haciendo, esperando que la AMQA pueda seguir contribuyendo al desarrollo de los profesionales de la química analítica en México y en América Latina.

Comité Directivo de la AMQA

Junta de Representantes de la AMQA

Contribuciones de Jóvenes Investigadores

DETERMINACIÓN DE CAFEÍNA EN BEBIDAS ENERGIZANTES POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV/VIS–REGULACIÓN POR NORMA

Cristina Alejandra Hernández Galván*
Alejandro Daniel Ibarra Ramírez
Héctor Rodolfo Becerra González
Sahira Polett Zepeda Covarrubias
Jazmín del Rocío Sánchez Soltero
María de Jesús Medina Ledesma¹

INTRODUCCIÓN

La cafeína es un alcaloide del grupo de las xantinas, concretamente pertenece a la familia de las metilxantinas, que también incluye los compuestos teofilina y teobromina, con estructura química similar y con equivalentes efectos en el organismo.

También es conocida como trimetilxantina, teína, mateína, guaranína, metilteobromina o metilteofilina, ya que se obtiene por extracción de materiales vegetales como el café, té, guaraná, chocolate, yerba mate o la nuez de cola [1].

La cafeína se absorbe por el tracto intestinal de forma rápida y completa, presentando una biodisponibilidad del 100%. El tiempo en el que se alcanza la máxima concentración plasmática ($T_{máx}$) es de 30 a 45 minutos en ayunas y se prolonga con la ingesta de alimentos.

Tiene un volumen de distribución de 0.6 a 0.7 L/kg, Atraviesa la barrera hematoencefálica y la placentaria, también pasa a la leche materna, saliva, bilis y semen. Las grandes diferencias interindividuales observadas en la concentración plasmática de cafeína tras la administración de una misma dosis se deben principalmente a las variaciones en el metabolismo [2].

A nivel molecular las metilxantinas inhiben la cicloadenosina 3',5'-monofosfato (cAMP; AMP cíclico)

¹ Universidad de Guadalajara. Área de Química Analítica. Laboratorio de Química Analítica edificio Y. Boulevard General Marcelino García Barragán 1421, Col. Olímpica, Guadalajara, Jalisco. C.P. 44430. Tel: +52 (33) 1378 5900. e-mail: alexandra020797@hotmail.com; adir_hidalgo2552@hotmail.com. 3315127376.

fosfodiesterasa, que cataliza la hidrólisis del AMP cíclico, el cual ejerce acción sobre varios procesos bioquímicos, incluyendo la regulación del glucógeno y el metabolismo de lípidos.

Los efectos de las metilxantinas se pueden atribuir a su participación en el bloqueo de ciertos receptores de membrana para la adenosina. Dado que la adenosina endógena suele ser inhibidora de las reacciones neurológicas, se postula que las metilxantinas ejercen su acción al estimular los diversos receptores y potenciar los efectos de la sinapsis celular [3].

En el pasado las muy conocidas como “bebidas energizantes” presentaban un contenido de cafeína mayor que las que actualmente se comercializan como “bebidas con cafeína” u otras denominaciones como “bebidas con guaraná”, “bebidas con extracto de té verde”, entre otras. Este cambio obedece a que en México desde 2011 las bebidas que contienen cafeína están reguladas a través de la Norma Oficial Mexicana NOM-218-SSA1-2011, donde se indica que la concentración máxima de este alcaloide no sea mayor a 200 mg/L, Esta norma es de observancia obligatoria en el Territorio Nacional para las personas físicas o morales que se dedican a su proceso o importación.

El consumo agudo o crónico de cafeína puede dar lugar a una amplia variedad de efectos adversos, intoxicaciones e incluso la muerte. Finalmente, destacar que la cafeína puede considerarse una droga de abuso.

El trabajo expuesto se centrará en la concentración de cafeína ya que hay poca o nula regulación de consumo al obtenerse en el mercado de forma accesible, sin conocer las consecuencias que tiene sobre el organismo [4].

EXPERIMENTACIÓN

La experimentación se realizó en el laboratorio de Química Analítica del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías (CUCEI).

El análisis estadístico que se llevó a cabo fue un modelo unifactorial con 3 niveles y 4 réplicas, donde los niveles fueron las variaciones de concentraciones de 4 diversas bebidas energéticas utilizadas como muestras. La variable de respuesta es la absorbancia registrada. Se usaron 4 muestras de marcas diferentes de bebidas energizantes, más vendidas a la población. Para la determinación y caracterización de la cafeína se utilizó espectroscopía UV-VIS como método de análisis. La espectrometría ultravioleta-visible o espectrofotometría UV-Vis implica la

espectroscopia de fotones en la región de radiación ultravioleta-visible.

Utiliza la luz en los rangos visible y adyacentes (el ultravioleta (UV) cercano y el infrarrojo (IR) cercano).

En esta región del espectro electromagnético, las moléculas se someten a transiciones electrónicas.

La espectrometría UV/Vis se utiliza habitualmente en la determinación cuantitativa de soluciones de iones metálicos de transición y compuestos orgánicos muy conjugados.

Los disolventes para estas determinaciones son a menudo el agua para los compuestos solubles en agua, o el etanol para compuestos orgánicos solubles.

La espectrometría UV-Vis se utiliza con mayor frecuencia en forma cuantitativa para determinar las concentraciones de especies absorbentes en solución, usando la Ley de Beer-Lambert:

$$A = \log_{10}(I/I_0) = (\varepsilon) (c) (L) \quad (1)$$

Se aplica una técnica de corrección de interferencias llamada “Absorbancia Corregida” para encontrar el contenido de cafeína en las bebidas energizantes, usando la Espectrofotometría UV.VIS mostrado en la figura 1, se utiliza la fórmula:

$$A_c = A_2 - \left[\frac{(A_3 - A_1)}{(\gamma_3 - \gamma_1)} (\gamma_2 - \gamma_1) + A_1 \right] \quad (2)$$

Dónde: A = Absorbancia λ = Longitud de Onda

Se realizaron 5 disoluciones de concentración conocida (0, 5, 10, 15, 20 ppm) a partir de una solución madre de cafeína 1000 ppm.

Posteriormente se diluyeron las muestras de tal manera que la concentración estuviera dentro del intervalo de trabajo. Se procedió a realizar un barrido en el espectrofotómetro con la solución de 20 ppm de la cual se toman las 3 longitudes de onda para la aplicación de la fórmula y se procedió con la lectura de las disoluciones estándar y de las muestras a las 3 longitudes de onda seleccionadas.

Para determinar la concentración de cafeína en ppm, se aplicó la fórmula 2 y se verificó si las muestras analizadas cumplen con las especificaciones de la NOM-218-SSA1-2011.

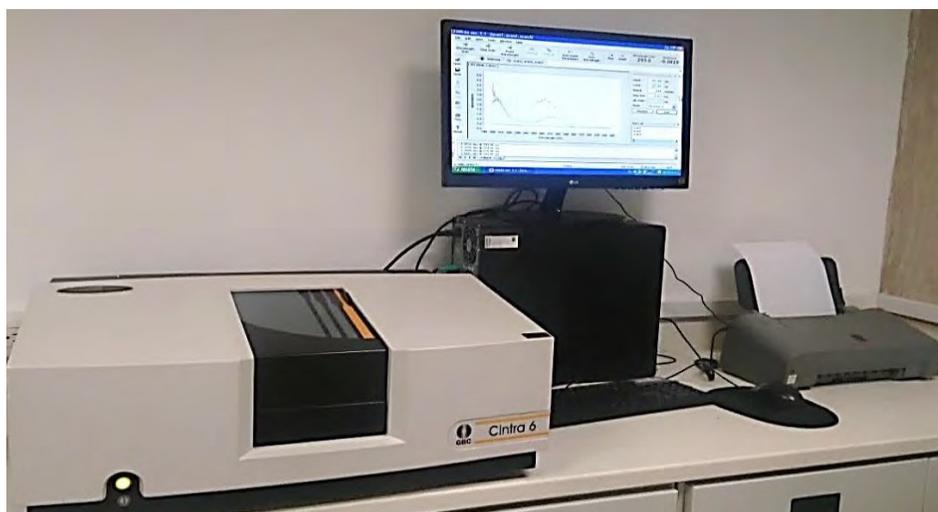


Figura 1. Espectrofotómetro de Región UV marca Cintra 6

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al realizar el barrido de mayor absorbancia de cafeína y utilizando absorbancia corregida, las tres longitudes de onda seleccionadas son:

λ 1: 244 nm,

λ 2: 272 nm

λ 3: 293 nm.

Como se observa en la tabla 1, el valor de la F calculada es 1.62 es mayor que el valor P 0.2601. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de Absorbancias de las muestras analizadas, con un nivel del 95.0% de confianza. Este procedimiento ejecuta un análisis de varianza de un factor para absorbancia. Se construyeron pruebas y gráficas para comparar los valores medios de ABSORBANCIA para las 4 diferentes muestras.

Tabla 1. Tabla ANOVA para ABSORBANCIA por MUESTRA

Fuente	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2.55684	3	0.852279	1.62	0.2601
Intra grupos	4.20991	8	0.526238		
Total (Corr.)	6.76674	11			

En la figura 2 se identifica un rango de absorbancia mayor (línea naranja) a la absorbancia de la concentración estándar (línea verde), por lo tanto, aún sin realizar los cálculos correspondientes, se puede ver que la concentración es mayor de la esperada.

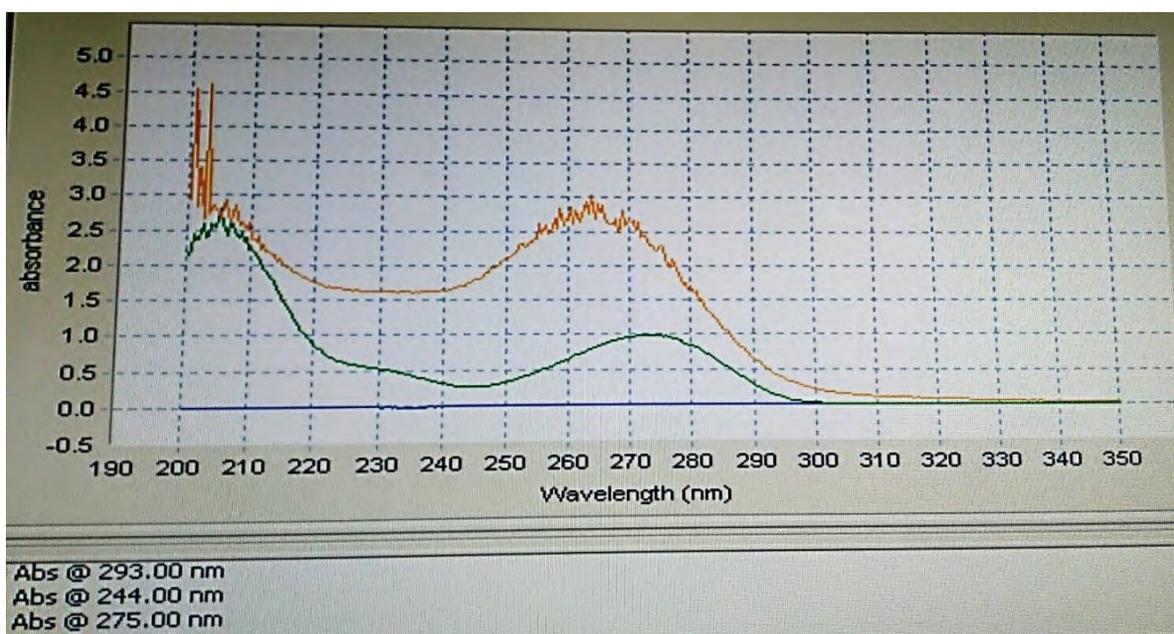


Figura 2. Gráfica de Absorbancia en Espectrofotómetro UV

En la tabla 2 se muestran los resultados después de realizar los cálculos correspondientes sobre la concentración de cafeína en cada bebida por litro como lo indica la norma.

Tabla 2. Concentraciones obtenidas por volumen de bebida

MUESTRA	CONCENTRACIÓN
Monster	680.97 mg/L
Vive 100	558.82 mg/L
Red Bull	216.84 mg/L
Rockstar	473.29 mg/L

CONCLUSIONES

Con base en la experimentación se comprueba que las 4 marcas de bebidas energizantes analizadas sobrepasan la cantidad de cafeína, no cumpliendo con lo reportado en la etiqueta respecto a la concentración permitida por la NOM-218-SSA1- 2011 (Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína).

Con los resultados obtenidos se puede determinar que este tipo de bebidas son muy adictivas por los diversos receptores organolépticos en nuestro sistema (sabor, aroma) y a largo plazo dañan la salud de quienes las consumen, además de contener cafeína la presencia de potenciadores y aditivos que las hacen más riesgosas en los efectos ocasionados.

Por lo tanto, al conocer estas bebidas con las sustancias que contienen y los daños que pueden causar, es recomendable prohibir su venta a menores de edad y a personas con padecimientos renales, cardíacos o de índole similar.

Por último, se recomienda colocar una leyenda en la etiqueta que indique los efectos y daños adversos a la salud.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Jazmín del Rocío Sánchez Soltero por el gran apoyo que nos ha proporcionado, sin

sus sugerencias hubiera sido un proceso complicado a desarrollar.

A la MASI María de Jesús Medina Ledesma por brindarnos la asesoría correspondiente a la hora de desarrollar la experimentación, corrección de cálculos y conclusiones.

Finalmente, a nuestros padres y amigos los cuales se interesaron en el desarrollo y nos proporcionaron su cariño y comprensión.

REFERENCIAS

- [1] S. Calle. Determinación analítica de la cafeína en diferentes productos comerciales. Barcelona, España. (2012).
- [2] J.E. Sánchez. Bebidas energizantes: efectos benéficos y perjudiciales para la salud. *Perspectivas en nutrición humana*. **17**, 79-97 (2015).
- [3] El Laboratorio Profeco. Bebidas con cafeína, taurina y otros ingredientes. *Revista del Consumidor*. **460**, 58-71 (2015).
- [4] S. Seifert, J. Schaechter, E. Hershorin, S. Lipshultz. Health Effects of Energy Drinks on Children, Adolescents and Young Adults. **127** [3] 511-528 (2011).

DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE MERCURIO EN VACUNAS CONTRA LA HEPATITIS B EN DOSIS OBTENIDAS EN CLÍNICAS DEL INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL (IMSS)

Manuel Alexander Guardado Macías
Yareni Joceline Razo González
Yesenia Sandoval Villegas
Jazmín del Rocío Soltero Sánchez
Eulogio Orozco Guareño¹

INTRODUCCIÓN

Uno de los mayores logros en salud ha sido el control de enfermedades transmisibles mediante la vacunación. Para alcanzar este objetivo, el desarrollo continúa hacia la elaboración de nuevas vacunas, cada vez más eficaces y más seguras [1].

El uso de conservantes en vacunas se implementó luego de ocurrir accidentes trágicos por la contaminación de frascos multidosis que no contenían conservantes. En 1968, el Código de Regulaciones Federales de Estados Unidos estableció el uso de conservantes (incluyendo el tiomersal) en frascos multidosis de vacunas, excepto para vacunas virales vivas atenuadas [2].

El tiomersal es un compuesto orgánico que contiene aproximadamente un 50% de mercurio Hg en peso [3] fundamentalmente, para evitar la contaminación bacteriana y fúngica durante la elaboración de las vacunas o en frascos de vacunas envasadas en multidosis [2]. La dosis normal de una vacuna pediátrica contiene aproximadamente 12.5 a 25 µg Hg / 0.5 mL [4]

¹ Universidad de Guadalajara (UdeG), Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías (CUCEI) Laboratorio de fisicoquímica, Blvd. Marcelino García Barragán #1421, esq. Calzada Olímpica, C.P. 44430, Guadalajara, Jalisco, México. Teléfono: +52 (33) 1378 5900.

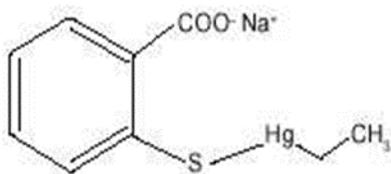


Figura 1. Estructura química del tiomersal

El contenido de Hg en el tiomersal está en forma de etilmercurio (etil-Hg), el cual puede ser convertido en metil-mercurio (Me-Hg) y acumularse en el cerebro [5]. Me-Hg es un compuesto orgánico del Hg ampliamente estudiado por su efecto nocivo para la salud. Existe cierta equivalencia entre el etil-Hg y el Me-Hg, ya que ambos tienen una estructura química muy similar, por lo tanto, se considera que el etil-Hg también se transformaría en Hg orgánico. En altas dosis, ambos están asociados con neurotoxicidad [1].

En 1999, con un aumento reconocido en la prevalencia de síndromes del espectro autista, llamó la atención el tiomersal como un factor de riesgo potencial, especialmente en combinación con vacunas como el sarampión, vacunación contra paperas y rubéola (MMR) [6]. Gran parte de esta preocupación se basaba en la neurotoxicidad producida por el Me-Hg, en el momento de la vacunación durante el primer año de vida cuando la barrera hematoencefálica es más permeable al paso de metales [6].

Hornig (2004) observó que una dosis baja de tiomersal induce un daño en el sistema nervioso central en ratones sensibles a enfermedades autoinmunes, pero no en cepas resistente a la autoinmunidad. También observó los efectos neurotóxicos de dosis bajas de tiomersal usando un hámster con 7 días de nacido. Por lo tanto, la influencia de la genética y los factores de maduración pueden fuertemente afectar la acción neurotóxica del tiomersal como se describe por Hornig (2004) y Laurente (2007) [4, 7].

Según Walker (2006), quien realizó estudios evaluando la respuesta de las Metalotioneínas (MTs) celulares a la exposición del tiomersal en niños con autismo, aseguró que una dosis baja de tiomersal afecta al cerebelo. A partir de estos resultados Minami (2010), especuló que una dosis fisiológica de tiomersal incluido en las vacunas puede afectar el cerebelo, incluso a dosis bajas de tiomersal [8, 9].

EXPERIMENTACIÓN

Para la determinación de mercurio en las vacunas de la hepatitis B obtenidas en centros de salud del IMSS en la ciudad de Guadalajara, se realizó el método analítico de espectrofotometría UV/Vis. Los pasos que se realizaron para la digestión de la muestra y de los estándares fueron los siguientes:

Se disolvieron 35 mg de ditizona en 80 mL de cloroformo, y se transfirieron a un matraz volumétrico de 500.0 mL completando su volumen con cloroformo. De esta solución se hizo una dilución en cloroformo 1 en 7.

La vacuna se homogenizó y se transfirió 1 mL a un vaso de precipitado. Se agregaron 3 mL de agua destilada (dilución final 1:4), se tomó 1 mL de esta solución y se transfirió a un matraz Erlenmeyer. Posteriormente se agregó al matraz Erlenmeyer con la muestra 2 mL de una mezcla 50:50 v/v de ácido sulfúrico químicamente puro (QP) y ácido nítrico QP. Se colocó la muestra a ebullición por 10 minutos. Una vez que la mezcla alcanzó temperatura ambiente, se adicionó 10 mL de agua destilada y 2 mL de clorhidrato de hidroxilamina a 50% P/V (Peso/Volumen). Se colocó nuevamente a ebullición durante un minuto, se enfrió y se transfirió el líquido a un embudo de decantación filtrando a través de algodón. Se lavó el matraz Erlenmeyer con 70 mL de agua destilada y se transfirió de la misma manera al embudo de decantación. Una vez llegando a este punto se agregó 10 mL de la solución de ditizona 1:5 anteriormente preparada, se agitó vigorosamente y se dejó reposar por un minuto, después se filtró con algodón y se recuperó la fase orgánica (clorofórmica) en un matraz Erlenmeyer. Se procedió inmediatamente a la medida de la absorbancia del filtrado en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 485 nm (anteriormente se realizó un barrido para determinar la longitud de onda de máxima absorción de 400 a 700 nm).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la elaboración de la curva de calibración se preparó una solución madre de tiomersal (60 µg/mL de mercurio), y partir de esta solución se preparó en matraces volumétricos de 10.0 mL, las soluciones estándar con concentraciones de: 0 µg Hg/mL, 6 µg Hg/mL, 12 µg Hg/mL, 18 µg Hg/mL, y 24 µg Hg/mL. Después se procedió a realizar el mismo tratamiento de digestión descrito para las vacunas, y se realizaron las lecturas de absorbancia en el espectrofotómetro UV/Vis a 485 nm.

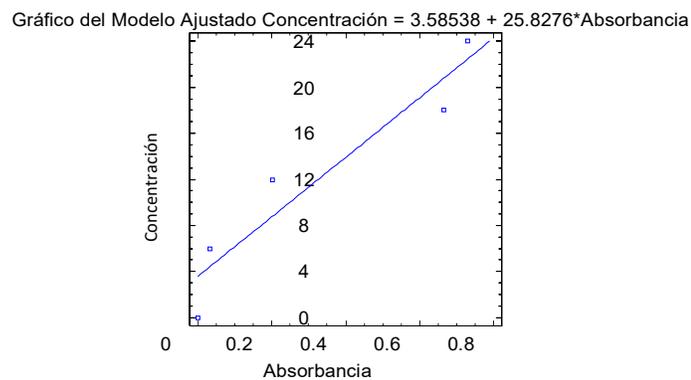


Figura 2. Curva de calibración.

El modelo de regresión lineal tiene un coeficiente de correlación de 0.949185, y una R-cuadrada de 90.1 %, siendo una correlación positiva

En la tabla 1 se encuentra expresado el modelo de regresión lineal; con un intercepto de 3.58538, una pendiente de 25.8276, un error de 2.22978 en el intercepto y de 4.9442 en la pendiente, se tiene un valor de P en el intercepto de 0.2062 mientras que en la pendiente de 0.0136, por lo tanto, la ecuación de regresión del modelo ajustado es la siguiente. Concentración = 3.58538 + 25.8276*Absorbancia.

Tabla 1. Modelo de regresión lineal

	Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	
Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
Intercepto	3.58538	2.22978	1.60795	0.2062
Pendiente	25.8276	4.9442	5.22381	0.0136

La OMS en el artículo “Inmunización, Vacunas y Productos Biológicos”, indica que generalmente las vacunas contienen diferentes concentraciones de tiomersal como conservante (entre 8 y 50 μg por dosis). Las concentraciones encontradas en las vacunas otorgadas por instituciones de salud pública como lo es el IMSS varían desde 10.0 a 13.3 $\mu\text{g Hg} / 0.5 \text{ mL}$ (tabla 2) sin considerar el porcentaje de pérdida en el proceso de digestión y extracción, esto sugiere que los niños que adquieren la vacuna de la hepatitis B como medida preventiva ante esta enfermedad habrán recibido de 32.8 a 40 μg de Hg a los 6 meses de administrada la primera vacuna, límites que están dentro de las cantidades de Hg que la FDA (259 μg) y la OMS (305 μg) establecen como máximos permisibles de exposición. Sin embargo, esto no exenta a las vacunas pediátricas contra la hepatitis B de causar efectos tóxicos; Minami et al. (2010), asegura que incluso estas concentraciones pueden existir daños al cerebelo [9]; Hornig et al. (2004), administró tiomersal a concentraciones de 5.6–14.2 $\mu\text{g EtHg/kg}$ en ratones postnatales y observó retraso de crecimiento, locomoción reducida; respuesta exagerada a la novedad; y neuronas hipocampales hipercrómicas densamente empaquetadas con receptores y transportadores de glutamato alterados [4]; Minami et al. (2010) explicó que a concentraciones de Tiomerosal de 12 $\mu\text{g/kg}$ en ratones que los de niveles de MT-1 y MT- 3 mRNAs se expresan con excepción de MT-2 mRNA en el cerebelo en lugar de en el cerebro [9].

Tabla 2. Concentraciones de Hg obtenidas a partir de las muestras problema, las cuales se obtuvieron extrapolando e interpolando en la curva de calibración realizada con los estándares.

VACUNA	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN DE Hg DE LA VACUNA (µg/mL)
1	0.073	21.9
2	0.097	24.4
3	0.055	20.0
4	0.111	25.8
5	0.119	26.6

CONCLUSIÓN

La vacunación es un avance importante para la prevención de enfermedades infecciosas, y sin ellas sería casi imposible controlar y erradicar ciertas patologías que causan muchos problemas en la sociedad, por lo que su uso se ha hecho indispensable, sin embargo, la utilización de ciertos compuestos en su elaboración puede reducir su seguridad de aplicación, como lo es el caso de la vacuna contra la Hepatitis B que es administrada en especial a niños de 1 a 7 meses de edad, el conservador que se utiliza en su elaboración para evitar que se contamine con ciertos microorganismos es el tiomersal, compuesto que se ha demostrado que por su concentración de Hg (49.5%) podría causar efectos nocivos en los niños, los cuales son más susceptibles a los efectos tóxicos.

El IMSS ofrece programas donde se administran este tipo de vacunas, y a pesar de que se comprobó que la concentración de Hg es muy baja (10.0 µg/0.5mL a 13.3 µg/0.5mL), existe evidencia de que aún en bajas concentraciones podría causar daños en especial a los niños.

Es importante continuar con este tipo de evaluaciones, y verificar que realmente la administración de la vacuna es segura y no implique algún riesgo a la salud.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Dra. Soltero Sánchez Jazmín Del Rocío, la cual siempre nos apoyó y aconsejó hasta el final. Al Dr. Gutiérrez González Porfirio, a la Dra. Sara Angelica Cortes Llamas que nos apoyaron con los aspectos técnicos del proyecto, así como a todas las personas que estuvieron con nosotros.

REFERENCIAS

- [1] Zambrano, Consideraciones generales sobre el mercurio, el timerosal, y su uso en vacunas pediátricas, 20, [Suppl. 1], 4 -11, (2004).
- [2] M. A. Muñoz, Seguridad de las vacunas que contienen timerosal: Declaración del Comité Consultivo de Inmunizaciones (CCI) de la Sociedad Chilena de Infectología, 24, [5], 372-376, (2007).
- [3] KM, H. A. Madsen, A Population-Based Study of Measles, Mumps, and Rubella Vaccination and Autism, 347, [Suppl. 19], 1477–1482, (2002).
- [4] M. Hornig, Neurotoxic effects of postnatal thimerosal are mouse strain dependent, 9, 833–845, (2004).
- [5] J. W.-J.-D.-Y. Yan-Ni Chen. Effect of thimerosal on the neurodevelopment of premature rats, 9, [Suppl. 4], 356-360, (2013). Immunization Safety Review Committee, Immunization Safety Review: Vaccines and Autism. Washington (DC), (US) (2004).
- [6] J, R. F. Laurente, Neurotoxic effects of thimerosal at vaccines doses on the encephalon and development in 7 days-old hamsters, 68, [Suppl. 3], 222– 37, (2007).
- [7] SJ, S. J. Walker, Cultured lymphocytes from autistic children and non- autistic siblings up-regulate heat shock protein RNA in response to thimerosal challenge, 27, [Suppl. 5], 685–692 (2006).
- [8] T, M. E. Minami, Induction of metallothionein in mouse cerebellum and cerebrum with low-dose thimerosal injection.26, [Suppl. 2], 143–152, (2010).

DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS Y CUANTIFICACIÓN DE ZINC, CADMIO, PLOMO Y COBRE EN *ORECHROMIS AUREUS* DEL LAGO DE CHAPALA

Eva Sofía Buenrostro Ramos
José Luis Carrillo Quintanar*
Brenda Paloma Iñiguez
Grecia Lizeth Juárez Fernández

Asesores:
Jazmín del Rocío Soltero Sánchez
Ramón Sebastián Villanueva García
Bernardo Gudiño Guzmán¹

INTRODUCCIÓN

La cuenca Lerma-Santiago-Pacífico termina en el Lago de Chapala; este es el lago mexicano de mayor dimensión. Se encuentra localizado al oriente del Estado de Jalisco y al noreste del Estado de Michoacán, y cubre un área de aproximadamente 140 000 km². Con dimensiones de 70 km de largo y 15 km de ancho, el lago tiene una capacidad de almacenamiento máximo de 9 686 metros cúbicos (m³) [1, 2, 3].

El agua en la cuenca ha estado siendo contaminada durante varias décadas debido a las descargas provenientes de ciudades, industria y agricultura. A pesar de los esfuerzos que se han realizado para incrementar en número y capacidad las plantas de tratamiento de la cuenca, hoy día son desechadas cantidades importantes de agua residual sin tratamiento alguno [3].

El Lago de Chapala es el destino final del agua captada en la cuenca del río Lerma, refleja y - hasta cierto grado- magnifica los problemas relacionados con el agua en toda la cuenca. De los pocos datos existentes sobre metales pesados en el agua del lago, se ha observado que durante

¹ Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Área de Química. Blvd. Marcelino García Barragán 1421, C.P. 44430, Guadalajara, México. Tel: e-mail: Jose.CarrilloQ@alumno.udg.mx

épocas de bajos niveles del mismo, las concentraciones de cadmio y plomo rebasan los límites de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA, por sus siglas en inglés) y de la NOM-001-SEMARNAT-1996 [3,7].

La actividad pesquera del Lago de Chapala es una de las más importantes del sector en Jalisco, con una producción aproximada de 8000 toneladas (año 2010) que ha llegado a representar el 50% de la captura total de la entidad; la parte correspondiente al Estado de Michoacán también tiene una producción considerable. La tilapia es originaria de África, ha colonizado hábitats muy diversos, y tienen la posibilidad de adaptarse a los diversos tipos de aguas. Estos peces muchas veces se encuentran en contacto constante con los sedimentos de los lagos, que es donde muchas veces se acumulan los metales pesados [2].

EXPERIMENTACIÓN

Para llevar a cabo el proceso experimental se recolectaron muestras de *Oreochromis aureus* mejor conocido como tilapia, de la zona del Lago de Chapala que colinda con el municipio de Jocotepec, Jalisco.

Una vez obtenidas las muestras fueron llevadas al laboratorio para realizar los análisis respectivos.

La muestra se preparó para dos determinaciones analíticas: una cualitativa y otra cuantitativa; además se dividió en cuatro zonas el estudio de la misma: cabeza, cuerpo, cola y vísceras.

Para la determinación cualitativa, la muestra se digirió con agua regia, se centrifugó y se reservó la solución para experimentación. Con esta última se realizaron las marchas sistémicas de cationes. Esta determinación se hizo por duplicado para cada zona analizada.

En la determinación cuantitativa, la muestra se digirió de acuerdo con la metodología utilizada por Pramoda Ranasinghe y colaboradores en el trabajo *Determination of Heavy Metals in Tilapia using Various Digestion Methods*. Posteriormente se analizó las muestras empleando el método electroquímico de voltamperometría de redisolución anódica (ASV) con las soluciones digeridas de pescado con pH ajustado para su correcto procesamiento en el polarógrafo, conforme al documento realizado por el Mtro. Bernardo Gudiño Guzmán y colaboradores en el artículo "Determinación de Metales Pesados por (ASV) en el Canal De La Aurora, Juanacatlán, Jalisco."

mediante el cual se pudieron cuantificar cuatro metales por zona: zinc (Zn), cadmio (Cd), plomo (Pb) y cobre (Cu) [4,5].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De la parte experimental se obtienen dos secciones de resultados, las respectivas para el análisis cualitativo y las del análisis cuantitativo.

En la determinación cualitativa, con la elaboración de las marchas catiónicas, se determinó la presencia no solamente de metales pesados, sino además de otra variedad de metales presentes en la muestra. De acuerdo con el objetivo de este proyecto, la determinación de metales pesados en el pescado se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Metales pesados determinados cualitativamente en partes de pescado *Oreochromis aureus*.

Metal	Cabeza 1	Cabeza 2	Cuerpo 1	Cuerpo 2	Cola 1	Cola 2	Vísceras 1	Vísceras 2
Fe	*	*	*	*	*	*	*	*
Mn	*	*	*	*	*		*	
Zn	*	*	*	*	*	*	*	*
Cd							*	
Ni								*
Cu	*	*					*	*
Pb							*	*

Nota. El símbolo * indica que sí se detectó ese catión en la zona correspondiente. Mediante este análisis se determinó la existencia de Zn y Fe en las 4 áreas del pescado. De igual forma se observa una mayor presencia de metales en las vísceras, y con menor prevalencia, existe Cd y Ni.

El método cuantitativo permitió medir las concentraciones de los metales estipulados (zinc, cadmio, plomo y cobre). Se realizó un análisis voltamperométrico por adición sucesiva de estándar al licor obtenido de la digestión del cuerpo del pescado. Las adiciones fueron de 20, 40 y 60 μL de disolución estándar de 10 ppm. Posteriormente, se corrieron los voltamperogramas de ASV-SW, donde se obtuvieron datos de corriente en amperes (amp, A) contra concentración en microgramos por litro (C, $\mu\text{g/L}$). El valor de la corriente del pico a concentración 0 se debe al contenido del analito en la muestra por lo que la concentración se obtiene por extrapolación de $C_x = |b/m|$. Estas curvas pueden observarse en la figura 1.

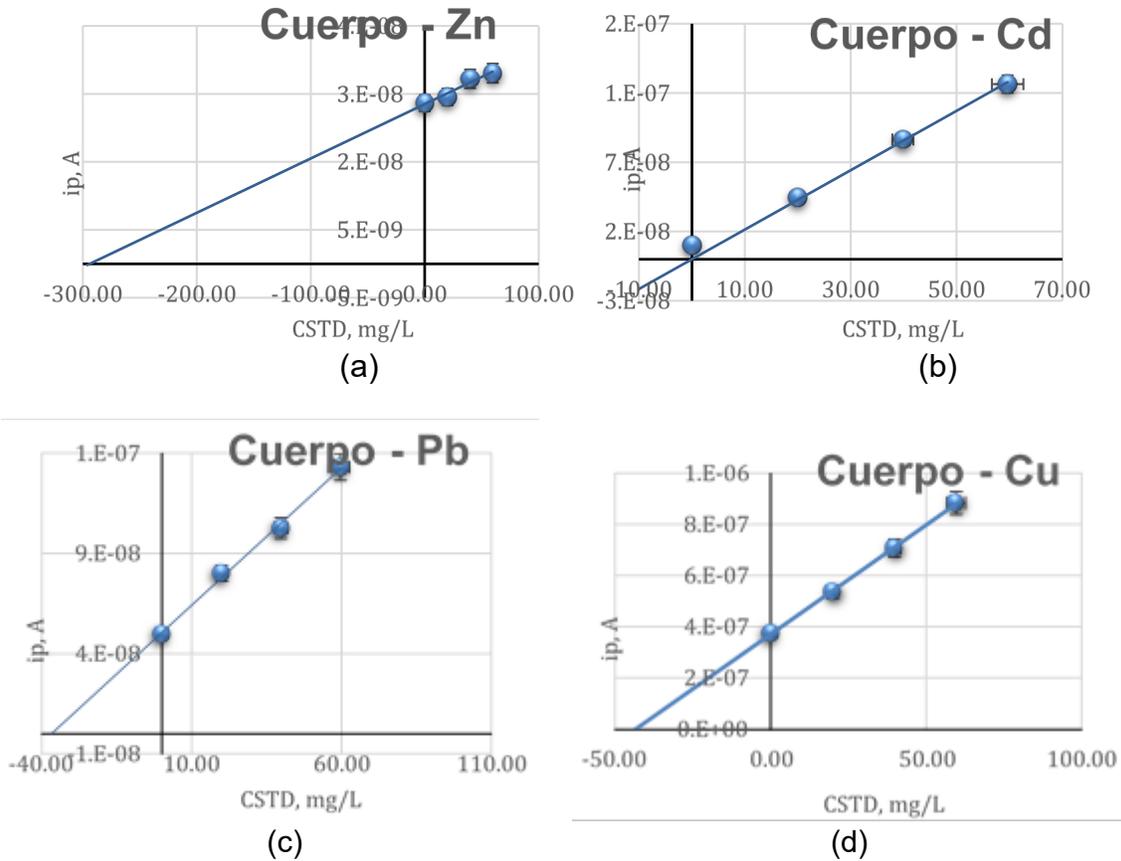


Figura 1. Curvas de calibración por adición sucesiva de estándar. a) Curva de calibración para zinc (Zn). b) Curva de calibración para cadmio (Cd). c) Curva de calibración para plomo (Pb). d) Curva de calibración para cobre (Cu).

Con la evaluación de las respectivas curvas y los cálculos correspondientes se obtuvo la concentración de metales en partes por billón (ppb) en el cuerpo del pescado, así como la concentración en microgramos sobre gramo de muestra (μg de metal/g de muestra) como se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Concentración de metales en cuerpo.

Metal	Concentración (ppb)	Concentración (μg de metal/g de muestra)
Zinc	587.512	15.6732
Cadmio	8.364	0.2231
Plomo	73.660	1.965
Cobre	86.971	2.3201

De acuerdo con estos valores, se obtuvieron las concentraciones de los metales para las restantes tres zonas del pescado en las mismas unidades ya especificadas para cuerpo como se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Concentración de metales en cabeza, cola y vísceras.

		Concentración (μg de metal/g de muestra)			
		Zinc	Cadmio	Plomo	Cobre
Zona del pescado	Cabeza	22.7504	0.1094	1.7890	2.3664
	Cola	52.2215	0.2466	1.0410	2.0752
	Vísceras	52.9020	0.6155	2.6880	7.9194

Finalmente, el análisis estadístico permitió mediante una regresión lineal y un análisis de varianza con una confianza del 95% encontrar las concentraciones de metales en las cuatro zonas del pescado, tal como se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Resultados finales de la concentración de metales pesados en las diferentes zonas del pescado, al 95% de confianza ($\alpha=0.5t$)

	Cuerpo	Cabeza	Cola	Vísceras
Zn	$15.66 \pm 0.67 \mu\text{g/g}$	$22.75 \pm 1.27 \mu\text{g/g}$	$52.22 \pm 7.96 \mu\text{g/g}$	$52.90 \pm 6.81 \mu\text{g/g}$
Cd	$0.21 \pm 0.12 \mu\text{g/g}$	$0.11 \pm 0.13 \mu\text{g/g}$	$0.25 \pm 0.11 \mu\text{g/g}$	$0.61 \pm 0.15 \mu\text{g/g}$
Pb	$1.96 \pm 0.18 \mu\text{g/g}$	$1.79 \pm 0.19 \mu\text{g/g}$	$1.04 \pm 0.20 \mu\text{g/g}$	$2.69 \pm 0.23 \mu\text{g/g}$
Cu	$2.32 \pm 0.07 \mu\text{g/g}$	$2.36 \pm 0.07 \mu\text{g/g}$	$2.07 \pm 0.06 \mu\text{g/g}$	$7.92 \pm 0.10 \mu\text{g/g}$

Además, el método electroquímico arrojó en su sistema de datos el voltamperograma que se observa en la figura 2.

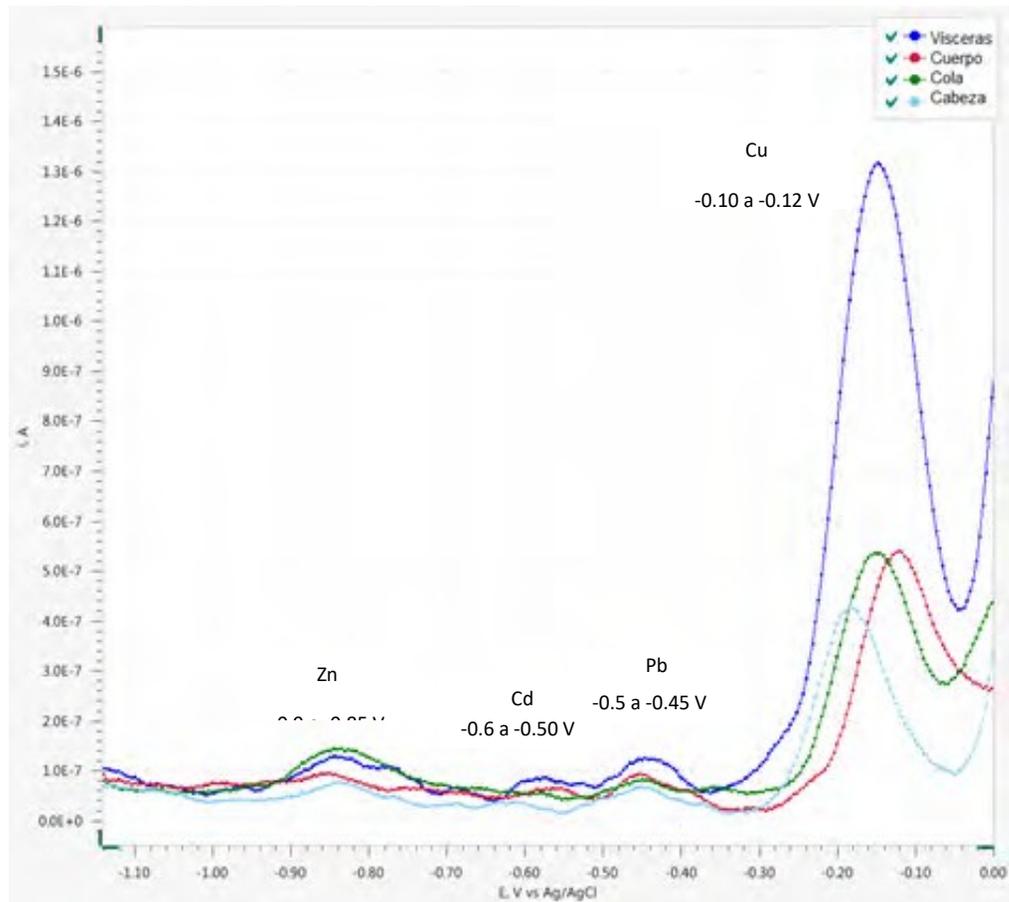


Figura 2. a) Voltamperogramas de redisolución ADSV-SW para las cuatro zonas evaluadas y los cuatro metales cuantificados. En un rango de potenciales 0.1 a -1.2 V vs. Ag/AgCl, la posición del potencial medio de cada pico determina la identidad de cada metal.

CONCLUSIONES

Según la experimentación realizada se puede observar que los pescados de la especie *Oreochromis aureus* provenientes de la zona de Jocotepec del Lago de Chapala, cualitativamente tienen presencia de más de un metal pesado; sin embargo, no todos fueron cuantificados, por esta razón no se puede afirmar que las concentraciones de estos rebasan los límites establecidos por la norma. Al comparar los resultados obtenidos de la cuantificación de zinc, cadmio, plomo y cobre con la norma NOM-027-SSA1-1993: Productos de la pesca, pescados frescos, refrigerados y congelados, especificaciones sanitarias; se concluyó que el cadmio y el plomo rebasan los

parámetros establecidos en la misma. Por otro lado, no es posible llegar a la misma conclusión para el zinc y cobre, debido a que estos metales pesados no están incluidos en dicha norma y de igual forma no son contemplados en otras normas mexicanas referentes al pescado. No se manejaron los valores establecidos para cualquier alimento debido a que se observó que los límites permisibles son mayores para esta clasificación.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo constante de nuestros tres asesores: Dra. Jazmín del Rocío Soltero Sánchez, Mtro. Ramón Sebastián Villanueva García y Mtro. Bernardo Gudiño Guzmán. Asimismo, a los demás docentes, personal académico y técnicos que facilitaron el acceso a los laboratorios del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías.

REFERENCIAS

- [1] Comisión Estatal del Agua Jalisco. (s.f.). Comisión Estatal del Agua Jalisco. Obtenido de Comisión Estatal del Agua Jalisco <http://www.ceajalisco.gob.mx/contenido/chapala/>
- [2] Instituto Nacional de Pesca. www.gob.mx. Obtenido de www.gob.mx: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/116412/Pesca_continental_web.pdf (2013).
- [3] Hansen, M. Afferden (s.f.). The Lerma-Chapala Watershed: Evaluation and Management. New York. (2001).
- [4] P. Ranasinghe, S. Weerasinghe, M. Kaumal. Determination of Heavy Metals in Tilapia using Various Digestion Methods. **3** [6] 38-48 (2016).
- [5] Gudiño-Guzmán, M. Bárcena-Soto, N. Casillas-Santana, M.H. Gutiérrez de la Torre.
- [6] E. R. Larios-Durán. Determinación de metales pesados por Voltamperometría de Redisolución Adsorbtiva en el canal de la Aurora, Juanacatlán, Jalisco. **1**, 1-11 (2017).
- [7] Norma oficial Mexicana NOM-027-SSA1-1993. Bienes y servicios. Productos de la pesca, pescados. Frescos-refrigerados y congelados. Especificaciones sanitarias (1995)
- [8] Obtenido: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/027ssa13.html>
- [9] Ley federal de Derechos. Disposiciones aplicables en materia de aguas Nacionales (2014). Comisión Nacional Del Agua. NOM-001-SEMARNAT-1996. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales y bienes nacionales. Obtenido de:
- [10] D. C. Harris, Análisis químico cuantitativo. 3ª Edición” España: Reverté. 89-91 (200

CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE 4 PRESAS DE USO AGRÍCOLA DE LAS REGIONES DE VALLES Y LAGUNAS DEL ESTADO DE JALISCO

Miriam Chávez Reynoso¹ *
María de la Luz Díaz Cardona¹
Angélica Yanet Uribe Orizaga¹
Eduardo Castañeda Aguirre²
Jazmín del Rocío Soltero Sánchez^{1,2}

INTRODUCCIÓN

Las obras de captación de agua son de primordial importancia, puesto que de ellas depende el suministro de agua para el hombre, el ganado y los cultivos [1,2]. Los iones más comunes en el agua de riego son los cloruros; los cuales permanecen libres en la solución del suelo y son absorbidos por las plantas [3]. Quien utilice el agua de riego debe conocer los efectos que la calidad del agua y las prácticas de riego tienen sobre: el contenido de sales del suelo; la concentración del sodio del suelo; la rapidez con que el agua penetra en el suelo, y la presencia de elementos que pueden ser tóxicos para las plantas [4]. La dureza del agua se debe principalmente a los iones calcio y magnesio las cuales son sustancias imprescindibles para el desarrollo de las plantas, sin embargo, en exceso o en desequilibrio pueden causar alteraciones [5]. El pH indica la concentración de iones de hidrogeno presentes en el agua, controla las reacciones químicas que determinan si los nutrientes van a estar o no disponibles para su absorción [6]. La alcalinidad es un parámetro importante ya que representa el principal sistema amortiguador del agua dulce y

¹ Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Departamento de Química. Boulevard Marcelino García Barragán, Calzada Olímpica, Ciudad Universitaria, Olímpica, 44430 Guadalajara, Jalisco. *miriam_n_n@hotmail.com

² Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Laboratorio de Análisis Químico Cuantitativo. Boulevard Marcelino García Barragán, Calzada Olímpica, Ciudad Universitaria, Olímpica, 44430 Guadalajara, Jalisco.

desempeña un rol principal en la productividad de cuerpos de agua naturales, sirviendo como una fuente de reserva para la fotosíntesis [7]. El presente trabajo se basó en la comparación de resultados frente a lo establecido en la por la Modificación a la NOM-127-SSA-1-1994, emitida en el 2000 "Salud Ambiental, Agua para Uso y Consumo Humano-Límites Permisibles de Calidad y Tratamientos a que Debe Someterse el Agua para su Potabilización".

EXPERIMENTACIÓN

Para el estudio se analizaron 4 presas: La Vega, Tepehuaje, San Ignacio y Cocula por medio de un muestreo simple, estas se caracterizaron usando varios parámetros fisicoquímicos, tales como cloruros, pH, dureza y alcalinidad mediante un análisis volumétrico excepto el pH ya que en ese se utilizó un potenciómetro. Esto se realizó en el laboratorio de Análisis Químico Cuantitativo del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías (CUCEI) de la Universidad de Guadalajara determinándose sus concentraciones en las unidades correspondientes. Con base a los datos obtenidos se realizó un análisis de componentes principales mediante el programa de Statgraphics versión centurión XV. II. Para la determinación de la dureza se colocaron 100 mL de muestra adicionando 1 mL de disolución reguladora de hidróxido de amonio-cloruro de pH 10 utilizando como indicador negro de eriocromo T, posteriormente se tituló con la disolución de EDTA 0.0104 N, hasta el punto final dando un vire de rojo a azul claro. En base al volumen gastado se determinó la dureza del agua y fue reportada en partes por millón como carbonato de calcio (CaCO_3). La disolución utilizada de EDTA fue valorada colocando 5 mL de una disolución estándar de calcio 0.01 M, se le adicionó agua hasta aproximadamente 50 mL y se valoró hasta el vire del indicador, obteniendo su molaridad [10].

Para la cuantificación de cloruros se colocaron 100 mL de muestra en un matraz erlenmeyer medidos con pipeta volumétrica, posteriormente se añadieron 20 gotas de indicador cromato de potasio (K_2CrO_4) y se tituló con una disolución de nitrato de plata (AgNO_3) 0.0194 N hasta aparición de una coloración rojiza permanente. En base al volumen gastado se determinó el contenido de cloruros en la muestra y fue reportada en partes por millón. La disolución de nitrato de plata utilizada fue valorada preparando una disolución de cloruro de sodio 0.05 N, se le añadió 1 mL de cromato de potasio como indicador y se tituló con nitrato de plata hasta el punto final del indicador de color amarillo al rojizo [11].

Para la determinación de alcalinidad se colocaron 100 mL de muestra en un matraz erlenmeyer medidos con pipeta volumétrica se adicionaron 3 gotas de indicador fenolftaleína, al dar una coloración rosa se tituló con disolución de HCl 0.1009 N hasta que desapareció la coloración, reportando el volumen gastado como volumen F; Una vez decolorada la muestra o en caso de no haber presentado coloración con la adición de fenolftaleína se adicionaron 3 gotas de indicador anaranjado de metilo y se tituló con la disolución de HCl hasta un vire de amarillo a naranja, reportando el volumen gastado como volumen M. Con base al volumen de disolución de HCl 0.1009 N gastado con cada indicador se determinó la concentración en partes por millón de carbonatos. La disolución utilizada de HCl se valoró pesando en la balanza analítica 0.1325 gramos de carbonato de sodio anhidro y desecado, se colocó en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, que contenía 25 mL de agua destilada, se le añadieron 3 gotas del indicador anaranjado de metilo y se tituló con la solución de HCl hasta vire del indicador de amarillo a naranja [11].

Por último, para la medición de pH se tomaron 250 mL de muestra en un vaso de precipitado de 500 mL y se llevó a un potenciómetro previamente verificado obteniendo los valores de pH correspondientes.

DISCUSIÓN Y RESULTADOS

En el estudio realizado se tomaron datos de los parámetros fisicoquímicos de cuatro presas de la región Valles y región Lagunas en el que se encontró un promedio de 19.3973 ppm en cloruros, 234.732 ppm de alcalinidad, 151.494 ppm en dureza y un pH de 7.7555, gracias a los promedios obtenidos de las cuatro presas estudiadas se tuvo un conocimiento general acerca de las condiciones en las que se encuentra el agua utilizada en los cultivos de esas regiones, ya que su ubicación es muy aproximada. El valor mínimo de cloruros fue de 9.415 ppm correspondiente a la presa de San Ignacio y un máximo de 38.794 ppm correspondiente a la presa de La Vega, el valor mínimo de alcalinidad obtenido fue de 171.632 ppm CaCO_3 correspondiente a la presa del Tepehuaje y un máximo de 297.832 ppm CaCO_3 correspondiente a la presa de Cocula, el valor mínimo de dureza fue de 71.063 ppm de CaCO_3 correspondiente a la presa de la Vega y un

máximo de 230. 537 ppm CaCO_3 correspondiente a la presa de Cocula, el valor mínimo de pH lo presentó la presa de San Ignacio con un valor de 7.281 y la presa del Tepehuaje registro el valor máximo de pH de 8.282. En la Tabla 1 se muestra los intervalos de confianza al 95% de las medias de los parámetros fisicoquímicos.

Tabla 1. Resultados del análisis de datos e intervalos de confianza al 95%

	Media	Error Estándar	Límite Inferior	Límite Superior
CLOURS	19.3973	6.5867	-1.5647	40.3592
ALCALINALIDAD	234.7320	29.0351	142.3290	327.1350
DUREZA	151.4940	32.6152	47.6982	255.2900
pH	7.7555	0.2160	7.0681	8.4429

En el parámetro de cloruros se encontró que los promedios varían entre 0 y 40.3592 ppm CaCO_3 , comparándolo con la modificación a la NOM-127-SSA1-1994 se puede concluir que todas las presas cumplen con la especificación de un valor no mayor a 250 ppm Cl^- ; por otro lado, en el parámetro de alcalinidad se encontró que los promedios varían entre 142.329 y 327.135 ppm de CaCO_3 sin embargo este parámetro no está normado. Por su parte en el parámetro de pH (potencial de hidrógeno) se encontró que los promedios varían entre 7.068 y 8.443, comparándolo con el límite máximo permisible establecido en la modificación a la NOM-127-SSA1-1994 con un rango de 6.5 - 8.5, se puede concluir que todas las presas cumplen con las especificaciones; Finalmente en el parámetro de dureza se encontró que los promedios varían de 47.6982 y 255.29 ppm de CaCO_3 , y el límite máximo permisible es de 500 ppm de CaCO_3 , lo cual indica que está dentro de especificación.

Análisis de componentes principales

En el análisis se encontró que con dos componentes se explica el 82.98 % de la variación total de las mediciones de los parámetros fisicoquímicos.

La siguiente figura expresa la variabilidad total de los parámetros fisicoquímicos, representa a los parámetros cloruros, dureza y pH mostrando una relación contraria entre ellos lo que significa que hay presas que se caracterizan por tener valores altos en cloruros y altos en pH y valores bajos en dureza. El segundo componente explica el 33.98% de la variación total de los parámetros fisicoquímicos, representa a los parámetros alcalinidad y pH mostrando una relación contraria entre

ellos lo que significa que hay presas que se caracterizan por tener valores altos de pH y valores bajos de alcalinidad.

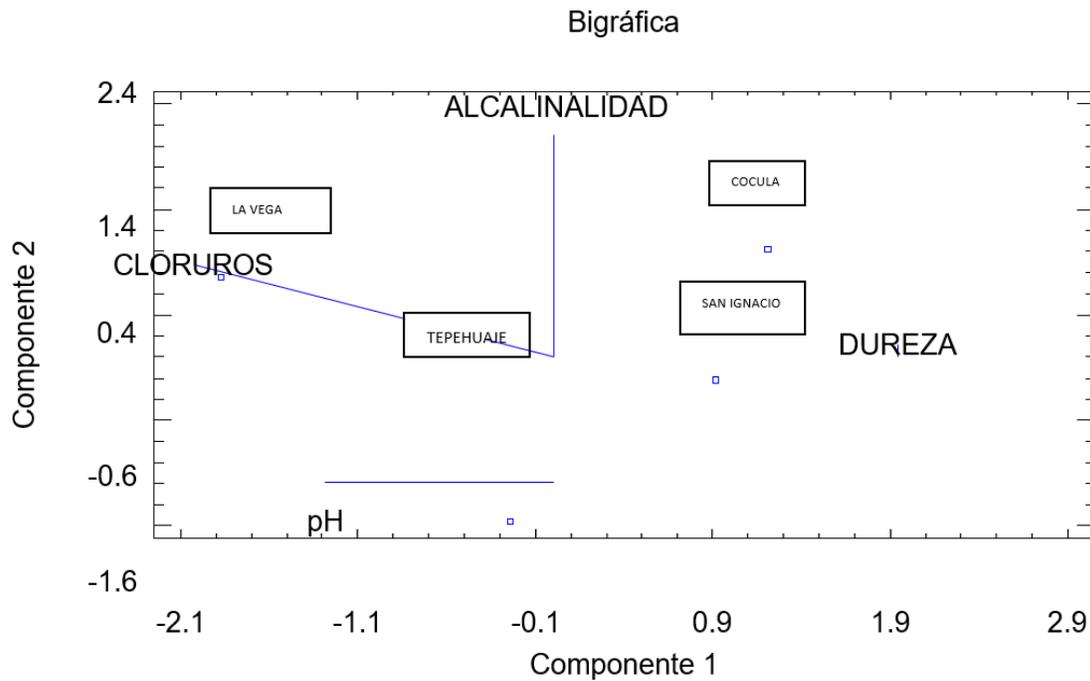


Figura 1. Caracterización fisicoquímica de las presas de la región Valles y Lagunas.

Por lo tanto, la presa de San Ignacio se caracteriza por valores altos de pH y valores bajos en dureza. La presa de Cocula se caracteriza por valores bajos de dureza y alcalinidad. La presa del Tepehuaje se caracteriza por altos valores de pH. La presa de La Vega se caracteriza por valores bajos en cloruros y valores altos en pH.

Las presas que presentan valores altos de pH tienden a generar cultivos deficientes de Hierro, Zinc y en algunos casos de fósforo, en cambio, las que muestran pH ácidos presentan deficiencia de potasio en un principio y posteriormente de nitrógeno. Debido a esto es necesario monitorear el pH del agua destinada al riego [9].

Todos los cultivos requieren cloruro en pequeñas cantidades ya que éste es un micronutriente esencial. Sin embargo, la presencia de valores altos en cloruros genera problemas de toxicidad, necrosis en las hojas y decremento en el rendimiento del cultivo [8].

Por su parte el efecto del agua de riego que presenta una elevada dureza es la formación de incrustaciones calcáreas, por ello, es importante conocer la dureza del agua de nuestra región, ya que ese dato permite ajustar el funcionamiento de los equipos de riego por goteo para que trabajen en forma más eficiente y así evitar muchos problemas de manejo [7].

CONCLUSIONES

Según los resultados obtenidos se concluye que la caracterización fisicoquímica del agua de riego muestra que, aunque algunas presas comparten un parámetro característico también cuentan con otro que las diferencia, por lo que el uso de ellas en los distintos cultivos podría generar un comportamiento o un resultado diferente en la calidad de las plantas y el suelo.

Sin embargo, todas las muestras analizadas demostraron ser aptas para uso humano debido a que ningún constituyente químico determinado y evaluado en este estudio sobrepasa los límites permisibles estipulados por la Modificación a la NOM-127-SSA-1- 1994, emitida en el 2000 "Salud Ambiental, Agua para Uso y Consumo Humano-Límites Permisibles de Calidad y Tratamientos a que Debe Someterse el Agua para su Potabilización". A excepción de la de alcalinidad ya que este parámetro no está normado y por lo tanto no puedo hacerse la comparación.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, deseamos expresar nuestros agradecimientos a nuestros asesores: La Dra. Jazmín del Rocío y al Mtro. Eduardo Castañeda Aguirre por el apoyo y la dedicación que han brindado a este proyecto así mismo a nuestra universidad el Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías por el préstamo de sus instalaciones.

REFERENCIAS

- [1] CONAGUA. Estadísticas de agua en México (2015).
<http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/EAM2015.pdf>
- [2] Dell`Amico, Morales, & Calaña. Monitoreo de la calidad del agua para riego de fuentes de abasto subterráneas en la parte alta del nacimiento de la cuenca Almendares-Vento. Cultivos Tropicales 71, (2011).
- [3] García. Criterios modernos para evaluación de la calidad del agua para riego (Septiembre de 2012). [http://www.ipni.net/publication/ialahp.nsf/0/6E4999FFE5F6B8F005257A920059B3B6/\\$FILE/Art%205.pdf](http://www.ipni.net/publication/ialahp.nsf/0/6E4999FFE5F6B8F005257A920059B3B6/$FILE/Art%205.pdf)
- [4] Palacios. Tratamiento electrostático, (Julio de 2010).
http://www.uach.mx/extension_y_difusion/synthesis/2011/06/01/tratamiento_elctrostatico_esp_del_agua_para_riego.pdf
- [5] Rodier, J., & B. Legube, Análisis del Agua . España: OMEGA. (2009).

- [6] A. Soriano, & F. Pancorbo, Suministro, distribución y evacuación interior de agua sanitaria. Barcelona: Marcombo. (2012).
- [7] Intagri.com. La Dureza del Agua y su Importancia en el Riego por Goteo IntagriS.C., (2018). <https://www.intagri.com/index.php/articulos/agua-riego/la-dureza-del-agua-y-su-importancia-en-el-riego-por-goteo> [Consulta 17 marzo 2018].
- [8] El Cloruro en las Plantas, Agua y Suelo (2018). <http://www.smart-fertilizer.com/es/articles/chloride> [Consulta 17 marzo 2018].
- [9] El pH del agua de riego, corrección con fertilizantes, ácidos y bases (2018). http://www.agro-tecnologia-tropical.com/el_ph.html [Consulta 17 marzo 2018].
- [10] RODIER, J. Análisis de Aguas: aguas naturales, aguas residuales, agua de mar. Barcelona: Omega, 1981.
- [11] V.M. Valdez Ramos. Química Analítica Cuantitativa. Manual de Prácticas. Centro de Ciencias Exactas e Ingenierías. 58, (2015).

CUANTIFICACIÓN DE TARTRAZINA Y AMARILLO OCASO EN POLVO SOLUBLE PARA PREPARAR DE AGUA FRESCA

Diana Lizbeth Ávila Nieto
Damaris Echavarría Rodríguez
Priscila Beatriz Frías Haro
Nora Patricia Grajeda Valadez
Jazmín del Rocío Soltero Sánchez
José de Jesús Luna Díaz¹

INTRODUCCIÓN

En el mercado se comercializan polvos, jarabes y concentrados para preparar bebidas saborizadas, elaborados con ingredientes naturales y/o artificiales que al disolverse con agua proporcionan las características sensoriales (sabor, color, olor y cuerpo a la bebida). Estas características sensoriales dependen del dulzor de los edulcorantes añadidos, de la acidez que le confieren los ácidos presentes, de los agentes saborizantes naturales y artificiales, así como de los conservadores empleados, entre otros factores. La mayoría de los fabricantes (especialmente los de productos en polvo) utiliza compuestos ácidos como la vitamina C (ácido ascórbico), que aumenta el tiempo de conservación y contribuye en el aporte vitamínico en la alimentación. Uno de los aditivos alimentarios más utilizado es el colorante, el cual aparece en una gran cantidad de productos comestibles, este es el colorante amarillo 5 o E102, conocido mayormente como “tartrazina”. La característica principal de este tipo de compuestos es que contiene un enlace azo (-N=N-), como un grupo cromóforo en asociación con estructuras aromáticas que contienen algunos grupos funcionales como OH- y SO₃H- (ácido sulfónico), entre otros. Los colorantes azoicos son muy estables, por lo cual persisten en condiciones ambientales dificultando así su decoloración y degradación [1]. Tiene como masa molecular 534,385 g/mol, absorbancia máxima 428 nm y es conocida como ácido amarillo. La tartrazina es uno de los colorantes artificiales más

¹ Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Boulevard Marcelino García Barragán No. 1451, esquina Calzada Olímpica. Guadalajara, Jalisco, México. C.P. 44430. Tel: +52 (33) 1378 5900

utilizados en la industria de alimentos; dicho colorante le confiere a los alimentos y bebidas un tono amarillo, más o menos anaranjado, dependiendo de la cantidad añadida, adicionalmente se emplea para obtener colores verdes al mezclarlo con colorantes azules; es ampliamente utilizado desde 1916 en productos de repostería, derivados cárnicos, sopas preparadas, conservas vegetales, salsas, helados, postres, caramelos y otras golosinas; también se utiliza para colorear bebidas refrescantes de naranja y limón; por ser uno de los colorantes más empleados su utilización se realiza en más de sesenta países del mundo, incluyendo Estados Unidos y la Unión Europea [2].

En 1959, S. Lockey encontró por primera vez una evidencia que la tartrazina inducía urticarias después de la ingestión de drogas de color amarillo, posteriormente se encontró evidencia que en determinados individuos este colorante nítrico desencadenaba un cierto número de reacciones adversas de tipo alérgico como: prurito, el edema, la urticaria, el asma y la rinitis [3].

En 1975, se encontró que entre el 10% y 40% de las personas intolerantes a la aspirina también lo son para la tartrazina. Y en 1979 la FDA exigió que la tartrazina fuera listada dentro de los ingredientes en la etiqueta de los productos [3]. El Parlamento Europeo aprobó una ley en julio de 2008 que requiere que los alimentos que contienen los colorantes alimentarios estudiados a ser etiquetados con *“pueden tener un efecto adverso sobre la actividad y la atención de los niños”*; o bien, *“Contiene tartrazina que puede producir reacciones alérgicas, tipo de angioedema, asma, urticaria y shock anafiláctico”*, lo anterior teniendo en cuenta las disposiciones expuestas por la sala especializada en medicamentos y productos biológicos de la comisión revisora dentro del concepto emitido en el acta No. 1 de 2007 [2]. Datos que pertenecen a la genotoxicidad o carcinogenicidad de la tartrazina en diversos sistemas con resultados negativos. Por otro lado, se ha demostrado que la tartrazina induce aberraciones en cromosomas en células de fibroblastos, en células de médula ósea de ratones y ratas y en los cromosomas de *Allium cepa*. En este estudio, las concentraciones más altas de tartrazina tienen un efecto tóxico significativo en la calidad de los cromosomas. Otro colorante estudiado es el llamado también amarillo ocaso o FD&C amarillo 6, el cuál confiere a los alimentos un color amarillo oscuro (tipo yema de huevo) o anaranjado. Perteneció al grupo de los colorantes azoicos, es del tipo monoazo, consiste principalmente de 2-hidroxi-1-(4-sulfonato fenilazo)-naftaleno-6-sulfonato disódico. Se obtiene por síntesis química y se presenta en forma de polvo o gránulos de color rojo anaranjado. Es soluble en agua y glicerina e insoluble en etanol. El reglamento sanitario establece que debe aparecer bajo rotulación

destacada, debido a su potencial toxicidad. [4]. Los efectos secundarios son la urticaria, rinitis (secreción nasa), congestión nasal, alergias, hiperactividad, tumores renales (podría ser un efecto secundario), dolor abdominal, náuseas, vómitos, indigestión y un aumento de la incidencia de tumores en animales (no existen estudios en seres humanos). Al parecer, la causa alérgica y/o reacciones de intolerancia, se dan particularmente entre las personas con intolerancia a la aspirina. Algunas fuentes principales de estos colorantes son: los productos de confitería, productos de panificación, bebidas de sabor, polvos de bebidas, entre otros [4].

El objetivo de este trabajo fue cuantificar la cantidad de los colorantes: tartrazina (amarillo 5) y amarillo ocaso (amarillo 6) contenidos en polvos solubles para aguas fresca en tres diferentes marcas comerciales.

EXPERIMENTACIÓN

Se realizó una investigación de tipo transversal analítico utilizando polvo soluble para agua fresca de 4 diferentes muestras designadas con el código M1, M2, M3 y M4. El análisis se realizó por espectroscopia UV-Visible usando la metodología de mezclas binarias. Los estándares se realizaron a partir de dos soluciones madre (solución madre amarillo 5 y solución madre amarillo 6) de 1000 ppm, las cuáles fueron diluidas a 10 ppm y de éstas se realizaron los estándares de 0-10 ppm.

Se realizó un barrido en el espectrofotómetro UV-Vis con estándares de los colorantes, obteniendo una absorción máxima en las longitudes de onda de 429 nm y 484 nm para el estándar del amarillo 5 (tartrazina) y el estándar del amarillo ocaso 6 (amarillo crepúsculo), respectivamente. Posteriormente se corrieron los estándares en un rango de concentración de 0-10 ppm para ambos colorantes. Consecutivamente se introdujeron las muestras al espectrofotómetro y se leyeron las absorbancias a las longitudes de onda máximas.

Para las muestras se pesaron 5 gramos de los diferentes polvos solubles previamente seleccionados, posteriormente se disolvió cada una en un poco de agua destilada en un matraz para después llevarlo hasta la aforo. En seguida fueron centrifugadas para eliminar el sedimento que no es soluble en agua, una vez hecho esto, con el sobrenadante de cada muestra se hicieron diluciones de 1:25 mL, las cuales se llevaron al análisis por espectrofotometría UV-Vis a longitud de onda máxima ya determinada con anterioridad.

Donde:
$$Y_{\lambda=484 \text{ nm}} = (0.02033) X_1 + (0.0399) X_2 \quad (1)$$

$$Y_{\lambda=429 \text{ nm}} = (0.05198) X_1 + (0.02004) X_2 \quad (2)$$

Y= Absorbancia de la muestra. E= Absortividad (L/cm•mg)

X₁= Concentración de amarillo 5 en ppm. X₂= Concentración de amarillo 6 en ppm.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se puede observar que todas las muestras rebasan los límites máximos permisibles del colorante amarillo 5 y amarillo 6 con respecto a la Norma Mexicana.

Tabla 1. Comparación de las concentraciones obtenidas en porcentaje de las diferentes marcas con los límites máximos permisibles de acuerdo a la norma oficial mexicana NOM-218-SSA1-2011 [5].

Concentración en porcentaje			Límites máximos permisibles NOM-218-SSA1-2011 [5]	
MARCA	AMARILLO 5 (ppm)	AMARILLO 6 (ppm)	AMARILLO 5 (ppm)	AMARILLO 6 (ppm)
M1	2106	2920	100	100
M2	1840	2875	100	100
M3	654	1109	100	100
M4	888	974	100	100

Tabla 2. Pruebas de Rangos Múltiples para bebidas en ppm

BEBIDA	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
M3	8	882.025	45.9235	X
M4	8	939.312	45.9235	X
M1	8	2192.57	45.9235	X
M2	8	2357.91	45.9235	X

En la tabla 2 se muestran los resultados de la Prueba de Rangos Múltiples para las bebidas expresada en ppm, se aplica el procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles valores son significativamente diferentes en cuanto a la media. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia significativa mínima (LSD, por sus siglas en inglés) de Fisher utilizando un 95% de confianza.

Se observa una diferencia significativa entre la marca M1 y M2, en cambio entre las marcas ZP y ZPN no se observa una diferencia significativa entre estas.

En la figura 1 puede observarse como entre las marcas de FNA (M1) y TA (M2) existe una mayor concentración en comparación con la marca de ZP (M3) y ZPN (M4).

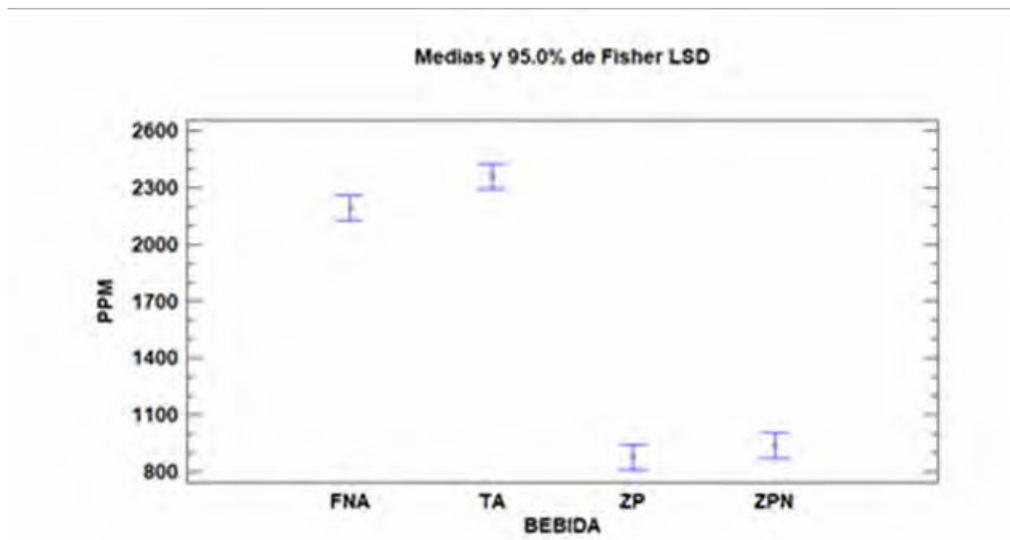


Figura 1. Concentraciones de los colorantes en las diferentes marcas.

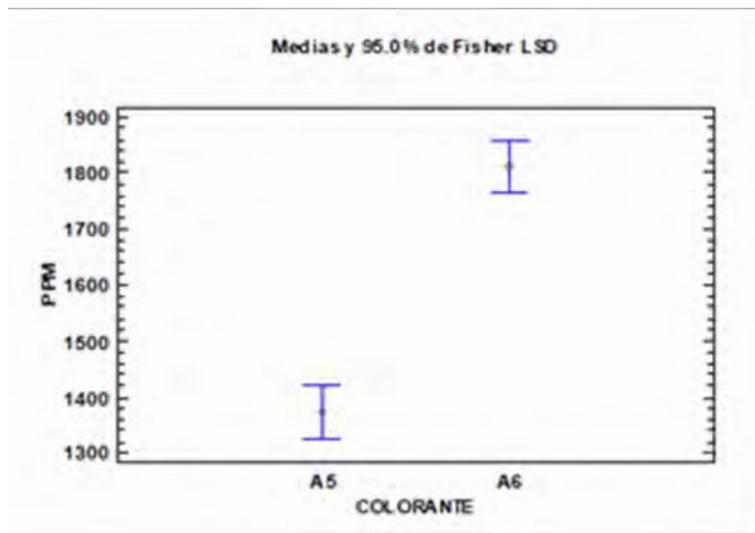


Figura 2. Concentraciones entre colorantes

En la Figura 2, se muestran las concentraciones de los colorantes, donde se observa que existe una mayor concentración del colorante amarillo ocaso 6.

De acuerdo con la NOM-218-SSA1-2011 las concentraciones permitidas de los colorantes tartrazina y amarillo ocaso son de 100 ppm para ambas por lo que los resultados obtenidos en la cuantificación de las diferentes marcas exceden de manera significativa dichos límites, por lo tanto, los valores no cumplen con lo establecido en la norma.

CONCLUSIONES

Se observó que existe una diferencia significativa en las concentraciones de tartrazina entre las marcas M1 y M2. Y con una diferencia significativa pero menor, se dio entre las marcas M3 y M4. Con respecto al colorante amarillo 6, solo se presentó diferencia significativa entre las marcas M1 y M2. La concentración de la tartrazina (amarillo 5) y amarillo ocaso (amarillo 6) exceden los límites máximos permisibles de acuerdo con lo establecido en la “Norma Oficial Mexicana NOM-218-SSA1-2011 [5], Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína. Especificaciones y disposiciones sanitarias”. Dado esto, se recomienda vigilar más la concentración que se le adiciona a dichas bebidas, siendo la población infantil que más consumo hace de ellas. Puesto que en

Estados Unidos (EUA) existen poblaciones donde dichos colorantes (en especial amarillo 5) se encuentra prohibido su uso como aditivo alimentario, ya que existe la posibilidad que su alto consumo pueda provocar alteraciones en la salud en niños, si bien es cierto, aún no existen los estudios suficientes para la comprobación de ello.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Universidad de Guadalajara que proporcionó los fondos y el espacio para este trabajo, así como al departamento de química y el laboratorio de análisis cuantitativo y bioquímica pertenecientes al Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías (CUCEI).

REFERENCIAS

- [1] A. Castaño Zuluaga. Degradación de tartrazina mediante electro-oxidación. **1**, 12. (2003).
- [2] J. A Arroyave Roja. La tartrazina, un colorante de la industria agroalimentaria, degradado mediante procesos de oxidación avanzada. **5**, 21-22. (2008).
- [3] R. Palma. Tartrazina. 3-4. (2015).
- [4] V.P Parra Ortega (2004). Estudio comparativo en el uso de colorantes naturales y sintéticos en alimentos, desde el punto de vista funcional y toxicológico. **1**, 2-3. (2004).
- [5] Norma Oficial Mexicana NOM-218-SSA1-2011, Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína. Especificaciones y disposiciones sanitarias (2010).

VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS COMO TEMA DE TESIS EN LA UNAM

Mariana García Ruiz
Norma Ruth López Santiago*
Margarita Eugenia Gutiérrez-Ruiz¹

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la ISO 9000, el concepto de 'validación' se define como la confirmación, a través de la aportación de evidencia objetiva, de que se han cumplido los requisitos para una utilización o aplicación específica prevista [1].

La validación es entonces una herramienta para demostrar que un método analítico, concerniente a un sistema en particular, mide realmente lo que se pretende medir, y que dicho método es adecuado para el propósito al que está destinado, dentro de diferentes campos, como en el ambiental, de la salud, de los alimentos, farmacéutico, microbiológico, etcétera [2].

El uso de métodos validados es importante para un laboratorio analítico porque es una medida para asegurar que está aportando información de la calidad requerida, y esto es una prueba de su competencia.

El desarrollo y validación de métodos analíticos de cuantificación es un tema recurrente en los trabajos de tesis de distintas carreras universitarias y posgrados. En el presente trabajo se muestran estadísticas de todas las tesis revisadas en la base de datos en la UNAM referentes a validación de métodos de cuantificación.

EXPERIMENTACIÓN

1. Se realizó una búsqueda en el catálogo de Tesis UNAM [3] cuyo objetivo es el desarrollo u optimización y validación de un método para la determinación de un analito en particular, o el estudio teórico del proceso de validación, que no incluye una

¹ Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. Laboratorio de Biogeoquímica Ambiental. Circuito Exterior S/N, Coyoacán, Cd. Universitaria, 04510 Ciudad de México, CDMX. Tel. 56 22 43 36. E-mail: nruthls@yahoo.com

parte experimental.

2. Se realizaron estadísticas que comprenden el análisis de diferente información: año en el cual se realizó la tesis, grado académico al cual aspiraba el estudiante, carrera, lugar de desarrollo, el área para la cual se desarrolla el método de análisis y la instrumentación empleada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La búsqueda en TESIUNAM [3] reveló que existen en dicha base de datos, en un periodo comprendido entre 1984 y febrero de 2018, 464 trabajos de tesis relacionados con la validación de métodos analíticos. La revisión realizada se presenta en la información que se presenta a continuación.

En la Figura 1 muestra la cantidad de tesis por año sobre validación, siendo los primeros trabajos de 1984, y hasta febrero del 2018.

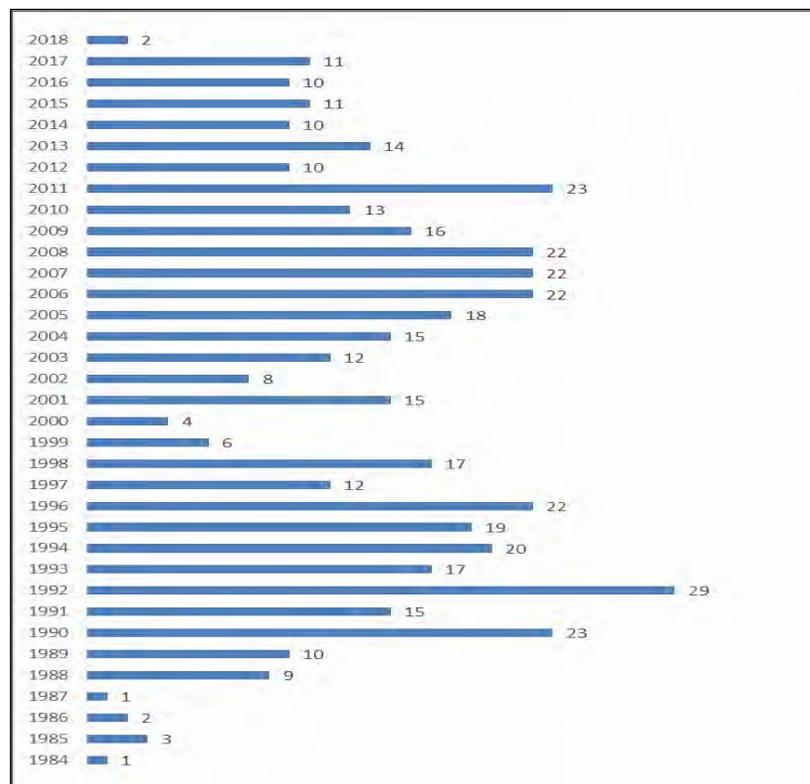


Figura 1. Tesis de validación de métodos analíticos por año (1984-febrero de 2018)

Como se puede observar en la Figura 1, la validación de métodos analíticos comenzó a ser más recurrente dentro de los temas de tesis a partir de 1990, y sigue siendo un tema de titulación vigente.

La validación es un tema mayoritariamente recurrente en licenciatura (453 tesis, correspondientes al 98% de las tesis) y maestría (10 tesis, correspondientes al 2%) y una de doctorado. Los posgrados para los cuales van dirigidas las tesis de maestría y doctorado son de Ciencias Químicas, Ciencias del Mar y Limnología y Ciencias de la Tierra. En cuanto a los porcentajes por carreras de nivel licenciatura que han presentado tesis de validación, se muestran en la Figura 2. El 1% correspondiente al rubro de "Otro", incluye las carreras de Farmacia, Ingeniería de Alimentos y Química Industrial. Se puede apreciar que la carrera en la que más estudiantes obtienen su título con una tesis de validación es la de Química Farmacéutica Biológica.

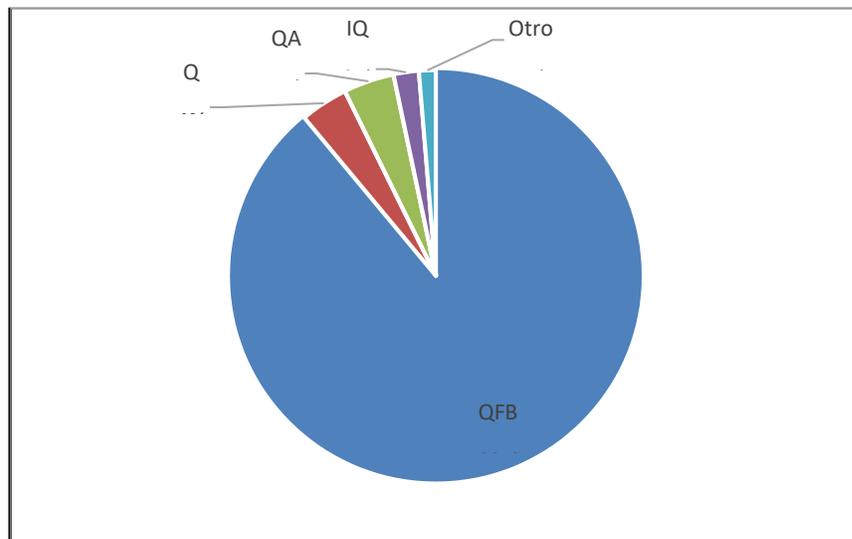


Figura 2. Tesis por carrera.

En la Figura 3 se muestran las diferentes facultades en las que se llevaron a cabo tesis sobre validación. La categoría de “Institutos” incluye el Instituto de Geología, el Instituto de Geofísica y la Facultad de Medicina. También se incluye la información de “Otras Universidades” incorporadas a la UNAM, y cuyas tesis también figuran dentro del catálogo. Resalta que es en la Facultad de Química donde se realiza el mayor número de este tipo de trabajos.

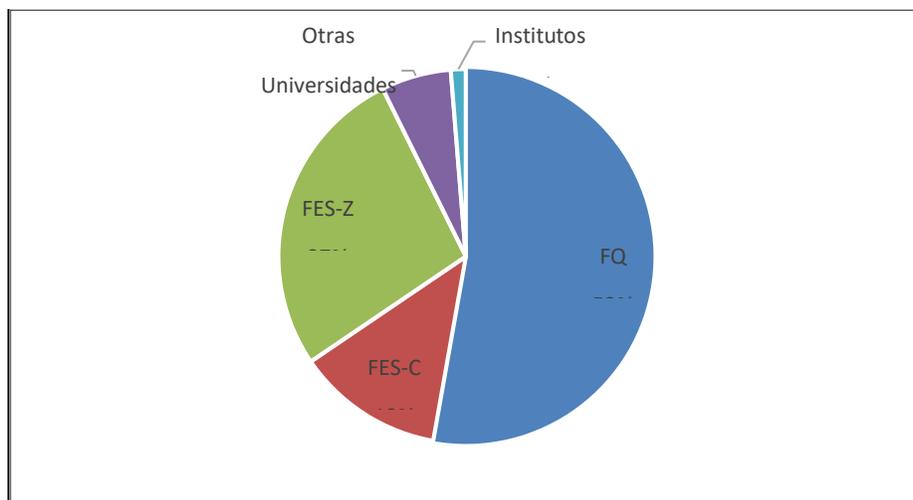


Figura 3. Tesis por facultad.

En la Figura 4 se incluyen los temas más recurrentes en los trabajos. Como se puede observar, el área de salud y farmacia es la más común. La categoría de “Otros” incluye los estudios teóricos sobre validación o temas cuya aplicación no entra en ninguna de las demás áreas que son predominantes.

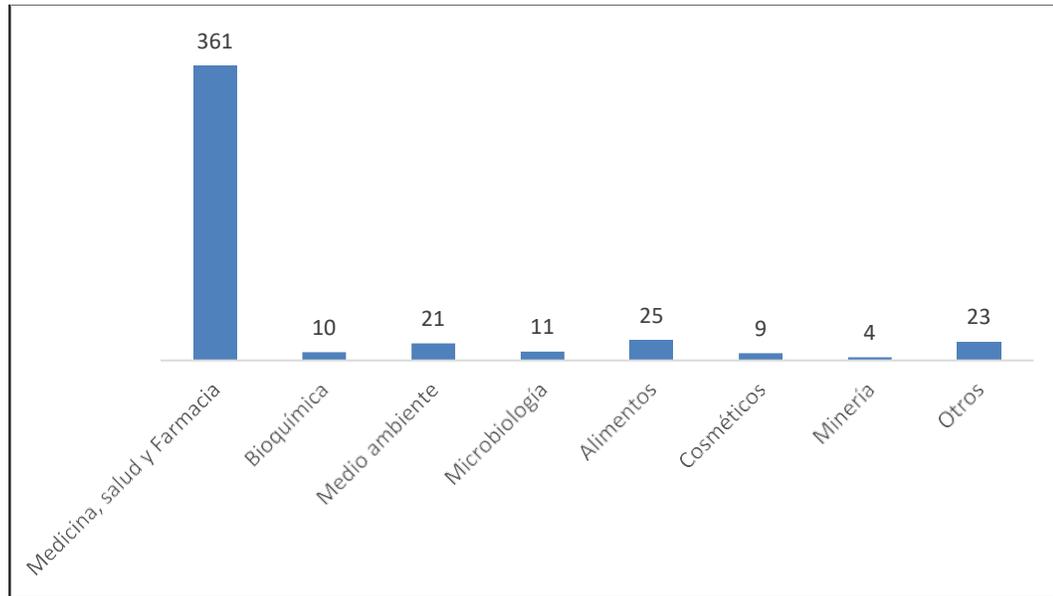


Figura 4. Tesis por tema

En la Figura 5, se muestran las principales técnicas instrumentales empleadas en las tesis cuyo objetivo es la validación de un método de determinación de algún analito en diversas matrices. Se encontró que la técnica instrumental más empleada es la de HPLC, seguida de la Espectrofotometría UV-visible y de los métodos electroquímicos. En algunos casos se validaron hasta dos métodos alternativos con diferentes instrumentos. El resto de las tesis que no se incluyen en el gráfico desarrollan algún tema sobre validación que no incluye una parte experimental.

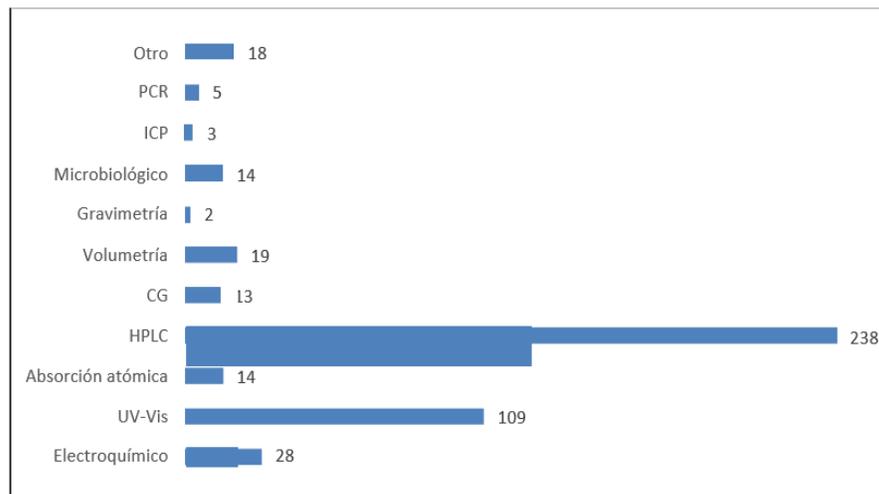


Figura 5. Tesis por técnica instrumental empleada.

CONCLUSIONES

Se revisó un total de 464 tesis sobre validación de métodos de cuantificación, y se analizaron rubros como año de realización, área a la cual está dirigida, grado y carrera del estudiante, y lugar de realización de la tesis. Se encontró que este tema comenzó a ser más recurrente desde 1990 y se ha mantenido constantemente presente dada su importancia. El área hacia la cual van dirigidas principalmente es la de medicina, salud y farmacia, lo cual está relacionado con que la mayor parte de los estudiantes eran Químicos Farmacéuticos-Biólogos. Por otro lado, el 53% de dichas tesis fueron realizadas en la Facultad de Química de la UNAM. También se encontró que la técnica instrumental más empleada es la de HPLC. Lo anterior demuestra que la enseñanza de la validación de métodos analíticos es un tema que sigue vigente dentro de las actividades universitarias de enseñanza.

AGRADECIMIENTOS

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) de la UNAM por el financiamiento otorgado a través del proyecto PE201618 “Enseñanza de la validación de métodos analíticos”

REFERENCIAS

- [1] ISO 9000: 2015. Sistemas de gestión de la calidad.
- [2] V. Barwick, S. L. Ellison, E. Gjengedal, B. Magnusson, O. Molinier, M. Patriarca, I. Vercruysse. Method validation in analytical sciences: discussions on current practice and future challenges. *Accreditation and Quality Assurance*, 22(5), 253-263. (2017).
- [3] TESIUNAM. Tesis del Sistema Bibliotecario de la UNAM. Recuperado de: <http://oreon.dgbiblio.unam.mx/F?RN=727414566> (Última revisión: 19-marzo-2018).

ESTUDIO FISICOQUÍMICO DE LA FORMACIÓN DEL COMPLEJO [Fe(fen)3]2+

Sarah Jeanette Ramos Reyes
Reyna Beatriz Rendón Osorio
Miguel Arcadio Rosado Mendoza
Manuel Hernán Barceló Quintal*¹

INTRODUCCIÓN

Los actinómetros químicos utilizan una reacción fotoquímica que tiene un rendimiento cuántico conocido, exacto y reproducible. Es una técnica útil en el área de la fotoquímica, para medir la intensidad de la fuente de luz que se utiliza en una foto-reacción. Los actinómetros físicos como los galvanómetros son más fáciles de utilizar, sin embargo, pueden tener muchas fuentes de error. El actinómetro de Hatchard-Parker [1] se basa en la fotólisis del ferrioxalato de potasio $K_3Fe(C_2O_4)_3$, los foto-productos Fe^{2+} y CO_2 no absorben la luz incidente a medir durante la fotólisis y el valor del rendimiento cuántico (ϕ) del ion Fe^{2+} se conoce con exactitud ($\phi = 1.21$ a 366 nm) (Hatchard-Parker, 1956). Este sistema químico es de uso común en muchos estudios fotoquímicos, debido a que el actinómetro es sensible en un amplio intervalo de longitudes de onda (250 - 577 nm), en donde el rendimiento cuántico no depende en grado alguno, de los reactivos, los productos, la intensidad de la luz incidente y de la temperatura.

Rendón² modificó a microescala el actinómetro de Hatchard-Parker, disminuyó a 3.0 mL la disolución de $K_3Fe(C_2O_4)_3$ a irradiar y obtuvo buenos resultados de reproducibilidad. Cuando se irradia una disolución acuosa de ferrioxalato de potasio en medio ácido en un intervalo de longitudes de onda apropiado, se reduce el Fe^{3+} a Fe^{2+} . La reacción fotoquímica neta es:

La estequiometría indica que por cada ion Fe^{3+} reducido se obtiene el correspondiente ion Fe^{2+} . Después de la exposición el ion Fe^{2+} se analiza indirectamente formando el complejo trisfenantrolinahierro (II), el cual en solución presenta una coloración roja que

¹ Universidad Autónoma de Yucatán. Facultad de Química. Laboratorio de Fisicoquímica. Calle 43 # 613, Col. Inalámbrica, AP 55-534. Mérida, Yucatán. C.P. 97069. Tel: +52 (999) 922 5711, Fax: +52 (999) 922 5708. e-mail: manuel.barcelo@correo.uady.mx.

absorbe fuertemente la radiación y se determina con espectroscopia de absorción molecular en la región visible, midiendo la absorbancia del complejo a $\lambda = 510$ nm. El ion Fe^{3+} forma un complejo débil con la fenantrolina el cual es transparente a 510 nm y por lo tanto no interfiere en la determinación [3] de Fe^{2+} .

El número de iones Fe^{2+} formados durante la foto-reducción se calculan con la siguiente ecuación⁴:

$$nFe^{2+} = \frac{(6.023 \times 10^{20}) V_1 V_2 \text{Log}\left(\frac{I_0}{I}\right)}{V_2 \varepsilon l}$$

Donde:

V_1 = mL del actinómetro irradiado

V_2 = mL de la alícuota tomada para el análisis

$V_3 = V_1 +$ volumen en mL (de fenantrolina-solución amortiguadora-ácido sulfúrico)

l = Trayecto óptico

ε = absortividad molar del complejo de Fe^{2+} (1.11×10^4 L mol⁻¹ cm⁻¹)

$\log(I_0 / I)$ = Absorbancia a 510 nm del complejo trisfenantrolinahierro (II)

Conociendo el número de iones Fe^{2+} , la intensidad de la luz monocromática se calcula con la ecuación [5]:

$$I_0 = \frac{n Fe^{2+}}{t \phi_{Fe^{2+}} (1 - 10^{-\varepsilon Al})}$$

Donde:

t = tiempo (s)

ϕ = rendimiento cuántico de la producción de iones Fe^{2+}

$(1 - 10^{-\varepsilon Al})$ = fracción de luz incidente absorbida por el reactivo

EXPERIMENTACIÓN

Los reactivos que se utilizaron fueron grado reactivo.

Las disoluciones sobresaturadas que se utilizaron para la síntesis del ferrioxalato de potasio se prepararon con la ayuda de un baño de ultrasonido marca Cole – Parmer modelo 8892.

Las medidas de las absorbancias se realizaron con un espectrofotómetro UV- Vis Agilent modelo 8453 con arreglo de diodos.

Como fotorreactores se utilizaron celdas de cuarzo de un centímetro de paso óptico.

Métodos

Síntesis del ferrioxalato de potasio

El ferrioxalato de potasio se sintetizó mezclando dos disoluciones sobresaturadas equimolares de cloruro férrico y oxalato de potasio, combinadas en proporción 1:3 (V/V). La mezcla se agitó, hasta obtener un precipitado de color verde limón que corresponde al ferrioxalato de potasio, el cual se filtró y se dejó secar al vacío en ausencia de luz, se pesó y se almacenó en recipientes opacos, a 25°C y en un ambiente seco, para su posterior uso. El filtrado de color verde se vertió en cajas de Petri y se guardó en ausencia de la luz a 25°C, para permitir el crecimiento de los cristales de ferrioxalato de potasio. Actinómetro de Hatchard-Parker a microescala

En un cuarto oscuro se preparó una disolución de ferrioxalato de potasio 0.006 M, disolviendo 0.030 g de este reactivo en 8.0 mL de agua y 1.0 mL de ácido sulfúrico 0.05 M y se llevó a un aforo de 10 mL; la disolución fue de color verde limón.

En una celda de reacción fotoquímica de cuarzo de 1.0 cm de paso óptico, se colocó 1.0 mL de la disolución de ferrioxalato de potasio 0.006 M y se irradió con luz UV de longitud de onda de 366 nm, durante 10 min con agitación.

Después de la irradiación se le añadió directamente a la celda de reacción fotoquímica 0.2 mL de 1-10 fenantrolina al 0.1 %, 0.5 mL de la disolución amortiguadora más 1.0 mL de la disolución del ácido sulfúrico 0.05 M, con un volumen total en la celda de reacción fotoquímica de 2.7 mL, la cinética de formación del complejo ($[\text{Fe}(\text{fen})_3]^{2+}$) se siguió determinando la absorbancia a 510 nm en función del tiempo.

Con el valor de la absorbancia se calculó el número de iones de Fe^{2+} formados y con este valor, la intensidad de la lámpara.

Preparación del amortiguador acetato de sodio – ácido sulfúrico

El amortiguador se preparó con 2.46 g de acetato de sodio 0.5 M que se disolvió en 60 mL de agua. Se tomaron 30 mL de ácido sulfúrico 0.5 M y se añadieron a la disolución de acetato de sodio llevándolos a un aforo de 100 mL.

Preparación de las disoluciones de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3$

La disolución de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3$ 0.006 M, se preparó con 0.003 g de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3$, se añadió 8.0 mL de agua, 1.0 mL de ácido sulfúrico 0.05 M y se llevó a un aforo de 10.0 mL.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La cinética de una reacción de la reacción de formación del $[\text{Fe}(\text{fen})_3]^{2+}$, se siguió midiendo la absorbancia de una disolución a diferentes tiempos, (Tabla 1), y se muestra en la Figura 1.

Tabla 1. Valores de la absorbancia en función del tiempo de la formación de $[\text{Fe}(\text{fen})_3]^{2+}$

t (min)	Absorbancia
0.167	1.9430
0.417	2.1145
0.583	2.2013
0.75	2.2586
1	2.3117
1.5	2.3727
3	2.4696
5	2.5194
7	2.5442
10	2.5633
15	2.5699
30	2.5687

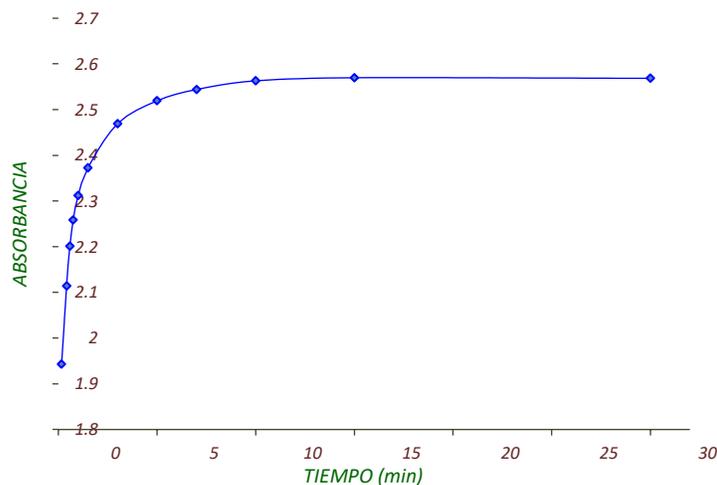


Figura 1. Cinética de formación del $[\text{Fe}(\text{fen})_3]^{2+}$

Los resultados experimentales se trataron con el modelo matemático de primer orden:

Donde:

$$\ln \frac{A_t}{A_o} = -kt$$

A_t = Absorbancia en el tiempo t
 A_o = Absorbancia inicial
 t = Tiempo (min)
 k = Constante de rapidez observada

Los valores de la constante de rapidez y del coeficiente de correlación (r), se determinaron de la pendiente y del análisis de mínimos cuadrados realizado con los datos experimentales (Figura 2)

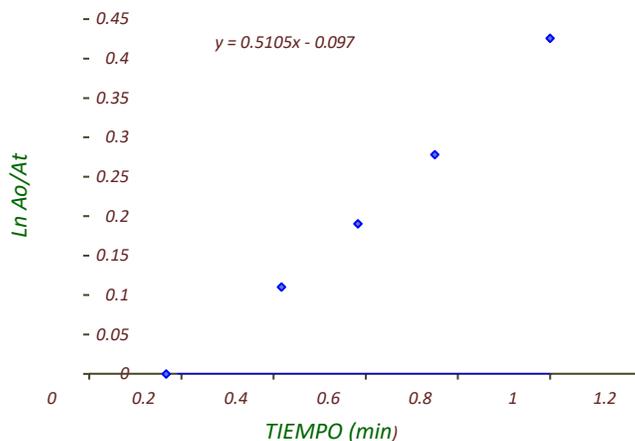


Figura 2. Modelo matemático de primer orden aplicado a la cinética de formación del $[\text{Fe}(\text{fen})_3]^{2+}$.

El coeficiente de correlación $r = 0.996$, permite afirmar que la reacción de formación del $[\text{Fe}(\text{fen})_3]^{2+}$ es de primer orden, con una constante de rapidez $k = 5.1 \times 10^{-1} \text{ min}^{-1}$. Con la absorbancia a los 30 min se obtuvo:

- la concentración del $[\text{Fe}(\text{fen})_3]^{2+}$ en el equilibrio y se calculó el valor de la constante de equilibrio de la reacción, $K = 1.31 \times 10^7$, con este valor y la ecuación $\Delta G = -RT \ln K$ se calculó $\Delta G = -40.6 \text{ kJ mol}^{-1}$.
- El número de moles de Fe^{2+} formados que permitió calcular la intensidad de la fuente de luz $I_0 = 1.21 \pm 0.0003 \times 10^{13} \text{ fotones min}^{-1}$.

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio fisicoquímico nos permitirán mejorar aún más la eficiencia del actinómetro modificado a microescala, utilizando la catálisis micelar [6].

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Yucatán, por el apoyo financiero del proyecto: Estudio cinético de la formación de complejo Trisfenantrolinahierro (II) en diferentes sistemas organizados, que hizo posible este trabajo.

REFERENCIAS

- [1] C. G. Hatchard, C. A. Parker, Proc. R. Soc. London, Ser. A., 235, 518 (1956).
- [2] R. B. Rendón. Implementación del actinómetro de Hatchard-Parker para determinar el rendimiento cuántico de la degradación del metilparatió en presencia de fotocatalizadores. Tesis de Maestría en Ciencias UADY. México (2005).
- [3] S. M. Fonseca, S. Ahemed, T. J. Kemp, P. R. Unwin. A microelectrochemical actinometer for scanning electrochemical microscopy studies of photochemical process. J. Photochem. Photobiol. 1-2 (2003).
- [4] V. Balzani, V. Carassiti. Photochemistry of coordination compounds. Academic press: London and New York. (1970).
- [5] J. C. Calvert, N. J. Pitts. Photochemistry, Wiley: New York, (1966)
- [6] P. Bidyut, M. Sarya. Microemulsions: an overview. Journal of Dispersion Science and Technology. 18:4, 301-367 (1997).

COMPARACIÓN DE DOS FASES PARA LA EXTRACCIÓN SIMULTÁNEA DE OCHO ANTIBIÓTICOS MEDIANTE LA TÉCNICA MEPS PARA SU APLICACIÓN EN EL ANÁLISIS DE EFLUENTES DE PLANTAS TRATADORAS DE AGUA RESIDUAL

Mario Daniel del Ángel Hernández*
Idalia Francisca Carmona Alvarado
Juan Ricardo Lucio Gutiérrez
Noemí Waksman de Torres
Norma Cecilia Cavazos Rocha¹

INTRODUCCIÓN

El agua es fundamental para cualquier forma de vida biológicamente activa. El agua se encuentra en la naturaleza, en los alimentos, fluidos biológicos de animales y del ser humano [1]. El agua potable es utilizada para los fines domésticos, higiene personal, beber y cocinar. Tiene características microbianas, químicas y físicas que cumplen con las pautas de la Organización Mundial de la Salud [2]. El agua que contiene contaminación de sustancias fecales y orina que proceden de desechos orgánicos o de animales se denomina agua residual. Siendo residuales, no sirve para el uso directo y requieren canalización, tratamiento y desalojo [3]. Los microcontaminantes incluyen miles de contaminantes orgánicos e inorgánicos que están en concentraciones desde nanogramo por litro (ng/L) hasta microgramo por litro (µg/L), pueden producir efectos tóxicos a concentraciones muy bajas, particularmente cuando están presentes como mezclas, entre los que se puede citar a los antibióticos [4]. Los antibióticos son sustancias químicas ampliamente usadas en la medicina humana y en aplicaciones veterinarias [5]. Los antibióticos y sus metabolitos persisten en el medio ambiente mediante un ciclo de transformación parcial, bioacumulación y deposición gradual en el suelo, el agua superficial y el agua subterránea

¹ Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Medicina. Departamento de Química Analítica. Ave. Madero y Dr. Eduardo Aguirre Pequeño S/N. Mitras Centro. CP. 64460. danielqcb02@gmail.com.

[6]. Se ha demostrado que las plantas de tratamiento de agua residual no tienen la capacidad para eliminar residuos de antibióticos. Por lo tanto, los efluentes son importantes contribuyentes de antibióticos al medio acuático [7]. El análisis de antibióticos en matrices ambientales se lleva a cabo por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR) acoplada a detector Ultravioleta (UV), Fluorescencia o Espectrómetro de Masas. Sin embargo, se requiere un complejo conjunto de extracciones y limpiezas para eliminar o minimizar las interferencias, y al mismo tiempo lograr la mayor recuperación de la compleja matriz [8]. El uso de técnicas verdes permite a los científicos proteger y beneficiar a la economía, la población y el planeta mediante la búsqueda de formas creativas e innovadoras para reducir el desperdicio, conservar la energía y descubrir reemplazos de sustancias peligrosas [9]. Una de las técnicas verdes es la microextracción con sorbente empacado (MEPS, por sus siglas en inglés). Entre las ventajas más destacadas de la MEPS sobre la extracción en fase sólida (SPE por sus siglas en inglés) se podrían mencionar: las fibras de la MEPS son reutilizables, pueden llegar a utilizarse hasta 100 veces, dependiendo de la complejidad de la matriz y puede aplicarse a matrices biológicas, alimentos, aditivos, fármacos, toxicológicas, forense y medioambientales [10]. La selección de un sorbente apropiado es de gran importancia para lograr un rendimiento aceptable de limpieza y extracción; los sorbentes están hechos principalmente de sílice y más recientemente de divinilbenceno polimérico (DVB), y pueden ser modificados o especializados para obtener diferentes propiedades de retención. En el primer caso, se añaden grupos alquilo de diferentes tamaños (C2, C8 y C18) a la sílice hidrofílica, introduciendo propiedades hidrófobas en el sorbente final que son proporcionales al tamaño del grupo alquilo. Estos sorbentes de sílice modificados están particularmente indicados para extracciones en fase inversa. La sílice puede ser también fácilmente modificada con diferentes grupos funcionales, usualmente aminas cuaternarias o ácidos sulfónicos que son más adecuados para la extracción de moléculas cargadas a través de separaciones de intercambio iónico [11]. El objetivo de este trabajo fue comparar la eficiencia de los cartuchos M1 y C18 MEPS para la extracción simultánea de ocho antibióticos de agua y su aplicación en el análisis de efluente de planta tratadora de aguas residuales.

EXPERIMENTACIÓN

Se desarrolló, optimizó y validó un sistema cromatográfico para la cuantificación de ocho antibióticos. Se realizó la comparación de los cartuchos M1 y C18 MEPS para la extracción simultánea de ocho antibióticos y se seleccionó el cartucho con mejores resultados (recuperación y precisión).

Se preparó una disolución stock individual de 200 µg/ml de cada uno de los siguientes antibióticos: Trimetoprim (TMP), Sulfadimetoxina (SDX), Oxitetraciclina (OXI), Tetraciclina (TETRA), Ciprofloxacina (CIPRO), Enrofloxacin (ENRO), Sulfametoxazol (SMX) y 600 µg/ml para Tilosina (TIL) en metanol. A partir de ellos se preparó una mezcla intermedia a una concentración de 10 µg/ml para TMP, TETRA, OXI, CIPRO, ENRO, SMX y SDX y de 30 µg/ml para TIL. A partir de la mezcla intermedia, y por diluciones adecuadas, se prepararon estándares en un rango de concentración de 0.25 a 5 µg/ml para todos los antibióticos excepto TIL que se preparó en un rango de 0.75-15 µg/ml. El análisis se realizó en un Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución HP 1100, equipado con sistema de bombeo cuaternario, automuestreador, sistema de control de temperatura, detector de UV y fluorescencia. En la tabla 1 se muestran las condiciones del sistema.

Tabla 1. Condiciones cromatográficas para el análisis en CLAR

Columna	Synergi 4µ RP Phenomenex 150x3.00 mm
Fase móvil	A: Ácido Fórmico (AF) 0.1% B: Metanol
Elución	Gradiente
Temperatura de análisis	40°C
Volumen de inyección	10 µL
Detector	UV
Longitud de onda	280 nm

Una vez validado el método se procedió a realizar experimentos de extracción, por triplicado, para comparar los cartuchos M1 (fase compuesta por C8 e intercambio catiónico fuerte) y C18 MEPS, partiendo de una mezcla de 0.25 µg/ml para todos los antibióticos excepto la TIL de 0.75 µg/ml. Las condiciones de extracción fueron las siguientes: acondicionamiento del cartucho (metanol y agua ácida pH=3), saturación de cartucho (ocho ciclos), lavado (agua Milli-Q), elución (2 x 50 µL ácido fórmico 0.1%/ metanol 1:1) y limpieza del cartucho (metanol). Bajo las condiciones descritas se observó en el cartucho C18 la extracción de todos los antibióticos, con porcentajes de recuperación de 14.1 hasta 104.2 % y coeficientes de variación se encontraron en un rango de 0.7

a 7.5%, mientras en el cartucho M1 se recuperaron solo 7 antibióticos con un porcentaje de recuperación de 3.8 a 27% y un coeficiente de variación entre 1.5 a 36.2%. Por lo cual se decidió seguir trabajando con el C18.

Una vez seleccionado el cartucho C18 se procedió a realizar el diseño de experimentos en el programa MODDE 12 con la finalidad de establecer las condiciones óptimas. Se tomaron en cuenta las siguientes variables en el nivel bajo y en el nivel alto: pH (3 y 7), mixes (10 y 20) y eluciones (2 y 5)

El programa sugirió el siguiente set de experimentos en el modo diseño factorial completo de 2 niveles.

Tabla 2. Condiciones de extracción con el programa MODDE 12.

<i>EXPERIMENTO NO</i>	<i>NOMBRE DE EXPERIMENTO</i>	<i>ORDEN DE CORRIDA</i>	<i>MIXE S</i>	<i>p H</i>	<i>ELUCIONE S</i>
1	N1	1	10	3	2x50µL
2	N2	7	20	3	2x50µL
3	N3	10	10	7	2x50µL
4	N4	4	20	7	2x50µL
5	N5	6	10	3	5x20µL
6	N6	11	20	3	5x20µL
7	N7	8	10	7	5x20µL
8	N8	3	20	7	5x20µL
9	N9	2	15	5	3X30 µL
10	N10	9	15	5	3X30 µL
11	N11	5	15	5	3X30 µL

Cada extracción se llevó a cabo con una Jeringa Analítica Automática eVoIXR SGE AnalyticalScience, de 100 µL, y un cartucho de microextracción empacado con fase C18. El protocolo general de extracción fue: 1) activación del cartucho (usando metanol y agua pH 3,5 y 7 dependiendo de la extracción), 2) extracción (bajo las condiciones establecidas de acuerdo al diseño de experimentos), 3) secado 4) elución 5) lavado del cartucho con metanol para su uso en la siguiente extracción. Los experimentos se realizaron en un orden aleatorio de acuerdo al software. En la tabla 2 se muestra el orden en que fueron realizados.

Los extractos obtenidos (20,30 y 50 µL) se recibieron en un vial con un inserto para análisis cromatográfico. Se añadió el solvente de extracción hasta completar 100 µL. La mezcla se agitó en

vortex, y se llevó al equipo para su análisis por CLAR/ UV, bajo las condiciones establecidas en tabla 1.

Después del análisis por CLAR/UV se obtuvieron los datos tomando en cuenta el área del pico de cada antibiótico, y la suma de áreas de todos los antibióticos y se procesaron en programa MODDE 12.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se validó el sistema cromatográfico obteniendo los siguientes resultados:

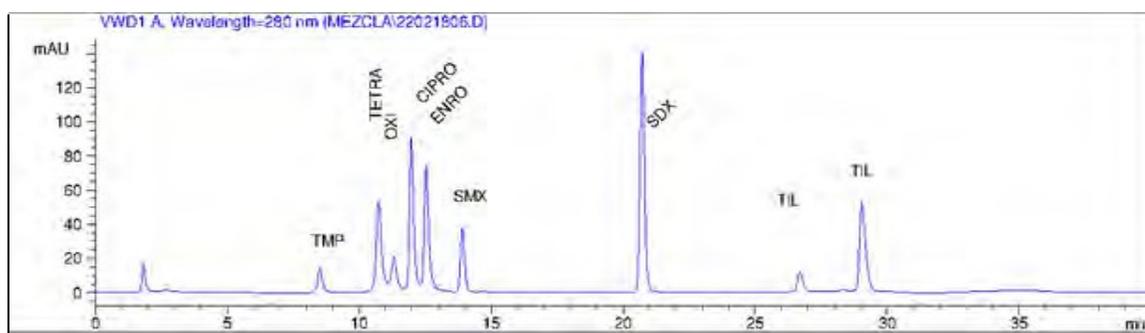


Figura 1. Cromatograma con el orden de elución de la mezcla de antibióticos. Orden de elución (t_R): TMP (8.5 min), TETRA (10.73 min), OXI (11.31 min), CIPRO (11.97 min), ENRO (12.53 min), SMX (13.91 min), SDX (20.74 min) y TIL (26.36, 26.04 min).

Tabla 3. Parámetros de validación del sistema cromatográfico

Antibiótico	Linealidad (µg/mL)	Ecuación de la recta	R ²	LD (µg/mL)	LC (µg/mL)
TMP	0,25 -5	Y=41,41X-2,872	0,99	0,02	0,05
TETRA	0,25 -5	Y=136,55X-16,262	0,99	0,10	0,25
OXI	0,25 -5	Y=44,06X-5,638	0,99	0,10	0,25
CIPRO	0,25 -5	Y=202,27X-5,389	0,99	0,10	0,25
ENRO	0,25 -5	Y=178,88X-7,950	0,99	0,10	0,25
SMX	0,25 -5	Y=87,036X-4,153	0,99	0,06	0,18
SDX	0,25 -5	Y=337,70X-6,940	0,99	0,03	0,09
TIL	0,75-15	Y=65,032X+4,626	0,99	0,17	0,52
					n=3
LD=límite de detección		LC=límite de cuantificación			

Los coeficientes de variación de la precisión intradía, para niveles bajo, medio y alto

estuvieron entre 0.75 para CIPRO y 14.21 % para ENRO. En el caso de la precisión intermedia, para niveles bajo, medio y alto, los coeficientes de variación obtenidos estuvieron entre un 4.42 para TETRA y 13.1 % para ENRO.

Además de los experimentos por triplicado, se realizaron varios experimentos adicionales en donde la constante era la baja reproducibilidad en las extracciones, y la recuperación de solo 7 antibióticos con el cartucho M1. La diferencia entre las recuperaciones entre los dos cartuchos era, en relación M1:C18, desde 1:2 para algunos antibióticos, hasta 1:4 aproximadamente para otros, por lo que, aún optimizando las condiciones de extracción para M1 difícilmente se podrían obtener resultados similares a las extracciones con el cartucho C18.

La combinación de las variables bajo el diseño factorial completo de 2 niveles arrojó como resultado 11 experimentos de extracción. En todos los experimentos se lograron extraer todos los antibióticos. Se calculó la concentración y el porcentaje de recuperación para cada antibiótico en cada experimento. Los porcentajes obtenidos fueron entre 11% y 114%. Posteriormente, los resultados obtenidos (suma de área y porcentaje de recuperación promedio) fueron introducidos en el programa “Modde”, el cual estadísticamente mostró la relevancia de cada factor trabajado. Se presenta el análisis hecho por el MODDE 12 con el modelado con mínimos cuadrados parciales (Partial Least Squares Path Modeling, PLS-PM por sus siglas en inglés).

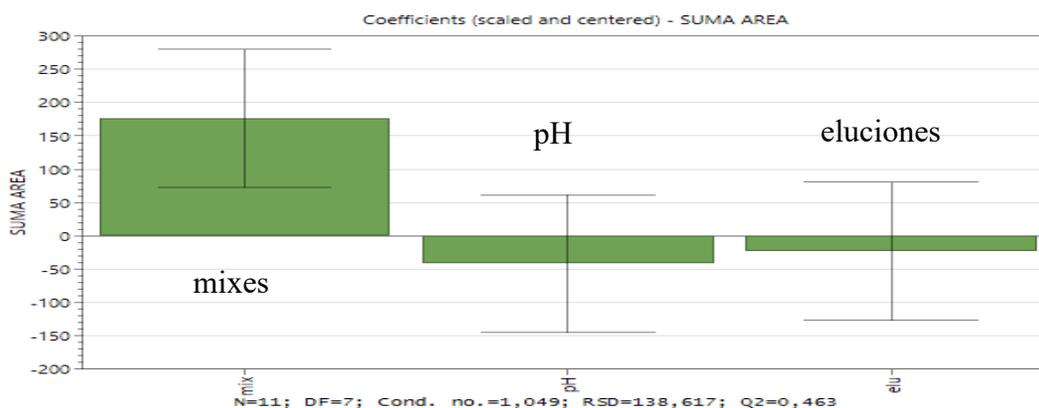


Figura 2. Relevancia de factores de extracción.

La figura 2 muestra que la variable de mixes en nivel alto aumentará la eficiencia de la extracción de los ocho antibióticos. Posteriormente se corrió el programa en modo Optimizer y dictó las condiciones para la mayor eficiencia de extracción de antibióticos: tomando en cuenta el aumentar la suma de las áreas obtenidas. Las condiciones son: pH=3, eluciones (2) y número de mixes (20).

CONCLUSIONES

Se desarrolló, optimizó y validó un método para la cuantificación de TMP, TETRA, OXI, CIPRO, ENRO, SMX, SDX y TIL por CLAR/UV. El cartucho C18 presentó la mayor eficiencia para la extracción simultánea de antibióticos de agua, ya que se extraen todos los antibióticos y con mayor precisión que con el cartucho M1. El M1 no logró extraer todos los antibióticos.

Con el diseño de experimentos se observó que solo hay un factor relevante bajo las condiciones de trabajo establecidas, que fue el número de mixes. Se logró recuperar los ocho antibióticos con porcentajes entre el 11 % al 114%.

REFERENCIAS

- [1] Badui B. S. Química de los alimentos. 5ta edición. Pearson. Ciudad de México 3-14 (2014)
- [2] WHO. Agua, saneamiento y salud (ASS) (2017). http://www.who.int/water_sanitation_health/mdg1/es/
- [3] Polo Espinal, Julio Cesar. Aguas residuales y su impacto en la salud (2015). https://issuu.com/esmage/docs/aguas_residuales_y_su_impacto_en_la_salud [4] Schwarzenbach RP, Egli T, Hofstetter TB, von Gunten U, Wehrli B. Global Water Pollution and Human Health. *Annu Rev Environ Resour* **35** [1] 109–136 (2010).
- [5] Feng Yao, Wei Chaojun, Zhang W, Liu Y, Li Z, Hu H, et al. A simple and economic method for simultaneous determination of 11 antibiotics in manure by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. *J Soils Sediments* [Internet]. *J Soils Sediments*; **16** [9] 2242–2251 (2016). Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11368-016-1414-5>
- [6] Carvalho IT, Santos L. Antibiotics in the aquatic environments: A review of the European scenario. *Environ Int.* Elsevier Ltd **94** 736–757 (2016).
- [7] Faleye A.C, Adegoke A., Ramluckem K. Identification of antibiotics in wastewater: current state of extraction protocol and future perspectives. *Journal of Water and Health* **15** [6] 982-1003 (2017).
- [8] Obimakinde S, Fatoki O, Opeolu B, Olatunji O. Veterinary pharmaceuticals in aqueous systems and associated effects: an update. *Environ SciPollut Res* [Internet]. *Environmental Science and Pollution Research* **24** [4] 1–24 (2016).
- [9] American Chemical Society. Green Chemistry Definition. American Chemical Society Last (2014) Available from <https://www.acs.org/content/acs/en/greenchemistry/what-igreenchemistry/definition.html>
- [10] Pereira J, Silva CL, Perestrelo R, Goncalves J, Alves V, Camara JS. Re-exploring the high-

throughput potential of microextraction techniques, SPME and MEPS, as powerful strategies for medical diagnostic purposes. Innovative approaches, recent applications and future trends
Microextraction Techniques. *Anal Bioanal Chem* **406** [8] 2101–2122 (2014).

[11] Pereira J, Câmara JS, Colmsjö A, Abdel-Rehim M. Microextraction by packed sorbent: An emerging, selective and high-throughput extraction technique in bioanalysis. *Biomed Chromatogr* **28** [6] 839–847 (2014).

DETERMINACIÓN DE CONSTANTES DE FORMACIÓN CONDICIONAL DE Ni (II) Y Co (II) CON DMG

Daniel Alejandro Aviña Reyes¹
Víctor Hugo Calvo Jiménez¹
Edgar Islas Ortiz¹
Margarita Reyes Salas²
Octavio Reyes Salas¹

INTRODUCCIÓN

En la industria de la minería y los aceros se ha observado que al hacer la separación de Ni mediante el uso de dimetilglioxima (DMG) también son complejadas otras especies, entre ellos el Co (II). En la literatura es posible encontrar estudios sobre los complejos de dimetilglioxima (DMG) con varios cationes. Sin embargo, a pesar de que reportan la existencia de dichos complejos, no informan sobre las constantes de formación de estas especies [1,2,3,4]. Si se considera el valor de las constantes de disociación o de formación de los complejos es posible determinar si la separación de Ni(II) de Co(II) es factible sin presentar interferencias o el grado de resolución de la separación.

EXPERIMENTACIÓN

- (1) *Reacción de Ni (II) con DMG.* Se usaron disoluciones valoradas de ambas especies para encontrar su relación estequiométrica en medio de KF 1.0 mol/L. Estos procesos se siguieron mediante Polarografía Diferencial de Impulsos (PDI).
- (2) *Reacción de Co (II) con DMG.* Se usaron disoluciones valoradas de ambas especies para encontrar su relación estequiométrica en medio de KF 1.0 mol/L. Estos procesos se siguieron mediante PDI.

¹ Universidad Nacional Autónoma de México. Depto. De Química Analítica. Laboratorio 114 DEPg. Facultad de Química. Ciudad Universitaria. México, Cd. Mx. (55) 56223787. e-mail: shadow00000@yahoo.com.mx; octavio_reyessalas@yahoo.de

² Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Geología. Ciudad Universitaria. México, Cd. Mx.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Reacción de Ni (II) con DMG

Se agregaron a la celda 10.0 mL de KF 1 mol/L y se midió la corriente residual. Se hicieron 8 adiciones de 1000 μL de DMG valorado 5.825×10^{-4} mol/L y posteriormente se hicieron adiciones de Ni (II) patrón 1.032×10^{-2} mol/L hasta 405 μL .

En la Figura 1 se presentan las variaciones de la intensidad de corriente de reducción de la DMG, leídas en el potencial de pico ($E_p = -1.60$ V) en función de la relación molar de Ni(II) respecto a la DMG. En esta gráfica es posible observar un solo punto de equivalencia (un solo cambio de pendiente) para la estequiometría 1:2 (0.5), es decir, correspondiente al complejo $\text{Ni}(\text{DMG})_2$.

Puesto que la señal en -1.60 V es proporcional a la concentración de DMG libre, es posible calcular la concentración de esta especie en diferentes momentos del experimento.

Al inicio se tiene un valor de $i_e = 1610$ nA, correspondiente a $C_{\text{DMG}} = 2.59 \times 10^{-4}$ mol/L; en el punto de equivalencia, se tiene una $i_e = 597$ nA, por lo tanto:

$$C_{\text{DMG}} = \left(\frac{597 \text{ nA}}{1610 \text{ nA}} \right) \times (2.59 \times 10^{-4} \text{ mol/L}) = 9.60 \times 10^{-5} \text{ mol/L} \quad (1)$$

Ya que se conocen las concentraciones agregadas a cada momento del experimento, la concentración de ligante libre y la estequiometría de la reacción, es posible realizar el siguiente cuadro de balance de masa:

Tabla 1. Balance de masa con los datos teóricos.

Reacción	Ni (II) +	2 DMG \leftrightarrow	Ni(DMG) ₂ ↓
Inicio	225 μL (1.03×10^{-2} mol/L) = 2.32 μmol	8000 μL (5.82×10^{-4} mol/L) = 4.66 μmol	-
Reacciona (teórico)	2.32 μmol	4.64 μmol	
Equilibrio		18225 μL (9.60×10^{-5} mol/L) = 1.75 μmol	

A partir de los datos de la tabla, es posible calcular la cantidad de DMG que reaccionó con Ni (II)

$$n_{\text{DMG}}^{\text{reacción}} = n_{\text{DMG}}^{\text{total}} - n_{\text{DMG}}^{\text{equilibrio}} = 4.66 \mu\text{mol} - 1.75 \mu\text{mol} = 2.91 \mu\text{mol} \quad (2)$$

Con este dato es posible calcular la cantidad de Ni (II) que reaccionó, puesto que se conoce la estequiometría de la reacción:

$$2.91 \mu\text{mol DMG} \times \frac{1 \mu\text{mol Ni (II)}}{2 \mu\text{mol DMG}} = 1.455 \mu\text{mol Ni (II)} \quad (3)$$

Por lo tanto:

$$n_{\text{Ni(II)}}^{\text{equilibrio}} = n_{\text{Ni(II)}}^{\text{total}} - n_{\text{Ni(II)}}^{\text{reacción}} = 2.32 \mu\text{mol} - 1.455 \mu\text{mol} = 0.865 \mu\text{mol Ni (II)} \quad (4)$$

Es posible calcular la cantidad de Ni (DMG)₂↓ en el punto de equivalencia

$$n_{\text{Ni(DMG)}_2}^{\text{equilibrio}} = 2.91 \mu\text{mol DMG} \left(\frac{1 \mu\text{mol Ni(DMG)}_2}{2 \mu\text{mol DMG}} \right) = 1.455 \mu\text{mol Ni(DMG)}_2 \quad (5)$$

Con los datos anteriores es posible realizar el siguiente cuadro:

Tabla 2. Balance de masa con los datos obtenidos experimentalmente.

Reacción	Ni (II)	+ 2 DMG	⇌ Ni(DMG) ₂ ↓
Inicio	225 μL(1.03x10 ⁻² mol/L) = 2.32 μmol	8000 μL(5.82x10 ⁻⁴ mol/L) = 4.66 μmol	-
Reacciona	1.455 μmol	2.91 μmol	1.455 μmol
Equilibrio	0.865 μmol/18225 μL = 4.75x10 ⁻⁵ mol/L	18225 μL(9.60x10 ⁻⁵ mol/L) = 1.75 μmol	

Para el cálculo de la constante de equilibrio condicional solo es necesario sustituir las concentraciones al equilibrio de las especies involucradas:

$$k'_{f_2} = \beta_2' = \frac{[\text{Ni(DMG)}_2 \downarrow]}{[\text{Ni(II)}][\text{DMG}]^2} \quad (6)$$

$$\beta_2' = \frac{1}{(4.75 \times 10^{-5} \text{ mol/L})(9.60 \times 10^{-5} \text{ mol/L})^2} = 2.28 \times 10^{12} = \mathbf{10^{12.36}} \quad (7)$$

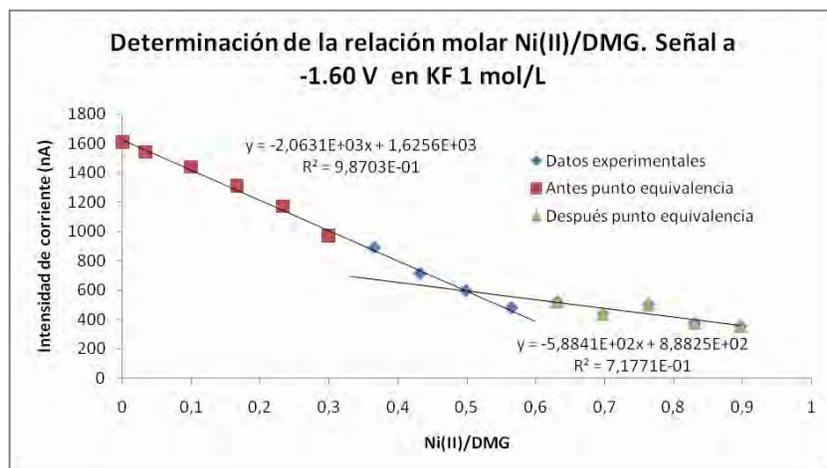


Figura 1. Variaciones de la intensidad de corriente de reducción de la DMG, leídas en el potencial de pico ($E_p = -1.60$ V) en función de la relación molar de Ni(II) respecto a la DMG. Es posible ver el cruce de rectas cuando la relación Ni(II)/DMG es de 0.5

En la Figura 2 se muestra que el color del complejo formado entre el Ni(II) y la DMG en el medio de fluoruros es también insoluble pero presenta un color diferente (rosa intenso, con un toque violáceo) que en el comúnmente usado medio amoniacal, donde el color es rojo.



Figura 2. Reacción entre Ni (II) y DMG en medio de KF 1 mol/L. Durante el experimento, fue posible observar la formación de un compuesto poco soluble. El $Ni(DMG)_2 \downarrow$ suele presentar un color rojo escarlata intenso en medio de NH_4^+/NH_3 (muestra en el tubo de ensayo), pero en medio de KF muestra un color rosa intenso (celda polarográfica), probablemente debido a la interacción del catión metálico con los iones F^- .

Reacción de Co(II) con DMG

Se agregaron a la celda 10.0 mL de KF 1 mol/L y se midió la corriente residual. Se hicieron 5 adiciones de 40 μL de Co (II) patrón 1.171×10^{-2} mol/L y posteriormente se hicieron adiciones de DMG valorado 1.570×10^{-3} mol/L hasta 4117 μL .

En la Figura 3 se presentan las variaciones de la intensidad de corriente de reducción leídas en el potencial de pico ($E_p = -1.12$ V) en función de la relación molar de DMG respecto a la de Co(II), que se mantiene constante. En esta gráfica es posible observar que al igualar las rectas de los puntos antes del primer punto de equivalencia y antes del segundo punto de equivalencia, se tiene que la fracción en la cual son iguales es a 0.952; es decir, se confirma que se necesita la misma concentración de DMG para alcanzar la equivalencia con la concentración de Co (II), por lo que se tiene un complejo de la forma ML.

A su vez, al igualar las rectas de los puntos antes del segundo punto de equivalencia y después del segundo punto de equivalencia, se tiene que la fracción en la cual son iguales es a 1.852; es decir, se confirma que se necesita el doble de DMG para alcanzar la equivalencia con Co (II), por lo que se tiene un complejo de la forma ML_2 .

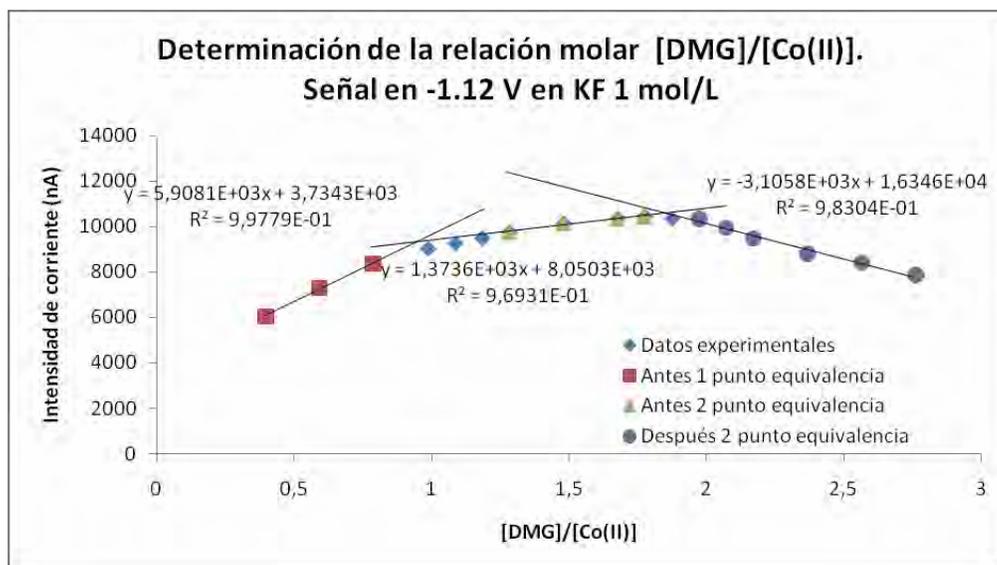


Figura 3. Variaciones de la intensidad de corriente de reducción leídas en el potencial de pico ($E_p = -1.12$ V) en función de la relación molar de DMG respecto a la de Co(II), que se mantiene constante. Es posible ver que las rectas se cruzan aproximadamente en 1 y 2 para la relación entre DMG y Co (II).

Para determinar la fracción disociada del primer complejo, se tiene que calcular una corriente teórica y compararla con la experimental, puesto que

$$i_{d \text{ teórica}} = nk^D C_{Co(DMG)} \quad (8)$$

$$i_{d \text{ experimental}} = nk^D C_{Co(DMG)} (\alpha) \quad (9)$$

Al dividir la corriente experimental entre la teórica se obtiene α

Utilizando la ecuación antes del segundo punto de equivalencia y evaluando en una fracción de 0.963 se tiene la siguiente corriente teórica:

$$i_{d \text{ teórica}} = 1373.6 (0.99) + 8050.3 \quad (10)$$

$$i_{d \text{ teórica}} = 9410.164 \text{ nA} \quad (11)$$

$$\alpha = \frac{i_{d \text{ experimental}}}{i_{d \text{ teórica}}} = \frac{9036.6}{9410.164} = 0.9603 \quad (12)$$

Para la reacción



Tomando la concentración de Co (II) inicial como C_0 , se tiene la siguiente constante condicional

$$k_f' = \beta_1' = \frac{[Co(DMG)]}{[Co(II)][DMG]} = \frac{\alpha C_0}{C_0(1-\alpha)C_0(1-\alpha)} = \frac{\alpha}{C_0(1-\alpha)^2} \quad (13)$$

$$\beta_1' = \frac{\alpha}{C_0(1-\alpha)^2} = \frac{0.9603}{(2.2952 \times 10^{-4})(1-0.9603)^2} = 10^{6.42} \quad (14)$$

Para calcular el del segundo complejo, se debe realizar un procedimiento similar al anterior.

Utilizando la ecuación después del segundo punto de equivalencia y evaluando en una fracción de 1.87 se tiene la siguiente corriente teórica:

$$i_{d \text{ teórica}} = -3105.8 (1.87) + 16346 \quad (15)$$

$$i_{d \text{ teórica}} = 10538.154 \text{ nA} \quad (16)$$

$$\alpha = \frac{i_{d \text{ exp}}}{i_{d \text{ teórica}}} = \frac{10356.6}{10538.154} = 0.9828 \quad (17)$$

Para la
reacción



Al tomar la concentración de Co (II) inicial como C_0 , se tiene la siguiente constante condicional

$$k'_{f_2} = \beta'_{2} = \frac{[\text{Co}(\text{DMG})_2]}{[\text{DMG}]^2[\text{Co}(\text{II})]} = \frac{\alpha C_0}{C_0(1-\alpha)4C_0^2(1-\alpha)^2} = \frac{\alpha}{4C_0^2(1-\alpha)^3} \quad (18)$$

$$\beta'_{2} = \frac{\alpha}{4C_0^2(1-\alpha)^3} = \frac{0.9828}{4(2.2952 \times 10^{-4})^2(1-0.9828)^3} = \mathbf{10^{11.96}} \quad (19)$$

En la Figura 4 se muestra que el color de los complejos formados entre el Co(II) y la DMG en el medio de fluoruros son solubles y presentan un color diferente (amarillos oro suave y paja) muy diferente del que presenta el de Ni(II).



Figura 4. Reacción entre Co (II) y DMG en medio KF 1 mol/L. Durante el experimento fue posible observar un cambio de color en la disolución; desde que se hicieron adiciones de DMG fue adquiriendo poco a poco un ligero color amarillo paja, sin formación de precipitado.

CONCLUSIONES

Con los datos obtenidos se puede concluir que es posible la cuantificación de Ni (II) y Co (II) en KF 1 mol/L mediante el uso de DMG, ya que primeramente se formará el complejo poco soluble de Ni (II) ($\beta'_{2}=10^{12.36}$) sin interferencia de Co (II), debido a las diferencias en las constantes de formación ($\beta'_{1}=10^{6.42}$); una vez complejado el Ni (II), se formarán los complejos de Co (II). También es posible considerar una separación pues el complejo de níquel es insoluble y el de cobalto es soluble en el medio considerado.

La aplicación de la Electroquímica Analítica ha permitido aportar un sustento y plantear una manera sencilla, con un mínimo gasto de muestra (del orden de microlitros) y relativamente rápida para cuantificar y separar Ni(II) de Co(II).

REFERENCIAS

- [1] E. Reyes-Salas, M. Dosal-Gómez, M. Barceló-Quintal & J. Manzanilla-Cano. Simultaneous determination of nickel, cobalt, antimony, and arsenic in an aqueous sample by differential pulse polarography. *Analytical Letters*, **35**(1), 123-133. (2002).
- [2] L. Baxter, A. Bobrowski, A. Bond, G. Heath, R. Paul, R. Mrzljak & J. Zarebski. Electrochemical and spectroscopic investigation of the reduction of dimethylglyoxime at mercury electrodes in the presence of cobalt and nickel. *Analytical Chemistry*, **70**(7) 1312- 1323. (1998).
- [3] L. Tschugaeff. Ueber ein neues, empfindliches Reagens auf Nickel. Ber. Dtsch. Chem. Ges., **38**: 2520–2522. (1905).
- [4] J. E. Caton Jr. Solubility behavior of some copper(II)-and-nickel(II)-vic-dioximes. *Retrospective Theses and dissertations*. 5350. (1966).

CONTROL ANALÍTICO Y CUANTIFICACIÓN DEL ÁCIDO CHELIDÓNICO MEDIANTE TÉCNICAS ELECTROQUÍMICAS

Jorge David Becerra Navarro¹
Margarita Reyes Salas²
Gerardo Reyes García²
Edgar Islas Ortiz²
Octavio Reyes Salas*²

INTRODUCCIÓN

Muchas plantas han sido utilizadas a través del tiempo en todo el mundo por sus propiedades nutritivas y medicinales, con base en el conocimiento empírico de la planta, comenzando por un uso indiferente de plantas, pasando a una recolección selectiva de unas sobre otras, hasta llegar a domesticar las más útiles. En los últimos años se ha estudiado el efecto en la salud de los posibles compuestos bioactivos. La importancia de la caracterización y cuantificación de estos compuestos bioactivos en muestras naturales es necesaria para optimizar la producción y aumentar la calidad de posibles medicamentos elaborados a partir de plantas o extractos naturales. Encaminado a la caracterización y cuantificación del Ácido Chelidónico (4-Oxo-4H-pyran-2,6-dicarboxylic acid / C₇H₄O₆), sustancia que se extrae de la planta *Chelidonium majus*, este trabajo plantea un estudio analítico sustentado en pruebas electroquímicas (Potenciometría y Polarografía) que permitan análisis rápidos, sencillos, de bajo costo y con bajos límites de detección. Se busca que las condiciones de estudio puedan ser aplicadas para un adecuado control analítico de calidad para el proceso de producción para futuros medicamentos de este extracto.

Chelidonium majus, también conocida como Celidonia mayor o Golondrina, es una planta

¹ Universidad Nacional Autónoma de México. Depto. de Química Analítica. Laboratorio 114 DEPg. Facultad de Química. Ciudad Universitaria. Ciudad de México. Tel: +52 (55) 56 22 37 87. E-mail: paachooo@gmail.com, octavio_reyessalas@yahoo.de

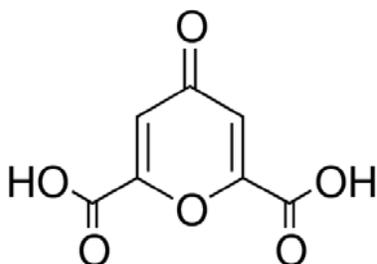
² Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Geología. Ciudad Universitaria. México, Cd. Mx.

herbácea perenne de la familia de las amapolas (Papaveraceae). Es la única especie del género *Chelidonium*. Se encuentra en herbazales nitrófilos, en lugares sombreados y frescos, sobre todo en tapias, escombreras y viejos muros. Es una planta originaria de Europa y la cuenca mediterránea. También es común en Norteamérica, ya que fue introducida por colonos europeos, quienes la usaban para curar las verrugas, ya en 1672. Toda la planta es tóxica y contiene varios alcaloides; puede causar dermatitis también, sobre todo la savia. Por su contenido en alcaloides, la celidonia mayor posee propiedades antiespasmódicas, colagogas, hipolipemiantes (por el ácido chelidónico), sedantes (del sistema nervioso central), hipnóticas, analgésicas, antitusivas, antiasmáticas, antivíricas y antimicóticas (por la sanguinarina y la chelidonina).

Principios activos:

- Ácido chelidónico (gamma pironadicarbonico) es un compuesto heterocíclico oxigenado.
- Alcaloides derivados de la fenantridina (chelidonina, es la principal, cheleritina y sanguinarina).
- Derivados isoquinolécicos (protopina).
- Alfa y beta allocriptopina
- Berberina y sustancias relacionadas (coptisina, stilopina).

Figura 1. Estructura del Ácido Chelidónico.



OBJETIVOS

- Realizar el estudio electroquímico fundamental del ácido chelidónico y los complejos sintetizados para poder cuantificarlos.
- Determinar la estequiometría de los complejos formados entre ácido chelidónico y Cu (II).

EXPERIMENTACIÓN

Las curvas de intensidad de corriente contra potencial se trazaron con el programa Computrace y el analizador polarográfico MDE 150 Radiometer. Se utilizó como electrodo de trabajo el de gota de mercurio, como electrodo de referencia un electrodo de Ag/AgCl y como electrodo auxiliar el de platino. Se empleó como electrolito soporte una disolución de KNO_3 0.5 mol L^{-1} . El estudio previo del ácido chelidónico se realizó con un reactivo analítico (Fluka) con el que se prepararon disoluciones patrón para poder cuantificar el ácido chelidónico en medicamentos y en una muestra natural de la planta *Chelidonium majus*. Para las valoraciones ácido-base se empleó una disolución de hidróxido de sodio estandarizada y con uso de un potenciómetro modelo 827 pH lab/ Metrohm) y un electrodo combinado NTC / 3M KCl.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Un ejemplo de las valoraciones ácido-base del ácido chelidónico con hidróxido de sodio se presenta en la Figura 2, donde se muestra la valoración de 3.0 mL de una disolución de ácido chelidónico con una concentración teórica de $9.51 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (28.5 micromoles teóricas de chelidónico), valorada con una disolución de hidróxido de sodio con una concentración de $0.0104 \text{ mol L}^{-1}$, donde se observa su comportamiento, el cual evidencia que los dos protones ácidos de la molécula son equivalentes y que estos son indiferentes al momento de reaccionar, ya que se generó un gasto de 55.12 micromol de OH^- (5.3 mL) correspondiente a una estequiometría 2:1 sin ningún intervalo de diferencia, lo que nos indica que se valoran los dos protones al mismo tiempo; esta valoración indica también que el reactivo analítico Aldrich empleado es del 96.6 % de pureza. Se observa también la valoración de la impureza, es decir, se trata de una impureza ácida. El gasto adicional de sosa es de 0.5 mL que corresponden a 5.2 micromol y se ajusta al 4 % faltante.

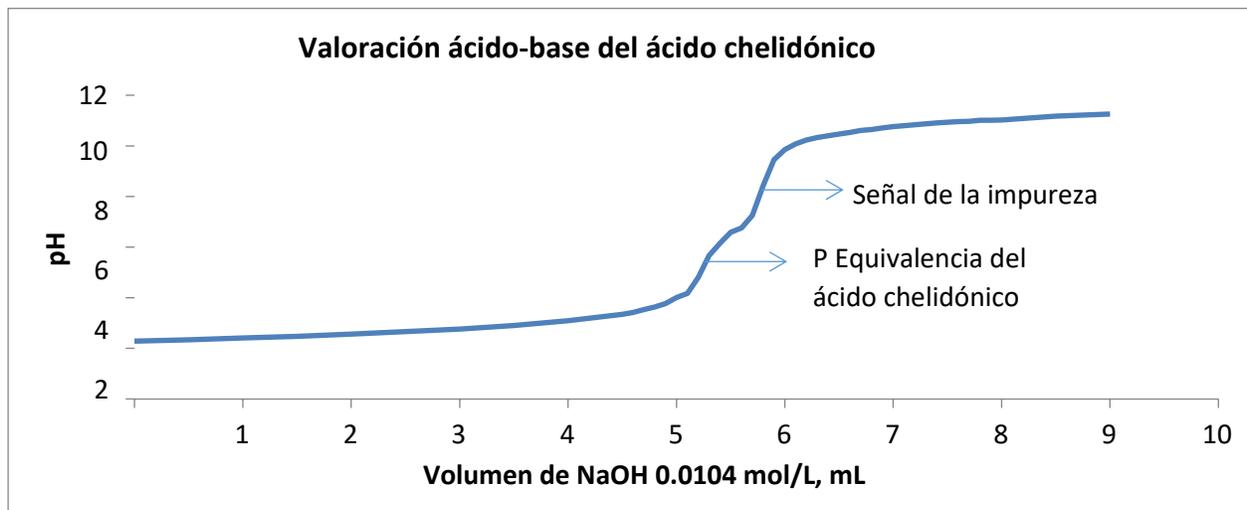


Figura 2. Valoración de 3.0 mL de ácido chelidónico de concentración teórica $9.51 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ con hidróxido de sodio $0.0104 \text{ mol L}^{-1}$

Una vez confirmada la reproducibilidad de los resultados, se procedió a estimar el valor del $pK_a = 2.73$. Este valor de pK_a y la forma de la curva, hacen considerar al ácido chelidónico como un ácido de fuerza media.

Análisis polarográfico del ácido chelidónico

La Figura 3 corresponde al conjunto de polarogramas trazados por polarografía diferencial de impulso (PDI); esta técnica presenta en general mejores cualidades para el análisis cuantitativo. En la polarografía diferencial de impulsos se observan 5 señales de interés; la principal tiene un potencial de pico (E_p) de -0.88 V , la cual corresponde a la señal que se incrementa directamente con el aumento de concentración del ácido chelidónico, las otras señales tienen presencia a potenciales (E_p) de -1.06 V , -1.15 V , -1.25 V y -1.4 V las cuales se presentan en conjunto con la señal principal pero no presentan un crecimiento directamente proporcional por lo que pasan a segundo plano y no serán consideradas en este estudio.

A través de la gráfica de la Figura 4 se puede establecer que la relación intensidad de corriente (A) respecto a la cantidad de sustancia (mol) tiene un comportamiento lineal, por lo que se puede utilizar esta referencia para utilizar la relación intensidad corriente (A) vs cantidad de sustancia (mol) con fines de cuantificación.

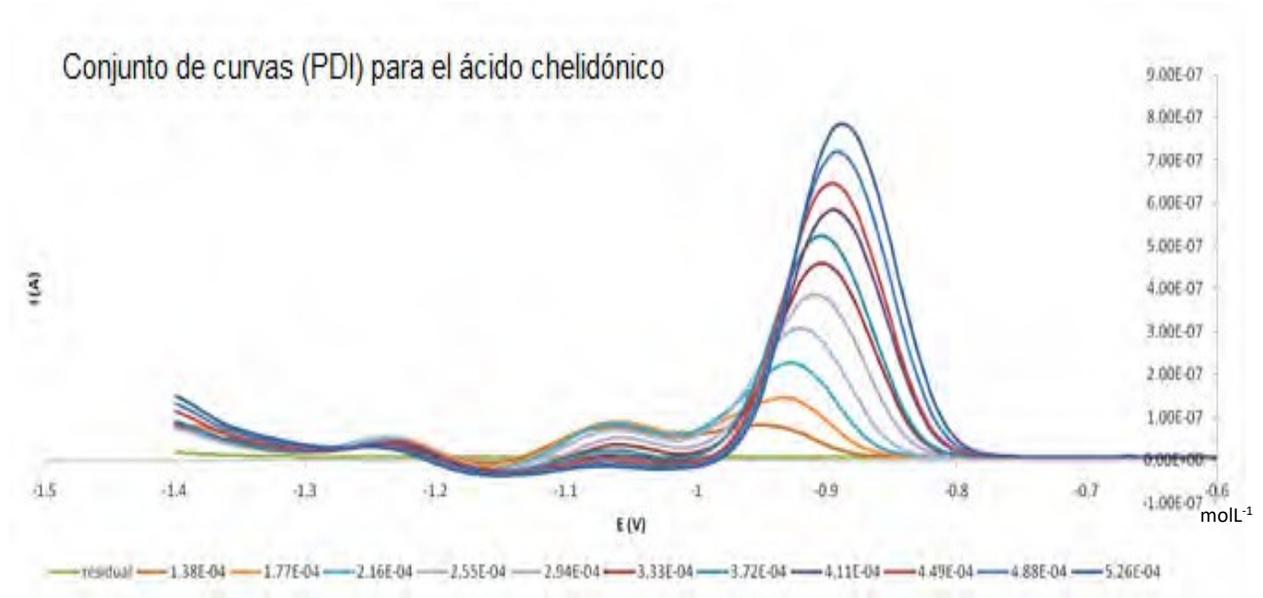


Figura 3. Conjunto de curvas (PDI) de ácido chelidónico $0.0395 \text{ mol L}^{-1}$; adiciones de $10 \mu\text{L}$, en un medio de $\text{KNO}_3 \text{ } 0.5 \text{ mol L}^{-1}$.

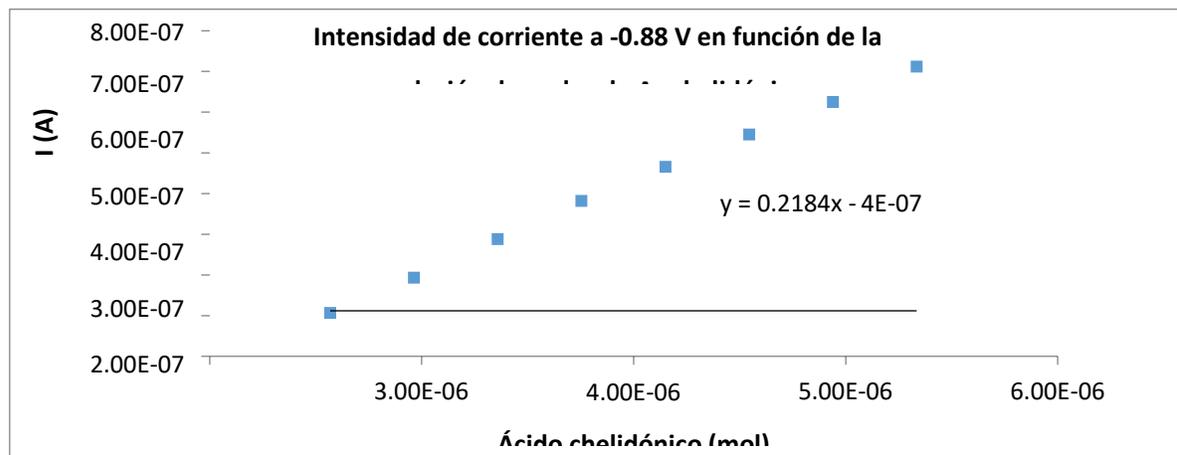


Figura 4. Intensidad de corriente en función de la relación de moles ácido chelidónico en $E_p = -0.88 \text{ V}$

Análisis polarográfico de la valoración inversa de ácido chelidónico con Cu (II) patrón. La Figura 5 corresponde al conjunto de polarogramas trazados por polarografía diferencial de impulso (PDI), en la valoración de $2.57 \mu\text{mol}$ de Cu (II) electrolítico ($57.7 \mu\text{L}$ de concentración 0.445 mol L^{-1}) con una disolución de ácido chelidónico $0.0395 \text{ mol L}^{-1}$ de la cual se fueron adicionando alícuotas de $10 \mu\text{L}$ hasta obtener un total de $120 \mu\text{L}$. Se observa que además de una primera señal en $E =$

0.03 V que corresponde al Cu (II) en el medio, la adición del ácido chelidónico genera dos nuevas señales de gran importancia, una en $E = 0.285$ V que corresponde a la formación del complejo de Cu (Chel) y otra entre -0.85 y -0.95 V que se puede atribuir a la reducción del ácido chelidónico.

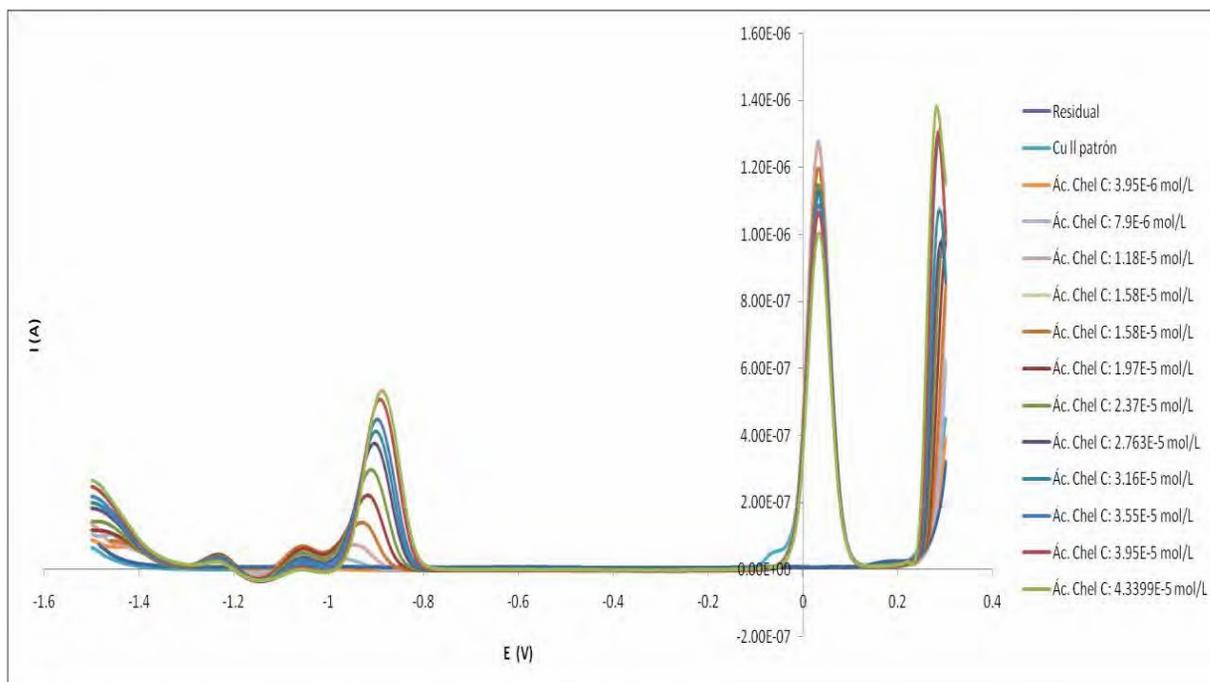


Figura 5. Conjunto de curvas (PDI) de valoración $2.57 \mu\text{mol Cu (II)}$, valorados con ácido chelidónico 0.0395 molL^{-1} , en un medio de $\text{KNO}_3 0.5 \text{ molL}^{-1}$

Las variaciones de la intensidad de corriente en los polarogramas de la disolución con Cu(II) a medida en que se agrega el ácido chelidónico muestra, por la disminución de la señal de Cu(II), que sí hay una reacción de complejación; la aparición de la señal del ácido chelidónico (después de haber agregado $30 \mu\text{L}$ confirma también que la reacción de complejación tiene una estequiometría 2:1, es decir con un complejo Cu_2Chel .

CONCLUSIONES

Los resultados presentados muestran que es posible cuantificar directamente el ácido chelidónico en el medio de $\text{KNO}_3 0.5 \text{ molL}^{-1}$. La determinación polarográfica resulta muy sencilla y relativamente rápida, por lo que es posible considerar su aplicación a muestras naturales de

medicamentos.

La reacción de complejación entre el Cu (II) y el ácido chelidónico, que tiene una estequiometría 2:1, permite considerar también que la cuantificación del ácido chelidónico puede ser realizada con una disolución de Cu(II); esto permite considerar que se tome al Cu(II) como patrón y no se requiera indispensablemente de un patrón de ácido chelidónico.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la compañía Weleda, Suiza por el interés y apoyo a este proyecto.

REFERENCIAS

- [1] A.E. Mendoza Sandoval Investigación bibliográfica de plantas utilizadas como antihipertensoras en la República Mexicana (región neártica). 1, 42-43. 22/01/2018, De TESIUNAM - Búsqueda de texto completo en Tesis Base de datos. (2004).
- [2] J. Lebig, Ch. Gehardt . Tratado de química orgánica. Madrid: .La Ilustración.(1847)
- [3] M.L. Colombo E.Bosisio, Pharmacological activities of Chelidonium majus L. (Papaveraceae).Pharmacol Res. **33** [2], 127-134 (1996).
- [4] Z. Gardner American Herbal Products Association's Botanical Safety Handbook(2da. ed.). New York, America: CRC Press (2013).
- [5] S. Budavari, M. J. O'Neil. The Merck Index. U.S.A. Merck & Co., Inc., 314-315 (1989).

ESTUDIO QUÍMICO ANALÍTICO DE LA COMPOSICIÓN METÁLICA PRINCIPAL DE ALGUNAS METEORITAS MEXICANAS

Daniel Alejandro Aviña Reyes¹
Gerardo Reyes García¹
Edgar Islas Ortiz¹
Margarita Reyes Salas²
Octavio Reyes Salas¹

INTRODUCCIÓN

Las meteoritas son cuerpos extraterrestres que han caído en la Tierra sin haber perdido la totalidad de su masa durante la ablación atmosférica; su tamaño varía desde microscópico hasta una masa de varias toneladas [1]. La determinación de diversas especies metálicas ha sido realizada en diferentes meteoritas; algunas de ellas son las meteoritas Toluca y Chupaderos [2]. La primera fue hallada formalmente en 1776 en el pueblo de Xiquipilco, a 25 km al noroeste de la ciudad de Toluca; para la segunda fueron encontradas dos grandes masas cerca del rancho Chupaderos, a 27 Km de la ciudad de Jiménez [3]. El presente proyecto pretende el desarrollo de una metodología analítica tal que permita la cuantificación de las especies metálicas mencionadas, por medio del uso de Polarografía Diferencial de Impulsos (PDI), la cual es de fácil acceso, bajo costo y gran sensibilidad.

EXPERIMENTACIÓN

(1) Valoración de disoluciones stock. Se han de preparar disoluciones madre de los metales a analizar, valorándolas con un ligante titulado (por ejemplo, EDTA) con otra disolución patrón. Estos procesos se seguirán mediante PDI (2) Curvas de calibración. Se ha de determinar el mejor

¹ Universidad Nacional Autónoma de México. Depto. De Química Analítica. Laboratorio 114 DEPg. Facultad de Química. Ciudad Universitaria. México, Cd. Mx. (55) 56223797. shadow00000@yahoo.com.mx, octavio_reyessalas@yahoo.de.

² Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Geología.

electrolito soporte, tal que permita tener un dominio de electroactividad amplio, donde aparezcan bien definidas las señales de las especies en estudio. Para determinar la linealidad del método, los límites de detección y cuantificación se trazarán las curvas de intensidad-potencial por PDI. Es necesario que las señales obtenidas sean reproducibles y proporcionales a la concentración del analito. (3) Meteorita sintética. Una vez obtenida una metodología electroanalítica confiable se ha de realizar una disolución de concentración conocida que contenga una composición química con la siguiente proporción: Fe, 221.12 ppm; Ni, 118.41 ppm; Co, 12.42 ppm. Dicha disolución fue analizada mediante adiciones patrón con el propósito de probar que se obtiene experimentalmente la concentración teórica (4) Meteorita Toluca y meteorita Chupaderos. Se han de tomar 3 muestras de cada meteorita, las cuales tendrán que ser sometidas a las pruebas utilizadas para la meteorita sintética.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Valoración de reactivos

Se muestra en la Fig. 1. A a modo de ejemplo la valoración de Ni(II) 0.01 mol/L (teórico) con EDTA patrón 0.0964 mol/L. Para la preparación de la disolución se pesaron 0.1480 g de Ni(NO₃)₂ y se disolvieron en 50.0 mL de agua desionizada.

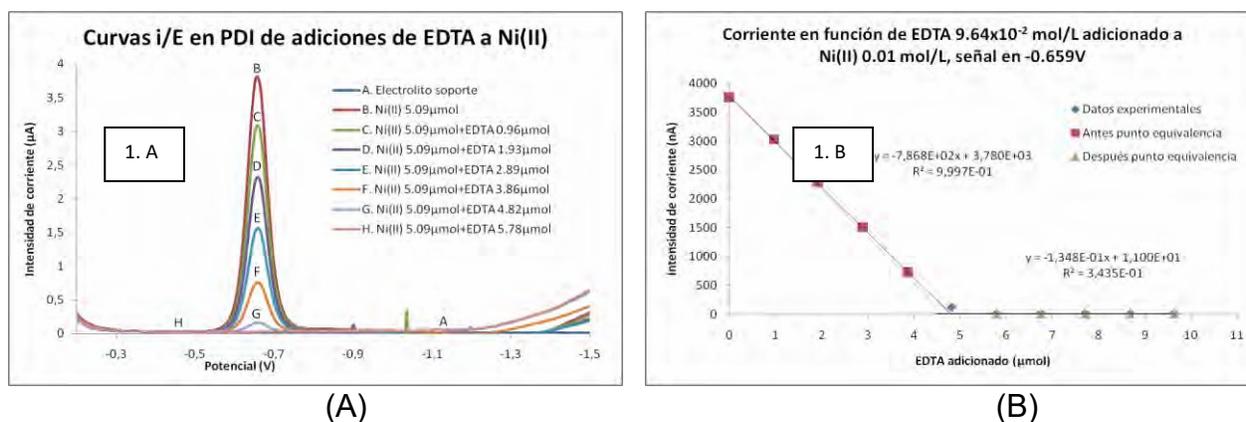


Figura. 1 Valoración de Ni(II) con EDTA. (A) Condiciones electroquímicas. Potencial inicial: -0.15 V, potencial final: -1.8 V; velocidad de barrido: 0.005 V/s; amplitud del impulso: 0.05 V; tamaño de la gota: 4; electrolito soporte: KSCN 1 mol/L. (B) La señal de reducción del catión disminuye conforme se adiciona el ligante hasta llegar a ser constante.

Utilizando las líneas de tendencia es posible calcular la cantidad de EDTA en el punto final de valoración al igualar ambas rectas.

$$EDTA_{\text{punto}} = \left(\frac{11 - \text{equivalencia}}{3779.8 - 786.83 + 0.1348} \right) = 4.79 \mu\text{mol}$$

Con este dato, junto con el volumen de catión agregado, es posible determinar la concentración del Ni (II).

$$C_{Ni(II)} = 4.79 \mu\text{mol}_{EDTA} \left(\frac{1 \mu\text{mol}_{Ni(II)}}{1 \mu\text{mol}_{EDTA}} \right) \left(\frac{1}{500 \mu\text{L}} \right) = (9.58 \pm 0.68) \times 10^{-3} \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$

Puesto que fueron pesados 0.1480 g de Ni(NO₃)₂, se tiene la siguiente concentración teórica

$$C_{Ni(II)teórica} = \left(\frac{0.1480 \text{ g}}{290.8 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} \right) \left(\frac{1}{0.05 \text{ L}} \right) = 1.02 \times 10^{-2} \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$

Por lo cual se tiene la siguiente pureza

$$\% \text{ Pureza} = \frac{9.58 \times 10^{-3} \frac{\text{mol}}{\text{L}}}{1.02 \times 10^{-2} \frac{\text{mol}}{\text{L}}} \times 100\% = 93.92\%$$

El reactivo utilizado presenta una pureza (93.92%) óptima para un reactivo grado Q. P.

Tabla 1. Concentración de las disoluciones madre empleadas en este trabajo

Disolución	Concentración (mol/L)
EDTA	$(9.64 \pm 0.15) \times 10^{-2}$
Fe(III)	$(1.141 \pm 0.050) \times 10^{-2}$
Ni(II)	$(9.58 \pm 0.11) \times 10^{-3}$
Co(II)	$(1.110 \pm 0.006) \times 10^{-2}$
DMG	$(3.54 \pm 0.13) \times 10^{-2}$

Curvas de calibración

Se muestra a modo de ejemplo la curva de calibración de Ni(II) en HAC/AcO⁻ 1 mol/L. Se hicieron adiciones de Ni(II) patrón 0.00958 mol/L a la celda con el electrolito soporte.

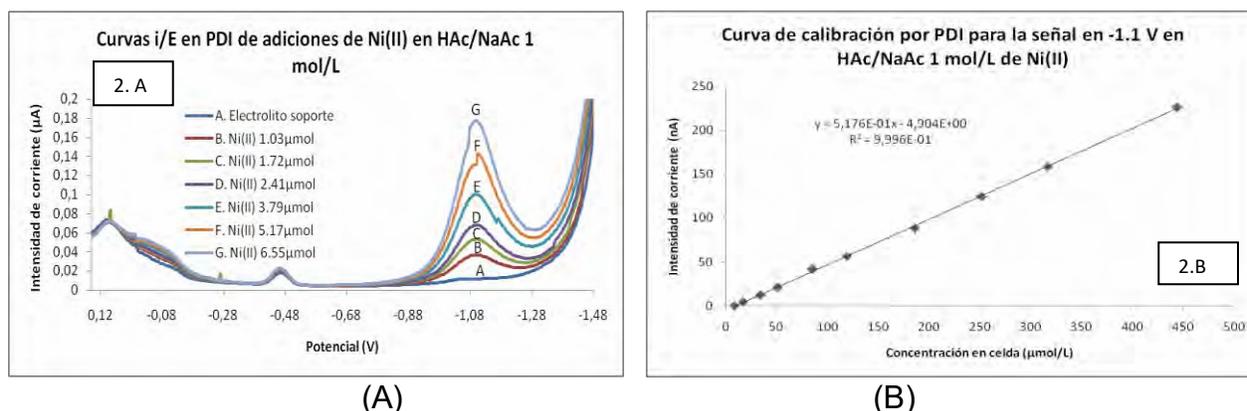


Figura. 2. Curva de calibración de Ni(II). (A) Condiciones electroquímicas. Potencial inicial: 0.25 V, potencial final: -1.65 V; velocidad de barrido: 0.005 V/s; amplitud del impulso: 0.05 V; tamaño de la gota: 4; electrolito soporte: HAC/AcO⁻ 1 mol/L. (B) La curva de calibración presenta la misma tendencia lineal en todo el intervalo utilizado.

Tabla 2. Valores para el cálculo del LDD y LDC, con n igual a 10

Concentración Ni(II) (µmol/L)	i_e (nA)	i_c (nA)	$(i_e - i_c)^2$	S_i/c
8.62	0.3	-0.44	0.55	1.5 3
17.22	4.6	4.01	0.35	
34.37	12.5	12.89	0.15	
51.46	21	21.73	0.54	
85.46	41.7	39.33	5.61	
119.22	56.7	56.80	0.01	
186.03	88.6	91.38	7.73	
251.90	124.6	125.47	0.76	
316.85	158.6	159.09	0.24	
444.07	226.6	224.94	2.76	

Para el cálculo del límite de detección (LDD) y el límite de cuantificación (LDC) es necesario evaluar la corriente calculada (i_c), así como obtener la desviación estándar de la recta ($S_{i/c}$):

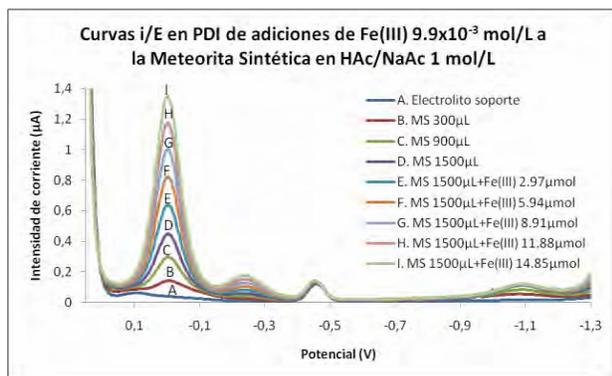
$$i_c = m(C_{Ni(II)}) + b; S_{i/c} = \sqrt{\frac{\sum(i_e - i_c)^2}{n-2}} ; LDD = \frac{3S_{i/c}}{m} ; LDC = \frac{10S_{i/c}}{m}$$

Tabla 3. Límites para la determinación para Ni (II) en el medio HAc/NaAcO 1 mol/L

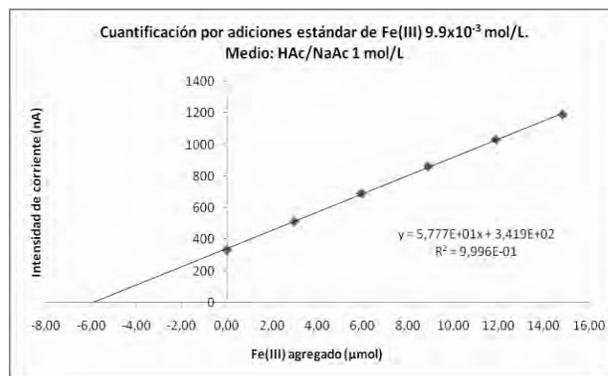
Límite de detección para Ni (II) (LDD)		Límite de cuantificación para Ni (II) (LDC)	
mol/L	ppb	mol/L	ppm
8.86×10^{-6}	520	2.95×10^{-5}	1.73

Meteorita sintética (MS)

Se muestra a modo de ejemplo la determinación de Fe(III) en la meteorita sintética. Se añadieron 1500 μ L de meteorita sintética [5.94 μ mol de Fe(III)] y se hicieron 5 adiciones de Fe(III) patrón 0.0099 mol/L



(A)



(B)

Figura 3. Cuantificación de Fe(III) por adiciones patrón. (A) Condiciones electroquímicas. Potencial inicial: 0.25 V, potencial final: -1.65 V; velocidad de barrido: 0.005 V/s; amplitud del impulso: 0.05 V; tamaño de la gota: 4; electrolito soporte: HAc/NaAcO 1 mol/L. (B) La extrapolación de la curva de calibración por adición de estándar da la cantidad presente en la muestra problema.

Tabla 4. Límites de detección y cuantificación para los cationes bajo estudio

Especie química	Medio (1 mol/L)	Límite de detección		Límite de cuantificación	
		Mol/L	ppm	Mol/L	ppm
Fe(III)	HAc/AcO ⁻	3.17x10 ⁻⁵	1.77	1.06x10 ⁻⁴	5.89
Ni(II)	HAc/AcO ⁻	8.86x10 ⁻⁶	0.52	2.95x10 ⁻⁵	1.73
Ni(II)	NH ₄ ⁺ /NH ₃	2.50x10 ⁻⁵	1.47	8.34x10 ⁻⁵	4.90
Co(II)	NH ₄ ⁺ /NH ₃	2.66x10 ⁻⁶	0.16	8.86x10 ⁻⁶	0.52

Al igualar la corriente a cero, o bien al duplicar el valor de la intersección e interpolar, con la ecuación de la recta es posible calcular la cantidad de Fe (III) presente en la MS.

$$\text{si } y = 0, \quad Fe(III)_{MS} = \left(\frac{341.9}{57.77} \right) = (5.92 \pm 0.11) \mu\text{mol}$$

Al comparar esta cantidad calculada con la cantidad conocida de Fe (III) presente es posible determinar la recuperación.

$$\% \text{ Recuperación}_{Fe(III)} = \left(\frac{5.92 \mu\text{mol}_{\text{calculado}}}{5.94 \mu\text{mol}_{\text{M}}^S} \right) \times 100\% = (99.7 \pm 2.0) \%$$

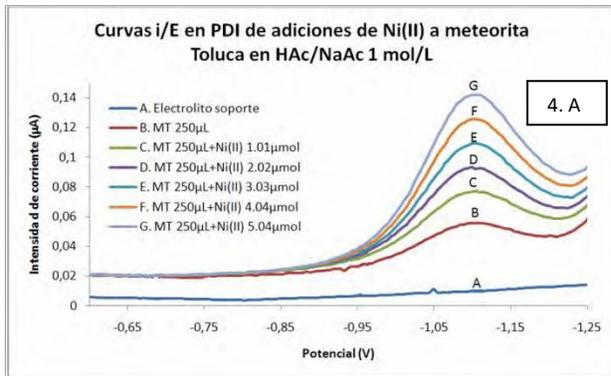
Esta recuperación muestra que se tiene un error del 0.34 % para la determinación de este catión; sin embargo, esta dentro de la incertidumbre del método. La metodología se puede aplicar a las muestras.

Tabla 5. Porcentajes de recuperación de los cationes a cuantificar en diferentes medios.

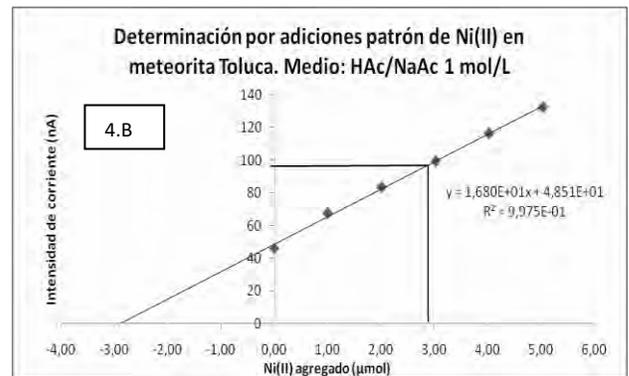
Especie química	Medio (1 mol/L)	% Recuperación
Fe(III)	HAc/AcO ⁻	99.7±2.0
Ni(II)	HAc/AcO ⁻	95.8±6.8
Ni(II)	NH ₄ ⁺ /NH ₃	107.3±4.4
Co(II)	NH ₄ ⁺ /NH ₃	90.2±3.0

Meteorita Toluca y meteorita Chupaderos (MT y MCh)

Se muestra a modo de ejemplo la determinación de Ni(II) en HAc/AcO⁻ 1 mol/L en la meteorita Toluca. Se disolvieron en HNO₃ 99.4 mg de la meteorita y se llevaron a 10.0 mL de aforo, a pH=2. Se añadieron 250 µL de meteorita Toluca y se hicieron 5 adiciones de 50 µL de Ni(II) patrón 0.0101 mol/L.



(A)



(B)

Figura 4. Determinación de Ni(II) en la meteorita Toluca mediante adiciones patrón. (A) Condiciones electroquímicas. Potencial inicial: 0.25 V, potencial final: -1.65 V; velocidad de barrido: 0.005 V/s; amplitud del impulso: 0.05 V; tamaño de la gota: 4; electrolito soporte: HAc/AcO⁻ 1 mol/L. (B) La interpolación de la curva de calibración por adición de estándar da la cantidad presente en la muestra problema.

Al igualar la corriente a cero o bien al duplicar el valor de la intersección en interpolar, con la ecuación de la recta es posible calcular la cantidad de Ni (II) presente en la MT.

$$\begin{aligned}
 \text{si } y = 0, \quad Ni(II)_{MT} &= \left(\frac{48.51}{16.795} \right) = 2.89 \mu\text{mol} \\
 \% Ni_{MT} &= \left(\frac{2.89 \mu\text{mol}_{Ni(II)}}{250 \mu\text{L}_{MT \text{ adicionado}}} \right) (10 \text{ mL}_{MT \text{ aforo}}) \left(\frac{58.69 \frac{\text{g}}{\text{mol}}}{99.4 \text{ mg}_{MT}} \right) * 100\% \\
 &= (6.82 \pm 0.26) \%
 \end{aligned}$$

Tabla 5. Composición metálica principal de la meteorita Toluca.

# Muestra	Masa pesada (mg)	%Fe	U _{Fe}	%Ni	U _{Ni}	%Co	U _{Co}
1	99.4	86.0	1.6	6.82	0.26	0.233	0.011
2	118.4	83.8	0.68	7.58	0.12	0.308	0.014
3	77.2	84.2	1.2	6.27	0.06	0.212	0.012
Resultado		84.6	2.2	6.89	0.47	0.251	0.036

Tabla 6. Composición metálica principal de la meteorita Chupaderos.

# Muestra	Masa pesada (mg)	%Fe	U _{Fe}	%Ni	U _{Ni}	%Co	U _{Co}
1	100.8	88.8	1.9	9.24	0.26	0.357	0.047
2	80.1	86.4	1.3	9.48	0.50	0.478	0.064
3	119.4	86.6	2.2	9.96	0.26	0.516	0.047
Resultado		87.2	3.2	9.56	0.65	0.450	0.094

CONCLUSIONES

Los porcentajes determinados para la meteorita Toluca difieren ligeramente con los encontrados en la literatura, pero son comparables. En los trabajos previos sobre la composición química de las meteoritas no se presentan los intervalos de incertidumbre en los valores reportados; en este sentido, uno de los aportes de este trabajo es presentar cuantificaciones que permiten tener más confianza estadística. En el caso de la meteorita Chupaderos, se cuenta con menos valores para comparar, pero se presenta la misma situación que con la meteorita Toluca, que ha sido más estudiada.

Esta metodología con base en la electroquímica analítica permite conocer con relativa sencillez la cantidad presente de Fe, Ni y Co en meteoritas metálicas, ya que se ha demostrado que los cationes de estas especies pueden ser cuantificados mediante adiciones patrón usando polarografía diferencial de impulsos. Estos resultados son suficientemente confiables para apoyar el conocimiento de la Meteorítica y su relación con las hipótesis del origen del universo.

REFERENCIAS

- [1] M. Reyes-Salas, C. Macías-Romo, O. Reyes-Salas, C. Linares & F. Ortega-Gutiérrez. Características observables y medibles para distinguir meteoritas de falsas meteoritas. Simposium de Metrología 2008. SM2008-**M232** [1173] 1-5 (2008).
- [2] G. Arreguín-Molina. Meteoritas mexicanas. Estudio electroquímico de metales y determinación de Fe, Ni y Co en la meteorita Toluca. Tesis de Maestría. Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec. (2008).
- [3] V. F. Buchwald. Handbook of iron meteorites. University of California Press. USA. (1975).

ESTUDIO DEL EFECTO DE LA CANTIDAD DE Ni SOBRE LA ACTIVIDAD EN HIDRODESULFURACIÓN DE CATALIZADORES Ni-Mo SOPORTADOS EN ÓXIDOS MIXTOS DE MgO-TiO₂

Carlos López Lozano
Acela López Benítez
Alfredo Guevara Lara¹

INTRODUCCIÓN

Las industrias y vehículos automotores que utilizan combustibles fósiles generan una amplia variedad de contaminantes cuya emisión produce el deterioro de la calidad del aire y de la atmósfera, por lo tanto, pueden producir afectaciones en la salud humana. A este tipo de contaminantes se les denomina contaminantes criterio y están compuestos por especies como el ozono (O₃), dióxido de nitrógeno (NO₂), dióxido de azufre (SO₂) y monóxido de carbono (CO). Para atender los problemas de contaminación es necesario mejorar la calidad de los combustibles [1].

La Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), a través de la norma NOM-086-SEMARNAT-SENER-SCFI-2005, exige que los niveles promedio máximos de azufre en las gasolinas sea menor a 30 ppm [2]. Esto representa un reto técnico ya que la cantidad de azufre contenido en una muestra típica de destilados medios de petróleo están en torno al 1-3% en peso.

El consumo de combustibles fósiles ocasionó que se emitieran 3.4 millones de toneladas de contaminantes en 2012, esto solo en la Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM). Del total de estos contaminantes, las fuentes móviles emitieron 2.2 millones de toneladas, las fuentes aéreas 804,548 toneladas y las fuentes puntuales 392,195 toneladas. Las fuentes naturales de

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Área Académica de Ciencias Químicas, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México, C.P. 42000. carlos.lopez.04@hotmail.com albenitez2011@hotmail.com guevaraa@uaeh.edu.mx.

contaminación emitieron solamente 59,175 toneladas. El CO representa el 70% del total de contaminantes emitidos por fuentes antropogénicas, los compuestos orgánicos volátiles (VOCs) el 13%, los NO_x el 7% y el SO₂ el 5% [4].

El contenido de azufre en las gasolinas y el diésel se reduce mediante un proceso de hidrotratamiento (HDT), denominado hidrodesulfuración (HDS), que utiliza catalizadores de CoMo o NiMo, soportados en Al₂O₃, logrando concentraciones de 300-500ppm. Ya que estos niveles de azufre son aún muy elevados y no cumplen con los estándares medioambientales, es necesaria la investigación y desarrollo de nuevos materiales que promuevan una mayor actividad catalítica y lograr así combustibles más limpios [3].

Para obtener diésel y gasolina con concentraciones ultra bajas de azufre, es necesario un mejor proceso de hidrotratamiento con catalizadores más activos. La actividad de los catalizadores utilizados depende de la formación de los sitios activos Ni—Mo—S. Lo que requiere que los metales, el Mo y el promotor Ni interactúen adecuadamente durante las etapas de impregnación, secado, calcinación y sulfuración.

En este trabajo se estudiaron catalizadores NiMo/MgOTiO₂ impregnados con una solución alcalina a pH=9, utilizando relaciones molares de Ni/(Ni+Mo) = 0.3, 0.4 y 0.5 con un 14% de MoO₃.

La caracterización mediante espectroscopía Raman de los sólidos secos muestran la existencia de la especie tetraédrica MoO₄²⁻ y del ión NO₃⁻. En los sólidos calcinados desaparece la banda del ión NO₃⁻ y se mantiene la del MoO₄²⁻. La espectroscopía de reflectancia difusa UV-Vis de los catalizadores secos muestra la simetría local de los iones Ni²⁺_{Oh}, Ni²⁺_{Oh dis} y de Mo⁶⁺. Además, se observó la formación de la espinela Ni-Mg de los sólidos secos impregnados con relaciones molares 0.4 y 0.5. Después de la calcinación la interacción Ni-MgO se vuelve evidente en todos los catalizadores.

La evaluación catalítica se llevó a cabo en un reactor de flujo continuo utilizando la reacción de hidrodesulfuración de dibenzotiofeno como modelo. Las concentraciones finales se analizaron mediante cromatografía de gases. Las velocidades de reacción fueron del orden de 17.4, 10 y 8.1 (x10⁻⁷ molDBTg⁻¹s⁻¹) para los sólidos con relaciones molares 0.3, 0.4 y 0.5, respectivamente.

EXPERIMENTACIÓN

El soporte de MgO-TiO₂ se preparó con una relación de 95% mol de MgO y 5% mol de TiO₂ por el método sol-gel a partir de alcóxidos de magnesio y de titanio disueltos en diferentes alcoholes. El sólido se molió en un mortero y se colocó en un crisol para tratarlo térmicamente a 120°C durante 4 horas y posteriormente calcinarlo a 550°C durante 4 horas. El soporte calcinado se caracterizó mediante espectroscopía UV-vis.

Para obtener los catalizadores con 14% peso de MoO₃ y una relación molar de Ni/(Ni+Mo) = 0.3, 0.4 y 0.5, los soportes sintetizados se impregnaron por el método de coimpregnación húmeda con una solución acuosa a pH=9 con nitrato de níquel hexahidratado Ni(NO₃)₂•6H₂O y de heptamolibdato de amonio tetrahidratado (NH₄)₆Mo₇O₂₄•4H₂O. Los sólidos impregnados se dejaron reposar por 24 horas a temperatura ambiente y posteriormente se secaron a 120°C durante 4 horas. Finalmente, los sólidos se calcinaron a 400°C por 4 horas. Los catalizadores obtenidos son nombrados 0.3NiMo/MgTiO₂, 0.4 NiMo/MgTiO₂ y 0.5 NiMo/MgTiO₂ para los catalizadores con Ni/(Ni+Mo) = 0.3, 0.4 y 0.5, respectivamente. Se realizó la caracterización espectroscópica de los catalizadores secos y calcinados.

Los espectros Raman se obtuvieron con un espectrómetro BWK equipado con láser de 532 nm. El barrido de las muestras se realizó con una potencia láser de 5-250 mW entre 3600 y 100 cm⁻¹. Los espectros UV-vis fueron obtenidos de un espectrómetro Perkin- Elmer Lambda 35 equipado con una esfera de integración Labsphere de 150 nm de diámetro. Como referencia de reflectancia difusa se utilizó el estándar Spectralon-SRS- 99-10 (Reflectancia del 99%). Los resultados son mostrados con la aplicación de la función de Kubelka Munk ($f(R_{\infty})$) a los valores de reflectancia (R_{∞}).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 1 muestra los espectros de reflectancia difusa UV-Vis de los catalizadores secos, 0.3 NiMo/MgTiO₂, 0.4 NiMo/MgOTiO₂ y 0.5 NiMo/MgOTiO₂. El soporte de MgO- TiO₂ presenta una banda a 240 nm, característica de la interacción Ti—O. Los catalizadores muestran bandas a 444, 680 y 760 nm asociadas a la formación de Ni²⁺ con simetrías locales octaédrica y octaédrica distorsionada. La banda a 380 nm se relaciona a la espinela Ni-Mg y la banda a 230 con la especie tetraédrica Mo⁶⁺. La Figura 2 muestra que las bandas de los catalizadores secos se conservan

después de la calcinación. Sin embargo, la banda a 380 nm de la espinela es de mayor intensidad en los catalizadores calcinados.

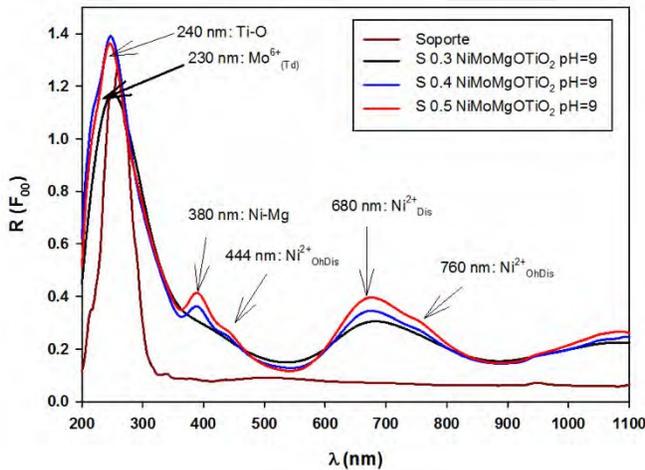


Figura 1. Espectros UV-Vis de los catalizadores 0.3 NiMo/MgOTiO₂, 0.4 NiMo/MgOTiO₂ y 0.5 NiMo/MgTiO₂ secos.

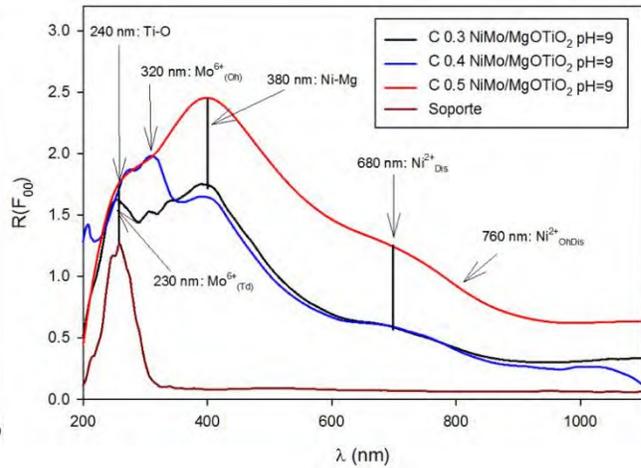


Figura 2. Espectros UV-Vis de los catalizadores 0.3 NiMo/MgOTiO₂, 0.4 NiMo/MgOTiO₂ y 0.5 NiMo/MgTiO₂, calcinados.

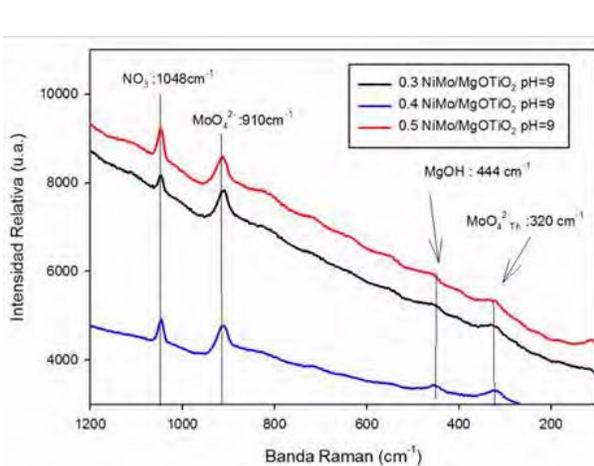


Figura 3. Espectros Raman de los catalizadores 0.3 NiMo/MgOTiO₂, 0.4 NiMo/MgOTiO₂ y 0.5 NiMo/MgTiO₂, secos.

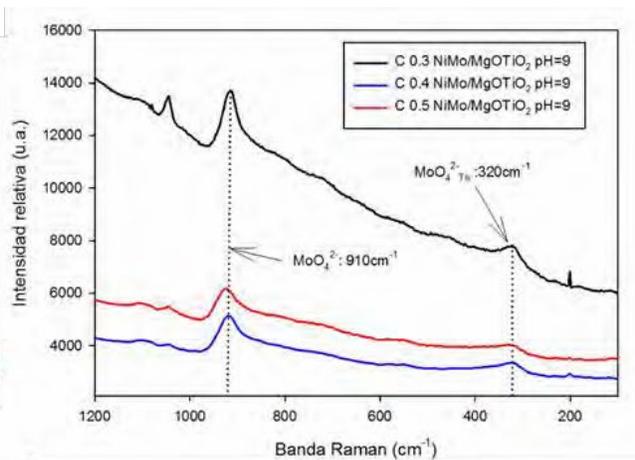


Figura 4. Espectros Raman de los catalizadores 0.3 NiMo/MgOTiO₂, 0.4 NiMo/MgOTiO₂ y 0.5 NiMo/MgTiO₂, calcinados.

Los espectros UV-Vis permiten distinguir únicamente la simetría del ion níquel. Con la finalidad de identificar las especies de Mo presentes en los catalizadores, se caracterizaron por espectroscopía raman, que permite obtener información detallada acerca de la estructura molecular de los óxidos superficiales. La importancia de esta técnica se basa que cada estado molecular posee un espectro

vibracional único que es asociado a su estructura. La Figura 3 muestra los espectros de los catalizadores 0.3, 0.4 y 0.5 NiMo/Mg-TiO₂ impregnados a pH=9, secos. Los sólidos 0.3 NiMo/MgO-TiO₂, 0.4NiMo/MgO-TiO₂ y 0.5 NiMo/MgO-TiO₂ presentan dos bandas a 320 cm⁻¹ y 910 cm⁻¹, características de MoO₄²⁻. Los catalizadores muestran, además, una banda a 1040 cm⁻¹ característica del ión nitrato, proveniente del precursor utilizado para su síntesis. La figura 4 muestra los espectros de los catalizadores calcinados, en la que observamos la desaparición del ión NO₃⁻.

Evaluación catalítica

Los catalizadores se activaron con una corriente gaseosa de 10% v/v H₂S/H₂ durante 4 horas. Los sólidos sulfurados se evaluaron en una micro-planta piloto con un reactor de lecho fijo. Se colocaron 0.01g de cada sólido a 30 bar de presión. La temperatura inicial del experimento fue de 280°C, sufriendo un aumento de 20°C cada dos horas hasta llegar a 340°C. Se tomaron muestras cada hora. El flujo de alimentación de la solución de 500 ppm de S como dibenzotiofeno en n-heptano se mantuvo constante. Se calcularon parámetros como el porcentaje de conversión de DBT y las velocidades de cada una de las reacciones. Los productos de la reacción se analizaron por cromatografía de gases, utilizando un detector de ionización de flama.

El bifenilo es el producto mayoritario en la reacción de hidrodesulfuración de DBT. Las conversiones de DBT se obtuvieron con la siguiente fórmula:

$$x_{DBT} = \frac{\left(\frac{A_{DBT}}{A_{C12}}\right)_0 - \left(\frac{A_{DBT}}{A_{C12}}\right)}{\left(\frac{A_{DBT}}{A_{C12}}\right)_0} = \frac{\sum A_{Productos}}{\sum A_{Productos} + \sum A_{Reactivos}} \quad (1)$$

donde:

X_{DBT}: Conversión de DBT.

A_{DBT0}: Área de DBT inicial obtenida del cromatograma al inicio de la reacción.

A_{DBT}: Área de DBT a un tiempo determinado de la reacción obtenido del cromatograma.

A_{C12}: Área de dodecano obtenida del Cromatograma al inicio de la reacción.

A_{C120}: Área de dodecano a un tiempo determinado de la reacción obtenido del cromatograma.

La velocidad de reacción se calculó a partir de la siguiente ecuación:

donde:

$$-r = \frac{(F_{DBT})(X_{DBT})}{m_{Catalizado} \cdot r} \quad (2)$$

-r= Velocidad de transformación de DBT (moles de DBT·s⁻¹·g_{catalizador}⁻¹). F_{DBT}= Flujo molar de DBT en el reactor (moles de DBT_o·s⁻¹).

X_{DBT}= Conversión de DBT (moles de DBT/ moles de DBT_o). m_{catalizador}= Masa del catalizador (g).

Se utilizó la ecuación de Arrhenius para calcular la energía de activación de las reacciones.

$$\ln K = \ln A - \frac{E}{R \cdot T} \quad (3)$$

donde:
K= Constante de velocidad.

E_a=Energía de activación (cal/mol).

R= Constante de los gases (1.987 cal·mol⁻¹·K⁻¹). T= Temperatura (K)

A= Factor preexponencial.

La tabla 1 muestra el resumen de los parámetros analizados de la reacción de hidrodesulfuración de dibenzotiofeno a 300°C.

Tabla 1. Comparación de los catalizadores con relaciones molares 0.3, 0.4 y 0.5.

	%Conversión	Selectividad	r (10 ⁻⁷ molDBTs ⁻¹ g ⁻¹)	K(10 ⁻⁴)	Ea (KCal)
0.3 NiMo/Al ₂ O ₃ pH=9	33.1	100%	17.4	2.4	77
0.4 NiMo/Al ₂ O ₃ pH=9	19.1	100%	10.0	1.2	90
0.5 NiMo/Al ₂ O ₃ pH=9	15.3	100%	8.1	0.89	57

La figura 5 muestra las velocidades de reacción de cada una de las relaciones molares.

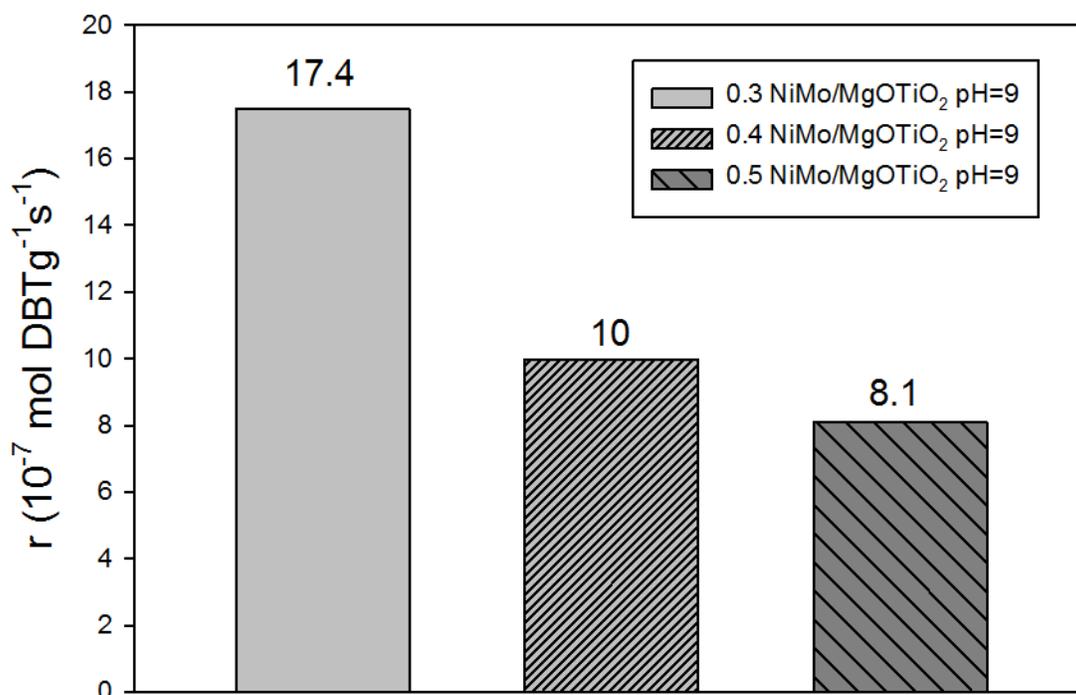


Figura 5. Comparación gráfica de las velocidades de reacción de los catalizadores.

CONCLUSIONES

Se estudiaron las interacciones entre el soporte y las especies de Ni y Mo durante la impregnación y la calcinación. La caracterización espectroscópica sugiere la presencia de las especies de $\text{Ni}^{2+_{Td}}$ y MoO_4^{2-} .

La calcinación tiene un efecto importante sobre las especies de Mo, los espectros Raman de las muestras calcinadas sugieren que la interacción Ni-Mg es fuerte.

El aumento en la concentración de Ni favorece la formación de la espinela Ni—Mg, que no es deseable, ya que no permite la interacción Ni-Mo, disminuyendo los porcentajes de conversión y las velocidades de reacción.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos al CONACYT por el financiamiento del proyecto con No. 256345/CB-2015-01.

REFERENCIAS

- [1] M. Contreras, G. García, B. Icaza. Calidad del aire: una práctica de vida. Centro de Educación y Capacitación para el Desarrollo Sustentable. SEMARNAT. (2013)
- [2] Norma Oficial Mexicana NOM-086-SEMARNAT-SENER-SCFI-2005
- [3] Teh C. Ho. Deep HDS of diesel fuel: chemistry and catalysis. *Catalysis Today*, **98**, 3- 18. (2004).
- [4] SEMARNAT. Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. Compendio de Estadísticas Ambientales. Indicadores Clave, de Desempeño Ambiental y de Crecimiento Verde. Edición 2015. SEMARNAT. México. (2016).
- [5] J. A. García, M. Grutter, D. Cintora. Evaluación del riesgo por contaminantes criterio y formaldehído en la ciudad de México. *Int. Contam. Ambient.*, **23**, 169-175. (2007)
- [6] R. Alexandri, L. Guerrero, F. Rodríguez, A. Ubaldo, A. Ramos, F. Rueda. Perspectiva de petróleo y petrolíferos 2015-2029. México. Secretaría de Energía. (2015)

RECUPERACIÓN DE YODURO DE POTASIO

Ana Cristina Lozada Illescas
Silvia Citlalli Gama González^{1*}

INTRODUCCIÓN

En diferentes procesos de análisis químico se utiliza la yodometría para cuantificar diferentes especies de interés.

El objetivo del presente trabajo es recuperar yoduro de potasio (KI) a partir de los residuos de estos procesos, además de purificarlo de manera tal que permita obtener resultados confiables en los análisis para los que se pueda destinar.

El propósito principal del proyecto es generar un método de recuperación de yoduro de potasio, a partir de residuos de titulaciones de tiosulfato en presencia de exceso de yoduro de potasio, indicador de almidón y medio ácido impuesto con ácido sulfúrico.

El reto es generar un método de recuperación que sea viable en costo, tiempo y reproducibilidad del método, que conlleva a la práctica múltiple y al análisis de la metodología continuamente. Por ello, se tienen dos modelos de método:

- a) Método con óxido de calcio (CaO). Utilizando disolución saturada de cal.
- b) Método con hidróxido de potasio (KOH). Utilizando una disolución saturada de hidróxido de potasio 90% puro, marca Sigma-Aldrich.

Ambos métodos se presentan con ventajas y desventajas como se explica a continuación.

¹ Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito interior, Ciudad Universitaria, C.P. 04510, Coyoacán, Ciudad de México, Anexo del laboratorio 3-A, Edificio A, Facultad de Química. Tel: (55) 31 00 67 96. e-mail: anita080411@gmail.com.
Universidad Nacional Autónoma de México. Área de Química Analítica. Circuito interior, Ciudad Universitaria, C.P. 04510, Coyoacán, Ciudad de México, Anexo del laboratorio 3- A, Edificio A, Facultad de Química. Tel: +52 (55) 56 22 34 54, e-mail: silviacitlalli@gmail.com.

EXPERIMENTACIÓN

Al inicio, es indispensable la evaporación de los residuos, para eliminar el exceso de agua y concentrar el yodo. Se añade un poco de cal, para alcalinizar y evitar la pérdida de yodo por sublimación. El cuidado que se requiere para agregar y disolver la cal en los vasos que contienen a la disolución debe ser delicado, ya que una efervescencia violenta puede suceder, a causa del desprendimiento de gas. Se decanta el exceso de asentamientos y cal, para continuar concentrando el yodo y separar el óxido de calcio que contiene yodato de calcio, almidón y sulfatos. Conforme se evapora se agrega más disolución de residuos para generar una matriz de disoluciones cada vez más concentradas. Se observa una coloración constantemente violácea, en función de la concentración de la forma libre en que se encuentra el triyoduro en la fase acuosa y los asentamientos son proporcionalmente azules o violáceos debido al complejo de almidón con yodo.

Una vez fuera del proceso de evaporación, se alcaliniza agregando más cal, sin necesidad de dejar a la disolución incolora, para que la coloración, generalmente marrón, pueda servir como indicador de presencia de residuos de almidón. En ésta parte del procedimiento se deja enfriar la disolución ya que el complejo almidón-yodo es muy sensible a la temperatura. A 50°C, el color es diez veces menos intenso que a 25°C, de esa manera se consigue controlar el aspecto de concentración y la cantidad óptima de cal añadida a las disoluciones tratadas.

Posteriormente se filtra en un embudo con papel filtro de filtración lenta, dejando a la fase acuosa libre de partículas sólidas y con una tonalidad marrón característica del yodo, como se puede apreciar en la Figura 1.



Figura 1. En el vaso del lado izquierdo se muestra a la disolución después de agregarle cal y en el vaso de la derecha se observa la disolución cuando se ha separado de la fase sólida.

Por otra parte, el sólido colectado se debe dejar en una disolución saturada de cal a pH 10 por 24 horas, para dar tiempo a que se libere el yoduro contenido en el complejo de almidón, dejando libre de coloración violácea a los sólidos y así se consideran listos para secar en una estufa. La misma disolución de cal se utiliza para limpiar el papel filtro y de esa manera evitar la pérdida de yoduro en el papel. La disolución alcalina remanente de los sólidos se puede mezclar a las disoluciones en el proceso de concentración ya que contiene el exceso de yoduro que se liberó del sólido, evidente por la ligera coloración amarilla, y también para favorecer el medio básico ya que la disolución permanece alcalina.

Los líquidos filtrados del tratamiento se dejan reposar por 24 horas. Cuando la disolución ha estado lo suficientemente concentrada se nota la formación de asentamientos de almidón. Si no se forman se siguen cualquiera de los dos métodos propuestos:

- En el método del hidróxido de potasio. Se agregan directamente a la fase acuosa, desde 250 mL a 300 mL de una disolución saturada de hidróxido de potasio por cada litro de residuos sometidos a tratamiento, suficientes para disminuir la coloración marrón y comenzar a observar en cuestión de minutos la formación de una cantidad considerable de almidón precipitado. De agregar menor volumen de disolución de KOH, 100 mL aproximadamente, se puede llegar al mismo resultado pero se requiere de un mínimo de 48 horas para obtener la mayor parte del precipitado. Posterior a la filtración se lavan los residuos de almidón con 50 mL a 100 mL de la misma disolución saturada de hidróxido de potasio.
- En el método del óxido de calcio, se puede evaporar con la ayuda de una parrilla de calentamiento para eliminar una parte del exceso de agua y así se presentará algún asentamiento, al filtrar ésta disolución se deben lavar los residuos de almidón con 100mL, en promedio, de una disolución saturada de cal, suficiente para lavar tanto el papel como el residuo de almidón y alcalinizar nuevamente la disolución. Se lava el almidón cuando aún se tiene el sistema de filtración directo a la disolución tratada, de ésta manera con el papel filtro se controla que la fase líquida no contenga partículas grandes de cal.

Después de añadir medio alcalino a las disoluciones en tratamiento, se continúa su

evaporación y separación de sedimentos. Conforme se avanza en esta etapa, se puede observar la pérdida de coloración en las disoluciones y que los asentamientos de almidón comienzan a reducirse además de precipitar partículas más pesadas. De acuerdo con lo anterior, el comportamiento para cada método varía. Por ejemplo, en el método con hidróxido de potasio, la coloración cambia de manera más gradual en comparación con el otro método, en tonos desde marrón, continuando anaranjados hasta llegar a una tonalidad ámbar, se puede requerir separar los asentamientos, hasta cinco veces para poder eliminar todo el almidón y se inicie la formación de cristales definidos.

En contraste, con el método del óxido de cal, se pierden rápidamente las coloraciones marrón, sin embargo, se requiere de evaporar para concentrarlo en mayor proporción para poder observar asentamientos medianamente cristalinos que tardan mucho más tiempo en aparecer, aunque las separaciones no se realizan de manera tan continua.

En cada metodología, se han separado las fases cristalinas y se disuelve el I⁻ en el mismo medio alcalino, propio para cada método, con temperatura y agitación continua. De acuerdo a las siguientes observaciones en el procedimiento:

- En el caso del método de KOH, se separan y lavan los cristales obtenidos con 50 mL de disolución saturada de KOH y se secan en la estufa a 120°C, a estos cristales se les determina la pureza de yoduro de potasio, detectando un mínimo insuficiente de contenido de yoduro, de manera que los cristales se desechan, después de disolver el I⁻ que pueden contener. Hay que mencionar que en realidad los cristales nunca se disuelven, lo que es señal de un compuesto totalmente diferente al muy soluble KI.
- En el caso del método del óxido de calcio, se separan y lavan los precipitados con 25 mL de disolución alcalina, pH 10 libre de partículas de cal, posteriormente se realiza una prueba cualitativa para detectar presencia de yoduro. La prueba consta de tomar una pequeña muestra de los cristales y añadir tan solo una gota de una disolución, previamente preparada con 0.6 g de yodato de potasio (KIO₃) estándar, en 50 mL de H₂SO₄ 4M, al no teñir de color marrón la gota de disolución, pueden desecharse. En ambos métodos se mantienen las fases acuosas para continuar eliminando cristales de sulfatos.

La fase acuosa continuará con la evaporación, hasta que se obtengan disoluciones ahora con

coloración característicamente amarilla translúcida o ámbar, y que los cristales formados tengan una forma de pequeños cristales cuadrados incluso cúbicos que se aglomeran en estructuras rocosas cuando se encuentra muy concentrada la disolución, como fue el caso del método de KOH, en comparación a los alargados en forma de prisma que pertenecían a sulfatos, siempre y cuando la prueba cualitativa de yoduros sea positiva.

Al aparecer estos cristales, se separan y lavan con 1 mL de disolución de KOH saturada, lo que ayudará en la disolución a mantener el medio alcalino y favorecer la formación de más cristales de KI y por otro lado, ayuda a no arrastrar interferentes a una nueva disolución dónde se dejarán disolver con temperatura y agitación continua. Al disolver los cristales obtenidos, se podrá observar si quedó algún remanente de almidón o partículas que no se solubilizan, lo que podrá filtrarse para separar de estos interferentes y dejar recrystalizar el KI. Este proceso es lento y conveniente ya que se puede continuar concentrando con las nuevas disoluciones recuperadas, al cabo de 72 horas, se puede obtener una cantidad considerable para secar.



Figura 2. Cambio de coloración de las disoluciones en diferentes etapas del tratamiento con cal. En el primer vaso a la izquierda la disolución es separada de la fase sólida por primera vez. En el segundo vaso, la disolución perdió el mayor contenido de almidón posible. El tercer vaso presenta el característico color ámbar donde se extraen cristales de yoduro. El último vaso a la derecha corresponde a la recrystalización del yoduro de potasio.

No es posible secar el yoduro de potasio en una estufa sin descomponer al producto o contaminarlo en la misma estufa. De manera tal que se prefiere secar al vacío, lavando el KI con pequeñas porciones de KOH saturada. El producto puede ser sometido a un análisis de determinación de contenido de yoduro por espectrofotometría, para conocer la pureza con la que se ha recuperado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aunque se comenzó a utilizar KOH para imponer el medio alcalino, como primera opción, se encontraron razones suficientes para buscar otra sustancia que pudiera remplazar su función, debido a lo siguiente.

Se colectaron 4 muestras de los cristales que comenzaron a formarse en la disolución, en diferentes puntos de la etapa de formación y con características específicas en el tratamiento de recuperación. Se mantuvieron separados entre sí para caracterizarlos y determinar su contenido de yoduro por espectrofotometría, los detalles del método utilizado se presentan en otro trabajo

- La primera muestra se trató con un exceso de KOH, con volúmenes superiores a los que se utilizaban en el procedimiento descrito anteriormente, lo que generó que los cristales se contaminaran con almidón, y no se pudo separar satisfactoriamente, de apariencia amorfa pero cristalina.
- La segunda muestra pertenecía al tratamiento que se basó principalmente en la evaporación a temperatura ambiente y mantener el medio básico con cantidades discretas de KOH, de apariencia arenosa, blanquecina, pero cristalina.
- La tercera muestra forma parte del procedimiento descrito anteriormente, con formas bien definidas y alargadas, cristales casi translúcidos.
- La cuarta muestra son los cristales de la tercera muestra que se recrystalizaron de KOH con fines de purificación.

Tabla 1. Resultados de la determinación del contenido de yoduro en las muestras.

Muestra	Contenido de yoduro % m/m
1	0.38
2	0.49
3	0.16
4	Por debajo del L _{DD} del método

Como se puede observar en la Tabla 1, el contenido de yoduro es mínimo en todas las muestras, lo que quiere decir que se desperdicia KOH ya que los primeros cristales obtenidos son principalmente sulfatos. Es precisamente en éste punto del análisis, donde se genera el método en

el que se utiliza óxido de calcio para mantener el medio alcalino. Si bien es más barato utilizar la cal en comparación con el hidróxido de potasio, no permite manipular la reacción con tanta rapidez, es decir, mientras que con el hidróxido de potasio bastaban 20 minutos para eliminar la mayor parte del almidón, con la cal no permite retirarlo de la misma manera, con un exceso de disolución saturada de cal, la pérdida de coloración súbita es inminente y no gradual, lo que en algún momento causaría que sea más difícil separar los sulfatos de la disolución concentrada de yoduro. Sin embargo al mantener controlado el volumen de disolución alcalina, de 50 a 100 mL se puede controlar este aspecto de cambio súbito.

Cuando se lleva el método de KOH hasta el final de la reacción, a los cristales colectados de yoduro de potasio, aun sin recrystalizar, se les determina el contenido de yoduro por espectrofotometría resultando de 12.53% m/m. Si los cristales de KI obtenidos del método del óxido de calcio se comienzan a separar y tratar en KOH, se podría optimizar la pureza del yoduro.

La técnica aún tiene un nuevo alcance, obteniendo yoduro de potasio a partir de los residuos sólidos, que contienen yodato de calcio, lo que es ideal para el objetivo principal de éste proyecto.

CONCLUSIONES

Se prefiere utilizar el método cuyo reactivo alcalino es el óxido de calcio, por su fácil manejo, bajo costo y el alcance que le da a ésta técnica.

En cuanto a los cristales de KI obtenidos por este método, se puede optimizar la pureza del KI recrystalizando en KOH.

AGRADECIMIENTOS

A la Maestra. Silvia Citlalli Gama González por la oportunidad de desarrollar éste proyecto y a la participación de sus alumnos, Díaz Recenos Cynthia Lizbeth, García Bassoco David, Pavón Xicoténcatl Ángel Isaí, Vargas Torres Samanta, por su apoyo en el desarrollo y validación del método de determinación del contenido de yoduro.

REFERENCIAS

- [1] R. W. Ramette. Equilibrio y análisis químico. **1**, 750-776 (1983).
- [2] D. C. Harris. Análisis química cuantitativo. **1**, 404-406 (1995).

DETERMINACIÓN DE ANIONES Y CATIONES MAYORITARIOS EN DISOLUCIONES SATURADAS DE SUELO MEDIANTE CROMATOGRAFÍA IÓNICA CON DETECCIÓN CONDUCTIMÉTRICA

Luis Francisco Santos Suárez^{1,2}
Olivia Zamora Martínez* ^{1,2}

INTRODUCCIÓN

Los suelos son considerados cuerpos naturales de gran importancia involucrados en todos los procesos ecológicos del planeta. De entre sus varias funciones y servicios, no sólo al ecosistema sino también al ser humano, se encuentran: su importante participación en la mayoría de los ciclos biogeoquímicos, proveer un medio para el crecimiento de vida vegetal, fungir como sistemas de filtración y remediación de contaminantes, ser sistemas de suministro y purificación del agua, reciclar nutrientes y materia orgánica, constituir el hábitat de una gran variedad de organismos y microorganismos, y servir como medio de ingeniería. La conservación, restauración y optimización de los suelos constituyen uno de los mayores retos para la humanidad en el siglo XXI [1]. Uno de los roles del suelo de mayor interés para el ser humano es aquel que desempeña en el ciclo de nutrientes, debido a que está directamente relacionado con la agricultura, actividad que genera productos de suma importancia en diversos sectores de la sociedad (alimenticio, farmacéutico, energético, etc.). Los nutrientes de mayor importancia para el crecimiento de las plantas son 17, tres de ellos son el C, H y O, los cuales se encuentran en el aire y el agua, y los 14 restantes provienen del suelo, siendo los de mayor demanda el N, P y K (macronutrientes primarios), le siguen el Mg, Ca y S (macronutrientes secundarios), y los ocho faltantes son el B, Cl, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni y Zn (micronutrientes). Otro factor de interés en el crecimiento de las plantas es la salinidad del suelo, la cual está dada por los iones Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} y Cl^- . Debido a que la mayoría de los nutrientes mencionados se suministran a las plantas en forma de aniones y/o cationes, junto con

¹ Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria. Instituto de Geología, Departamento de Edafología, Laboratorio de Cromatografía. C.P. 04510. Tel: +55 56224240 ext. 81853, e-mail: chemiluis@gmail.com.

² Laboratorio Nacional de Geoquímica y Mineralogía. Paseo de la Coordinación Científica, Coyoacán, UNAM C.U., C.P. 04510. Tel: +55 56224240 ext. 81853, email: oliviazm@geologia.unam.mx.

la necesidad de considerar a aquellos involucrados con la salinidad de los suelos, se vuelve de gran interés e importancia contar con metodologías confiables y sencillas para llevar a cabo la determinación de aniones y cationes, no sólo para estimar la productividad de los suelos, sino también para utilizar los datos generados con fines de clasificación. La mayor parte de los métodos reportados en la literatura para llevar a cabo el análisis de aniones y cationes están enfocados a Na^+ y a los macronutrientes primarios y secundarios, y a menudo no tienen este objetivo principal, sino más bien están enfocados a determinar las capacidades de intercambio iónico de los suelos, razón por la cual, la descripción del procedimiento para cuantificar aniones y cationes suele ser vaga, pues únicamente sugieren determinar cationes mediante espectroscopia de absorción y/o emisión atómica, y cromatografía iónica en el caso de aniones [2]. Además, suelen involucrar tratamientos de muestra complejos y en muchos casos no trabajan a las condiciones reales de pH y fuerza iónica del suelo, lo cual puede generar errores en la determinación. En el presente trabajo se analizaron muestras de suelos provenientes del municipio de Texcoco, Edo. México, los suelos son del tipo Endogleyico sálico cálcico Solonetz, de zona desnuda en pastizal halófilo, los suelos presentan varias texturas (determinada por los solicitantes): franco arcillosa, franco arcillosa-limosa, franco arcillosa, franco limosa, limosa y arenosa arcillosa-limosa. El muestreo lo realizaron los solicitantes del análisis, el cual tuvo una distribución especial al azar y dos niveles para la barrera (presencia y ausencia), a continuación, se muestra una imagen del perfil de suelo en la zona de estudio:



Figura 1. Perfil de suelo en la zona de estudio

El tratamiento de muestra utilizado fue el reportado en la literatura [3] para la obtención de

las disoluciones saturadas de cada muestra de suelo de estudio y que también se empleó para realizar las mediciones de pH, conductividad y sólidos totales disueltos (TDS). Los análisis se realizaron a 54 muestras de suelos y a todas ellas se les determinaron sus contenidos de Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , Br^- , NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , HCO_3^- y CO_3^{2-} y se determinó su pH, conductividad y TDS.

EXPERIMENTACIÓN

Preparación de las muestras para sus análisis por medio de cromatografía y su determinación de pH, Λ y TDS

Para preparar la muestra se utilizó una relación de suelo/agua desionizada en proporción 1:2.5 (20 g: 25 mL), la mezcla resultante se dejó en agitación durante 18 horas, posteriormente se centrifugó (10 min, 3000 psi) y finalmente se filtró. El pH se midió con un potenciómetro de la marca OAKTON, la Λ se determinó con un conductímetro de la misma marca y los TDS se determinaron multiplicando Λ por el factor de conversión 0.53 dado por el estándar de KCl para la calibración del conductímetro. Estas mediciones se realizaron de acuerdo con lo indicado por la NOM-021-RECNAT-2000.

Determinación simultánea de bicarbonato y carbonato

Para la cuantificación de estas especies se tomó una alícuota de 0.5 mL de la muestra a la que se le añadieron 9.5 mL de H_2O desionizada. La disolución resultante se tituló potenciométricamente con HCl previamente normalizado con carbonato de sodio [4].

Determinación por cromatografía iónica

Para llevar a cabo los análisis por medio de cromatografía iónica fue necesario filtrar las muestras utilizando membranas de 0.45 μm de tamaño de poro (Millipore®), dicho filtrado se llevó a cabo con el uso de jeringas, el volumen de la muestra analizada aproximadamente de 1 mL. La determinación se realizó utilizando un cromatógrafo de líquidos constituido de dos bombas binarias de la marca Waters modelo 1525, un automuestreador marca Waters modelo 717 plus y un detector de conductividad de la marca Waters modelo 432.

Determinación simultánea de Cl^- , Br^- , $(\text{NO}_3)^-$, $(\text{PO}_4)^{3-}$, $(\text{SO}_4)^{2-}$

En el análisis de estas especies se utilizó como fase estacionaria una columna aniónica IC-Pak HR de 75 x 4.6 mm de Waters, empacada con partículas de diámetro de 5 μm , la fase móvil es una mezcla que contiene 2 % de butanol, 2 % de un concentrado de gluconato/borato y 12 % de acetonitrilo en agua ultrapura, la composición del concentrado es el siguiente: 1.6 % de gluconato de sodio, 1.8 % de ácido bórico, 2.5 % tetraborato hidratado de sodio y 25 % de glicerol en agua ultrapura de 18.2 $\text{m}\Omega \cdot \text{cm}$ de resistividad a 25 °C [4].

Determinación simultánea de sodio, amonio y potasio

En esta determinación se utilizó como fase estacionaria una columna catiónica metrosep C6 250 de 250 x 4.0 mm de Metrohm, empacada con partículas de diámetro de 5 μm , mientras que la fase móvil fue una mezcla de ácido dipicolínico/ácido nítrico diluido (1.7 mM de cada uno). La determinación de las concentraciones de estos cationes se llevó a cabo mediante el uso de curvas de calibración externas de acuerdo con lo reportado por la literatura [5].

Determinación simultánea de sodio, potasio, calcio y magnesio

Para el análisis de estas especies se utilizó como fase estacionaria una columna catiónica metrosep C4 100 de 100 x 4.0 mm de Metrohm, empacada con partículas de diámetro de 5 μm , mientras que la fase móvil fue una disolución de ácido dipicolínico/ácido nítrico diluido (1.7 mM/0.7 mM). Para esta determinación se realizó su validación obteniendo las figuras de mérito típicas como son: el intervalo lineal, la precisión, la exactitud, los límites de detección y de cuantificación, así como el análisis de inferencias en este tipo de muestras. Si bien esta metodología sirve para el análisis simultáneo de los cuatro cationes mencionados, debido a que las concentraciones de sodio y potasio presentes en las muestras de estudio son altas, y esta columna es de baja capacidad de carga, la señal analítica debido a estos dos cationes se satura, no pudiéndose determinar su contenido mediante la inyección directa de la muestra. Sin embargo, ya que las concentraciones de calcio y magnesio presentes en las muestras de trabajo son muy bajas, su cuantificación sí fue posible mediante la inyección directa de la muestra.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación de pH, Λ y TDS

Las muestras de suelo tienen valores de pH dentro del intervalo de 9.6 a 10.2. Los valores de conductividad de las mismas se encuentran dentro del intervalo de 46.5 a 108 mS, y finalmente los valores de TDS están dentro del intervalo de 24645 a 57240 ppm. En la tabla 1 se presentan los valores más altos y más bajos de pH, Λ y TDS obtenidos para las muestras de trabajo.

Tabla 1. Valores mínimos y máximos de pH, conductividad y sólidos totales encontrados.

Parámetro	Intervalo
pH	9.6-10.2
Conductividad (mS)	46.5-108
Sólidos totales disueltos (ppm)	24645-57240

Determinación simultánea de bicarbonato y carbonato

Los valores de concentración de HCO_3^- en las muestras varían dentro del intervalo de 707.6 a 7783.6 mg/L. En cuanto al CO_3^{2-} , estos se encuentran dentro del intervalo de 2784 a 9744 mg/L. En la tabla 2 se presentan las muestras con los contenidos más altos y más bajos de estos dos analitos.

Tabla 2. Valores de concentración mínimos y máximos de carbonatos y bicarbonatos.

Muestra	$[\text{CO}_3]^{2-}$ (mg/L)	$[\text{HCO}_3]^-$ (mg/L)
T 18	9744	5660.8
T 33	6264	7783.6
T 54	5568	707.6
T 11	2784	4245.6

Determinación simultánea de Cl^- , Br^- , $(\text{NO}_3)^-$, $(\text{PO}_4)^{3-}$, $(\text{SO}_4)^{2-}$

Con respecto a las concentraciones de los aniones, se encontró que para el cloruro los valores están comprendidos entre 9548.7 y 29392.3 mg/L, en cuanto al NO_3^- , el contenido varía dentro del intervalo comprendido entre 18.8 y 359.8 mg/L, el intervalo de PO_4^{3-} va de 21.8 a 170.7 mg/L, mientras que el del SO_4^{2-} va de 9092.8 a 31008.3 mg/L, cabe mencionar que no se detectó la presencia de Br^- . A continuación, se muestra una tabla con los intervalos para cada anión:

Tabla 3. Intervalos de concentraciones de aniones determinados con cromatografía con detección conductimétrica.

Anión	Intervalo (mg/L)
Cl ⁻	9548.7-29392.3
(NO ₃) ⁻	18.8-359.8
(PO ₄) ³⁻	21.8-170.7
(SO ₄) ²⁻	9092.8-31008.3

Determinación simultánea de sodio, amonio y potasio

En cuanto a las concentraciones de sodio, amonio y potasio, se encontró que para el Na⁺ los valores están comprendidos entre 13440.4 a 36847.0 mg/L, con respecto al K⁺, el contenido varía dentro del intervalo comprendido entre 904.3 a 2696.4 mg/L, finalmente, no se detectó la presencia de NH₄⁺. En la siguiente tabla se muestran las concentraciones de los cationes determinados.

Tabla 4. Intervalos de concentraciones de sodio, amonio y potasio con cromatografía iónica con detección conductimétrica (columna C6).

Catión	Intervalo (mg/L)
Na ⁺	13440.4-36847.0
K ⁺	904.3-2696.5
(NH ₄) ⁺	<LD

Determinación simultánea de sodio, potasio, calcio y magnesio Intervalo de Linealidad y parámetros de regresión

En cuanto a la validación, a partir de los cromatogramas obtenidos de cada estándar se obtuvo el área bajo la curva del pico para obtener los respectivos gráficos de calibración y realizar el análisis de regresión lineal, los resultados se trabajaron a un nivel de confianza del 95% (tabla 5).

Tabla 5. Análisis de regresión lineal para la determinación de Na⁺, K⁺, Ca²⁺ y Mg²⁺ (n=9).

Catión	Intervalo Lineal de concentración (mg/L)	m	b	r
Na ⁺	5-250	83160 ± 360	215000 ± 45000	0.9999
K ⁺	1-250	44260 ± 170	24000 ± 20000	0.9999
Ca ²⁺	0.02-75	75690 ± 550	31000 ± 17000	0.9998

Mg ²⁺	0.02-75	148500 ± 2300	61000 ± 72000	0.999 3
------------------	---------	---------------	---------------	------------

Los resultados indican que el método de cuantificación simultáneo es preciso (% CV ≤ 3) y exacto (% error ≤ 10) y se encuentra libre de interferencias para el análisis de los cuatro analitos en este tipo de matriz (% recuperación 100 ± 15).

Con respecto a las concentraciones de calcio y magnesio, se encontró que para el Ca²⁺ los valores están comprendidos entre 0.6 a 5.2 mg/L, mientras que para el Mg²⁺ se encuentran dentro del intervalo comprendido entre 4.2 a 46.7 mg/L (tabla 6).

Tabla 6. Intervalos de concentraciones de Ca²⁺ y Mg²⁺ determinados con cromatografía con detección conductimétrica (columna C4).

Catión	Intervalo (mg/L)
Ca ²⁺	0.6-5.2
Mg ²⁺	4.2-46.7

Con base en los valores de pH y Λ , y de acuerdo con lo establecido por la norma oficial mexicana NOM-021-RECNAT-2000, los suelos analizados son considerados fuertemente alcalinos y salinos, lo cual se confirma con el alto contenido de los iones Na⁺, K⁺, Cl⁻, iones que contribuyen a la salinidad y basicidad de los suelos, y de [SO₄]²⁻, [HCO₃]⁻ y [CO₃]²⁻, iones que provienen de sales como Na₂SO₄, NaHCO₃ y NaCO₃. De acuerdo a los contenidos de [NO₃]⁻, [PO₄]³⁻, Ca²⁺ y Mg²⁺, macronutrientes primarios y secundarios, se puede deducir que las muestras provienen de suelos poco productivos, pues contienen muy pocas cantidades de los nutrientes ya mencionados, además de que presentan una alta salinidad, factor que afecta al crecimiento de las plantas. Con respecto al análisis de los cationes, debido a las altas concentraciones de Na⁺ y K⁺ y las bajas concentraciones de Ca²⁺ y Mg²⁺ en las muestras, fue necesario trabajar con dos metodologías para analizar todos los cationes, eso generó que los tiempos de análisis por muestra solo para cationes, se encontrara cercano a los 65 min. Dado que la metodología para la determinación de cationes con la columna C4 no se encontraba validada, se llevó a cabo la determinación de las figuras de mérito, en donde los cuatro analitos cumplieron con el criterio de aceptación, $r \geq 0.999$ para el intervalo lineal, % CV ≤ 3 para precisión, % error ≤ 15 para exactitud, así como la ausencia de interferencias para la cuantificación de los cuatro analitos en este tipo de matriz (% recuperación entre 100 ± 15)

CONCLUSIONES

Se determinaron los aniones y cationes mayoritarios presentes en disoluciones saturadas de suelo siendo los más abundantes el Na^+ , K^+ , Cl^- , $[\text{SO}_4]^{2-}$, $[\text{HCO}_3]^-$ y $[\text{CO}_3]^{2-}$, lo cual indica que las muestras provienen de suelos altamente salinos y con poca cantidad de nutrientes. La metodología aquí descrita no sólo sirve para cuantificar aniones y cationes, sino también puede ser de gran ayuda en la determinación de propiedades de los suelos de gran importancia a condiciones reales de pH y fuerza iónica, como lo son la capacidad de intercambio catiónico y aniónico de los mismos.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y a la M. en C. Elizabeth Chávez por el préstamo de sus muestras de suelo.

REFERENCIAS

- [1] N.C. Brady, R.R. Weil. The Nature and Properties of Soils. Pearson. Boston. (2017).
- [2] G.P. Robertson, D.C. Coleman, C.S. Bledsoe, P. Sollins. Standard Soil Methods for Long-Term Ecological Research. Oxford University Press. New York. (1999).
- [3] L. P. Van Reeuwijk. Procedures for soil analysis. Technical Paper 9, 6th ed. International Soil Reference and Information Centre. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Wageningen. (2002).
- [4] G.F. Jeffery, J. Bassett, J. Mendham, R.C. Denney. Textbook of Quantitative Chemical Analysis. Wiley. New York. (1989).
- [5] I. I. Ramírez Barbosa. Desarrollo y validación de una metodología para la determinación simultánea de aniones mayoritarios por medio de cromatografía de iones con detección conductimétrica en muestras ambientales (tesis de licenciatura). En proceso.
- [6] V. B. Galindo Zavala. Desarrollo y validación de una metodología para la determinación simultánea de los iones Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Ca^{2+} y M^{2+} por medio de cromatografía de iones con detección conductimétrica en muestras ambientales (tesis de licenciatura). UNAM, México. (2016).

VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA REALIZAR LA DETERMINACIÓN DE YODUROS POR ESPECTROFOTOMETRÍA

Cynthia Lizbeth Díaz Recenos
David García Bassoco
Ángel Isaí Pavón Xicoténcatl
Samanta Vargas Torres
Silvia Citlalli Gama González*¹

INTRODUCCIÓN

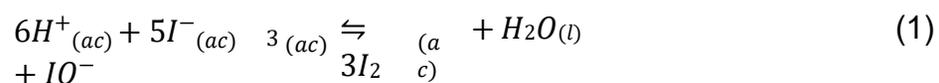
El yoduro de potasio es un reactivo utilizado en diversos experimentos de docencia en la Facultad de Química de la UNAM por lo cual esta institución gasta bastantes recursos cada semestre; debido a su alto costo y múltiples usos ha surgido la necesidad de determinar yoduro en muestras de residuos para que el yoduro de potasio utilizado en laboratorios pueda ser recuperado para su posterior reutilización. En el trabajo que se presenta a continuación se propone un método para poder determinar la pureza de cristales de yoduro de potasio recuperado mediante la formación de un complejo interhalogenado analizado por espectrofotometría. La validación del método se realizó según las características que marca la guía de Eurachem "*La adecuación al uso de los Métodos Analíticos. Una guía de laboratorio para Validación de métodos y temas relacionados*" [1]. Para llevar a cabo la validación de la mejor manera posible se efectuó el análisis de los límites superior e inferior de concentración en los que podría trabajarse para obtener resultados confiables.

A partir del 17 de agosto de 2017 se llevó a cabo la validación del método para la determinación de yoduro por espectrofotometría. El objetivo fue determinar la concentración de yoduro de potasio KI en muestras de residuos obtenidos de los laboratorios de Química Analítica I por un método espectrofotométrico.

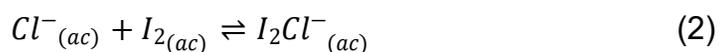
¹ Universidad Nacional Autónoma de México. Departamento de Química Analítica. Laboratorio 3A. Av. Universidad N° 3000, Col. Universidad Nacional Autónoma de México, C.U., Del. Coyoacán. México, D.F., C.P. 04510. Tel: +52 (55) 5622 3754, Fax: +52 (55) 5622 3700. e-mail: silviacitlalli@gmail.com.

EXPERIMENTACIÓN

Se propuso realizar la determinación a través de una curva de calibración abarcando de dos a tres órdenes de magnitud de concentración. Dado que el ión yoduro no posee propiedades espectrofotométricas (sus disoluciones son incoloras), se procede a formar *in situ* yodo molecular (disolución amarilla) mediante la siguiente reacción redox:



Para acidificar el medio y favorecer la reacción redox se empleó ácido clorhídrico de concentración 0.1 mol L⁻¹, se formó el yodo molecular y a su vez se favoreció la formación de un compuesto interhalogenado (I₂Cl⁻) entre el yodo recién formado y los iones cloruro provenientes del ácido clorhídrico que, a diferencia de las disoluciones anteriores, es una disolución colorida, lo que indica que se puede llevar a cabo el análisis en el espectro visible [2]. La formación del compuesto interhalogenado está dado por la siguiente reacción:



Ante la formación de este compuesto se pudo realizar un análisis espectrofotométrico adecuado. Para la selección de la longitud de onda apropiada para efectuar el análisis, se consultó la literatura [3] y se realizaron espectros en rangos de longitud de onda designados a partir de lo reportado en esta para que fuese posible corroborar estos datos.

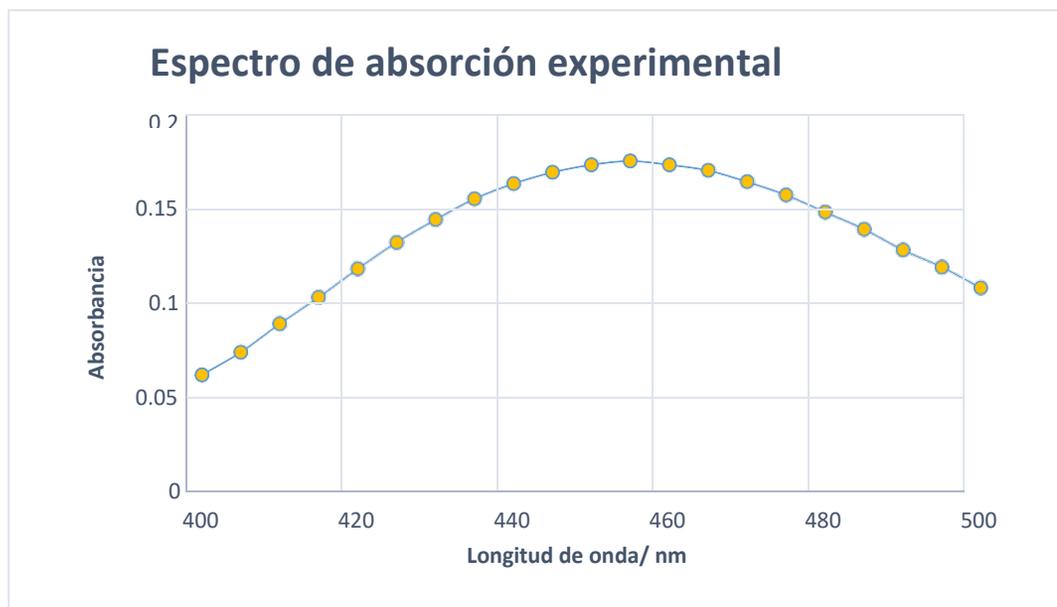


Figura 1. Espectro de absorción trazado experimentalmente mediante una disolución de I_2Cl formado de $3.99 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

En base a este espectro de absorción realizado a las condiciones de trabajo del laboratorio se puede afirmar que:

- La longitud de onda de trabajo se estableció en 455 nm ya que ésta es la longitud de onda en donde se encontró la absorbancia máxima.
- Teniendo las condiciones de trabajo adecuadas se procedió a realizar las disoluciones patrón para la curva de calibración. La curva de calibración se planteó realizarla en el rango de 2×10^{-4} a $1.2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ puesto que no se hallaron reportados los datos sobre la solubilidad del compuesto. Se procedió a trabajar a concentraciones bajas para evitar una posible precipitación e inclusive una saturación en la lectura del espectrofotómetro debido a que puede acarrear un error.

La preparación de las disoluciones se llevó a cabo basándose en la reacción redox para la formación del yodo molecular (I_2) en la cual el reactivo limitante fue el yoduro (I^-), como se muestra en la reacción (1). Siguiendo este razonamiento se prosiguió a la preparación de dos disoluciones

(una de KI y otra de KIO_3) de concentración formal 0.1 mol L^{-1} (disoluciones STOCK), a las cuales se les diluyó en un factor de 20:50. Esto se hizo con el fin de que estas disoluciones sirvieran como base para las disoluciones patrón de la curva de calibración, los volúmenes que se tomaron para la preparación de las disoluciones se muestran en la Tabla 1. Todas las disoluciones fueron llevadas al volumen de aforo con una disolución de ácido clorhídrico (HCl) de concentración 0.1 mol L^{-1} . El ácido clorhídrico se colocó en exceso para favorecer, primeramente, la formación del yodo por la reacción redox y, posteriormente, la formación del compuesto inter halogenado.

Tabla 1. Datos de preparación de las disoluciones patrón y su absorbancia experimental asociada.

V (mL)	IO_3 (mL)	$[\text{I}_2\text{Cl}^-]$ (mol L^{-1})	Absorbancia $\lambda=455 \text{ nm}$
5.0	1.0	4.0×10^{-4}	0.1743
10.0	2.0	8.0×10^{-4}	0.3433
15.0	3.0	1.2×10^{-3}	0.5220
5.0 (STOCK)	1.0 (STOCK)	1.0×10^{-3}	0.4343
*F.D. 10:50 $[\text{I}_2\text{Cl}^-]=1.0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	-	2.0×10^{-4}	0.0883
*F.D. 20:50 $[\text{I}_2\text{Cl}^-]=1.0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	-	6.0×10^{-4}	0.2627

A partir de los datos reportados en la Tabla 1 se pudo construir la curva de calibración correspondiente de la Figura 2.

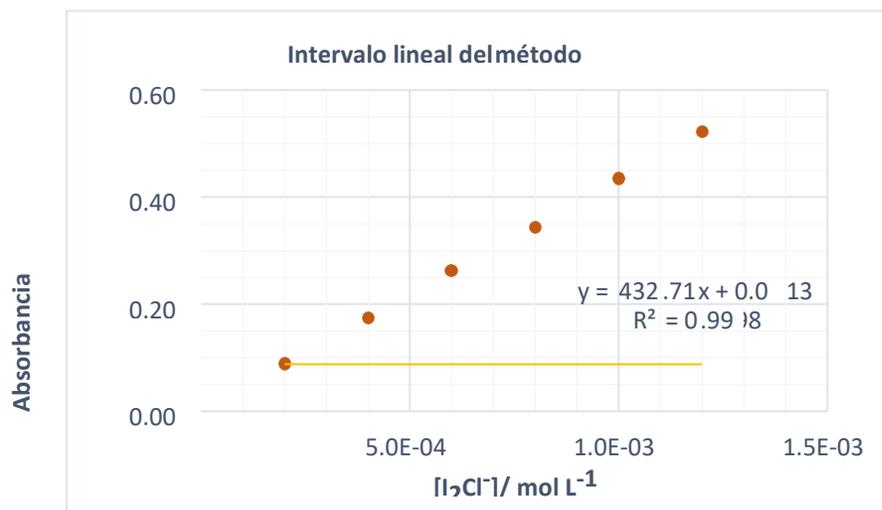


Figura 2. Curva de calibración de las disoluciones patrón.

*F.D.= Factor de Dilución, (Volumen de alícuota/Volumen de aforo)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La sensibilidad analítica del método se determinó a partir de la pendiente de la recta de las curvas de calibración con un valor de $432.71 \text{ L mol}^{-1}$, como se observa en la Figura 2, por lo tanto, este valor al ser grande indica una buena sensibilidad.

Por otra parte, la curva de calibración obtenida de la absorbancia a diferentes concentraciones de yoduro en el intervalo de 2.0×10^{-4} a $1.2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, indica que el método es lineal y presenta coeficientes de determinación $\geq 0,99$; el gráfico de residuales de la curva de calibración se encuentra en la Figura 3.

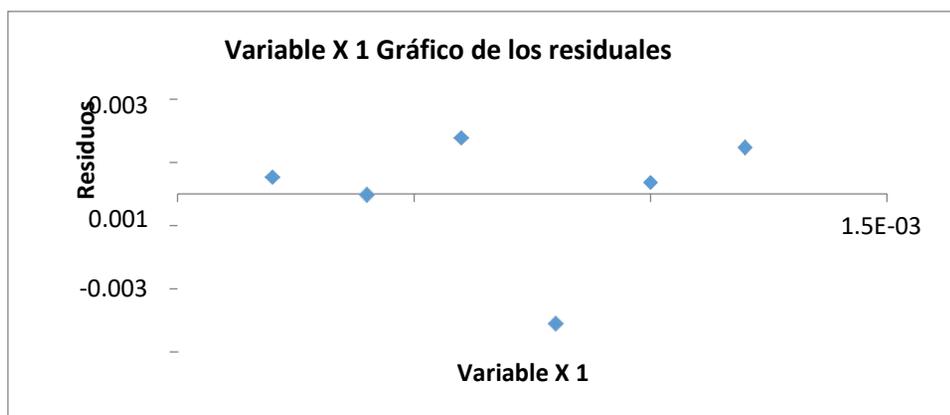


Figura 3. Gráfico de residuales de la curva de calibración obtenida.

Tabla 2. Resultados del análisis de regresión de la curva de calibración de las disoluciones patrón.

Estadísticas de la regresión		
Coefficiente de correlación múltiple	0.9999	
Coefficiente de determinación R^2	0.9998	
r^2 ajustado	0.9998	
Error típico	0.0024	
	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>
Intercepción	0.0013	0.0022
Variable X 1	432.7143	2.8388

De acuerdo con los resultados anteriores, el coeficiente de determinación nos indica que hay un 99.51% de relación entre la concentración de yodo y la absorbancia, por lo que existe linealidad en el método.

También se realizaron pruebas para obtener la precisión del método, estas mostraron las variaciones obtenidas en las absorbancias de las muestras analizadas, la absorbancia media y la desviación estándar obtenida intradía, ver Tabla 2. Para la determinación de la precisión se muestran los datos de desviación estándar relativa (DER) en la Tabla 3.

Tabla 3. Valores de absorbancia, absorbancia media y desviación estándar intradía para las muestras analizadas.

MUESTRA 1		MUESTRA 2		MUESTRA 3	
Matraz	Absorbancia	Matraz	Absorbancia	Matraz	Absorbancia
6	0.1310	4	0.1300	7	0.1530
5	0.1300	2	0.1290	8	0.1500
2	0.1310	1	0.1310	5	0.1530
10	0.1310	3	0.1300	3	0.1520
4	0.1320	10	0.1310	10	0.1510
7	0.1330	6	0.1300	2	0.1520
9	0.1320	9	0.1310	9	0.1530
1	0.1360	5	0.1310	6	0.1540
3	0.1320	7	0.1310	1	0.1520
8	0.1380	8	0.1300	4	0.1520
Promedio	0.1326	Promedio	0.1304	Promedio	0.1522
D. Estándar	0.002374	D. Estándar	0.0006633	D. Estándar	0.001077

Tabla 4. Resultados de determinación de la precisión del método.

$[I_2Cl]/ molL^{-1}$	Abs (C1)	Abs (C2)	Abs (C3)	Promedio	S	DER
2.00E-04	0.0880	0.0880	0.0890	0.0883	0.0006	0.0065
4.00E-04	0.1680	0.1820	0.1730	0.1743	0.0071	0.0407
6.00E-04	0.2610	0.2540	0.2730	0.2627	0.0096	0.0366
8.00E-04	0.3500	0.3440	0.3360	0.3433	0.0070	0.0205
1.00E-03	0.4230	0.4320	0.4480	0.4343	0.0127	0.0292
1.20E-03	0.5120	0.5220	0.5320	0.5220	0.0100	0.0192

Asimismo, se determinaron los límites de detección y cuantificación, a partir de las siguientes ecuaciones:

$$L_{DD} = \frac{3.3 * S}{M_{C.}} \quad (3)$$

$$L_{DC} = \frac{10 * S}{M_{C.}} \quad (2)$$

Para el cálculo del límite de detección primero calculamos los límites con las desviaciones estándar asociadas a cada una de las muestras por separado. Al tener estos resultados se calculó el promedio de estos límites, dando como resultado el que se presenta a continuación:

$$L_{DD}=1.05 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

Por otro lado, para el caso del límite de cuantificación se llevó a cabo prácticamente el mismo procedimiento utilizando el algoritmo correspondiente. El resultado obtenido se muestra a continuación:

$$L_{DC}=3.17 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$$

Se determinó que el límite de detección del método fue de $1.05 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ mientras que el límite de cuantificación fue de $3.17 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Los resultados nos indican que el intervalo de concentraciones de trabajo se encuentra entre 3.17×10^{-5} a $1.2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Para poder hacer el análisis de las muestras se procedió a pesar la cantidad de compuesto necesaria para poder formar una disolución de concentración 0.1 mol L^{-1} .

Al utilizar el método en matrices simples, las purezas de las muestras proporcionadas por el grupo de trabajo que está desarrollando el método de tratamiento y recuperación de yoduro, fueron las siguientes:

Muestra #1.....	0.4959 ± 0.0002%	m/m	Muestra
#2.....	0.1621 ± 0.0002%	m/m	Muestra
#3.....	0.3834 ± 0.0002%	m/m	Muestra
#4.....	Por debajo del L_{DD}		

Al finalizar la determinación de la pureza de los cristales recuperados se afirma que la metodología seguida para su recuperación es (por el momento) deficiente y puede ser mejorada para la recuperación de cristales de mayor pureza.

CONCLUSIONES

Siendo la primera vez que se hace éste análisis en esta matriz, de acuerdo con la validación de este método el procedimiento descrito es aplicable para la cuantificación de yoduros en las condiciones de recuperación manejadas en el laboratorio.

Los límites de pureza de los cristales de muestra proporcionados se mantuvieron en el rango lineal desde:

$$0.1 \% \text{ m/m} < I < 0.5 \% \text{ m/m}$$

El método desarrollado se elaboró para resolver un problema local, sin embargo, se realizó su validación para corroborar que el método generaba resultados confiables, para poder tomar decisiones a partir de los resultados obtenidos sobre un proceso de recuperación de yoduros.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la profesora Silvia Citlali Gama González, a la Facultad de Química y a la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirnos utilizar las instalaciones para poder realizar la validación del método.

REFERENCIAS

- [1] P. Morrillas, V. Barwick, E. Stephen, J. Engman, B. Magnusson. Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de Laboratorio para la Validación de Métodos y Temas Relacionados. (doi:ST/NAR/41) (2016).
- [2] J.H. Faull. Interhalogen Compounds: Dissociation of Halide Complexes, Dissociation, Hydrolysis, Distribution Ratios in Acid Solution. J Am Chem Soc. (doi:10.1021/ja01318a006), **56** [3] 522-526 (1934).
- [3] Seery DJ, Britton D. The continuous absorption spectra of chlorine, bromine, bromine chloride, iodine chloride, and iodine bromide. J Phys Chem. (doi:10.1021/j100790a039), **68** [8] 2263-2266. (1964).

INCREMENTO DE LA LUMINISCENCIA DE Eu^{3+} Y Tb^{3+} POR LA PRESENCIA DE OXALATO

Jorge Izhak Miranda Rivera
Rocío Aguilar Sánchez*
Iván Zelocualtecatl Montiel
José Luis Gárate Morales¹

INTRODUCCIÓN

Los iones de tierras raras o lantánidos (Ln^{3+}), particularmente, Eu^{3+} y Tb^{3+} , presentan bandas de emisión muy características y fuertes basadas en transiciones electrónicas f-f, tienen un amplio intervalo de tiempo de vida de luminiscencia y presentan desplazamientos tipo Stoke, lo cual favorece una gran variedad de aplicaciones [1,2] como; sensores luminiscentes, en reconocimiento molecular, sondas y marcas químicas y biológicas, además de dispositivos luminiscentes. Sin embargo, la aplicación de materiales luminiscentes basados en lantánidos presenta graves problemas. Básicamente estos problemas están asociados con 1) coeficientes bajos de absorción debido a transiciones electrónicas f-f prohibidas y 2) de activación no radiativa de los estados excitados por osciladores de alta energía como O-H (en el agua) y C-H, los cuales se encuentran típicamente en los ligandos (en el caso de compuestos de coordinación de lantánidos), solventes y humedad. Claramente lo anterior representa una desventaja para posibles aplicaciones en medios químicos y biológicos.

Usualmente los métodos de preparación se basan en fabricar fosfatos de lantánido y óxidos dopados con lantánido, los cuales presentan baja estabilidad mecánica y térmica y se humedecen rápidamente lo cual los concibe poco prácticos para aplicaciones. Algunas estrategias de preparación implican el dopaje de CeO_2 en el cual se insertan iones de lantánido mediante reacciones en estado sólido, procesos sol-gel y reacciones de precipitación. Usualmente en estos procesos es muy frecuente el uso de temperatura alta, presión alta y agentes de terminación de cadena.

¹ Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Av. San Claudio y 22 sur, CU, Puebla, México. C.P. 72570. Tel: +52 (222) 229 55 00 Ext. 3775, e-mail: raguilar@ifuap.buap.mx*

Los problemas de preparación y de estabilidad química, mecánica y térmica, se pueden disminuir al encapsular y proteger a los iones lantánidos en matrices poliméricas que contengan grupos del tipo C-F (hidrofóbicos). Con esta estrategia se puede proteger al ión lantánido de las moléculas de solvente y absorber y transferir la energía de modo eficiente hacia el centro metálico.

Empleando la estrategia de inserción de los iones de lantánido en matrices poliméricas, se puede introducir el ión lantánido en cualquier tipo de material mediante simple modificación de éste con una película delgada del polímero y subsiguiente transformación con iones de lantánido a través de interacción electrostática e hidrofóbica. Las propiedades luminiscentes que presente el material dependerán mucho del ambiente en el que se encuentre. El Eu^{3+} presenta una luminiscencia característica en el intervalo de

~ 570-800 nm debido a transiciones ($J = 0, 1, \dots, 6$) y Tb^{3+} lumínese en el intervalo de ~480-660 nm debido a transiciones ($J = 6, 5, \dots, 0$).

Las propiedades luminiscentes de Eu^{3+} y Tb^{3+} los hacen buenos candidatos para su uso en la detección y determinación de sustancias biológicas. Una de las sustancias, involucrada en enfermedades como falla renal e hiperoxaluria, es el ión oxalato el cual se ha encontrado en fluidos biológicos como sangre y orina. De hecho, una concentración baja de oxalato es deseable en el tratamiento de enfermedades como las mencionadas antes. Por esta razón, es importante contar con metodologías analíticas para la detección y cuantificación de oxalato en alimentos y fluidos biológicos.

En el presente trabajo se reporta el incremento de la luminiscencia de los iones Eu^{3+} y Tb^{3+} , insertados en el polímero Nafión, a través de su acoplamiento al ión oxalato in situ. El incremento en la luminiscencia de Eu^{3+} y Tb^{3+} a través del enlace con el oxígeno, muestra la posibilidad de mejorar las propiedades ópticas del sistema al mismo tiempo que se detecta el ión oxalato. Los estudios empleando técnicas espectrofotométricas y de caracterización de superficies demuestran la formación de un posible compuesto de coordinación dentro de la matriz polimérica.

EXPERIMENTACIÓN

Sustancias y reactivos

Como electrolito se empleó solución buffer de fosfatos pH 7.2 preparada a partir de $\text{HNa}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (Merck) y $\text{H}_2\text{NaPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Merck) grado reactivo, Se empleó $\text{Eu}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Aldrich 99.9%) y $\text{Tb}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Aldrich 99.9%) como sustancias luminiscentes y como analito (co-reactivo) se empleó oxalato de sodio $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ (Merck). Todas las soluciones se prepararon con agua desionizada Millipore-Q Gradient (18.2 $\text{M}\Omega$) antes de cada experimento. Concentraciones bajas del analito se obtuvieron mediante dilución. Como soporte para las sales de lantánidos se empleó una solución de Nafión[®]117 en mezcla de alcoholes alifáticos y agua (Aldrich 5%) o una membrana (Aldrich) de 0.1778 mm de espesor.

Caracterización Electroquímica

Las mediciones electroquímicas se realizaron en una celda convencional de tres electrodos. Se usó un electrodo de carbón vítreo (GC) o carbón vítreo modificado con Nafión (GC/Naf) como electrodo de trabajo, como contra-electrodo un alambre de Pt y Ag/AgCl como electrodo de referencia. Para las mediciones electroquímicas se empleó un potencióstato-galvanostato Epsilon (BioanalyticalSystems) con el software BASi- Epsilon EC (ver. 2.13.77). Como electrolito se empleó solución buffer pH 7.2.

Preparación de Electroodos

El electrodo de carbón vítreo se utilizó como sustrato para depositar una alícuota de la solución de Nafión[®] y posteriormente insertar los iones de lantánido mediante interacción electrostática. Primero, el electrodo se pulió usando pasta de diamante de 3 y 0.25 μm sucesivamente, seguido de un lavado con acetona y posteriormente con agua, en un baño ultrasónico por 10 minutos. Sobre esta superficie se depositó una alícuota de solución de Nafión[®], y se dejó evaporar el solvente a temperatura ambiente durante 17 horas. Una vez seco el electrodo, se introdujo en una solución 0.1 M de Eu^{3+} o Tb^{3+} durante 12 horas y después se estudió electroquímicamente. Para la inserción de los lantánidos en la membrana (0.1778 mm espesor), ésta se introdujo en la solución de lantánido y después se dejó secar a temperatura ambiente para hacer la caracterización óptica.

Caracterización óptica

Los estudios ópticos se realizaron empleando las técnicas espectroscopia UV-vis y fluorescencia en el modo de transmisión. Para el estudio por UV-Vis se empleó un espectrofotómetro Cary-Varian en un intervalo de 300 a 800 nm.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La presencia de Eu^{3+} [3] y Tb^{3+} en la red de Nafión se confirmó mediante voltamperometría cíclica y espectroscopia de absorción. La figura 1 muestra los espectros de absorción de una membrana de Nafión modificada con Eu^{3+} y Tb^{3+} respectivamente. En los recuadros se observa una fotografía digital de las membranas modificadas, sin ningún otro tratamiento, las cuales presentan una ligera luminiscencia roja (Eu^{3+}) y verde (Tb^{3+}). Para Eu^{3+} , el espectro de absorción óptica (Fig. 1A) exhibe una banda intensa en 394 nm la cual se puede atribuir a una transición ${}^7\text{F}_0 \rightarrow {}^5\text{L}_6$ [4,5]. Se observan también características menos pronunciadas a longitudes de onda más corta (360, 374, 379, 384 nm) y la banda pequeña en 464 nm (la llamada banda hipersensible), debida a una transición ${}^7\text{F}_0 \rightarrow {}^5\text{D}_2$, depende principalmente de la simetría del ambiente en el cual se encuentra el Eu^{3+} . Cuando la longitud de onda de excitación es 393nm, la razón de

intensidades I_{613}/I_{590} de las bandas de emisión ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_0$ a ${}^5\text{D}_2 \rightarrow {}^7\text{F}_1$ es cercana a 1, lo

$$0 \quad 2 \quad 0 \quad 1$$

que indica que la simetría alrededor de los iones Eu^{3+} es grande, posiblemente debido al hecho de que estos iones estén segregados en un lugar específico del polímero, formando pequeños cristales con alta concentración de Eu^{3+} . Como es de esperarse, el sitio de segregación debe ser el grupo sulfónico (SO_3^-) del Nafión.

El espectro de absorción UV-Vis de Nafion/ Tb^{3+} se muestra en la figura 1B y consiste de una fuerte banda de absorción en 258 nm, la cual se puede atribuir a un efecto combinado de la transición $4f^8 \rightarrow 4f^7 5d^1$ y una banda de transferencia de carga Tb-O cuyo máximo depende fuertemente del campo cristalino de la matriz huésped debido a un apantallamiento débil del orbital 5d. Además, en el espectro se observan varias bandas de absorción débiles en la región visible, en 319, 340, 352, 359, 369 y 379 nm que pueden ser asignadas a las transiciones del estado basal al estado excitado del ión Tb como ${}^7\text{F}_6 \rightarrow {}^5\text{H}_7$, ${}^7\text{F}_6 \rightarrow {}^5\text{L}_7$, ${}^7\text{F}_6 \rightarrow {}^5\text{G}_4$, ${}^7\text{F}_6 \rightarrow {}^5\text{G}_6$, ${}^7\text{F}_6 \rightarrow {}^5\text{L}_{10}$, ${}^7\text{F}_6 \rightarrow {}^5\text{G}_8$, respectivamente [6]. Los iones Ln^{3+} tienen una fuerte afinidad por átomos donadores de electrones como O, N y S. Cuando el Eu^{3+} o Tb^{3+} se unen a alguno de éstos, la unión generalmente

sirve para incrementar su luminiscencia. Esto se debe principalmente a que los ligantes desplazan a las moléculas de agua que se encuentran alrededor del ion y que impiden una transferencia de carga eficiente hacia el centro metálico. En la figura 2, se muestran las imágenes digitales de las membranas Nafión/ Eu^{3+} y Nafión/ Tb^{3+} que previamente estuvieron en contacto con una solución 0.01 mol L^{-1} de oxalato de sodio (Nafión/ Eu^{3+} /Ox, Nafión/ Tb^{3+} /Ox respectivamente). La imagen fue tomada bajo radiación UV ($\lambda \approx 366 \text{ nm}$).

Bajo radiación UV se distingue un color verde muy intenso característico del Tb^{3+} y rojo para Eu^{3+} (Figuras 2B y 2D). Al parecer, el incremento en la luminiscencia (Figuras 2B y 2D) se observó debido a la formación de un compuesto entre el ion lantánido y oxalato, mediante una reacción química dentro de la membrana [3].

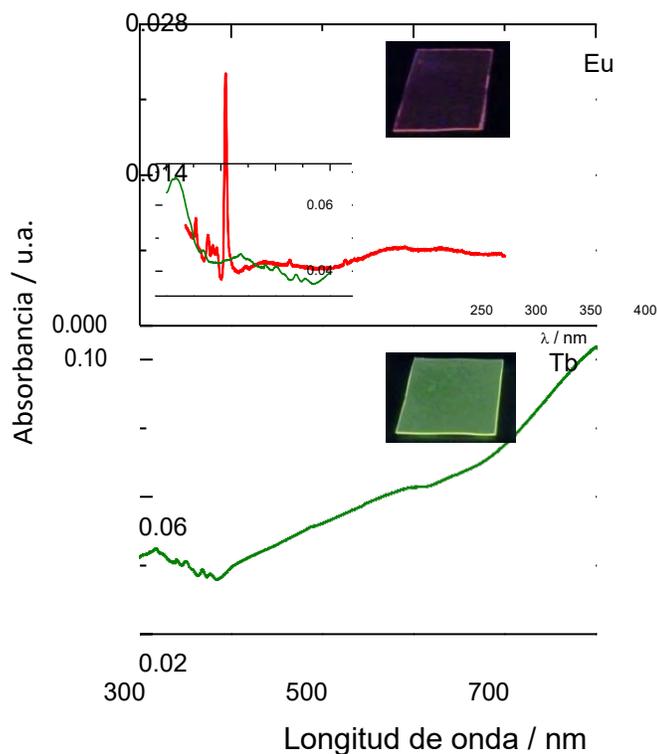


Figura 1. Espectro de absorción óptica de muestras a) Nafión/ Eu^{3+} y b) Nafión/ Tb^{3+} empleando espectroscopía UV-Vis a una longitud de onda de excitación de 393 nm.

Tal compuesto presenta características ópticas diferentes de la membrana Nafión/ Eu^{3+} y permite la detección de oxalato al actuar éste como un co-reactante.

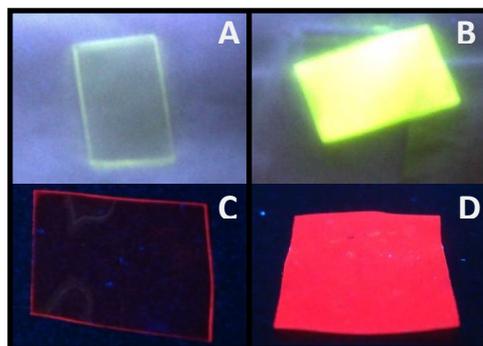


Figura 2. A) Imagen digital de las membranas A) Nafión/ Tb^{3+} , B) Nafión/ Tb^{3+} /Ox, C) Nafión/ Eu^{3+} y D) Nafión/ Eu^{3+} /Ox, bajo radiación UV de longitud de onda corta ($\lambda \approx 366$ nm).

Con el fin de relacionar cualitativamente las propiedades ópticas de las películas, se realizó un estudio de la emisión de luz a diferentes concentraciones de oxalato (intervalo de 0.05 – 100 mM) empleando las muestras Nafión/ Eu^{3+} y Nafión/ Tb^{3+} (Figuras 3A y 3B). Después de un tiempo de inmersión de 15 minutos en una solución de oxalato, las muestras Nafión/ Eu^{3+} y Nafión/ Tb^{3+} exhiben cierta intensidad de luminiscencia dependiendo de la concentración de oxalato. Las fotografías fueron tomadas usando una cámara digital bajo radiación UV (de longitud de onda corta). Es muy claro que la intensidad de luminiscencia depende de la concentración de oxalato. La luminiscencia observada no disminuye para las mismas muestras después de almacenarlas durante tres meses y observarlas nuevamente bajo luz UV. Un análisis cuantitativo está en curso empleando espectroscopía de emisión.

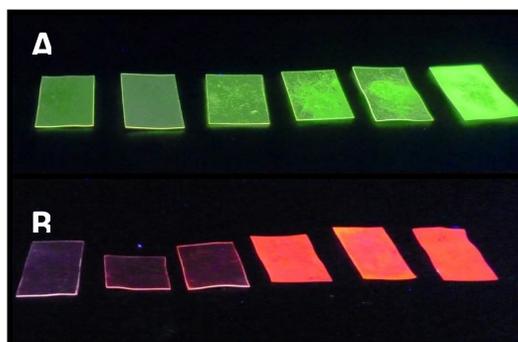


Figura 3. Imagen digital bajo radiación UV de longitud de onda corta de las membranas A) Nafión/ Tb^{3+} , B) Nafión/ Eu^{3+} que estuvieron en contacto previo con soluciones de oxalato a diferentes concentraciones (0.05 – 100 mM).

Para investigar si se forma un producto entre los iones de lantánido y oxalato se realizó un estudio electroquímico en presencia de $0.01 \text{ mol L}^{-1} \text{ Eu}^{3+}$ y a varias concentraciones de oxalato. En

la figura 4, se muestra el primer ciclo de la respuesta electroquímica de un electrodo modificado GC/Nafión en presencia de $0.01 \text{ mol L}^{-1} \text{ Eu}^{3+}$ y oxalato de sodio en agua. La línea negra (recuadro) corresponde a la respuesta del electrodo en solución de $0.01 \text{ mol L}^{-1} \text{ Eu}^{3+}$ solamente, en donde se observa un pico de oxidación y de reducción bien definidos a potenciales de -0.395 V y -0.735 V ($\Delta E = 0.34 \text{ V}$), cuya corriente anódica y catódica fue aprox. 40 y $59 \mu\text{A}$ respectivamente. Al agregar una concentración $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de oxalato se observa un incremento muy grande en la intensidad de corriente (aprox $360 \mu\text{A}$, curva b), que se mantiene casi constante hasta una concentración de $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (concentración de saturación, CS), después de la cual, los valores de corriente comienzan a disminuir. Cabe mencionar que esta CS corresponde a un incremento en la luminiscencia que se aprecia ópticamente bajo radiación ultravioleta. A concentraciones mayores de oxalato ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), se observa que la corriente disminuye y la luminiscencia se incrementa (ver Figura. 3).

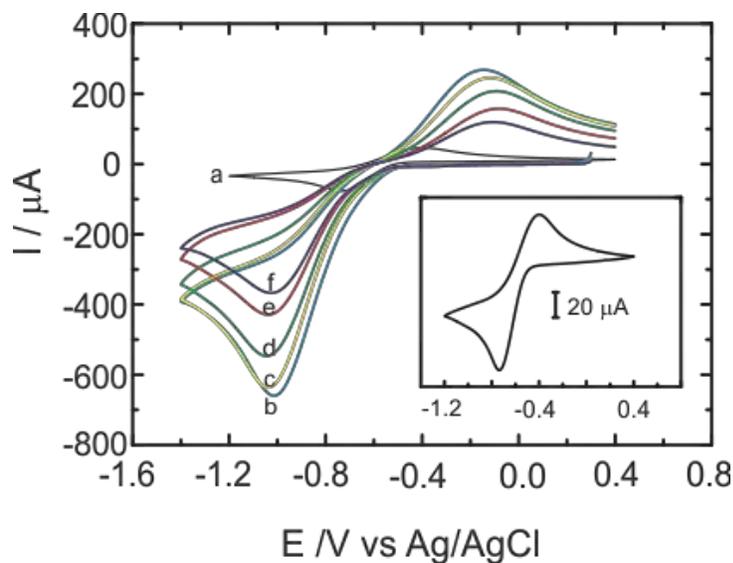


Figura 4. Voltamperogramas cíclicos registrados sobre un electrodo GC/Nafión en presencia de Eu^{3+} (0.01 mol L^{-1}) y a diversas concentraciones de oxalato en solución buffer pH 7.2. Velocidad de barrido: 50 mV s^{-1} .

CONCLUSIONES

Se demostraron las propiedades ópticas y analíticas de iones Tb^{3+} y Eu^{3+} insertados en membranas poliméricas revelando que es posible realizar reacciones químicas dentro de membranas poliméricas. La intensidad de la luminiscencia se incrementa con la concentración del analito, lo cual puede ser explotado para la detección de oxalato por co-reacción dentro de las membranas Nafion/ Ln^{3+} .

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el financiamiento de CONACyT-México (104361, 243030), de PRODEP a través del Plan de trabajo 2017 (CA-40) y de VIEP-BUAP (2018-284).

REFERENCIAS

- [1] Y. Hasegawa, Y. Wada, S.J. Yanagida, J. Photochem. Photobiol. C **5**, 183-202 (2004).
- [2] F.S. Richardson, Chem. Rev. **82**, 541-552 (1982).
- [3] I. Zelocualtecatl-M, R. Aguilar Sánchez, M.J. Gálvez-Vázquez, R. Silva González, Mater. Chem. Phys **191**, 206-214 (2017).
- [4] E.A. Seregina, A.A. Seregin, Opt. Spectrosc. **92**, 664-669 (2002).
- [5] K. Binnemans, C. Goerller-Walrand, J. Phys. Condens. Matter **9**, 1637-1648(1997).
- [6] W.T. Carnall, P.R. Fields, K. Rajnak. J.Chem.Phys. **49**, 4447-4449 (1968).

CUANTIFICACIÓN DE LA RUTINA

Fernando Sánchez Pérez¹
Dafne Sarahia Guzmán Hernández²
María Teresa Ramírez Silva¹
Silvia Corona Avendaño³
Manuel Palomar-Pardavé³
Mario Romero-Romo³

INTRODUCCIÓN

La rutina (RUT) es una molécula, familia de los flavonoides [1], compuesta por un esqueleto difenilpirano que posee un grupo carbonilo en la posición 4 y un grupo rutinosoide en la posición 3, figura 1, y fue ampliamente estudiada en los años 40 por su actividad farmacéutica en el tratamiento de las hemorroides por la disminución de la permeabilidad y fragilidad capilar [2], sin embargo esta molécula cuenta con mayor actividad farmacéutica de la estudiada en estos años, ya que ha demostrado una importante actividad antioxidante (comparado con los ácidos fenólicos y vitaminas E y C) y anticancerígena [3], gracias a la capacidad que tiene de interactuar con radicales libres. El estudio de esta molécula es importante ya que se encuentra en muchos pigmentos vegetales que pertenecen a la dieta humana con un consumo promedio de 25mg por día,[4] como son perejil, zarzamora, limón, espinacas, té. Los estudios acerca de la determinación y cuantificación son principalmente por métodos cromatográficos y espectroscópicos como son cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), UV-Vis [5]. Las técnicas electroquímicas han demostrado tener un amplio impacto en la determinación de moléculas de interés biológico y farmacéutico [6,7,8] alcanzando límites de detección de 3.7 mM para fármacos, de 0.005 mM para dopamina y de 7×10^{-10} mM para pesticidas, siendo capaces de determinar de una manera rápida, eficaz y económica concentraciones bajas de estas moléculas, por lo cual se presenta este estudio

¹ Universidad Autónoma Metropolitana Iztaapalapa, Departamento de Química, Av. San Rafael Atlixco #186, Col. Vicentina, México, D.F., C.P. 09340

² CONACYT-Universidad Autónoma Metropolitana Iztaapalapa, Departamento de Química, Av. San Rafael Atlixco #186, Col. Vicentina, Ciudad de México., C.P. 09340.

³ Universidad Autónoma Metropolitana Azcapotzalco, Departamento de Materiales, Av. San Pablo #180, Col. Reynosa-Tamaulipas, C.P. 02200, México, D.F.*E-mail: mtrs218@xanum.uam.mx.com

para tener la determinación analítica de la rutina por voltamperometría cíclica (VC) y voltamperometría diferencial de pulso (VDP).

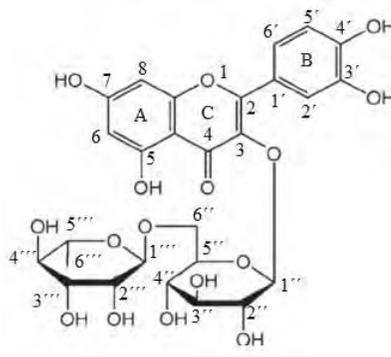


Figura 1. Estructura de la Rutina.

EXPERIMENTACIÓN

Todos los reactivos son grado analítico, rutina trihidratada (SIGMA), ácido fosfórico, ácido acético, acetonitrilo, metanol (BAKER ANALYZED grado HPLC) hidróxido de sodio, metanol, (BAKER ANALYZED), agua desionizada con una resistividad 18 M Ω cm con un desionizador MilliQ (Millipore). Todas las soluciones se mantuvieron en atmósfera de nitrógeno y protegidas de la luz. Para las lecturas de pH se usó un potenciómetro PHM210 Standard pH Meter MeterLab® y un electrodo combinado de pH, Ag/AgCl marca Hach 50 14 T.

Para los estudios electroquímicos de VC y VDP se utilizó un equipo AUTOLAB (PGSTAT101) con una celda convencional de tres electrodos: electrodo de pasta de carbono (PC) como electrodo de trabajo, un electrodo de platino (Pt) MW-1032 como contra electrodo, y un electrodo MF-2079 Ag/AgCl como electrodo de referencia.

Para los estudios de cromatografía se utilizó un equipo HPLC Perkin Elmer serie 200, con una columna C-18 (Phenomenex Gemini) 4.6 x 150 Mm con un tamaño de partícula de 5 μ m, con una fase móvil compuesta de 38.46 % de agua, 38.46 % de Metanol, 19.23% de acetonitrilo, 1.92 % de ácido fosfórico, 1.92% de ácido acético y se ajustó a pH a 3 y 7, se utilizó una longitud de onda de 345 nm y una longitud de onda de referencia de 340 nm, a una temperatura en la columna de 27 °C.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La caracterización electroquímica de la RUT demostró que la transferencia de carga está limitada por adsorción [9], por lo tanto su comportamiento electroquímico obedece las ecuaciones de Laviron 1,2 [10, 11] donde se muestra que la adsorción es directamente proporcional a la concentración de la especie que se oxida (ecuación 2) y se observa que la corriente de pico anódico es directamente proporcional a la adsorción de la especie en el sistema (ecuación 1). Reescribiendo la ecuación 1 y 2 tenemos la relación de la concentración con la corriente de pico anódico lo que nos permite llevar a cabo la cuantificación electroquímica mediante curva de calibración (CC).

$$i_{pa} = \frac{n^2 F^2}{4RT} \nu A \Gamma_o \quad (1)$$

$$\frac{\Gamma_o}{\Gamma_R} = \frac{b_o C_o}{b_R C_R} \quad (2)$$

De la ecuación 2 se despeja la adsorción correspondiente a la oxidación en el sistema.

$$\Gamma_o = \Gamma_R * \frac{b_o}{C_o} \frac{C_R}{b_R} \quad (3)$$

Sustituyendo la ecuación 3 en la ecuación 1 tenemos.

$$i_{pa} = \frac{n^2 F^2}{4RT} \nu A * \Gamma_R \frac{b_o}{C_o} \frac{C_R}{b_R} \quad (4)$$

Reescribiendo
tenemos.

$$ipa = kC_o \quad (5)$$

Donde k es

$$k = \frac{n^2 F^2}{4RT} v A * \left(\Gamma_R * \frac{b_o}{C_R} \right)$$

Las variables de
k son:

n es el número de electrones que participa en la oxidación 1.4 ± 0.1 F es la constante de Faraday 96450 Qmol^{-1}

R es la constante universal de los gases $8.314472 \text{ JK}^{-1}\text{mol}^{-1}$. T es la temperatura en grados kelvin 295.15 K

v es la velocidad de barrido de potencial de 0.1 Vs^{-1} A es el área del electrodo 0.07 cm^2

O b es la exponencial del negativo de la energía libre de Gibbs de oxidación $e^{-\frac{\Delta G_o}{RT}}$

R b es la exponencial del negativo de la energía libre de Gibbs de reducción $e^{-\frac{\Delta G_R}{RT}}$

Γ_R es la cantidad de moles que se adsorben en la superficie del electrodo en el proceso de reducción en $\text{mol}\cdot\text{cm}^{-2}$

C_R es la concentración de la especie que se oxida en M.

Para los métodos de cuantificación electroquímicos se trabajó con un pH de 7.05 y un intervalo de concentraciones de 0 a 0.068 mM.

Mediante VC se obtuvo la CC_1 en una ventana de potencial de -0.2 a 0.5 V con un potencial de corriente nula de 0.160 V, y una velocidad de barrido de potencial de 0.1 Vs^{-1} . Se obtiene la ecuación de la recta tomando el valor de los Epa para cada voltamperograma, ecuación (6):

$$ipa(\mu A) = (59.49 \pm 2.07) \mu A m M^{-1} + (0.13 \pm 0.08) \mu A \quad (6)$$

La ecuación presenta un coeficiente de determinación R^2 de 0.995. En la figura 4 se observan los voltamperogramas obtenidos para cada concentración.

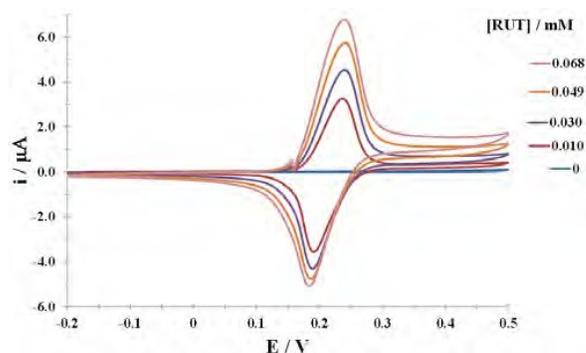


Figura 2. CC_1 obtenida por el método de VC utilizando un electrodo de trabajo de pasta de carbono contra un electrodo de $Ag/AgCl$, tomando los valores de corriente para cada E_{pa} .

Mediante VDP se obtuvo la CC_2 en una ventana de potencial de 0 a 0.4 V, y una velocidad de barrido de potencial de 0.02 Vs^{-1} . Se gráfica la corriente de pico anódico en función de la concentración de RUT, observando una tendencia lineal con una ecuación de la recta que corresponde a:

$$i_{pa}(\mu A) = (23.20 \pm 0.45)\mu A m M^{-1} + (0.021 \pm 0.019) \mu A \quad (7)$$

Con un coeficiente de determinación R^2 de 0.998. En la figura 3 se observan los voltamperogramas obtenidos por VDP.

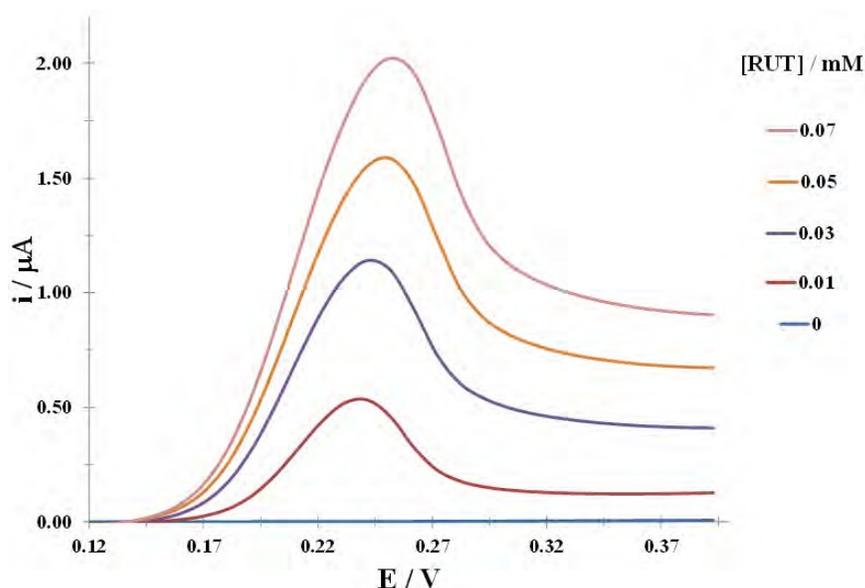


Figura 3. CC_2 obtenida por el método de VDP utilizando un electrodo de trabajo de pasta de carbono contra un electrodo de $Ag/AgCl$ en el inserto se muestran los voltamperogramas obtenidos para cada concentración.

En la figura 4a se observa la CC_3 , la cual corresponde al método de HPLC a pH 3, se trabajó en

un intervalo de concentración de 0 a 0.16 mM, los estudios de HPLC se obtuvieron en un intervalo de tiempo de 7 minutos con un flujo de 1 mL/min. La ecuación de la recta correspondiente a la CC₃ se presenta en la ecuación 9. Con un coeficiente de determinación R² de 0.994.

$$A_{t=4.5 \text{ min}} = (0.94 \pm 0.05) \text{ mM}^{-1} + (0.17 \pm 0.01) \text{ m. U. A.} \quad (8)$$

Mientras que en la figura 4b se observa la CC₄ obtenida en HPLC a pH 7 en un intervalo de concentraciones de 0 a 0.18 mM, para este pH los cromatogramas se obtienen en un intervalo de tiempo de 13 minutos.

$$A_{t=9 \text{ min}} = (0.50 \pm 0.03) \text{ mM}^{-1} + (0.176 \pm 0.004) \text{ m. U. A.} \quad (9)$$

La ecuación de la recta correspondiente a la CC₄ se presenta en la ecuación 10. Con un coeficiente de determinación R² de 0.974

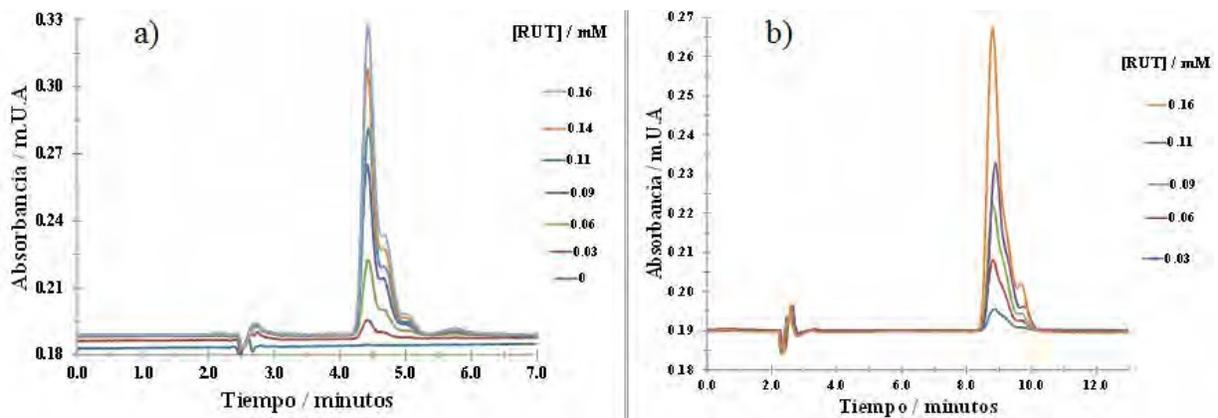


Figura 4. a) CC₃ por HPLC pH 3, tiempo de respuesta 4.5 minutos tomando el máximo representativo. b) CC₄ por HPLC pH 7, tiempo de respuesta 9 minutos tomando el máximo representativo.

Para llevar a cabo la comparación de los parámetros analíticos de cada CC se busca el método que ofrezca mayor sensibilidad y menores límites de detección (LD) y cuantificación (LC) dichos parámetros se observan en la tabla 1. Observando que el método que ofrece mejores parámetros analíticos es la VDP. Mientras que el método que ofrece menor calidad en los parámetros analíticos son los cromatográficos HPLC a pH 7.

Tabla 1. Comparación de sensibilidad, límite de detección (LD) y cuantificación (LC) entre las diferentes técnicas. (VC, VDP Y HPLC).

Método	Sensibilidad		LD / mM	LC / mM
	μAmM^{-1}	mM^{-1}		
VC	59.5 ± 2.1		$(5.8 \pm 2.3) \times 10^{-3}$	$(1.94 \pm 0.23) \times 10^{-2}$
VDP	23.20 ± 0.45		$(3.4 \pm 1.4) \times 10^{-3}$	$(1.14 \pm 0.13) \times 10^{-2}$
HPLC (pH 3)		0.939 ± 0.053	$(1.9 \pm 1.1) \times 10^{-2}$	$(6.44 \pm 0.91) \times 10^{-2}$
HPLC (pH 7)		0.501 ± 0.033	$(1.07 \pm 0.19) \times 10^{-2}$	$(3.2 \pm 2.7) \times 10^{-2}$

CONCLUSIONES

Para la cuantificación de la RUT el método que ofrece mejor parámetros analíticos (menores límites de detección y cuantificación), es el electroquímico con electrodo de pasta de carbón, VDP, obteniendo una sensibilidad de $23.20 \pm 0.45 \mu\text{AmM}^{-1}$, límite de detección $(3.4 \pm 1.4) \times 10^{-3}$ mM, límite de cuantificación de $(1.14 \pm 0.13) \times 10^{-2}$ mM, mientras que el HPLC a ambos pH de trabajo ofrecen una sensibilidad significativamente menor, con límites de detección y cuantificación mayores comparado con los métodos electroquímicos. Por lo tanto para determinar RUT en una muestra problema el mejor método para hacerlo es por VC.

AGRADECIMIENTOS

FSP agradece al apoyo de licenciatura otorgado del proyecto 237327. FSP agradece el apoyo otorgado a través del área de química analítica. MTRS y DSGH agradecen a CONACYT por la cátedra 2159. MTRS agradece a CONACYT el apoyo otorgado a través del proyecto 237327. SCA, MTRS agradecen el apoyo otorgado a través de la Red. NIQAE. MTRS, DSGH, MPP, MRR y SCA agradecen el reconocimiento a SNI.

REFERENCIAS

- [1] A.E. Aguilar., P. Bonilla. CIENCIA E INVESTIGACIÓN **12** [1] 15-23 (2009).
- [2] E.F. Johnson. Am J Pharm Sci Support Public Health **118**, 164-175 (1946).
- [3] R. Russo., M. Sánchez. Costarricense de Cardiología **8**, 10-15 (2006)
- [4] M. A. Martínez. Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia. (2005).
- [5] D. Vargas. Análisis de flavonoides en plantas medicinales del sur de Chile con técnica HPLC. (Tesis de Licenciatura). Universidad Austral de Chile (2004).
- [6] D.S Guzmán., M.A. Martínez, M. T. Ramírez, M. Romero, S. Corona, L. H. Mendoza,

- M. Palomar. *Analytical Methods* **8**, 7868-7872 (2016).
- [7] G. Valdés., D. Fournier, M.T. Ramírez, J. L. Marty. *ELSELVIER* **74**, 741-746 (2007).
- [8] G. Alarcón., S. Corona., M. Palomar., A. Rojas., M. Romero, & M. T. Ramírez. *ELSEVIER*. **53**, 3013-3020 (2008)
- [9] F. Sánchez. Caracterización electroquímica de la rutina. (Tesis de Licenciatura). Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa (2017).
- [10] A. Bard, L. Faulkner. *ELECTROCHEMICAL METHODS, Fundamentals and Applications*. New York. Estados Unidos (2001)
- [11] D.K. Gosser. *Cyclic Voltammetry, Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms*: New York. Estados Unidos. (1993).

AUTENTIFICACIÓN DE TEQUILAS MEDIANTE TÉCNICAS DE CLASIFICACIÓN SUPERVISADA (CURVAS DE POTENCIA Y FUNCIONES DE POTENCIA) A PARTIR DE DATOS DE ESPECTROFOTOMETRÍA DE INFRARROJO MEDIO

Ileana Jiménez Rabadán¹
Guadalupe Pérez Caballero^{1*}
José Manuel Andrade Garda²
Yair Eli Molina Rentería²

INTRODUCCIÓN

El tequila es una bebida mexicana producida a partir de *Agave Tequilana weber* variedad Azul, en las regiones especificadas por su denominación de origen. Con base en la NOM- 006-SCFI-2005 [1], es posible distinguir cinco clases de tequila según las características adquiridas a posteriori de la doble destilación del mosto (jugo de fermentación):

- 1) Blanco o Plata: Sin reposo.
- 2) Joven u Oro: Maduración menor de 2 meses en barricas de roble o encino.
- 3) Reposado: Reposo entre 2-12 meses en barricas de roble o encino.
- 4) Añejo: Maduración mayor a un año y mejor a tres en barricas de roble o encino.
- 5) Extra Añejo: Reposo de más de tres años en barricas de roble o encino.

Las técnicas quimiométricas de clasificación multivariable tienen la finalidad de encontrar modelos matemáticos capaces de reconocer la pertenencia de una muestra a una clase con base en un conjunto de mediciones [3], en este caso espectros FT-MIR.

¹ Universidad Nacional Autónoma de México. Laboratorio de Fisicoquímica Analítica y Especiación Química. Unidad de Investigación Multidisciplinaria. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Campo 4. Cuautitlán Izcalli, 54700, Estado de México. Correo: perezcg@unam.mx

² Universidad de Coruña, Grupo de Química Analítica Aplicada (QANAP), Campus da Zapateira s/n, 15071, A Coruña, España. Correo: andrade@udc.es

Las técnicas de clasificación supervisada son aquellas en las que se hace uso de información previa acerca de las muestras para desarrollar el modelo y validarlo [4].

A *grosso modo*, la técnica de “Curvas de Potencia” (PC) aplica el análisis de componentes principales (PCA) con fines predictivos. En primer lugar, se obtiene un modelo clasificatorio considerando las muestras de calibración (y los conjuntos definidos a partir de ellas) para, posteriormente, clasificar las muestras desconocidas empleando los valores de los *scores* para dichas muestras [5]. En la práctica, cada clase queda asignada a una región del subespacio de los primeros componentes principales, cuyas coordenadas se utilizan para derivar las funciones de clasificación mediante el cálculo de una función de probabilidad de Gauss, bivariada.

Esta técnica, ofrece dos resultados relativamente fáciles de interpretar: un gráfico de las clases de muestras en el subespacio PC1-PC2 y una tabla con probabilidades de pertenencia de las muestras a cada clase. El gráfico se conforma por elipses de iso- probabilidad, cuyo número y grosor se puede variar para facilitar la visualización de los resultados [5]. La tabla permite decidir a qué grupo se atribuye cada muestra, en función de la mayor probabilidad de pertenencia [5].

La técnica de “Funciones de Potencia” (PF) implica cálculos algo más complejos, aunque la misma sistemática de trabajo. De acuerdo con Coomans et al. [3], considera cada muestra del conjunto de entrenamiento como un punto en el espacio alrededor del cual hay un campo potencial que disminuye con la distancia de la muestra. Para calcularlo se necesita réplicas de las medidas experimentales de las muestras.

La clasificación de una nueva muestra en las clases bajo estudio viene dada por el potencial acumulado de la clase en la posición de la muestra de validación (*test*), el cual es obtenido mediante la suma de los potenciales individuales de las muestras de calibración (*training*) de cada clase. La muestra a clasificar se asigna a la clase que da lugar al mayor potencial acumulativo [3].

Además, la forma del campo potencial que adquiera cada clase depende de la función kernel (gaussiana/triangular) que se emplee y de un parámetro de suavizado (0.1-1.2) seleccionado para cada clase. Este último, se define mediante validación cruzada (*cross-validation*), siendo el óptimo aquel que dé el mínimo error de clasificación [13]. Cabe mencionar que la función kernel (K), es una densidad de probabilidad suave y simétrica [7].

La técnica de curvas de potencia establece varias simplificaciones con respecto a la de funciones de potencia: 1) considera que las clases de muestras no solapan en el subespacio bajo estudio (habitualmente PC1-PC2); 2) la distribución de las muestras en cada clase se considera

homogénea; 3) no se considera una función de potencia alrededor de cada muestra sino que se define una función gaussiana bivariada a partir de la localización de todas las muestras de cada clase; 4) como consecuencia de lo anterior, la forma de las curvas de potencia es sencilla y elíptica.

En el presente estudio fueron construidos modelos de clasificación supervisada empleando dos técnicas quimiométricas similares (Curvas de Potencia y Funciones de Potencia), a partir de datos FT-MIR, con excelentes resultados.

EXPERIMENTACIÓN

Muestras certificadas por el Consejo Regulador del Tequila, CRT: 229 tequilas (72 blancos, 29 jóvenes, 72 reposados, 37 añejos y 19 extra añejos).

Para identificar las clases de las muestras, se asignaron las abreviaciones TB: blancos, TJ: jóvenes, TR: reposados, TA: añejos y TEA: extra añejos. Los tequilas añejos y extra añejos se consideraron parte de un sólo grupo denominado 'añejos' (TA).

Tequilas de calibración: 211, de los cuales 68 son TB, 26 TJ, 67 TR y 50 TA. Tequilas de validación: 18, de los cuales 4 son TB, 3 TJ, 5 TR y 6 TA (5 TA y 1 TEA).

Las muestras training se identificaron con círculos de color azul (TB), rojo (TJ), verde (TR) y amarillo (TA) para ambos modelos, mientras que las muestras *test* están señaladas con un rombo negro y el nombre de la misma en un rectángulo (PC) o con asteriscos con los colores asignados para cada clase (PF).

Obtención espectros: los espectros FT-MIR fueron obtenidos en un espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo FT-IR/NIR Frontier, detector Smiths DuraSamplIR II, con un dispositivo ATR de diamante de una reflexión, en el intervalo de 4000 a 450 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} . Estos fueron transformados en absorbancia, corrección de ATR, corrección manual de línea base y se ajustaron a cero.

Pretratamiento: se autoescalaron los datos por columnas y se trabajó con el intervalo de 3000 – 1100 cm^{-1} .

Software: GenEx© (MultiDAnalysis AB, Göteborg, Suecia) y Matlab© (The MathWorks, Massachusetts, EUA) con la herramienta Classification Toolbox para Matlab (v.3.1) [2].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Curvas de Potencia

Tal como se muestra en la figura 1 y la tabla 1, las 18 muestras fueron asignadas correctamente a su clase certificada. Las probabilidades más bajas fueron para los tequilas TR 8758 (12.17%), TEA 2493 (11.48%) y TJ 8733 (9.82%), a pesar de lo que se consideran bien clasificados en sus correspondientes clases, ya que tienen el 0% de probabilidad de pertenecer a otras clases. Teniendo en cuenta que el alejamiento de una muestra del núcleo principal de su clase puede ser función de las características adquiridas durante la maduración; de si el tequila sufrió un proceso de abocamiento o no; o, incluso, de su porcentaje de contenido alcohólico, parece razonable aceptar una cierta variabilidad en cada clase.

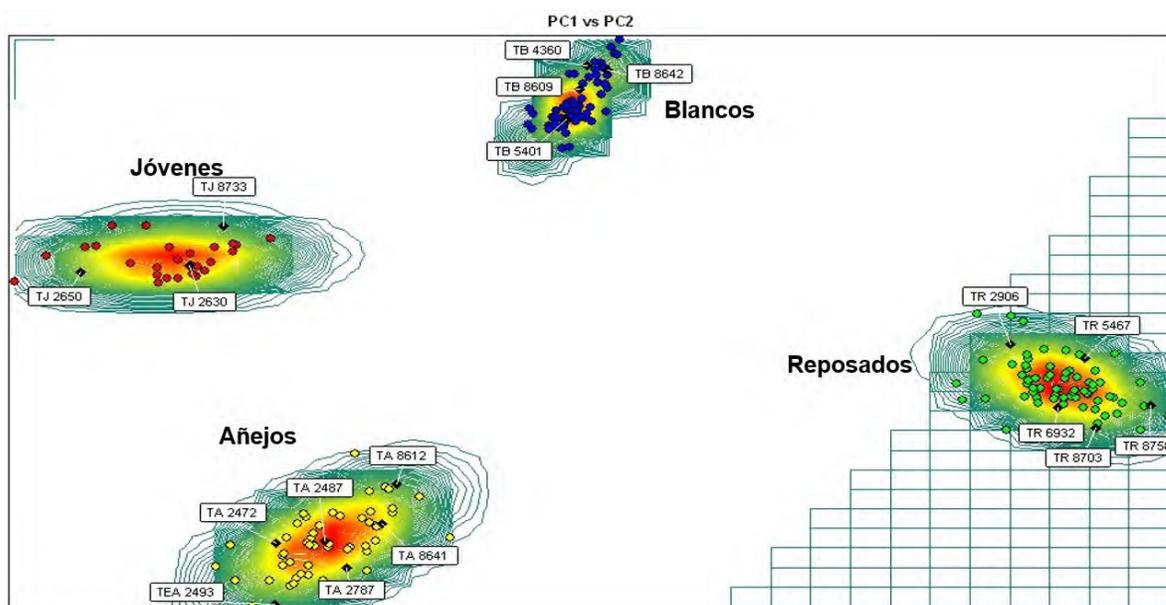


Figura 1. Curvas de potencia, representación de las elipses de iso-probabilidad en el espacio PC1-PC2.

Tabla 1. Scores y probabilidad (en %) para las muestras de validación del modelo.

	PC1	PC2	Blancos	Jovenes	Reposados	Anejos
TB 4360	-2.639554021	36.893597700	18.00	0.00	0.00	0.00
TB 5401	-4.456226723	29.059492968	80.42	0.00	0.00	0.00
TB 8609	-3.274931251	33.514440573	76.33	0.00	0.00	0.00
TB 8642	-0.747574333	36.277603982	29.13	0.00	0.00	0.00
TJ 2630	-37.81887257	7.7858783732	0.00	86.63	0.00	0.00
TJ 2650	-47.32344850	6.8029152613	0.00	27.71	0.00	0.00
TJ 8733	-34.71751949	13.485634381	0.00	9.82	0.00	0.00
TR 2906	34.806580712	-3.774608466	0.00	0.00	20.11	0.00
TR 5467	41.343794783	-5.764349826	0.00	0.00	28.08	0.00
TR 6932	39.047125300	-12.97110243	0.00	0.00	55.17	0.00
TR 8703	42.293082492	-16.01481505	0.00	0.00	17.76	0.00
TR 8758	47.193126391	-12.67712768	0.00	0.00	12.17	0.00
TA 2472	-30.10313195	-32.88893412	0.00	0.00	0.00	44.97
TA 2487	-25.76690406	-32.47528268	0.00	0.00	0.00	99.76
TA 2787	-23.86567089	-36.38174064	0.00	0.00	0.00	35.52
TA 8612	-19.44053319	-24.22208818	0.00	0.00	0.00	16.41
TA 8641	-20.70969312	-29.95069415	0.00	0.00	0.00	52.52
TEA 2493	-30.25650943	-41.72650720	0.00	0.00	0.00	11.48

Funciones de Potencia

Los modelos aquí presentados se elaboraron a partir de datos auto-escalados, con un kernel tipo gaussiano, percentil del 95% (el percentil es una medida no paramétrica que indica el % de muestras que se considera perteneciente a la clase en estudio [6]), validación cruzada (modalidad de “persianas venecianas” o *venetian blinds*) en grupos de 10 y factores de suavizado en torno a la unidad: TB= 1.0, TJ= 1.0, TR= 1.2 y TA= 1.2, lo que condujo a excelentes resultados.

Cabe destacar que en el desarrollo de las funciones de potencia se encontraron mejores resultados al modelar cada clase frente al resto de muestras (aproximación *one-vs-all*) que al modelar todas las clases simultáneamente (como se hace en curvas de potencia). A continuación, se muestran los gráficos de las funciones de potencia de cada clase.

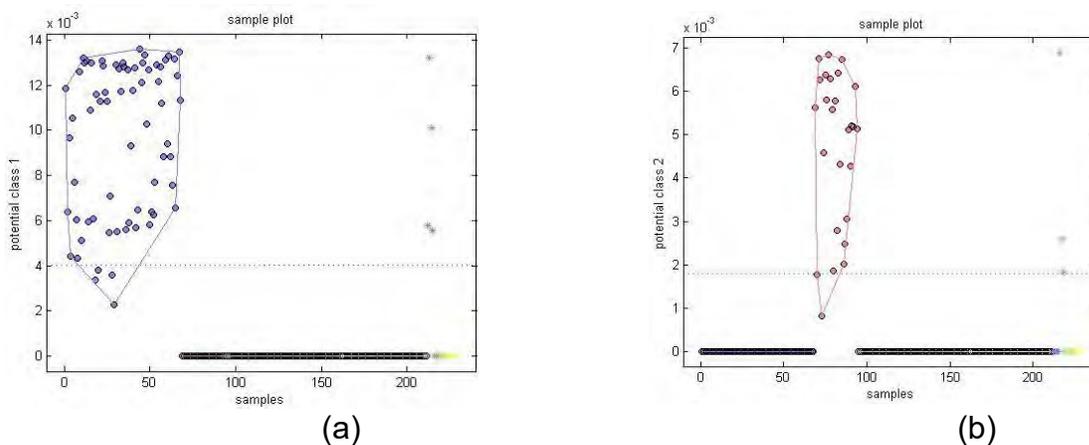


Figura 2. Funciones de Potencia para (a) Tequilas Blancos y (b) Tequilas Jóvenes.

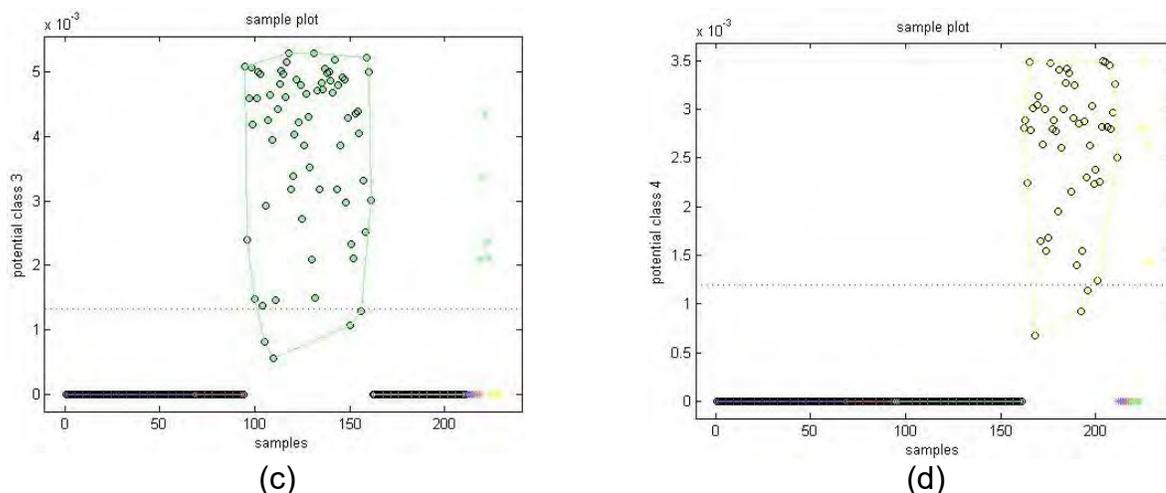


Figura 3. Funciones de Potencia para (c) Tequilas Reposados y (d) Tequilas Añejos.

En las Figuras 2 y 3, podemos observar que las muestras de validación (asteriscos) fueron correctamente asignadas a su clase, ya que se encuentran todas por arriba del límite de pertenencia que tiene cada gráfico (línea punteada, percentil 95).

En la siguiente figura 4 podemos observar la distribución de las muestras de calibración en el espacio PC1-PC2, siendo las líneas sólidas (en color azul, rojo, verde y amarillo) los límites de clase que propone el algoritmo. A diferencia de la técnica Curvas de Potencia, Funciones de Potencia no ofrece una tabla con probabilidades de pertenencia a su clase.

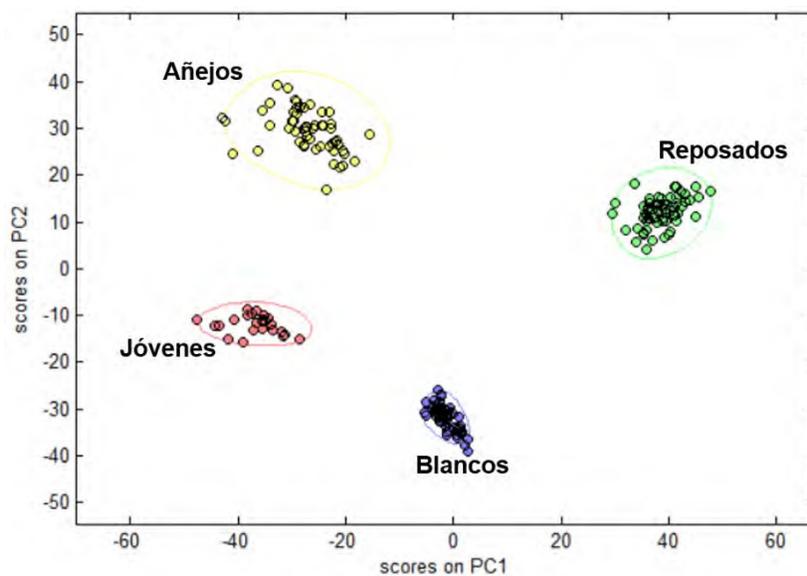


Figura 4. Funciones de Potencia. Diagrama de scores en el espacio PC1-PC2 con límites de clase.

CONCLUSIONES

Ambos modelos resultaron adecuados ya que todas las muestras de validación fueron predichas sin error, lo cual permite afirmar que se trata de modelos exactos y precisos en función de los errores globales *Error Rate*, *Non-Error rate* y *Accuracy* (0.00, 1.00 y 1.00, respectivamente).

Los parámetros de desempeño (especificidad, sensibilidad y precisión) obtenidos para cada conjunto fueron iguales a la unidad, lo cual, permite afirmar que los modelos de ambas técnicas son óptimos para identificar muestras que cumplan con las características 'habituales' de un tequila según su clase.

En el caso de las curvas de potencia se comprobó que la probabilidad de pertenencia de algunas muestras a las clases resultó baja (aunque correcta). Esto se atribuyó a la variabilidad natural de este tipo de muestras.

AGRADECIMIENTOS

Al 'Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT)- UNAM' (Clave: IT200918) por el apoyo para realizar el presente trabajo.

Al Consejo Regulador del Tequila por el suministro de las muestras de tequila, lo cual hizo posible la realización del presente trabajo.

El Grupo QANAP (Química Analítica Aplicada) agradece a la Xunta de Galicia la Financiación como Grupo de Referencia Competitivo (Ref: ED431C 2017/28).

REFERENCIAS

- [1] Diario Oficial de la Federación. NOM-006-SCFI-2005. Consejo Regulador del Tequila. 04/Marzo/2018. Sitio web: <https://www.crt.org.mx/images/Documentos/NOM-006-SCFI-2005.pdf>
- [2] D. Ballabio, V. Consonni. Classification tools in chemistry. Part 1: Linear Models. PLS- DA. [Analytical Methods]. 5, 3790-3798.
- [3] R. Todeschini. Classification Toolbox for Matlab - versión 4.2. Milano Chemometrics and QSAR Research Group. 17/Marzo/2018. Sitio web: http://michem.disat.unimib.it/chm/download/software/help_classification/index.htm
- [4] F. Sancho-Caparrini. Clasificación supervisada y no supervisada. 17/Marzo/2018 Sitio web: <http://www.cs.us.es/~fsancho/?e=77>
- [5] GenEx Enterprise. Potential Curves. Multid Analysis. 19/Marzo/2018. Sitio web: <https://www.multid.se/genex/onlinehelp/hs510.htm>
- [6] W.L. Martínez. Estadística Descriptiva. La Hoguera. Bolivia. (2003).
- [7] I. Salgado. Suavización no paramétrica para análisis de datos. FES Zaragoza, UNAM. México. (2000).

DESARROLLO DE MÉTODOS ELECTROQUÍMICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS CUANTITATIVOS DE LA CALIDAD DE VINOS

Eduardo Madrigal Laguna¹
Edgar Islas Ortiz¹
Margarita Reyes Salas²
Gerardo Reyes García¹
Octavio Reyes Salas*¹

INTRODUCCIÓN

El vino es una de las bebidas más antiguas que ha producido el hombre a lo largo de su historia, por lo que su producción y consumo son de gran importancia. Por este motivo la industria vinícola no sólo se enfoca en el estudio y optimización de los procesos de cultivo, cosecha, maceración, fermentación, añejamiento, etc. También utiliza distintos análisis en cada etapa del proceso de producción y crianza; uno de ellos es el análisis químico, el cual se usa como base indicadora para el término e inicio de cada etapa, esto se logra monitoreando los niveles de distintos compuestos presentes en esta bebida. Gracias a este tipo de análisis se sabe que los vinos pueden llegar a tener hasta más de 1000 compuestos diferentes; esto implica que deban elegirse aquellos compuestos que sean determinantes para determinar la calidad del vino [1, 2,3].

A pesar de ser una matriz tan compleja, los fabricantes han aprendido que existen cuatro factores que son determinantes para el producto final: azúcares, grado alcohólico, acidez y polifenoles. Una correcta combinación de dichos factores da el balance para conseguir un vino único y de calidad. Sin embargo, para ello no se debe basar simplemente en un tipo de análisis sino que intervienen tanto el análisis químico, la evaluación sensorial y la experiencia del fabricante [4, 5,6].

Este proyecto está dirigido al análisis químico de dos de los factores esenciales en el vino; azúcares y polifenoles. Aunque actualmente existen muchas técnicas para la determinación de

¹ Universidad Nacional Autónoma de México. Depto. de Química Analítica. Laboratorio 114 DEPg. Facultad de Química. Ciudad Universitaria. 04510 Cd. México. Tel. (55) 56223787 e-mail: oresal@unam.mx , Octavio_reyessalas@yahoo.de.

² Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Geología. Ciudad Universitaria. 04510 Cd. México

estos parámetros, la mayoría se basan en técnicas fisicoquímicas o biológicas que generalmente requieren un pretratamiento de la muestra, son tardados y de altos costos, lo cual significa un problema para los viticultores ya que el análisis químico debe ser rápido y eficaz porque aporta información acerca del grado de maduración de la uva (vendimia), los niveles de azúcares en la etapa de fermentación y la cantidad de taninos en el añejamiento, entre otros. Algunas de las técnicas más utilizadas son;

- Cromatografía de gases y HPLC.
- Espectrofotometría de absorción atómica y de emisión de llama.
- Espectroscopía IR y espectrometría de masas.
- Resonancia magnética nuclear (RMN).
- Métodos enzimáticos (kits enzimáticos).

Por lo tanto, nace la necesidad de desarrollar métodos analíticos para la cuantificación de los principales parámetros de interés de los viticultores que sean más viables, rápidos y precisos en comparación con los que existen actualmente.

Las sustancias descritas como el objeto de estudio del proyecto son sustancias que tienen propiedades redox, por lo que se pueden analizar electroquímicamente. Así, la electroquímica analítica y sus técnicas como la voltamperometría representan potencialmente una gran herramienta para el control de calidad en la industria vitivinícola ya que sus métodos necesitan cantidades de muestra pequeñas y generalmente sin pretratamiento y requieren de poco tiempo, por lo que resultan, además, menos costosos.

EXPERIMENTACIÓN

Para la determinación de azúcares reductores (glucosa y fructosa) y sacarosa se utilizó el método de Fehling modificado por Preza en 2007 [7], el cual se basa en la capacidad que tienen azúcares, como la glucosa y fructosa, para reducir el Cu (II) en un medio alcalino. La reacción se siguió potenciométricamente utilizando un electrodo de trabajo de cobre, el electrodo de referencia de Ag/AgCl y un termómetro de mercurio, dicho sistema se introdujo en un vaso de precipitados con el licor de Fehling, que es una mezcla de disoluciones de sulfato de cobre 0.27 mol/L y tartrato de sodio y potasio en medio alcalino 1.2 mol/L en iguales proporciones; dicha mezcla se calienta a una temperatura de 90-93 °C y una vez alcanzada la temperatura, se procede a realizar la titulación de la muestra (en este caso, como ejemplo, vino tinto marca Valle Redondo California) diluida 1:10.

La capacidad antioxidante se determinó por medio del método de Folin Ciocalteu que tiene como principio la reacción de óxido reducción entre los compuestos fenólicos y el reactivo de Folin Ciocalteu, siendo este último la especie oxidante. El reactivo de Folin Ciocalteu, una vez reducido, presenta una coloración azul en disolución, la cual es proporcional a la cantidad de las especies reductoras presentes inicialmente, por lo que dicho parámetro se puede medir colorimétricamente. Se preparó una disolución madre de ácido gálico con una concentración de 5000 mg L^{-1} a partir de la cual se obtuvieron disoluciones estándar de 100, 150, 200, 250, 300, 400 y 500 mg L^{-1} . Posteriormente, en matraces volumétricos de 10.0 mL se agregaron alícuotas de $300.0 \mu\text{L}$ de cada estándar y de la muestra (diluida 1:10), 6 mL de agua destilada y se homogeneizó. Luego, se adicionaron $500.0 \mu\text{L}$ del reactivo de Folin Ciocalteu (Sigma-Aldrich), se agitó por 30 segundos y antes de 8 minutos se agregaron 1.5 mL de la disolución de Na_2CO_3 al 20%(m/v) homogeneizando nuevamente. Finalmente, se llevó a la marca de aforo con agua destilada. Adicionalmente se preparó una disolución blanco la cual contiene todas las disoluciones excepto la de ácido gálico o muestra. Se dejaron reposar las disoluciones preparadas por 2 horas y en seguida se procedió a medir la absorbancia con un espectrofotómetro Spectronic 20 marca Bausch & Lomb.

También se realizó un estudio polarográfico por polarografía diferencial de impulsos (DP) en el cual las curvas de intensidad de corriente contra potencial se trazaron usando el programa Computrace y el analizador polarográfico Metrohm 797 VA. Se utilizó como electrodo de trabajo el de gota de mercurio, como electrodo de referencia un electrodo de Ag/AgCl y un electrodo auxiliar de platino. Como electrolito soporte se estudiaron varios medios, como LiNO_3 , LiClO_4 y KSCN todos a una concentración 0.1 mol L^{-1} , siendo el de LiClO_4 el que mostró un intervalo de electroactividad mayor.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

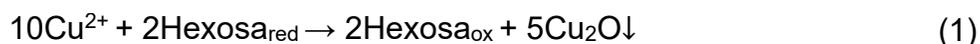
Determinación de azúcares reductores por medio de la reacción de Fehling.

La siguiente tabla (Tabla 1) muestra las concentraciones de las disoluciones utilizadas para el análisis:

Tabla 1.- Concentraciones de las disoluciones utilizadas para la mezcla del licor de Fehling. La disolución de sulfato de cobre se estandarizó por el método de adiciones patrón con un patrón de cobre electrolítico.

Disolución	Concentración (mol/ L)	Volumen en licor de Fehling (mL)
Sulfato de cobre	0.28719	2.0
Tartrato de sodio y potasio en medio alcalino	[Tartrato]= 1.2028 mol/L [OH ⁻]= 2.4248 mol/L	2.0

La figura 1 muestra un ejemplo de las curvas de valoración obtenidas potenciométricamente; se sabe que la reacción entre el ion cúprico y los azúcares reductores ocurre de la siguiente forma:



Para la determinación del potencial al punto de equivalencia, a partir de la curva potenciométrica, se tiene la siguiente ecuación:

$$E_{\text{eq}} = E_{\text{Cu(II)}} - \frac{5\Delta E}{6} = E_{\text{Az.Red.}} + \frac{\Delta E}{6} \quad (2)$$

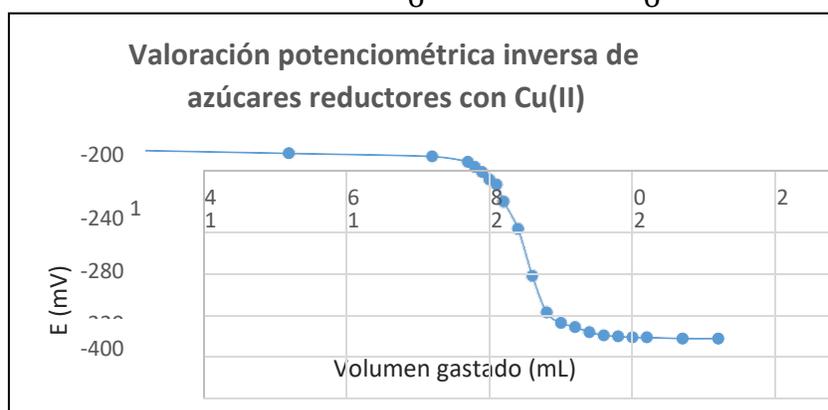


Figura 1. Valoración potenciométrica de los azúcares reductores presentes en la muestra diluida (1:10) con una mezcla de 2.0 mL de CuSO₄ 0.28719 mol/L y 2.0 mL de tartrato de sodio y potasio en medio alcalino 1.2028 mol/L a una temperatura de 90-93 °C.

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 2:

Tabla 2. Determinación de azúcares reductores presentes en la muestra de vino tinto.

Titulación	E al p.d.e* (mV)	Vol. al p.d.e.** (mL)	[Az.Red.]*** (g L ⁻¹)
1	-354	19,6	10,5
2	-357	19,7	10,5
3	-367	19,5	10,6
Promedio	-359	19,6	10,5

*Potencial al punto de equivalencia, **Volumen al punto de equivalencia y ***Concentración de azúcares reductores

De acuerdo con los intervalos definidos por la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV) para la clasificación de vinos a partir del contenido de azúcares, la muestra es un vino tinto semi seco (mayor a 4 g L⁻¹ y menor a 12 g L⁻¹).

Determinación de sacarosa invertida

Algunos productores recurren al método de “Chaptalización” cuando las uvas no alcanzan el nivel óptimo de azúcares fermentables. Este método consiste en adicionar sacarosa al mosto para alcanzar el grado alcohólico deseado o simplemente para endulzar el producto. La chaptalización puede o no estar regulada legalmente, por lo que es importante su análisis. El método de Fehling se puede utilizar para determinar la cantidad de sacarosa presente. Se le llama sacarosa invertida porque se hidroliza en medio ácido o por vía enzimática en sus monómeros (glucosa y fructosa) ya que la sacarosa no tiene poder reductor.

En este caso la hidrólisis se realizó en medio ácido agregando 10 gotas de ácido clorhídrico concentrado a la muestra y dejando reposar por 12 horas. La figura 2 muestra una de las curvas de valoración obtenidas. Las determinaciones se realizaron igualmente por triplicado.



Figura 2.. Valoración potenciométrica de los azúcares reductores y sacarosa invertida presentes en la muestra diluida (1:10) con una mezcla de 2.0 mL de CuSO_4 0.28719 mol/L y 2.0 mL de tartrato de sodio y potasio en medio alcalino 1.2028 mol/L a una temperatura de 90-93 °C.

Para determinar la cantidad de sacarosa presente en la muestra se restaron los datos obtenidos en la determinación anterior, donde sólo se analizaron los azúcares reductores, es decir, sin hidrolizar la muestra. Además, la sacarosa invertida está en términos de sus monómeros (glucosa y fructosa) por lo que se hizo la conversión a $\text{g}_{\text{sacarosa}} \text{L}^{-1}$.

Tabla 3. Determinación de la sacarosa presente en la muestra por medio de una hidrólisis ácida

Titulación	E al p.d.e (mV)	Vol. al p.d.e.(mL)	[Az. Red] total (g L^{-1})	[Az. Red] sin hidrolizar (g L^{-1})	[Az. Red] de la Sacarosa (g L^{-1})	[Sacarosa] (g L^{-1})
1	-338	22,7	11,4	10,5	0,83	0,79
2	-321	22,4	11,5	10,5	1,07	1,01
3	-345	22,3	11,6	10,6	0,99	0,94
Promedio	-335	22,5	11,5	10,5	0,96	0,91

La cantidad de sacarosa observada no es alta, naturalmente las uvas también producen pequeñas cantidades de este disacárido por lo que se puede suponer que no se le agregó de forma artificial.

Determinación de la capacidad antioxidante del ácido gálico

Se trazó el espectro de absorción del reactivo de Folin Ciocalteu pasadas las 2 horas y se observó un máximo de absorbancia alrededor de 680 nm, se midió la absorbancia de cada uno de los estándares preparados alrededor de esa longitud de onda para confirmar que no hubiera una variación significativa. En la figura 3 se presenta la curva de calibración correspondiente.

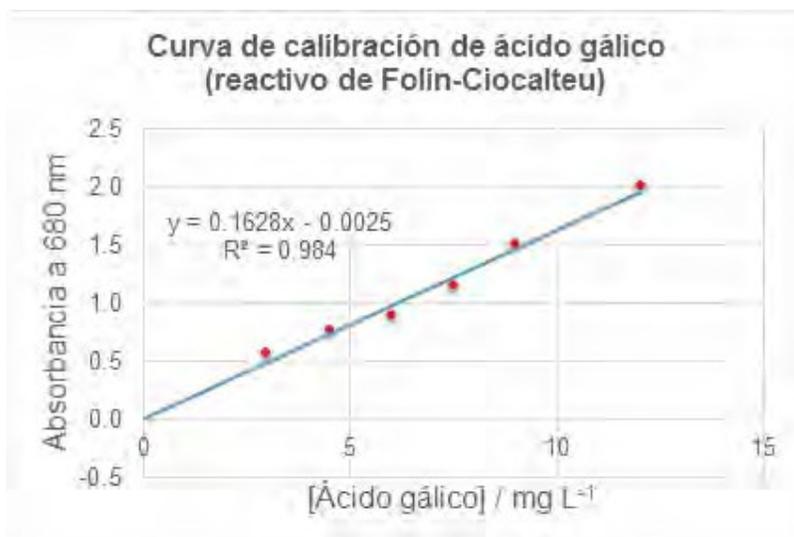


Figura 3. Variación de la absorbancia en función de la concentración de ácido gálico agregado al reactivo de Folin-Ciocalteu

Comportamiento electroquímico del vino

En la figura 4 se muestra un conjunto de polarogramas por polarografía diferencial de impulsos (DP) que permiten observar varias señales en reducción (que pueden deberse a la reducción de ácidos orgánicos, que no son objeto por ahora de este trabajo) y una señal en oxidación que puede atribuirse a los “antioxidantes” o reductores presentes en el vino.

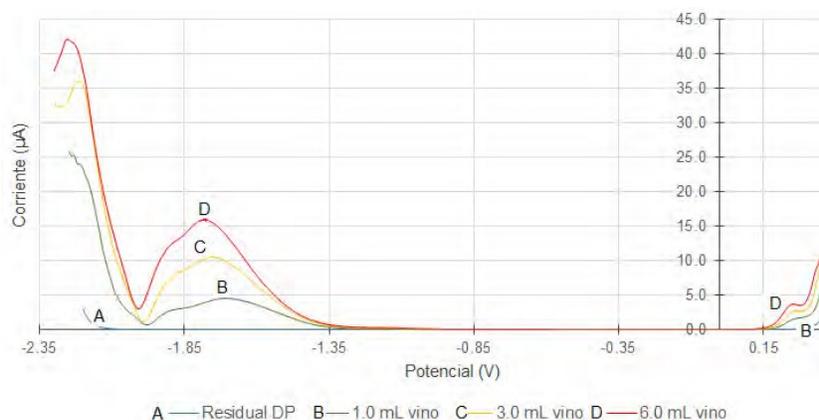


Figura 4. Polarogramas DP de una muestra de vino en medio, LiClO₄ 0.1 mol L⁻¹. Este trabajo polarográfico preliminar indica que sí será posible la determinación del poder antioxidante del vino, para lo que es necesario profundizar la investigación.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede aplicar el método de Fehling para la determinación de azúcares reductores de manera potenciométrica y sin la necesidad de clarificar con carbón activado ni de utilizar un indicador visual como el azul de metileno para la determinación del punto final de la titulación. Además, con el método descrito no es necesario el uso de las tablas de Fehling y siempre y cuando se sepa la concentración exacta de la disolución de cobre

Así mismo este método representa una opción fácil y rápida para la determinación tanto de azúcares reductores (glucosa y fructosa) y no reductores (sacarosa).

A pesar de ser uno de los métodos más utilizados para la determinación de la capacidad antioxidante en la industria vinícola, el método de Folin Ciocalteu es complejo debido a que es afectado por diferentes factores como la temperatura, la radiación, el tiempo, el orden de adición de las disoluciones utilizadas, la degradación de la disolución madre en un tiempo muy corto (1 a 2 días). Dichos factores no se advierten en muchas de las metodologías que utilizan el mismo principio.

Por otra parte es importante recalcar que el método no es específico para los compuestos fenólicos y polifenólicos ya que el reactivo de Folin-Ciocalteu reacciona con cualquier otra sustancia reductora cuyo potencial condicional sea menor al de este reactivo, esto hace que en lugar de ser una determinación de dichos compuestos sea una mera estimación. Dicho lo anterior, es necesario desarrollar nuevos métodos que nos permitan cuantificar con certeza este tipo de compuestos que como ya se mencionó son de gran importancia por las características que proporcionan.

REFERENCIAS

- [1] M. Aguirre, M. Isaacs, B. Matsuhiro, L. Mendoza, R. Torres, & E. Zúñiga. Determination of low molecular weight carbohydrates in cabernet sauvignon red wines [versión electrónica]. *Journal of the Chilean Chemical Society*. **54** [4], 405-407 (2009).
- [2] J. Bakker & R. J. Clarke. *Química del flavor del vino*. España: Acribia. (2004).
- [3] D. Delanoë, C. Maillard & D. Maisondieu. *El vino: del análisis a la elaboración*. (5ª ed.) España: Acribia. (2003).
- [4] International Organisation of Vine and Wine. (2009) a. Compendium of international methods of analysis-OIV: Folin-Ciocalteu index. Consultado en <http://www.oiv.org/public/medias/2477/oiv-ma-as2-10.pdf> el 23 de marzo 2018.

- [5] International Organisation of Vine and Wine. (2009) b. Compendium of international methods of analysis-OIV: Reducing substances. Consultado en <http://www.oiv.org/public/medias/2481/oiv-ma-as311-01a.pdf> 23 de marzo 2018.
- [6] International Organisation of Vine and Wine. (2015). International standard for the labelling of wines. Consultado en <http://www.oiv.org/public/medias/4776/oiv-wine-labelling-standard-en-2015.pdf> 23 de marzo 2018.
- [7] J. Preza. Estudio electroquímico aplicado a la cuantificación de azúcares en mieles. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. (2007).

DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO ROSMARÍNICO EN EXTRACTOS NATURALES Y MUESTRAS COMERCIALES MEDIANTE TÉCNICAS POLAROGRÁFICAS

Leobardo García Flores*²⁷
Edgar Islas Ortíz¹
Margarita Reyes Salas²
Eugenio Octavio Reyes Salas²⁷

INTRODUCCIÓN

Durante mucho tiempo, las plantas han sido utilizadas en diferentes partes del mundo por sus propiedades nutritivas y medicinales; aunque su empleo con fines terapéuticos estuvo asociado durante muchos años a ritos religiosos, en la actualidad existen una gran variedad de estudios que nos permiten conocer sus propiedades funcionales, medicinales y toxicológicas y con ello asociar dichos efectos a un compuesto o una serie de compuestos dentro de la planta, que son responsables de su calidad o eficiencia.

Las plantas y los productos naturales poseen un elevado contenido en principios activos que les confieren diversas características químicas, bioquímicas y organolépticas, es por lo que hoy en día las plantas con acción medicinal han adquirido gran importancia en varias regiones del mundo, siendo utilizadas en tratamientos complementarios con fines terapéuticos, aromáticos y gastronómicos. Un ejemplo de ello es el romero (*Rosmarinus officinalis L.*), planta rica en principios activos y con acción sobre casi todos los órganos del cuerpo humano. Al tener un alto contenido

¹ Universidad Nacional Autónoma de México. Depto. de Química Analítica. Laboratorio 114 DEPg. Facultad de Química. Circuito Exterior S/N, Coyoacán, Cd. Universitaria, 04510 Ciudad de México, CDMX. Tel: (55) 56 22 37 87. e-mail:

gf_leobardo3969@outlook.com; octavio_reyessalas@yahoo.de

² Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Geología. Av. Universidad No. 3000, Coyoacán, Cd. Universitaria, C. P. 04510 Ciudad de México, CDMX

en aceites esenciales, cuyos ingredientes activos son flavonoides, ácidos fenólicos y principios amargos, genera acción tónica y estimula el sistema nervioso, circulatorio y corazón [1]. Uno de los compuestos más importantes dentro del romero es el ácido rosmarínico debido a su elevada capacidad como antioxidante, incluso superior al de la vitamina E [2]; en este trabajo se presenta como alternativa de control de calidad de extractos de romero, un método polarográfico que permitirá identificar y cuantificar este ácido, de forma sencilla, rápida y confiable.

El ácido rosmarínico es un compuesto con actividad biológica demostrada, diversos estudios comprueban sus propiedades como astringente, antiinflamatorio, antibacterial y antimutagénico [3]. La caracterización del ácido rosmarínico precedió a su cuantificación; se estudió el comportamiento óxido-reducción del compuesto, para identificar las señales características y sus potenciales de media onda ($E_{1/2}$) correspondientes, se utilizó un electrodo de gota de mercurio como electrodo de trabajo. Para la cuantificación se contó con un destilado de romero y un aceite de romero al 10%.

EXPERIMENTACIÓN

Estudio electroquímico del ácido rosmarínico. Para detectar las señales del compuesto se trazaron curvas de intensidad-potencial (i/E) por polarografía clásica y polarografía diferencial de impulsos. Como electrolito soporte se utilizó una disolución de LiClO_4 [0.5 mol/L] en agua. El disolvente utilizado fue elegido con base en los resultados de pruebas de solubilidad del ácido rosmarínico con distintos disolventes, mientras que la sal fue seleccionada de acuerdo con los datos encontrados en la literatura sobre el intervalo de potencial en el que es posible trabajar y observar las señales esperadas.

Como primer paso se trazó la curva i/E del electrolito soporte, esta curva se conoce como corriente residual, con ella se determinó el dominio de electroactividad.

La metodología de trabajo consistió en colocar 20.0 mL de electrolito soporte en la celda electroquímica y burbujear nitrógeno durante 10 minutos para eliminar el oxígeno disuelto; a continuación, se midió la corriente residual y posteriormente se realizaron adiciones de la disolución de ácido rosmarínico. Después de cada adición se registró la correspondiente curva de i/E , bajo las siguientes condiciones: velocidad de barrido de potencial de 6 mV/s, intervalo de trabajo de -2.0V a 0.5V; en el caso de polarografía diferencial de impulsos se utilizó una amplitud de pulso de 50mV y duración de pulso de 0.04s.

Cuantificación del ácido rosmarínico en extractos comerciales. Para la determinación del ácido rosmarínico en los productos comerciales, se colocaron en la celda electroquímica 20.0 mL de LiClO_4 [0.5 mol/L] en agua, se burbujeó nitrógeno por 10 minutos para eliminar el oxígeno disuelto y se trazaron las curvas de i/E correspondientes en polarografía clásica y polarografía diferencial de impulsos del electrolito soporte. Para la cuantificación del compuesto en los destilados de romero se tomaron alícuotas de entre 5.0 μL a 20.0 μL del producto con ayuda de una micropipeta (según el fabricante, el destilado de romero es obtenido por medio de destilación por arrastre de vapor, por lo que primero se realizó una prueba de solubilidad del producto en el electrolito soporte), en cada adición se burbujeó nitrógeno durante 1 minuto y se trazó la respectiva curva i/E utilizando la técnica de polarografía diferencial de impulsos; cuando se terminaron las adiciones de la muestra comercial se realizaron adiciones de entre 10.0 μL y 20.0 μL de la disolución patrón de ácido rosmarínico, se burbujeó nitrógeno por 30 segundos entre cada adición y se trazó la curva de i/E de cada adición con la técnica diferencial de impulsos. Para la cuantificación del compuesto en los aceites se realizó una extracción líquido-líquido con etanol absoluto, tomando 3.0 mL de aceite, adicionando 3.0 mL de etanol y agitando vigorosamente, se esperó a la separación de las fases y se tomaron alícuotas de 5.0 μL y de 10.0 μL de la fase alcohólica para su análisis, posteriormente se adicionaron las alícuotas de disolución patrón y se trazaron las curvas i/E correspondientes a cada adición.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al realizar el barrido de potencial se obtuvieron señales de reducción en -1.68, -0.98 y -0.33 V, además de una señal de oxidación cercana a -0.06 V. Cada una de estas señales posee intensidades de corriente diferentes que aumentan de forma proporcional con las adiciones de disolución patrón de ácido rosmarínico. La señal en -0.06 V además de poseer una elevada correlación entre la corriente y la concentración, es la señal que muestra mayor sensibilidad y está mejor definida, por lo que resulta útil para la caracterización y la cuantificación del ácido rosmarínico en los extractos comerciales.

Se realizó un estudio logarítmico para verificar la idealidad del sistema electroquímico con la ecuación de Nernst y a su vez se aplicó el modelo de Tafel para evaluar su reversibilidad.

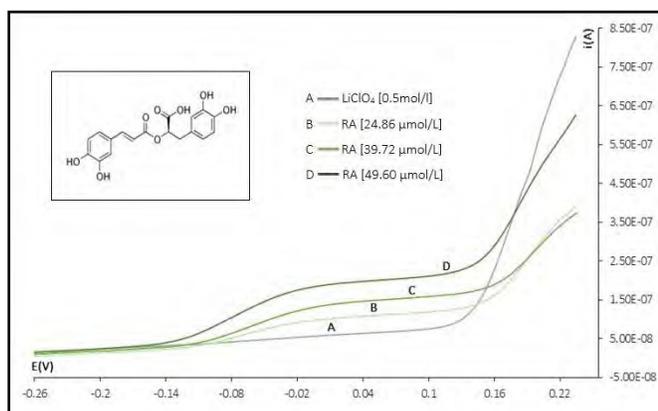


Figura 1. Curvas i/E para la señal de oxidación del ácido rosmarínico en -0.06 V con diferentes concentraciones; señal obtenida con la técnica de polarografía clásica, electrolito soporte: LiClO_4 [0.5 mol/L] en agua.

El valor de la ordenada al origen para el análisis logarítmico indica que la señal de oxidación posee un potencial de media onda $E_{1/2} = -0.0692$ V y, ya que el valor de la pendiente de la recta es muy cercano a 0.059 , se puede considerar que el número de electrones involucrados en la oxidación electroquímica (n) es de 1 , si se presenta comportamiento nernstiano, o mayor a 1 si no se presenta comportamiento nernstiano.

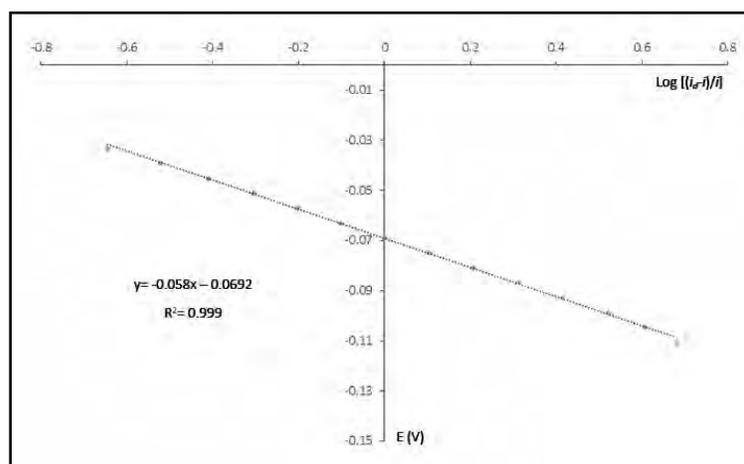


Figura 2. Análisis logarítmico de la señal de oxidación de ácido rosmarínico en LiClO_4 [0.5 mol/L]; señal en -0.06 V.

Los criterios importantes para evaluar la cinética de las reacciones electroquímicas son la corriente de intercambio (i_0) y el coeficiente de transferencia de carga (α). Para la señal de oxidación del ácido rosmarínico se obtiene un valor de corriente de intercambio de $i_0=1.04 \times 10^{-8}$ A, lo cual indica que el sistema no es rápido; de la misma manera se obtiene un valor de coeficiente de transferencia de carga $\alpha=0.21$, suponiendo que se intercambien 2 electrones, que indica la no reversibilidad del sistema, pues en los sistemas reversibles α posee valores cercanos a 0.5.

La técnica de polarografía diferencial de impulsos (PDI) posee mayor sensibilidad que la polarografía clásica, por esa razón, para determinar la dependencia de la corriente con respecto a la concentración del ácido rosmarínico, es decir, cuáles de las señales características del ácido rosmarínico corresponden a procesos electroquímicos regidos por la difusión, se graficaron los valores de corriente de pico (i_p) obtenidos por medio de la técnica de polarografía diferencial de impulsos en función de la concentración de ácido rosmarínico (C_{RA} [$\mu\text{mol/L}$]) en disolución, a partir de los cuales se realizó una regresión lineal por el método de mínimos cuadrados.

En la figura 3 se puede observar un aumento proporcional de la intensidad de corriente con la concentración de rosmarínico al potencial de pico correspondiente a su señal de oxidación. En la figura 4, se observa que existe una elevada correlación entre el valor de la corriente y la concentración del ácido, lo que vuelve útil esta señal para la identificación y cuantificación en las muestras comerciales; como ya se ha mencionado, se utilizó la señal de oxidación debido a la sensibilidad, la cual tiene un potencial de pico en -0.03V .

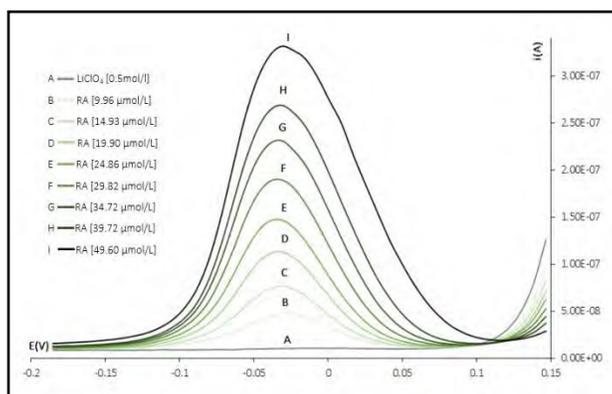


Figura 3. Curvas i/E de diferentes concentraciones de ácido rosmarínico en LiClO_4 [0.5 mol/L]; señales obtenidas con el método diferencial (PDI). Potencial de pico -0.03V .

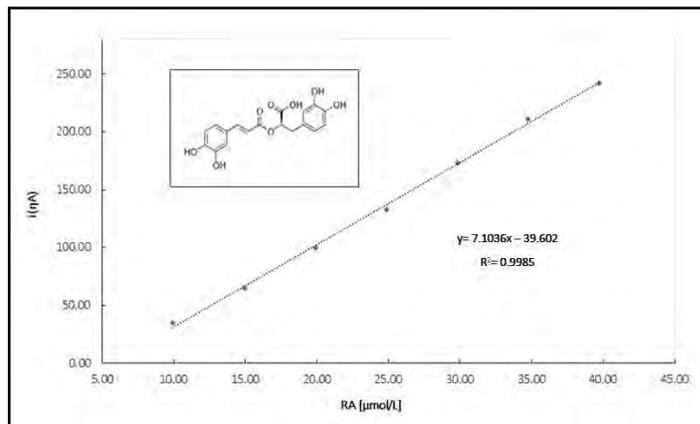


Figura 4. Curvas de calibración para la señal de oxidación de ácido rosmarínico en LiClO₄ [0.5 mol/L]; señal obtenida en el potencial de pico de -0.03 V.

Para el cálculo del límite de detección (LDD) y el límite de cuantificación (LDC) es necesario evaluar la corriente calculada (i_c), así como obtener la desviación estándar de

la recta (s/c):
$$i_c = m(C_{RA}) + b ; \quad s_{i/c} = \sqrt{\frac{\sum(i_e - i_c)^2}{n-2}} ; \quad LDD = \frac{3s_{i/c}}{m} ; \quad LDC = \frac{10s_{i/c}}{m}$$

Con los datos experimentales obtenidos y presentados en las figuras 3 y 4, se encontraron que LDD es de $2.2 \cdot 10^{-6}$ mol/L (0.80 ppm); LDC: $7.3 \cdot 10^{-6}$ mol/L (2.7 ppm).

Cuantificación de ácido rosmarínico en extractos comerciales

Para la cuantificación del ácido en los productos comerciales se contó con dos destilados de romero y con dos aceites de romero de distintas marcas; cabe mencionar que las señales características del ácido rosmarínico se observaron al realizar los barridos de potencial, pero para fines prácticos sólo se muestran los puntos utilizados para la cuantificación.

En el polarograma de la figura 5 se muestra una señal debida a una oxidación, característica del ácido rosmarínico, que va aumentando conforme se agrega destilado de romero y que continúa aumentando al agregar disolución patrón, lo que significa que este destilado sí contiene el compuesto de interés. Cabe mencionar que las demás señales características también fueron observadas en los potenciales respectivos, pero para fines prácticos solo se muestra la señal utilizada para la cuantificación.

En la figura 6 se observa el aumento de la corriente en el potencial característico del ácido rosmarínico correspondiente a la oxidación del compuesto; en este caso, el polarograma es de un aceite de romero. Para la cuantificación del ácido rosmarínico en las dos muestras de aceites de romero comerciales se tomó el valor de corriente de pico (i_p) obtenida de la última adición del producto y se comparó con la i_p de la última adición de disolución patrón de acuerdo con lo siguiente:

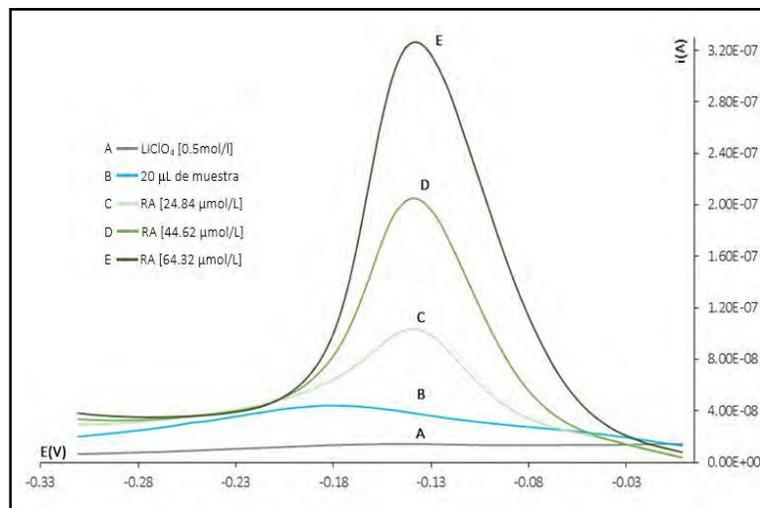


Figura 5. Curvas i/E de destilado de romero y de diferentes adiciones de ácido rosmarínico en LiClO_4 [0.5 mol/L]; señales obtenidas con la técnica diferencial de impulsos en el potencial de -0.13 V.

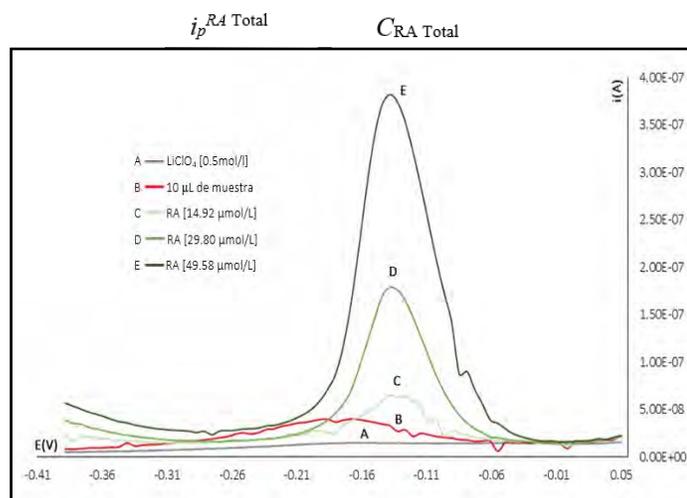


Figura 6. Curvas i/E de aceite de romero (muestra 2) y de diferentes adiciones de ácido rosmarínico en LiClO_4 [0.5 mol/L]; señales obtenidas con la técnica diferencial de impulsos en el potencial de -0.13 V.

Los resultados obtenidos en la cuantificación del ácido rosmarínico en las diferentes muestras (destilados y aceites) se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Contenido de ácido rosmarínico determinadas en muestras diversas por polarografía diferencial de impulsos.

Producto	Conc. (mol/L)	Conc. (g/L)
Destilado de romero 1	-----	-----
Destilado de romero 2	1.64×10^{-2}	5.90
Aceite de romero 1	7.03×10^{-3}	2.53
Aceite de romero 2	3.35×10^{-3}	1.20

CONCLUSIONES

Se desarrolló un método electroquímico para la caracterización y cuantificación del ácido rosmarínico mediante polarografía, con un límite de detección de 0.80 ppm y un límite de cuantificación de 2.66 ppm para la señal de oxidación en -0.03 V. Se cuantificó este compuesto en tres productos comerciales, observando que la concentración del ácido es mayor en el destilado que en los aceites de romero. En el cuarto producto no se logró observar alguna señal característica del compuesto de interés, lo cual indica que el producto no tiene ácido rosmarínico o en su defecto, la cantidad de compuesto es menor de lo que el límite de detección permite observar. El aporte global de este estudio está dado por la aplicación de un sistema analítico que permita la mejora de la calidad de los derivados de productos naturales disponibles actualmente, además del aporte fundamental sobre el comportamiento químico que tiene el ácido rosmarínico en este medio, lo cual puede resultar importante en caso de que exista el interés en ampliar el estudio sobre este compuesto.

REFERENCIAS

- [1] A.L. Budantsev, E. Lesiovskaya, E. Rosmarinic acid: sources and biological activity **48** 453-468 (2012).
- [2] R. Bhatt, N. Mishra & P. Bansal. Phytochemical, pharmacological and pharmacokinetics effects of rosmarinic acid. **2** (2013).
- [3] M.G. Sánchez-Dirzo. Estudio químico, botánico y actividad antibacteriana de dos cultivares de *Rosmarinus officinalis* L. UNAM-Facultad de Ciencias. México. (2000).

CUANTIFICACIÓN DE METALES EN SUELO PARA CULTIVO DE *Allium sativum* L

Betsabé Trinidad Bonilla
Edith Madaí Colunga Urbina
Miguel Velázquez Manzanares
Judith Amador Hernández
Iliana Margarita de la Garza Rodríguez¹

INTRODUCCIÓN

En México, es necesario contar con diversas estrategias para optimizar y aprovechar de manera eficiente los recursos naturales como el agua, nutrientes del suelo y la luz del sol para aumentar los rendimientos para el cultivo de *Allium sativum* L. Algunos productores realizan los cultivos a menor escala, donde pueden cubrir las necesidades de las zonas locales, los principales estados productores de *Allium sativum* L. en México son: Aguascalientes, Baja California, Chihuahua, Guanajuato, Puebla, Sonora y Zacatecas [1,2]. Para mejorar el suelo del área de cultivo y obtener un mejor producto en la cosechas, es necesario realizar una evaluación del suelo para mantenerlo fértil, debido a la limitada capacidad que poseen las raíces de *Allium sativum* L. para absorber nutrientes del suelo. [2,3].



Figura 1. Cultivo de *Allium sativum* L.

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica., Blvd. Venustiano Carranza y Cárdenas Valdez S/N, Col. República Oriente, Saltillo, Coahuila. CP: 25280, Tel: (844)4159534 ext. 112 E-mail: betsyb2009@hotmail.com, iligarza4@hotmail.com*

En la región entre Saltillo y Monterrey, se encuentra una región árida (La Candelaria, N.L.), donde los suelos contienen concentraciones significativas de carbonato de calcio y, de acuerdo a INEGI, la mayor parte de los suelos son xerosoles y calcisoles, ya que son calcáreos y de textura franco arenosos, es de suma importancia que los suelos tengan un buen drenaje debido a que los suelos con texturas pesadas no permiten el crecimiento adecuado del bulbo y provocan una deformación en el mismo. Estos suelos no son muy recomendables para llevar a cabo el cultivo, pero cuando son tratados con fertilizantes son altamente productivos [4,5]. Los suelos contienen de manera natural, la mayoría de los elementos esenciales para el crecimiento y desarrollo de *Allium sativum L.*, (Ca, Mg, Fe, Cu, Mn, Co, Zn, Na, K, etc.), sin embargo, las cantidades son insuficientes, por lo que es necesario la adición de dichos nutrientes para obtener cosechas de calidad.

Dependiendo de la fertilización se van a obtener rendimientos satisfactorios, pero para que este proceso se lleve a cabo, es indispensable balancear la dosis de fertilización, de macroelementos y microelementos, por ejemplo: de nitrógeno, con un intervalo en la concentración de 240 a 400 ppm en forma nítrica, (necesario para el crecimiento de hojas), fósforo, con un intervalo en la concentración de 12 a 24 ppm en forma de P_2O_5 , (forma parte de los ácidos nucleicos), potasio, con un intervalo en la concentración de 135 a 296 ppm en forma de K_2O , (periodo de bulbificación), azufre (crecimiento de las raíces en zonas áridas) [6,7]. El cultivo de *Allium sativum L.* puede obtener una respuesta favorable o desfavorable al tratamiento con fertilizantes, ya que es una planta sensible a las deficiencias, así como a los excesos de nutrientes. Una vez que es cultivada, se tiene que esperar un lapso de alrededor de 6 meses para su cosecha, la temporada de cultivo depende en gran medida de la latitud del lugar, el cultivo se establece entre los meses de septiembre a noviembre y es cosechado durante la primavera del siguiente año [8].

El objetivo de este trabajo fue realizar la cuantificación de metales presentes en un suelo utilizado para el cultivo de *Allium sativum L.*, mediante espectrofotometría de absorción atómica.

Tabla 1. Parámetros Instrumentales utilizados en la cuantificación de los metales analizados

Metal	Longitud de onda (nm)	Anchura de Rendija (nm)	Flujo Aire/Acetileno (L/min)	Flujo Óxido nítrico/Acetileno (L/min)	Corriente de lámpara (mA)
Mn	279.5	0.2	12.93/2.03		10
Zn	213.9	1	13.50/2.00		3
Pb	217	1	13.58/2.07		10
Cr	357.9	0.2	13.33/3.04		6
Cu	324.8	0.5	13.78/2.43		4
Ni	232	0.2	14.03/2.25		10
Cd	228.8	0.5	13.88/2.29		4
Al	309.3	0.5		6.82/10.43	10
Na	589	0.5	13.88/2.29		5
K	766.5	1	13.43/2.21		5
Fe	248.3	0.2	13.5/2.54		6
Mg	285.2	0.5	13.23/1.82		4
Ca	422.7	0.5		10.93/6.33	10

EXPERIMENTACIÓN

El punto de muestreo se localiza a una altitud de 1014m, latitud N 25°40'40.149" N longitud 100°42'23.775" W en La Candelaria, García, Nuevo León.

Se recolectaron 2 kg de suelo, se transportaron al laboratorio y se extendió en papel de estraza y se procedió a separar las rocas y material vegetal, se dejó secar a temperatura ambiente, después se llevó a la estufa durante una hora a 100°C, se realizaron cuarteos para tener la muestra homogenizada y finalmente se pesaron 500 g de suelo, se colocaron en un vaso de precipitado y se procedió a añadir agua desionizada hasta obtener una pasta saturada, se cubrió con papel de estraza y se dejó reposar durante 24 horas evitando la luz.

Para la extracción del lixiviado se utilizó una bomba de vacío y se llevó a analizar al Espectrofotómetro de Absorción Atómica para la cuantificación de metales presentes en el extracto.

Previo a la cuantificación de los metales se realizó la curva de calibrado utilizando cinco estándares para cada metal analizado, estos estándares se obtienen de un estándar certificado de 1000 mg/L, en la tabla 1 se presentan los parámetros instrumentales utilizados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 2 se presentan los parámetros analíticos que se obtuvieron de cada metal analizado.

Tabla 2. Parámetros analíticos obtenidos de cada metal analizado

metal	intervalo de trabajo (mg/L)	m	b	R ²	LD	LC
Mn	0.5-2.5	0.1506	0.0297	0.9982	0.0024	0.0081
Zn	0.25-1.25	0.0694	0.0329	0.9976	0.0007	0.0022
Pb	0.5-2	0.0133	0.0076	0.9991	0.0087	0.0290
Cr	0.5-2.5	0.0327	0.0216	0.9995	0.007	0.0233
Cu	0.2-1	0.0274	0.0002	0.9997	0.0023	0.0077
Ni	0.3-1.5	0.0239	0.0031	0.9998	0.0272	0.0905
Cd	0.2-1	0.0649	0.0156	0.9999	0.0014	0.0048
Al	2.0-10.0	0.0844	0.0257	0.9985	0.0988	0.3290
Na	0.4-1.2	0.5581	0.1140	0.9993	0.0003	0.0011
K	0.3-1.5	0.6159	0.0671	0.9997	0.0008	0.0027
Fe	1.0-5.0	0.0661	0.0028	0.9961	0.0048	0.0159
Mg	0.5-3.0	1.0023	0.0448	0.9939	0.0002	0.0008

En la figura 2 y 3 se presentan los porcentajes de los metales presentes en el suelo para cultivo de *Allium sativum L.* La concentración total de metales presentes en el lixiviado es de 19.99 mg/Kg el 99.95% de esa concentración se debe a los metales mayoritarios, mientras que los oligoelementos solo representan el 0.05%.

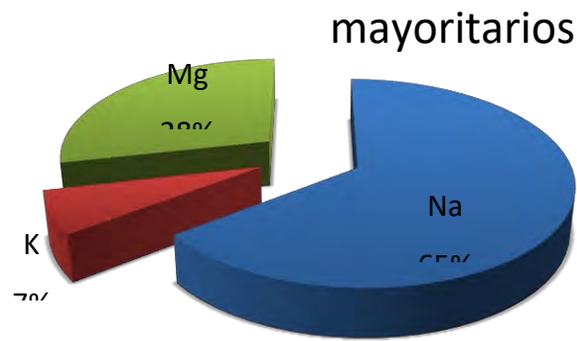


Figura 2. Metales presentes en el suelo con mayor concentración.

Al observar los resultados de los metales con mayor concentración en el suelo, analizados no es de extrañar la presencia de magnesio y de potasio ya que son dos de los metales esenciales para el desarrollo de las plantas. El magnesio es necesario para la síntesis de carbohidratos, grasas vitaminas y proteínas de la planta [8], mientras que el potasio le aporta la turgencia generando una presión osmótica favorable para que el agua entre a las células además de activar diversos sistemas enzimáticos [9], sin embargo, la concentración de sodio son muy elevadas, pero se conoce que *Allium sativum L.* tolera esas concentraciones de salinidad [10] y permite que disminuya la concentración de potasio sin observar cambios en las concentraciones de Mn, Cu, Zn y Fe [11].

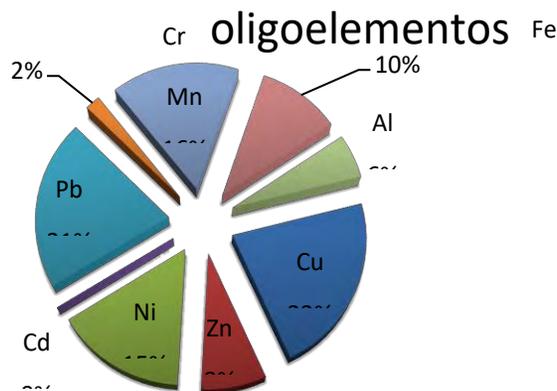


Figura 3. Metales presentes en el suelo con menor concentración.

CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos se pudo concluir que a pesar de la salinidad del suelo se observó un crecimiento normal de *Allium sativum L.*, en la Figura 1 se presenta el producto recolectado a 20 días de la cosecha. Sin embargo, este trabajo es complementario a una serie de análisis de suelo que se realizarán después de la cosecha de *Allium sativum L.*

REFERENCIAS

- [1] E. Zamora. El Cultivo De Ajo. Hermosillo-Sonora. México. (2016).
- [2] M. Reveles-Hernández, R. Velásquez-Valle, A.G. Bravo-Lozano. Tecnología Para Cultivar Ajo En Zacatecas. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias **11**, 40-45. Calera-Zacatecas. México (2009)
- [3] H. Mujica. Crecimiento, Desarrollo, Producción y Calidad del Ajo (*Allium sativum L.*) en Respuesta a la Densidad de Siembra y la Nutrición Potásica. Macaray. Venezuela 14- 23 (2012)
- [4] P. Krasilnikov, M. Gutiérrez-Castorena, R. Arens, C. Cruz-Gaistardo, S. Sedov. Soils of Mexico. *World Soils Book Series*. **32**, 55-77, 115-117. Madison. USA. (2013)
- [5] M. García. INEGI. Guías para la Interpretación de Cartografía Edafología. 11-24. Aguascalientes-Aguascalientes. México (2004)
- [6] A. Alijaro, H. Monardes, C. Urbina, A. Marín, E. Muñoz. Manual de Cultivo de Ajo (*Allium sativum L.*) y Cebolla (*Allium cepa L.*). 10-18. Chile. (2009)
- [7] M. Andrades, M.A. Martínez. Fertilidad del Suelo y Parámetros que la Definen Universidad de la Rioja **3**, 17-24 (2014).
- [8] J. Burba. Producción de Ajo. Mendoza. Argentina. 6-11 (2003).
- [9] G. Alcántar, L. Trejo-Téllez, P. Fernández, M. Rodríguez. Elementos esenciales. Nutrición de cultivos. Colegio de Postgraduados-Mundi Prensa. México 7-48 (2007)
- [10] J.R.D. Amorim, P.D. Fernandes, H.R. Gheyi, N.C. Deazevedo. Effect of irrigation water salinity and its mode of application on garlic growth and production. *A Pesquisa Agropecuaria Brasileira* **37**, 167-176 (2002)
- [11] S. Siddiqui, K. Gupta, A. Yadav, J.L. Mangal. Soil salinity effect on soluble saccharides, phenol, fatty acid and mineral contents, and respiration rate of garlic cultivars. *Biologia Plantarum* **38**, 611-615 (1996).

DIFERENCIACIÓN ENTRE TEQUILAS AUTÉNTICOS Y DESTILADOS DE AGAVE POR TÉCNICAS NO SUPERVISADAS DE CLASIFICACIÓN

Hugo Jiménez Falcón¹
Víctor Zúñiga Arroyo¹
Guadalupe Pérez Caballero¹
José Manuel Andrade Garda²

INTRODUCCIÓN

En México se reconocen aproximadamente 200 especies de agave, por lo que los destilados de agave forman parte de la historia y tradiciones del país. Las Denominaciones de Origen y las Normas Oficiales Mexicanas son herramientas fundamentales que permiten regular su elaboración para mantener su calidad. El tequila y el mezcal son regulados por NOM-006-SCFI-2005 [1] y por NOM 070-SCFI-2016 [2], respectivamente. El Consejo Regulador del Tequila (CRT), fue creado en 1993 para certificar la calidad y autenticidad del Tequila, y así evitar su falsificación.

Los destilados sometidos a normativa son tequila, mezcal, bacanora, sotol y charanda. El tequila es elaborado íntegramente a partir de *Agave Tequilana weber* variedad Azul (Tequila 100% agave) aunque el tequila comercial pudiera contener hasta 49% de azúcares de procedencia distinta al agave (tequila mixto). El bacanora elaborado de mostos de *Agave angustifolia* Haw. El sotol de la planta del sotol. La charanda es obtenida de mostos fermentados de jugo de caña o de sus derivados.

Asimismo, también existen en el mercado otro grupo de bebidas denominados simplemente destilados de agave que pueden provenir de una o más variedades de agave los cuales son comúnmente ofertados a precios más bajos. Sin embargo, en muchos casos su origen es dudoso

¹ Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Laboratorio de Físicoquímica Analítica y Especiación Química. Unidad de Investigación Multidisciplinaria., Campo 4. Cuautitlán Izcalli, 54700, Estado de México.
Correo: perezcg@unam.mx

² Universidad de Coruña, Grupo de Química Analítica Aplicada (QANAP), Campus da Zapateira, 15071, A Coruña, España.
Correo: andrade@udc.es

y por tanto su calidad, ya que específicamente no están regulados por ninguna norma, ni organismo. También, existen los llamados “licores de agave” pueden ser adicionados de azúcares y concentrados de sabores y están regulados por la norma NOM-199-SFCI-2017 [3]. Debido a que estos dos últimos tipos de bebidas presentan un comportamiento similar, para este estudio serán considerados como un sólo grupo al que nos referiremos como “destilados de agave”.

En el presente trabajo se plantea un modelo quimiométrico capaz de diferenciar entre tequilas y destilados de agave por métodos no supervisados, como son Análisis de Componentes Principales (PCA) y Análisis Clúster (CA).

EXPERIMENTACIÓN

Muestras utilizadas: se utilizaron 132 muestras: 30 tequilas blancos, 31 tequilas añejos y extra-añejos, 40 tequilas reposados y 31 muestras etiquetadas por el CRT como “destilados de agave” (20 destilados y 11 licores de agave). Asimismo, los tequilas añejos y extra-añejos son considerados como una sola clase que se denominó como tequilas añejos. Todas las muestras fueron proporcionadas por el CRT.

Equipo utilizado: Se utilizó un espectrómetro FT-IR marca Perkin-Elmer, modelo Frontier equipado con un accesorio U-ATR de diamante de una sola reflexión.

Software: Los modelos fueron construidos empleando PCA y CA con el software GenEx© (MultiDAnalysis AB, Göteborg, Suecia).

Obtención de los espectros:

Los espectros FT-M IR de las muestras se midieron directamente en el ATR, en el intervalo de 4000 a 450 cm^{-1} , con 16 barridos y con una resolución nominal de 4 cm^{-1} .

Pretratamiento de las lecturas:

Los espectros obtenidos en transmitancia, se transformaron a absorbancia, se realizó la corrección ATR y la corrección manual de línea base. A los espectros con el pretratamiento mencionado se les denominó “espectros brutos”.

La Figura 1 presenta el conjunto de estos espectros en el intervalo 4000-450 cm^{-1} . En esta figura se destaca, en color amarillo, el grupo de “destilados de agave” el cual parece diferente del resto de los tequilas, especialmente en el intervalo 3000 a 3500 cm^{-1} . En esta región se aprecia una banda ancha correspondiente al grupo O-H del etanol y agua, cuya intensidad aumenta a medida que la proporción de etanol disminuye. Los estándares etanol-agua confirman lo anterior. Los destilados de agave suelen contener menos contenido alcohólico que los tequilas.

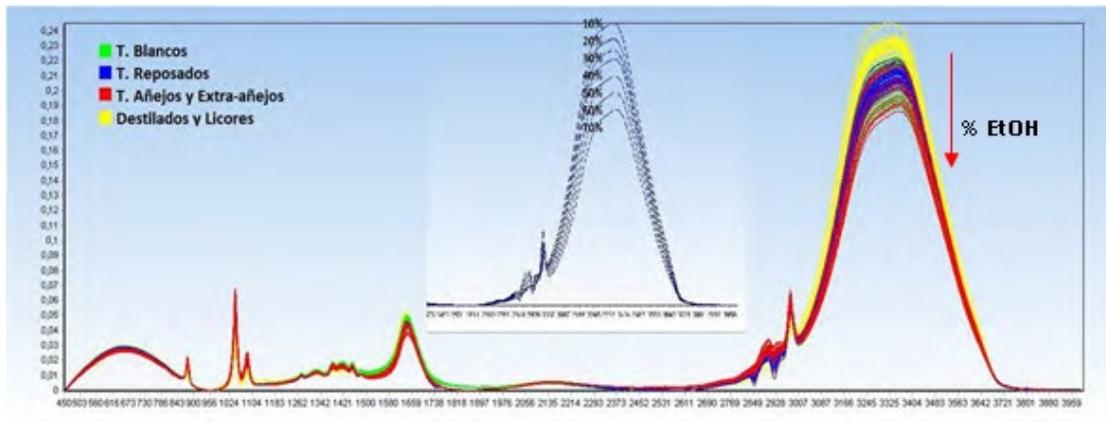


Figura 1. Espectros brutos de las 132 muestras en el intervalo 4000-450 cm^{-1} comparados con estándares Etanol-Agua en diferentes proporciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 2 se pueden apreciar los intervalos de número de onda utilizados para la construcción de los modelos PCA y CA. El intervalo 2200-2300 cm^{-1} fue el utilizado para el PCA y los intervalos 1200-1600 y 2600-2800 cm^{-1} para CA.

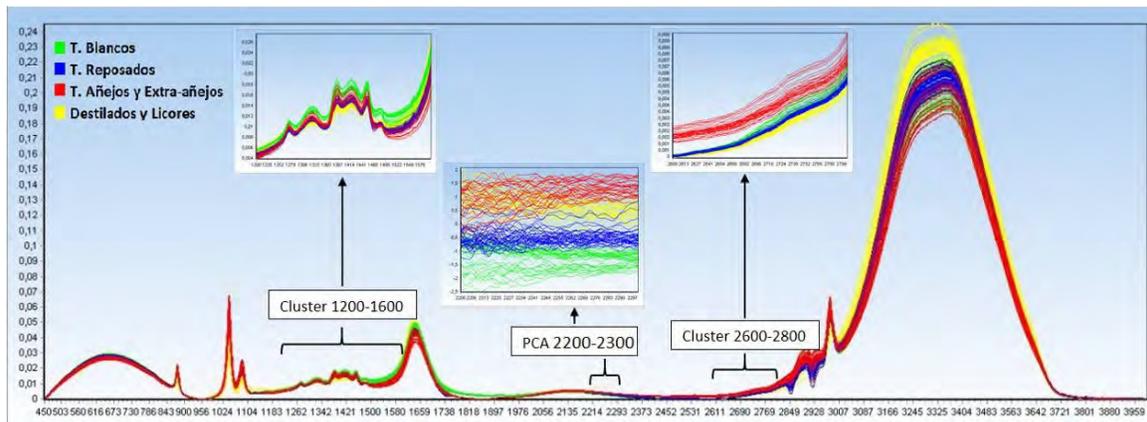


Figura 2. Intervalos de los números de onda utilizados para la construcción de los modelos en

PCA y CA.

Análisis de componentes principales (PCA)

Las Figuras 3 y 4 muestra la formación de tres grupos correspondientes a las distintas clases de tequila (blancos, reposados y añejos-extra añejos) y un grupo conformado por los “destilados de agave”. Este modelo se obtuvo en el intervalo 2200-2300 cm^{-1} , sin ningún escalado. La varianza acumulada de los tres primeros componentes es de 99.9843%, de la cual: PC1: 99.8432%, PC2: 0.1384% y PC3: 0.0027%. Se puede observar que PC1 permite la separación a destilados de agave de reposados y blancos, en tanto que PC2 esencialmente los separa de los añejos y blancos.

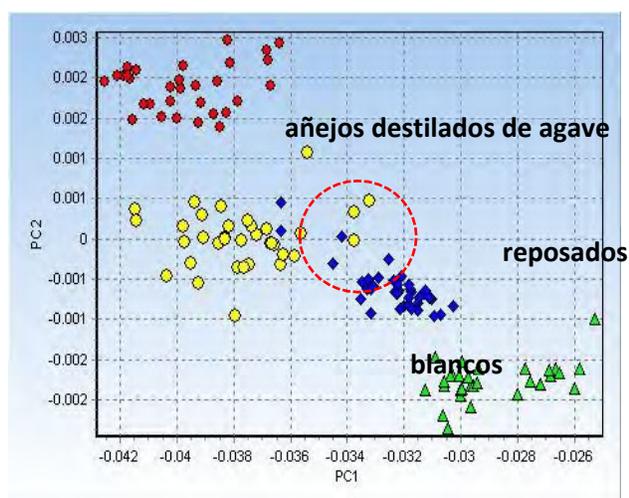


Figura 3. Gráfica de scores en el subespacio PC1-PC2 para datos brutos de tequilas, sin escalado, intervalo de 2200-2300 cm^{-1} .

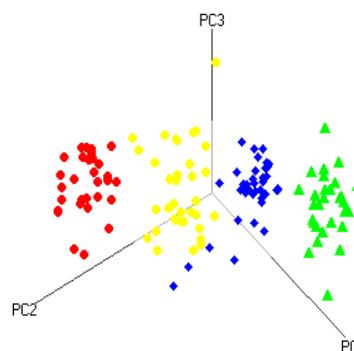


Figura 4. Gráfica de scores en el subespacio PC1-PC2-PC3 para datos brutos de tequilas, sin escalado, intervalo de 2200-2300 cm^{-1} .

No obstante existe una zona intermedia (señalada por un círculo en la Figura 3) donde coexisten algunos destilados de agave y tequilas reposados, los cuales probablemente posean un origen similar. Lo que este modelo puso en evidencia es que los llamados “destilados de agave” son diferentes a los tequilas y que los destilados y los licores de agave tienen un comportamiento similar

Por otra parte, se pudo constatar –aunque no era el objetivo–, que este modelo también fue capaz de discriminar entre las clases; tanto PC1 como PC2 influyen en la separación de las diferentes clases de tequila (blancos, reposados y añejos).

Análisis Cluster (CA)

En la figura 5 se presenta un dendograma construido con algoritmo Ward y distancia Euclidiana al cuadrado, sin escalado, en el intervalo de 1200-1600, 2600-2800 cm^{-1} . Este dendograma se encuentra dividido en los conglomerados 1 y 2. El grupo 1 se divide en los subgrupos, el 1a contiene a los “destilados de agave” y a los tequilas reposados y el subgrupo 1b agrupa a los tequilas añejos. El conjunto 2 agrupa a los tequilas blancos.

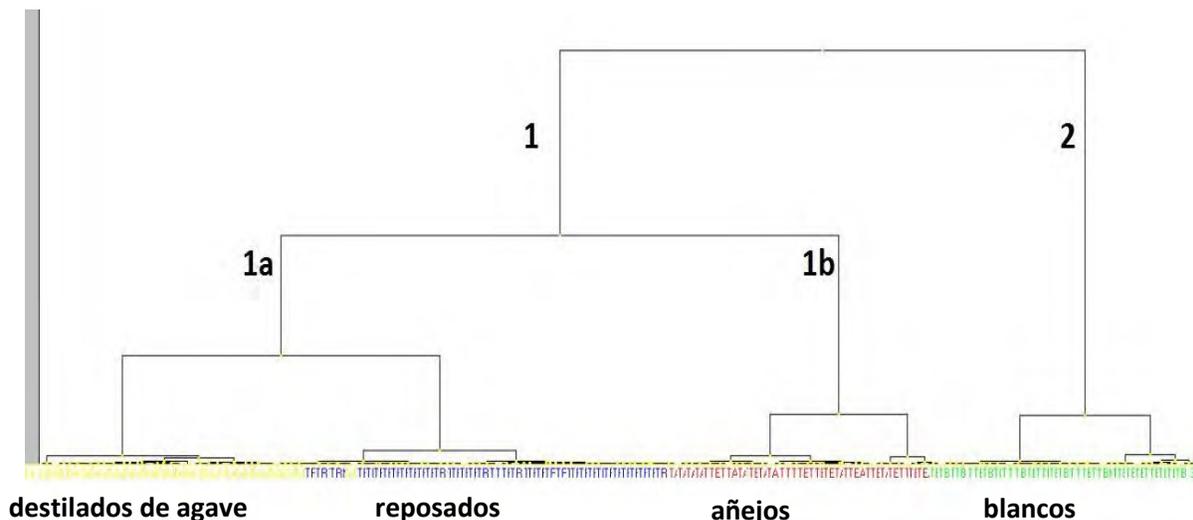


Figura 5. Dendrograma algoritmo Ward y distancia Euclidiana al cuadrado, sin escalado en el intervalo de 1200-1600 y 2600-2800 cm^{-1} .

CONCLUSIONES

- Se logró la diferenciación de “destilados de agave” y tequilas mediante la construcción de dos modelos empleando técnicas de clasificación no supervisadas, PCA y CA.
- El modelo de PCA se obtuvo en el intervalo de 2200-2300 cm^{-1} , sin ningún escalado.
- El modelo de CA se obtuvo en los intervalos de 1200-1600 y 2600-2800 cm^{-1} ., sin ningún escalado.
- Se evidenció que existen “destilados de agave” que comparten similitudes con algunos tequilas (de tipo reposado). Queda por realizar un estudio acerca de la composición de estas muestras.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al ‘Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT)-UNAM’ (Clave. IT200918) por el apoyo para realizar el presente trabajo.

Se extiende un amplio agradecimiento al Consejo Regulador del Tequila por el suministro de las muestras de tequilas, lo cual hizo posible la realización del presente trabajo.

El Grupo QANAP (Química Analítica Aplicada) agradece a la Xunta de Galicia la Financiación como Grupo de Referencia Competitivo (Ref: . ED431C 2017/28).

REFERENCIAS

- [1] Norma Oficial Mexicana NOM-006-SCFI-2005. Bebidas alcohólicas-Tequila- Especificaciones.
- [2] Norma Oficial Mexicana NOM-070-SCFI-2016. Bebidas alcohólicas-Mezcal-Especificaciones.
- [3] Norma Oficial Mexicana NOM-199-SCFI-2017. Bebidas alcohólicas-Denominación, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.

EVALUACIÓN DE *Flourensia cernua* DC COMO BIOABSORBENTE NATURAL DE METALES PESADOS

Irving Adrian González Lara*
Nallely Guadalupe Hernández Hernández*
Edith Colunga Urbina
Judith Amador Hernández
Miguel Velázquez Manzanares
Iliana Margarita de la Garza Rodríguez^{1*}

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha puesto más atención a la contaminación ambiental debido a actividad antropogénica. Las actividad industrial como la minería, industria del cemento, colorantes, curtiduría, galvanoplastia, producción de acero, material fotográfico, pinturas corrosivas, producción de energía, fabricación de textiles, conservación de la madera, anodizado de aluminio, combustión del nafta descargan al ambiente plomo, mercurio, cadmio, níquel, cobre, hierro y cromo en forma de partículas, son elementos dañinos para la mayoría de formas de vida. Sin embargo, las aguas residuales que no son tratadas, se vierten en ríos o se filtran al suelo y así contaminando los mantos acuíferos. Los contaminantes como los metales pesados pueden acumularse y aglomerarse con el tiempo al ser descargados en los diferentes compartimientos de la tierra (hidrósfera, geosfera o atmósfera). A los metales pesados los podemos encontrar en la corteza terrestre, no pueden ser degradados o destruidos.

Los metales pesados al ser depositados en el ambiente contaminan el suelo, se acumulan en las plantas y en los tejidos orgánicos. Una vez bioacumulados pueden permanecer durante cientos de años y entrara a la cadena alimenticia del hombre provocando diversas enfermedades en los seres humanos [1].

La Organización Mundial de la Salud (OMS), estableció que la máxima concentración de iones de metales pesados en el agua debe estar en un rango de 0.01-1 ppm [2] y a pesar de eso,

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica Ambiental, Blvd. Venustiano Carranza S/N, 25280 Saltillo, Coahuila México. Tel (844) 4155392 y 4169213. E-mail: Irving.gonzalez@uadec.du.mx, nallelyhernandezher@uadec.edu.mx, iligarza4@hotmail.com*

en la actualidad se reportan concentraciones de iones de metales pesados hasta de 450 ppm en los efluentes.

Dentro de las técnicas de remediación ambiental contamos con la fitorremediación, la cual utiliza plantas para remover, transferir, estabilizar, concentrar y/o destruir contaminantes (orgánicos e inorgánicos) en suelos, lodos y sedimentos. La fitorremediación puede aplicarse eficientemente para tratar suelos contaminados con compuestos orgánicos como benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos (BTEX); solventes clorados; HAPs; desechos de nitrotolueno; agroquímicos clorados y organofosforados; además de compuestos inorgánicos como Cd, Cr (VI), Co, Cu, Pb, Ni, Se y Zn [3]. Se ha demostrado también su eficiencia en la remoción de metales radioactivos y tóxicos de suelos y agua [2]. Algunas plantas presentan mecanismos que toleran altas concentraciones de metales pesados y en otros casos las plantas se pueden utilizar como bioabsorbentes de contaminantes [4].

Dentro de la gran variedad de plantas que existe hay una en particular, la cual se encuentra en las zonas desérticas del norte de México y sur de Estados Unidos y se utiliza en forma de infusión para el tratamiento de diversas enfermedades gastrointestinales tales como dolor de estómago, diarrea, disentería y purgante. *Flourensia cernua* DC o mejor conocida como el hojásén [5] (figura 1), esta especie además de los beneficios medicinales con los que cuenta tiene una gran cantidad de metabolitos como: polifenoles, lactonas, benzofuranos, y compuestos de benzopiranos, los cuales se han utilizado para aplicaciones biológicas, medicas, y ecológicas ya que se emplean en la calidad y estabilidad de los alimentos, además ayuda a controlar hongos y bacterias [6,7].



Figura 1. Ilustración de hoja de *Flourensia cernua* DC

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad de *Flourensia cernua DC* (hoja seca y fresca) como adsorbente natural de plomo y níquel en agua mediante la detección con un espectrofotómetro de absorción atómica con flama (EAAF).

EXPERIMENTACIÓN

Flourensia cernua DC fue recolectada en el en Ejido La Cuchilla, Municipio de Saltillo, Coahuila, México, este se encuentra localizado en una altitud de 1761 m, latitud 24.8289751 y longitud -101.1570655, las hojas secas fueron recolectadas y almacenadas en frasco de vidrio durante un año y las hojas frescas se recolectaron el 4 de febrero del presente año

Pre tratamiento de Flourensia cernua DC

Se llevó a cabo la defoliación de las plantas secas y frescas, se llevaron a un procesador de alimentos para su molienda, se utilizo el tamaño de partícula de 1x1 mm y la hoja entera.

Se realizó un diseño factorial 2^4 donde se estudiaron tres variables con cuatro puntos centrales y se obtuvieron 19 experimentos para cada planta. En la tabla 1 se presentan las variables estudiadas.

Tabla 1. Variables estudiadas con el nivel bajo y alto utilizados

Variable	Nivel bajo	Nivel alto
g de muestra	0.2 g	0.6 g
tamaño de partícula	1x1 mm	Hoja entera
Volumen (agua contaminada)	1 mL	3 mL
tiempo de agitación	1 min	5 min

Se utilizó una muestra acuosa sintética con 1 mg/L de plomo y níquel

Procedimiento general

Se pesan los gramos de la planta según su tamaño y de acuerdo al tratamiento en vasos de precipitado de 100 mL, se añade el volumen correspondiente de la muestra de agua contaminada con los metales se coloca un agitador magnético y se llevan a las parrillas de agitación a una

agitación constante en todos los tratamientos a 250 rpm.

Después de la agitación, se filtra y se afora a 25 mL con agua desionizada, y se lleva a su lectura en el EAAF modelo AA 240FS de VARIAN. Previo a la cuantificación de los metales se realizaron las curvas de calibrado correspondientes utilizando cinco estándares que se obtuvieron a partir de estándares certificado de 1000 mg/L de plomo y níquel.

Con los resultados obtenidos se realizó el ANOVA utilizando el software StatagracPlus 5.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las figuras 2-5 se presentan los diagramas de Pareto obtenidos den ANOVA de cada uno de los metales.

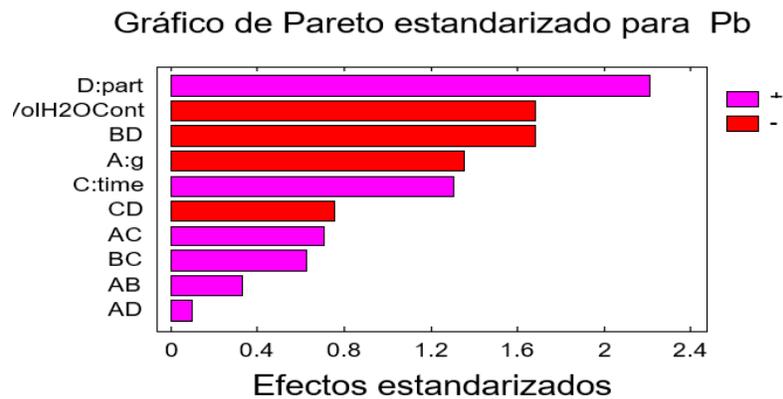


Figura 2. Gráfico de Pareto del Pb hoja seca de *Flourensia cernua* DC

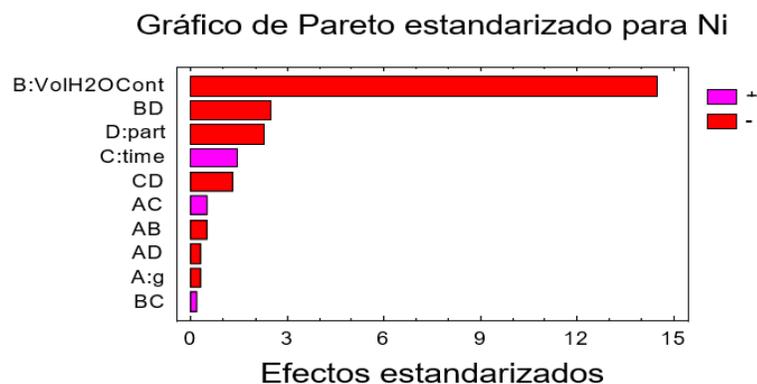


Figura 3. Gráfico de Pareto del Ni hoja seca de *Flourensia cernua* DC

Gráfico de Pareto estandarizado para Pb

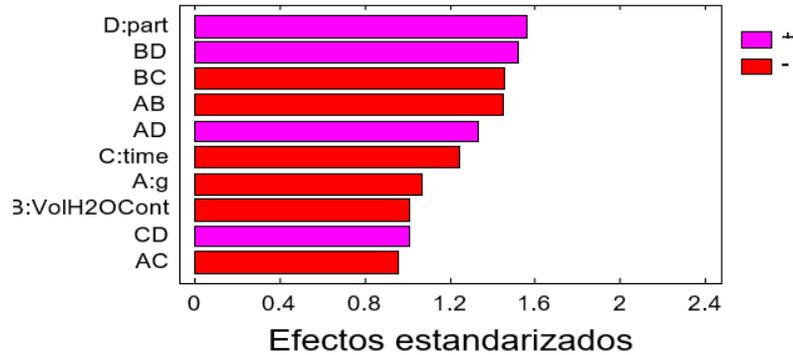


Figura 4. Gráfico de Pareto del Pb hoja fresca de *Flourensia cernua DC*

Gráfico de Pareto estandarizado para Ni

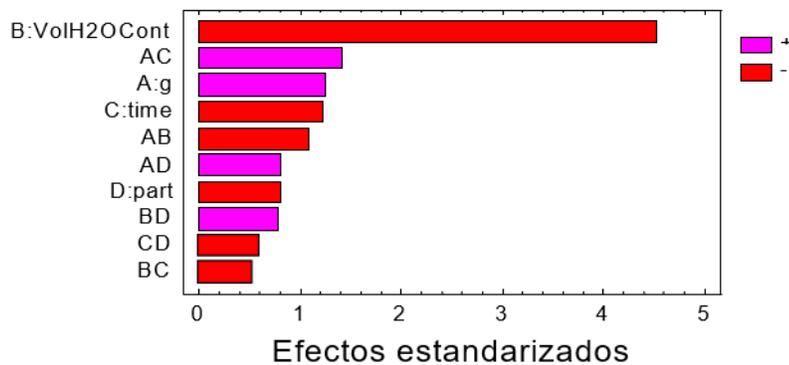


Figura 5. Gráfico de Pareto del Ni hoja fresca de *Flourensia cernua DC*

Los resultados que nos muestran los diagramas de Pareto nos permiten obtener las condiciones óptimas de las variables estudiadas para obtener el máximo de remoción de Ni y Pb. En la tabla 2 se presentan las condiciones óptimas para cada tipo de *Flourensia cernua DC* estudiado.

Para obtener la máxima remoción de Pb utilizando *Flourensia cernua DC* fresca es necesario utilizar 0.2 g de hojas enteras de *Flourensia cernua DC* fresca durante 1 minuto en 1 mL

de volumen. Mientras que al utilizar *Flourensia cernua DC* seca se mantiene constante 0.2 g de hojas enteras de *Flourensia cernua DC* seca y cambia el tiempo de agitación en 3 mL de volumen de agua contaminada.

Para obtener la máxima remoción de Ni utilizando *Flourensia cernua DC* fresca es necesario utilizar 0.6 g de *Flourensia cernua DC* con el menor tamaño y en 1 minuto, pero es necesario seguir trabajando con volúmenes menores, por lo que se decidió dejar el menor volumen ya que lo que se quiere es remover el Ni de un mayor volumen de agua contaminada. En el caso del *Flourensia cernua DC* seca variaron las condiciones ya que es necesario usar la menor cantidad de *Flourensia cernua DC* seca 0.2 g y de menor tamaño (1x1 mm) durante 5 minutos de agitación y sucede lo mismo con el volumen.

Tabla 2. Condiciones optimas para un máximo de remoción de Pb y Ni

Variable <i>Flourensia cernua DC</i> fresca	Pb	Ni	Variable <i>Flourensia cernua DC</i> seca	Pb	Ni
g de muestra	0.2 g	0.6 g	g de muestra	0.2 g	0.2 g
tamaño de partícula	hoja entera	1x1 mm	tamaño de partícula	hoja entera	1x1 mm
Volumen (agua contaminada)	1 mL	< 1 mL	Volumen (agua contaminada)	3 mL	<1 mL
tiempo de agitación	1 min	1 min	tiempo de agitación	5 min	5 min

Una vez establecidas las condiciones óptimas para tener un máximo de remoción de Ni y Pb se repitieron cinco veces cada uno de los cuatro experimentos y los porcentajes de recuperación que se obtuvieron se presentan en la tabla 3.

Tabla 3. Porcentajes de remoción de Pb y Ni

Adsorbente natural	Pb % Remoción	Ni % Remoción
<i>Flourensia cernua DC</i> fresca	89.2 ± 0.7	95.0 ± 0.9
<i>Flourensia cernua DC</i> seca	87.7 ± 1.6	94.2 ± 0.3

En la tabla 4 se presentan los límites máximos permisibles para el tipo de uso que se le puede dar al agua al comparar los resultados de la remoción de Pb y Ni y al comparar cuántos mg/L se quedan en la solución podemos decir que *Flourensia cernua DC* fresca o seca es un eficiente bioadsorbente natural.

Tabla 4. Límites máximos permisibles de metales pesados en agua NOM-001- SEMARNAT-1996(SEMARNAT 2003).

Metal	Agua de uso agrícola (mg/L)	Agua de uso público (mg/L)
As	0.20	0.100
Hg	0.01	0.005
Pb	0.50	0.200
Cr(VI)	1.00	0.500
Ni	2.00	2.00

CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos podemos concluir que al utilizar *Flourensia cernua DC* fresca o seca es eficiente en la remoción de Ni alcanzando hasta un 95% mientras que para la remoción de Pb fue mejor utilizar *Flourensia cernua DC* fresca hasta un 89% probablemente esto se pueda atribuir a los compuestos orgánicos que se encuentran presentes en la hoja fresca sin triturar.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a los Responsables del Laboratorio de Química Analítica Ambiental por el apoyo para realizar esta investigación.

REFERENCIAS

- [1] M.S. Gaitán. Determinación De Metales Pesados Totales Con Digestión Acida Y Solubles Lectura Directa Por Espectrofotometría De Absorción Atómica. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales. **2**, 2-3 (2018).
- [2] C. Tejada-Tovar, A. Villabona-Ortiz, L. Garcés-Jaraba. Adsorción de metales pesados en aguas residuales usando materiales de origen biológico. Tecno Lógicas. **18**, 111-112 (2015).
- [3] L.M. Aguelo-Betancurt, K.I. Macias-Mazo, A.J. Suárez-Mendoza. Fitorremediación: la alternativa para absorber metales pesados de los biosólidos. Lasallista de Investigación. **2**, 57-59 (2005).
- [4] M.L. Souza-Silva, G.C. Vitti, A.R. Trevizam. Heavy metal toxicity in rice and soybean plants cultivated in contaminated soil. Ceres **61**, 248-254 (2014).
- [5] D. Zavala, M.L. Cariillo, B. Alvarado, A.O. Sánchez. Evaluación de la toxicidad aguda de un extracto alcohólico de hojas de hojásén (*Flourensia cernua*). Revista Mexicana de Ciencia Farmacéutica **41**, 50-54 (2010).
- [6] G. Uvbaldo Vázquez. Actividad Antifúngica Del Extracto Etanolico De *Flourensia cernua* DC Para El Control de *Fusarium Oxysporum F. lycopersici* En El Cultivo De Tomate. UAAAN-Salttillo. México. (2014)
- [7] G. Granados López. Optimización de Métodos de Extracción de Compuestos Fenólicos de la Planta hojásén (*Flourensia cernua* DC) para la Determinación por Electroforesis Capilar. UNAM-Cuautitlán Izcalli. México. (2014).

DETERMINACIÓN PRELIMINAR DE HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO EN SUELOS

Oscar Emmanuel Hernández Palao¹
Carlos Mario Morales Bautista²
Edith Madaí Colunga Urbina¹
Judith Amador Hernández¹
Iliana M. de la Garza Rodríguez^{1*}

INTRODUCCIÓN

La contaminación del suelo es el resultado de las actividades antropogénicas y naturales, estas actividades puede ser el uso indiscriminado de fertilizantes, pesticidas, eliminación de efluentes industriales, lodo alcantarillado y los desechos sólidos, entre otras. Este problema se ha generalizado en el mundo y como consecuencia se tiene la acumulación de contaminantes en el suelo los cuales llegan a cambiar radicalmente las propiedades físicas, químicas y biológicas en el mismo [1].

El suelo tiene diferentes significados dependiendo del área en la que se trabaje, no es lo mismo para un arquitecto que para un geólogo. En 1880, el ruso Vasilij V. Dokuchaev, definió el suelo como una entidad tridimensional que se ubica en la superficie de la tierra, con morfología y propiedades químicas, físicas y biológicas únicas, gracias a la interacción de organismos vivos y muertos, en una posición topográfica específica [2]. La USDA (*United States Department of Agriculture*), define al suelo como un cuerpo natural que se compone de sólidos (minerales y materia orgánica), líquidos y gases que se producen en la superficie de la tierra, que ocupa espacio, con la capacidad de sostener plantas enraizadas y se caracteriza por lo siguiente: horizontes o capas que se distinguen fisicoquímicamente de la roca madre, como resultado de adiciones, pérdidas, transferencias y transformaciones de materia y energía [3].

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica. Blvd. Venustiano Carranza y José Cárdenas, S/N Col. República. Saltillo Coahuila, C.P. 25280 Tel (84) 159534 ext. 112. E-mail: palao_2005@hotmail.com, iligarza4@hotmail.com

² División Académica de Ciencias Básicas. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Carretera Cunduacán-Jalapa Kilómetro 1. Colonia La Esmeralda CP. 86690 Tel (9993)3581500 Ext. 6702, 3581573 y (914) 3360928. Cunduacán, Tabasco, México. E-mail: carlos.morales@ujat.mx

Los contaminantes que más afectan al suelo son los metales pesados [4], los pesticidas [5], y los hidrocarburos [6]. Estos últimos son sustancias que se forman de enlaces carbono-hidrogeno y carbono-carbono. Los alcanos, los alquenos, los alquinos y compuestos aromáticos son las principales clases de hidrocarburos que provienen principalmente del proceso industrial del petróleo, el carbón y sus subproductos [7-8]. Sin embargo, nuestra dependencia de los hidrocarburos como fuente de energía, han tenido consecuencias negativas sobre el medio ambiente, gracias a que se han dado en numerosas ocasiones derrames de dicha materia prima. Tan solo en México en el año 2015 se registraron 159 derrames, con un total de 1162 hectáreas de suelo contaminado [9]. Además, tienen un gran impacto en la salud pública, por ejemplo: los hidrocarburos aromáticos poli cíclicos, estos compuestos orgánicos con múltiples anillos aromáticos pueden causar efectos peligrosos en el humano, debido a que son citotóxicos, genotóxicos, teratogénicos y cancerígenos [10].

Una de las necesidades en la contaminación del suelo es la detección de los contaminantes presentes en el mismo y para esto contamos con una diversidad de técnicas analíticas como la Cromatografía líquida de alta resolución [11], Cromatografía de gases [12], Espectrofotometría de fluorescencia [13], Espectrofotometría de masas [14], Espectrofotometría de UV/Vis [15], Espectrofotometría de Emisión Atómica [16], Espectrofotometría de Absorción atómica [17], Extracción por soxhlet, como lo indica la Norma Mexicana NMX-AA-134-SCFI-2006 [18], etc. Esta última se basa en la extracción sólido-líquido, gracias al uso de un disolvente que se pone en contacto con la muestra extrayendo los compuestos solubles presentes.

El objetivo del trabajo, es determinar la concentración de hidrocarburos totales de petróleo en diferentes muestras de suelo mediante la metodología de la NMX-AA-134- SCFI-2006 y para evaluar la contaminación de los mismos.

EXPERIMENTACIÓN

Toma de la muestra

Se tomaron 7 muestras de suelo tal y como lo indica la Norma Mexicana NMX-AA-132- SCFI-2006 [19], se procedió a su etiquetado y transporte al laboratorio.

Pre-tratamiento de la muestra

La muestra de suelo se extendió en una prensa de papel de estraza para la separación de raíces y piedras, posteriormente se colocaron dentro de la estufa a 100°C durante 3 horas, una vez secas se trituraron y se tamizaron con malla 1x1 mm.

Extracción de hidrocarburos totales por soxhlet

Se pesaron 0.5 g de muestra y se llevaron a un dedal para el uso del sistema soxhlet. Se colocó 30mL de cloroformo en un matraz bola previamente tarado y pesado, se procedió a la extracción por reflujo durante 8 horas a 200° C. Después de la extracción se dejó enfriar y secar el matraz bola a temperatura ambiente y se obtuvo su peso, las muestras se hicieron por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se presentan las concentraciones de hidrocarburos totales de petróleo (HTP), fracción pesada de cada uno de los suelos analizados. Al analizar el gráfico nos damos cuenta que la concentración de HTP's está por debajo de los 3000 mg/Kg límite máximo permisible para suelos de uso agrícola, forestal, pecuario, de conservación, residencial y recreativo.

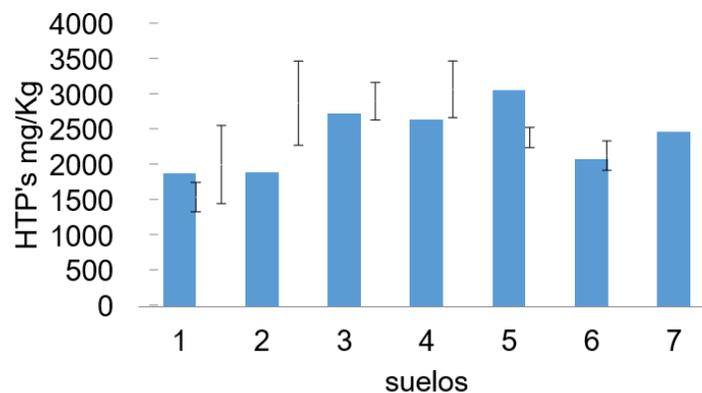


Figura 1. Concentraciones de hidrocarburos totales de petróleo.

Sin embargo, el suelo 5 está justo en el límite permisible, por lo cual es importante monitorear para encontrar la fuente de contaminación del suelo.

CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos podemos concluir que los suelos analizados cumplen con la NMX-AA-134-SCFI-2006, ya que no se sobre pasa el límite permisible de 3000 mg/Kg de suelo, sin embargo, es conveniente seguir analizando otros parámetros como texturas, materia orgánica, metales pesados, etc.

REFERENCIAS

- [1] Rajalakshmi, A., Chandrasekaran A., Ravisankar, R., Soil pollution assessment in salt field area of Kelambakkam, Tamilnadu using different analytical techniques, *Acta Ecologica Sinica* **37** 373–378 (2017)
- [2] Certini, Giacomo, Ugolini, Fiorenzo C., An updated, expanded, universal definition of soil, *Geoderma* **192** 378–379 (2013)
- [3] Smith, David W. Capítulo 1: The soils that we classify, *Keys to Soil Taxonomy*, United States Department Of Agriculture, Natural Resources Conservation Service 1-(2014).
- [4] Jorfi, Sahand, Maleki, Sahand, Jaafarzadeh, Neemat, Ahmadi, Mehdi, Pollution load index for heavy metals in Mian-Ab plain soil, Khuzestan, Iran, *Data in Brief* **15** 584–590 (2017)
- [5] Hvězdová, Martina, Kosubová, Petra, Košíková Monika, Scherr, Kerstin E., Šimek , Zdeněk, Brodský, Lukáš, Šudoma Marek, Škulcová , Lucia, Sáňka , Milan, Svobodová , Markéta, Krkošková Lucia, Vašíčková, Jana, Neuwirthová, Natália, Bielská, Lucie , Hofman, Jakub, Currently and recently used pesticides in Central European arable soils *Science of the Total Environment* **613–614** 361–370 (2018)
- [6] Rosell-Melé, Antoni, Moraleda-Cibrián, Núria, Cartró-Sabaté, Mar, Colomer-Ventura, Ferran, Mayor, Pedro, Orta-Martínez, Martí Oil pollution in soils and sediments from the Northern Peruvian Amazon *Science of the Total Environment* **610–611** 1010–1019 (2018)
- [7] L.G WADE, JR, Capítulo: Estructura y propiedades de las moléculas orgánicas. En el libro *Química Orgánica*, Quinta Edición. Pearson Educación, S.A., Madrid, 67-70 (2004).

- [8] Hassani, Hossein, Sirimal Silva, Emmanuel, Al Kaabi, Ahmed Mohamed, The role of innovation and technology in sustaining the petroleum and petrochemical industry, *Technological Forecasting & Social Change* **119** 1–17 (2017).
- [9] García-Segura, David, Castillo-Murrieta, Isis Maviel, Martínez-Rabeloa, Froylán, Gomez-Anaya, Antonio, Rodríguez-Campos, Jacobo, Hernández-Castellanos, Benito, Contreras-Ramos, Silvia M., Baroisa, Isabelle, Macrofauna and mesofauna from soil contaminated by oil extraction
Geoderma (2017)
<http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.06.013>
- [10] Zachara Alicja, Galkowska, Dorota, Juszczak, Contamination of smoked meat and fish products from Polish market with polycyclic aromatic hydrocarbons, *Food Control* **80** 45-51 (2017),
- [11] Gutiérrez-Valencia, Tania M., García de Llasera, Martha P. On-line MSPD-SPE- HPLC/FLD analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in bovine tissues, *Food Chemistry* **223** 82–88 (2017)
- [12] Biedermann, Maurus, Munoz, Celine, Grob, Koni, Update of on-line coupled liquid chromatography – gas chromatography for the analysis of mineral oil hydrocarbons in foods and cosmetics, *Journal of Chromatography A*, **1521** 140–149 (2017)
- [13] Zhang, Wei, Lin, Dan-Li, Zou, Zhe-Xiang, Li, Yao-Qun, A novel approach for simultaneous determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by Shpol'skii non-linear variable-angle synchronous fluorescence spectrometry, *Talanta* **71** 1481–1486 (2007)
- [14] Drabova, Lucie, Tomaniova, Monika, Kalachova, Kamila, Kocourek, Vladimir, Hajslova, Jana, Pulkrabova, Jana Application of solid phase extraction and two-dimensional gas chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry for fast analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils *Food Control* **33** 489-497 (2013)
- [15] Fuks-Janczarek, I., Reshak Ali H., Kuznik, W., Kitykc, I.V., Gabanski, R., Łapkowski, M., Motykac, R., Suwinski, J., UV–vis absorption spectra of 1,4-dialkoxy-2,5-bis [2-(thien-2-yl)ethenyl]benzenes, *Spectrochimica Acta Part A* **72** 394–398 (2009).
- [16] Zhang, Xu, Yang, Huanhuan, Cui, Zhaojie Evaluation and analysis of soil migration and distribution characteristics of heavy metals in iron tailings, *Journal of Cleaner Production* **172** 475-480 (2018).
- [17] Nnabugwu Agomuo, Emmanuel, Uchenna Amadi, Peter Accumulation and toxicological risk assessments of heavy metals of top soils from markets in Owerri, Imo state, Nigeria *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management* **8** 121–126 (2017)
- [18] NMX-AA-134-SCFI-2006, Suelos-Hidrocarburos Fracción Pesada por Extracción y Gravimetría- Método de Prueba (2006)
- [19] NMX-AA-132-SCFI-2006, Muestreo de Suelos para la Identificación y la Cuantificación de Metales y Metaloides, y Manejo de la Muestra. (2006)

CUANTIFICACIÓN DE Ca, Na y K POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA PRESENTES EN MASA Y TORTILLA DE SORGO

Marcela de la Garza Martínez¹
Iliana Margarita de la Garza²
Rodríguez Edith Madaí Colunga Urbina²
Francisco Zavala García¹
Beatriz Adriana Rodríguez Romero^{1*}

INTRODUCCIÓN

En México la alimentación se basa en el maíz y en productos derivados de éste. Se consumen alrededor de 300 kg de maíz y sus derivados, tales como productos generados del proceso de nixtamalización. Nutricionalmente, de estos productos se obtiene el 70 % de las calorías y el 50 % del calcio requerido diariamente [1]. México es el principal importador de maíz a nivel mundial con un consumo de 16 millones 500 toneladas [2]. Esto nos muestra que la producción de maíz en el país es insuficiente. El uso de otros granos en la elaboración de productos nixtamalizados puede ser una opción. En nuestro país el sorgo (*Sorghum durum*) es un cereal que se emplea como forraje y México es el segundo exportador a nivel mundial. Sin embargo, países africanos como Sudan y Etiopía lo destinan al consumo humano [3]. El grano de sorgo presenta ciertas ventajas con relación a otros granos: existen sorgos con propiedades nutraceuticas, es un cereal libre de gluten, es alto en fibra dietaria, las proteínas y el almidón son de lenta digestión, adicionalmente, el sorgo es un cereal que puede tolerar sequias, entre otros [4].

¹ Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Agronomía. Ingeniero en Industrias Alimentarias. Francisco i. Madero S/N, Hacienda el Canadá, General Escobedo, Nuevo León. C.P. 66050. Tel: +52 (81) 1340 1) 4399. e. mail: delagarza.mtz.marcela@gmail.com, rodriguez_beatriz@outlook.com

² Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica., Blvd. Venustiano Carranza y Cárdenas Valdez S/N, Col. República Oriente, Saltillo, Coahuila. CP: 25280, Tel: (844)4159534 ext. 112. e. mail: iligarza4@hotmail.com

La nixtamalización consiste en la cocción del grano en una disolución alcalina ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), el líquido remante o nejayote se drena y el grano se lava, muele y finalmente se le da forma de tortilla para su posterior cocción. Durante el proceso cocción y en los pasos subsiguientes se lleva a cabo un proceso de difusión de agua y calcio hacia el grano. Este proceso de difusión es crítico debido a que impacta en la calidad del producto; la disolución alcalina facilita la degradación y el suavizado de la pared celular del pericarpio, el cual actúa como una barrera física entre el endospermo y el calcio y el agua que se encuentran en el medio de cocción. Los procesos de difusión de solutos en el grano y el tratamiento alcalino causa cambios fisicoquímicos que se reflejan en las propiedades organolépticas de los productos obtenidos del proceso de nixtamalizado, masa, harinas, tortillas, etc. Estos cambios se reflejan en el color, la textura de la masa y tortilla, y se relación con el contenido de calcio en el grano [1]. Como se mencionó anteriormente el sorgo es una opción como sustituto de maíz en el proceso de nixtamalización, sin embargo, no existe información acerca de los procesos de difusión de micronutrientes en sorgo durante el proceso de nixtamalizado, ni de su impacto en las propiedades fisicoquímicas de los productos de este proceso.

El objetivo de este trabajo fue conocer el tiempo de cocción que permita una mejor difusión del calcio hacia el endospermo del grano de sorgo y observar los cambios en potasio y sodio que ocurren por el proceso térmico-alcalino.

EXPERIMENTACIÓN

- *Proceso de nixtamalización:* el grano de sorgo se sometió a una cocción en una disolución alcalina al 1 % ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), los tiempos de cocción fueron 10, 20 30 y 40 minutos para cada una de las muestras; se dejó reposar al grano durante 16 horas y posteriormente el nejayote se drenó y se lavó el grano. Por último, el grano se molió en un molino manual obteniéndose con esto la masa. La masa se troqueló y cocinó. Se realizaron 2 réplicas del proceso de cocción para cada uno de los tiempos de cocción.
- *Caracterización física de la masa y tortilla:* se determinó el color de la masa y la tortilla. El perfil de textura en masa (adhesión, elasticidad, cohesión, gomosidad y masticabilidad) y el esfuerzo de corte en tortilla [6].

- **Determinación de Ca, Na y K de la masa y tortilla:** Las muestras se llevaron a la mufla durante 2 horas a 100 °C, después se molieron las muestras en un mortero de porcelana. Se pesaron 0.2 g de muestra en crisoles previamente tarados, se llevaron a la mufla durante 2 horas a 500 °C, las cenizas se disolvieron con 1 mL de HC 1 M, se filtraron y aforaron a 50 mL con agua desionizada. Cada muestra se realizó por triplicado. Previo al análisis de las muestras en el Espectrofotómetro de Absorción Atómica (modelo AA240FS de Varia) se realizaron las curvas de calibración de cada metal analizado, utilizando cinco estándares que se obtuvieron de un estándar certificado de 1000 mg/L

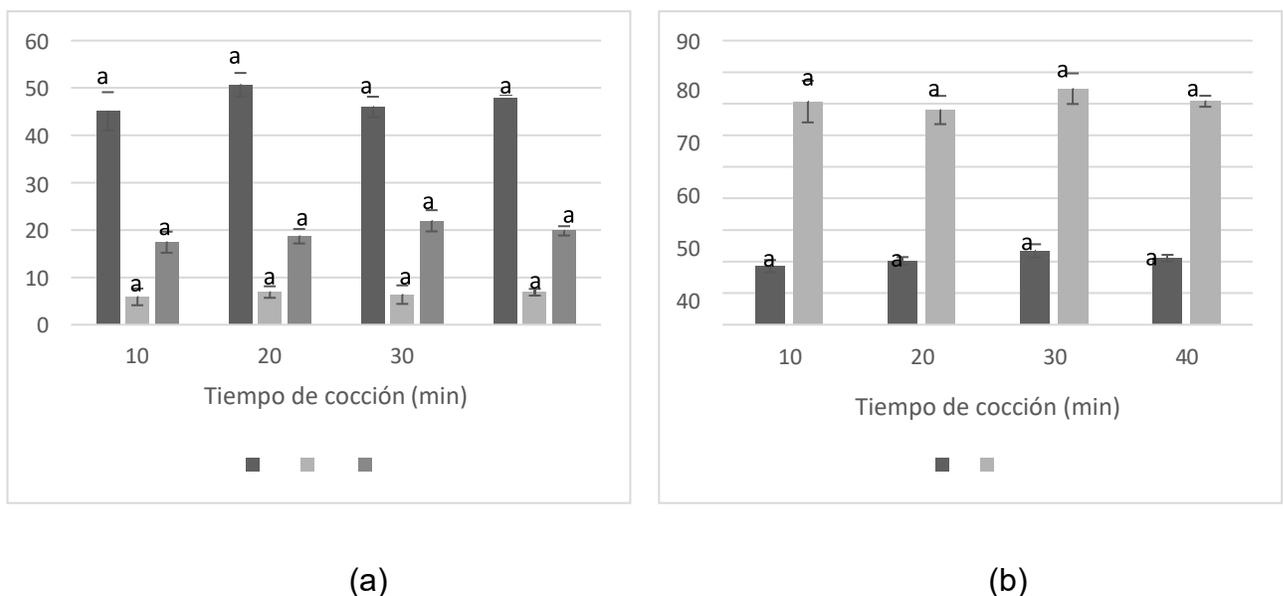


Figura 1. Color en masa nixtamalizada. A) Parámetros L^* , a^* y b^* ; B) Cromo y Hue.

No se observaron diferencias significativas en los parámetros de color evaluados (L^* , a^* , b^* , C y H; Figura 1). Lo que indica que el color de la masa no se ve afectada por los tiempos de cocción.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización física de masa y tortilla

Color en masa: se determinó el color en masa obtenida de cuatro tiempos de cocción en el proceso de nixtamalizado (10, 20, 30 y 40 min). Los resultados se muestran en la Figura 1.

Color en tortilla: se determinó el color en tortilla elaborada a partir de cuatro tiempos de cocción en el proceso de nixtamalizado (10, 20, 30 y 40 min). Los resultados se muestran

en la Figura 2.

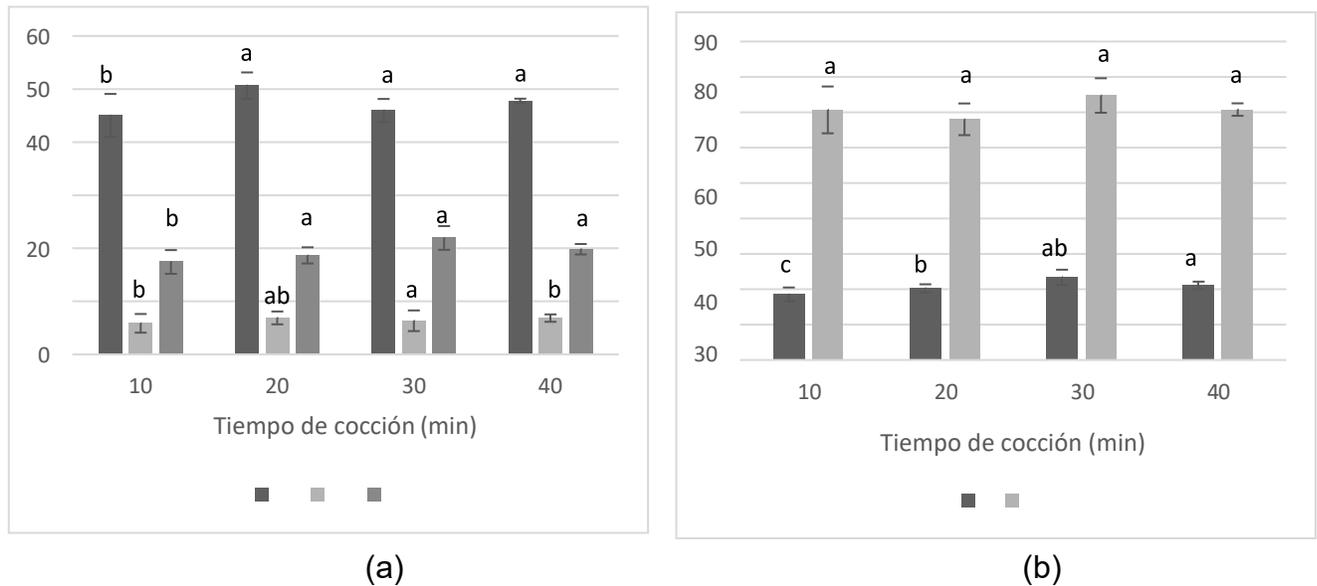


Figura 2. Color en tortilla nixtamalizada. A) Parámetros L*, a* y b*; B) Croma y Hue. Letras diferentes sobre columnas señalan diferencias significativas ($p < 0.005$).

L*, a*, b* y C presentan diferencias significativas ($p < 0.005$) entre muestras (Figura 2). Para L*, a*, b* y C la muestra con menores valores fue la sometida a 10 minutos de cocción, seguida de la de 20 y 30 minutos, la muestra sometida a una cocción de 40 minutos obtuvo los mayores resultados para las cuatro variables.

Se observa una tendencia a la disminución del color al aumentar el tiempo de cocción, esto podría señalar una relación inversa entre el pericarpio remante en los granos en función del tiempo de cocción.

Análisis de perfil de textura (TPA): se determinó la adhesión, cohesión, elasticidad, gomosidad y masticabilidad en masa obtenida de sorgo sometido a los tratamientos antes descritos. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

Las variables analizadas no presentan diferencias significativas entre muestras ($p < 0.005$) con excepción de la adhesión. Para la adhesión los tiempos 10 y 20 presentan resultados mucho menores [-338.72-(-356.10) g/seg], respectivamente] a los obtenidos en los tiempos 30 y 40 min [-6.95-(-23.00) g/seg]. Lo que indica que la masa tiene menor adhesión con tiempos de cocción menores a 30 minutos. Esto puede estar relacionado con la absorción de agua por el almidón del pericarpio. Valores menores en la adhesión pueden generar problemas durante el moldeado de la

tortilla a nivel industrial [1].

Tabla 1. TPA en masa nixtamalizada.

Tiempo (min)	Adhesión (g/seg)	Cohesión (g/seg)	Elasticidad (g/seg)	Gomosidad (g/seg)	Masticabilidad (g/seg)
10	-338.72 ± 0.00 ^a	0.14 ± 0.01 ^a	0.10 ± 0.00 ^a	6.07 ± 0.94 ^a	0.58 ± 0.09 ^a
20	-356.10 ± 70.46 ^a	0.13 ± 0.00 ^a	0.08 ± 0.01 ^a	6.34 ± 0.37 ^a	0.50 ± 0.04 ^a
30	-6.945 ± 1.17 ^b	0.14 ± 0.00 ^a	0.09 ± 0.00 ^a	8.55 ± 0.74 ^a	0.76 ± 0.06 ^a
40	-23.00 ± 1.52 ^b	0.14 ± 0.00 ^a	0.10 ± 0.05 ^a	5.21 ± 0.99 ^a	0.49 ± 0.07 ^b

Letras diferentes en columnas señalan diferencias significativas ($p < 0.005$).

Las variables analizadas no presentan diferencias significativas entre muestras ($p < 0.005$) con excepción de la adhesión. Para la adhesión los tiempos 10 y 20 presentan resultados mucho menores [-338.72-(-356.10) g/seg], respectivamente] a los obtenidos en los tiempos 30 y 40 min [-6.95-(-23.00) g/seg]. Lo que indica que la masa tiene menor adhesión con tiempos de cocción menores a 30 minutos. Esto puede estar relacionado con la absorción de agua por el almidón del pericarpio. Valores menores en la adhesión pueden generar problemas durante el moldeado de la tortilla a nivel industrial [1].

Fuerza de corte: se determinó el esfuerzo de corte de tortilla después del proceso de nixtamalización con las variantes ya mencionadas (tiempo de cocción: 10, 20, 30 y 40 min), los resultados se muestran en la Figura 3. El esfuerzo de corte fue menor en los tiempos 30 y 40 lo que muestra que las tortillas elaboradas a partir de los 30 minutos de cocción son más blandas que las elaboradas a los 10 y 20 minutos.

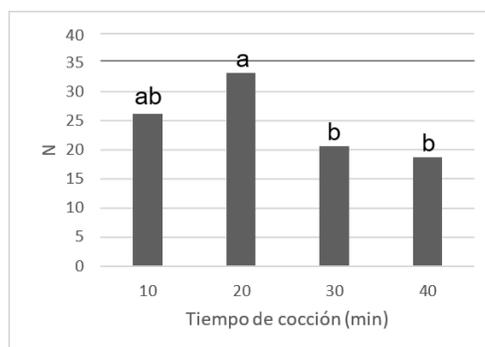


Figura 4. Esfuerzo de corte en tortilla. Letras diferentes sobre puntos señalan diferentes

significativas ($p < 0.005$).

Los cambios de textura en los productos del proceso de nixtamalización se asocian a la gelatinización del almidón durante este proceso, al pericarpio presente en la masa y a las grasas saponificadas [1]. Lo que indica que tiempos de cocción menores a 30 minutos no dañan la estructura del pericarpio, lo que impide la correcta hidratación del almidón, ni los cambios fisicoquímicos en las macromoléculas presentes en el grano.

Determinación de Ca, Na y K de la masa y tortilla: se determinó la concentración de Ca, Na y K en masa y tortilla obtenida de sorgo sometido a los tratamientos antes descritos. Los resultados se muestran en las Figuras 5 a la 7.

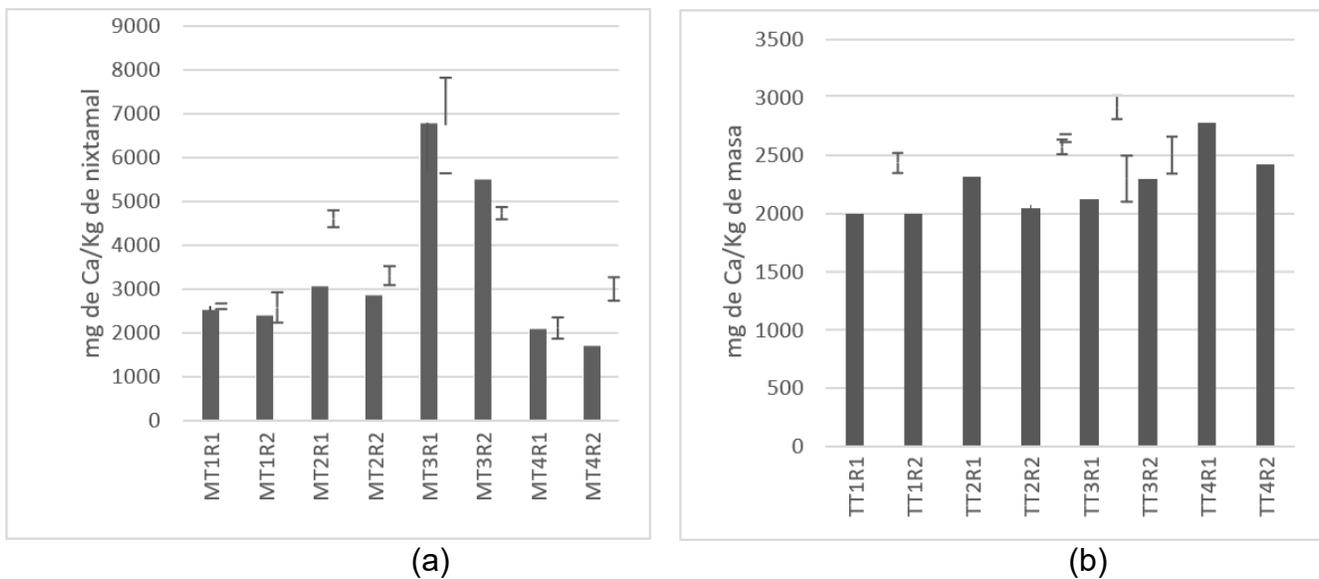


Figura 5. Concentración de Ca. A) Concentración de Ca en masa B) Concentración de Ca en tortilla [MasaTratamiento1Repetición1 (MT1R1), TortillaTratamiento1Repetición1 (TT1R1)].

A una cocción de 30 minutos se presentan la mayor concentración de Ca en la masa esto nos indica una mayor degradación del pericarpio, permitiendo una mayor hidratación al endospermo.

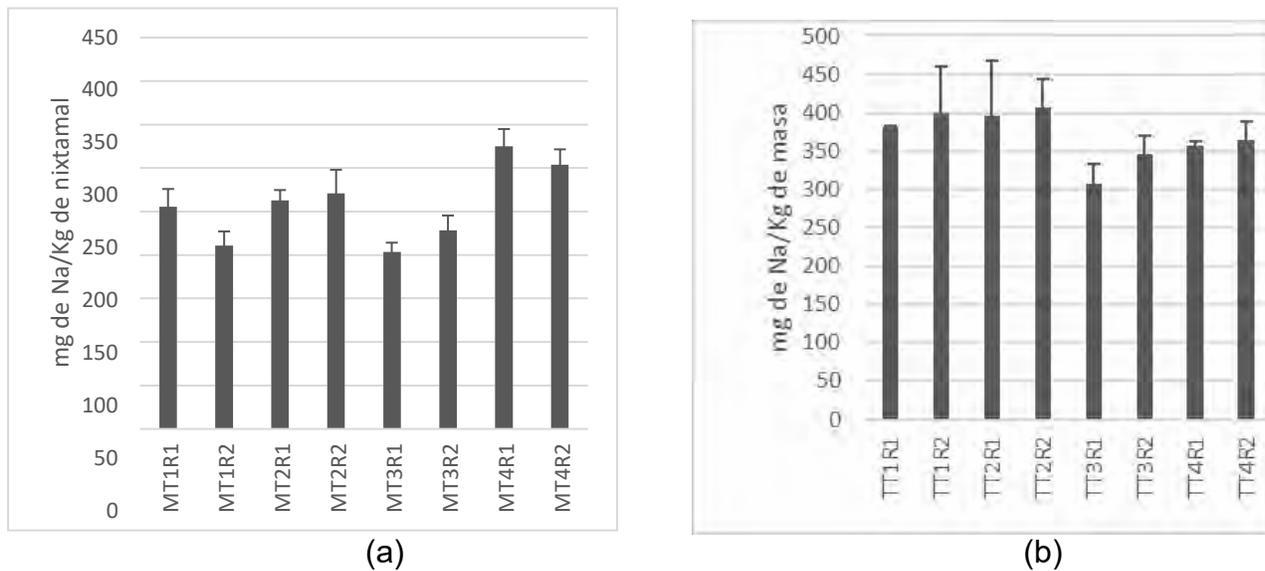


Figura 6. Concentración de Na. A) Concentración de Na en masa B) Concentración de Na en tortilla [MasaTratamiento1Repetición1 (MT1R1), TortillaTratamiento1Repetición1 (TT1R1)].

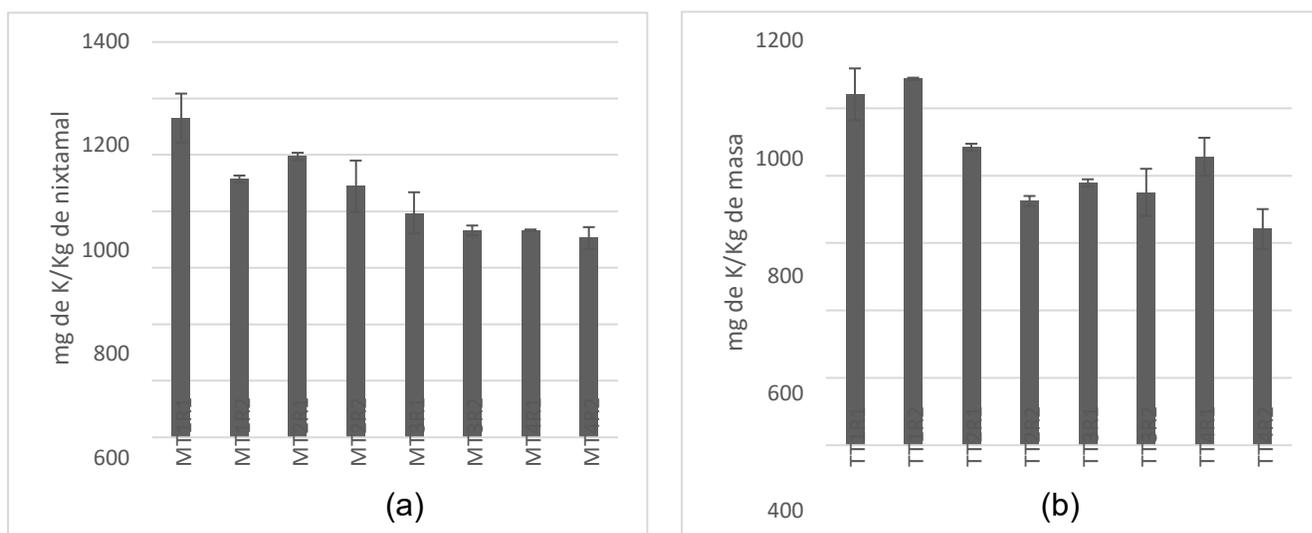


Figura 7. Concentración de K A) Concentración de K en masa B) Concentración de K en tortilla [MasaTratamiento1Repetición1 (MT1R1), TortillaTratamiento1Repetición1 (TT1R1)].

CONCLUSIONES

Con los resultados que se presentan podemos concluir que a partir de 30 minutos de cocción se degrada el pericarpio permitiendo cambios en las propiedades fisicoquímicas de la tortilla producida utilizando sorgo y una mayor difusión del Ca, Na y K al endospermo.

AGRADECIMIENTOS

A la Secretaria de Educación Pública, por el apoyo financiero a través del Proyecto PRODEP 511-6/17-7538 para realizar este trabajo.

REFERENCIAS

- [1] M.G. Ruiz-Gutiérrez, A. Quintero-Ramos, C.O. Meléndez-Pizarro, R. Talamás-Abbud, J. Barnard, R. Márquez-Meléndez, D. Lardizábal-Gutiérrez. Nixtamalization in Two Steps with Different Calcium Salts and the Relationship with Chemical, Texture and Thermal Properties in Masa and Tortilla. *Journal of Food Process Engineering* 2011. **35**, 772-783 (2011).
- [2] A. Espinoza-Calderón, M. Tadeo-Robledo. Importación de Maíz, una Afrenta para México. La Jornada 2018. <http://www.jornada.unam.mx/2018/02/25/economia/021a1eco>
- [3] Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial. Panorama Agroalimentario Sorgo (2016) https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200640/Panorama_Agroalimentario_Sorgo_2016.pdf
- [4] N- Montes-García, M.A. García-García, H. Castillo-Tovar, V. Pecina-Quintero, J.L. Anaya-López. Sorgo [*Sorghum bicolor* (L). Moench] blanco: alternativa para la alimentación humana. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias **45** 2010. Folleto Técnico.
- [6] J. Santana-Gálvez, E. Pérez-Carrillo, H. H. Velázquez-Reyes, L. Cisneros-Zevallos, D.A. Jacobo-Velázquez. Application of Wounding Stress to Produce a Nutraceutical-rich Carrot Powder Ingredient and its Incorporation to Nixtamalized Corn Flour Tortillas. *Journal of Functional Foods* (2016). **27**, 655-666 (2016).

PRECONCENTRACIÓN DE ATRAZINA EN MUESTRAS ACUOSAS, MEDIANTE EXTRACCIÓN POR SORCIÓN EN BARRA DE AGITACIÓN (SBSE)

José Mauricio Yáñez Campuzano^{1,2}

Romina Soto Pérez^{1,2}

Olivia Zamora Martínez^{1,2*}

Luis Antonio García Villanueva³

INTRODUCCIÓN

México se ha caracterizado por ser un país agrícola y entre sus principales productos se encuentran la de caña de azúcar, el maíz y el sorgo. Durante su cultivo se ha encontrado que la atrazina ha sido utilizada como plaguicida para el control de las malezas. Estudios a nivel mundial consideran a la atrazina como un alterador endócrino, causante de desequilibrio hormonal y es catalogada como una sustancia carcinógena, también representa diversos riesgos para el medio acuático y su propagación en él, por lo que ha sido prohibida en algunos países [1, 2].

La atrazina es uno de los plaguicidas más ampliamente usados en el mundo y México es el segundo país donde se emplea en mayor cantidad, donde, actualmente no existe ley que prohíba o regule su uso, aunque en algunas normas mexicanas se proporcionan límites máximos permisibles de manera preventiva, principalmente las referidas a agua potable, descargas de agua residual y alimentos [3].

La NMX-AA-071-1981 dicta la técnica para determinar compuestos organoclorados en agua, sin embargo, el método de preconcentración que emplea, es la extracción líquido-líquido, la cual requiere del uso de un gran volumen de disolventes por lo que también genera grandes volúmenes de residuos peligrosos, los cuales deben ser tratados adecuadamente [4].

¹ Universidad Nacional Autónoma de México-Ciudad Universitaria. Instituto de Geología, Departamento de Edafología, Laboratorio de Cromatografía. C.P. 04510. Tel: +55 56224240 ext. 81853, e-mail: mauricioyac@gmail.com, romina-sp123@hotmail.com

² Laboratorio Nacional de Geoquímica y Mineralogía. Paseo de la Coordinación Científica, Coyoacán, UNAM C.U., C.P. 04510. Tel: +55 56224240 ext. 81853, e-mail: oliviazm@geologia.unam.mx

³ Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ingeniería, Departamento de Sanitaria y Ambiental, División de Ingenierías Civil y Geomática. Circuito Exterior S/N, Coyoacán, Ciudad Universitaria, Ciudad de México, C.P. 04510. Tel: +55 56228001 ext. 1223, e-mail: lagvillanueva@unam.mx

Actualmente se cuenta con un método optimizado y validado para la cuantificación simultánea de atrazina y dos de sus principales metabolitos, 2-hidroxiatrazina y desetilatrazina, mediante HPLC-UV-DAD, con el cual es posible determinar concentraciones del orden de las partes por millón de los tres compuestos, sin la presencia de interferencias en muestras de agua provenientes de las Lagunas de Montebello [5]. Para poder potencializar dicho método de cuantificación se decidió combinar al mismo con una técnica de preconcentración conocida como “Extracción por Sorción en Barra de Agitación (SBSE)” para la cual se han reportado resultados eficientes al trabajar con compuestos químicos similares [6].

La metodología de preconcentración optimizada será utilizada posteriormente en muestras reales del Sistema Lagunar Montebello, Chiapas, México, donde se tiene el conocimiento de la aplicación del plaguicida atrazina [7]. La optimización de la técnica de preconcentración se llevó a cabo considerando diversos factores que involucran la naturaleza y la cantidad de los disolventes que se utilizan en cada una de las etapas que la conforman, el tiempo de contacto necesario para la retención y la extracción cuantitativa del analito, así como el efecto de la concentración del analito sobre su retención en la barra.

EXPERIMENTACIÓN

Se emplearon barras SBSE de vidrio con dimensiones de 10 mm de largo x 3.2 mm de diámetro y un recubrimiento de polidimetilsiloxano de un espesor de 0.5 mm.

Las disoluciones de carga antes y después de estar en contacto con la barra, así como los eluatos de todos los experimentos, fueron analizados por medio de HPLC-UV-DAD de acuerdo con lo reportado por Cortés [5] utilizando curvas de calibración externas.

Los análisis HPLC se efectuaron por medio de un sistema cromatográfico constituido por dos bombas binarias de alta presión modelo 1525, un automuestreador modelo 717 plus y un detector de arreglo de diodos UV-DAD modelo 2998, todos ellos de la marca Waters. Todas las disoluciones fueron preparadas con disolventes grado cromatográfico, reactivos grado analítico, y agua desionizada [5].

La optimización de las condiciones de trabajo involucró los siguientes parámetros: a) Acondicionamiento, b) Carga, c) Lavado, d) Elución y e) Regeneración.

Todos los experimentos consistieron en poner en contacto la barra de sorción,

acondicionada previamente, con un volumen definido de una disolución acuosa de atrazina de concentración conocida. Después de cierto tiempo de contacto, la barra se retiraba de la disolución, se lavaba con agua destilada, se secaba y posteriormente se ponía en contacto con un volumen definido de un disolvente durante un tiempo de contacto conocido. Transcurrido el tiempo de extracción, la barra de sorción era nuevamente retirada y colocada en otro vial para efectuar lavados con volúmenes definidos del disolvente de extracción.

Las etapas de contacto de sorción y extracción se llevaron a cabo a temperatura ambiente bajo agitación constante de 750 rpm.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Optimización de las etapas de la Extracción por Sorción en Barra de Agitación Acondicionamiento

Debido a que las barras de sorción utilizadas para realizar la SBSE se encuentran recubiertas con una película de polidimetilsiloxano (PDMS), que actúa como adsorbente de carácter no polar, se decidió utilizar un volumen de 5.0 mL de metanol, el cual era suficiente para cubrir en su totalidad la barra de trabajo. La selección del disolvente adecuado se hizo con base en el poder de elución y en la afinidad del mismo por la atrazina, para así asegurar una extracción eficiente.

Mediante el uso de metanol se garantiza que la película que recubre la barra tendrá expuestos los sitios que interaccionan con las moléculas del analito que se desea retener, y por lo tanto, llevar a cabo de manera satisfactoria su sorción.

Con respecto al tiempo de contacto se decidió emplear 15 minutos y aunque la activación de la película tarda unos cuantos minutos, se decidió utilizar este tiempo para garantizar la completa disposición de los sitios de sorción y, por lo tanto, la mayor retención de atrazina una vez que la barra se pusiera en contacto con la disolución que contiene al analito de trabajo.

Evaluación de la sorción de atrazina

Afinidad de la atrazina por la barra de sorción

Era necesario conocer si la atrazina podría retenerse sobre la barra de sorción de trabajo, por lo que en esta etapa se decidió trabajar en primera instancia con una disolución acuosa de atrazina de muy baja concentración, la cual pudiera ser cuantificada mediante HPLC, se decidió utilizar un

volumen de 5.0 mL de una disolución que contenía aproximadamente 0.5 mg/L de atrazina. Este experimento se realizó por quintuplicado, y tanto la disolución de atrazina sin haber estado en contacto con la barra, identificada como [ATZ] inicial, como la resultante de ponerla en contacto con la barra, indicada como [ATZ] después de sorción, fueron analizadas por medio de HPLC-UV-DAD, para por medio del uso de una curva de calibración externa se determinasen sus valores numéricos. Tabla 1. Valores de concentración de atrazina determinados, antes y después de la sorción para un tiempo de contacto de 60 min (n= 5).

Tiempo de contacto (min)	Volumen disolución de ATZ (mL)	[ATZ] inicial (mg/L)	[ATZ] después sorción (mg/L)	$\frac{[\text{ATZ}] \text{ después sorción}}{[\text{ATZ}] \text{ inicial}}$
60	5.0	0.56	0.41	0.73

Los resultados de la tabla 1 indican que cierta cantidad de las moléculas de atrazina presentes en la disolución inicial, se quedaron retenidas sobre la película del polímero de la barra de sorción, ya que los valores de concentración, antes y después del experimento no fueron iguales, siendo menor, la concentración de atrazina determinada en la disolución que estuvo en contacto con la barra de polidimetilsiloxano. La relación de la concentración después de la sorción vs la concentración inicial de atrazina fue de 0.73, que equivale a un 73 % de atrazina que no fue retenida, lo que, a su vez, indica que el 27 % restante corresponde a la cantidad de atrazina retenida sobre la barra bajo estas condiciones de trabajo.

Evaluación de la presencia de 2-hidroxiatrazina y desetilatrazina sobre la retención de atrazina debido a que una vez que la atrazina (ATZ) es aplicada en los campos de cultivo, ésta puede sufrir degradación tanto química como microbiológica, siendo sus principales metabolitos de descomposición la 2-hidroxiatrazina (2-HA) y la desetilatrazina (DEA), se decidió evaluar la presencia de concentraciones conocidas de estos dos compuestos, sobre la retención de la ATZ en la barra de sorción. Al igual que en el caso anterior los valores de concentración de los tres analitos se determinaron con el uso de curvas de calibración externa. Las condiciones de trabajo y los resultados numéricos se resumen en la tabla 2.

Tabla 2. Evaluación de la sorción de la atrazina en presencia de sus dos principales metabolitos.

Analito	Tiempo de contacto (min)	Volumen disolución (mL)	[analito] inicial (mg/L)	[ATZ] después sorción (mg/L)	$\frac{[\text{ATZ}] \text{ después sorción}}{[\text{ATZ}] \text{ inicial}}$
2-HA	60	50	0.44	0.45	1.02
DEA			0.45	0.45	1.00
ATZ			0.48	0.35	0.73

Los resultados obtenidos indican que la presencia de 2-HA y DEA no afecta a la sorción de ATZ al llevarse a cabo el experimento de sorción, ya que se retiene la misma cantidad de moléculas de atrazina en disolución después de la sorción, que las determinadas en los experimentos de sorción realizados en ausencia de los dos metabolitos, obteniéndose nuevamente un porcentaje de atrazina retenida del 27 %, con una cantidad no retenida del 73 %. Bajo estas condiciones de trabajo, no se observó la retención de 2-HA y DEA sobre la barra, ya que sus concentraciones fueron las mismas antes y después de la sorción, por lo que la relación de concentraciones de ambas especies fue de prácticamente la unidad. La no retención de 2-hidroxiatrazina y desetilatrazina, puede atribuirse a que dichas sustancias presentan un carácter más polar que la atrazina, por lo que exhiben una mayor afinidad por el agua utilizada como disolvente, inhibiendo con ello su sorción sobre la barra de trabajo.

Efecto del tiempo de contacto sobre la retención de atrazina en la superficie de la barra de sorción

Debido a que el tiempo de contacto influye de manera drástica sobre la retención de los analitos en experimentos de sorción, fue obligatorio determinar el tiempo de contacto mínimo necesario para alcanzar el equilibrio sobre el proceso de retención de la atrazina. Para ello se utilizó un volumen de 5.0 mL de una disolución de atrazina de concentración aproximada a 0.5 mg/L, variando los tiempos de contacto de trabajo. En la siguiente tabla se presentan los resultados obtenidos de la cantidad de atrazina que queda en disolución después de haberse llevado a cabo el experimento de sorción para cada uno de los tiempos de contacto, así como la respectiva cantidad de atrazina retenida sobre la barra de polidimetilsiloxano.

Tabla 3. Efecto del tiempo de contacto sobre la sorción de atrazina. Masa ATZ_{inicial} = 2.28 µg.

Volumen disolución ATZ (mL)	Tiempo de contacto (min)	Masa en disolución después de sorción (µg)	Masa de ATZ retenida (µg)
5.0	15	2.19	0.09
	30	2.15	0.13
	60	2.01	0.27
	120	2.03	0.25

La tabla 3 muestra que, al incrementarse el tiempo de contacto, la cantidad de ATZ en disolución va disminuyendo, lo cual indica que se ha depositado sobre la superficie de la barra de sorción, una mayor cantidad de este compuesto (sorción más eficiente), es posible verificar que después de 60 minutos la sorción se mantiene constante, es decir alcanza el equilibrio, por lo que se seleccionó este tiempo de contacto para realizar los siguientes experimentos.

Efecto del tiempo de contacto para la desorción cuantitativa de atrazina

Considerando la naturaleza de la atrazina, se buscó un disolvente por el cual este compuesto presentara una buena afinidad. Se seleccionó metanol ya que la atrazina es altamente soluble en este disolvente, además de que dicho disolvente actúa como un eluyente fuerte cuando se trabaja con fases de tipo reversa, como la utilizada como recubrimiento de la barra de sorción de trabajo. Para esta etapa se utilizó 1.0 mL de metanol (MeOH) como disolvente extractante y debido a que la desorción depende del tiempo de contacto, se buscó el mínimo tiempo necesario para lograr la mayor extracción de la atrazina retenida sobre la barra. Estos resultados se presentan en la tabla 4.

Tabla 4. Efecto del tiempo de contacto del disolvente extractante (MeOH) sobre la desorción de ATZ (n= 3).

Volumen MeOH (mL)	Tiempo de contacto (min)	Masa de ATZ en disolución después de desorción (µg)
1.0	10	0.23
1.0	30	0.25
1.0	60	0.25
1.0	120	0.25

Como puede observarse, en los tiempos de contacto evaluados, prácticamente no se presentó una mayor cantidad de ATZ en disolución al incrementarse el tiempo de contacto entre el

metanol y la barra de agitación, por lo que, con el objetivo de incrementar la productividad de la metodología, se decidió utilizar el menor tiempo de contacto de estudio (10 minutos), para llevar a cabo la desorción del analito.

Influencia de la cantidad del disolvente de extracción

Para verificar si el volumen del extractante influye sobre el proceso de desorción de la atrazina, se decidió evaluar cinco diferentes volúmenes de este disolvente, por triplicado; en la siguiente tabla se presentan los resultados obtenidos.

Tabla 5. Efecto del volumen de MeOH sobre la desorción de ATZ (n= 3).

Volumen MeOH (mL)	Masa de ATZ en disolución después de desorción (µg)
0.5	0.33
0.8	0.28
1.0	0.33
1.5	0.27
2.0	0.25

La cantidad de atrazina en disolución después de la desorción indica directamente el efecto del volumen de metanol utilizado para su desorción. La cantidad extraída de ATZ es prácticamente la misma para todos los volúmenes de estudio de metanol, por lo que se decidió realizar la extracción de ATZ de la barra de trabajo con el volumen más bajo de metanol (1.0 mL), el cual garantiza el menor efecto de dilución sobre la concentración de la atrazina en disolución y su adecuada posterior cuantificación vía HPLC-UV-DAD. Efecto de la concentración presente de analito sobre su retención en la barra

Debido a que la concentración en una muestra es por lo general totalmente incierta, fue necesario evaluar el comportamiento de la retención de atrazina en función de su concentración inicial en disolución. Las concentraciones fueron seleccionadas con base en el límite de cuantificación de la metodología de HPLC-UV-DAD (concentración inicial más baja que pudiera ser cuantificada) y la concentración inicial de ATZ más alta que fuera totalmente retenida sobre la barra de sorción. En la tabla 6 se resumen los resultados de este experimento.

Tabla 6. Efecto de la concentración de analito sobre su retención en la barra de sorción (n= 3).

Concentración carga ATZ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Masa adsorbida (μg)			% CV
	1	2	3	
0.03	0.02 8	0.025	0.022	12.5 4
0.05	0.03 5	0.040	0.035	7.80
0.08	0.05 4	0.054	0.059	4.90
0.10	0.06 8	0.066	0.068	1.70
0.15	0.09 8	0.094	0.101	3.65
0.20	0.12 5	0.132	0.128	2.82
0.25	0.15 4	0.154	0.157	1.00

Cada experimento fue realizado por triplicado, por lo que en dicha tabla también se presentan los valores del coeficiente de variación, los cuales indican su grado de repetibilidad para cada uno de los niveles de concentración. En todos los casos se presentan valores de CV aceptables ($\leq 20\%$) [8]. En el gráfico presente en la figura 1 se muestra la correlación que existe entre la concentración inicial de atrazina presente en disolución y la cantidad del analito que es retenido sobre la barra de sorción empleada

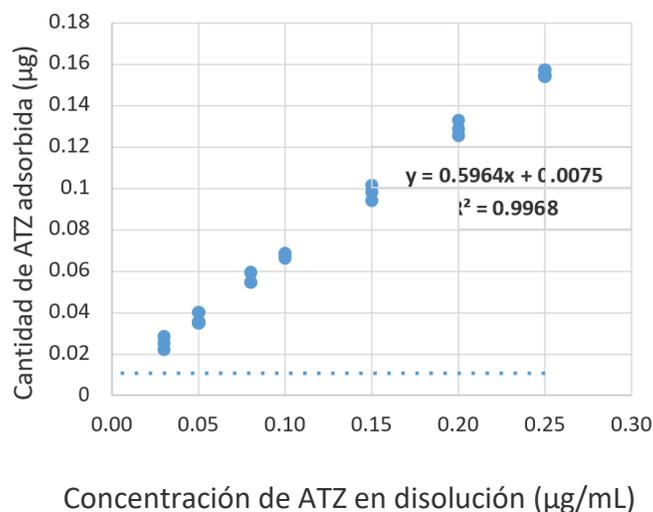


Figura 1. Dependencia de la cantidad de ATZ adsorbida en función de la concentración inicial presente en disolución (n=3).

El gráfico exhibe una clara dependencia lineal de la cantidad de atrazina retenida por la barra en función de la concentración inicial del analito disuelto ($R^2= 0.9968$, $r= 0.9984$), la cual se confirma con el estudio de la prueba no paramétrica de rachas. Los resultados de dicha prueba indicaron que los residuos de las parejas de datos son aleatorios y por lo tanto éstos se ajustan a una recta.

CONCLUSIONES

La atrazina es retenida en un 27% bajo las condiciones de trabajo.

Debido a que no se obtuvo un porcentaje de retención cuantitativa sobre la barra de sorción ($\geq 85\%$), es necesario determinar el contenido de atrazina en el tipo de muestras de estudio, mediante el uso de curvas de calibración preparadas en contacto con la barra, como la presentada en la figura 1.

La presencia de 2-HA y DEA no afecta a la sorción de ATZ; no se observó la retención de 2-HA y DEA sobre la barra.

Las condiciones de preconcentración mediante SBSE optimizadas son las siguientes:

Rapidez de agitación: 750 rpm, para todos los casos (carga y elución).

Tiempo de contacto: 60 minutos.

Disolvente de desorción o eluyente: metanol (grado HPLC), con éste se logra la desorción cuantitativa de ATZ.

Volumen de eluyente: 1.0 mL, se garantiza el menor efecto de dilución.

Tiempo de desorción o elución: 10 minutos.

La metodología analítica desarrollada para la preconcentración de atrazina cumplió con los parámetros de linealidad y precisión, por lo que se le puede considerar como un método eficaz de preconcentración de atrazina para su posterior cuantificación vía HPLC-UV-DAD en el intervalo de 0.03 a 0.25 mg/L en ausencia de interferencias de matriz.

AGRADECIMIENTOS

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico a través del proyecto IA108117 del

Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica de la UNAM y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

REFERENCIAS

- [1] IARC. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. International report 14/002. International Agency for Research on Cancer. Lyon, France (2014).
- [2] CICOPLAFEST. Acuerdo que establece la clasificación y codificación de mercancías cuya importación está sujeta a regulación por parte de las dependencias que integran la comisión intersecretarial para el control del proceso y uso de plaguicidas, fertilizantes y sustancias tóxicas. México: D.O.F. (2005).
- [3] FAO. Los plaguicidas en cuanto contaminantes del agua (2016).
- [4] DOF. Norma Mexicana NMX-AA-71-1981. Análisis de agua. - Determinación de plaguicidas organoclorados: Método de cromatografía de gases. pp.6 (1992).
- [5] V. Cortés Hernández. Determinación simultánea de hidroxiatrazina, desetilatrazina y atrazina por medio de CLAR-UV-DAD en muestras de agua de las lagunas de Montebello. UNAM, Ciudad de México (2016).
- [6] J.A. Rodríguez, K. Aguilar-Arteaga, C. Díez, E. Barrado. Recent Advances in the Extraction of Triazines from Water Samples, Herbicides - Advances in Research. Cap 13, Dr. Andrew Price (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/54962 (2013).
- [7] A. Hernández-Antonio y A. Hansen. Uso de plaguicidas en dos zonas agrícolas de México y evaluación de la contaminación de agua y sedimentos. Revista Internacional De Contaminación Ambiental, (27), 115-127 (2011).
- [8] COFEPRIS. CCAyAC-P-058. Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos. Secretaria de Salud, México. (2011).

OPTIMIZACIÓN Y VALIDACIÓN DE UNA METODOLOGÍA DE ANÁLISIS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE TRIMETOPRIM EN MATRICES ACUOSAS AMBIENTALES

Natalie Liliana Ibañez Cruz^{1,2}
Olivia Zamora Martínez^{1,2*}

INTRODUCCIÓN

Durante décadas, toneladas de sustancias biológicamente activas, sintetizadas para su uso en la agricultura, industria y medicina han sido vertidas al medio ambiente sin reparar en las posibles consecuencias. El agua es un recurso natural escaso, indispensable para la vida humana y el sostenimiento del medio ambiente, que ha sufrido un alarmante deterioro, como consecuencia del rápido desarrollo humano y económico y del uso inadecuado que se ha hecho de ella como medio de eliminación. A lo largo de los años se han estudiado aquellos contaminantes cuya presencia en el medio ambiente no se encuentra regulada en distintas legislaciones. El desarrollo de nuevos métodos de análisis con mayor sensibilidad ha permitido detectar la presencia de estos contaminantes potencialmente dañinos para la salud denominados como contaminantes emergentes, los cuales se definen como un grupo de sustancias no reguladas, que pueden ser candidatas a una futura regulación dependiendo de los resultados de investigaciones sobre sus efectos en la salud humana y en la biota acuática y de datos de seguimiento con respecto a la frecuencia de su presencia en el medio ambiente. Entre los mecanismos de incorporación de los productos farmacéuticos en los cuerpos de agua están los procesos de eliminación de animales y humanos, los vertidos de la industria farmacéutica, los residuos hospitalarios, la disposición

¹ Universidad Nacional Autónoma de México-Ciudad Universitaria. Instituto de Geología, Departamento de Edafología, Laboratorio de Cromatografía. C.P. 04510. Tel: +55 56224240 ext. 81853, e-mail: natieibz@gmail.com

² Laboratorio Nacional de Geoquímica y Mineralogía. Paseo de la Coordinación Científica, Coyoacán, UNAM C.U., C.P. 04510. Tel: +55 56224240 ext. 81853, email: oliviazm@geologia.unam.mx

inadecuada de fármacos vencidos o no utilizados, y los vertidos de instituciones de investigación y desarrollo de fármacos, entre otros.

Las concentraciones a las que se han encontrado en aguas superficiales y en aguas subterráneas se sitúan normalmente en el rango de ng/L o µg/L. De todos los contaminantes emergentes, los que probablemente suscitan mayor preocupación y estudio en los últimos años son en particular los antibióticos debido a dos factores principales, la posibilidad de que se generen fenómenos de resistencia bacteriana y porque el porcentaje de eliminación de estos compuestos en las plantas de tratamiento es reducido. Dentro de los antibióticos más frecuentemente detectados se encuentran: el trimetoprim, ciprofloxacino, ofloxacino, sulfametoxazol, eritromicina y sus metabolitos [1]. El trimetoprim es un antibiótico sintético con acción bactericida, del grupo de las diaminopirimidinas. Tiene una gran afinidad por la enzima dehidrofolato reductasa y al unirse a ella inhibe la síntesis de tetrahidrofolatos necesarios para la síntesis de DNA, RNA y proteínas de la pared celular bacteriana [2].

Al existir el interés de medir un componente en una muestra, es necesario contar con una metodología de medición ya sean metodologías farmacopeicas o bien metodologías nuevas desarrolladas partiendo del hecho de que deben cumplir con requisitos de confiabilidad requeridos para su adecuada implementación. Un proceso que permite cumplir este fin es la validación, que es la evaluación sistemática de un procedimiento analítico mediante el cual se satisface los requisitos de que el método de análisis cumple con un propósito y se puede aplicar en un laboratorio [3].

Debido al incremento de las concentraciones de productos farmacéuticos en efluentes acuosos, se han orientado múltiples investigaciones hacia la evaluación de sus impactos ambientales. En el caso particular del trimetoprim, al ser considerado como un contaminante emergente, surge la presente propuesta de la optimización y validación de una metodología de análisis que permita su monitoreo en cuerpos de agua mediante espectroscopia ultravioleta.

EXPERIMENTACIÓN

Condiciones de trabajo

- (a) Preparación de las disoluciones de trabajo. Todas las disoluciones utilizadas para las curvas de calibración fueron preparadas mediante la dilución en agua de una disolución patrón de

trimetoprim en metanol de concentración aproximada a 1000 mg/L.

- (b) Longitud de onda de trabajo. Para la selección de la mejor longitud de onda de máxima absorbancia para el monitoreo de trimetoprim se realizó un barrido en la región ultravioleta de una disolución de 10 mg/L.

Validación del método

- (c) Intervalo lineal. Se determinó mediante la preparación y medición de la absorbancia de once niveles de concentración comprendidos en el intervalo de 0.8-175 mg/L y preparados por triplicado de manera independiente. Los valores de absorbancia obtenidos se graficaron en función de la concentración de trimetoprim para evaluar el comportamiento del sistema.
- (d) Precisión. Para evaluar la precisión del sistema se realizaron tres niveles diferentes de concentración 1, 90 y 175 mg/L (inferior, medio y superior estimados en el intervalo lineal) cada nivel por sextuplicado. Posteriormente se realizó el cálculo del porcentaje de coeficiente de variación. Se manejó como criterio de aceptación que el $CV \leq 3 \%$.
- (e) Exactitud. Este parámetro se evaluó para cinco niveles de concentración: 2, 10, 50, 100 y 150 mg/L, los cuales fueron preparados por triplicado de manera independiente. Dichas disoluciones fueron analizadas como muestras y por medio de una curva de calibración externa se determinó su concentración. Finalmente se realizó la comparación entre la concentración obtenida mediante la curva de calibración y la preparada. Como criterio se manejó un porcentaje de error asociado $\leq 15 \%$.

Límites de detección y de cuantificación. Se realizaron 7 mediciones de la absorbancia de disoluciones independientes de 0.35 mg/L de trimetoprim. El límite de detección (LD) se calculó de acuerdo a la ecuación 1 y el límite de cuantificación (LC) se calculó de acuerdo a la ecuación 2 [4].

$$LD = \bar{x} + 3s \quad (1)$$

$$LC = \bar{x} + 10s \quad (2)$$

Donde:

s = desviación estándar de la absorbancia (uA)

\bar{x} = promedio de las 7 repeticiones (uA)

Análisis de interferencias. Con el objetivo de evaluar la presencia de interferencias de matriz, se prepararon por triplicado curvas de calibración de trimetoprim utilizando como disolvente cada una de las muestras de agua superficial de estudio. Los niveles de concentración de trabajo fueron: 1, 2, 5, 8 y 10 mg/L. Cada uno de los fortificados se analizó como muestra y con los parámetros de regresión lineal de una curva de calibración externa se calculó su concentración. Finalmente se determinó el porcentaje de recuperación de acuerdo con la ecuación 3.

$$\% \text{Recuperación} = \frac{\text{Crecuperada}}{\text{Cadicionada}} \times 100 \% \quad (3)$$

Los parámetros y los criterios de aceptación utilizados para la validación del método fueron los establecidos por la COFEPRIS [4].

Muestras de trabajo

a) Descripción de las muestras

Las muestras se obtuvieron del Parque Nacional de Lagunas de Montebello que se encuentra al sureste de Chiapas, en la frontera con Guatemala. La toma de muestras se realizó en temporada de lluvias. Se tomaron 2 litros de agua a un metro de profundidad. En la siguiente figura se muestra la localización de los lugares de muestreo, estas lagunas se eligieron ya que se encuentran cerca de zonas de cultivos.

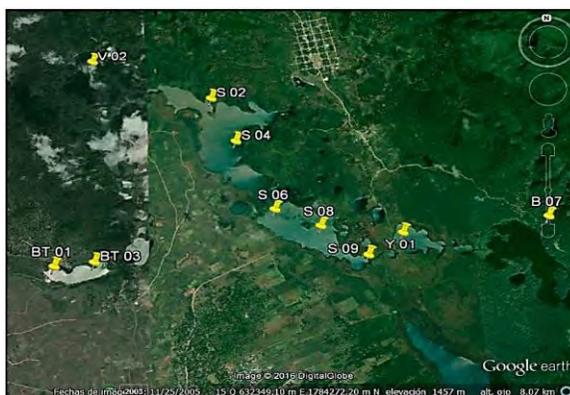


Figura 1. Imagen satelital de la ubicación de las lagunas de estudio.

b) Conservación, almacenamiento y tratamiento de las muestras

Se llenaron contenedores de polipropileno con la muestra, se taparon y se guardaron, de manera individual en bolsas de plástico, dentro de una hielera durante el viaje. En el laboratorio las muestras se almacenaron en refrigeración a 4 °C. Posteriormente, se filtraron en un equipo de microfiltración de vidrio al vacío y se utilizó una membrana de poliamida, con un tamaño de poro de 0.45 μm .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observó que a una longitud de onda de 275 nm se tiene la máxima absorción del trimetoprim, por lo que ésta fue seleccionada para realizar la determinación del analito de trabajo (ver figura 2).

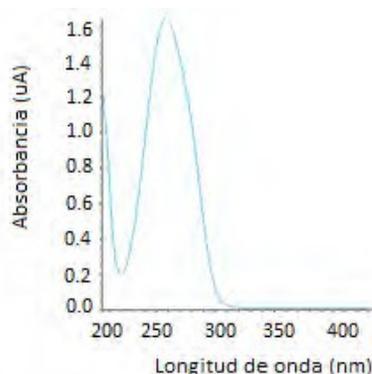


Figura 2. Espectro de absorción en el ultravioleta del trimetoprim (10 mg/L).

a) Intervalo lineal. Con respecto a las figuras de mérito se encontró que el trimetoprim presenta una respuesta lineal de la absorbancia en función de la concentración en el intervalo comprendido entre 0.8 y 175 mg/L (ver figura 3 y tabla 1).

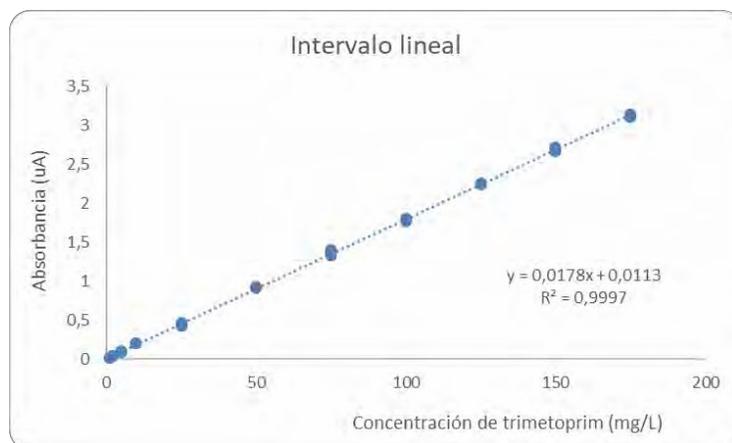


Figura 3. Intervalo lineal para la cuantificación de trimetoprim mediante espectrofotometría UV.

Tabla 1. Parámetros obtenidos de la regresión lineal de la curva de calibración obtenida para la cuantificación de trimetoprim mediante espectrofotometría ultravioleta.

Parámetro	Valor obtenido
Pendiente	0.0179 ± 0.0001 L/mg
Ordenada al origen	0.0112 ± 0.0093 uA
Coficiente de determinación (r^2)	0.9997
Coficiente de correlación (r)	0.9998
Intervalo lineal	0.8 -175 mg/L

b) Precisión. En la siguiente tabla se muestran los resultados de absorbancia obtenidos a partir de los cuales se calculó el porcentaje de coeficiente variación, se puede observar que para cada nivel de concentración trabajado dicho porcentaje es menor al 3% por lo cual cumple con el criterio de aceptación establecido.

Tabla 2. Resultados de absorbancia obtenidos a partir de tres niveles de concentración (n=7) para la evaluación de la precisión del sistema.

Concentración (mg/L)	Absorbancia (uA)						% CV
1	0.02 2	0.021	0.021	0.021	0.022	0.021	2.4
90	1.66 1	1.693	1.717	1.718	1.688	1.675	1.3
175	3.11 1	3.117	3.134	3.209	3.137	3.128	1.1

c) Exactitud. En la siguiente tabla se muestran los resultados de concentración obtenidos a partir de los cuales se calculó el porcentaje de error con respecto a la concentración real, se puede observar que para cada nivel de concentración trabajado dicho porcentaje es menor al 15% por lo que cumple con el criterio de aceptación establecido.

Tabla 3. Valores de porcentaje de error obtenidos para cinco niveles de concentración (n=3).

Concentración determinada (mg/L)	Concentración real (mg/L)	% Error
1.7	2.0	13.1
9.5	10.0	4.9
51.2	50.0	2.3
101.7	100.0	1.7
152.9	150.0	2.0

d) Límites de detección y de cuantificación. En la tabla 4, se presentan los valores obtenidos para LD y LC, por lo que la metodología de trabajo es capaz de verificar la presencia de trimetoprim cuando su concentración sea ≥ 0.36 mg/L. Con respecto al límite de cuantificación se obtuvo un valor muy cercano al punto más bajo del intervalo lineal de concentraciones (0.74 mg/L).

Tabla 4. Valores de LC y LD determinados para la metodología de trabajo (n=7).

LD	LC
(mg/L)	
0.36	0.74

e) Análisis de interferencias. Al realizar la fortificación de las muestras de estudio, para los cinco niveles de concentración de trimetoprim, se verificó que los valores de las pendientes obtenidas para cada una de las muestras fortificadas y la del blanco de

reactivos son iguales, por lo que se puede decir que no existen interferencias de matriz. En la tabla 5 se presentan los parámetros de la regresión lineal obtenidos para cada muestra fortificada.

Tabla 5. Parámetros obtenidos de las regresiones lineales de las muestras fortificadas para cada nivel de concentración adicionado.

Muestra	m	b	r ²	r
Blanco	0.0186	0.0044	0.9999	0.9999
BT01	0.0198	-0,0033	0.9983	0.9991
V02	0.0194	0.0024	0.9983	0.9991
B07	0.0196	-0,0021	0.9974	0.9987
S08	0.0192	-0,0001	0.9988	0.9994
Y01	0.0196	0.0014	0.9962	0.9981

CONCLUSIONES

Se adecuó una metodología para el análisis de trimetoprim en muestras de agua superficial mediante espectroscopía ultravioleta. El método de análisis propuesto presenta un intervalo lineal de hasta tres órdenes de magnitud (0.8-175 mg/L), es preciso y exacto, y se encuentra libre de interferencias de matriz en las condiciones de trabajo. El límite de detección resultó ser de 0.36 mg/L, sin embargo, para las concentraciones esperadas del analito en ambientes naturales de este tipo, resulta ser alto, por lo que se propone un método de concentración de muestra para optimizarlo.

La metodología propuesta emplea tiempos de análisis cortos, por lo que es posible obtener resultados de manera oportuna.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

REFERENCIAS

- [1] S. Yang, J. Cha, K. Carlson. Simultaneous extraction and analysis of 11 tetracycline and sulfonamide antibiotics in influent and effluent domestic wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography*. **1097**, [1-2] 40-53 (2005).

- [2] H.W. Florey. The use of microorganisms for therapeutic purposes. *Yale Journal of Biology and Medicine*. **19**, [1] 101-118 (1946).
- [3] M.A. Camacho, A.I. Torres, M.E. Gil, M. Obregón, V. Ruiz. Validation protocol of analytical methods for finished pharmaceutical products. *Atp Pharma Practique* (1993).
- [4] G. Vega-Rodríguez. Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos. Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura, Secretaría de Salud (2011).

ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO DE UN BIOSENSOR AMPEROMÉTRICO DE GLUCOSA EN MEDIOS NO ACUOSOS

Zita Guadalupe Cruz Aburto
Carlos Andrés Galán Vidal*
José Antonio Rodríguez Ávila
María Elena Páez Hernández¹

INTRODUCCIÓN

Se conoce a un biosensor, como un dispositivo capaz de proporcionar información analítica, cuantitativa o semicuantitativa, gracias a un elemento de reconocimiento (receptor biológico) que se encuentra en contacto directo con un elemento de transducción. El uso de biosensores amperométricos tiene como objetivo detectar, cuantificar y monitorizar analitos de interés; ya que son una alternativa analítica sencilla y económica con buena sensibilidad y exactitud.

Los biosensores amperométricos se basan en la aplicación de un potencial y la medida de la intensidad de corriente que resulta de la oxidación o reducción de las especies electroactivas implicadas en el reconocimiento biológico. Estos dispositivos utilizan con frecuencia enzimas como receptor biológico, produciendo una señal electroquímica proporcional al proceso de reconocimiento [1].

Las enzimas son catalizadores utilizados para acelerar las reacciones bioquímicas; Esta capacidad ha sido utilizada para detectar moléculas de interés y determinar su concentración en muestras complejas como los fluidos biológicos, alimentos y medioambientales [2]. Aunque el uso con fines analíticos de la catálisis enzimática se ha llevado a cabo en soluciones acuosas y condiciones fisiológicas, se ha reportado que algunas enzimas pueden funcionar en disolventes orgánicos y otros medios ajenos al ambiente natural en que normalmente trabajan [3]. Este hecho, si bien afecta en alguna medida la actividad y especificidad de las enzimas [4], el uso de solventes no acuosos puede ser ventajoso especialmente en la transformación de sustratos que son

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Centro de Investigaciones Químicas, Laboratorio de Química Analítica. Ciudad Universitaria, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Pachuca, Hidalgo. México. C.P. 42186. Tel: +52 (771) 717 2000 ext. 6785, Fax:+52 (771) 717 2109. e-mail: galanv@uaeh.edu.mx

inestables o poco solubles en agua. La actividad de la enzima en medios orgánicos depende en gran medida de la naturaleza del disolvente [5].

Con la finalidad de evaluar el comportamiento de un biosensor amperométrico de glucosa en medios utilizados comúnmente para disolver colesterol y triglicéridos (isopropanol y Triton X-100), en el presente trabajo se comparan las respuestas respecto a las obtenidas en buffer acuoso de fosfatos. Los estudios contribuirán en el desarrollo de un biosensor multienzimático y multiparamétrico de glucosa, colesterol y triglicéridos.

EXPERIMENTACIÓN

Reactivos y soluciones

Todas las soluciones fueron preparadas con reactivos comerciales de grado analítico. Glutaraldehído 8% solución acuosa, Glucosa Oxidasa (GOx) de *Aspergillus niger*, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ (Sigma); Glicina (Sigma-Aldrich); Tetratiafulvaleno (TTF), Triton x-100, α - D-Glucosa anhidra, 7,7,8,8-tetracianoquinodimetano (TCNQ), Acetonitrilo (ACN),

Tetrahidrofurano (THF) (Aldrich); KH_2PO_4 , KCl, 2-propanol (J. T. Baker). Todas las soluciones fueron preparadas con agua desionizada Milli Q (Millipore) 18.2 M Ω .

Para la construcción y evaluación de los biosensores amperométricos de glucosa, se utilizaron una solución de buffer de fosfatos pH=7 con $KH_2PO_4 + K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 0.05 mol L⁻¹ en KCl 0.1 mol L⁻¹ (PBS); TCNQ 0.002 mol L⁻¹ en THF y TTF 0.002 mol L⁻¹ en ACN,

Glutaraldehído al 3.2 % en PBS, Glicina 0.1 mol L⁻¹ en PBS y α -D-glucosa 0.1 mol L⁻¹ en PBS (utilizada después de establecido el equilibrio de mutarrotación).

El coctel enzimático se prepara con 10 mg (1,634 UI) de GOx disueltos en 1 mL de PBS.

Construcción del biosensor

Para construir los biosensores se utilizaron electrodos serigrafiados de carbono DROPSENS DS-110 (3.4 x 1.0 x 0.05 cm). Inicialmente se agregan 2 μ L de TCNQ-THF, se espera a que seque la gota a temperatura ambiente durante 1 minuto y posteriormente se agregan 2 μ L de TTF-ACN, dejando secar a temperatura ambiente durante 1 minuto; este procedimiento se realizó dos veces más. Se enjuaga el electrodo con agua desionizada y se deja secar a temperatura

ambiente durante 2 minutos. Una vez depositado el mediador, se agregan 5 μL del coctel enzimático y se deja secar a temperatura ambiente durante 40 minutos. Se agrega una gota de 5 μL de glutaraldehído y se deja secar a temperatura ambiente durante 50 minutos. Finalmente se agregan 10 μL de glicina para completar la reacción del glutaraldehído con el aminoácido durante 1 minuto y se enjuaga con agua desionizada, dejando secar el biosensor a temperatura ambiente por 30 minutos para refrigerar posteriormente y antes de su uso a 2-8°C.

Equipo

Para realizar las medidas cronoamperométricas se utilizó un amperímetro LC-4C (BASi), conectado a una computadora mediante una tarjeta de adquisición de datos PC-LanCard PCL-812PG para digitalizar los registros. Se utilizó un potencióstato galvanostato AUTOLAB PGSTAT 30 para obtener los voltamperogramas y determinar el potencial óptimo de trabajo del biosensor.

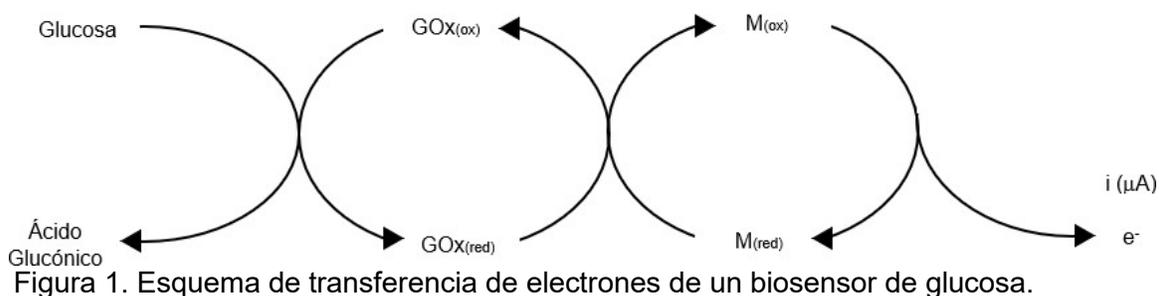
Instrumentación

Se utilizó un conector DSC (8.0 x 4.0 x 3.5 cm) para electrodos serigrafados. La celda electroquímica se constituyó por el biosensor, el electrodo de referencia de plata y el electrodo auxiliar de carbono interconstruidos (DS 100). Se ajustaron las condiciones del amperímetro con los siguientes valores: intervalo 50 μA ; potencial 0.250 V; filtro 0.02 Hz. Antes de comenzar el análisis se sumerge el biosensor durante 3 minutos en el medio que posteriormente se va a utilizar para las mediciones cronoamperométricas (PBS, 5%isopropanol, 5% tensoactivo Triton X-100); transcurrido el tiempo de humectación del electrodo, se inician las mediciones cronoamperométricas, haciendo adiciones sucesivas de α -D-glucosa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La enzima glucosa oxidasa, es una oxido-reductasa que cataliza la oxidación de la glucosa, reduciendo el oxígeno a peróxido de hidrógeno; sin embargo, se ha demostrado que los biosensores que detectan la formación del H_2O_2 liberado presentan diversas interferencias electroquímicas, ya que la medición amperométrica requiere de un potencial de trabajo elevado; Para poder disminuir el efecto de estas interferencias, se reemplazó al oxígeno (aceptor de

electrones) por un mediador sintético (M) que promueva la transferencia de electrones a potenciales más bajos, así el mediador se adsorbe entre el transductor con la enzima, permitiendo que ésta regenere inmediatamente su sitio activo sin depender del oxígeno, produciendo una señal analítica correspondiente exclusivamente a la generada por la oxidación de la glucosa [6]. En el presente trabajo se emplean como mediadores TCNQ y TTF.



Para evaluar el efecto del isopropanol y del triton X-100 sobre el desempeño del biosensor de glucosa, se obtuvieron los registros cronoamperométricos de tres dispositivos en las condiciones ideales de operación: PBS pH=7 (Fig. 2).

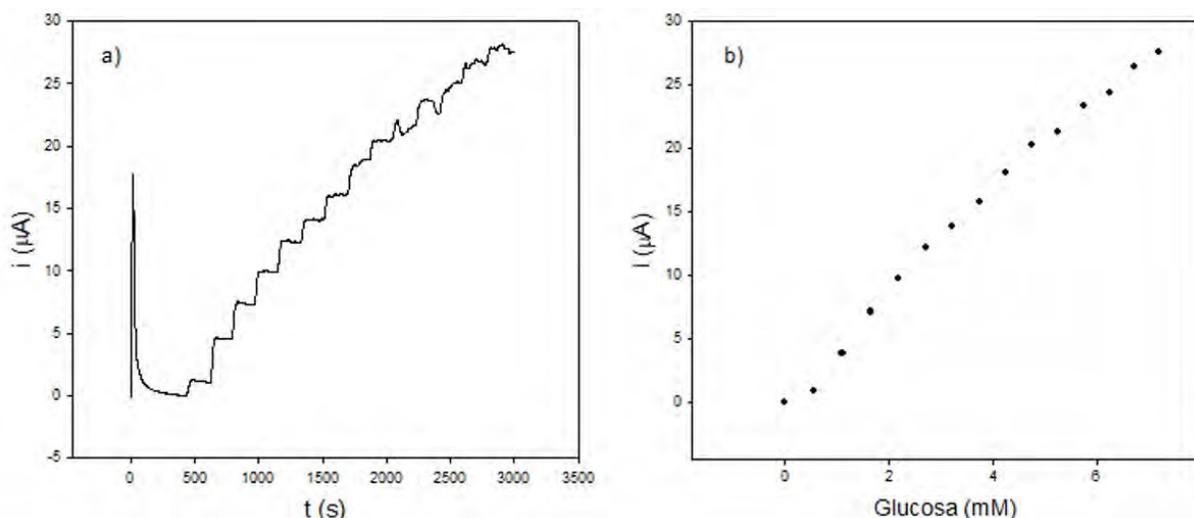


Figura 2. a) Registro cronoamperométrico típico de un biosensor de glucosa en buffer de fosfatos pH=7, E=250 mV; b) Curva de calibración obtenida a partir del registro cronoamperométrico.

Conforme a los resultados se puede observar la proporcionalidad entre la corriente del biosensor y la concentración de glucosa. Los parámetros analíticos se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Parámetros analíticos del biosensor de glucosa evaluado en buffer de fosfatos pH=7.

Pendiente/ $\mu\text{A mM}^{-1}$ *	Intercepto/ μA	r^2	LD/mM	LQ/mM
3.47 (13.8)	0.41	0.990	0.35	1.16

* entre paréntesis se reporta la desviación estándar relativa (n=3)

No obstante que los biosensores fabricados son de carácter desechable, se evaluó su desempeño por tres días para un mismo dispositivo. Los resultados muestran una pérdida de la sensibilidad del 17.7% y de 60.3% al segundo y tercer día respectivamente (Fig. 3). El intervalo de repuesta lineal también se ve afectado, pasando de 0.55-7.22 mM del primer día a 0.55-4.26 mM para el segundo día. En los estudios subsecuentes sólo se reportan los resultados del primer calibrado.

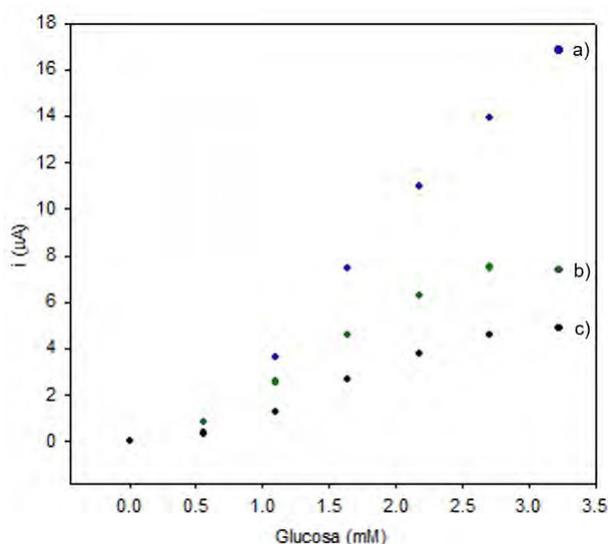


Figura 3. Curva de calibración del biosensor a través del tiempo a) día 1. b) día 2. c) día 3.

Con la finalidad de evaluar la respuesta del biosensor respecto a la obtenida en PBS, se realizaron curvas de calibración cronoamperométricas en isopropanol al 5% y Triton X- 100 al 5%; ambos en PBS. En ambos medios se obtuvo una respuesta directamente proporcional de la señal con relación al aumento de la concentración de glucosa. Los resultados se presentan en la Tabla 2.

Medio	Pendiente/ $\mu\text{A mM}^{-1}$ *	Intercepto/ μA	r^2	IRL mM
PBS	3.47 (13.8)	0.41	0.990	0.55-7.20
Isopropanol 5%	2.82 (27.5)	0.97	0.972	0.55-7.20
Triton X-100	3.55 (15.6)	0.43	0.981	0.55-7.20

Tabla 2. Parámetros analíticos del biosensor de glucosa evaluado en diferentes medios.

*entre paréntesis se reporta la desviación estándar relativa

De acuerdo con los resultados se puede observar que existe una disminución en la sensibilidad del biosensor en isopropanol; así como una mayor dispersión de ésta. Este hecho sugiere que existe afectación en la actividad de la enzima en este medio; sin embargo, en el caso del tensoactivo se encuentra un incremento no significativo de la sensibilidad. En todos los casos el intervalo de respuesta lineal fue el mismo.

Las desviaciones estándar relativas de las pendientes de los biosensores en los diferentes medios, es alta, lo cual es debido al carácter artesanal del proceso de construcción de los dispositivos y a la reproducibilidad en la respuesta de los propios transductores. Este hecho hace que al realizar el análisis de varianza de la sensibilidad de los biosensores, no se encuentren diferencias significativas entre los tres medios, lo cual implica que es posible preparar biosensores multienzimáticos y multiparamétricos de glucosa, colesterol y triglicéridos, toda vez que los tres analitos pueden disolverse- dispersarse en mezclas de isopropanol-Triton X-100-PBS, donde las enzimas utilizadas para cuantificar colesterol y triglicéridos no se ven afectadas en su actividad, al igual que la glucosa oxidasa.

CONCLUSIONES

Conforme a los resultados obtenidos se puede concluir que el comportamiento de un biosensor amperométrico de glucosa en isopropanol al 5% y Triton X-100 al 5%, es equivalente al obtenido en PBS, razón por la cual el dispositivo puede integrar las enzimas necesarias para desarrollar un biosensor multienzimático y multiparamétrico de glucosa, colesterol y triglicéridos sin afectación de la respuesta debida a glucosa.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido financiado gracias al apoyo de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, del PRODEP y del CONACyT (Ref: 624277). CAGV, JARA y MEPH agradecen al SNI-CONACyT la distinción otorgada.

REFERENCIAS

- [1] B. R. Egdins. Chemical sensors and Biosensors. Irlanda del Norte. Reino Unido. (2002).
- [2] E. Torres Ramírez, A. Méndez Albores. Biosensores enzimáticos. **15** 1-8. (2014).
- [3] A. Ninčević Grassino, S. Milardović, Z. Grabarić, B. S. Grabarić. Food Chemistry. **125** 1335-1339 (2011).
- [4] C. R. Wescott, A. M. Klibanov. Enzymology. **1206** [1]. 1-9 (1994).
- [5] J. M. Sánchez Montero, F. Ortega Ortiz de Apodaca, A. Doadrio Villarejo. Biocatálisis aplicada a la obtención de fármacos y productos de alto valor añadido. Real Academia Nacional de Farmacia. España. (2012).
- [6] E. Gonzáles López. Evaluación de biosensores amperométricos para el desarrollo de dispositivos multiparamétricos de interés biomédico. (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Hidalgo, México. (2016).

EXTRACCIÓN DE MANGANESO (II) DE MUESTRAS ACUOSAS EMPLEANDO UNA RESINA QUELANTE IMPREGNADA CON ROJO DE ALIZARINA S

Tanese Montesinos Vázquez
Gabriela Alejandra Vázquez Rodríguez
Irma Pérez Silva, Araceli Sierra Zenteno
María Elena Páez Hernández*¹

INTRODUCCIÓN

Los procesos industriales generan desechos que si no son tratados correctamente afectan el ambiente y la salud humana. Metales pesados como Cr, Cu, Pb, Mn, Hg y Cd son contaminantes comunes en el suelo y en el agua. Algunas técnicas desarrolladas para la remoción de iones incluyen procesos de precipitación, extracción por solventes, recuperación electroquímica, separación por membranas e intercambio iónico [1]. Las resinas comunes de intercambio iónico tienen un grado de selectividad pequeño entre cationes mono y divalentes, por esta razón desde hace algunas décadas se han incorporado quelantes a estas resinas, los cuales provocan un aumento en la selectividad de la resina [2].

Para que los quelantes sean retenidos en la resina, éstos deberán poseer una carga iónica diferente a la del polímero. En el caso del rojo de alizarina S (ARS), el agente complejante empleado en este trabajo, éste puede retenerse en una resina aniónica mediante la interacción electrostática de la amina terciaria en la resina y los oxígenos desprotonados del grupo sulfito y fenol. Así, el complejante queda disponible para interactuar con algún ion metálico de interés.

El rojo de alizarina S (1,2-dihidroxi-9,10-antraquinona-3-sulfonato de sodio), es un derivado de las antraquinonas, soluble en agua y empleado en titulaciones complejométricas y como indicador para determinar cantidades pequeñas de iones metálicos. En disoluciones con pH de 4

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Área Académica de Química. Carretera Pachuca-Tulancingo Km 4.5, Colonia Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo, C.P. 42184. Tel.: +52 (771) 7172000, ext. 2217, e-mail: paezh@uaeh.edu.mx.

uno de los protones fenólicos se encuentra disociado, en disoluciones con pH entre 7-10 ambos protones se encuentran disociados (Figura 1) [3-4].

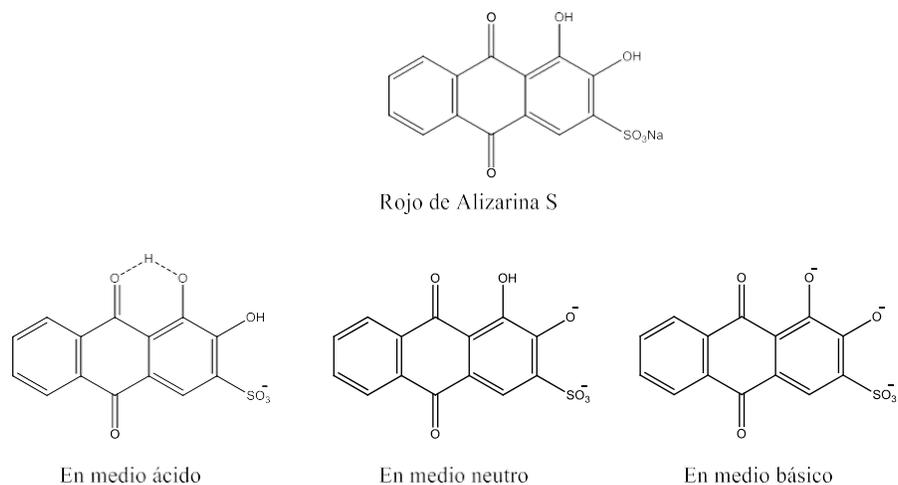


Figura 1. Especies de rojo de alizarina S en diferentes medios.

Se han hecho estudios sobre los complejos de hidroxiantraquinonas (alizarinas) en diferentes medios, encontrando que el carbonilo y el hidróxido se encuentran en posiciones adyacentes, y estos forman el quelato con el metal. En medio ligeramente alcalino la alizarina forma un complejo con los iones metálicos como monoanión. De todas las estructuras monoaniónicas, solo la 9-hidroxi-2-oxi-1,10-antraquinona tiene los grupos carbonilo e hidróxido adyacentes. Por lo tanto el complejo formado debe tener la estructura observada en la figura 2 [5].

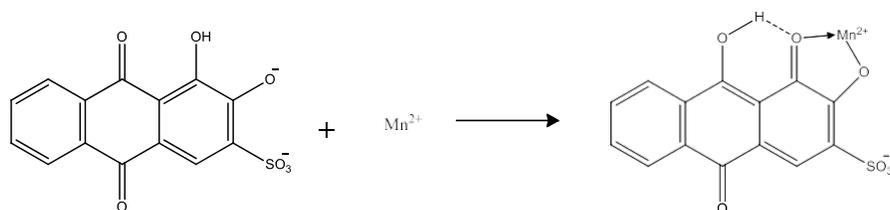


Figura 2. Complejo del rojo de alizarina S con manganeso (II).

En el presente trabajo se evaluó la extracción de Manganeso (II) de disoluciones acuosas y de papillas para bebé, empleando una resina aniónica Dowex 1x8 impregnada con rojo de alizarina S (ARS) como agente complejante. Se estudiaron parámetros que influyen en el proceso de extracción, como la cantidad de alizarina empleada en la impregnación, masa de la resina, pH y tiempo de agitación.

EXPERIMENTACIÓN

Se empleó una resina aniónica Dowex 1x8; la resina se lavó con una disolución de etanol- agua-HCl (2:1:1), 5 mL por gramo de resina. Posteriormente se lavó con agua desionizada hasta pH de 5 y finalmente se secó durante 15 horas a 60 °C.

La impregnación de la resina consistió en colocar la resina con la alizarina y agua desionizada (25 mL por gramo de resina), la mezcla se agitó durante 3 horas para después decantar, lavar con agua desionizada y finalmente secar a 60 °C durante la noche.

La resina Dowex-ARS obtenida se puso en contacto con 20 mL de la disolución acuosa de manganeso (II) en agitación mecánica a temperatura ambiente durante 1.5 horas. Se evaluó la influencia en la extracción variando la cantidad de ARS empleando concentraciones entre 0 y 10% (p/p), la masa de resina (0.15-1 gramos), pH (5-9), tiempo de agitación y concentración de manganeso (II).

El proceso de reextracción del manganeso extraído a la Dowex-ARS se llevó a cabo empleando 20 mL de HNO₃ 2 M con un tiempo de agitación de 1.5 horas. La concentración de manganeso en las disoluciones acuosas antes y después de la extracción y reextracción se determinó empleando un espectrofotómetro de absorción atómica Varian SpectrAA880.

La resina Dowex-ARS se empleó para extraer manganeso (II) de una papilla para bebé adquirida en un comercio local. La papilla requirió un pretratamiento que consistió en digerir 1 gramo de papilla para bebé (vegetales mixtos) con 2 mL de HNO₃ concentrado, calentando la mezcla durante 1.5 horas. La mezcla obtenida se ajustó un pH de 8 y posteriormente se aforó a 10 mL. Esta disolución se puso en contacto con 0.3 g de la resina Dowex-ARS y se agitó durante 1.5 h. La disolución obtenida de la digestión de la papilla fue analizada por horno de grafito, debido a que el contenido de Mn (II) estaba por debajo del límite de cuantificación de la curva de calibración por flama. El proceso de preconcentración se realizó empleando 5 mL de una disolución de HNO₃ 2 M, en agitación por 90 minutos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de la variación del porcentaje de rojo de alizarina S en el porcentaje de extracción de manganeso (II)

Al modificar el porcentaje de rojo de alizarina empleada para impregnar la resina Dowex, se encontró que el porcentaje de extracción máximo obtenido fue del $97.58 \pm 1.00\%$ con el 10% de ARS, como se puede observar en la Tabla 1. Es importante hacer notar que la extracción de manganeso depende de la presencia de alizarina en la resina, dado que sólo un 8% de extracción es obtenido con la resina sin impregnar. Para los experimentos posteriores se empleó un porcentaje de alizarina del 5% ya que a partir de este porcentaje no hay una variación significativa de la extracción.

Tabla 1. Porcentaje de extracción de Mn (II) empleando diferentes porcentajes de rojo de alizarina S. Condiciones: 20 mL de la solución de Mn (II) 1 ppm a pH 8.1, 1.5 horas de tiempo de extracción, 0.6 g de resina impregnada.

Concentración de ARS en la disolución de impregnación (% p/p)	Extracción de Mn (II) (%) [*]
0	8.05 (9.45)
2.5	85.30 (3.01)
5	97.58 (1.02)
7.5	96.57 (0.95)
10	96.97 (2.22)

*Porcentaje de desviación estándar relativa entre paréntesis, n=3.

Efecto de la variación de cantidad de resina Dowex-ARS en el proceso de extracción de manganeso (II)

Los resultados de los experimentos para valorar el efecto de la cantidad de resina Dowex- ARS empleada se muestran en la Tabla 2, donde se puede observar que a partir de 0.75 gramos se recupera más del 99% de manganeso (II). Se eligió una cantidad de 0.6 gramos de DOWEX-ARS para los subsecuentes experimentos para poder observar el efecto de otras variables en la extracción y dado que se obtiene un porcentaje aceptable de extracción (97.58%).

Efecto del pH en el porcentaje de extracción de manganeso (II)

La influencia del pH en la extracción puede observarse en la figura 3. A partir de un valor de pH de 8 se obtienen porcentajes mayores al 95%. Esto se explica debido a que la desprotonación de los grupos OH en la alizarina en disoluciones básicas facilita la complejación del manganeso, por el contrario en disoluciones ácidas los oxígenos se encuentran protonados, impidiendo la coordinación.

Tabla 2. Efecto de la masa de resina Dowex-ARS empleada en la extracción de Mn (II).

Masa de resina Dowex-ARS (g)	Extracción de Mn(II) (%)
0.15	73.83 (1.28)
0.3	93.72 (0.76)
0.6	97.58 (1.02)
0.75	99.29 (3.91)
1.0	99.74 (0.84)

*Porcentaje de desviación estándar relativa entre paréntesis, n=3.

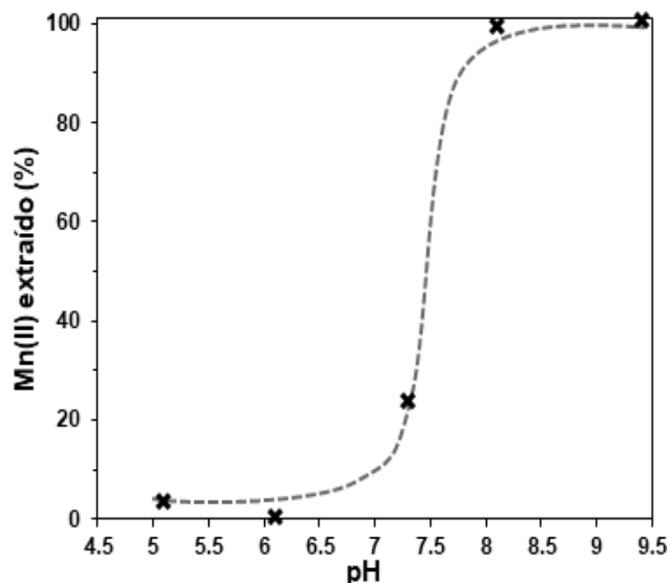


Figura 3. Porcentaje de extracción de Mn (II) a diferentes valores de pH. 10 mL de disolución acuosa 1 ppm de Mn (II), masa de resina: 0.6 g. Tiempo de contacto: 1.5 h.

Tabla 3. Efecto del tiempo en la extracción de Mn (II). 20 mL de disolución acuosa de 1 ppm de Mn (II). pH=8.1, 0.6 g de resina.

Tiempo (min)	Extracción de Mn(II) (%)
15	93.14 (0.22)
30	97.68 (0.39)
60	99.77 (0.17)
90	99.71 (0.27)
120	99.62 (0.07)
180	99.54 (0.31)
240	99.36 (0.34)
300	99.00 (0.16)

*Porcentaje de desviación estándar relativa entre paréntesis, n=2

Estudio del tiempo de agitación en el proceso de extracción.

Se realizaron experimentos variando el tiempo de contacto entre la resina Dowex-ARS y la solución de manganeso, observando un porcentaje de extracción constante después de 60 minutos de agitación (Tabla 3). Se consideró 90 minutos el tiempo necesario para los experimentos de extracción para asegurar que el sistema se encuentra en equilibrio.

Isotermas de adsorción

Para evaluar la capacidad de adsorción se empleó un rango de concentración de manganeso (II) de 0.5-80 ppm y 0.6 g de la resina impregnada. Se evaluaron tres modelos, Langmuir, Freundlich y Dubinin-Raduskevich (D-R). La isoterma de Langmuir se realizó graficando C_e/q_e en función de C_e , de acuerdo a la expresión lineal del modelo (ecuación 1). Donde q_e es la concentración de manganeso (II) presente en la resina Dowex-ARS en el equilibrio, C_e es la concentración de manganeso (II) en la solución en el equilibrio, K_L es la constante de adsorción de Langmuir y Q_{Max} es la capacidad de adsorción de la resina.

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{K_L Q_{Max}} + \frac{1}{Q_{Max}} \quad (1)$$

Para obtener la isoterma de Freundlich se utilizó la ecuación 2, en la que K_F es una constante que indica la capacidad de adsorción de la resina y N es un parámetro empírico relacionado a la intensidad de la adsorción.

$$\ln q_e = \frac{1}{N} \ln C_e + \ln K_F \quad (2)$$

El modelo D-R fue aplicado para determinar si se tiene una adsorción física o química. La expresión lineal del modelo se muestra en la ecuación 3, donde β es una constante relacionada con la energía libre de adsorción, q_m es la capacidad de saturación teórica y ε es el potencial de Polanyi.

$$\ln q_e = \ln q_m - \beta \varepsilon^2 \quad (3)$$

Los parámetros obtenidos de las isotermas de adsorción se presentan en la Tabla 4. De acuerdo con las isotermas de Langmuir y Freundlich el proceso de adsorción es favorable al tener un valor de R_L entre 0 y 1, y un valor de n entre 0 y 10. Con el modelo de Dubinin- Radushkevich se puede deducir que el proceso predominante de adsorción es físico, ya que el valor de la energía libre del sistema (E), determinada con la ecuación 6, es menor a 8 kJ/mol. [6,7]

$$E = \frac{1}{\sqrt{-2\beta}} \quad (4)$$

Uso de la resina Dowex-ARS para la extracción de Mn (II) de una muestra real (papilla para bebé)

El porcentaje de extracción de manganeso (II) en la papilla fue del $55.67 \pm 0.09\%$, menor al obtenido en sistemas controlados (97.58%), como consecuencia de la complejidad de la matriz, incluyendo otros iones metálicos como Cu, Zn y Fe que tienen mayor afinidad que el manganeso para formar complejos con la alizarina [8]. Posteriormente, y siguiendo la metodología descrita anteriormente, se logró preconcentrar hasta 3 veces al manganeso retenido en la resina, lo cual permitió realizar la cuantificación de la disolución por medio de absorción atómica en llama. Los resultados obtenidos por ambas metodologías difieren debido a la baja extracción de Mn por un efecto matriz en la muestra (concentración de Mn (II) en la papilla: $0.78 \pm 0.09 \mu\text{g/g}$ por horno de grafito, 0.67 ± 0.90

$\mu\text{g/g}$ por flama con la preconcentración con la Dowex-ARS). Esto obliga a que se haga un estudio más profundo donde se debe construir por ejemplo, una curva de adiciones patrón a fin de que a partir del resultado de la muestra preconcentrada se pueda conocer la concentración del manganeso en la papilla.

Tabla 4. Parámetros de las isotermas de adsorción.

Langmuir				Freundlich			Dubinin-Radushkevich	
Q_{max} (mg/g)	K_L (L/mg)	r^2	R_L	K_F	r^2	N	E (kJ/mol)	r^2
1.088	0.291	0.93	0.9996	0.1662	0.91	2.09	3.63	0.85

CONCLUSIONES

El uso de resinas quelantes ha sido útil en la extracción de concentraciones pequeñas de metales. Con las condiciones óptimas se obtuvo un porcentaje de extracción del 97.58% de manganeso (II) empleando una resina aniónica Dowex 1x8 impregnada al 5% (p/p) con rojo de alizarina S.

Al emplear la resina Dowex-ARS para extraer manganeso (II) de papillas para bebé se obtuvo un porcentaje de extracción del 55.67% y se logró un preconcentrar hasta 3 veces el manganeso retenido en la resina. La extracción puede mejorarse empleado un método de digestión más riguroso, esto podría eliminar las sustancias que interfieren en la extracción. Sin embargo, estos resultados preliminares en la determinación de manganeso en muestras reales son prometedores porque se evitaría el uso de instrumentos más costosos como el horno de grafito para su cuantificación.

El empleo de cantidades pequeñas de alizarina como complejante y el uso nulo de solventes orgánicos hacen de este método un proceso económico y amigable con el ambiente.

REFERENCIAS

- [1] M. Ciopec, C.M. Davidescu, A. Negrea, I. Grozav, L. Lupa, P. Negrea, A. Popa. Chemical engineering research and design, **90** (10), 1660-1670 (2012).
- [2] R. J. Eldridge, Chelating ion exchange resins. 2271-2279 (2000).
- [3] L. Yadav, S.S. Sanjay, P. Ankit, M.C. Chattopadhyaya. Der Pharma Chemica, **2**, 114- 121

- (2010).
- [4] T. Sato, M.L. Good. *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*, **28**(11), 2733-2742. (1966).
- [5] V.Y Fain, B.E. Zaitsev, M.A. Ryabov. *Russian Journal of Coordination Chemistry*, **30** (5), 365-370 (2004).
- [6] R. Qu, C. Sun, F. Ma, Z. Cui, Y. Zhang, X. Sun, P. Yin. *Fuel*, **92** (1), 204-210. (2012).
- [7] A.O. Dada, A.P. Olalekan, A.M. Olatunya, O. Dada. *IOSR Journal of Applied Chemistry*, 3(1), 38-45 (2012).
- [8] E.D.N. da Silva, A.B.P Leme, M. Cidade, S. Cadore. *Talanta*, **117**, 184-188 (2013).

APLICACIÓN DE LA ELECTROFORESIS CAPILAR A LA DETERMINACIÓN DE LOS POLIFENOLES DEL MARRUBIO (*Marrubium Vulgare L*)

Misael Eulices Fernández Salazar¹
María Gabriela Vargas Martínez⁽¹⁾
Brígida del Carmen Camacho Enríquez²

INTRODUCCIÓN

El marrubio (*Marrubium Vulgare L.*) es una planta de la familia de las labiadas, originaria de Europa, Asia y del norte de África; se ha naturalizado en muchas regiones del mundo, especialmente en América del Norte [1]. En México se puede encontrar marrubio en diferentes estados, como son Baja California Norte, Baja California Sur, Chiapas, Chihuahua, Coahuila, Ciudad de México, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sonora, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas.[2] Desde la antigüedad se tienen reportes de las aplicaciones del marrubio para tratar enfermedades relacionadas con el sistema digestivo y el sistema respiratorio, tradicionalmente se ha utilizado para tratar síntomas asociados con el asma, bronquitis, catarros, gripe, resfríos y tos [3]. El extracto acuoso de las hojas presenta un sabor muy amargo debido a la presencia de una lactona diterpénica llamada marrubina la cual también provoca apetito y es un agente antiinflamatorio [3]. En estudios recientes se ha reportado que los extractos del Marrubio presentan una gran actividad antifúngica y larvicida debido a la presencia de polifenoles [4-5].

¹ Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores- Cuautitlán, Área de Química Analítica. Laboratorio de Desarrollo de Métodos Analíticos y Laboratorio de Productos Naturales, Avenida 1° de Mayo, S/N, Cuautitlán Izcalli, Edo México, 54740. Tel: 56232003. E-mail: misael_fdz@yahoo.com.mx, gvargasm@unam.mx.

² Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores- Cuautitlán, Área de Química Analítica. Laboratorio de Productos Naturales, Avenida 1° de Mayo, S/N, Cuautitlán Izcalli, Edo México, 54740, Tel: 56232065. E-mail: bcamachoe@gmail.com

En el trabajo realizado previamente, el cual se presentó en el XXX congreso nacional de química analítica, en el año 2017, con el nombre “caracterización de polifenoles del extracto acuoso de marrubio (*Marrubium vulgare* L.) Por electroforesis capilar” [6], se reportó la identificación de cinco componentes en el extracto acuoso, los cuales son: arbutina, catequina, naringenina, resolcinol y rutina. En el congreso de este año se presentan los avances sobre la investigación hasta el día de hoy, que consisten en 1) la identificación de los compuestos polifenólicos, ahora en extractos etanol:agua (70:30), 2) la identificación de los compuestos polifenólicos en muestras de extracto hidrolizados, 3) el estudio realizado para la selección del estándar interno a utilizar, 4) los resultados de la evaluación de la precisión de las señales y 5) la construcción y análisis de las curvas de calibración para la obtención de los modelos lineales para la posterior cuantificación de los polifenoles en los extractos de marrubio. Como hallazgos podemos resumir, que se lograron identificar 12 polifenoles en extractos acuosos e hidroalcohólicos, además de que resulto necesaria la ruptura de la unión de los azúcares unidos a ciertos polifenoles mediante una hidrólisis, para poder lograr su identificación. Las ecuaciones de las curvas de calibración de cuatro de los polifenoles principales fueron obtenidas para poder cuantificar éstos componentes en los extractos.

EXPERIMENTACIÓN

- Equipo: Se utilizó un equipo de Electroforesis Capilar P/ACE MDQ (Fullerton, CA, USA). Se utilizaron capilares de sílice fundida de 50 μm de diámetro interno, 51.1 cm de longitud total y 41.1 cm de longitud efectiva, con detección a 200 nm, con un voltaje de 26.8 kV y 22 °C. Las corrientes obtenidas fueron de alrededor de 90 μA .
- Condiciones de separación por electroforesis capilar: Se utilizó un equipo de Electroforesis Capilar P/ACE MDQ, Beckman Coulter Capillary Electrophoresis system (Fullerton, CA, USA). Las mediciones de los compuestos fenólicos se realizaron utilizando capilares de sílice fundida de 50 μm de diámetro interno, 51.7 cm de longitud total y 40.2 cm de longitud efectiva, la detección se realizó a 200 nm, a un voltaje aplicado de 26.8 KV. Las corrientes obtenidas fueron alrededor de 85 a 95 μA . El buffer de corrida o separación, consistió en un buffer de boratos 50 mM (a partir de tetraborato de sodio) y como disolvente agua desionizada a pH 9.4 y de 25

mM en el caso del análisis de precisión del sistema.

- Extracción de la muestra vegetal por sonicación: Se pesó aproximadamente 1 g de hoja de marrubio previamente tamizada con una maya número 60 y se agregó 20 mL de agua desionizada, se ultrasónico por 60 minutos. Posteriormente se filtró la solución a gravedad y se centrifugó a 10000 rpm durante 10 minutos. Antes de su inyección al equipo de electroforesis capilar la solución se filtró con acrodiscos de jeringa de 0.45 μ m y se realizó la separación.
- Hidrolisis del extracto: Se pesaron aproximadamente un gramo de hoja de marrubio y se agregaron 20 mL de solución etanol-agua (70:30), se ultrasónico durante 60 min, se filtró la solución al vacío y se concentró el extracto a una temperatura de 35 °C durante 60 minutos, para la hidrólisis se utilizó 5 mL de una solución de hidróxido de sodio (NaOH) 1.8 N, ácido etilendiamintetraacético (EDTA) 10 mM y ácido ascórbico (HAs) al 1% nombrada como solución hidrolizante posteriormente se centrifugo la solución a 1000 rpm durante 10 min, se decantó la solución y se filtró con una membrana de 25 micrómetros, antes de la inyección en el equipo de electroforesis capilar.
- Caracterización de polifenoles en el extracto etanol:agua (70:30): Se realizó la separación del extracto para observar el perfil electroforético que presenta y el fraccionamiento de los componentes de la muestra, posteriormente y para su identificación se realizó una adición de la solución estándar del polifenol que se sospecha está presente en el extracto, siendo la identificación positiva si la señal crece. Precisión del sistema: Se preparó una solución de estándares de Arbutina, Catequina, Resveratrol y Metilparabeno como estándar interno y se realizaron 12 repeticiones de electroferogramas con el fin de analizar la repetibilidad en tiempos, áreas y alturas de las señales obtenidas.
- Cuantificación de los Polifenoles: Para la cuantificación de los polifenoles se utilizó como estándar internos al metilparabeno. Para la elaboración de las curvas de calibración se prepararon soluciones stock de cada polifenol y del E.I. La tabla de los sistemas con la preparación de los diferentes niveles de las curvas de calibración se puede ver en la Tabla 1.

Tabla 1.- Preparación de los sistemas para la curva de calibración de los polifenoles

Sistema	Vol. Polifeno I Stock (mL)	[Arbutina] (mg/L)	[Catequina] (mg/L)	[Resveratrol] (mg/L)	[Metilparabeno] E.I. (mg/L)	Vol. metilparaben o E.I. (mL)	Vol. Aforo (mL)
1	0.5	8.0281	5.4566	6.6528	20	2	25
2	1	16.0563	10.9132	13.3056	20	2	25
3	2	32.1126	21.8265	26.6112	20	2	25
4	3	48.1689	32.7398	39.9168	20	2	25
5	4	64.2252	43.6531	53.2224	20	2	25
6	5	80.2252	54.5664	66.528	20	2	25

Cada solución de la curva fue medida por triplicado y los datos de tiempo de migración, área y altura fueron obtenidos, así como las relaciones de (A_{NAR}/A_{EI}) y alturas (H_{NAR}/H_{EI}) y analizados utilizando el software Statgraphics Centurion XVI.

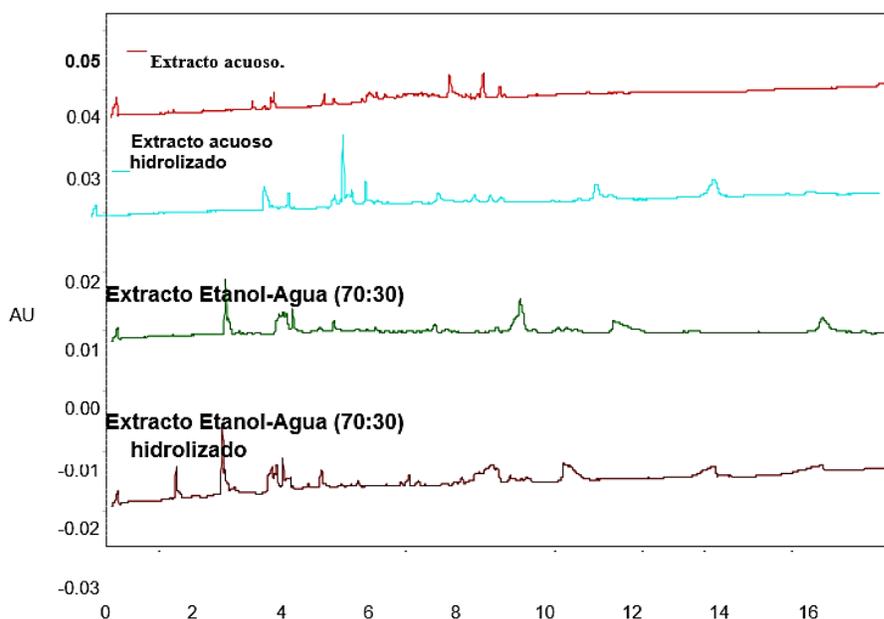


Figura 1. A) Electroferogramas correspondientes a los extractos acuoso, etanol-agua (70:30) y sus respectivos hidrolizados

Tabla 2. Polifenoles identificados en el extracto acuoso e hidrolizado.

Extracto acuoso	Hidrolizado
Epicatequina.	
Resorcinol	
Naringenina.	
Rutina.	
	Catequina.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación de los polifenoles en los extractos.

Se realizó la identificación de diferentes polifenoles: A) en el extracto acuoso (ya reportadas con anterioridad)[6], B) en el extracto etanol-agua 70:30) y C) en sus correspondientes extractos hidrolizados, los cuales se muestran en los electroferogramas de la Figura 1 y se resumen en las Tablas 2 y 3. Esta identificación se realizó 1) por comparación de los tiempos de migración, 2) por adición del estándar que se sospecha al extracto y 3) por comparación de los espectros de absorción obtenidas (con el detector de arreglo de diodos) con el espectro de su correspondiente estándar.

Tabla 3. Polifenoles presentes en el extracto hidroalcohólico y su hidrolizado.

Extracto hidroalcohólico	Hidrolizado
Arbutina.	
Resveratrol.	
	Ácido Ferúlico
	Ácido syringic
	Kaempferol
	Luteolina
	Tirosol

Selección del estándar interno: La adición de un estándar interno (E.I.) tiene la finalidad de minimizar las diferencias en los tiempos de migración, áreas y alturas de los picos provocadas por los cambios de viscosidad de los extractos. Esta selección consistió en adicionar un compuesto de estructura similar a los analitos en estudio, que sea de alta pureza, y no esté presente de forma natural en la muestra; además, su señal debe estar perfectamente resuelta del resto de los picos, lo más gaussiana posible (simétrica), para facilitar su buena integración. De esta forma el

metilparabeno fue elegido como estándar interno para los extractos de etanol-agua (70:30) y a continuación en la tabla 4, se muestran los tiempos de migración, las áreas, las alturas y el coeficiente de variación para los tres estándares analizados.

Precisión del sistema: De acuerdo con las guías de validación, en lo que respecta a los tiempos de migración se obtuvieron %RSD < 2% (tabla 1) y de acuerdo a los criterios de aceptación podemos afirmar que el método es preciso en el caso de los tiempos de migración.

Tabla 4. Precisión (%RSD) en tiempos de migración de los polifenoles identificados.

Estándar	Promedio (\bar{x}) en t_m	Desv. Est (s).	%RSD
Arbutina	3.47	0.01	0.36
Resveratrol	4.50	0.01	0.45
Metilparabeno (E.I.)	5.12	0.03	0.52
Catequina	5.26	0.02	0.56

Obtención de los modelos lineales de las curvas de calibración

Los datos obtenidos de áreas, alturas, así como las relaciones de (A polifenol/A EI) y alturas (H NAR/H EI) de los experimentos planteados en la Tabla 1, se midieron por triplicado y analizaron utilizando el software Statgraphics centurión XVI. Se concluyó que el mejor parámetro para relacionar con la concentración es “la relación de alturas” es decir el cociente de la Altura del polifenol / Altura del metilparabeno (H NAR/H EI) ya que como se muestra en la Figura 2 existe un buen ajuste al modelo lineal y los datos presentan residuales al azar (condición de homocedasticidad), con coeficientes de determinación $R^2 > 0.98$ en todos los casos.

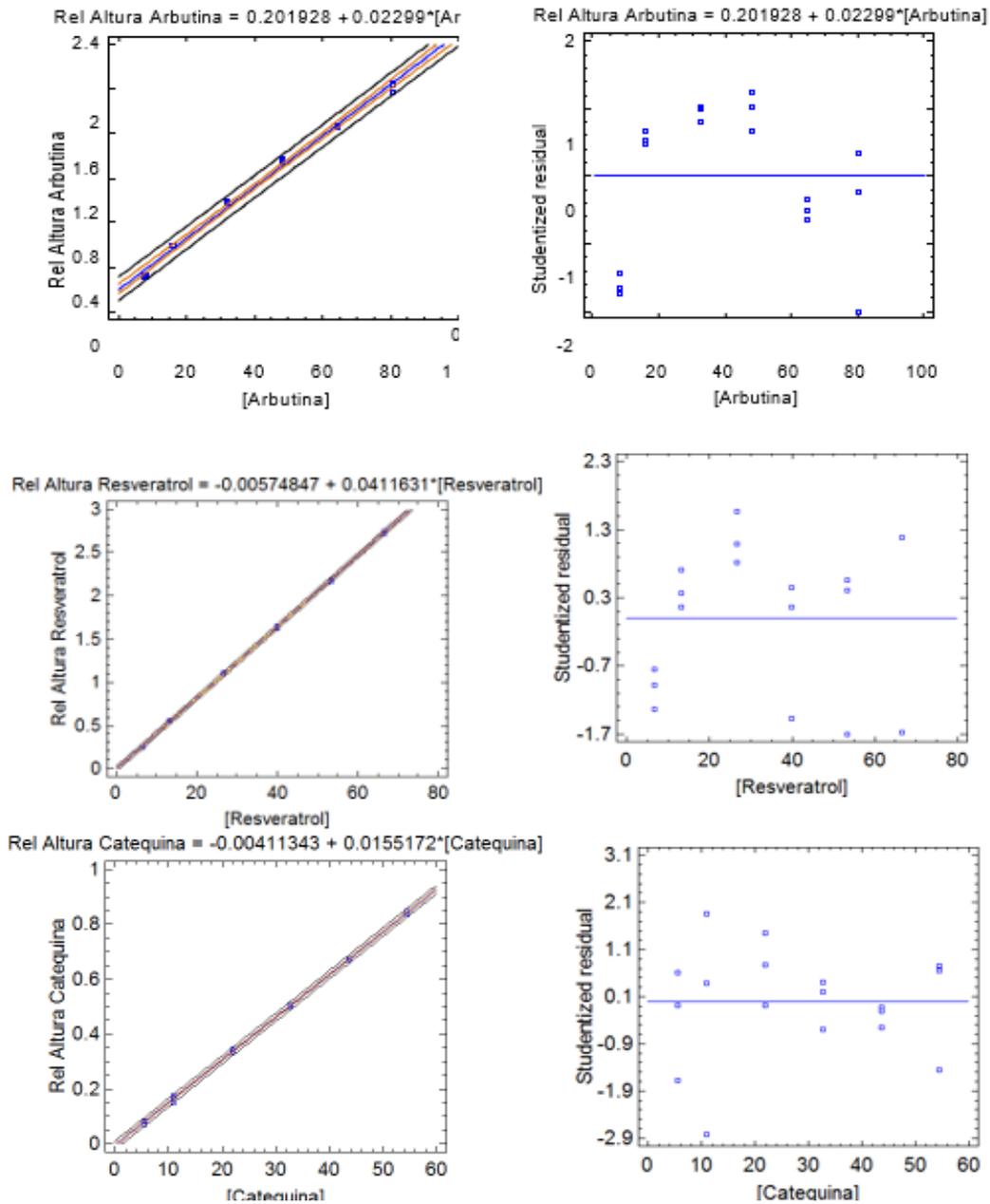


Figura 2. A) Curvas de calibración a concentraciones crecientes de cada uno de los polifenoles medidos por EC a 200 nm y b) sus residuales.

Finalmente, con la relación obtenida en las curva de calibración, se logró cuantificar los polifenoles presentes en el extracto etanol-agua (70:30), los cuales se midieron 6 veces en la muestra y a continuación se muestran las desviaciones estándar y la concentraciones en la tabla 5.

Tabla 5. Cuantificación de los polifenoles identificados en el extracto etanol-agua, delmarrubio.

<u>Estándar</u>	Límite de detección en la muestra (mg/L)	Desviación estándar de la muestra.	Concentración (mg/L)
Arbutina	4.05	0.03	1.33 +-0.03*
Resveratrol	1.13	0.41	5.55+-0.41
Catequina	1.46	2.04	24.83+-2.04

Perspectivas: Posteriormente se realizará la cuantificación de los polifenoles presentes en el extracto etanol-agua hidrolizado y se realizará el análisis de la dosis letal media del extracto acuoso, utilizando *Artemia franciscana* como sistema de estudio.

CONCLUSIONES

Con base en los análisis realizados en los extractos acuosos, etanol-agua (70:30) y sus correspondientes extractos hidrolizados, se pudo detectar la presencia de 12 compuestos polifenólicos, en las hojas de marrubio.

En cuanto a la precisión del sistema, se logró elegir un estándar interno con el cual se evaluó el &RSD en cada uno de los tiempos de migración de los estándares a analizar. Se logró detectar tres polifenoles (Arbutina, Catequina y Resveratrol), presentes en el extracto etanol-agua (70:30) los cuales se cuantificaron mediante la interpolación en la curva patrón, sin embargo en el caso de la arbutina no se logró cuantificar debido a que la señal obtenida presentó una altura debajo del límite de detección, por lo tanto podemos decir que fue posible identificar a la arbutina como componente del extracto, sin embargo la señal es tan baja que no se puede cuantificar con precisión.

En el caso de la Catequina y Resveratrol, las señales obtenidas presentaban una mayor altura, arriba del límite de detección de la curva, por lo tanto se logró cuantificar exitosamente los dos componentes, con una precisión aceptable.

AGRADECIMIENTOS

A la D.G.A.P.A, UNAM por el financiamiento otorgado con el Proyecto PAPIME PE204814 titulado: "Actualización y Fortalecimiento de la enseñanza experimental de las asignaturas Farmacognosia y Fitoquímica de la carrera de Licenciado en Farmacia y Licenciado en Bioquímica Diagnóstica".

REFERENCIAS

- [1] J.M. Blanco. Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana. Obtenido de Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana.: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Marrubium%20vulgare&id=7620>.(2017)
- [2] F. Blanca. Plantas medicinales y drogas vegetales. p 176 (2002).
- [3] F.J. Morandé. Medicamentos herbarios tradicionales 103 especies vegetales. PROTEGE .Chile. (2009).
- [4] M.F. Elmhdwi, M.A. Muktar. I.H. Attitalla. Hypoglycemic effects of Marrubium vulgare (Rubia).**6**, 4374-4388 (2015).
- [5] Berchisélimab. Larvicidal effect of Marrubium vulgare on Culex pipiens in eastern Algeria. (ELSEVIER) p.74 (2015).
- [6] Fernández M, Vargas G. y Camacho B. XXX Congreso Nacional de Química Analítica, Caracterización de polifenoles presentes en el extracto acuoso del marrubio, Universidad de Guanajuato, León, Guanajuato, del: 20 al 23 de junio del (2017).

DETERMINACIÓN DE CONSTANTES DE ACIDEZ DE QUININA MEDIANTE EL USO DE SQUAD A PARTIR DE DATOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS

Roberto Carlos Vera Hernández
Alberto Rojas-Hernández^{1*}

INTRODUCCIÓN

La quinina $C_{20}H_{24}N_2O_2$ (figura 1) es un estereoisómero de la Quinidina y es un alcaloide natural, blanco y cristalino con propiedades antipiréticas, antipalúdicas y analgésicas producido por algunas especies del género *Cinchona*, además de tener un sabor muy amargo. Nacida de la corteza de la quina, árbol nativo de los bosques húmedos andinos, la quinina paso a ser (por más de tres siglos) la única sustancia disponible para tratar la malaria, terrible enfermedad que aun hoy en día afecta a más de 200 millones de personas y deja un saldo de aproximadamente un millón de decesos anuales [1]. Además la falta de quinina conlleva a otro tipo de padecimientos, como: calambres de piernas y espasmos en los músculos (miotonía). Incluso se ha encontrado que la quinina revierte una modulación de resistencia a múltiples fármacos en una variedad de líneas de células tumorales y se usa con seguridad en combinación con quimioterapias [2]. Debido al uso médico que se le da, es de vital importancia conocer sus propiedades fisicoquímicas.

El uso de la quinina a dosis terapéuticas puede provocar cinchonismo [3]; en dosis altas, puede ser letal, provocando un edema pulmonar agudo y fulminante. En dosis muy elevadas puede provocar aborto espontáneo. Además, la quinina es considerada un teratógeno de categoría C por la FDA (*Food and Drug Administration*) estadounidense [4], lo que significa que puede causar defectos de nacimiento (especialmente sordera), si es tomada por mujeres embarazadas. Actualmente se sigue utilizando para combatir la malaria, calambres musculares y en cosmetología [5].

¹ Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Departamento de Química. Área de Química Analítica. Laboratorio R-105. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, AP 55-534. México, D.F. C.P. 09340. Tel: +52 (55) 58 04 46 70, Fax: +52 (55) 58 04 46 66. e-mail: striferoberto21@hotmail.com, suemi918@xanum.uam.mx

La quinina se usa como potenciador del sabor en el agua tónica, confiriéndole su característico sabor amargo, debido a sus efectos secundarios de altas dosis de quinina, su concentración se ha limitado por la FDA estadounidense a un máximo de 83 ppm [6]. Para el análisis y determinación de estructuras se aplicó la espectrofotometría de absorción UV, es esencialmente un gráfico de absorbancia de luz frente a una longitud de onda en el rango del UV o de la luz visible.

Para poder hacer el cálculo de los pKa's utilizaremos el software computacional SQUAD (*Stability Quotients from Absorbance Data*) [7], el cual determina los valores de las constantes de formación globales, minimiza la suma de cuadrados entre valores de absorbancia experimentales y calculados a partir de espectros experimentales obtenidos a cada valor de pH.

SQUAD lleva a cabo una subrutina residual. Esta rutina actúa como una rutina de servicio, durante el paso de diferenciación numérica en el algoritmo de Gauss-Newton, y para acumular la suma al cuadrado de los residuos (U). La rutina también indica el coeficiente de absortividad molar relacionado a la ley de Beer, llamando a la subrutina ECOEF (E COEFficients), que calcula dichos coeficientes en forma iterativa.

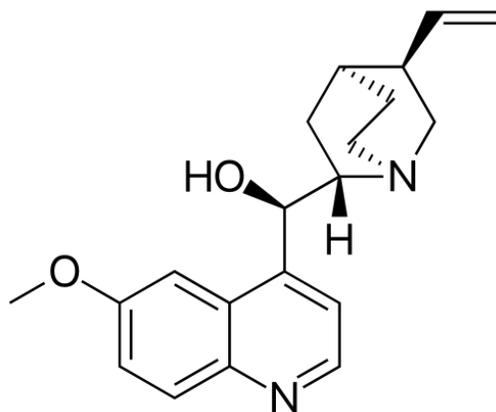


Figura 1: Fórmula desarrollada de la quinina [8]

EXPERIMENTACIÓN

Todos los reactivos utilizados en la experimentación son de grado analítico: Quinina (Sigma-Aldrich), NaOH (Reactivo J.T Baker), Na₂CO₃ (Productos Químicos Monterrey), HCl (reactivo Baker), la disolución valorante (NaOH) se mantuvo aislada con una atmosfera controlada mientras se realizaban las valoraciones para evitar que se carbonatara.

Se utilizó un equipo UV/Vis (Perkin Elmer Lambda 950), una celda de cuarzo de 1 cm de longitud de paso óptico, potenciómetro (ProspelabHach pH 31), electrodo de vidrio (Prospelab Hach 5010T y serie 16097), agua desionizada (Milli Q Millipore, serie 1060 y resistividad 18.2 MΩcm a 25 °C).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizó el estudio de la molécula de quinina por espectroscopia Ultravioleta a una concentración de $[6.31 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}]$, en el intervalo de pH de 1.28-10.02 obteniendo una familia de espectros los cuales se muestran en la figura 2. En la familia de espectros de quinina se pueden observar 2 puntos isosbéticos en los espectros en 264 nm y 298 nm. Se observa a 350 nm un desplazamiento hipercrómico, mientras que a 270 nm un desplazamiento hipocrómico, también se puede apreciar un desplazamiento batocrómico en el máximo de 280-270 nm.

Una vez obtenidos los datos del UV-Vis se observó en la figura 2 que teníamos 4 aparentes máximos de los cuales 2 se veían mejor definidos a los demás por lo que tomando los puntos máximos de longitud de onda (λ), de cada uno de ellos.

Se presenta el grafico de Absorbancia en función de pH tomando el máximo de 280 nm en el cual se observan 2 sigmoides las cuales representan la presencia de 2 valores de pKa aproximadamente a 4.2 y a 8.1 se trabaja en un intervalo comprendido entre 265- 300 nm y se crea la matriz de datos que se procesa en el software computacional SQUAD.

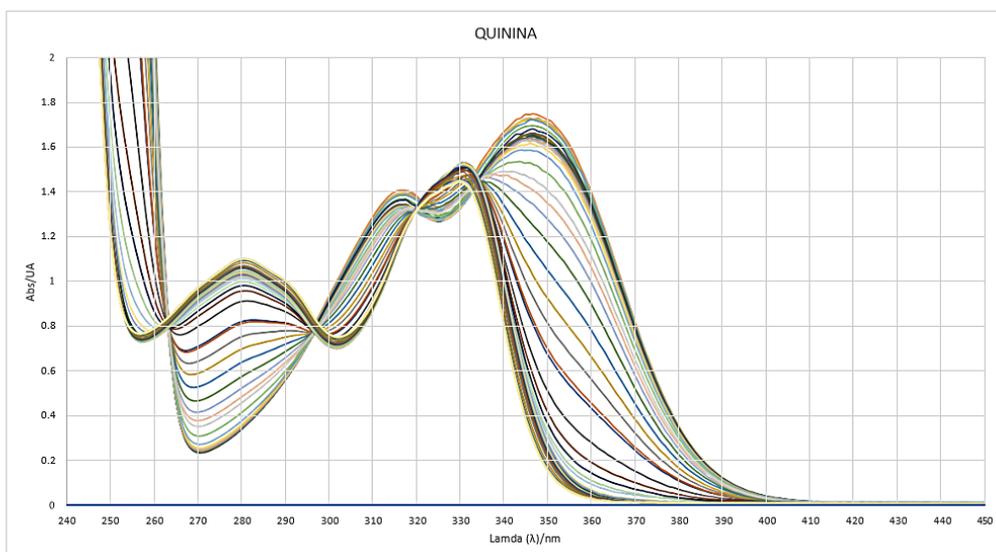


Figura 2. Familia de espectros de absorción de la quinina [$6.31 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$] en el intervalo de $1.0 < \text{pH} < 10.0$.

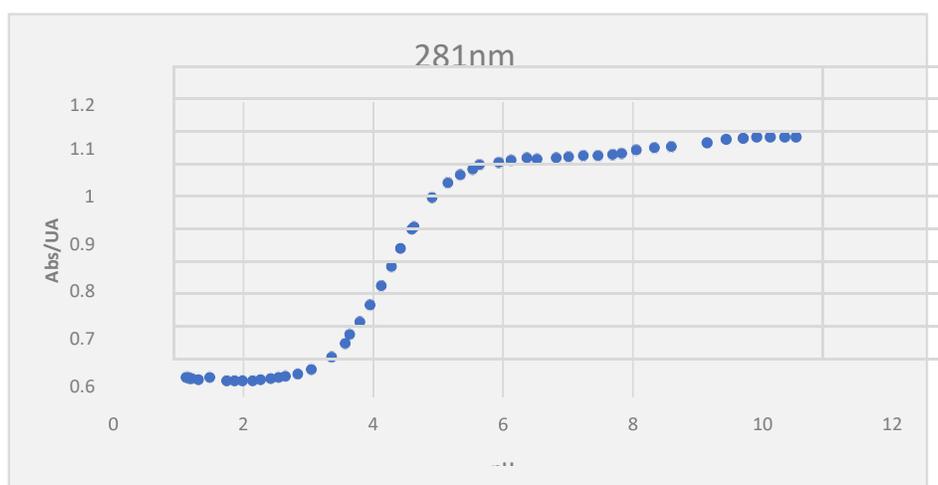


Figura 3. Curva de disoluciones de quinina [$6.31 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$] de $A = f(\text{pH})$, a la longitud de onda de 281 nm.

Posteriormente se alimenta SQUAD con 47 espectros de absorción y los equilibrios propuestos se muestran en las ecuaciones 1 y 2.



Como resultado se obtiene el valor de pKa, los coeficientes de absorción molar (figura 4), la concentración de quinina y la suma de cuadrados, en la siguiente tabla se describen algunos de

estos resultados.

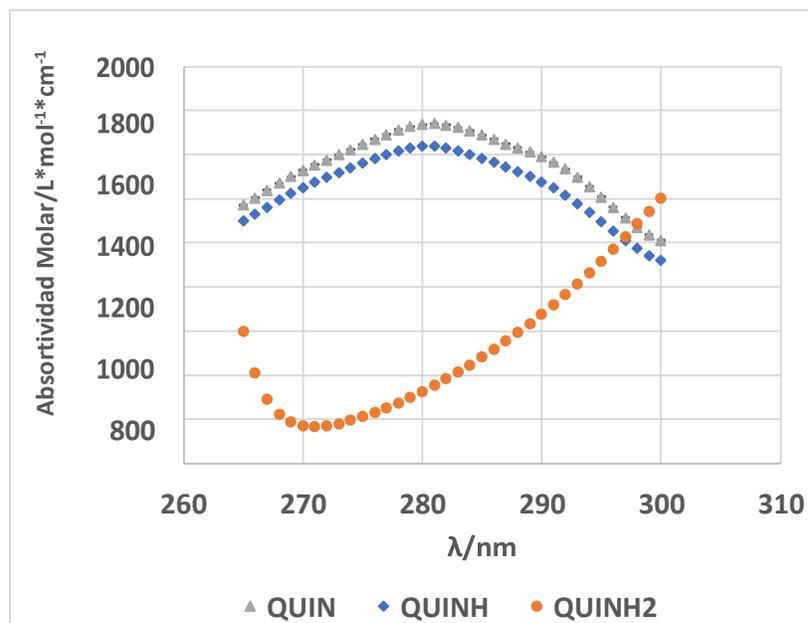


Figura 4. Coeficientes de absorptividad molar determinados por SQUAD

Tabla 1: De los valores de $\log \beta$ obtenidos por SQUAD

$\log \beta$	Valores calculados		Incertidumbre	Equilibrio global
$\text{Log}\beta_1$	8.475	±	0.004	$\text{Qn} + \text{H}^+ = \text{HQn}^+$
$\text{Log}\beta_2$	12.739	±	0.004	$\text{Qn} + 2\text{H}^+ = \text{H}_2\text{Qn}^{2+}$

Como resultado de estos cálculos de $\log \beta$ podemos a su vez obtener los valores de pKa 's asociados a cada una de nuestras especies de quinina, lo que da lugar a los valores de constantes de acidez $\text{pKa}_1 = 4.2638 \pm 0.0057$ y $\text{pKa}_2 = 8.4750 \pm 0.0040$.

Una vez obtenidos estos valores de pKa mediante los cálculos derivados de los valores de $\log \beta$ podemos hacer una comparación con los valores de reportados en la literatura [2].

Tabla 2: Comparación de los valores de pKa de Quinina

pKa	Obtenidos con SQUAD		Incertidumbre
pKa_1	4.2638	±	0.0057
pKa_2	8.4750	±	0.0040
	Literatura [2]		Incertidumbre
pKa_1	4.25	±	0.01
pKa_2	8.72	±	0.01

Se puede apreciar la similitud de los datos determinados en el presente trabajo como los reportados en la literatura.

CONCLUSIONES

Se pudieron obtener los valores de pKa de la molécula de Quinina por el método de espectrofotometría UV y mediante el uso del software SQUAD, para el cálculo de las constantes de formación y por lo tanto el de nuestros valores de pKa ($pK_{a1} = 4.2638 \pm 0.0057$ y $pK_{a2} = 8.4750 \pm 0.0040$).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al PRODEP por el financiamiento parcial para el desarrollo de este trabajo, a través de la RedNIQAE, y al CONACyT a través del financiamiento parcial por medio de los proyectos 237327 y 237997.

REFERENCIAS

- [1]. D., David Amurrio. Acta Nova. **2** [3] 241-247 (2001).
- [2]. M. Meloun, T. Syrový, I. Aleš Vrána. Analytica Chimica Acta **533**, 97–110 (2005).
- [3] <https://es.wikipedia.org/wiki/Cinconismo> consultado el 24/04/18
- [4] https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/021799s021lbl.pdf **8.1**, 10-11, Consultado el 24/04/18
- [5] <https://es.wikipedia.org/wiki/Quinina> consultado el 08/04/18
- [6] Información consultada en la página de e-CFR (Electronic Code of Federal Regulations) el día 24/04/2018, liga: https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=c080c89f97be2016469a8fb08c5ed9ed&mc=true&node=se21.3.172_1575&rgn=div8
- [7] D. J. Leggett. Computational Methods for the Determination of Formation Constants. Plenum Press: Nueva York. (1985).
- [8] Imagen tomada de la página Wikipedia, liga: https://es.wikipedia.org/wiki/Quinina#/media/File:Quinine_structure.svg

DETERMINACIÓN SIMULTÁNEA DE ÁCIDO ACETILSALICÍLICO Y CAFEÍNA EN TABLETAS MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA UV

Carlos Montaña Osorio¹
Elia Granados Enríquez²
María Gabriela Vargas Martínez^{1*}

INTRODUCCIÓN

Con la finalidad de que los estudiantes de las carreras del área de la Química realicen de forma experimental el análisis de una mezcla de espectros de absorción traslapados y al mismo tiempo pongan en práctica los fundamentos de la espectrofotometría UV-Vis, en este trabajo se propone y verifica una metodología experimental para la cuantificación de los principios activos presentes en el medicamento comercial cafiaspirina forte® (Bayer). Como ejemplo de mezcla binaria se utiliza la cafeína y ácido acetilsalicílico (HAsa) ya que son componentes conocidos para los estudiantes (Figura 1). Laska y colaboradores [1] informaron que en humanos la cafeína potencia el efecto de ciertos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) como el ácido acetilsalicílico (también conocido como aspirina) y el paracetamol. Por lo anterior, la mezcla de cafeína y aspirina ha sido comercializada con el nombre de cafiaspirina desde 1920 y años después (en 1925) fue introducido el producto cafiaspirina forte [2], ambos productos con efecto analgésico, antipirético y antiinflamatorio, pero con diferentes proporciones de cafeína y aspirina en la mezcla.

¹ Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Laboratorio de Desarrollo de Métodos Analíticos.

² Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Sección de Química Analítica, Av. 1º de mayo s/n, Cuautitlán Izcalli, Estado de México. Tel: +55-56232003, Correo: gvargasm@unam.mx

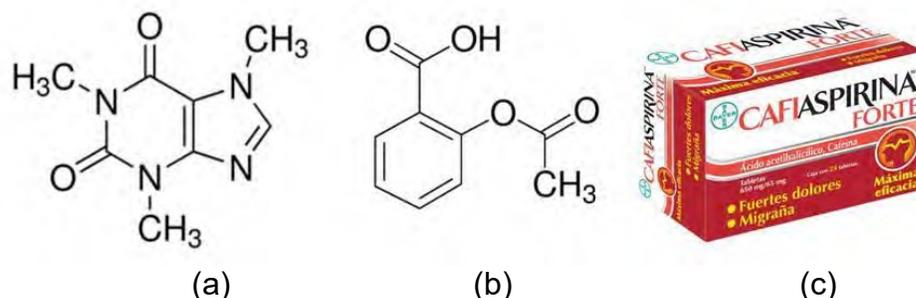


Figura 1. Estructuras de a) cafeína, b) ácido acetilsalicílico (aspirina) y c) medicamento comercial analizado.

Para realizar un análisis por espectrofotometría UV-Vis es necesario que el analito presente grupos cromóforos en su estructura, lo cual se cumple para la mezcla propuesta (Figura 1). Se enfatiza en el alumno que también es posible realizar el análisis de mezclas de dos o más especies absorbentes usando espectrofotometría UV-Vis, ya que además de cumplir con la Ley de Beer (Ec. 1), debe cumplirse la Ley de aditividad (Ec. 2).

$$A = \varepsilon_{\lambda} l C \quad (1)$$

$$A_{mezcla} = A_1 + A_2 + \dots A_n. \quad (2)$$

Donde A es la absorbancia, ε es el coeficiente de absorptividad y C es la concentración de la especie absorbente. Dado que ambos ingredientes activos en las tabletas de

cafiaspirina son especies absorbentes en la región del UV es posible cuantificar a ambos principios activos de manera simultánea en la mezcla, haciendo un análisis matemático para descomponer el espectro de la mezcla en los espectros de las especies individuales y realizar la cuantificación.

EXPERIMENTACIÓN

1. *Disolución ácida al 10%(v/v)*: se preparó una solución acuosa ácida al 10% (v/v), usando agua desionizada de 18 mΩ/cm (equipo MilliQ, Millipore) a partir de HCl (pureza 36.5-38.0 %, J.T Baker).
2. *Disolución Madre de HAsa*: Se preparó una solución madre de ácido acetilsalicílico, pesando una cantidad conocida de estándar R.A. (Sigma, pureza 99.5-100.5 %) y

disolviéndolo en 5.0 mL de metanol (J.T. Baker, grado HPLC) para finalmente aforar a

3. 100.0 mL con la solución ácida descrita en el apartado 1.
4. *Disolución Madre de Cafeína:* Se preparó una disolución madre de cafeína, pesando una cantidad conocida de estándar R.A. (Sigma, pureza 99.0 %) y disolviéndolo en 5.0 mL de metanol (J.T. Baker, grado HPLC) para finalmente aforar a 100.0 mL con la solución ácida al 10% (v/v).

A partir de las disoluciones 2 y 3 se prepararon los 6 sistemas como se indica en la tabla 1.

Tabla 1. Planeación de los sistemas de la curva de calibración para el análisis de la mezcla de estándares por espectrofotometría.

Sistema	Curva de calibración para ácido acetilsalicílico (HAsa)			Curva de calibración para cafeína		
	$V_{\text{stoc k HAsa}}$ (mL)	V_{aforo} (mL)	$C_{\text{HAsa disolución madre}}$ (mg/L)	$V_{\text{disolución madre cafeína}}$ (mL)	V_{aforo} (mL)	$C_{\text{Cafeína}}$ (mg/L)
1	0.5	25.0	1.66	0.5	25.0	1.83
2	1.0		3.32	1.0		3.65
3	2.0		6.64	2.0		7.31
4	3.0		9.96	3.0		10.96
5	4.0		13.28	4.0		14.62
6	5.0		16.60	5.0		18.27

Obtención de los espectros de absorción: Los espectros de absorción para cada uno de los sistemas de las curvas de calibración (Tabla 1) fueron medidos en un intervalo de 190 a 360 nm, con una velocidad de barrido de 240 nm/min, en celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico, usando como blanco la solución ácida pH 1.0. El quipo utilizado fue un espectrofotómetro Perkin Elmer de doble haz modelo lambda 18 con computadora y software lambda 18. Los archivos generados fueron exportados como archivos ASCII para realizar el análisis en Excel.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La cafiaspirina forte indica en el marbete contener 650 mg de HAsa y 65 mg de cafeína por tableta, con una relación 10:1 (HAsa:cafeína); inicialmente se midieron los espectros de absorción de las soluciones estándares individuales a la misma proporción 10:1 en concentración, en disolución

ácida pH 1.0. Estos espectros se pueden observar en la figura 2, en donde la traza rosa corresponde al estándar de HAsa que se observa presenta 3 máximos, uno a 203 nm, el segundo a 227 nm y el tercero a 276 nm. La traza azul corresponde al estándar de cafeína presentando una menor absorbancia (con respecto a HAsa) debido a que esta 10 veces, presentando 2 máximos uno a 205 nm y el otro a 272 nm. En el espectro de absorción resultante de la mezcla se observa un total traslapamiento de las bandas de absorción por lo que pretender analizarlo por espectrofotometría directa proporcionaría resultados erróneos.

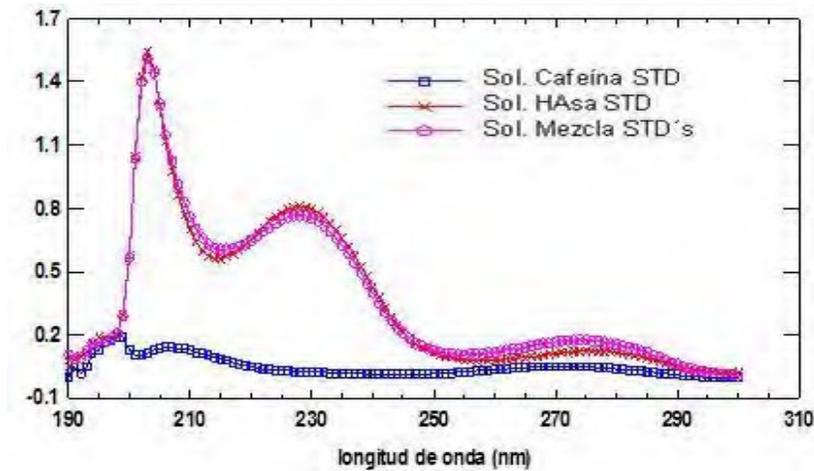


Figura 2. Espectros de Absorción de estándares de cafeína 0.91 mg/L (traza azul), ácido acetilsalicílico 15.05 mg/L (traza roja) y una solución mezcla de estándares a la proporción del producto comercial (traza rosa) en disolución acuosa ácida al 10%.

Sin embargo, al aplicar el siguiente tratamiento matemático es posible encontrar un modelo adecuado para lograr cuantificar cada componente de la mezcla. El modelo consiste en lo siguiente:

Como el sistema de cafiaspirina forte es binario, la absorbancia de la mezcla (A_m) está definida de acuerdo a la ley de aditividades por la siguiente ecuación:

$$A_m = A_{HAsa} + A_{Caf} \tag{3}$$

Aplicando la ley de Beer a la ecuación 3 se obtiene la expresión:

$$A_m = \epsilon_{HAsa}^\lambda l C_{HAsa} + \epsilon_{Caf}^\lambda l C_{Caf} \tag{4}$$

Si conocemos la absorbancia de una solución madre para ácido acetilsalicílico y de cafeína, la absorbancia de cada especie es:

$$A_{HAsa}^S = \epsilon_{HAsa}^\lambda l C_{HAsa}^S \tag{5}$$

$$A_{Caf}^S = \epsilon_{Caf}^\lambda l C_{Caf}^S \tag{6}$$

Siendo A^S_{HAsa} y A^S_{Caf} las absorbancias de las disoluciones madre de ácido acetilsalicílico

A^S_{HAsa} A^S_{Caf}

y cafeína respectivamente, C^S_{HAsa} la concentración de la disolución madre de HAsa y C^S_{Caf}

C^S_{HAsa} C^S_{Caf}

la de la disolución madre de cafeína. Despejando $\epsilon^{\lambda}_{HAsa}$ de la ecuación 5 y ϵ^{λ}_{Caf} de la 6 y sustituyendo en la ecuación 4 se obtiene:

$$A_m = C_{HAsa} \left(\frac{A^S_{HAsa}}{C^S_{HAsa}} \right) + C_{Caf} \left(\frac{A^S_{Caf}}{C^S_{Caf}} \right) \quad (7)$$

Reordenando términos en la ecuación 7:

$$\frac{C^S_{Caf} A_m}{A^S_{Caf}} = C_{Caf} + C_{HAsa} * \frac{C^S_{Caf} A^S_{HAsa}}{C^S_{HAsa} A^S_{Caf}} \quad (8)$$

Obteniendo así el modelo lineal para llevar a cabo la cuantificación de HAsa y cafeína en las tabletas de cafiaspirina forte, siendo el eje "X" $(C_{Caf}^S A_{HAsa}^S) / (C_{HAsa}^S A_{Caf}^S)$ y el eje "Y" $(C_{Caf}^S A_m) / (A_{Caf}^S)$ así se obtienen los parámetros de regresión, la pendiente es la concentración de ácido acetilsalicílico y la ordenada al origen es la concentración de cafeína en la mezcla.

Usando las absorbancias de los espectros obtenidos de las soluciones de la tabla 1, se ajustaron los datos a la ecuación 8 de una línea recta utilizando los valores de absorbancia correspondientes de 200 a 290 nm y se le aplicó la regresión por mínimos cuadrados, dando como resultado la concentración de cafeína y HAsa en el sistema problema, obteniéndose la figura 3:

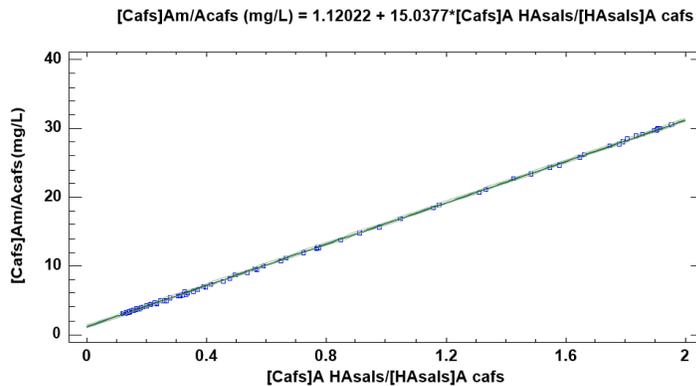


Figura 3. Ajuste de las absorbancias de las disoluciones madre de la tabla 1 y la absorbancia de la muestra al modelo lineal de la ecuación 8.

Tomando en cuenta la homocedasticidad de los residuales (Figura 4), se determina que los datos se ajustan al modelo de la ecuación de la línea recta.

Tabla 2. Parámetros de regresión de la ecuación de la línea recta

Parámetro de regresión	Valor (mg/L)	r ²
Pendiente [HAsa]	1.12	0.99
Ordenada al origen [Cafeína]	15.04	

Por lo tanto, es posible la cuantificación de los analitos, obteniendo los siguientes resultados:

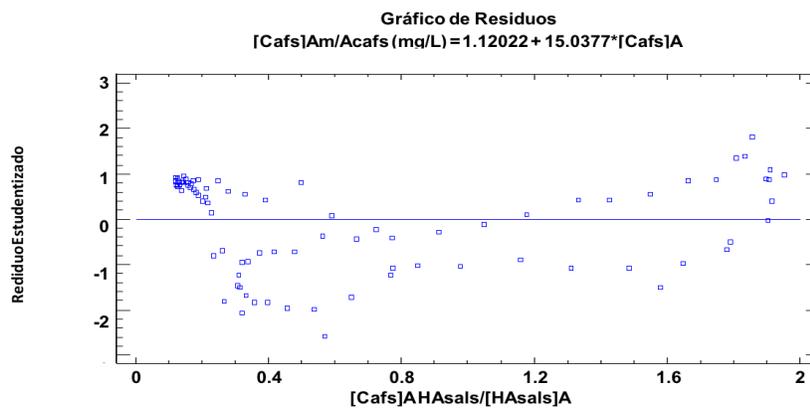


Figura 4. Residuales para el ajuste de los datos al modelo lineal de la ecuación 5.

Tabla 3. Comparación de la cantidad de principio activo en tabletas comerciales de cafiaspirinaforte

Principio activo	Reportado	Obtenido
HAsa (mg/tab)	650	632.5
Cafeína (mg/tab)	65	45.6

El bajo contenido obtenido de cafeína (Tabla 3) al aplicar el método propuesto, no se le atribuye al modelo de ecuaciones postulado, sino a la dificultad para disolver la cafeína a las condiciones de pH de trabajo, por lo que se sugiere optimizar las condiciones de disolución (i.e aplicación de ultrasonido o agitar durante más tiempo) para lograr una completa extracción a fase acuosa y repetir la medición del producto comercial.

El formato desarrollado de esta práctica que es utilizado en la sesión experimental por los estudiantes será presentado a los interesados durante la exposición del trabajo durante el congreso.

CONCLUSIONES

Se realizó de manera satisfactoria el diseño y los experimentos correspondientes para obtener las curvas de calibración de ácido acetilsalicílico y cafeína, logrando un modelo lineal para la cuantificación simultánea de los principios activos en tabletas de cafiaspirinaforte.

Esta propuesta de cuantificación es importante ya que ofrece una alternativa de cuantificación a técnicas de separación como cromatografía de líquidos y electroforesis capilar, que requieren de instrumentación más costosa que un espectrofotómetro UV-Vis, brindando una opción para la determinación la cual no demanda el uso de disoluciones amortiguadoras, así como fases móviles caras, por lo que se reduce la generación de residuos.

REFERENCIAS

- [1] E.M. Laska, A. Sunshine, F. Mueller, W.B. Elvers, C. Siegel, A. Rubin. Caffeine as an analgesic adjuvant. *JAMA*, **251**, 1711-1718 (1984).
- [2] Daniel. C. Harris, *Análisis químico cuantitativo*. Reverte. Barcelona. España (2001).
- [3] D. Harvey, *Química analítica moderna*. McGraw-Hill/Interamericana. España. (2002).
- [4] D.A. Skoog, F.J. Holler, S.R. Crouch, *Principios de análisis instrumental*, 5º. Edición, McGraw-Hill, Madrid. España. (2001).

COMPARACIÓN DE LA DETERMINACIÓN DE NARINGINA POR ELECTROFORESIS CAPILAR CON 3 MÉTODOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS EN *CITRUS PARADISI*

Juan Daniel Gutiérrez Gómez¹
María Gabriela Vargas Martínez^{1*}
Brígida del Carmen Camacho Enríquez²

INTRODUCCIÓN

México es líder en producción de cítricos, al ubicarse como el quinto productor a nivel mundial (4.6% del total) detrás de China (21%), Brasil (18%), Estados Unidos (8%) y la India (6%). La citricultura en México es una actividad de gran importancia económica y social; se realiza en poco más de medio millón de hectáreas en regiones con clima tropical y subtropical en 23 entidades federativas. De esa superficie, aproximadamente 80% se destina a los denominados cítricos dulces, cuya producción es del orden de 4.9 millones de toneladas por cosecha, principalmente de naranja (83% del total), toronja (8%), mandarina (5%) y tangerina (4%) [1]. Un estudio publicado por el Ministerio de Agricultura Estatal de China y la Universidad de Zhejiang, revela que la naringina (NAR) y la neohesperidina tienen propiedades beneficiosas para personas que sufren diabetes, ya que reducen el nivel de azúcar en la sangre. Estas dos sustancias se encuentran tanto en el zumo como en otras partes de diferentes cítricos principalmente en la toronja (*Citrus paradisi*) y la naranja agria (*Citrus aurantium*), aunque los niveles varían mucho según cada variedad. La NAR es una flavanona glicosilada (ver Figura 1a), presente en mayor proporción en el albedo (piel blanca, Figura 1b) de la toronja, que dependiendo los cuidados y el clima pueden estar entre los 4.9 mg/g hasta los 42 mg/g [2-3].

¹ Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de estudios Superiores Cuautitlán, Laboratorio de Desarrollo de Métodos Analíticos

² Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de estudios Superiores Cuautitlán, Laboratorio de Productos Naturales, Avenida 1° de Mayo, S/N, Cuautitlán Izcalli, 54740, Edo México, Tel: 56232003. Email: maxsmart_6@hotmail.com, gvargasm@unam.mx, bcamachoe@gmail.com

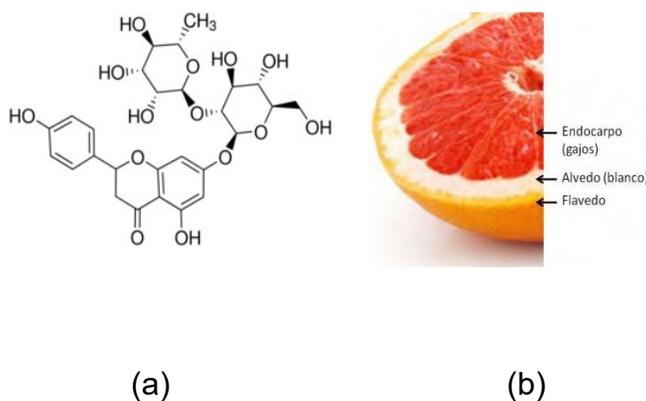


Figura 1 a) Estructura de la naringina, b) localización del albedo de la toronja

La NAR es usada en perfumería y para dar sabor a golosinas, bebidas y productos de panadería, actualmente, es una molécula muy estudiada por su gran capacidad antioxidante, como estabilizante de aceites, antimutagénico, y como precursor del compuesto “naringina dihidrochalcona” que posee una muy importante capacidad endulzante (500 - 700 veces más dulce que la sacarosa). En este trabajo se realiza la comparación de la determinación de NAR por electroforesis capilar (EC) y utilizando 3 metodologías espectrofotométricas. Lo anterior con la finalidad discutir sus ventajas y limitaciones, además de poder contar con varias metodologías alternativas para su análisis rutinario.

EXPERIMENTACIÓN

Condiciones de separación por electroforesis capilar: Se utilizó un equipo de Electroforesis Capilar P/ACE MDQ, Beckman Coulter Capillar y Electrophoresis system (Fullerton, CA, USA). Las mediciones de la NAR se realizaron utilizando capilares de sílice fundida de 50 μm de diámetro interno, 54 cm de longitud total y 43.5 cm de longitud efectiva, la detección se realizó a 200 nm, a un voltaje aplicado de 26.8 KV. Las corrientes obtenidas fueron alrededor de 80 μA . El buffer de corrida o separación consistió en un buffer de boratos 50 mM (a partir de tetraborato de sodio) y como disolvente agua desionizada a pH 9.4.

Precisión: Para el estudio de precisión, se evaluó su repetibilidad, preparándose una solución patrón de NAR y utilizando como estándares internos (EI) el ácido benzoico y el metiparabeno; De los electroferogramas obtenidos anteriormente, se determinaron la desviación estándar relativa (%RSD) para los tiempos de migración (t_m), relación de áreas ($A_{\text{NAR}}/A_{\text{EI}}$) y alturas ($H_{\text{NAR}}/H_{\text{EI}}$).

Cuantificación de NAR: Para la cuantificación de NAR se utilizó como estándar interno al ácido benzoico. La elaboración de las curvas de calibración se preparó soluciones stock de NAR y de los E.I. La tabla de los sistemas y con la preparación de los diferentes niveles de la curva de calibración se puede ver en la Tabla 1.

Tabla 1. Preparación de los sistemas para la curva de calibración de NAR.

NAR Stock (mL)	Ácido benzoico Stock (mL)	Metil-parabeno (mL)	Aforo (mL)	[NAR] (M)	[Ácido benzoico] (M)	[Metil-parabeno] (M)
1	2	2	25	0.0002	0.003	0.0025
2	2	2	25	0.0008	0.003	0.0025
3	2	2	25	0.0012	0.003	0.0025
4	2	2	25	0.0016	0.003	0.0025
5	2	2	25	0.0020	0.003	0.0025
6	2	2	25	0.0024	0.003	0.0025
7	2	2	25	0.0028	0.003	0.0025

Cada solución de la curva fue medida por triplicado y los datos de tiempo de migración, área y altura fueron obtenidos, así como las relaciones de (ANARI/AEI) y alturas (HNAR/HEI) y analizados utilizando el software Statgraphics Centurion XVI.

Métodos Espectrofotométricos

Se utilizó un Espectrofotómetro Modelo Halo XB-10 Marca Dynamica, realizando las mediciones por triplicado, de 250 a 400 nm para los espectros de UV-VIS de naringina y de 250 a 800 nm para la reacción de Shinoda y la de aluminio, con una variación de longitud de onda de 2 nm entre medición y una precisión de 2 nm.

Método de UV-Vis de naringina:

Se pesaron aproximadamente 0.0254 g de NAR reactivo analítico (RA) y se aforaron en una mezcla de etanol-agua (80:20, v/v) para tener una solución stock de 1.59×10^{-4} M, de ésta se tomaron 6 porciones (de 1, 2, 3, 4, 5, 6 mL) para la medición de la curva de calibración a una

longitud de 288 nm.

Reacción de Shinoda:

Curva de calibración con el método de Shinoda: Se prepararon por triplicado 6 soluciones a partir de un stock de NAR 0.0036 M, se agregaron aproximadamente 0.011 g de Mg y 1 mL de HCl concentrado a cada uno y se aforaron en 10 mL de la mezcla etanol-agua (80:20, v/v).

Reacción de complejación con aluminio (III):

Curva de calibración con el método de aluminio (III): Se prepararon por triplicado 6 soluciones a partir de un stock de NAR 1.05×10^{-4} y se le agregaron 0.5 mL de NaNO₂ al 5%. A lo anterior se le adicionaron 0.5 mL de Al(NO₃)₃ al 10% y por último 2.5 mL de NaOH al 6% para aforar a 10 mL.

Preparación de la muestra vegetal:

Se pesó 1 g de albedo seco de toronja (piel interior blanca de la cascara) y se maceró con 10 mL de etanol-agua (80:20 v/v) durante 30 min a una temperatura no mayor de 30°C asistida por sonicación, se llevó a cabo un segundo lavado con 10 mL de etanol-agua (80:20 v/v). Se juntaron las 2 porciones y de ahí se tomó 1 mL y aforando a 50 mL con H₂O desionizada, posteriormente se tomaron 4 mL y se aforaron a 10 mL con H₂O desionizada, esta disolución es la que se midió y comparó con las curvas de calibración (en Shinoda se omitió la dilución 1 mL en 50 mL).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Selección del estándar interno en CE: La adición de un estándar interno (E.I.) tiene la finalidad de minimizar las diferencias en los tiempos de migración y las alturas de los picos obtenidos; la elección del E.I. más adecuado, consistió en seleccionar un compuesto de estructura similar a los analitos en estudio, que sea de alta pureza, no esté presente de forma natural en la muestra; además, su señal no se vea traslapada con otra y sea lo más gaussiana posible (simétrica), para facilitar su buena integración.

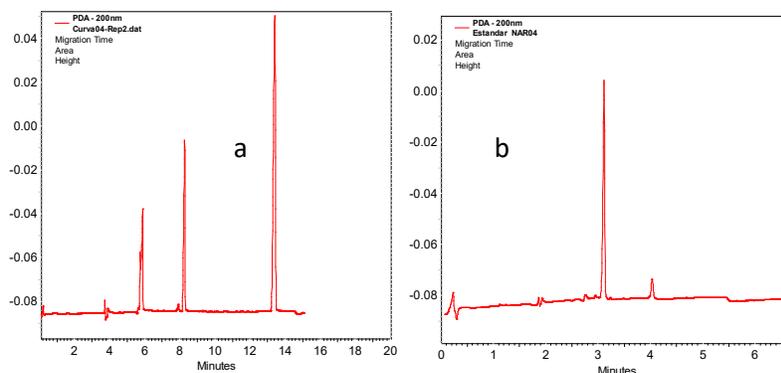


Figura 2 Electroferograma de NAR y sus E.I. a) usando soluciones estándar b) en el extracto etanol-agua (80:20) de albedo de toronja.

De esta forma se probaron el ácido benzoico y el metilparabeno (Figura 2a). Se observa que la señal del metilparabeno tiene un tiempo de migración menor al del ácido benzoico, por lo que incrementaría en menor grado el tiempo de análisis de la NAR, aunque ambos fueron añadidos a las soluciones de la curva de calibración.

Precisión: De acuerdo con las guías de validación en lo que respecta a los tiempos de migración (t_m) se obtuvieron % RSD < 2% (Tabla 2) por lo que es preciso en t_m .

Curvas de calibración: Se verificó la validez del modelo lineal obtenido el cual se puede ver en la Figura 3.

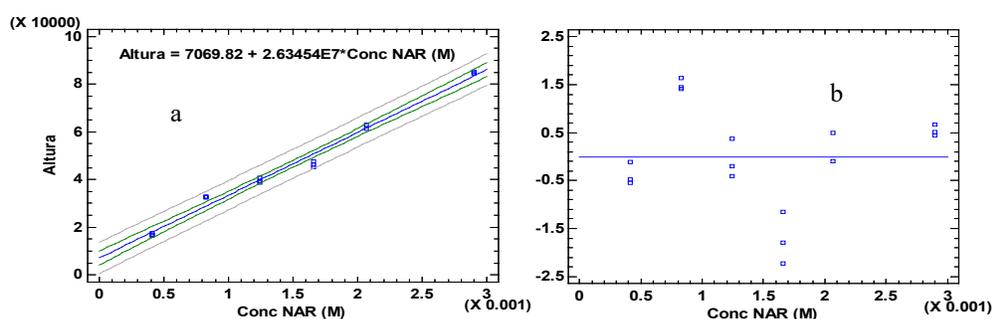


Figura. 3 a) Curva de calibración de NAR medida por EC a 200 nm y b) sus residuales.

Método 1) absorción directa en el UV: En la figura 4 se muestran los espectros de absorción de la naringina a diferentes concentraciones. Existen claramente 2 bandas de mayor absorción correspondientes al máximo de 288 nm de la banda del sistema benzoilo (banda II) y un hombro de menor absorción correspondiente a una longitud de onda de 340 nm que es característico del sistema cinamoilo (banda I).

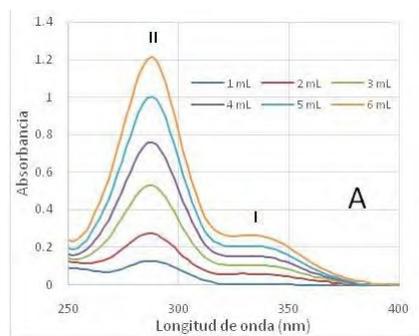


Figura 4. Espectros de absorción de NAR medido a concentraciones crecientes.

Método 2) Reacción de Shinoda: En la Figura 5 se observan los espectros de absorción del producto de la reducción de la naringina donde se observa un máximo a 553 nm.

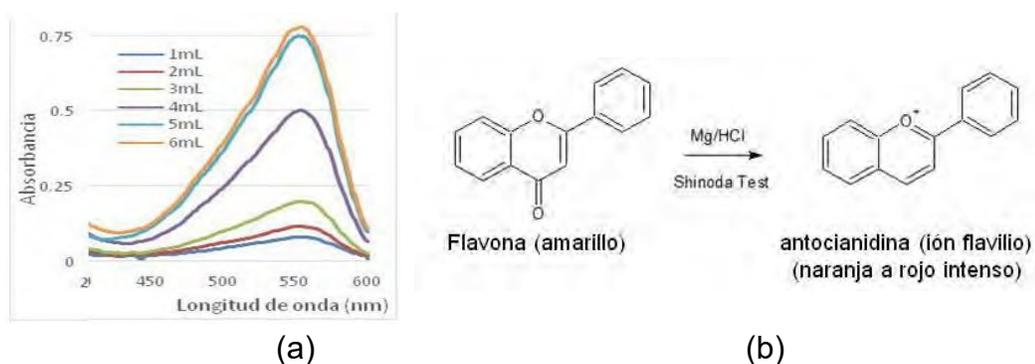


Figura 5. a) Espectros de absorción de la reacción de Shinoda con naringina y b) Fundamento de la reacción de Shinoda.

Por lo anterior finalmente, se midió la curva de calibración a un tiempo de 110 min y una longitud de onda de 553 nm.

Respecto al Método 3) Reacción con aluminio: Los espectros de absorción fueron medidos en la curva de calibración naringina-Al (Figura 6), donde se observa que la reacción de complejación formó una banda aproximadamente a 390 nm.

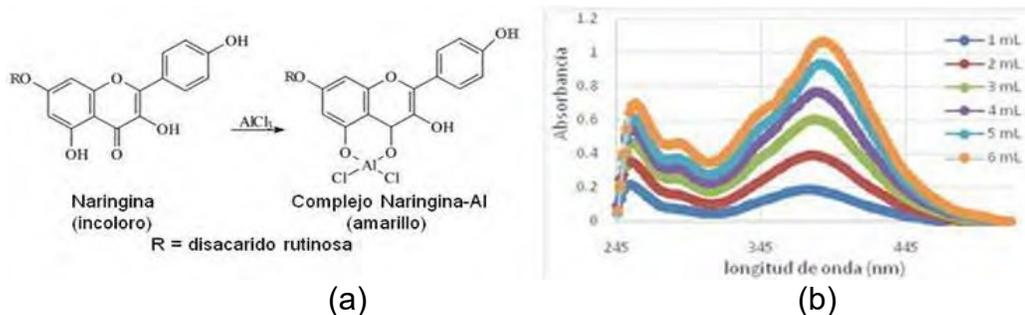


Figura. 6 a) Reacción de NAR-aluminio y b) Espectros de absorción de NAR medido a concentraciones crecientes.

Comparación entre los diferentes métodos de determinación de Naringina (NAR).

En la Tabla 3 se muestran las ecuaciones obtenidas de las curvas de calibración para la determinación de NAR por EC y por los 3 métodos espectrofotométricos.

Tabla 3. Resumen de las características de los métodos para la determinación de NAR.

Método	Ecuación	Comentarios
1) EC	Altura=7060.82+2.6345x10 ⁷ [Naringina]	Interpolación directa del extracto
2) UV directo	A =0.1340+14,164.8 [Naringina]	Interpolación directa del extracto
3) Shinoda	A =-0.0684+472.1 [Naringina]	Formación de producto colorido y espera de 110 min para completar la reacción
4) Al (III)	A =-0.0110+17,797.4 [Naringina]	Formación de producto colorido y espera de 100 min para completar la reacción

Cabe hacer mención que la concentración de NAR expresada en los 4 métodos es molar. Por lo anterior es posible realizar la comparación de la sensibilidad de cada método espectrofotométrico, observando el valor de las pendientes.

Por lo anterior, podemos decir que si es necesaria la determinación de bajas concentraciones de naringina (trazas) es mejor utilizar el método 4) Formación del complejo con Al (III). Si el contenido de naringina en la muestra vegetal problema es alto, entonces se sugiere utilizar el método 2) UV directo ya el extracto obtenido se interpola directamente en la curva,

haciéndolo un método más rápido y barato, sin la necesidad del uso de reactivos adicionales, de igual manera, los resultados provenientes de la cuantificación por medio de la técnica de 1) EC (electroforesis capilar) son muy sensibles y se recomiendan ambos métodos especialmente para la toronja, ya que la muestra de albedo (piel) se caracteriza por contener mayoritariamente naringina, por lo que no hay interferencias de otros polifenoles. En el caso que se necesite analizar muestras con mezclas de diferentes polifenoles, donde solo se necesita reportar los flavonoides totales y para evitar interferencias de los demás fenoles, se recomienda utilizar los métodos 3) Shinoda ó 4) complejación con Al (III), ya que sus productos se leen en longitudes de onda del visible.

Medición de la muestra vegetal: Se realizó la medición del extracto vegetal (apartado preparación de muestra) para evaluar el contenido de NAR en el albedo de Toronja.

Tabla 2. Resultados de las concentraciones de polifenoles en el extracto de albedo a las diferentes condiciones de trabajo.

Método	mg / 1 g Albedo	S	%RSD
1) EC	70.2442	0.0024	3.42
2) Uv-Directo	77.4787	2.3966	3.09
3) Shinoda	24.8638	1.8175	7.31
4) Aluminio	29.9190	1.7556	5.87

Con lo anterior se puede ver que el método de EC que es selectivo y el UV directo dan resultados de la misma magnitud, mientras que los métodos 3 y 4 (shinoda y aluminio) subestiman el contenido de NAR. Cabe hacer mención que los métodos 3 y 4 ambos entran en los intervalos de polifenoles totales reportados en literatura para toronja.

CONCLUSIONES

Se encontraron las condiciones óptimas para la medición de flavonoides totales en muestras vegetales por 4 métodos: 1) EC, 2) UV directo del flavonoide, 3) Reacción de reducción del flavonoide a antocianidina (Shinoda) y 3) Complejación del flavonoide con Al (III). Todas las metodologías presentan ventajas y desventajas, pero teniendo el conocimiento de todas ellas, cuando se pueden utilizar, para qué tipo de muestras, saber el tipo de interferencias que se pueden encontrar, el tiempo con el que se cuenta y la sensibilidad que se requiere, nos brindan la

posibilidad de seleccionar el más adecuado para nuestras necesidades.

AGRADECIMIENTOS

A la D.G.A.P.A, UNAM por el financiamiento otorgado con el Proyecto PAPIME PE204814 titulado: "Actualización y Fortalecimiento de la enseñanza experimental de las asignaturas Farmacognosia y Fitoquímica de la carrera de Licenciado en Farmacia y Licenciado en Bioquímica Diagnóstica".

REFERENCIAS

- [1] SAGARPA.México, entre los líderes en producción de cítricos a nivel mundial. De SAGARPA: <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/sanluispotosi/boletines/Paginas/BOL1301112.aspx>. (2018).
- [2] M. Escobar. *Extracción de compuestos fenólicos de las cáscaras de cítricos producidos en México*. Licenciatura. Instituto politécnico nacional. 79 (2010).
- [3] J. Zhang. Flavonoids in grapefruit and commercial grapefruit juice: concentrations, distribution, and potential health benefits. *Proc. Fla. State Hort. Soc. Fl*, **120** 292 (2007).
- [4] Culebras, M. Gonzalez, J. et al. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. (*Nutrición Hospitalaria*) **17** 271-278 (2002).
- [5] P.C.H. Hollman, et al. Absorption and disposition kinetics of the dietary antioxidant quercetin in man. (*Free Rad. Biol. Med.*) **21**, 700-707. (1995).
- [6] F. Sriwastako, H.M. Grupta y B.K. Bhadaria, Allelochemicals of some plants of family Scrophulariaceae. (*Flora and Fauna Thami*). **2** [1] 41-42 (1996).

RECUPERACIÓN DE CADMIO DE BATERÍAS MEDIANTE MICROCÁPSULAS DE ACETATO DE CELULOSA-CYANEX 923

Gladis Dhamar Canales Feliciano¹
María Elena Páez Hernández¹
Carlos Andrés Galán Vidal¹
María Teresa Ramírez Silva²
Irma Pérez Silva^{1*}

INTRODUCCIÓN

Las baterías Ni-Cd aprovechan las propiedades de dichos metales para lograr un gran almacenamiento y posterior suministro de energía eléctrica, por lo que son capaces de reutilizarse y ser funcionales por decenas de años[1]. A pesar de sus beneficios como fuente de energía, poseen la gran desventaja de que uno de sus componentes principales, el cadmio, posee una alta toxicidad, por lo que es necesario contar con diversos métodos para su recuperación. Actualmente existen diversos métodos con dicho fin, dentro de los que destacan el pirometalúrgico, hidrometalúrgicos [2], la destilación [3] o extracciones líquido-líquido [4-6], los cuales tienen como principales desventajas el uso excesivo de solventes, bajos porcentajes de recuperación, altos costos de operación tanto energéticos como económicos y generación de residuos peligrosos altamente contaminantes.

Considerando lo anterior, en este trabajo se presenta una propuesta para la recuperación de cadmio de las baterías mediante el desarrollo de microcápsulas elaboradas de acetato de celulosa como matriz polimérica y con Cyanex 923 como agente extractante, las cuales, al inmovilizar el agente extractante en el soporte polimérico permite recuperar el cadmio de manera selectiva y con un bajo consumo de solventes y energía.

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Centro de Investigaciones Químicas, Laboratorio de Química Analítica. Ciudad Universitaria, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Pachuca, Hidalgo, México. C.P. 42076. Tel: 52 (771) 717 2000 ext 2217, Fax: 52 (771) 717 2000 ext 6502. *e-mail:ips0901@yahoo.com.mx.

² Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, Departamento de Química, Área de Química Analítica. San Rafael Atlixco 186 Col. Vicentina, Iztapalapa, Ciudad de México, C.P. 09340. Tel. 52-55-58044670 Fax 52 (55) 58 04 4666.

EXPERIMENTACIÓN

Preparación de las microcápsulas (MC)

Las MC fueron preparadas con el método de polimerización interfacial, donde la fase dispersa se preparó al 8% de acetato de celulosa (CA, Aldrich) y N,N-dimetilformamida (DMF, Aldrich). Después de 2 h de agitación, se agregó el agente extractante (Cyanex 923 en diferentes concentraciones) y con ayuda de una jeringa se formaron gotas, las cuales se adicionaron a un baño de solidificación que contenía una mezcla de etanol- agua (3:10 v/v). Las MC así preparadas fueron separadas por filtración y enjuagadas con agua desionizada para su posterior utilización [7].

Experimentos de extracción/recuperación de Cd (II).

Los experimentos de extracción y recuperación se realizaron en batch con una cantidad conocida de MC en agitación constante y a temperatura ambiente. Los diversos parámetros que influyen el proceso de extracción, tal como la cantidad de Cyanex 923

en la fase dispersa (0.00 M – 0.44 M), masa de microcápsulas (0.05 g – 1.00 g), [HCl] (0 M – 6 M) y tiempo de contacto (15 min – 7 h) fueron estudiados.

Por otro lado, en lo que respecta al proceso de recuperación de Cd(II), se estudiaron los efectos tales como la concentración de H₂SO₄ (0.05 M- 1.00 M) y tiempo de contacto (0.08 – 5 h). En ambos casos (extracción y recuperación), la cantidad de Cd(II) presente en las fases acuosas se determinaron por la técnica de Absorción Atómica por atomización en llama con un equipo Varian modelo SpectrAA 880.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Efecto de la cantidad de Cyanex 923.

El porcentaje de extracción de cadmio aumenta de forma importante conforme lo hace la concentración de extractante (Tabla 1), lo anterior puede atribuirse a que un aumento de la cantidad de agente extractante en la MC puede ocasionar una mayor cantidad de sitios activos con lo que la extracción se vuelve más eficiente. Con la finalidad de poder observar el efecto de los diferentes parámetros involucrados en la extracción de Cd(II) se optó por utilizar la concentración 0.04 M.

Tabla 1. Efecto de la concentración del agente extractante presente en la solución polimérica utilizada para la formación de las MC's-Cy.

Concentración de agente extractante (M)	% Extracción*
0.00	5.88 (0.06)
0.02	69.49 (4.72)
0.04	85.50 (1.01)
0.06	92.95 (2.27)
0.17	94.81 (3.29)
0.27	95.40 (0.49)
0.36	98.31 (0.57)
0.44	98.66 (0.56)

*Porcentaje de desviación estándar relativa. Efecto de la masa de microcápsulas.

Como se mencionó, la cantidad de Cd (II) extraído depende directamente de la cantidad de sitios activos presentes en el material, por lo tanto, la cantidad de sorbente utilizada puede mejorar el proceso de adsorción/recuperación. Para lograr lo anterior, se pesaron distintas cantidades de MC en un intervalo de 0.05 g a 1 g tal y como se muestra en la Figura 1. Los resultados mostraron que con solo 1 g de microcápsulas fue posible extraer hasta un 96% del Cd(II) inicial; sin embargo, al utilizar 0.5 g la extracción llega a un 85%, lo cual se considera apto para los siguientes experimentos.

Efecto de la concentración de HCl en la solución de Cd (II).

Se evaluó la cantidad de HCl presente en el medio debido a que condiciona el tipo y la concentración de clorocomplejos presentes en la solución (CdCl^+ , CdCl_2 , CdCl_3^+ y CdCl_4^{2+}). En la Tabla 2 se observa que conforme aumenta la concentración de HCl en el intervalo de 0 M a 2 M el porcentaje de extracción aumenta, esto puede deberse a que va aumentando la cantidad de iones Cl^- necesarios para la formación del clorocomplejo de interés (CdCl_2); sin embargo, cuando se llega a la concentración 6 M hay una disminución en el porcentaje de extracción debido a la competencia que existe entre este y el clorocomplejo [8-9].

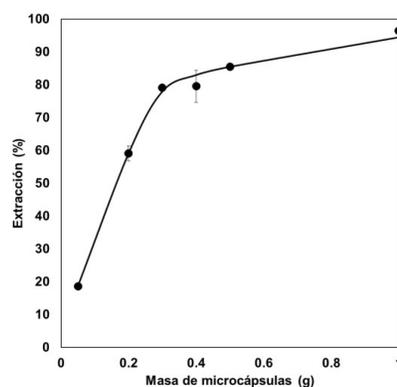


Figura 1. Efecto de la masa de microcápsulas en la extracción de Cd (II). Condiciones de extracción: $[\text{Cd}]$: 10 ppm; $[\text{HCl}]$: 1M; $[\text{Cy}]$: 0.04 M y 2 h de agitación.

Tabla 2. Efecto de la concentración de HCl en la extracción de Cd

Concentración de HCl (M)	% Extracción*
0.0	21.67 (0.65)
0.5	62.80 (9.44)
1.0	85.50 (1.18)
1.5	94.07 (1.23)
2.0	94.34 (0.56)
6.0	82.32 (1.39)

*Porcentaje de desviación estándar relativa.

Efecto del tiempo de agitación.

Se estudiaron diversos tiempos de agitación desde 15 minutos a 7 horas (Tabla 3), donde se pudo observar que a partir de 2 h no existe un cambio en la cantidad de Cd(II) extraído, por lo que se puede suponer que el sistema ha llegado al equilibrio y sería tiempo suficiente para llevar a cabo la extracción. Sin embargo, las isotermas de adsorción se realizaron en un tiempo de 7 h para asegurar el equilibrio en el sistema.

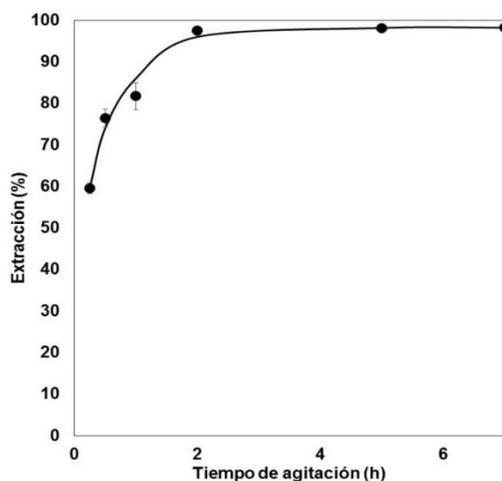


Figura 2. Efecto del tiempo de agitación en la extracción de Cd (II). Condiciones de extracción: [Cd]:10 ppm; [HCl]:1.5 M; [Cy]:0.04M y 0.5 g de MC.

Isotermas de adsorción.

Con la finalidad de conocer como es el proceso de adsorción del Cd(II), se realizaron tres diferentes isotermas (Langmuir, Freundlich y Dubinin Radushkevich) con concentraciones de 10 hasta 150 mg/l. De acuerdo con los datos obtenidos, se puede decir que el modelo que se ajusta mejor a los resultados de adsorción del Cd(II) en la superficie de la MC es el de Langmuir (Tabla 4) por lo que

podría afirmarse que el proceso se lleva a cabo por monocapas y con una adsorción favorable ($0.01 < R_L < 0.15$) teniendo una capacidad máxima y una constante de sorción de 0.77 mg/g y 0.52 l/mg respectivamente. Por otro lado, con la aplicación de la isoterma de Dubinin- Radushkevich es posible conocer que el proceso de adsorción es de tipo físico (fisisorción) ya que la energía es inferior a 8 KJ/mol [10-11].

Tabla 4. Constantes de las diferentes isotermas de adsorción (Langmuir, Freundlich y Dubinin Radushkevich) del proceso de extracción de Cd(II) mediante la utilización de microcápsulas.

Isoterma de Langmuir			Isoterma de Freundlich		
q_o (mg/g)	K_L (l/ mg)	r^2	K_F (/g)	n_o	r^2
0.77	0.52	0.998	0.34	5.24	0.972
Isoterma de Dubinin Radushkevich					
β (mol/ J ²)		E (KJ/mol)		r^2	
0.008		7.91		0.993	

Efecto de la concentración de reextractante.

Se utilizó H₂SO₄ como agente reextractante y se evaluó el efecto de su concentración, estudiando un intervalo 0.05 M a 1.00 M (Tabla 5) observándose una relación inversa entre la concentración de H₂SO₄ y el porcentaje de recuperación, lo cual puede atribuirse a que a concentraciones altas de ácido se favorece la extracción y no la recuperación [12]. Considerando lo anterior, la concentración elegida fue de 0.1 M.

Tabla 5. Efecto de la concentración del agente re-extractante para la recuperación de Cd (II).

Concentración de H ₂ SO ₄ (M)	% Recuperación*
0.05	77.09 (7.31)
0.10	77.95 (2.96)
0.25	76.59 (3.27)
0.50	71.24 (6.25)
1.00	66.95 (3.13)

Condiciones de extracción: [Cd]:10 ppm; [HCl]:1.5 M; [Cy]:0.04M y 0.5 g de MC. Condiciones de re-extracción: 0.5 g de MC y 2 h de agitación.

*Porcentaje de desviación estándar relativa.

Aplicación de las MC.

Con la finalidad de aplicar las MC en la recuperación de Cd (II) presente en baterías de Ni-Cd se preparó una solución de 10 ppm a partir de la muestra previamente digerida con H₂SO₄, H₂O₂ y agua desionizada, observándose un porcentaje de extracción y recuperación del 88.28 ± 0.76 % y 79.59% ± 1.80 respectivamente. Esto permite suponer que existe un ligero envenenamiento de las MC debido a la presencia de los diferentes compuestos presentes en la pila, en especial por el níquel.

CONCLUSIONES

La metodología propuesta en este trabajo promueve una eficiente recuperación de Cd(II) proveniente de baterías de tipo Ni-Cd. La técnica es simple, económica y amigable con el medio ambiente. Consiste en una digestión ácida, la recuperación con una matriz polimérica (acetato de celulosa) con Cyanex 923 como agente extractante y es selectivo al cadmio. Las mejores condiciones de extracción son Cyanex 923 a concentración 0.04 M, un medio de HCl con concentración 1.5 M, 5 g de microcápsulas y 2 h de agitación, obteniendo hasta un 97.46% de extracción. Para la recuperación se utilizó H₂SO₄ 0.1 M y 30 minutos de contacto con hasta un 80% de recuperación pudiendo ser reutilizadas hasta 7 ciclos sin cambios en los porcentajes.

La utilización de microcápsulas abre una ventana de oportunidad en el diseño de estrategias analíticas para la recuperación de diferentes especies de interés ambiental o en el campo de la salud.

REFERENCIAS

- [1]A. K. Shukla, S. K. Martha. Rechargeable Batteries. **100**, 52-63 (2001).
- [2]C.A. Nogueira, F. Margarido. Leaching behaviour of electrode materials of spent nickel-cadmium batteries in sulphuric acid media. Hydrometallurgy **72**, 111-118 (2004). [3]D. C. R. Espinosa, J. A. S. Tenório. Fundamental aspects of recycling of nickel-cadmium batteries through vacuum distillation. Journal of Power Sources **135**, 320-326 (2004).
- [4]T. Sato, T. Shimomura, S. Murakami, T. Maeda, T. Nakaura. Liquid-liquid extraction of divalent manganese, cobalt, copper, zinc and cadmium from aqueous chloride solutions by tricaprilmethylammonium chloride. Hydrometallurgy **12**, 245-254 (1984).
- [5] A. Oliva, A. Molinari, F. Zuñiga, P. Ponce. Studies on the Liquid-Liquid Extraction of Nickel (II), Zinc (II), Cadmium (II), Mercury (II) and Lead (II) with 1-Phenyl-3-hydroxy-4-dodecyldithiocarboxylate-5-pyrazolone. **12** (2002).
- [6]G. Nikam, K. Mahanwar, S. Sabale, B. Mohite. Extractive Separation of Cadmium(II) using

Cyanex 923 from Ammonium Thiocyanate Medium. Separation and Purification Technology **48**, 493–500 (2013).

[7]S. Ozcan, A. Tor, M. E. Aydin. Removal of Cr(VI) from aqueous solution by polysulfone microcapsules containing Cyanex 923 as extraction reagent. Desalination **259**, 179-186 (2010).

[8]A. M. Rodriguez, D. Gomez-Limón, F. J. Alguacil. Liquid-Liquid extraction of cadmium (II) by Cyanex 923 and its application to a solid-supported liquid membrane system. Journal of Chemical Technology Biotechnology **80**, 967-972 (2005).

[9]S. Martinez, A. Sastre, N. Miralles, F.J. Alguacil. Gold (III) extraction equilibrium in the system Cyanex 923-HCl-Au (III), Hydrometallurgy **40**, 77-88 (1996).

[10]Y. Yuan, J. Liu, B. Zhou, S. Yao, H. Li, W. Xu. Synthesis of coated solvent impregnated resin for the adsorption of indium (III). Hydrometallurgy, **101**, 148-155 (2010).

[11] A. Cubuk, T. Akar, S. Tunali, O. Tabak. Biosorption characteristics of Bacillus sp. ATS-2 immobilized. Journal of Hazardous Materials **136**, 317-323 (2006).

[12]M. M. Benjamin, J. O. Leckle. Effects of Complexation by Cl, SO₄, and S₂O₃ on Adsorption Behavior of Cd on Oxide Surfaces Environmental Science & Technology **76**, 162-170 (1982).

CARACTERIZACIÓN DE CATALIZADORES NiW SOPORTADOS EN Al_2O_3 Y $\text{MgO-Al}_2\text{O}_3$

Liliana Salinas-Palafox
Acela López-Benítez
Alfredo Guevara-Lara^{1*}

INTRODUCCIÓN

Durante la combustión de la gasolina y el diésel se producen óxidos de azufre SO_x . Estos óxidos interactúan con el agua de lluvia y ocasionan la lluvia ácida, la cual produce daño tanto a los materiales de construcción como a los seres vivos. Esta problemática ambiental lleva a aplicar leyes sobre el contenido de azufre en los combustibles diésel y gasolina que deben cumplir con la norma NOM-086-SEMARNAT- SENER-SCFI-2005, la cual no ha sido actualizada, pero indica los límites permisibles hasta el año 2009 y son los que se mantienen hasta ahora. Esta norma establece un máximo 15 mg/Kg de azufre en diésel y un máximo 80 mg/Kg de azufre en gasolinas en el año 2009. Por lo tanto, es necesario el uso de catalizadores que permitan la remoción de azufre ya que con el tiempo las normas serán más exigentes.

Los catalizadores de WS_2 promovidos por Ni presentan dificultades durante su activación por presentar fuertes interacciones con el soporte lo que evita la formación de las fases activas NiWS. El Ni es el promotor utilizado para los catalizadores de W, la dificultad de activar catalizadores NiW reside en la diferencia de la temperatura de sulfuración disminuyendo las fases activas NiWS y originando especies NiS_x [1,2]. Las fases activas pueden ser formadas dependiendo del soporte y de las interacciones con las especies de $\text{W}^{6+}/\text{Ni}^{2+}$. A su vez, el tipo de polioxoanión formado depende de la concentración de cada uno de los metales, del pH de impregnación y del soporte utilizado [3]. Los aditivos que se agregan al catalizador como el MgO pueden disminuir las interacciones con el soporte favoreciendo mayor formación de especies activas.

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo Área Académica de Química, Carr. Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo. México. C.P. 42184. Tel:+52 (771) 717 2000 ext. 2202, e-mail: lily_9501@hotmail.com

Este trabajo presenta los resultados de caracterización de catalizadores preparados con 25% p/p WO_3 , con un soporte de Al_2O_3 y Al_2O_3 modificada con 5% mol de MgO , impregnados a $\text{pH}=7.0$ y 9.0 y con relaciones molares de $\text{Ni}/(\text{Ni}+\text{W})= 0.3, 0.4$ y 0.5 .

EXPERIMENTACIÓN

Síntesis de soportes

Los soportes de Al_2O_3 y 95%mol Al_2O_3 con 5%mol de MgO se prepararon mediante el método sol-gel que incluye una disolución de alcóxidos en alcohol. La disolución se hidrolizó con agua desionizada para formar el gel, se secó a 120°C por 4 h para formar un xerogel y finalmente se calcinó a 550°C por 4 h.

Caracterización de los soportes

Los dos soportes se caracterizaron por potencial ζ para conocer el pH neto de la superficie, usando un equipo Malvern ZetaSizer Nano ZS90. Para ello, 0.0025 g de soporte se dispersaron en una solución electrolítica de NaNO_3 0.01 M a 25°C . El pH se ajustó con soluciones acuosas de NH_3 0.01M y HNO_3 0.01M.

También se caracterizaron por fisisorción de N_2 para conocer el área superficial, así como la forma, el volumen y el tamaño del poro, utilizando un equipo Micromeritics ASAP 2020. Antes del análisis, la muestra seca y calcinada se pulverizó. Posteriormente, 0.100 g de muestra se desgasificó a 300°C por 4h y una $P=30\mu\text{mHg}$. El área superficial específica se obtuvo utilizando el método Brunauer-Emmet-Teller (BET).

Síntesis de catalizadores

El método de preparación de los catalizadores fue por co-impregnación húmeda. Dos series de catalizadores se prepararon a un pH de impregnación de 7.0 y 9.0 en los soportes de Al_2O_3 y 95%mol Al_2O_3 con 5%mol de MgO , con un contenido de 25% p/p WO_3 variando la relación molar de $\text{Ni}/(\text{Ni}+\text{W})$ de 0.3, 0.4 y 0.5. Las sales precursoras que se utilizaron para la solución de impregnación de los catalizadores fueron $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y $(\text{NH}_4)_6\text{H}_2\text{W}_{12}\text{O}_{40} \cdot \text{XH}_2\text{O}$. Los catalizadores se secaron a 120°C por 12 h y se calcinaron a 400°C por 4 h.

Caracterización de catalizadores

Los catalizadores se analizaron cualitativamente en estado seco y calcinado para conocer la simetría local de W y Ni. La caracterización se realizó por Espectroscopía de Reflectancia Difusa UV-vis en un espectrómetro Perkin-Elmer Lambda 35 equipado con una esfera de integración. En esta técnica se utilizó el modelo de Kubelka-Munk [4], el cual describe la radiación reflejada de manera difusa. La referencia utilizada fue un Spectralon SRS-99-010 (99% de reflectancia). Los espectros se obtuvieron a longitudes de onda entre 200 y 1100 nm con 1 nm de resolución, slit de 1 y velocidad de 960 nm/min.

También los catalizadores se caracterizaron cualitativamente por espectroscopía Raman para diferenciar entre los polioxoaniones de W depositados en la superficie del catalizador, utilizando un espectrómetro BWTEK i-plus Raman, equipado con láser de

314 nm. Los sólidos fueron pulverizados y homogeneizados. Posteriormente, una muestra de aproximadamente 0.05 g. se compactó dentro del contenedor de la muestra del equipo hasta obtener una superficie plana. El barrido de las muestras se realizó con 10 escaneos, con una potencia láser entre 100-200 mW, en un intervalo entre 1200-100 cm^{-1} .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de los soportes.

Los resultados de caracterización por potencial ζ y fisisorción de N_2 de los dos soportes se muestran en la Tabla 1.

Los resultados de fisisorción de N_2 reflejan que el soporte de $\text{MgO}-\text{Al}_2\text{O}_3$ presenta un área superficial de 366 m^2/g que es menor que el soporte de Al_2O_3 de 310 m^2/g . El valor de área superficial de ambos soportes es mayor que una alúmina industrial de 270 m^2/g [5]. Lo que indica una mayor superficie disponible para dispersar la fase activa. El diámetro de poro confirma la presencia de mesoporos (entre 2 y 50 nm según la IUPAC). El volumen de poro se mantiene igual en ambos soportes y permite conocer la cantidad necesaria de disolución para realizar la impregnación del catalizador.

Los resultados de potencial ζ indican que el soporte de $\text{MgO}-\text{Al}_2\text{O}_3$ presenta un pH neto superficial de 9.2 mayor que el soporte de Al_2O_3 de 8.6. Este resultado indica que el soporte con MgO podría dispersar mejor las especies precursoras de los catalizadores durante el secado y la calcinación por las interacciones electrostáticas entre el soporte con sitios básicos y las

especies W^{6+} y Ni^{2+} .

Tabla 1. Resumen de la caracterización de soportes.

Parámetro a analizar.	Resultado Al_2O_3 .	Resultado $MgO-Al_2O_3$.
A_{BET} .	366 m^2/g	310 m^2/g
Diámetro de poro.	18 nm	22 nm
Volumen de poro.	1.7 cm^3/g	
Isoterma de adsorción	Tipo IV	
Histéresis formada en la desorción	Tipo H1	
p.c.c.	8.6	9.2

Caracterización de los catalizadores

Los catalizadores se analizaron en estado óxido sobre los soportes de Al_2O_3 y $MgO-Al_2O_3$ a un pH de impregnación de 7.0 y 9.0, variando la relación molar de $Ni/(Ni+W)$ de 0.3, 0.4 y 0.5

Catalizadores soportados en Al_2O_3 . Espectroscopía de Reflectancia Difusa UV-vis

La banda correspondiente a la transferencia de carga $O^{2-} \rightarrow W^{6+}$ a 271 nm del anión metatungstato puede observarse en todos los catalizadores de la serie 0.3, 0.4 y 0.5. Al aumentar la relación molar de $Ni/(Ni+W)$ aparece la banda de especies octaédricas de W a 330 nm. Lo que indica una polimerización de las especies de WO_4^{2-} a $W_{12}O_{40}^{8-}$. También los catalizadores presentan una banda a 378 nm asociada a la espinela $NiAl_2O_4$.

Las especies de Ni presentan dos bandas a 416 y 660 nm asociadas a Ni^{2+} con simetría octaédrica. Cuando los catalizadores se someten a una calcinación, aparece la banda de la distorsión de Ni^{2+} a 742 nm, asociada a la interacción con el tungsteno. Las especies de Ni^{2+} con simetría tetraédrica comienzan a aparecer a 973 nm a una relación molar de 0.5 en el catalizador seco y calcinado.

A pH de impregnación de 9.0 se favorece la espinela $NiAl_2O_4$ la cual es una especie no deseada en la superficie porque interacciona fuertemente con el soporte y evita que se formen fases activas NiWS.

Espectroscopía Raman

Los espectros de los catalizadores calcinados sólo se pudieron obtener a pH de impregnación=9.0 quizá debido a que a pH=7.0 existe una mayor dispersión de las especies precursoras lo que dificulta su detección.

En los espectros de los catalizadores secos se observan los estiramientos W-O-W a bandas Raman de 720 y 233 cm^{-1} . También es observada la especie WO_4^{2-} a 950 cm^{-1} y de $\text{W}_{12}\text{O}_{40}^{8-}$ a 977 cm^{-1} . En los espectros de los catalizadores calcinados se observan los estiramientos W-O-W a bandas Raman de 345, 336 y 233 cm^{-1} . También se observada la especie WO_4^{2-} a 955 cm^{-1} y la especies de $\text{W}_{12}\text{O}_{40}^{8-}$ a 977 cm^{-1} . En las relaciones molares de 0.4 y 0.5 se favorecen las especies metatungstato, $\text{W}_{12}\text{O}_{40}^{8-}$ en los catalizadores secos y en las relaciones molares de 0.5 se favorece dicha especie en el catalizador calcinado. Con el análisis Raman se confirma que al aumentar la cantidad de Ni se favorece la polimerización de W.

Catalizadores soportados en MgO-Al₂O₃. Espectroscopía de Reflectancia Difusa UV-vis

Las especies identificadas en EDR UV-vis son la transferencia de carga $\text{O}^{2-} \rightarrow \text{W}^{6+}$ a

281 nm a pH=7.0 y 9.0 a relaciones molares de $\text{Ni}/(\text{Ni}+\text{W}) = 0.3, 0.4$ y 0.5 . La interacción Ni-soporte denominada espinela NiMgO_2 a 378 nm que se observa desde la impregnación y se intensifica durante la calcinación. La presencia de Ni con simetría local tetraédrica y octaédrica a 977, 426 y 650 nm, respectivamente. Los catalizadores calcinados presentan la especie octaédrica distorsionada de Ni^{2+} indicando interacciones con tungsteno.

Tabla 2. Especies depositadas en los catalizadores soportados sobre Al_2O_3

Precusores	Especie depositada en la superficie a pH de impregnación=7.0 y 9.0	
	Espectroscopía de Reflectancia Difusa UV-vis	Espectroscopía Raman
W	$\text{W}_{12}\text{O}_{40}^{8-}$: Mayor polimerización a relaciones molares $\text{Ni}/(\text{Ni}+\text{W})= 0.5$ y pH=7 en la calcinación.	pH=7 no se detectan bandas A pH=9 sí se detectan W-O-W: a relaciones molares $\text{Ni}/(\text{Ni}+\text{W})= 0.3, 0.4$ y 0.5 en secos WO_4^{2-} : A relaciones molares $\text{Ni}/(\text{Ni}+\text{W})= 0.3$ y 0.4 en secos y $\text{Ni}/(\text{Ni}+\text{W})= 0.3$ en calcinados. $\text{W}_{12}\text{O}_{40}^{8-}$: A relación molar $\text{Ni}/(\text{Ni}+\text{W})= 0.5$ en secos y $\text{Ni}/(\text{Ni}+\text{W})= 0.4$ y 0.5 en calcinados

Ni	<p>NiAl₂O₄: Más definida a relaciones molares Ni/(Ni+W)= 0.4 y 0.5 a pH=9</p> <p>Ni²⁺_{Oh}: Mayor interacción con especies de W a pH=7 Ni²⁺_{Oh-d}: Presente en los catalizadores calcinados Ni²⁺_{Td}: Aparece a relaciones molares Ni/(Ni+W)=0.4 y 0.5 a pH9</p>	NO ₃ ⁻ : Proveniente de la sal precursora de Ni
----	---	---

Espectroscopía Raman

En los espectros de los catalizadores secos sólo se observaron las especies de NO₃⁻ a 1046 cm⁻¹ de la sal precursora de Ni y los estiramientos W-O-W se observan mostrando presencia de polioxoaniones de W. En los catalizadores calcinados no se observaron bandas.

Cuando se modifica el soporte, pueden existir cambios en la dispersión de las especies de Ni-W. En los catalizadores soportados en MgO-Al₂O₃ hubo mejor distribución de las especies superficiales puede ser que haya sido la causa de su difícil detección en espectroscopía Raman.

A pH=9.0 se favorece la presencia de la espinela NiMgO₂. Después de la calcinación aparece la banda de la distorsión del Ni por interacción con las especies de W. Al modificar el pH de la superficie se pueden modificar las especies depositadas en la superficie.

Las especies presentes en los catalizadores indican que al aumentar la cantidad de Ni se favorece la polimerización de las especies de W y también la interacción tipo espinela de NiMgO₂ y NiAl₂O₄.

Las Tabla 2 y 3 muestran un resumen de las especies observadas por ERD-UV-vis y Raman.

Tabla 3. Especies depositadas en los catalizadores soportados sobre MgO-Al₂O₃

Precusores	Especie depositada en la superficie a pH de impregnación=7.0 y 9.0	
	Espectroscopía de Reflectancia Difusa UV-vis	Espectroscopía Raman
W	<p>W₁₂O₄₀⁸⁻: Mayor polimerización a relaciones molares Ni/(Ni+W) = 0.5 en la calcinación y más intensa que los catalizadores soportados en Al₂O₃.</p> <p>WO₄²⁻: A relaciones molares Ni/(Ni+W) = 0.3 y 0.4 a pH=7</p>	<p>pH=7 y pH=9 se detectan bandas en catalizadores secos W-O-W: a relaciones molares Ni/(Ni+W) = 0.3,0.4 y 0.5 en secos</p>

Ni	NiMgO ₂ : Más definida a relaciones molares Ni/(Ni+W) = 0.3, 0.4 y 0.5 a pH=9 Ni ²⁺ _{Oh} : Mayor interacción con especies de W a pH=7 Ni ²⁺ _{Oh-d} : Presente en los catalizadores calcinados Ni ²⁺ _{Td} : Aparece a relaciones molares Ni/(Ni+W) = 0.5 a pH9	NO ₃ ⁻ : Proveniente de la sal precursora de Ni
----	---	---

CONCLUSIONES

Los sólidos de Al₂O₃ y MgO-Al₂O₃ presentaron isothermas de adsorción tipo IV e histéresis tipo H1, indicando presencia de mesoporos de forma cilíndrica uniforme.

Al adicionar el MgO se disminuye el área superficial de la Al₂O₃. La adición de MgO incrementa el pH del soporte lo que podría mejorar la distribución de las especies W⁶⁺ y Ni²⁺.

Los resultados de espectroscopías Raman y Reflectancia Difusa UV-vis mostraron que las posibles interacciones en la superficie de los catalizadores son W₁₂O₄₀⁸⁻/Ni²⁺_(Oh), WO₄²⁻/Ni²⁺_(Oh), W₁₂O₄₀⁸⁻/Ni²⁺_(Oh-d) y WO₄²⁻/Ni²⁺_(Oh-d). La banda de la espinela de NiAl₂O₄ y NiMgO₂ se intensifica durante la calcinación de los catalizadores, a pH=9.0 y con una relación molar de Ni/(Ni+W)=0.5.

El aumento en la relación molar de Ni/(Ni+W) favorece la polimerización de las especies de W. A un pH de impregnación de 7.0, las relaciones molares de Ni/(Ni+W) = 0.3 y 0.4, presentan especies similares durante el secado y la calcinación, mostrando que las especies de Ni y W se dispersan de manera similar.

Los catalizadores soportados en MgO-Al₂O₃ presentan mayor polimerización de especies de W comparado con los soportados en Al₂O₃.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos al programa CONACYT por el proyecto No. 256345/CB- 2015-01.

REFERENCIAS

- [1] L. Coulier, G. Kishan, J.A.R. van Veen, J.W. Niemantsverdriet. *Journal of Physical Chemistry B*. **106**, 5897-5906 (2002).
- [2] B. Scheffer, P.J. Mangnus, J.A. Moulijn. *Journal of Catalysis*. **121**, 18-30 (1990).
- [3] J.C. Mogica-Betancourt, A. López-Benítez, J.R. Montiel-López, L. Massin, M. Aouine, M. Vrinat, G. Berhault, A. Guevara-Lara. *Journal of Catalysis*. **313**, 9-23 (2014).
- [4] A. A. Christy, O. M. Kvalheim, R. A. Velapoldi. *Vibrational Spectroscopy*. **9**, 19-27 (1995).
- [5] D. Zuo, M. Vrinat, H. Nie, F. Maugé, Y. Shi, M. Lacroix, D. Li. *Catalysis Today*. **93-95**, 751-760 (2004).

DIFERENCIACIÓN DE TEQUILAS MIXTOS Y 100% AGAVE MEDIANTE LA COMBINACIÓN DE LA ESPECTROSCOPÍA FT-MIR Y TÉCNICAS NO SUPERVISADAS

David Miranda López¹
Guadalupe Pérez Caballero^{1*}
José Manuel Andrade Garda²

INTRODUCCIÓN

El tequila es una bebida alcohólica mexicana reconocida mundialmente por su sabor único. La producción del tequila está regulada por la Norma Oficial Mexicana NOM-006- SCFI. De acuerdo con esta norma los tequilas se clasifican por su tiempo de añejamiento en: tequila plata o blanco, resultado de una doble destilación; el reposado, madura por lo menos 2 meses; el añejo, al menos 1 año y el extra añejo más de 3 años [1]. El joven es la combinación de un blanco con un reposado o incluso con añejo o extra añejo.

De acuerdo al porcentaje de azúcares provenientes del *agave tequilana Weber* variedad azul, surgen dos categorías: Tequila 100% Agave y Tequila Mixto. Cuando se utilizan azúcares provenientes únicamente de este agave es llamado "Tequila 100% Agave" y si es enriquecido con otros azúcares en una cantidad menor al 51%, se le denomina "Tequila mixto" o "Tequila". En este sentido, es de suma importancia disponer de un método de análisis sencillo y fiable para diferenciar entre estas dos categorías.

Se han reportado varias técnicas analíticas para discriminar entre Tequila 100% agave y Tequila mixto. El empleo de las relaciones de isótopos estables [2,3, 4,5], mediante la evaluación de las relaciones $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ - y $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de etanol vía el análisis por SPME-HRGC- IRMS (*Headspace SPME Gas Chromatography-Isotope Ratio Mass Spectrometry*) [5]. Sin embargo, las técnicas son sofisticadas y sólo están disponibles en un número limitado de laboratorios.

¹ Laboratorio de Físicoquímica Analítica. Unidad de Investigación Multidisciplinaria, Facultad de Estudios Superiores-Cuautitlán, Campo 4, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuautitlán Izcalli, 54700, Edo. México, México. *e-mail: perezcg@unam.mx

² Sección de Química Analítica. Universidad de Coruña, Campus Zapateira, s/n. 15008, España. *e-mail: andrade@udc.es

En otros estudios, se han determinado las concentraciones de metanol y 2-/3-metil-1-butanol por Cromatografía de Gases y su correlación para evaluar la autenticidad de muestras de tequila. Asimismo, se ha constatado que el contenido de compuestos volátiles, responsables del aroma al tequila, tales como fenil etanol, α -terpineol, furfural, benzaldehído, se encuentran en un alto contenido en tequilas 100% agave con respecto a los tequilas mixtos, lo cual depende de la materia prima usada en su producción. No obstante, las determinaciones de $^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ para el análisis de las relaciones isotópicas de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ por la espectrometría de masas (IR MS) así como las relaciones de Deuterio/Hidrógeno (D/H) de etanol por SNIF-NMR (por sus siglas en inglés *Site Specific Natural Isotopic Fractionation studied by Nuclear Magnetic Resonance*) [6], mostraron pocas posibilidades en la autenticación de las categorías [7].

En el presente trabajo se construyeron diferentes modelos por dos técnicas quimiométricas no supervisadas, como son Análisis de Componentes Principales (PCA) y Análisis Cluster (CA), para la diferenciación de Tequilas 100% agave y mixtos, empleando tequilas blancos y jóvenes a partir de datos FT-MIR con muestras proporcionadas por el CRT.

EXPERIMENTACIÓN

- *Las muestras fueron proporcionadas por el Consejo Regulador del Tequila:* 80 muestras de tequilas (16 blancos mixtos, 23 jóvenes mixtos y 41 100% agave).
- *Obtención de los espectros:* Los espectros fueron obtenidos en Transmitancia en un espectrómetro Perkin Elmer, modelo FT-IR Frontier, en el intervalo de 4000 a 450 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} , con 16 barridos, equipado con un dispositivo ATR de diamante de 1 reflexión.
- *Software:* GenEx© (MultiDAnalysis AB, Gotemburgo, Suecia)
- *Pretratamiento:* Los espectros fueron transformados en absorbancia, corrección de ATR, corrección manual de línea base y se ajustaron a cero.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La figura 1 presenta el conjunto de espectros en el intervalo de 4000 a 450 cm^{-1} la cual muestra un gran traslape. No obstante, en la región de 3000 a 3500 cm^{-1} se encuentra una banda ancha que corresponde a la señal del O-H del etanol y agua. En el máximo de esta banda se aprecian dos grupos de espectros intercalados correspondientes, en el superior coexisten los tequilas 100% agave y mixtos (TP) y otro donde predominan los mixtos (TM). En experimentos previos se constató que la intensidad de esta banda disminuye a medida que el contenido de etanol aumenta, por lo que la mayoría de los TP analizados presentan menos contenido alcohólico que los TM.

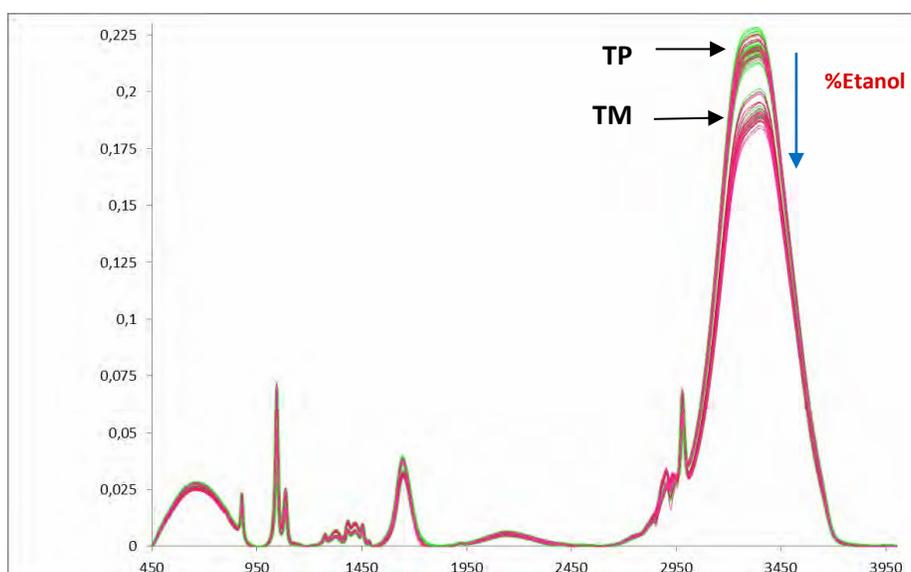


Figura 1. Espectros FT-MIR de 80 muestras del CRT, intervalo de 4000-450 cm^{-1} , sin escalado.

Análisis de Componentes Principales y Análisis Cluster

En la Tabla 1 se presentan los símbolos y colores usados en los modelos de PCA y CA para la diferenciación de tequilas por categoría.

Tabla 1. Símbolos y colores para los tequilas.

Tequila	Símbolo y color
Blancos (100% Agave)	▲
Blancos y Jóvenes (Mixtos)	●

Las figuras 2a y 2b representa los diagramas de scores en las subespecies PC1-PC2 y PC1-PC2-PC3, respectivamente. En ambas figuras se puede apreciar la formación de dos conjuntos correspondientes a las categorías (Mixtos y 100% Agave). Este modelo se realizó con 4000 a 450 cm^{-1} , con datos brutos y auto escalado. Tres PC's explican el 99.999% de la varianza inicial (PC1:99.9231%, PC2:0.0748%, PC3:0.0011%). Se observa que PC2 es el componente responsable de la separación entre las dos categorías. A su vez en cada grupo se denotan dos subgrupos, en función de PC1 y PC2. En mixtos, el TMA y el TMB, y en el 100% agave, el TPA y el TPB.

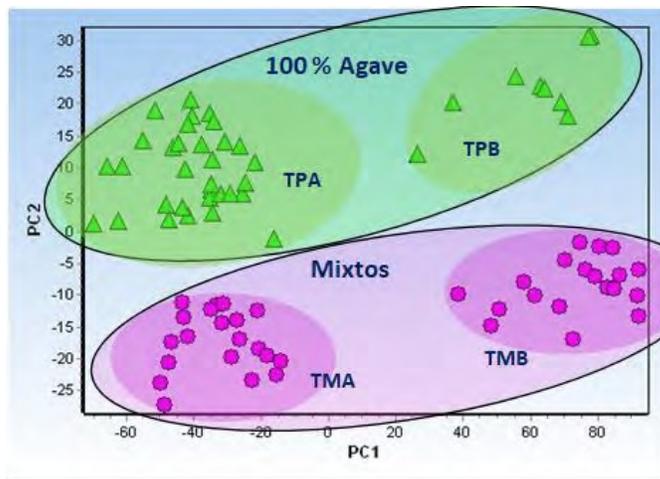


Figura 2a. Diagrama de scores en el subespacio PC1-PC2

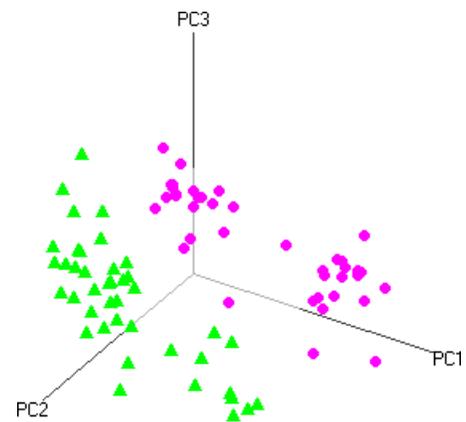


Figura 2b. Diagrama de scores en el subespacio PC1-PC2-PC3

El dendograma de la figura 3 fue obtenido con algoritmo de Ward y correlación de Pearson, autoescalado en el intervalo 4000 a 450 cm^{-1} . En este dendograma se observa la separación que Tequilas mixtos (TMA y TMB) y 100% Agave (TPA y TPB) por subgrupos. El orden de aparición de estos subgrupos es según su grado alcohólico. De izquierda a derecha aumenta el

grado de etanol, es decir, el TPA tiene el menor porcentaje de etanol mientras que el TMB es el de mayor porcentaje. El agrupamiento uno está constituido por los subgrupos TMA y TPA y el dos por TMB y TPB.

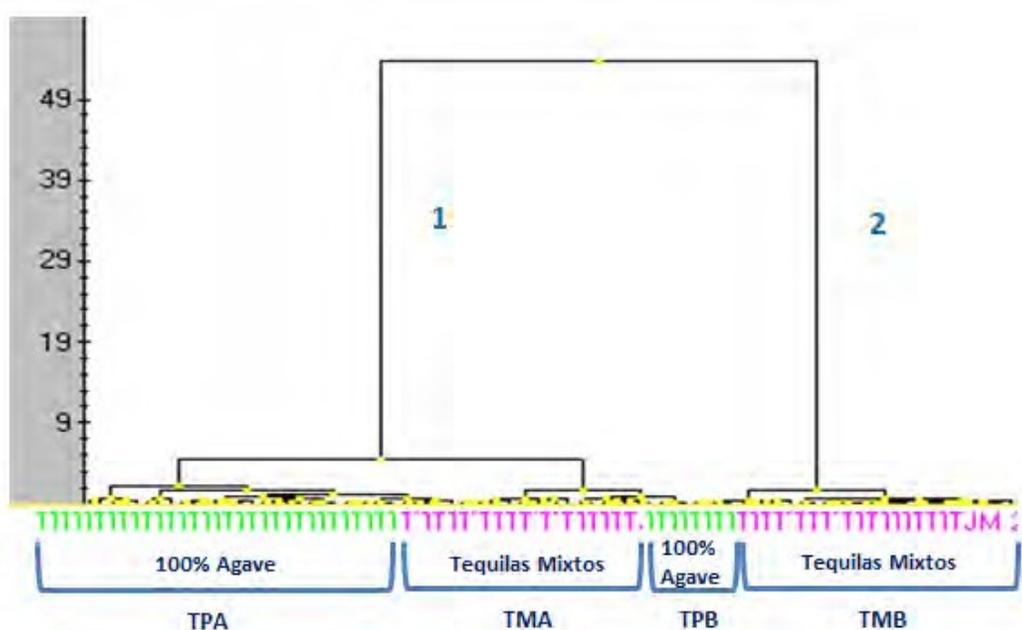


Figura 3. Dendrograma algoritmo Ward y correlación de Pearson, autoescalado en el intervalo 4000-450 cm^{-1} .

En los modelos de PCA y CA, la formación de los subgrupos TMA, TMB y TPA, TPB en las categorías mixtos y 100% de agave, respectivamente, tienen relación con el contenido de etanol. Los intervalos de porcentaje de etanol en cada categoría están en resumen en las tablas 2 y 3. Así, se puede constatar que el contenido alcohólico de los subgrupos TMA y TPA suelen tener un porcentaje de etanol más bajo con respecto al TMB y TPB.

Tabla 2. Porcentaje de etanol en tequilas mixtos reportadas por el

% EtOH TEQUILAS MIXTOS	
TMA	TMB
~ 35 – 42 %	~ 52 - 55 %

CRT.

Tabla 3. Porcentaje de etanol En tequilas 100% Agave reportadas por el CRT.

% EtOH TEQUILAS 100% AGAVE	
TPA	TPB
~35.5 a 40 %	~52 a 55 %

CONCLUSIONES

Se elaboraron modelos óptimos para la diferenciación de tequilas mixtos y 100% agave mediante la combinación de datos FT-MIR y técnicas no supervisadas de PCA y CA en todo el intervalo, con datos brutos y autoescalado.

Adicionalmente, surgieron la formación de los subgrupos TMA, TMB y TPA, TPB en las categorías mixtos y 100% de agave, respectivamente, los cuales tuvieron relación con el contenido de etanol. Asimismo, se constató que el contenido alcohólico de los subgrupos TMA y TPA suelen tener un porcentaje de etanol más bajo con respecto al TMB y TPB.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al 'Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT)-UNAM' (Clave. IT200918) por el apoyo para realizar el presente trabajo.

Se extiende un amplio agradecimiento al Consejo Regulador del Tequila por el suministro de las muestras de tequilas, lo cual hizo posible la realización del presente trabajo.

El Grupo QANAP (Química Analítica Aplicada) agradece a la Xunta de Galicia la Financiación como Grupo de Referencia Competitivo (Ref: ED431C 2017/28).

REFERENCIAS

- [1] NOM-006-SCFI-2012. Bebidas alcohólicas-Tequila-Especificaciones (p. 20). México: Diario Oficial de la Federación. (2012).
- [2] U. Hener, A. Mosandl, A. Hilkert, J. Bahrs-Windsberger, M. GroBmann, W.R. Sponholz Vitic En01 Sci **2**, 1-11 (1998).
- [3] G.E. Krammer, I. Gatfield, M. Güntert, J.M. Hilmer, C.O. Schmidt, H. Sommer, P. Werkhoff, J. Kaulen In: Schieberle P, Engel KH (eds) *Frontiers of flavour science*. DFA, Garching, 111-116 (2001)
- [4] Y. Henry, C.B. Douthitt, D. Juchelka (Poster at the 6th International Symposium on Food Authenticity and Safety, Nantes (2001).
- [5] B.O. Aguilar-Cisneros, M.G. López, E. Richling, F. Heckel, P. Schreier. *J Agric Food Chem* **50**, 7520-7523 (2002).
- [6] G. Martin, J.S. Akoka, M.L. Martin. *SNIF-NMR—Part 1: Principles*. G.A. Webb (Ed.), *Modern magnetic resonance, part 3*, Springer, Dordrecht, Netherlands 1629 (2006).
- [7] C. Bauer-Christoph, N. Christoph, B.O. Aguilar-Cisneros.; M.G. López, E. Richling, A. Rossmann, P. Schreier. *Authentication of tequila by gas chromatography and stable isotope ratio analyses*. *Eur. Food Res. Technol.* **217**, 438–443 (2003).

DETERMINACIÓN DE CIPROFLOXACINO EN MUESTRAS DE CARNE DE ORIGEN VACUNO MEDIANTE LA APLICACIÓN DE ELECTRODOS DE PASTA DE CARBÓN MODIFICADOS CON NAFIÓN

Cristhian Humberto Arredondo Baeza¹
Prisciliano Hernández Martínez^{1*}
Julia María Domínguez Soto¹
Gabriela Islas Guerrero²
Guadalupe Yoselin Aguilar-Lira³

INTRODUCCIÓN

La ciprofloxacina (CPX) (miembro de la clase de los fluoroquinolones) es uno de los agentes antibacteriales más extensamente usados para el tratamiento de infecciones bacterianas en el ganado [1]. La CPX es comúnmente empleado como fluoroquinolonas y es considerado un fármaco que fácilmente puede llegar al líquido prostático, sin embargo, los datos que se tienen sobre dicha penetración aún son muy escasos [2]. El uso desmedido de la CPX limita la mortalidad de los animales, mejora la eficiencia de la alimentación y estimula la uniformidad entre los animales, aumentando así los beneficios económicos. Sin embargo, su uso extensivo también tiene graves efectos negativos y representa un peligro para la salud pública. Puede favorecer la aparición de patógenos zoonóticos resistentes a quinolonas en los animales productores de alimentos que pueden ser transmitidos a la población por contacto directo a través de la cadena alimentaria. Esto puede estimular el desarrollo de cepas de bacterias endógenas resistentes a los fármacos en la microbiota humana e inducir reacciones alérgicas y efectos tóxicos. Además, los genes de resistencia se pueden transferir a bacterias endógenas o exógenas, que pueden propagarse a

¹ Universidad Politécnica de Francisco I. Madero. Área de Energías. Domicilio Conocido, Tepatepec, Hidalgo C.P. 42640, México. Tel: 01 (738) 724 1174. e-mail: 1503074585@upfim.edu.mx, *phernandez@upfim.edu.mx, jdominguez@upfim.edu.mx

² Universidad Politécnica de Francisco I. Madero. Área de Agroindustrial. Domicilio Conocido, Tepatepec, Hidalgo C.P. 42640, México. Tel: 01 (738) 724 1174. e-mail: gby_ig@hotmail.com

³ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Área Académica de Química, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, C.P. 42076, Mineral de la Reforma, Hgo, México. e-mail: gyal12345@hotmail.com

otros organismos [3]. Por este motivo se han desarrollado nuevas metodologías robustas (HPLC, técnicas ópticas, titulación eléctrica, fluorescencia, entre otras) que permiten realizar una identificación cuantitativa de la existencia de este fármaco en alimentos destinados al consumo humano, destacando las técnicas electroquímicas debido a su bajo costo y flexibilidad a la implementación de diversos agentes modificantes que logren mejorar su desempeño. Los electrodos modificados de grafito para sensores electroquímicos han mostrado excelentes características de transferencia de electrones, promoviendo la conveniencia de detectar algunas reacciones enzimáticas y catalíticas hacia pequeñas biomoléculas como H_2O_2 y NADH. El grafito se obtiene mediante la reducción química de los nanotubos de óxido de grafeno; se ha utilizado en electroquímica, y son abundantes los defectos y los grupos funcionales son ventajosos para aplicaciones electroquímicas. Algunos investigadores han reportado una alta sensibilidad en la detección electroquímica basada en un electrodo modificado por grafito/Nafión, grafito/glucosa oxidasa, y otros compuestos [4]. Teniendo en cuenta las interesantes propiedades de transferencia de electrones de los materiales mencionados, se plantea la hipótesis de que estos materiales serían capaces de facilitar la reacción redox entre las biomoléculas y las superficies de los electrodos y por lo tanto podrían proporcionar plataformas candidatas adecuadas para detecciones electroquímicas directas [5]. En este sentido se plantea el análisis de ciprofloxacino mediante electrodos de pasta de carbono modificados con Nafión.

EXPERIMENTACIÓN

Equipos. La experimentación se realizó utilizando celdas electroquímicas convencionales de tres electrodos, como electrodo de trabajo se usó el electrodo modificado, como electrodo auxiliar se usó un electrodo de grafito de 4 mm de diámetro, y como electrodo de referencia se usó un electrodo comercial de Ag/AgCl. Las celdas se conectaron a un potencióstato/galvanostato *WaveNow* controlado por el software *aftermath* 1.2.5968.

Reactivos. Todas las soluciones fueron preparadas con agua desionizada con una resistividad no menor de 18.2 M Ω cm, una solución estándar de CPX preparada diariamente a concentración 3 mmol L⁻¹, ácido bórico, hidróxido de sodio, ácido fosfórico, ácido acético, ácido cítrico, etilendiamina disódica, fosfato disódico, nafión, fullerenos y la ciprofloxacina

provista por la casa comercial Sigma Aldrich USA, así como aceite mineral y grafito provisto por Merck México.

Modificación de electrodos. El electrodo de pasta de carbón se elaboró mediante una mezcla de 0.3 g de grafito triturado (60% m/m) con adiciones de 0.2 g de aceite mineral (40 % m/m), la mezcla se homogenizo con la modificación de agentes como el Nafión y los Fullerenos, ajustando al porcentaje adecuado de aceite mineral y modificándolo para la optimización del electrodo de trabajo. La pasta de carbón se insertó dentro de un tubo de meta-acrilato, se insertó un disco de cobre para realizar la conexión del electrodo de trabajo y con la ayuda de un pistón se compacto la pasta. Previo a su uso, el electrodo fue cuidadosamente pulido con 0.005 μm de alúmina en solución. Los electrodos fueron preparados con las siguientes proporciones:

- Electrodo 1.- 0.3 g de grafito, 0.19 g de aceite mineral.
- Electrodo 2.- 0.3 g de grafito, 0.19 g de aceite mineral, 20 μL de Nafión
- Electrodo 3.- 0.3 g de grafito, 0.19 g de aceite mineral, 50 μL de Fullerenos
- Electrodo 4.- 0.3 g de grafito, 0.19 g de aceite mineral, 50 μL de Fullerenos, 20 μL de Nafión.

Preparación de muestras. La carne de origen vacuno se adquirió en un mercado local, y se almaceno a una temperatura de -14°C , previo al tratamiento se descongelo la carne durante 20 minutos para posteriormente ser triturada utilizando un mortero ágata. La muestra consistió en tres etapas de preparación: i) blanco (indicador sin dopaje de CPX), muestras 1 a 4 se doparon con CPX respectivamente. ii) La preparación de muestras se llevó a cabo con 10 g de carne, 3 mL de etilendiamina disódica, 5 mL de ácido cítrico y 3 mL de fosfato disódico respectivamente, así como un dopaje de 10, 20 y 40 μL de CPX. iii) Las muestras fueron sujetas a tratamiento de agitación constante (agitador SEA STAR) y a un proceso de centrifugado a 5000 rpm (centrifuga SCIOLOGEX D1008E) y un decantado para poder obtener la solución líquida para su subsecuente análisis [6,7]

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de la línea de calibrado por voltamperometría cíclica

Para investigar el tipo de cinética de reacción de la CPX que ocurre en la superficie del electrodo modificado, la determinación de coeficientes (R^2) para las pendientes de los picos de la corriente como función de la línea de calibrado de la regresión lineal se comparó en un intervalo de 5 a 100 mV s^{-1} mediante voltamperometrías cíclicas. Destacando que el tipo de cinética es dependiente de la regresión lineal, debido a que esta es cercana a uno, se deduce que el tipo de reacción es dependiente del coeficiente de difusión. Como se muestra en la figura 1.

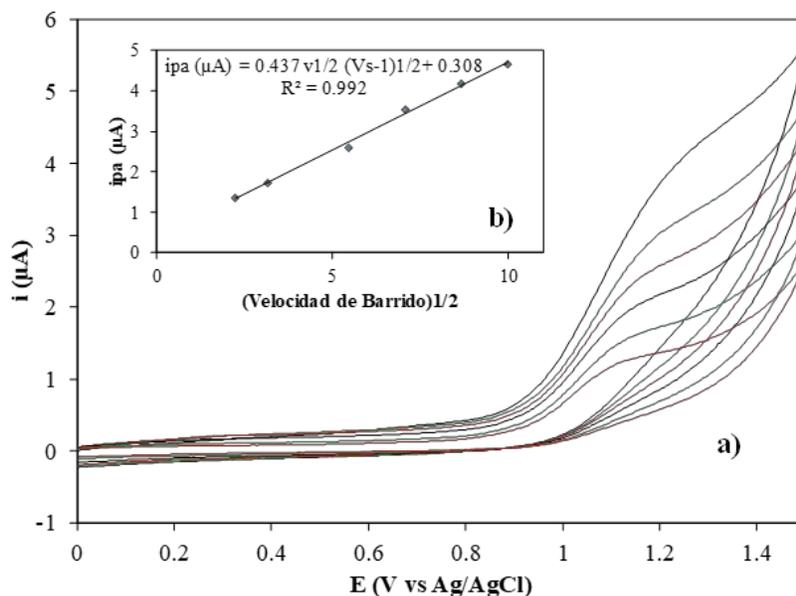


Figura 1. Voltamperometría cíclica del electrodo de trabajo modificado a pH 4.0, conteniendo 3.6 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de CPX a diferentes velocidades de barrido (5, 10, 30, 50, 75 y 100 mV s^{-1})

Optimización del electrodo de trabajo

Para evaluar el comportamiento de los electrodos con sus diferentes agentes modificantes se utilizó la técnica de Voltamperometría Diferencial de Pulsos, utilizando los siguientes parámetros: altura de 60 mV, ancho de 0.3 s, periodo de 2 s y un incremento de 15 mV.

La mejor opción es el electrodo de Grafito modificado con Aceite Mineral y Nafión debido a que es el que proporciona una mayor intensidad de corriente y poca corriente de fondo, así como una señal definida del CPX en comparación con el resto de los electrodos modificados como se muestra en la figura 2.

Obtención de parámetros analíticos

Bajo las condiciones óptimas se procedió a realizar diferentes Voltamperometrías de Diferencial de Pulso en un intervalo de concentración de 1.2 a 18.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para construir la línea de calibrado, obteniendo los parámetros analíticos: con una sensibilidad

(pendiente= 0.373 $\mu\text{mol L}^{-1} \text{cm}^2 \mu\text{A}^{-1}$), límite de detección de 0.3 $\mu\text{mol L}^{-1}$, adecuados para su posible utilización en muestras reales. En cada análisis de concentración se realizó la medición de los picos anódicos por triplicado, como se muestra en la figura 3 la señal anódica del electrodo modificado muestra una linealidad proporcional a la concentración de CPX.

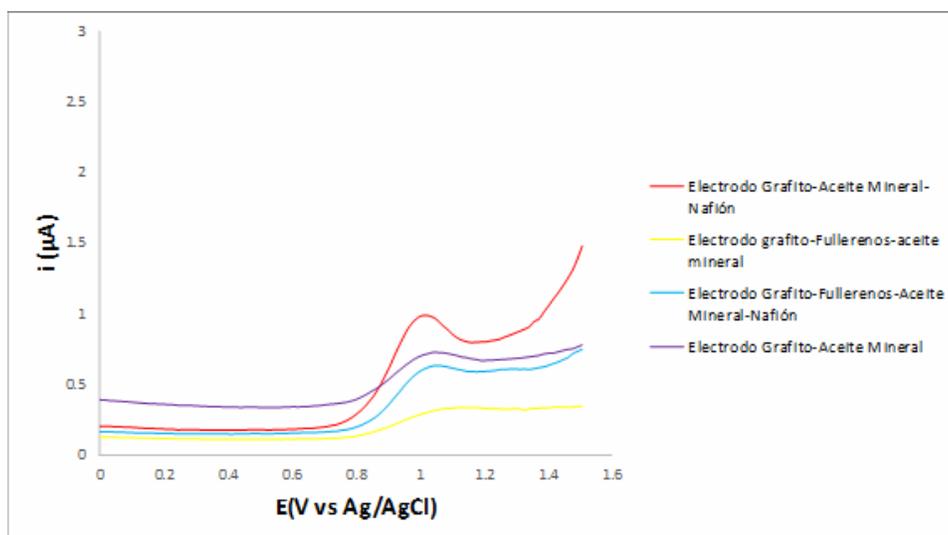


Figura 2. Voltamperometría Diferencial de Pulsos de los diversos electrodos con sus respectivos agentes modificantes con una concentración de 3.6 $\mu\text{L L}^{-1}$ de CPX.

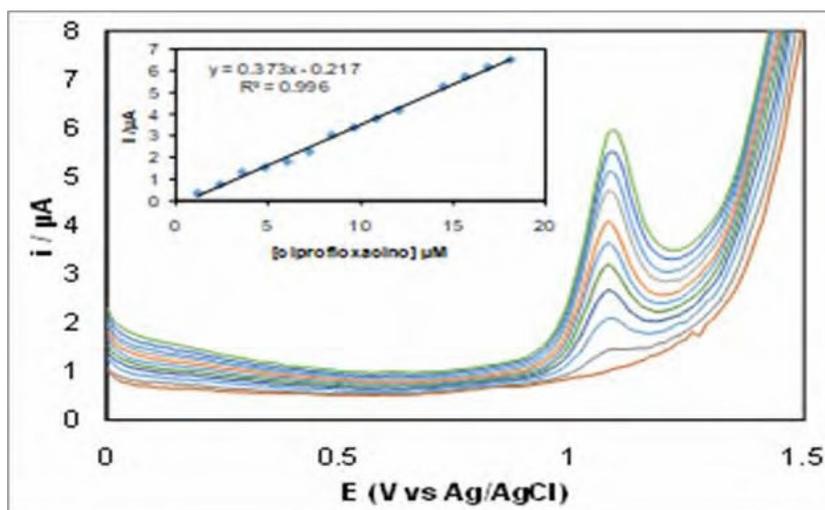


Figura 3. Voltamperometría de la CPX en un intervalo de concentración de 1.2-18 $\mu\text{mol L}^{-1}$, pH 4 (El pH se reguló utilizando una solución buffer de Britton-Robinson).

Aplicación en muestras reales

El extracto de CPX en muestras se preparó como se describe en la parte experimental. Resaltando la obtención de porcentajes cercanos al 100%, los valores fuera de este se atribuyen a bajas concentraciones y desviaciones estándar, así como a la posible

existencia de CPX en la carne en la muestra 1 y 4 respectivamente como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Análisis de resultados de recobro de CPX en muestras reales de carne de origen vacuno.

Objeto	Contenido de CPX, $\mu\text{mol/Kg}$		
	Adición	Encontrado	Recuperado %
Muestra 1	0.72	1.25	173.06
Muestra 2	7.24	7.01	96.81
Muestra 3	1.44	1.62	112.00
Muestra 4	2.89	1.96	67.77

CONCLUSIONES

El presente trabajo describe una metodología robusta para una Voltamperometría Diferencial de Pulso para la determinación de la CPX en muestras de carne de origen vacuno, muestran una buena señal de respuesta mediante la aplicación del electrodo modificado de pasta de carbón como sensor. La modificación del electrodo es viable, fácil de elaborar, remoción rápida de la superficie del electrodo y fácil de limpiar. Esta metodología muestra una corriente de respuesta lineal dependiente de los rangos de concentración aplicados de 1.0 a 18.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ y límites de detección de 1.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ adecuado para su aplicación en muestras de carne vacunas.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Politécnica de Francisco I. Madero por las facilidades brindadas para la elaboración del presente trabajo.

REFERENCIAS

- [1] Raviraj M. Kalunke, Gerardo Grasso, Renato D´Ovidio, Roberto Dragone, Chiara Frazzoli. *Microchemical Journal* 27 in press, corrected proof. (2016)
- [2] Xiaoying Xu, Lihong Liu, Zhimin Jia, Yang Shu. *Food Chemistry* **176** 219-225. (2015)
- [3] David Terrado- Campos, Khaled Tayeb-Cheri, Juan Peris-Vicente, Samuel Carda- Broch, Josep Esteve-Romero. *Food Chemistry* **221** 1277-1284 (2017).
- [4] Ok Ja Yoon. Chang Hee Kim. Il-Yung Sohn. Nae-Eung Lee. *Sensor and Actuators B: Chemical* **188**, 454-461 (2013).
- [5] Lida Fotouhi, Zeynab Atoofi, Majid M. Heravi. *Talanta* **103** 194-200 (2013).
- [6] N. Dorivan-García, A. Juanza, A. Zafra-Gómez, D. Barrón, A. Navalón. *Food Control* **60** 382-393 (2016).
- [7] J.M. Miranda, J.A. Rodríguez, C.A. Galán-Vidal. *Journal of Chromatography A* **1216**, [15], 3366-3371 (2009).

EXTRACCIÓN DE PARABENOS Y FILTROS UV EN MÚSCULO DE TILAPIA MOJARRA MEDIANTE DMFS Y ANÁLISIS POR EFS-CLAR EN LÍNEA

Samara Guadalupe Garduño Durán
Alma Luisa Revilla Vázquez
José de Jesús Olmos Espejel^{1*}

INTRODUCCIÓN

En los últimos treinta años el monitoreo ambiental se ha centrado exclusivamente en los contaminantes convencionales: metales pesados, hidrocarburos aromáticos policíclicos, pesticidas organoclorados y organofosforados, entre otros. Estos compuestos tienen efectos tóxicos, genotóxicos, carcinógenos y son persistentes en el ambiente. En las legislaciones vigentes, para estos analitos se han establecido estándares y métodos analíticos certificados para su determinación, tanto a nivel nacional como internacional [1]. Existen otros compuestos químicos denominados contaminantes emergentes, que son liberados al ambiente como resultado de su uso en la industria, agricultura y actividades humanas. Estos han despertado interés y preocupación por parte de la comunidad científica ya que pueden ser candidatos para futuras regulaciones, dependiendo de sus efectos potenciales en la salud y los datos de monitoreo de su incidencia [2]. Debido a su continua introducción en el ambiente, los contaminantes emergentes son considerados como pseudo-persistentes, los cuales pueden ser capaces de causar la misma exposición potencial de los contaminantes persistentes regulados. En consecuencia, existe una creciente necesidad por desarrollar métodos analíticos confiables, los cuales permitan la determinación de estos compuestos de manera rápida, sensible y selectiva en diferentes matrices [3]. Entre estos compuestos se encuentran los residuos de productos de cuidado personal, abreviados como PCP que representan un problema ambiental por su persistencia y distribución en el agua, suelo, aire y alimentos. Su amplio uso doméstico hace que estos contaminantes y sus productos de transformación tengan una gran incidencia en el ambiente y su toxicidad se

¹ Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Departamento de Ciencias Químicas, Sección de Química Analítica. Av. 1º de Mayo S/N, Santa María las Torres, Campo Uno. C.P. 54740 Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx. Tel: +52 (55) 56232013, email: j-olmos@comunidad.unam.mx

manifieste en los seres vivos de los ecosistemas [4].

Entre los contaminantes emergentes estudiados en el presente trabajo están:

- Los parabenos utilizados como conservadores en alimentos, productos químicos y productos de cuidado personal como cosméticos y cremas [5, 6].
- La benzofenona-3 que se utiliza como agente de protección solar en diferentes productos como cremas, jabones, champús, lápiz labial, perfumes, lociones, etcétera [7]. Los compuestos anteriores tienen la propiedad de ser disruptores endócrinos causando diferentes alteraciones en los seres vivos como: problemas en la reproducción, daño al sistema nervioso y genotoxicidad. En particular, las combinaciones entre ellos aumentan su absorción y, por tanto, su peligrosidad. Estos contaminantes han sido detectados en diferentes cuerpos de agua incluyendo ríos, lagos y aguas residuales por lo que pueden bioacumularse en organismos acuáticos como los peces [5, 8].

Es por esto que el objetivo de la investigación es determinar los analitos antes mencionados en muestras de músculo de pescado utilizando como preparación a la Dispersión de Matriz en Fase Sólida (DMFS) la cual ha sido aplicada a una gran variedad de muestras [11] seguida del análisis por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR) con detección UV/VIS.

La EFS-CLAR es una de las técnicas de preconcentración/separación más importante para el análisis de iones metálicos y compuestos orgánicos debido a su simplicidad y bajo consumo de disolventes orgánicos. En algunos casos, la elevada selectividad de las columnas a utilizar permite la automatización de los métodos. La EFS-CLAR consiste, de manera general, en el acoplamiento de una precolumna con el adsorbente adecuado para retener a los analitos de una matriz líquida aplicada por una bomba auxiliar de alta presión. Esta precolumna se coloca en una válvula de seis vías y dos posiciones la cual cuando se coloca en la posición de carga, permite la preconcentración de los analitos en la precolumna. Al cambiar la válvula a la posición de inyección, se permite la elución de los compuestos retenidos hacia la columna cromatográfica para llevar a cabo la separación y análisis. En la figura 1 se presenta un esquema general de la EFS-CLAR [13, 14].

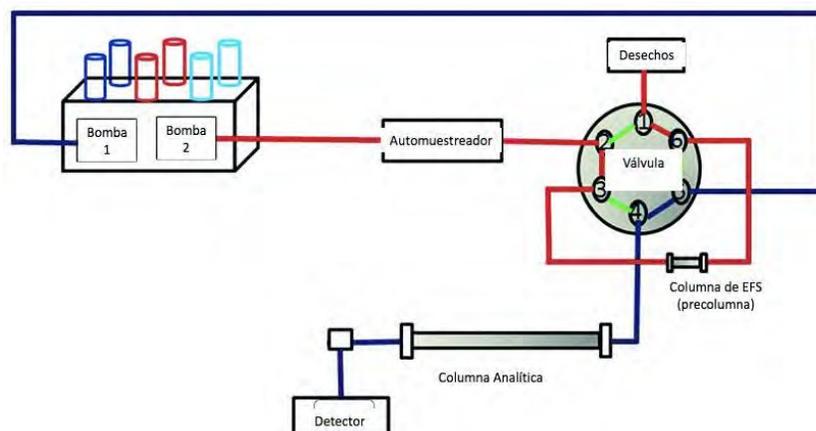


Figura 1. Esquema general de la EFS-CLAR, adaptado de [6]

La principal ventaja de la técnica de EFS es que permite la introducción de una mayor cantidad de analitos de interés y se elimina la mayor parte de la matriz durante la preconcentración. Lo anterior permite aumentar la sensibilidad en varios órdenes de magnitud según las proporciones de muestra que se logren preconcentrar [7].

EXPERIMENTACIÓN

Condiciones del análisis cromatográfico

Todos los análisis fueron realizados en un sistema CLAR Waters formado por una bomba binaria modelo 1525, un automuestreador modelo 717 plus y un detector UV modelo 2487. Se utilizó una columna cromatográfica Eclipse XDB C18 de 5 μm de diámetro de partícula y dimensiones de 46 x 250 mm. El volumen inyectado fue de 20 μL . Debido a las diferencias en las polaridades de los analitos se optimizó una elución con un gradiente de concentraciones lineal utilizando como disolventes Metanol HPLC (A) y Agua (B) con la siguiente composición de fase móvil: 0 min (50 % A), 10 min (90 % A), 15 min (90 % A).

Finalmente, se dejó un tiempo de equilibrio de 7 min antes de realizar la siguiente inyección. Los analitos fueron monitoreados a una longitud de onda de 254 nm.

Condiciones del método de extracción por DMFS y análisis por EFS-CLAR en línea

Se utilizaron muestras de 1 g de músculo de Tilapia Mojarra y 1 g de adsorbente C18 los cuales se homogeneizaron en un mortero y se empacaron en diferentes cartuchos de polipropileno de 6 mL que contenían una co-columna de 0.2 g de florisil. Los analitos se eluyeron con 5 mL de

acetonitrilo y se evaporaron a sequedad con corriente de nitrógeno. El residuo se resuspendió en 4 mL de una mezcla de metanol:agua (10:90) y se preconcentró en una precolumna C18 utilizando una bomba cromatográfica auxiliar y una válvula de dos posiciones y seis vías. Los analitos retenidos en la precolumna se eluyeron y analizaron con el sistema descrito en la sección anterior.

Validación del método de extracción por DMFS y análisis por EFS-CLAR en línea

Para evaluar la linealidad del método se fortificaron diferentes muestras de músculo de Tilapia a las concentraciones de 80, 200, 400, 800 y 2000 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (ppb) para todos los analitos. Se obtuvo el coeficiente de determinación (r^2) de la curva cantidad recuperada = f(cantidad agregada). El recobro del método se evaluó con la pendiente de la misma curva. La repetibilidad se evaluó obteniendo el porcentaje de coeficiente de variación (C. V. %) de seis ensayos realizados en días diferentes a dos niveles de fortificación 200 y 800 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Los límites de detección (L.D.) y de cuantificación (L.C). se obtuvieron a partir de la relación señal/ruido (S/N) utilizando para el L.D. la concentración que proporciona una señal 3.3 veces la S/N y para el L.C. la concentración que produce una señal 10 veces la S/N.

Aplicación del método a muestras comerciales de músculo de Tilapia Mojarra

Se analizaron muestras de diferentes puntos de venta comerciales como supermercados y mercados fijos, así como una muestra obtenida de una laguna del Estado de Hidalgo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Condiciones del análisis cromatográfico

En la figura 2 se presentan los cromatogramas obtenidos con las condiciones cromatográficas optimizadas.

Las condiciones cromatográficas resultaron adecuadas para la separación de los analitos en estudio permitiendo obtener buena resolución entre los picos de interés. Al utilizar el sistema de EFS-CLAR en línea se observa la presencia de interferentes más polares que los analitos que no impiden la correcta integración de los picos cromatográficos de interés. Validación del método de extracción por DMFS y análisis por EFS-CLAR en línea.

En la tabla 1 se resumen los resultados obtenidos para la validación del método desarrollado.

El método mostró buena repetibilidad para los niveles de concentraciones utilizados. Los recobros estuvieron entre 18 y 34 % para todos los analitos. Estos valores bajos se obtuvieron al utilizar en la extracción mediante DMFS la co-columna de florisil ya que ésta última tiene un gran efecto en la obtención de un extracto limpio y adecuado para la preconcentración en línea. A pesar de esto, los recobros demostraron ser constantes en el intervalo de concentraciones utilizado lo cual se demuestra con los excelentes valores del coeficiente de determinación (r^2). También es de resaltar, que estas condiciones permiten alcanzar límites de detección (L.D.) y de cuantificación (L.C.) que se encuentran en el orden de las ppb ($\mu\text{g kg}^{-1}$) los cuales equivalen a los límites alcanzados en las metodologías donde se utilizan sistemas más sofisticados como los de CLAR acoplados a espectrómetros de masas [13,14].

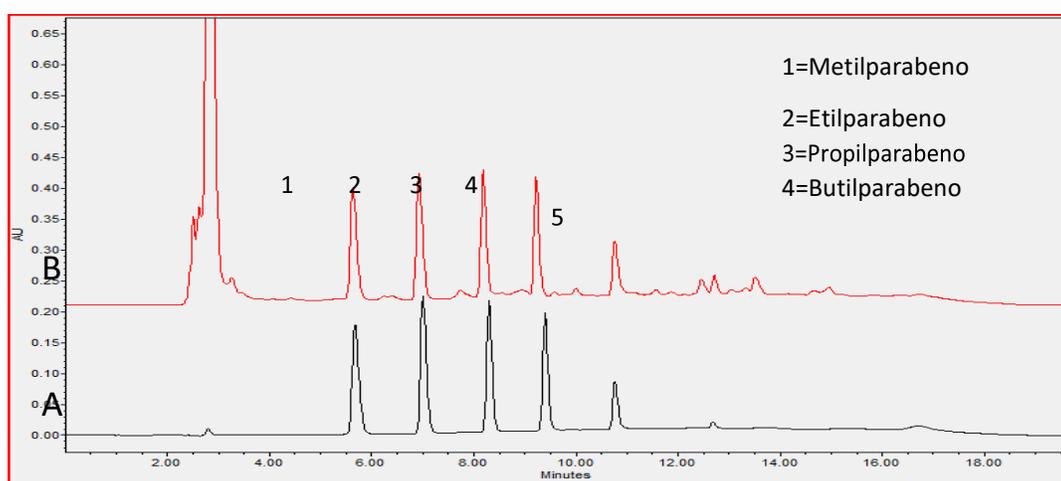


Figura 2. Cromatogramas obtenidos para (A) Inyección manual de 400 ng y (B) Inyección con el sistema en línea de un extracto obtenido de una muestra de músculo fortificada con 400 ng.

Tabla 1. Resultados del desempeño del método de extracción por DMFS y análisis por CLAR-UV

	<i>Recobro global (%)</i> [*]	r^2	C. V. % 200 $\mu\text{g kg}^{-1}$ 1	C. V. % 800 $\mu\text{g kg}^{-1}$ 1	L. D. ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	L. C. ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
Metilparabeno	18.22 \pm 1.74	0.997 3	17.47	16.62	20	60
Etilparabeno	32.88 \pm 2.70	0.998 0	15.55	1.93	13	40
Propilparaben	34.02 \pm 2.31	0.998	12.84	4.23	13	40

o		6				
Butilparabeno	33.84±2.14	0.998 8	13.65	2.57	13	40
Benzofenona-3	21.79±4.56	0.987 2	8.05	5.36	13	60

*Evaluado en el intervalo de concentraciones de 80 a 2000 $\mu\text{g kg}^{-1}$

Aplicación del método a muestras comerciales de músculo de Tilapia Mojarra

Se analizaron muestras de diferentes puntos de venta comerciales como supermercados y mercados fijos, así como una muestra obtenida de la laguna Ixmiquilpan del Estado de Hidalgo y se encontraron residuos de benzofenona-3 en dos de las muestras como se observa en la figura 2. Para cada muestra, se analizó el espectro del pico cromatográfico que coincidió con el pico de la benzofenona-3 en una disolución estándar obteniendo factores de coincidencia mayores a 900.

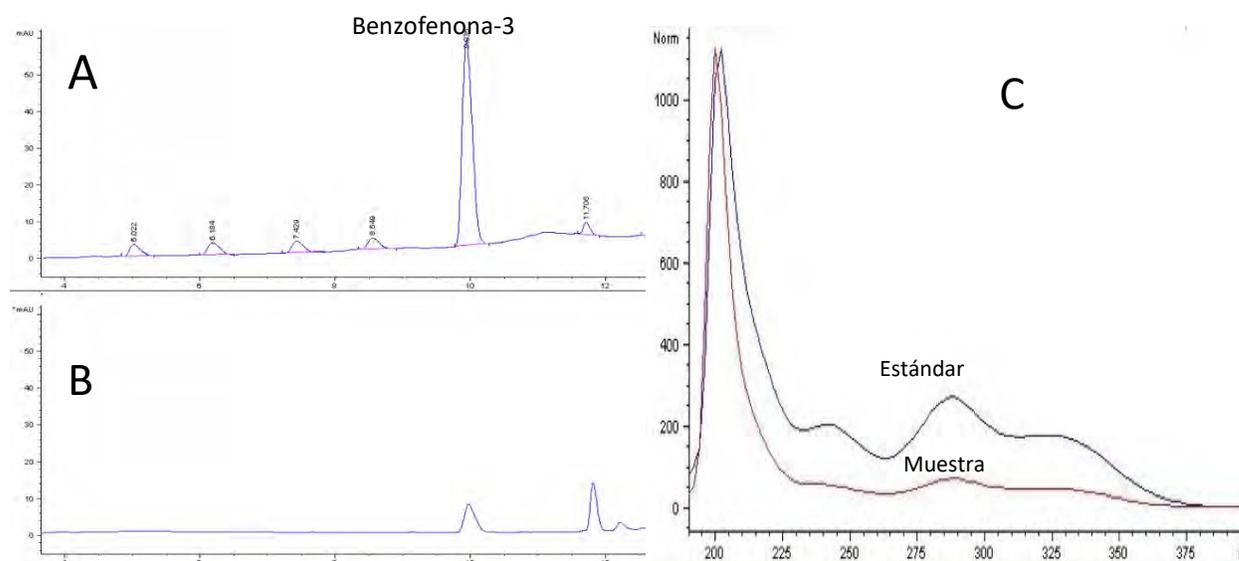


Figura 3. Cromatogramas obtenidos al analizar: A) una disolución estándar de concentración 500 g L⁻¹ y B) una muestra de Tilapia obtenida de la laguna de Ixmiquilpan, Hidalgo. C) Comparación de los espectros UV obtenidos en A) y B) para la benzofenona-3.

CONCLUSIONES

Se obtuvo una metodología sensible para el análisis de diferentes contaminantes emergentes como son los parabenos y la benzofenona-3. Aunque los recobros son bajos, las condiciones de extracción por DMFS y análisis por EFS-CLAR en línea permiten analizar que contengan a los analitos en el orden de las ppb ($\mu\text{g kg}^{-1}$) obteniendo recobros constantes en el intervalo de

concentraciones utilizado. Se encontraron residuos de bezofenona-3 en dos muestras adquiridas en diferentes puntos de venta. Se espera que el método se pueda aplicar a diferentes muestreos en las granjas donde se cultiva Tilapia Mojarra.

AGRADECIMIENTOS

Investigación financiada por el “Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) Clave IA204717” DGAPA-UNAM. Samara Garduño agradece a la DGAPA-UNAM la beca recibida.

REFERENCIAS

- [1] Y.M. Han, J.J. Cao, B.Z. Yan, T.C. Kenna, Z.D. Jin, Y. Cheng, J. C. Chow and Z.S. An. *Environmental Science & Technology*, **49** [7] 4176-4183 (2015).
- [2] K. M. Dimpe, and P.N. Nomngongo. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **82** 199-207 (2016).
- [3] D. A. Birkholz, S.M. Stilson and H.S. Elliott. *Comprehensive Water Quality and Purification*. Elsevier Waltham 212-229 (2014).
- [4] L. B. Barber. *Comprehensive Water Quality and Purification*. Elsevier: Waltham. 245- 266 (2014).
- [5] W. Li, Y. Shi, L. Gao, J. Liu, Y. Cai. *Journal of Hazardous Materials*, **300** 29-38 (2015).
- [6] C. Haman, X. Dauchy, C. Rosin, J. Munoz. *Water Research*, 68: p. 1-11 (2015).
- [7] F. Chen, C. Huber and P. Schröder *Chemosphere*. **182** 638-646 (2017).
- [8] M. PauSerra-Roig, A. Jurado, M. S. Díaz-Cruz, E. Vázquez-Suñé, E. Pujades, D. Barceló. *Science of The Total Environment* Volume **568** 829-837 (2016).
- [9] M. Coronado, H. De Haro, X. Deng, M. A. Rempel, R. Lavado, D. Schlenk. *Aquatic Toxicology*. **90** 182–187 (2008).
- [10] F. Antwi, L. M. Shama, R. K. Peterson. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. **51** 31–36 (2008).
- [11] D. L. Sudakin, T. Osimitz. *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*, Elsevier 2111- 2125 (2010).
- [12] S. A. Barker. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, **70** [2] 151-162 (2007).
- [13] L. Qu, W. Wang, D. Zeng, Y. Lu and Z. Yin. *RSC Advances*. **5** 6 (2015).
- [14] V. Cerda, L. Ferrer, J. Avivar, A. Cerda. *Flow Analysis Elsevier* 65-102 (2014).

MONITOREO DE LA REMOCIÓN DE PARABENOS Y FILTROS UV EN CULTIVOS DE MICROALGAS UTILIZANDO DMFS, EFS Y CLAR

Alan Maximiliano Rodríguez Rivero
Areli Andrea Nuñez Hernández
José de Jesús Olmos Espejel^{1*}

INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe un interés creciente por las repercusiones que tendrán los contaminantes de origen antropogénico, conocidos como emergentes. La regulación de estos contaminantes es escasa por el desconocimiento de sus efectos en el ambiente. Los filtros UV son compuestos químicos orgánicos que absorben la radiación ultravioleta. Debido a la preocupación por la relación entre la exposición al sol y el cáncer de piel, en los últimos años aumentó el uso de estos compuestos en productos de protección solar, así como en productos de cuidado personal usados diariamente por millones de personas como cosméticos, cremas, lociones, lápices labiales, aerosoles, tintes de cabello y shampoos, etc. Algunos filtros UV tienen efectos estrogénicos similares al estradiol, así como un alto potencial para desarrollar toxicidad. Los parabenos son ampliamente utilizados en diferentes productos comerciales como conservadores. En la actualidad un gran porcentaje de los productos de cuidado personal contienen parabenos desde enjuagues bucales hasta cremas corporales. Debido a su gran uso, estos compuestos pueden entrar en el ambiente acuático indirectamente cuando las personas se bañan, lavan la ropa, nadan y se broncean en lagos y ríos, por lo cual existe una necesidad para monitorear estos compuestos tanto en matrices ambientales como biológicas [1,2].

¹ Universidad Nacional Autónoma de México, Departamento de Ciencias Químicas, Sección de Química Analítica, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Av. 1º de Mayo S/N, Santa María las Torres, Campo Uno. C.P. 54740 Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx. Tel: +52 (55) 56232013, email: j-olmos@comunidad.unam.mx

Las microalgas verdes han demostrado una gran adaptación a diferentes tipos de contaminantes por lo cual son una excelente opción para plantear metodologías limpias para la remoción de contaminantes [3,4].

En este proyecto se realizan ensayos de exposición de cultivos de *Scenedesmus acutus* a diferentes tipos de sustancias químicas como parabenos y benzofenona-3. Mediante el uso de la técnica de Extracción en Fase Sólida (EFS) se pueden analizar el sobrenadante de los cultivos expuestos y mediante la técnica de Dispersión de Matriz en Fase Sólida la concentración de los contaminantes que son adsorbidos por la biomasa. Ambas técnicas han sido aplicadas en diferentes trabajos para el monitoreo de contaminantes en diferentes tipos de matices incluyendo los cultivos de microorganismos [5,6].

EXPERIMENTACIÓN

Condiciones del análisis cromatográfico

Todos los análisis fueron realizados en un sistema CLAR Waters formado por una bomba binaria modelo 1525, un automuestreador modelo 717 plus y un detector UV modelo 2487. Se utilizó una columna cromatográfica Eclipse XDB C18 de 5 μm de diámetro de partícula y dimensiones de 46 x 250 mm. El volumen inyectado fue de 20 μL . Debido a las diferencias en las polaridades de los analitos se optimizó una elución con un gradiente de concentraciones lineal utilizando como disolventes Metanol HPLC (A) y Agua (B) con la siguiente composición de fase móvil: 0 min (50 % A), 10 min (90 % A), 15 min (90 % A). Finalmente, se dejó un tiempo de equilibrio de 7 min antes de realizar la siguiente inyección. Los analitos fueron monitoreados a una longitud de onda de 254 nm.

Mantenimiento de los cultivos.

Los cultivos son expuestos a fotoperiodos de luz/oscuridad de 16/8 h y se mantienen con aereación hasta que alcanzan una absorbancia con valor de 1.0 a una longitud de onda de 683 nm. Una vez alcanzadas estas condiciones el cultivo se centrifuga a 2500 rpm durante 15 minutos. Finalmente, la biomasa se separa del sobrenadante y se guarda mientras que la biomasa se deja secar a temperatura ambiente.

Condiciones del método de extracción por DMFS en muestras de biomasa

Se utilizaron muestras de 20 mg de biomasa seca y 100 mg de adsorbente C18 los cuales se homogeneizaron en un mortero y se empacaron en diferentes cartuchos de polipropileno de 3 mL. Los analitos se eluyeron con 1 mL de una mezcla de metanol:agua (80:20) y se inyectaron en el sistema cromatográfico.

Validación del método de extracción por DMFS

Para evaluar la linealidad del método se fortificaron diferentes muestras de biomasa en el intervalo de concentraciones de 0.25 a 1.00 $\mu\text{g mg}^{-1}$ para todos los analitos. Se obtuvo el coeficiente de determinación (r^2) de la curva cantidad recuperada = f(cantidad agregada). El recobro del método se evaluó con la pendiente de la misma curva. La repetibilidad se evaluó obteniendo el C.V. % de seis ensayos realizados en días diferentes a dos niveles de fortificación 0.50 y 0.75 $\mu\text{g mg}^{-1}$. Los límites L.D. y L.C. se obtuvieron a partir de la relación S/N utilizando para el L.D. la concentración que proporciona una señal 3.3 veces la S/N y para el L.C. la concentración que produce una señal 10 veces la S/N. Condiciones del método de extracción por EFS en muestras de sobrenadante.

Se utilizaron muestras de 50 mL de sobrenadante de cultivos y 300 mg de adsorbente C18 los cuales se empacaron en diferentes cartuchos de polipropileno de 3 mL. Los cartuchos se acondicionaron con metanol y agua antes de pasar la muestra desechando el efluente. Los analitos se recuperaron aplicando 1.5 mL de acetonitrilo y se inyectaron en el sistema cromatográfico.

Validación del método de extracción por EFS

Para evaluar la linealidad del método se fortificaron diferentes muestras de biomasa en el intervalo de concentraciones de 100 a 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ para todos los analitos. Se obtuvo el coeficiente de determinación (r^2) de la curva cantidad recuperada = f(cantidad agregada). El recobro del método se evaluó con la pendiente de la misma curva. La repetibilidad se evaluó obteniendo el C.V. % de seis ensayos realizados en días diferentes a dos niveles de fortificación 200 y 800 $\mu\text{g L}^{-1}$. Los límites L.D. y L.C. se obtuvieron a partir de la relación S/N utilizando para el L.D. la concentración que proporciona una señal 3.3 veces la S/N y para el L.C. la concentración que produce una señal 10 veces la S/N.

Ensayos de remoción de parabenos y benzofenona-3

Se utilizaron cultivos de microalgas expuestos a una mezcla de analitos de concentración en el cultivo de $750 \mu\text{g L}^{-1}$ y se monitorearon las cantidades remanentes en el medio de cultivo y la biomasa a las 4, 16 y 24 h de exposición.

Ensayos de bioacumulación de benzofenona-3

Se utilizaron cultivos de microalgas expuestos a benzofenona-3 adicionada a concentraciones de $750 \mu\text{g L}^{-1}$ cada 24 h. Se monitorearon las cantidades acumuladas del analito en la biomasa durante 4 días.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Condiciones del análisis cromatográfico

En la figura 1 se presentan los cromatogramas obtenidos para el análisis de muestras blanco de biomasa y sobrenadante de cultivo de microalgas.

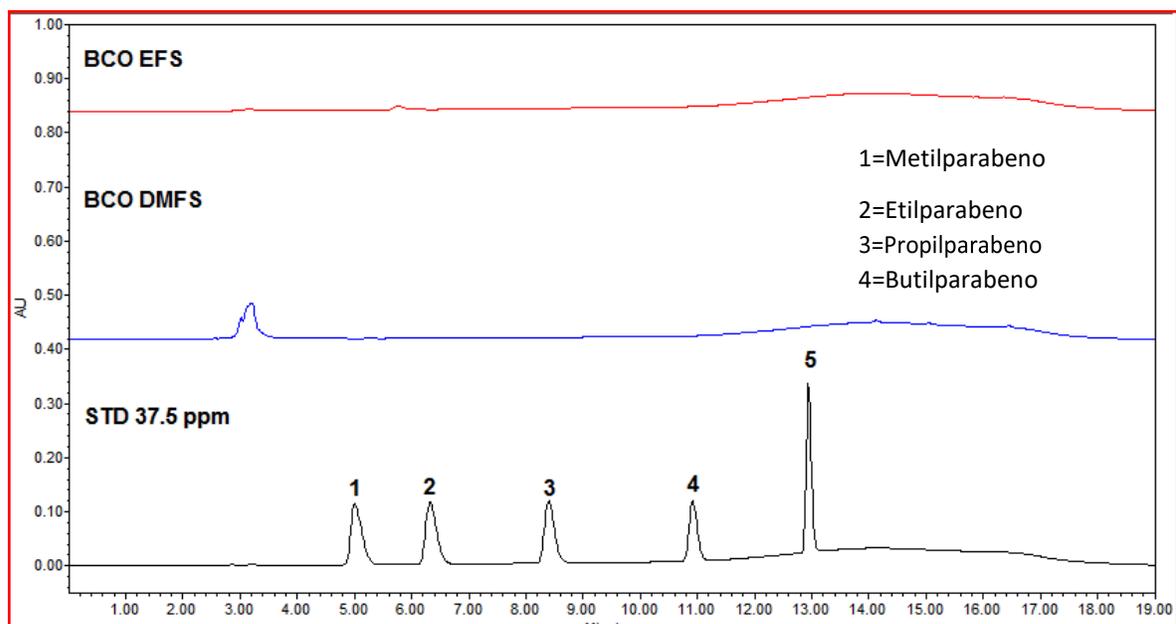


Figura 1. Cromatogramas obtenidos con las condiciones de separación optimizadas.

Las condiciones cromatográficas resultaron adecuadas para la separación de los analitos en estudio permitiendo obtener buena resolución entre los picos de interés. Con las condiciones de extracción no se observó la presencia de interferentes en los extractos obtenidos.

Validación del método de extracción por DMFS en muestras de biomasa

En la tabla 1 se resumen los resultados obtenidos para la validación del método desarrollado.

Tabla 1. Resultados del desempeño del método de extracción por DMFS.

	<i>Recobro global (%)</i> *	r^2	C. V. % 0.50 $\mu\text{g mg}^{-1}$	C. V. % 0.75 $\mu\text{g mg}^{-1}$	L. D. ($\mu\text{g mg}^{-1}$)	L. C. ($\mu\text{g mg}^{-1}$)
Metilparabeno	93.05	0.9923	8.7	9.3	0.10	0.30
Etilparabeno	93.19	0.9900	4.5	1.9	0.10	0.30
Propilparabeno	91.84	0.9940	3.6	5.2	0.10	0.30
Butilparabeno	92.95	0.9889	2.7	4.7	0.10	0.30
Benzofenona-3	80.65	0.9977	8.0	6.4	0.15	0.43

*Evaluado en el intervalo de concentraciones de 0.25 a 1.00 $\mu\text{g mg}^{-1}$

El método mostró buena repetibilidad y buenos recobros que resultaron ser constantes en el intervalo de concentraciones utilizado. Se obtuvo buena linealidad para todos los analitos.

Validación del método de extracción por EFS en muestras de sobrenadante.

En la tabla 2 se resumen los resultados obtenidos para la validación del método desarrollado.

Tabla 2. Resultados del desempeño del método de extracción por EFS.

	<i>Recobro global (%)</i> *	r^2	C. V. % 0.50 $\mu\text{g L}^{-1}$	C. V. % 0.75 $\mu\text{g L}^{-1}$	L. D. ($\mu\text{g L}^{-1}$)	L. C. ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Metilparabeno	91.81	0.9848	10.30	9.80	20	60
Etilparabeno	97.65	0.9993	9.34	3.56	17	55
Propilparabeno	87.70	0.9898	5.74	5.28	23	65
Butilparabeno	86.44	0.9991	4.86	8.51	23	65
Benzofenona-3	91.05	0.9982	7.81	8.33	20	60

*Evaluado en el intervalo de concentraciones de 100 a 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$

El método mostró buena repetibilidad, buenos recobros y buena linealidad para todos los analitos. Se obtuvieron límites de detección en el orden de las ppb ($\mu\text{g L}^{-1}$) lo cual permite monitorear a los analitos a los niveles de concentración a los que se encuentran comúnmente en las muestras ambientales.

Ensayos de remoción de parabenos y benzofenona-3

En la figura 2 se resumen los resultados obtenidos en el ensayo de remoción. Se observó que las algas son capaces de remover a los analitos metilparabeno y etilparabeno en un tiempo de 16 h, mientras que a las 24 h los analitos propilparabeno y butilparabeno tienen porcentajes menores al 40% de la concentración original. El analito benzofenona-3 resultó con porcentajes remanentes mayores al 60 % después de las 24 h de exposición. Al analizar la biomasa solo se encontraron señales correspondientes a la benzofenona-3 lo cual indica que los parabenos no se bioacumulan en las microalgas. Al evaluar los porcentajes globales (sobrenadante + biomasa) se observa que los parabenos son metabolizados por la microalga en mayor porcentaje con respecto a la benzofenona-3.

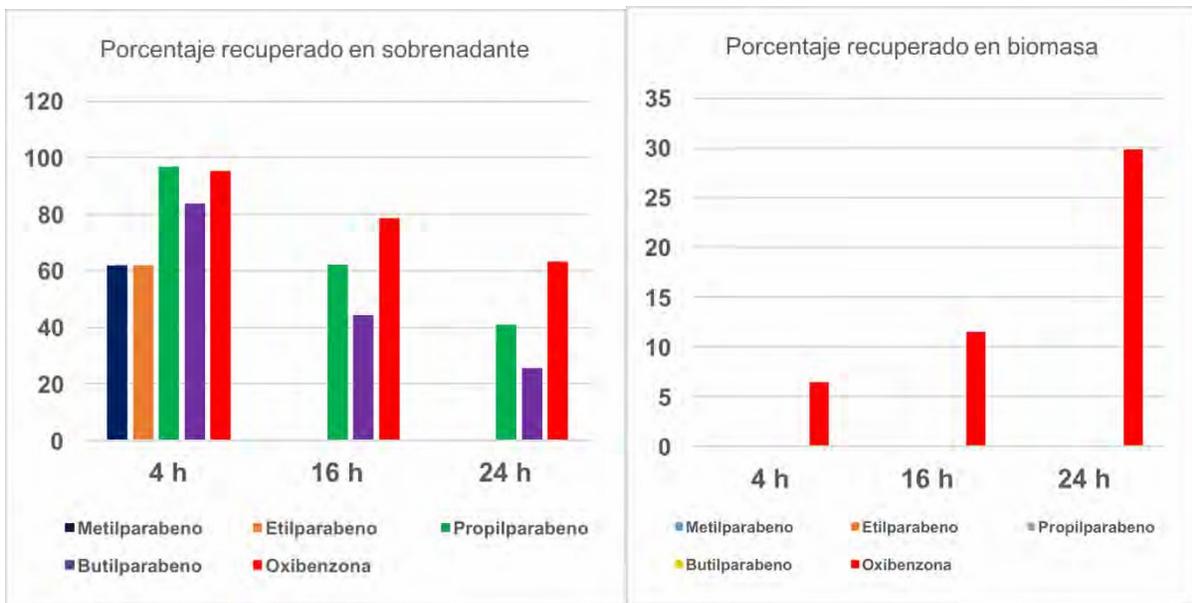


Figura 2. Porcentajes remanentes de los analitos en: a) el sobrenadante y b) biomasa, de cultivos expuestos a una concentración de $750 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito.

Ensayos de bioacumulación de benzofenona-3

En la figura 3 se presentan los resultados de la bioacumulación de la benzofenona-3 en muestras de biomasa al ser expuestas a diferentes dosis del analito.

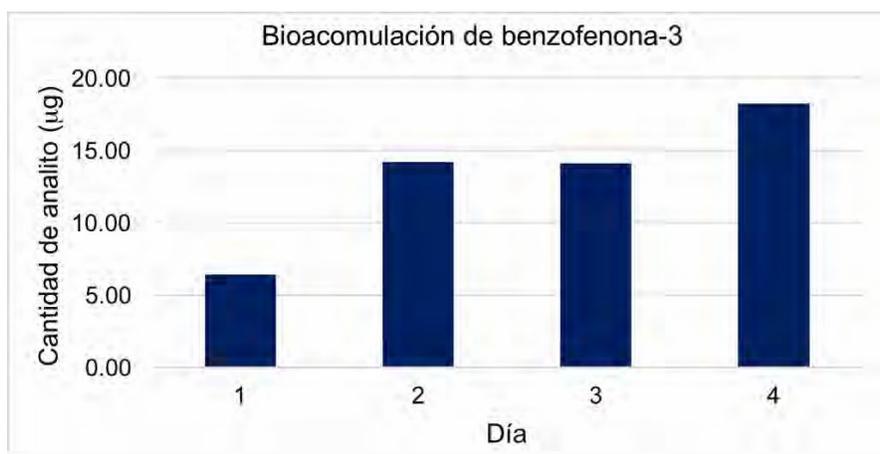


Figura 3. Acumulación de benzofenona-3 en biomasa de las microalgas al ser expuestas a una dosis diaria de $1000 \mu\text{g L}^{-1}$.

Se observa que las microalgas son capaces de acumular benzofenona-3 en exposiciones continuas a este contaminante lo cual implica que se adaptan a estas concentraciones y podrían transferir al contaminante si sirven de alimento a organismos superiores en la cadena alimenticia.

CONCLUSIONES

Las metodologías desarrolladas resultaron ser sencillas, sensibles y reproducibles para su aplicación en muestras de cultivos expuestos a contaminantes emergentes.

Se logró miniaturizar los métodos de EFS y DMFS reduciendo las cantidades de muestra y adsorbente, así como los volúmenes de elución generando métodos más amigables con el ambiente en comparación con las extracciones líquido-líquido que se suelen utilizar para el análisis de este tipo de muestras.

Las microalgas son capaces de metabolizar a los diferentes analitos siendo los más polares los que tienen los más altos porcentajes de remoción.

Las microalgas son capaces de acumular benzofenona-3 cuando son expuestas continuamente a este contaminante.

AGRADECIMIENTOS

Investigación financiada por el “Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) Clave IA204717” DGAPA-UNAM.

REFERENCIAS

- [1] R. Rodil, M. Moeder, R. Altenburger, & M. Schmitt-Jansen. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **395** [5], 1513-1524 (2009).
- [2] V. Matamoros, R. Gutiérrez, I. Ferrer, J. García & J. M. Bayona. *Journal of Hazardous Materials*, **288**, 34-42 (2015).
- [3] S. Wang, K. Poon, & Z. Cai, Z. *Journal of Hazardous Materials*, **342**, 643-650 (2018).
- [4] G. J. Zhou, G. G. Ying, S. Liu, L. J. Zhou, Z. F. Chen, & F. Q. Peng. *Environmental Sciences: Processes and Impacts*, **16** [8], 2018-2027 (2014).
- [5] S. A. Barker. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, **70** [2], 151-162 (2007).
- [6] J. J. Olmos-Espejel, M. P. García de Llasera & M. Velasco-Cruz. *Journal of Chromatography A*, **1262**, 138-147 (2012).

ANÁLISIS DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN MUESTRAS DE MÚSCULO DE MANTARRAYA GIGANTE

David Olguín Luna¹
Irma Cruz Gavilán García²
Tania Pelamatti³
José de Jesús Olmos Espejel^{1*}

INTRODUCCIÓN

El Archipiélago de Revillagigedo es conocido a nivel mundial por su abundancia en *Manta birostris*, que es una especie ícono de la región ya que tiene un elevado valor en la industria de la recreación. Sin embargo, es en tiempos recientes que la comunidad científica enfocó su atención en este organismo debido a que en el Pacífico mexicano las poblaciones de *M. birostris* del Golfo de California han sido drásticamente disminuidas (Stewart et al., 2016), siendo el Archipiélago de Revillagigedo una de sus últimas zonas de refugio. En la actualidad, existe un claro interés en la conservación de la especie tanto científico como económico, debido a que se estima que el buceo recreativo en este archipiélago genera aproximadamente ingresos por \$14 millones de dólares al año [1]. En el año 2016, investigadores del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (Cicimar) Del Instituto Politécnico Nacional (IPN) realizaron un muestreo en el año 2016 obteniendo biopsias de diferentes individuos de *M. birostris* en el Archipiélago de Revillagigedo con el fin de evaluar la presencia de Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs) en este organismo.

Las interacciones de la fauna marina con estos desechos pueden conducir a un daño de tipo físico o químico. Este último abarca la exposición a sustancias tóxicas persistentes (POPs) [2]. Los contaminantes orgánicos persistentes incluyen una gama de compuestos muy estables que son típicamente solubles en lípidos y tienen muy baja solubilidad en agua.

¹ Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Departamento de Ciencias Químicas, Sección de Química Analítica. Av. 1º de Mayo S/N, Santa María las Torres, Campo Uno. C.P. 54740 Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx. Tel: +52 (55) 56232013, email: j-olmos@comunidad.unam.mx

² Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, Unidad de Gestión Ambiental. Circuito Exterior S/N, Coyoacán, Cd. Universitaria, 04510 Ciudad de México, CDMX

³ Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. El Conchalito, 23094 La Paz, B.C.S.

Uno de estos grupos de contaminantes está conformado por los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) que son compuestos formados por dos o más anillos aromáticos. Se encuentran comúnmente en diferentes estratos del ambiente ya que son generados por la combustión incompleta de materia orgánica como el petróleo, los plásticos, los aceites y la madera. De esta forma, los HAPs tienen un origen natural (vulcanismo, incendios, etc.) así como antropogénico (combustión interna, cocina a las brasas, etc.). Algunos de estos analitos son considerados como potentes agentes carcinogénicos. Desde el año 2005, la Comunidad Europea (UE por sus siglas en inglés) a través del Comité Científico en Alimentos (SCF por sus siglas en inglés) identificó quince diferentes HAPs que poseen actividad carcinogénica y uno más con posible actividad [3].

El análisis de estos compuestos en este tipo de especies es difícil debido a la complejidad de las matrices biológicas y la disponibilidad de cantidades de muestra suficientes ya que la especie *M. birostris* es un organismo protegido por las leyes ambientales nacionales y solo se permiten tomar biopsias de músculo y piel de tamaño reducido que no pongan en riesgo la integridad de los individuos.

De esta forma, los métodos de preparación de muestra utilizando adsorbentes sólidos resultan una excelente opción para la extracción de los analitos a partir de este tipo de matrices. La técnica de Dispersión de Matriz en Fase Sólida (DMFS) se conoce desde hace varias décadas y ha sido aplicada a la extracción de diferentes tipos de analitos en una amplia variedad de muestras sólidas y semisólidas, llegando incluso a miniaturizarse trabajando con cantidades de muestra del orden de los mg [4, 5, 6, 7] (Barker, 2007; Bogialli & Di Corcia, 2007; Moreda-Piñeiro & Moreda-Piñeiro, 2015; Pensado, Casais, Mejuto, & Cela, 2005). Por lo anterior, la DMFS es una excelente opción para el análisis de las muestras de biopsia conseguidas por los investigadores del CICIMAR en la búsqueda de diferentes COPs.

EXPERIMENTACIÓN

Condiciones del análisis cromatográfico

Todos los análisis fueron realizados en un Cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas de cuadrupolo simple modelo 5977A (Agilent Technologies). Se utilizó una columna HP-5MS, de 30 m de largo por 0.250 mm de diámetro interno y una película con grosor de 0.25 μm .

Como gas acarreador se utilizó He a un flujo de 1 mL min⁻¹. La inyección se realizó en modo *splitless*. La separación comienza con un programa de temperatura inicial de 60 °C durante 1 min y después una rampa lineal a 15 °C min⁻¹ hasta alcanzar una temperatura final de 300 °C la cual se mantiene durante 10 minutos. El tiempo de análisis total fue de 27 min. Con estas condiciones se analizaron un total de 18 PAHs.

Obtención de las muestras

Se trabajó con muestras liofilizadas de músculo de *M. birostris*. Para los ensayos de recobro se utilizaron como blanco muestras liofilizadas de músculo de la especie *Myliobatis californica*. Las muestras se mantuvieron en un desecador hasta su análisis. En ambos casos las muestras fueron proporcionadas por el CICIMAR.

Condiciones del método de extracción por DMFS en muestras de biomasa

Se utilizaron muestras de 40 mg de músculo liofilizado y 120 mg de adsorbente C18 los cuales se homogeneizaron en un mortero y se empacaron en diferentes cartuchos de polipropileno de 3 mL que contenían 30 mg de florisil como co-columna. Los analitos se eluyeron con 5 mL de acetonitrilo el cual se evaporó a sequedad con corriente de nitrógeno. Al residuo se le agregó una alícuota del estándar interno (Perileno-d12) y se resuspendió con 1 mL de acetato de etilo. Se inyectó 1 µL de cada extracto al sistema cromatográfico.

Validación del método de DMFS

Para evaluar la linealidad del método se fortificaron diferentes muestras de músculo liofilizado en el intervalo de concentraciones de 20 a 500 ng g⁻¹ para todos los analitos. Se obtuvo el coeficiente de determinación (r^2) de la curva cantidad recuperada = f(cantidad agregada). El recobro del método se evaluó con la pendiente de la misma curva. Los límites de detección y cuantificación, LDD y LDC respectivamente, se obtuvieron a partir de la relación señal/ruido (S/N) utilizando para el LDD la concentración que proporciona una señal 3.3 veces la S/N y para el LDC la concentración que produce una señal 10 veces la S/N.

Análisis de las muestras de músculo de M. birostris

Se analizaron un total de 32 muestras aplicando las condiciones de extracción y análisis optimizadas. Las muestras tuvieron pesos entre 30 y 60 mg.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Condiciones del análisis cromatográfico

Las condiciones de análisis permiten separar adecuadamente a los 18 PAHs. En la figura 1 se muestra un cromatograma en modo SCAN obtenido con la inyección de una disolución estándar a $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$.

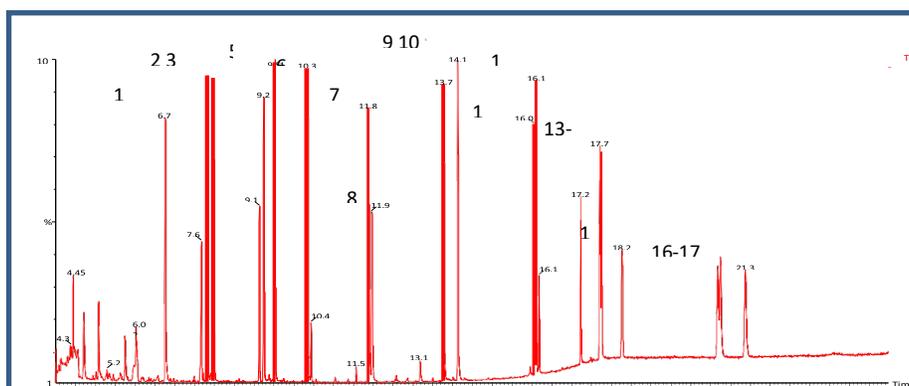


Figura 1. Cromatogramas obtenidos con las condiciones de separación optimizadas. 1=naftaleno; 2=2metilnaftaleno; 3=1metilnaftaleno; 4=acenaftileno; 5=acenafteno; 6=fluoreno; 7=fenantreno; 8=antraceno; 9=fluoranteno; 10=pireno; 11=benzo[a]antraceno; 12=criseno; 13=benzo[b]fluoranteno; 14=benzo[k]fluoranteno; 15=benzo[a]pireno; 16=indeno [1,2,3-cd]pireno; 17=dibenzo[a,h]antraceno; 18=benzo[g,h,i]perileno

Validación del método de extracción por DMFS en muestras de biomasa

En la tabla 1 se resumen los resultados obtenidos para la validación del método desarrollado.

Tabla 1. Resultados de la validación del método de extracción por DMFS.

No	Analito	% de recobro promedio	D.E.	C.V.%	LDD (ng g ⁻¹)	LDC (ng g ⁻¹)
1	Naftaleno	15.52	2.82	108.25	20	62
2	2-metilnaftaleno	39.96	9.12	68.65	17	51
3	1-metilnaftaleno	42.37	9.49	63.05	17	51
4	Acenaftileno	71.37	8.43	18.12	7	20
5	Acenafteno	78.01	6.45	11.41	6	18
6	Fluoreno	93.45	2.81	3.65	4	13
7	Fenantreno	101.81	4.17	4.90	4	12
8	Antraceno	93.94	4.83	5.95	4	12
9	Fluoranteno	102.08	4.84	5.63	4	12

10	Pireno	100.71	4.86	5.78	4	13
11	Benzo(a)antraceno	94.33	5.30	6.52	5	15
12	Criseno	95.55	6.01	7.29	6	19
13	Benzo(b)fluoranteno	89.07	6.06	7.61	5	17
14	Benzo(k)fluoranteno	88.77	6.73	8.59	6	17
15	Benzo(a)pireno	83.63	6.21	8.15	6	17
16	Indeno(1,2,3-c,d)pireno	77.78	8.55	10.95	6	20
17	Dibenzo(a,b)antraceno	79.24	7.65	9.69	6	18
18	Benzo(g,h,i)perileno	77.37	8.82	11.25	6	19

El método no logró cuantificar de manera correcta a los analitos naftaleno, 1-metil- y 2-metilnaftaleno ya que sus recobros no fueron reproducibles en el intervalo de concentraciones utilizado y la repetibilidad fue mala. Sin embargo, para los otros 16 PAHs, los recobros resultaron mayores a 71 % y fueron constantes en el intervalo de concentraciones utilizado ya que sus valores de r^2 resultaron mayores a 0.988.

Los límites de detección y cuantificación se encuentran en el orden de las ppb (ng g^{-1}) y permitieron determinar los niveles de PAHs en las muestras de *M. birostris*.

Análisis de las muestras de músculo de *M. birostris*.

De las 32 muestras analizadas con el método desarrollado, solo 7 presentaron concentraciones de PAHs detectables. En la figura 2 se presenta un ejemplo de los cromatogramas obtenidos para el análisis.

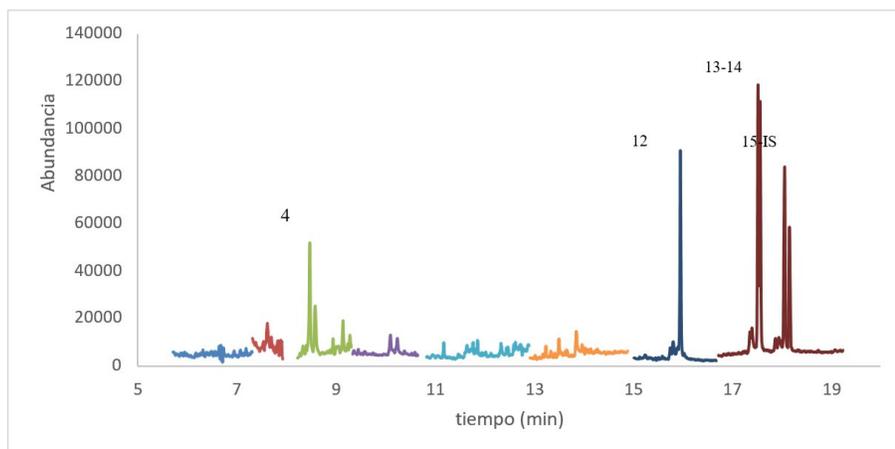


Figura 2. Concentraciones de PAHs en músculo de *M. birostris*, muestra MG57. 4=acenaftileno; 12=criseno; 13=benzo[b]fluoranteno; 14=benzo[k]fluoranteno; 15=benzo[a]pireno; IS=estándar interno

En la figura 3 se resumen las concentraciones obtenidas.

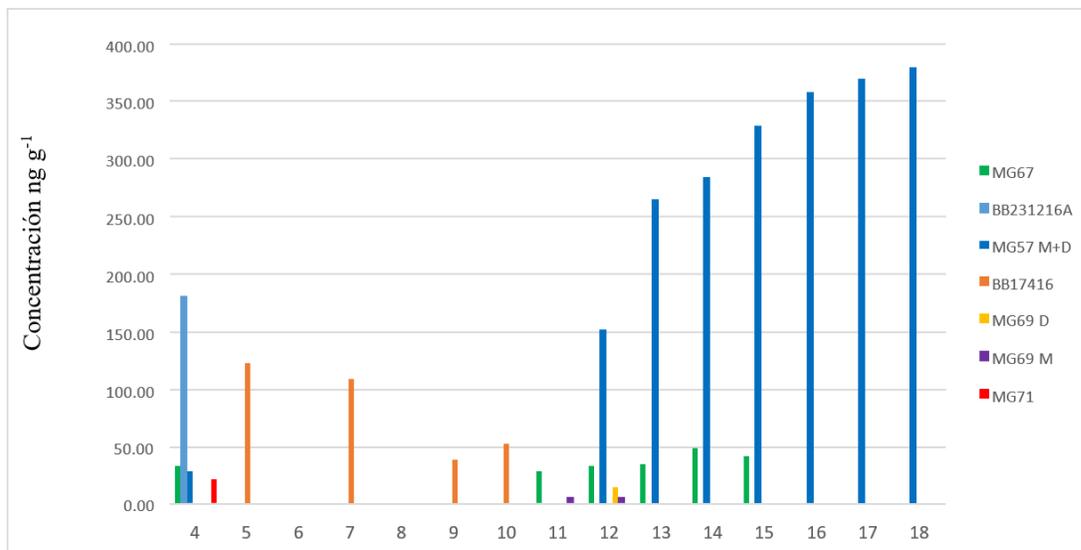


Figura 3. Concentraciones de PAHs en músculo de *M. birostris*. 4=acenaftileno; 5=acenafteno; 6=fluoreno; 7=fenantreno; 8=antraceno; 9=fluoranteno; 10=pireno; 11=benzo[a]antraceno; 12=criseno; 13=benzo[b]fluoranteno; 14=benzo[k]fluoranteno; 15=benzo[a]pireno; 16=indeno[1,2,3-cd]pireno; 17=dibenzo[a,h]antraceno; 18=benzo[g,h,i]perileno

CONCLUSIONES

Se obtuvo un método miniaturizado basado en la técnica de DMFS que permite cuantificar a 16 PAHs en niveles de ppb en muestras de músculo de manta gigante. El método no proporcionó resultados satisfactorios para los analitos naftaleno, 1-metilnaftaleno y 2-metilnaftaleno. Solo dos de las muestras analizadas presentaron niveles de PAHs por arriba de los 100 ng g⁻¹.

AGRADECIMIENTOS

Investigación financiada por el "Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) Clave IA204717" DGAPA-UNAM.

REFERENCIAS

- [1] Ruiz-Sakamoto, C. Sánchez Ortiz, J. D. Stewart, O. Aburto-Oropeza. *Biodiversitas*, **136**, 7 (2018).
- [2] H. Hirai, H. Takada, Y. Ogata, R. Yamashita, K. Mizukawa, M. Saha, M. Ward. *Marine*

- Pollution Bulletin, **62** [8] 1683-1692 (2011).
- [3] A. Peña, A. M. Johanna, C. Labastida y S. Capella. Revista Internacional de Contaminación Ambiental, **19** [1] 11 (2003).
- [4] S. A. Barker. Journal of Biochemical and Biophysical Methods, **70** [2] 151-162 (2007).
- [5] A. Corcia. Journal of Biochemical and Biophysical Methods, **70** [2] 163-179 (2007).
- [6] J. Moreda-Piñero, A. Moreda-Piñero. TrAC Trends in Analytical Chemistry, **71** 265- 274 (2015).
- [7] L. Pensado, M. C. Casais, M. C. Mejuto, R. Cela. Journal of Chromatography A, **1077**. 103-109 (2005).

EVALUACIÓN DEL EFECTO INHIBITORIO DE EXTRACTOS DE *Verbesina persicifolia* SOBRE EL CRECIMIENTO DE BACTERIAS PATÓGENAS Y DETERIORADORAS PRESENTES EN ALIMENTOS

Belem Monserrat Becerra Méndez*
Eva María Santos López
Irais Sánchez Ortega*
José Antonio Rodríguez Ávila
Esmeralda Rangel Vargas
Kenia Yareth Barrera Téllez¹

INTRODUCCIÓN

Plantas, hierbas y especias, así como sus aceites esenciales, contienen un gran número de compuestos con propiedades que inhiben la actividad metabólica de bacterias, levaduras y mohos, los cuales pueden resultar patógenos para el ser humano y/o deteriorar a los alimentos. Estos se encuentran comúnmente en la fracción del aceite esencial de las hojas, flores o brotes, bulbos, semillas, rizomas, frutas u otras partes de la planta. Generalmente se obtienen por extracción con disolventes.

La mayoría de los compuestos con actividad antimicrobiana encontrados en plantas, hierbas y especias, son compuestos fenólicos, terpenos, alcoholes alifáticos, aldehídos, cetonas, ácidos e isoflavonoides [1].

Verbesina persicifolia es un arbusto que pertenece a la familia Astarácea (figura 1). Dentro de la caracterización fitoquímica de *Verbesina persicifolia*, se ha reportado la presencia de poliacetilenos, isoprenoides, monoterpenos y sesquiterpenlactonas (eudesmanos, cadinanos, germacranos y elemanos), además se han identificado derivados de eudesmanos (6 β -cinamoiloxi-4 α , 11-dihidroxi-eudesmano) [2].

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Área Académica de Química, Laboratorio de Microbiología de alimentos. Carretera Pachuca-Tulancingo, km. 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo. México. C.P.42183. Tel: +52 (771) 717 2000 ext. 2512, e.mail: be231880@uaeh.edu.mx



Figura 1. *Verbena persicifolia* [3].

El tipo de compuestos que se pueden extraer de las hojas de la planta está en función del tipo de disolvente a utilizar para su extracción. En este estudio se eligieron tres disolventes, de mayor a menor polaridad: agua, cloroformo y éter de petróleo.

Para el estudio *in vitro*, se seleccionaron 5 bacterias patógenas responsables de diversas enfermedades transmitidas por el consumo de alimentos contaminados (*Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* (ETEC), *Salmonella typhimurium* y *Staphylococcus aureus*), y dos especies de bacterias deterioradoras de alimentos (*Leuconostoc mesenteroides* y *Micrococcus luteus*), utilizando la técnica de pozos en agar.

EXPERIMENTACIÓN

Obtención de los extractos de *Verbena persicifolia*. La planta se muestreó en la comunidad de Arroyo grande, Municipio de Martínez de Torre, Veracruz. Sólo se utilizaron las hojas, las cuales se secaron a la intemperie durante 2 semanas. Se pulverizaron. Se utilizó una proporción de 1:6 (peso hoja: volumen del disolvente) para cada uno de los disolventes utilizados (agua, cloroformo y éter de petróleo). Para la extracción con disolventes orgánicos, la mezcla se colocó en recipientes cerrados al resguardo de la luz y se dejó durante 1 semana. Posteriormente se filtraron los sólidos, utilizando solo el filtrado, del que se recuperó el disolvente por medio de un rotavapor. La fracción etérea obtenida se colocó en viales y se dejó en una estufa a 40°C durante 24 hrs para la evaporación completa del disolvente. Los viales se mantuvieron en refrigeración y bajo el resguardo de la luz.

Tabla 1. Pruebas para la identificación de grupos funcionales en extractos vegetales [4].

No	Tipo de prueba	Cantidad de extracto (mL)	Procedimiento	Resultado positivo
P1	Taninos	0.5	Se adicionaron 3 gotas de una solución de FeCl ₃ al 1%	Color violeta
P2	Insaturaciones en la cadena carbonada	0.5	Se añadieron 3 gotas de una solución de KMnO ₄	Precipitado café
P3	Sesquiterpenlactonas	0.5	Se adicionaron 3 gotas del reactivo de Baljet (C ₆ H ₂ OH(NO ₂) ₃ + NaOH)	Color naranja o rojo oscuro
P4	Esteroles y metilesteroles	0.5	Se añadieron 1 mL de H ₂ SO ₄ concentrado	Color rojo
P5	Lactonas	0.5	Se adicionaron 5 mL de agua, la mezcla se cubrió con un papel filtro humedecido con NaOH al 10% y se colocó a baño maría durante 10 min. El papel filtro se observó bajo luz UV.	Fluorescencia azul o amarilla
P6	Saponinas	1	Los extractos se calentaron a baño maría durante 2 min. Se dejaron enfriar y se agitaron durante 30 seg.	Formación de espuma persistente
P7	Triterpenos	0.5	Se adicionaron 1 mL de una solución de CH ₃ COOH: H ₂ SO ₄ : CHCl ₃ (10:1:25). Se dejó reaccionar por 2 min.	Color rojo, rosa, violeta o azul
P8	Chalconas y auronas	0.5	Se adicionaron 1 mL de HCl concentrado	Color rojo
P9	Para esteroides	0.5	Se adicionaron 0.25 mL de CH ₃ COOH, más una gota de H ₂ SO ₄	Color verde, azul o rosa

Para el extracto en agua se realizó una infusión, calentando la mezcla a 92°C durante 5 min. Se eliminaron los sólidos con papel filtro. El filtrado obtenido se congeló a -70°C por 24 h y se liofilizó.

Pruebas para la identificación de grupos funcionales. A cada uno de los extractos (con agua, cloroformo y éter) se les realizaron 9 pruebas (tabla 1) para la identificación de algunos de los grupos funcionales encontrados comúnmente en extractos vegetales.

Actividad antimicrobiana de los extractos. Se realizaron pruebas *in vitro* a cada una de las bacterias patógenas y deterioradoras, cuya pureza se determinó mediante una tinción de Gram.

De cada una de las bacterias aisladas y purificadas se tomó una muestra con un asa estéril y se resuspendió en un tubo con caldo nutritivo de soya tripticaseína o caldo MRS, dependiendo de la bacteria. Se dejaron incubar a 37°C por 24 h (*L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, *E. coli* (ETEC), *S. typhimurium* y *S. aureus*), o a 30°C por 24 h (*L. mesenteroides* y *M. luteus*). De cada cultivo por separado, se realizaron diluciones decimales en agua peptonada, hasta obtener una concentración final de 10⁶ ufc/mL.

De los tubos con esa concentración del microorganismo, se tomaron 20 µL y se inocularon dependiendo de la cepa, en tubos conteniendo agar soya tripticaseína o MRS fundido (0.8% de agar), se mezclaron suavemente y posteriormente el contenido del tubo se vertió sobre cajas Petri las cuales contenían el mismo agar al 1.5% como medio de soporte. Se dejaron enfriar y se realizaron 6 pozos en cada una de las placas utilizando un horador estéril de 2 mm. Los 3 pozos del lado izquierdo se utilizaron para colocar los extractos (20 µL de extracto al 1%) y los 3 pozos del lado derecho para los disolventes utilizados (como controles). Se dejaron secar dentro de una campana de flujo laminar y se incubaron a las temperaturas correspondientes (30 o 37°C) durante 24 horas. Se observó la presencia de halos de inhibición alrededor de los pozos y se midieron con ayuda de un vernier digital.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Obtención de los extractos. Se obtuvieron los rendimientos para cada uno de los extractos, considerado su obtención desde la hoja fresca. Los datos se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Rendimientos obtenidos durante el proceso de obtención de los extractos de *Verbesina persicifolia*.

Disolvente utilizado	Peso hoja fresca (g)	Peso hoja seca (g)	% Rendimiento del secado	Peso final del extracto (g)	% Rendimiento del extracto (en seco)	% Rendimiento del extracto (en húmedo)
Agua	25	5	20	0.65	13	2.6
Cloroformo	1000	200		69.70	34.85	6.97
Éter de petróleo	1000	200		5.76	2.88	0.58

El cloroformo es el disolvente que mayor cantidad de sólidos extrajo de la hoja seca, seguido del agua y por último del éter de petróleo. Por lo anterior, se deduce que la

mayoría de los compuestos presentes en *Verbesina persicifolia* son de polaridad intermedia. Comparando con otros estudios, por ejemplo, para el análisis de extractos de *Pinus caribaea* var. *Hondurensis* Mor., se obtuvo un resultado similar, teniendo un mayor rendimiento en los extractos con disolventes como el etanol, seguido del extracto con agua y, por último, el extracto con éter de petróleo [5].

Para identificar el tipo de compuestos presentes en cada extracto, se realizaron una serie de pruebas cualitativas, mostradas en la tabla 3.

Pruebas para la identificación de grupos funcionales

El extracto con agua indicó la presencia de insaturaciones en la cadena carbonada, sesquiterpenlactonas, esteroides y metilesteroides, y saponinas. Los extractos con cloroformo y éter de petróleo mostraron la presencia de insaturaciones, esteroides y metilesteroides, lactonas, triterpenos, y esteroides.

Tabla 3. Resultados de las pruebas para la identificación de grupos funcionales en los extractos acuoso y etéreos de *Verbesina persicifolia*.

Prueba / Extracto	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
Agua	-	+	+	+	-	+	-	-	-
Cloroformo	-	+	-	+	+	-	+	-	+
Éter de petróleo	-	+	-	+	+	-	+	-	+

La presencia de sesquiterpenlactonas, lactonas y triterpenos ya había sido reportada dentro del tamiz fotoquímico de *Verbesina persicifolia*. Los esteroides, metilesteroides y esteroides son compuestos que forman parte del aceite esencial y solo pueden ser extraídos con disolventes orgánicos. Las saponinas son glucósidos de esteroides o de triterpenoides, las cuales poseen una fracción polar y una apolar, por ello su presencia en la fracción acuosa. Tienen un comportamiento similar al jabón [6].

Actividad antimicrobiana de los extractos. De las siete bacterias analizadas, sólo *M. luteus* presentó halos de inhibición para los extractos de cloroformo y éter de petróleo. La extensión de los halos y sus medidas se muestran en la figura 2 y tabla 3, respectivamente. El análisis se realizó por triplicado.

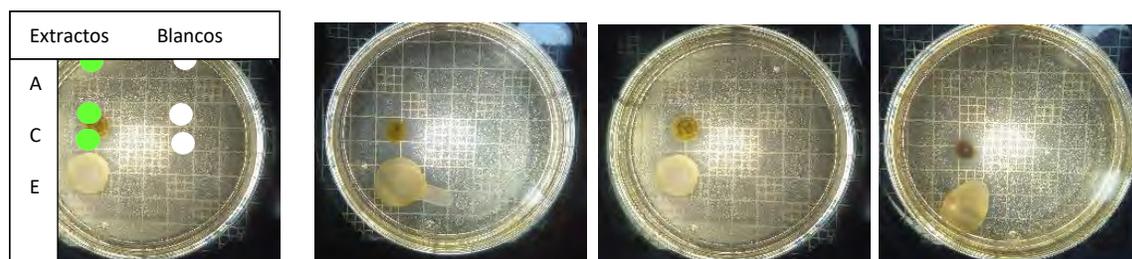


Figura 2. Presencia de halos de inhibición de crecimiento para la bacteria *M. luteus*.

En la extensión de los halos de inhibición, se observa que el extracto con cloroformo tuvo un mayor efecto bactericida contra *M. luteus* que el de éter de petróleo. El cloroformo al ser el extracto que obtuvo mayor rendimiento, posee una mayor cantidad

de compuestos que pueden ejercer un efecto bactericida, como las sesquiterpenlactonas y los triterpenos. La concentración del 1% utilizada mostró ser suficiente para ejercer inhibición en el crecimiento, por lo que habrá que probar concentraciones de extracto más bajas hasta llegar a su posible mínima concentración inhibitoria.

Tabla 3. Medidas del radio de los halos de inhibición presentes en *M. luteus*.

No. De análisis	Extracto		
	Agua (mm)	Cloroformo (mm)	Éter de petróleo (mm)
1	0	1.30	1.04
2	0	2.01	1.67
3	0	2.69	1.55
\bar{x}	0	2	1.42

La fracción lipídica obtenida con el disolvente éter de petróleo también presenta compuestos similares a los de la fracción con cloroformo, mayoritariamente esteroides, metilesteroides y esteroides, por ser un disolvente muy apolar, y en una minoría sesquiterpenlactonas y triterpenos, que se ha demostrado poseen un efecto inhibitorio del crecimiento. Si bien, en el experimento sí mostró halos de inhibición, pero de menor extensión, lo cual indica que se tendría que probar una

concentración mayor a 1% de extracto para poder observar efectos inhibitorios semejantes a los del cloroformo.

Ha sido reportado que algunos constituyentes no fenólicos de los aceites esenciales de las plantas resultan ser más efectivos contra bacterias Gram negativas [7]. Por lo anterior podemos deducir que la mayoría de los compuestos extraídos con los disolventes orgánicos son derivados fenólicos, y por lo tanto no tienen una acción inhibitoria sobre bacterias Gram negativas. *M. luteus* es una bacteria Gram positiva.

CONCLUSIONES

El extracto con cloroformo resultó ser el de mayor rendimiento, y el que mayor efecto inhibitorio mostró sobre *M. luteus*.

Se corroboró la presencia de compuestos que forman parte del tamiz fotoquímico de la planta, ubicando cuáles son los compuestos que se pueden extraer con disolventes apolares o medianamente polares, y cuáles son los que se pueden extraer con disolventes polares.

Se identificó la relación de los compuestos presentes en las fracciones etéreas, con el efecto inhibitorio que ejercieron sobre *M. luteus*.

La concentración del 1 % fue efectiva para el extracto de cloroformo y en menor medida para el extracto de éter de petróleo, por lo que habrá que realizar otra prueba para observar un mayor efecto inhibitorio en el caso del extracto de éter de petróleo, o para determinar la concentración mínima inhibitoria, en el caso del extracto de cloroformo.

REFERENCIAS

- [1] B. K. Tiwari, V. P. Valdramidis, C. P. O' Donnell, K. Muthukumarappan, P. Bourke, P. J. Cullen. Journal of Agricultural and Food Chemistry. **57**, 5987-6000 (2009).
- [2] A. A. Aguilar-Morales. Cultivo in vitro de *Verbesina persicifolia* D. C. para la obtención de metabolitos secundarios a partir de tejido de callo. Tesis. Universidad Veracruzana. México. (2014).
- [3] G. B. Hinton. UNIBIO. Obtenido de Irekani <http://unibio.unam.mx/irekani/handle/123456789/20494?mode=full&proyecto=Irekani> (marzo 2018).
- [4] C. A. López-Rosas. Evaluación de la actividad anticonvulsionante del extracto metanólico de hojas de *Verbesina persicifolia* en ratas macho de la cepa Wistar. Tesis. Universidad

- Veracruzana. México. (2014).
- [5] J. O. Vargas, O. Encinas. Archivos del XII Congreso Forestal Mundial. **12**, 137-145 (2003).
- [6] J. Gutierrez, C. Barry-Ryan, P. Bourke. International Journal of Food Microbiology. **124**, 91-97 (2008).
- [7] L. Rojas, E. Portal, E. Jiménez. Extracción de ARN total en plantas y hongos filamentosos. Tesis. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Cuba. (2011).

CARACTERIZACIÓN DE ELECTRODO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO CON ÁCIDO PIRIDINDICARBOXAMIDA BIS-BORÓNICO PARA LA DETERMINACIÓN DE DEXTROSA

Gonzalo Barrita Cruz^{1,2}
Gabriela Roa Morales^{1*}
Alejandro Dorazco González¹
Patricia Balderas Hernández¹

INTRODUCCIÓN

Las técnicas electroquímicas como la voltamperometría y el uso de los electrodos de pasta de carbono (EPC) constituyen una herramienta útil para obtener resultados de caracterización reproducibles.

En los últimos años los electrodos de pasta de carbono son los empleados con fines analíticos cuantitativos por su sencillez, versatilidad y facilidad de construcción, además de tener una buena reproducibilidad.

Se han publicado algunos trabajos sobre el empleo de electrodos modificados de pasta de carbono en análisis voltamperométrico en la que se describen diversos métodos de modificación y diferentes tipos de interacción entre sustrato y modificador.

La modificación de electrodos de pasta de carbono ha dado lugar a la aparición de un gran número de trabajos en los últimos años [1].

Un ácido borónico es un derivado alquil o aril substituido del ácido bórico que contiene un enlace carbono-boro, perteneciente a la gran clase de organoboranos.

Los ácidos borónicos actúan como ácidos de Lewis. Se caracterizan por su capacidad de

¹ Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable (CCIQS) UAEM-UNAM. Carretera Toluca-Atlaconulco, Km 14.5. C.P. 50200, Toluca, Estado de México, México. groam@uaemex.mx gabyroam@gmail.com

² Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Química. Paseo Colón esq. Paseo Tollocan s/n C.P. 52000. Toluca, Estado de México. gonzalobc1995@hotmail.com

formar complejos covalentes reversibles con azúcares, aminoácidos, ácidos hidroxámicos, entre otros. El pKa de un ácido borónico es ~ 9 , y acompañado en disoluciones acuosas, forman complejos boronatos tetraédricos con $pK_a \sim 7$.

Los ácidos bis-borónicos son potenciales receptores bifuncionales para azúcares y aniones. Tienen un comportamiento posible de discriminación de aniones en preferencia a los sitios de unión en lugar de una simple basicidad del anión [2].

Actualmente se presenta un gran interés en el desarrollo de sensores que contiene una gran variedad de sitios de reconocimiento para la detección de varios analitos. Por el momento la mayoría tales sensores están diseñados para la detección de múltiples iones metálicos, sin embargo, existe otra gran gama de analitos importantes como implican aniones y carbohidratos que son componentes frecuentes de muchos sistemas biológicos, ambientales y nutricionales [3].

Los hidratos de carbono constituyen el grupo de biomoléculas más abundante sobre la superficie terrestre, representando aproximadamente el 75 % de la materia orgánica existente. En ocasiones, se denominan también carbohidratos, azúcares, sacáridos o glúcidos. Todos son términos que hacen referencia a su sabor dulce, o a que poseen la composición $C_n(H_2O)_n$. Aunque dicha nomenclatura subsiste, no todos los glúcidos tienen sabor dulce ni responden a tal composición.

En los animales los carbohidratos son esenciales desde el punto de vista energético, ya que muchos órganos y células del cuerpo humano, como el cerebro y los glóbulos rojos, obtienen su energía principalmente de la glucosa. Pero sus funciones no se restringen a ser únicamente fuente de energía, sino que también pueden desarrollar funciones estructurales, de reconocimiento celular y adhesión.

Estructuralmente, un hidrato de carbono típico es una cadena hidrocarbonada con varios grupos alcohol y un carbono más oxidado, en forma de grupo carbonilo. Este grupo oxidado puede situarse en el extremo de la cadena (aldehído), o adyacente, en posición 2 (cetonas). A partir de esta estructura básica, existen otros hidratos de carbono con alguna modificación química.

Los carbohidratos presentan tamaños moleculares muy diferentes. En función de ello, se clasifican en monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos. Los monosacáridos contienen de 3 a 8 átomos de carbono. Son las unidades básicas y no pueden hidrolizarse para dar azúcares más sencillos. Los oligosacáridos son compuestos formados por uniones de algunos monosacáridos.

Los más importantes tienen sólo 2 unidades y reciben el nombre de disacáridos. Por último, los polisacáridos están constituidos por un alto número de unidades de monosacáridos. Son largas cadenas lineales o ramificadas, dependiendo del tipo de unión entre las unidades. Se dividen en homopolisacáridos y heteropolisacáridos según estén formados por el mismo tipo de monosacárido o por varios diferentes [4].

En este trabajo se presenta la caracterización de un EPC modificado con ácido borónico para la determinación de carbohidratos por Voltamperometría Cíclica y por Voltamperometría Diferencial de Pulso.

EXPERIMENTACIÓN

Disoluciones

Todas las disoluciones utilizadas se prepararon con agua desionizada 18.3Ω . Se utilizó como electrolito soporte un buffer de fosfatos (Sigma) de concentración 0.1 M a pH 7. La dextrosa (Sigma) se preparó a una concentración de 5000 ppm y a partir de esta se realizaron las diluciones necesarias.

Elaboración de los electrodos

En este apartado se elaboran electrodos de pasta de carbono, para lo cual se mezclan en partes iguales grafito (Alfa-Aesar) y aceite mineral (Fluka) hasta la obtención de una pasta que posteriormente se deposita en un tubo y colocándose en un extremo cable de cobre.

De igual manera se elaboran electrodos de pasta de carbono modificados con 5 % de ácido piridindicarboxamida bis-borónico siguiendo el mismo procedimiento que el EPC. Equipo

Se utilizó un potencióstato Epsilon (BAS) para los experimentos de voltamperometría cíclica utilizando un sistema de electrodos. El electrodo de trabajo fue EPC y EPC modificado, electrodo de referencia Ag/AgCl saturado y contraelectrodo se utilizó una barra de grafito.

Finalmente se llevó a cabo la caracterización de la dextrosa a diferentes concentraciones conocidas por Voltamperometría Cíclica, así como por Voltamperometría Diferencial de Pulso.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los voltamperogramas cíclicos que se muestran en la figura 1 se observan los procesos electroactivos del electrolito soporte para el caso del electrodo modificado EPCM (línea roja) y sin modificar EPC (línea azul). Se observa que el electrolito soporte solo presenta el muro de reducción en el límite de potencial de -0.99V para el caso del electrodo sin modificar y para el caso del electrodo modificado aumenta ya que no se observa un muro de reducción. El mismo caso en el de oxidación, presentándose en el electrodo sin modificar de 1.85V .

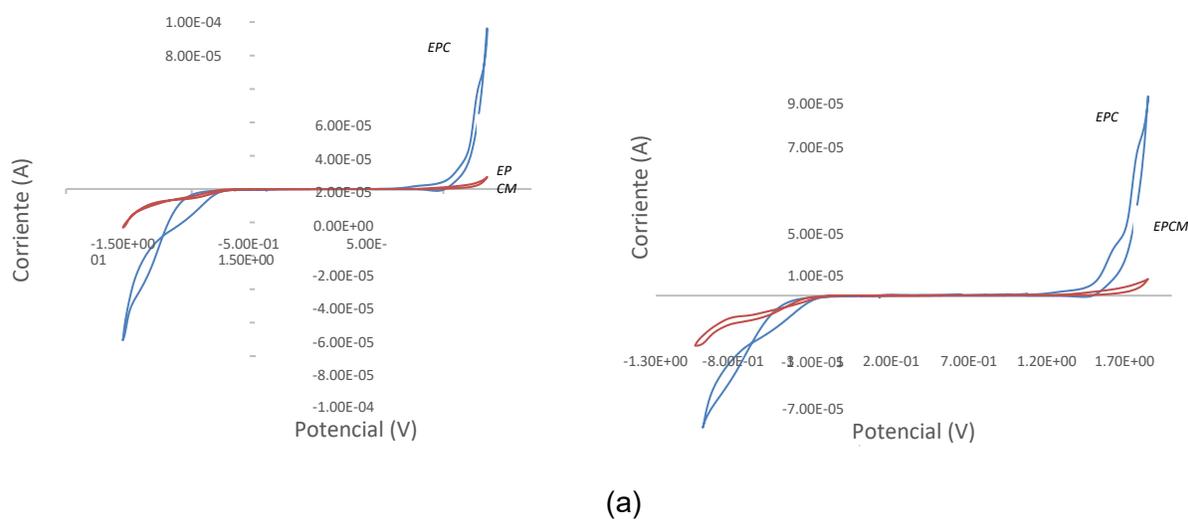


Figura 1. a) VC de electrodo de pasta de carbono y electrodo de pasta de carbono modificado con ácido piridindicarboxamida bis-borónico. Los barridos fueron iniciados de $E_i=0$ hacia sentido catódico a una velocidad de barrido de 100 mV/s . b) VC de electrodo de pasta de carbono y electrodo de pasta de carbón modificado con ácido piridindicarboxamida bis-borónico. Los barridos fueron iniciados de $E_i=0$ hacia sentido anódico a una velocidad de barrido de 100 mV/s .

Se observa que los procesos son muy similares al ser iniciados en sentido catódico como en sentido anódico por lo que el resto de los experimentos solo se realizan en sentido catódico ya que es el área de interés del estudio.

En los voltamperogramas cíclicos de la figura 2 se muestran los procesos electroactivos del electrolito soporte con adiciones de dextrosa incrementando la concentración, con cada adición se puede observar dos procesos de oxidación completamente separados; el primer proceso de oxidación a 0.6 V y el segundo proceso de oxidación a 1.9 V ; de igual manera se puede distinguir en la mayoría de los casos dos procesos de reducción, pero estos son más cercanos. Se puede

apreciar un ligero desplazamiento de la señal debido a las continuas lecturas de las diferentes concentraciones establecidas, que van desde las 10 ppm hasta 1500 ppm.

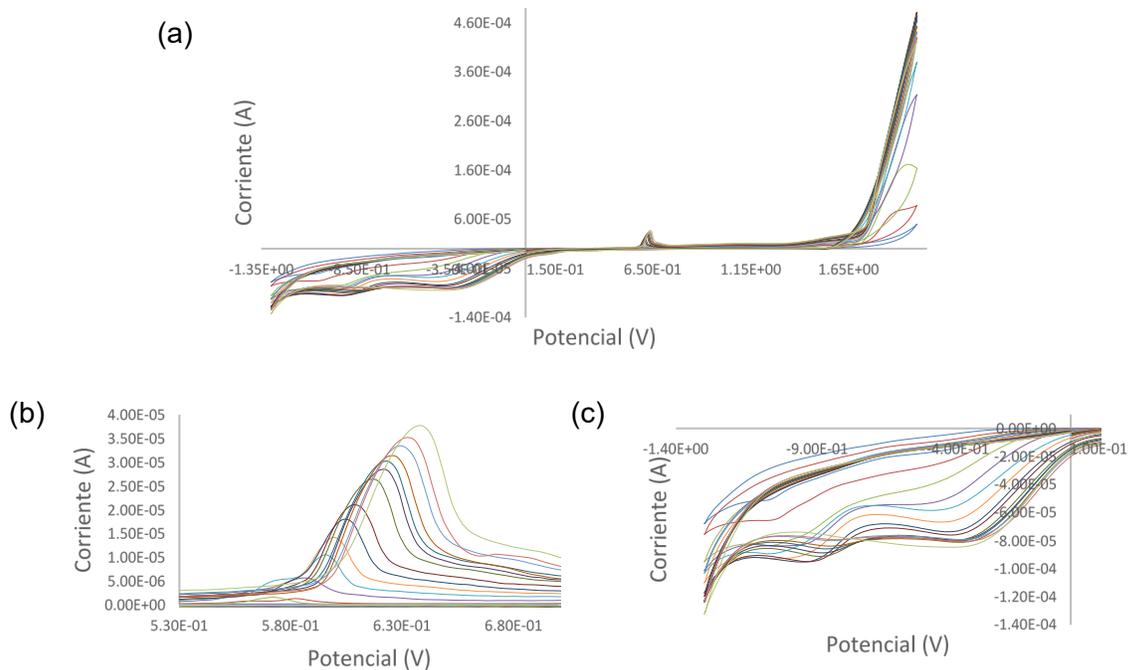


Figura 2. a) VC Voltamperogramas de electrodo de pasta de carbono modificado y resultado de las adiciones consecutivas de dextrosa aumentando la concentración y dando como resultado una respuesta de incremento en los procesos de oxidación como en los de reducción. b) Primer proceso de oxidación para una mejor apreciación. c) Procesos de reducción; se puede observar que los procesos cambian de acuerdo a la concentración con la que se esté trabajando.

En la figura 3 se presentan los Voltamperogramas Diferenciales de Pulso (VDP) para las lecturas de las diferentes concentraciones de dextrosa en la región de oxidación, en la que se pueden observar mejor los procesos de oxidación antes mencionados.

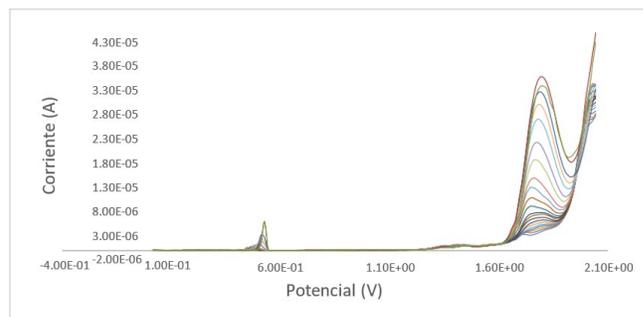


Figura 3. DPSV de las concentraciones de 10 ppm a 1500 ppm, de 0 V a 2.05 V.

A partir de la figura 3 se obtuvieron los gráficos de corriente en función de la concentración (figura 4) a partir de los cuales se aprecia que los procesos de oxidación siguen una tendencia lineal; solo en el segundo proceso se observan tres tendencias que explican la caracterización mostrada en la figura 2c.

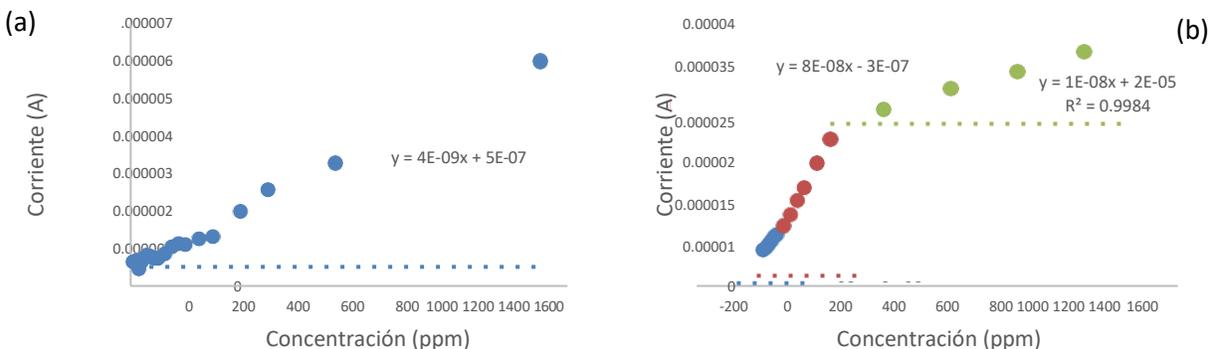


Figura 4. Relación de la corriente en función de la concentración de dextrosa. a) Relación correspondiente al primer proceso de oxidación donde se puede observar linealidad con coeficiente de determinación de 0.99. b) Relación correspondiente al segundo proceso de oxidación en el que se aprecian tres tendencias, pero con coeficientes de determinación altos.

CONCLUSIONES

Es posible la determinación de dextrosa por un método electroquímico, Voltamperometría en este caso, usando EPC modificados con ácido pirindindicarboxamida bis-borónico; este tipo de compuestos derivados del ácido fenil-borónico tienen afinidad a los azúcares, aminoácidos, ácidos hidroxámicos, debido a su capacidad de formar complejos covalentes, dando buenos resultados y mostrando una tendencia lineal que facilita la obtención de resultados y confianza de los mismos. Como consiguiente muestra ser una alternativa de cuantificación con valores confiables y es importante seguir desarrollando el método analítico.

REFERENCIAS

- [1] J. Bard, *Electrochemical Methods; Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons. Canadá, (1980)
- [2] M. Martinez, et al., *Heterocyclic Communications*, **23** [3] 171–180 (2017). [3] P. Gao, et al., (2015), *Electrochimica Acta* **151** 370-377 (2015).
- [4] D. Nelson, *Lehninger: Principios de Bioquímica*, Omega, 5ª Edición; 340-355 (2007).

OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE LA IONIZACIÓN POR ESI-JET STREAM DE SEIS FLAVONOIDES PARA EL ANÁLISIS POR HPLC-MS/MS-QqQ: APLICACIÓN EN ESTUDIOS DE BIODISPONIBILIDAD ORAL

Rivelino Vera Sánchez¹
Rolfy Rubén Ortiz Andrade²
Durcy Verenice Ruiz Ciau¹
Jesús Alfredo Araujo León^{1*}

INTRODUCCIÓN

Los flavonoides son la subclase de polifenoles más grande y abundante del mundo vegetal. Se encuentran presentes en flores, hojas, frutos y cortezas. Las plantas del género *citrus* se caracterizan por producir gran variedad de flavonoides, denominadas citroflavonoides, principalmente del tipo flavanona y flavona; el pericarpio del género *citrus* ha sido ampliamente estudiado y contiene entre otros componentes flavonoides: naringenina, hesperidina, neohesperidina, diosmina y naringina. El interés de dicho género se debe al contenido elevado de flavonoides. En la actualidad se comercializa un fármaco que contiene como principios activos derivados de flavonoides, como el DAFLON 500, que contiene Diosmina 450 mg y Hespérida 50 mg [1-2].

Actualmente, la principal herramienta utilizada para establecer la biodisponibilidad en la industria farmacéutica es mediante la cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a masas con triple cuadrupolo (HPLC-MS-QqQ), ya que resulta ser una técnica analítica que brinda selectividad, precisión y exactitud durante el ensayo; se ha convertido en una de las principales herramientas en la industria farmacéutica para el desarrollo de nuevos fármacos. El acoplamiento

¹ Universidad Autónoma de Yucatán. Facultad de Química. Laboratorio de Cromatografía. C. 43 No. 613 x C. 90 Col. Inalámbrica. C.P. 97069. Mérida, Yucatán, México. Tel: +52 (999) 922 57 11 y 922 57 16. e-mail: jesus.araujo@correo.uady.mx

² Universidad Autónoma de Yucatán. Facultad de Química. Laboratorio de Farmacología. C. 43 No. 613 x C. 90 Col. Inalámbrica. C.P. 97069. Mérida, Yucatán, México. Tel: +52 (999) 922 57 11 y 922 57 16.

de ambas técnicas ha permitido la obtención de iones precursores, convirtiendo la muestra en spray mediante un nebulizador que se ioniza al pasar entre electrodos con una diferencia de potencial grande, adquiriendo carga y obteniendo valores m/z ; durante el proceso, el capilar por donde fluye la disolución acuosa es rociada desde la punta del emisor donde se le aplica un potencial, dicha solución debe contener conductividad eléctrica; el líquido comienza a fluir a través del capilar aumentando su carga asumiendo forma cónica en la punta de este; posteriormente cambia de forma a una línea fina, que se vuelve inestable debido a que retiene cada vez más carga hasta llegar a un punto crítico donde debido a la carga eléctrica la solución se dispersa en pequeñas gotas cargadas con analito. Debido a que las gotas están altamente cargadas con la misma carga eléctrica se repelen fuertemente, volando y se dispersan cubriendo un área cada vez mayor y se van reduciendo de tamaño.

El proceso de evaporación y rompimiento de gotas se repite hasta que el tamaño y carga de las gotas desorba moléculas protonadas o desprotonadas dentro de la fase gaseosa, donde pueden ser dirigidas en el espectrómetro de masas por medio de campos eléctricos apropiados. El proceso de evaporación puede ser suplementado con un flujo de gas (nitrógeno) y calor; es por esto que la ionización se ve afectada de manera general por algunos parámetros tales como temperatura del gas, flujo del gas, presión del nebulizador, voltaje del capilar y voltaje del inyector. La optimización de estos parámetros permitirá una mejor ionización por lo tanto una mayor sensibilidad al análisis, obteniendo mayores áreas en los picos cromatográficos, lo cual es el objetivo principal de este trabajo [3-4].

EXPERIMENTACIÓN

Instrumentación

Para el presente trabajo se utilizó un cromatógrafo de líquidos UHPLC de la marca Agilent Technologies 1290 Infinity equipado con una bomba cuaternaria e inyector automatizado con una columna Zorbax Eclipse Plus RRHD de 50 mm de longitud con 3.6 mm de ancho y un tamaño de partícula 1.8 μm , acoplado a un espectrómetro de masas QqQ de la misma marca modelo 6470 con fuente de ionización ESI-Jet Stream en modalidad negativa.

Sistema de elución

Se inyectó a la columna una solución de 50 ng/mL de rutina, naringina, hesperidina, quercetina, naringenina y hesperitina, las cuales se eluyeron con un sistema en gradiente, utilizando como fase móvil agua HPLC al 1% (A) con ácido fórmico, metanol HPLC (B) y acetonitrilo HPLC (C). El sistema de gradiente inició con 75% A, 12.5% de B y 12.5% C, hasta alcanzar 50% de B y 50% de C en un tiempo de análisis de 7 minutos.

- Diseños experimentales

La búsqueda de los parámetros significativos fue evaluada mediante el diseño experimental de Plackett-Burman (PB, $2^{8-3}/24$) de 12 corridas, seleccionando siete factores críticos del sistema (Tabla 1).

Para efectos estadísticos, las variables se codificaron de la siguiente manera:

$$X_i = \frac{X_i - X_0}{\Delta X} \quad (1)$$

Donde x_i es la variable codificada, X_i es el valor actual de la variable y X_0 es valor de la variable en el punto central. ΔX es el incremento de la variable desde el punto central hasta el valor actual. Cada variable fue evaluada en dos niveles: -1 para el nivel bajo y

+1 para el nivel alto.

Los efectos individuales de cada factor en la respuesta fueron calculados de la siguiente manera:

$$E(X_i) = 2 (\sum M_i^+ - \sum M_i^-) / N \quad (2)$$

Donde, $E(X_i)$ es el efecto evaluado de cada factor, M_i^+ la respuesta en el nivel alto, M_i^- la respuesta en el nivel bajo y N el número de corridas. El estadístico de prueba para determinar si los factores evaluados son significativos es si el valor de $E(X_i)$ es superior en dos veces la desviación estándar de los puntos centrales.

Tabla 1. Factores y condiciones utilizadas en el diseño Plackett Burman.

Factor	Nivel			
Temperatura del gas	°C	250	300	350
Flujo de gas	mL/min	4	7	10
Nebulizador	psi	30	45	60
Temperatura del gas de revestimiento (SGT)	°C	200	250	300
Flujo de gas del revestimiento (SGF)	mL/min	6	9	12
Voltaje del capilar	Volts	3000	3500	4000
Voltaje de la boquilla	Volts	300	500	700

Después de examinar y seleccionar los factores con importancia estadística ($p < 0.05$) del diseño PB, se optó por emplear un diseño de primer orden 2^4 para determinar si los datos se ajustaban a un modelo de primer orden o de segundo orden. Los factores que se analizaron en el diseño 2^4 fue el flujo del gas, la presión del nebulizador, SGT y el Voltaje de la boquilla (Tabla 2).

Tabla 2. Factores y condiciones utilizadas en el diseño 2^4 .

Factor	Nivel			
Flujo de gas	mL/min	7	10	13
Nebulizador	psi	10	30	50
SGT	°C	250	300	350
Voltaje de la boquilla	Volts	300	700	1100

Finalmente, con los factores significativos ($p < 0.05$) se realizó la optimización de los parámetros mediante un diseño de superficie de respuesta Box-Behken con los factores Nebulizador, SGT y Voltaje de la boquilla (Tabla 3).

Tabla 2. Factores y condiciones utilizadas en el diseño Box-Behken.

Factor	Nivel			
Nebulizador	psi	40	50	60
SGT	°C	300	350	400
Voltaje de la boquilla	Volts	700	1100	1500

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La fuente de ionización del espectrómetro de masas cuenta con siete parámetros para modificar los cuales se enlistaron en la tabla 1. El equipo, al momento de realizar la evaluación de tuning, realiza una búsqueda de iones que van con una relación m/z de 100 hasta 3000. Sin embargo, dicha evaluación se realiza con una mezcla de diferentes moléculas orgánicas e inorgánicas. Por ello, la optimización de los parámetros de la

fuentes de ionización que el equipo realiza es de manera global y no específica para los compuestos de tipo flavonoides que abarca el presente trabajo.

En un principio, se desarrolló el sistema de elución de los seis flavonoides bajo las condiciones antes mencionadas. Sin embargo, se observó que al comparar la ionización en modo positivo y negativo, esta última tenía una mayor abundancia de los iones y por consiguiente mayor área bajo la curva de los analitos; es por ello que el desarrollo del presente trabajo se realizó todo en modo negativo.

El principio de este trabajo se basa en encontrar las condiciones óptimas de ionización y con ello obtener mayor respuesta de los iones en todos los casos $[M-1]$ de acuerdo a su peso molecular. Es por ello que para la búsqueda de los factores significativos ($p < 0.05$) que se implementan en la fuente de ionización se utilizó un diseño PB para realizar un monitoreo usando como punto central los factores que se obtienen por omisión en evaluación de sintonía de iones del equipo.

Los resultados obtenidos del diseño PB se muestran en la figura 1:

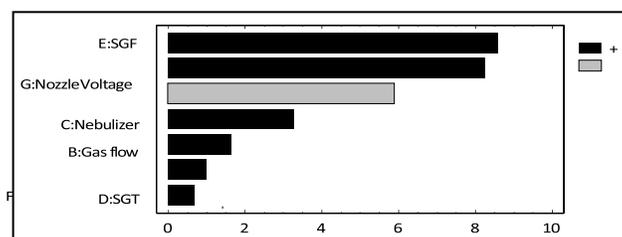


Figura 1. Diagrama de Pareto del diseño PB con efectos estandarizados de cada factor.

El diseño PB demostró que la temperatura del gas de ionización (N_2) y el voltaje del capilar no presentaban un efecto significativo ($p > 0.05$) sobre la ionización de los flavonoides. Sin embargo, cinco parámetros si presentaron un efecto significativo ($p < 0.05$), siendo el de mayor relevancia el SGF. El SGF, flujo del gas y SGT están relacionados con una tendencia directamente proporcional con el caudal del UHPLC, en este caso $600 \mu\text{L}/\text{min}$. Generalmente en sistemas HPLC-MS los caudales rondan entre los 200 a $500 \mu\text{L}/\text{min}$; sin embargo, la ionización por ESI-Jeat Stream permite la des-solvatación a caudales de hasta $1.5 \text{ mL}/\text{min}$. Se encontró que el SGF y flujo del gas el efecto que ejercen un efecto positivo sobre la ionización, lo cual indica trabajar con los valores +1 del diseño PB; sin embargo, debido a que en condiciones operacionales del espectrómetro de masas el máximo caudal permitido por el equipo es de $12 \text{ mL}/\text{min}$, este parámetro no puede seguirse optimizando y se decidió dejar fijo al igual que los parámetros no significativos ($p > 0.05$).

El segundo factor con relevancia significativa ($p < 0.05$) fue el voltaje de la boquilla. Este voltaje es el que se aplica con una diferencia de potencial eléctrico entre la aguja del electrospray (para este caso el voltaje del capilar) y la entrada al espectrómetro de masas o skimmer. Normalmente se mantiene con el mismo potencial que el contraelectrodo, para este trabajo bajo una carga que permitió la ionización de los flavonoides en modo negativo [M-1].

A partir del análisis del diseño PB, se realizó un diseño 2^4 con la finalidad de observar el comportamiento de los datos y los parámetros, los resultados se muestran en la figura 2:

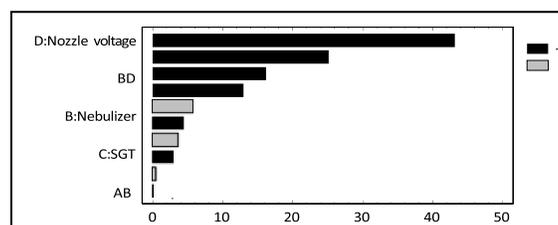


Figura 2. Diagrama de Pareto del diseño 2^4 con efectos estandarizados de cada factor.

De acuerdo con el análisis de varianza (ANOVA) efectuado, se observó que la $\eta^2 = 0.55$ y la prueba de falta de ajuste presentaba evidencia estadística significativa ($p < 0.05$), lo cual indicó que el modelo no tenía una correlación con los datos ni se adaptaba a un modelo de primer orden, por lo cual es necesario optar por un modelo de segundo orden de superficie de respuesta que pueda modelar de manera más adecuada la variabilidad de los datos.

De acuerdo con la figura 2, se observó que los cuatro factores presentan variaciones estadísticamente significativas ($p < 0.05$); sin embargo, con el flujo de gas se observó que al incrementar este parámetro aumentaba la abundancia de cada uno de los iones, es por ello que se eligió dejar fijo por cuestiones operativas con un caudal de 13 mL/min.

Para la optimización de los factores: voltaje de la boquilla, nebulizador y el SGT, se implementó un diseño de superficie de respuesta Box-Behnken (BB) el cual es un diseño multifactorial de segundo orden basado en diseños factoriales incompletos de tres niveles. Para el presente trabajo se buscó una mejora en los parámetros de ionización por ESI-Jeat Stream mediante este modelo buscando aumentar el área bajo la curva de los seis flavonoides.

A partir del ANOVA para el diseño BB, se obtuvo un $r^2 = 0.97$ lo cual indica que el modelo, así ajustado, explica en un 97.3% la variabilidad del área bajo la curva para cada uno de los flavonoides. Además, la prueba de falta de ajuste resultó no ser estadísticamente significativa ($p > 0.05$) con un valor de 0.1845; el BB se ajustó a un modelo de segundo orden, de acuerdo a la ecuación 3:

$$Y = 2398 - 328.12x_1 + 121.5x_2 + 325.37x_3 + 35.87x_1^2 - 45x_1x_2 - 52.75x_1x_3 - 23.38x_2^2 + 10.5x_2x_3 - 74.63x_3^2 \quad (3)$$

La derivada de la ecuación general (ecuación de segundo orden) dio como resultado tres nuevas ecuaciones (ver ecuaciones 4 al 6) de primer orden que se describen a continuación:

$$\frac{\delta Y}{\delta x_1} = -328.12 + 71.74x_1 - 45x_2 - 52.75x_3 \quad (4)$$

$$\frac{\delta Y}{\delta x_2} = 121.5 - 45x_1 - 46.76x_2 + 10.5x_3 \quad (5)$$

$$\frac{\delta Y}{\delta x_3} = 325.37 - 52.75x_1 + 10.5x_2 - 149.26x_3 \quad (6)$$

El punto crítico de la superficie de respuesta se encontró resolviendo el sistema de las tres ecuaciones de acuerdo

$$\frac{\delta Y}{\delta x_1} = 0, \frac{\delta Y}{\delta x_2} = 0, \text{ y } \frac{\delta Y}{\delta x_3} = 0.$$

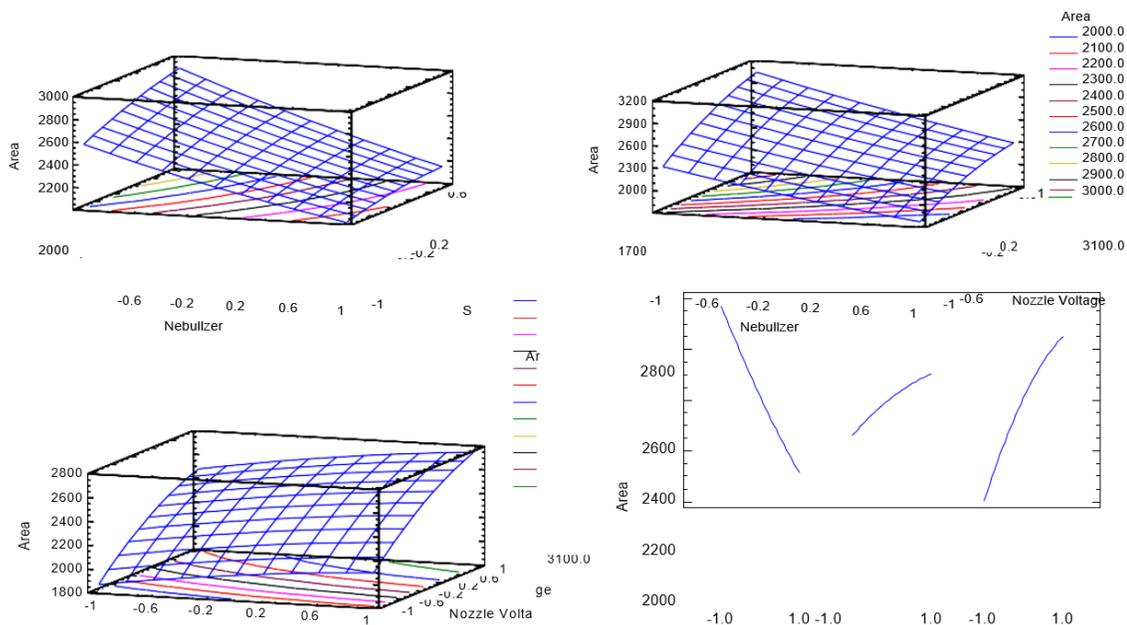


Figura 3. Esquema de los efectos principales y la interacción del modelo BB en el diseño de la respuesta de los factores críticos en la ionización

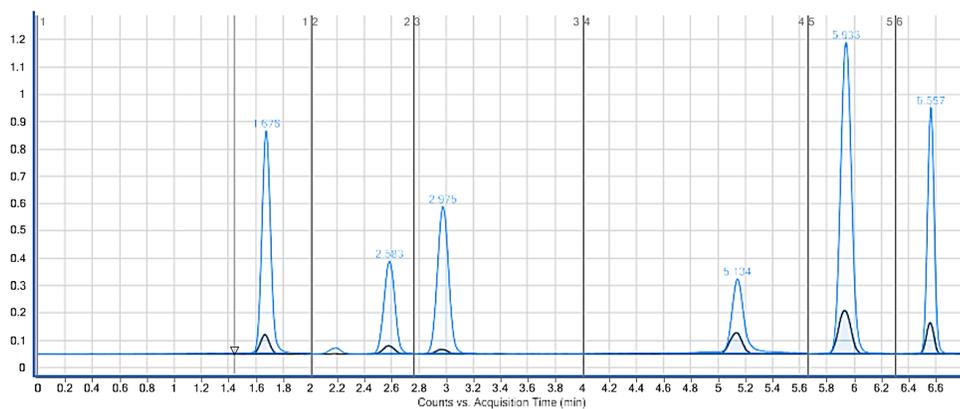


Figura 4. Cromatograma de la elución de los 6 flavonoides. Tr= 1.67 min:Rutina, 2.58 min:Naringina, 2.975 min:Hesperidina, 5.134 min: Quercetina, 5.933 min: Naringenina y 6.557 min:Hesperetina.

De acuerdo con la resolución de las ecuaciones y lo que se observa en la figura 3, la interacción entre el nebulizador frente a SGT y el voltaje de la boquilla la respuesta óptima tiende hacia el punto -1, y hay una relación directamente proporcional con tendencia hacia

+1 en la interacción del voltaje de la boquilla con SGT. De acuerdo con lo observado se determinó que los valores óptimos fueron 40 psi para el nebulizador, 400°C para el SGT y 1500 V para el voltaje de la boquilla o *nozzle*. Para concluir el presente trabajo se realizó la comparación entre el punto de partida de los valores que arrojaba el equipo al momento de realizar la evaluación tuning, que fueron los puntos centrales del diseño PB, contra el método optimizado mediante los diferentes diseños experimentales y se observó lo que se presenta en la figura 4.

Las diferencias entre el método estándar y el optimizado a simple vista son significativas. En promedio, se elevó el área bajo la curva en una proporción 1:15. Considerando que a mayor área mayor concentración, la sensibilidad aumentó en promedio 15 veces más que si se analiza con las condiciones de tuning que arroja el equipo.

CONCLUSIONES

Se logró la optimización del proceso de ionización de seis flavonoides modificando los siete parámetros posibles en el espectrómetro de masas. La generación de un método optimizado permitió elevar la sensibilidad aproximadamente 15 veces más a lo propuesto por el método de tuning del equipo para iones con m/z entre 100 a 3000.

Los diseños experimentales como el método PB permiten realizar una búsqueda de los factores significativos y posteriormente ser optimizados mediante diseños como el BB, que ofrecen una respuesta con un buen modelaje de los datos y con ello determinar la variabilidad del modelo estadístico.

AGRADECIMIENTOS

Un especial agradecimiento a la facultad de Química de la Universidad Autónoma de Yucatán por brindar siempre el apoyo para realizar la investigación dentro del laboratorio de Cromatografía y al CONACyT al proyecto: “Estudio Preclínico de una forma farmacéutica sólida de citroflavonoides con propiedades hipoglucemiantes e hipotensores: Caracterización farmacológica y farmacodinámica” por el financiamiento otorgado para realizar la investigación en el presente trabajo.

REFERENCIAS

- [1] N. Orrego. Estudio de absorción y disponibilidad de naringenina y quercetina. Estudios preclínicos, Tesis de doctorado. Universidad de Barcelona. Barcelona, España (2016)
- [2] Food and Drug Administration (FDA). Diosmin and hesperidin world-wide preparations. <https://www.fda.gov/Food/DietarySupplements/ucm109764.htm> [Consultado en Abril del 2018]
- [3] K. Huikko, T. Kotihao, R. Kostianen. Rapid Commun Mass Spectrom. **16**,1562-1568 (2002).
- [4] F. Cuyckens, M. Claeys. Rapid Commun Mass Spectrom. **16**, 2341-2348 (2002).

DETERMINACIÓN DE ÁCIDO SALICÍLICO Y ÁCIDO BENZOICO EN ASEPXIA POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN

Carlos Montaña Osorio¹

Elia Granados Enríquez²

María Gabriela Vargas Martínez^{1*}

INTRODUCCIÓN

En la antigua Grecia se masticaba corteza de sauce blanco para aliviar el dolor de dientes de las personas, así como malestares generales y fiebre. El extracto de la corteza de este árbol contiene ácido salicílico (HSal) al cual se le atribuyen dichas propiedades. Este ácido es añadido a las formulaciones farmacéuticas debido a que tiene propiedades como astringente tópico y dermoabrasivo, por lo que se ha utilizado en fármacos dérmicos como tratamiento para el acné, callosidades y remoción de verrugas. En niveles más bajos, también existe ácido benzoico (HBenz) en el sauce blanco, el cual también es utilizado en formulaciones tópicas, pero su uso más común es como conservador de alimentos, cosméticos, fármacos (etc.) mayoritariamente como su sal (sódica) benzoato, la actúa también como antiséptico.

Debido a que estos ácidos son añadidos a productos de consumo humano, es preciso tener un control de las cantidades de éstos. Para su cuantificación se utiliza la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) en donde los analitos disueltos en una fase móvil recorren una columna empacada con una fase estacionaria e interaccionan de manera diferencial con ésta y la fase móvil, pudiendo así ser separados para su identificación y posterior cuantificación [1-3].

¹ Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Laboratorio de Desarrollo de Métodos Analíticos,

² Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Sección de Química Analítica, Av. 1º de mayo s/n, Cuautitlán Izcalli, Estado de México. Tel: +55-56232003, Correo: gvargasm@unam.mx

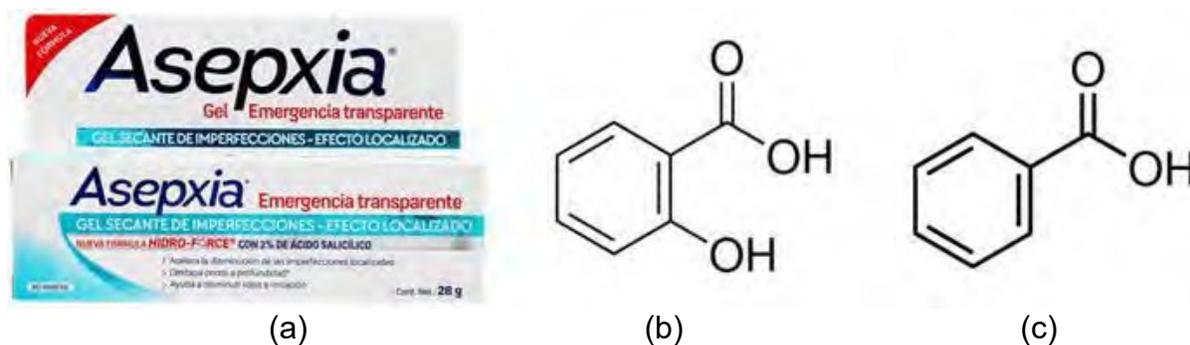


Figura 1. Estructuras de a) medicamento comercial analizado, b) ácido salicílico, c) ácido benzoico.

El objetivo del presente trabajo es desarrollar el método cromatográfico para la cuantificación de los ácidos salicílico (HSal) y benzoico (HBenz) en el medicamento comercial asepxia, con la finalidad de formular el formato de una práctica para la enseñanza experimental del HPLC. La puesta a punto de esta práctica incluye que el alumno aplique sus conocimientos sobre pretratamiento de muestras, influencia de la polaridad de la fase móvil, composición de la columna, efecto del pH, de la supresión del ión, construcción de curvas de calibración, selección del modelo lineal y evaluación de su validez.

EXPERIMENTACIÓN

Equipo: Se utilizó un HPLC Shimadzu modelo LC-10AT, con desgasificador modelo DGU-14A, mezclador FCV-10AL, automuestreador SIL-10A, horno CTO-10A, detector UV, controlador CBM-20A y software LC Solution.

Disoluciones:

Fase móvil: Consta de una proporción 10:90 acetonitrilo y agua desionizada respectivamente. El acetonitrilo y el agua desionizada contienen ácido fórmico al 1 %.

Disolución Stock de HSal: Se preparó una disolución stock de ácido salicílico, pesando una cantidad conocida de estándar R.A. (Sigma-Aldrich, pureza 99.0 %) y disolviéndolo en fase móvil para finalmente aforar a 100 mL.

Disolución Stock de HBenz: Se preparó una disolución stock de ácido benzoico, pesando una cantidad conocida de estándar R.A. (Sigma-Aldrich, pureza 99.5 %) y disolviéndolo en fase móvil para finalmente aforar a 100 mL.

Curvas de calibración:

Se realizó una curva de calibración la cual contenía ácido salicílico en un intervalo de 30 a 300 mg/L, ácido benzoico de 12 a 200 mg/L y ácido 3,4-dihidroxibenzoico como estándar interno a 22 mg/L todo preparado en fase móvil.

Método cromatográfico:

Las condiciones optimizadas del método se especifican en la Tabla 1.

Tabla 1. Condiciones analíticas de separación.

Columna	ODS C ₁₈ 4 µm, 3.9 x 50 mm
Fase Móvil	A: ácido fórmico al 1% en agua desionizada B: ácido fórmico al 1% en acetonitrilo
Gradiente de elución	Isocrático A:B (90:10)
Flujo	2.0 mL/min
Temperatura de la columna	25°C
Temperatura del automuestreador	25°C
Detector	UV a 230 nm
Volumen de inyección	4 µL

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se observa en la figura 1 con la composición optimizada de la fase móvil se pudo lograr la completa separación del ácido salicílico, ácido benzoico y el estándar interno (ácido 3,4-dihidroxibenzoico).

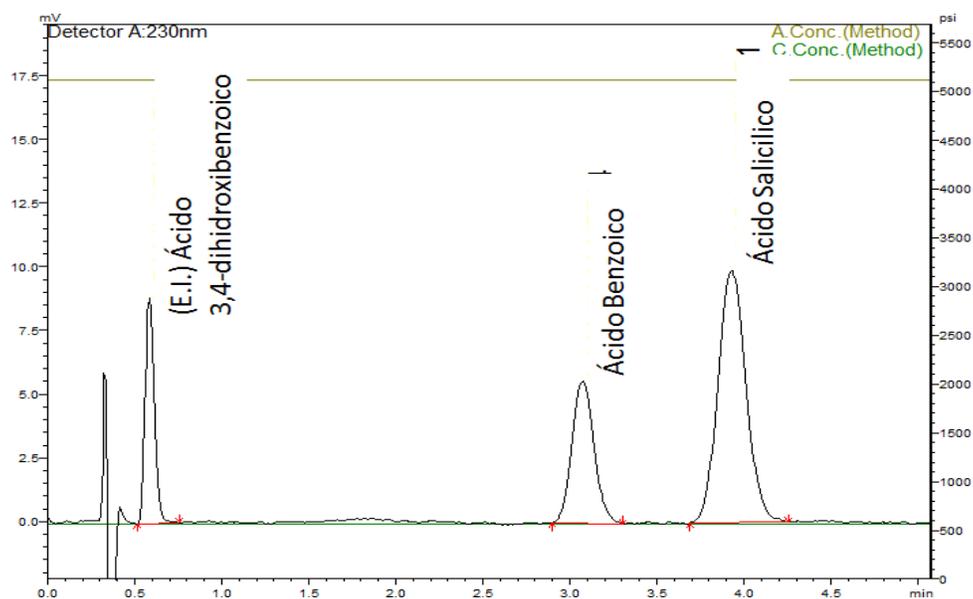


Figura 2. Cromatograma de la separación de ácido salicílico, ácido benzoico y el estándar interno (ácido 3,4-dihidroxi benzoico).

Las señales se observan simétricas y con resoluciones (R_s) que van desde 1.68 hasta (ver Tabla 2) con lo que se concluye que están completamente resueltos en línea base. El tiempo de análisis sería alrededor de los 4.5 min.

Tabla 2. Parámetros cromatográficos de los analitos separados por HPLC

Analito	Tiempo de retención (min)	Ancho de pico (min)	Resolución (R_s)
Estándar interno	0.587	0.3	Estándar interno/ Ácido benzoico
Ácido Benzoico	3.167	0.4	Ácido benzoico/ Ácido salicílico
Ácido Salicílico	4.094	0.7	

Se midieron 14 niveles de concentración de las mezclas de ácido benzoico, ácido salicílico (por triplicado), con la adición del estándar interno seleccionado que fue el ácido 3,4-dihidroxi benzoico a una concentración constante de 22 mg/L

A los cromatogramas obtenidos se les determinaron los tiempos de retención (t_r), las áreas bajo la curva (A) y la altura del pico (H) para las 3 señales obtenidas. Estos datos se alimentaron al software Statgraphics Centurion XVI con la finalidad de realizar el

análisis correspondiente aplicando mínimos cuadrados y poder encontrar los modelos para la cuantificación de ácido salicílico y ácido benzoico en las muestras problema.

Las curvas de calibración obtenidas se muestran en las Figuras 3 y 4 junto con sus correspondientes gráficos de residuales que se analizan para poder asegurar la validez del modelo lineal encontrado. Para ambos casos, la respuesta que fue utilizada para encontrar los modelos fue la relación de áreas ya que $\frac{\text{Área del ácido}}{\text{Área del E.I}}$ mostró un coeficiente de determinación (r^2) mayor y un comportamiento homocedástico para ambos casos.

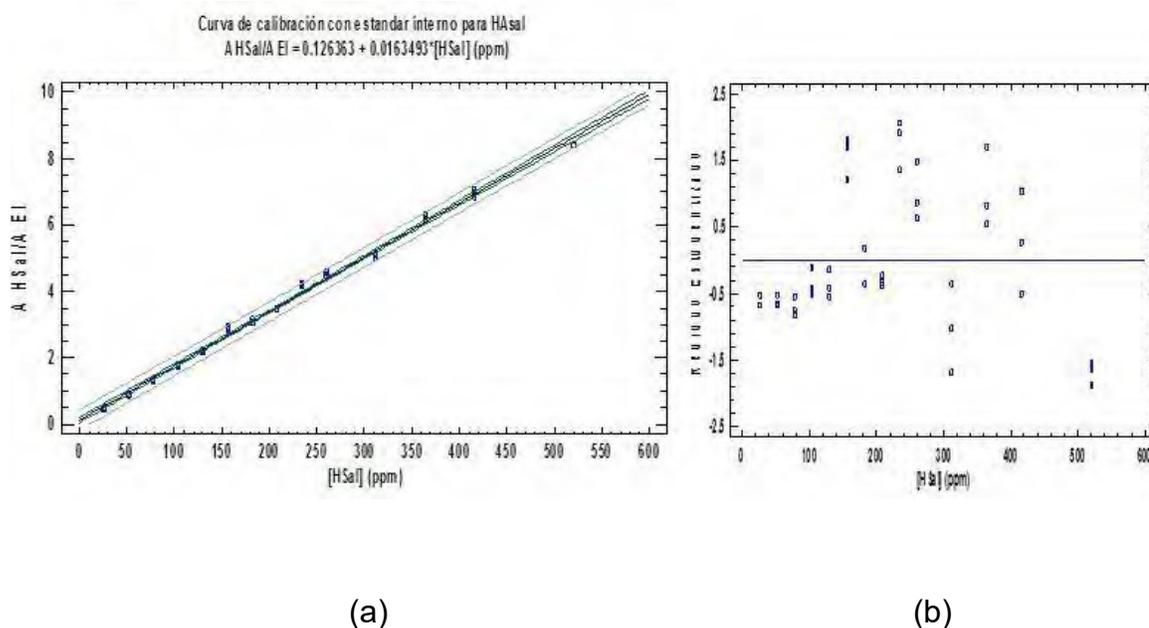


Figura 3. a) Curva de calibración de ácido salicílico y su ecuación lineal obtenida, b) sus residuales.

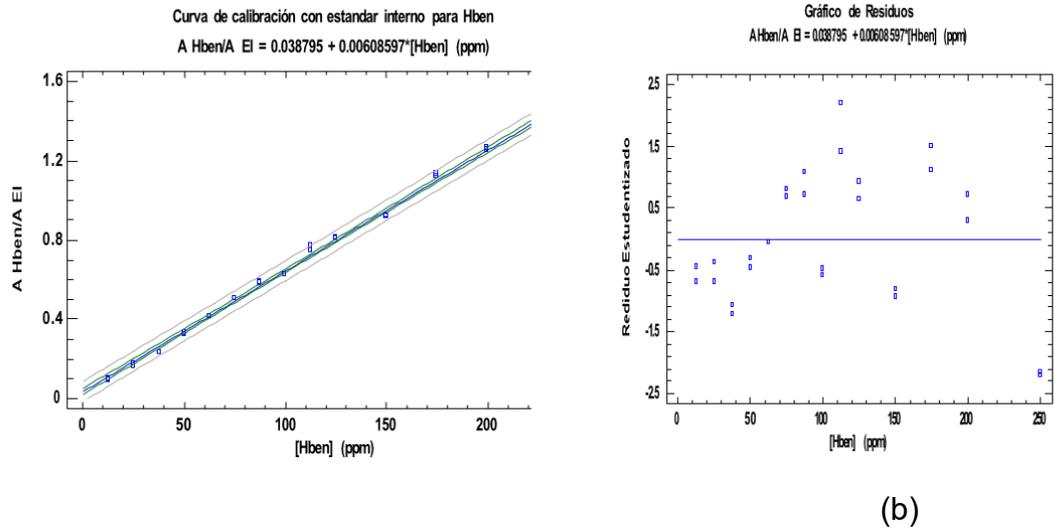


Figura 4. a) Curva de calibración de ácido benzoico y su ecuación lineal obtenida, b) sus residuales.

Como se observa en las figuras 3 y 4 los residuales para las curvas de calibración con estándar interno de ácido salicílico y ácido benzoico son homocedásticos, es decir están ordenados al azar (sin ninguna tendencia) y no existen datos anómalos (es decir que rebasen los valores de +3,-3) por lo que los modelos propuestos son válidos. Con tales modelos es posible realizar la cuantificación de las muestras problema de asepsia, realizando la interpolación correspondiente en las curvas de calibración. Un ejemplo de los cromatogramas obtenidos para la muestra de asepsia se puede ver en la Figura 5.

Utilizando la relación de áreas de los analitos con el estándar interno se cuantifica obteniendo los siguientes resultados:

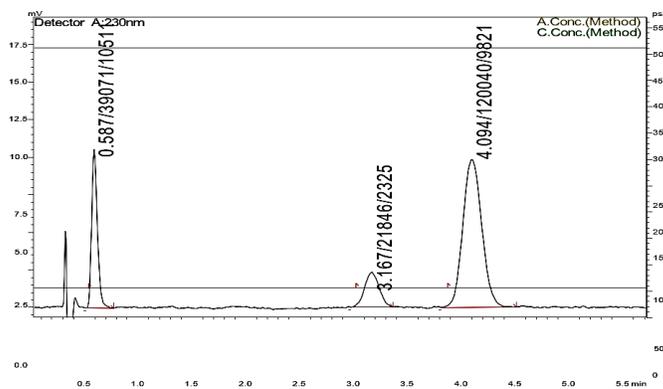


Figura 5. Cromatograma de la separación de los componentes de una muestra de asepsia donde se adicionó el estándar interno.

Tabla 3. Composición de asepxia obtenida por HPLC.

Ingrediente activo	Cantidad (g producto/g analito) encontrada	Reportada (g/g)	% de Contenido
Ácido salicílico	0.0182 (1.82%)	0.02 (2 %)	91 %
Ácido Benzoico	0.0098 (0.98%)	No reportado en el marbete	

Dentro de las cremas para el acné está reportado que la presencia de ácido salicílico se utiliza cuando se quiere un efecto queratolítico (ayuda al cuerpo a liberar las células muertas y ásperas de la piel) y se reporta en el asepxia un contenido del 2 %. El ácido benzoico ayuda a curar la infección causada por las bacterias y hongos y aunque no presenta su contenido en la formulación de asepxia, se reportan productos para el acné que lo contienen entre 0.5 hasta 6 %. De lo anterior se observa que el contenido de ácido salicílico cumple en la especificación para formas farmacéuticas tópicas (90-110 %), mientras que para el ácido benzoico, aunque no se encuentra reportado en el producto comercial su especificación, al parecer este tiene un contenido aproximado del 1 % (de forma exacta el 0.98 %) el cual está en concentraciones adecuadas para ejercer su efecto bacteriostático y fungistático.

CONCLUSIONES

Se realizó de manera satisfactoria el método cromatográfico ya que los picos del estándar interno, ácido salicílico y ácido benzoico están resueltos, no traslapados, pudiendo así lograr su cuantificación en el asepxia, Las curvas de calibración demostraron su linealidad mediante el análisis de residuales, así cuantificándolos obteniendo 1.82% de ácido salicílico y 0.98% de ácido benzoico.

Con el método cromatográfico propuesto se logró cuantificar estos ingredientes activos. Debido a que estos ácidos son añadidos a productos dermatológicos es necesario tener un método de cuantificación que permita monitorear su concentración, ya que en niveles altos de concentración pueden causar quemaduras por el contacto con la piel.

AGRADECIMIENTOS

Al proyecto PAPIIME PE216418 titulado “Fortalecimiento de la enseñanza de las asignaturas de técnicas analíticas avanzadas y laboratorio del Paquete terminal de la licenciatura en química” por el financiamiento para la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

- [1] D.C. Harris. Análisis químico cuantitativo. Reverté. México. (2013).
- [2] D. Harvey. Química analítica moderna. Mc Graw Hill. (2002).
- [3] D. Skoog. Principios de análisis instrumental. Mc Graw Hill. (2001).

EVALUACIÓN DEL PROCESO DE DEPÓSITO ELECTROQUÍMICO DE OXALATO DE HIERRO USANDO UN REACTOR FM01-LC

Miguel Ángel Castillo Rojas^{1,2}
José Ángel Cobos Murcia^{1,2}
Víctor Esteban Reyes Cruz²
María Aurora Veloz Rodríguez²
Felipe Legorreta García²
Mizraim Uriel Flores Guerrero¹

INTRODUCCIÓN

El caolín [$\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$] es un mineral de filosilicato común, ampliamente utilizado como materia prima en cerámica, papel, relleno, recubrimiento, refractario, fibra de vidrio, cemento, caucho y plásticos, pinturas, catalizadores, farmacéuticos y agricultura [1, 2, 3] Sin embargo, cada vez es menor la disponibilidad de minas con caolines de alta blancura por lo que se han desarrollado nuevos procesos de purificación y que han adquirido mayor importancia tales como: proceso de lixiviación que cual consiste en tratar el caolín con ácidos a fin de reducir los óxidos de hierro que contiene y de esta manera blanquear las arcillas contaminadas [4, 5]. Claudio Cameselle y colaboradores

[6] hallaron que para aumentar el nivel de blancura del caolín a un 80% es necesario aplicar un potencial eléctrico en conjunto con el uso de ácido oxálico en una celda de electroremediación. De este tipo de tratamientos se obtienen como resultado soluciones líquidas ricas en varias especies de oxalato de hierro. Mismas que se requieren purificar a través de la remoción del Hierro (Fe), para regenerar sus propiedades ácidas sin afectar la concentración de iones oxalato. Es por ello que en la presente investigación se busca analizar el tratamiento electroquímico de las soluciones de oxalatos en un reactor FM01-LC mediante análisis cronopotenciométrico a

¹ Universidad Tecnológica de Tulancingo. Camino a Ahuehuetitla 301, Reforma la Presa, C.P. 43642, Tulancingo, Hidalgo. Tel: +52 (775) 755 8210

² Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Ciencias de la Tierra y Materiales, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería. Laboratorio de Procesos Electroquímicos. Ciudad Universitaria, Carr. Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Pachuca, Hidalgo. México. C.P. 42076. Tel: +52 (771) 717 2000 Ext. (2292)

diferentes corrientes, que permitan determinar las reacciones implicadas en el tratamiento de las soluciones residuales del blanqueamiento de caolín y las condiciones óptimas para la remoción y recuperación de su contenido de hierro

EXPERIMENTACIÓN

Los experimentos se llevaron a cabo en un reactor FM01-LC de un volumen de 65 mL utilizando un potencióstato-galvanostato marca PAR modelo 263A, controlado a través del software *Power suite*. Utilizando un arreglo de dos electrodos, como electrodos de trabajo dos electrodos de latón calibre 18. Como contra electrodo un electrodo de grafito de 13 mm de espesor en donde también se conectó el electrodo de referencia. La superficie de trabajo de los electrodos de latón se pulió mecánicamente utilizando una lija de carburo de silicio con un grano extrafino de 400. Se utilizó papel filtro en ambos lados del electrodo de grafito para evitar la contaminación por desgaste del mismo, como baño electrolítico se utilizó materia residual del tratamiento electroquímico para el blanqueamiento de caolín con un pH de 2, el cual contiene principalmente oxalato de hierro. El tratamiento electroquímico se realizó galvanostáticamente y se analizó el efecto de la corriente en la eliminación de oxalato de hierro. Se realizó un estudio cronopotenciométrico durante seis horas evaluando diez muestras de 250 mL con recirculación aplicando diferentes corrientes; 0.01, 0.017, 0.025, 0.05, 0.1, 0.175, 0.25, 0.35, 0.5, y 1 A. Una vez terminado el tratamiento electroquímico se tomó una muestra de cada uno de los baños electrolíticos tratados. Las cuales fueron analizadas con un espectrómetro de plasma por acoplamiento inductivo marca Perkin Elmer Pure, modelo Óptima 3000XL con una curva de calibración preparada con dos estándares, Hierro y Titanio 1000 mg/L, con matrices de ácido nítrico 2% y agua respectivamente, por triplicado de tres puntos: 10, 30 y 60 mg/L. La muestra a inyectar el espectrofotómetro se preparó en una matriz de ácido oxálico a partir de la dilución de la alícuota en 1/10 para la determinación de Hierro y 1/100 para la de Titanio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestra la familia de transitorios cronopotenciométrico de diez diferentes densidades de corrientes impuestas; 0.01 (morado), 0.017 (rojo), 0.025 (café), 0.05 (naranja), 0.1 (azul claro), 0.175 (negro), 0.25 (verde), 0.35 (morado claro),

0.5 (vino), 1 (azul) A. Se observó que el valor de potencial se mantuvo constante a partir de la 0.75 horas de operación.

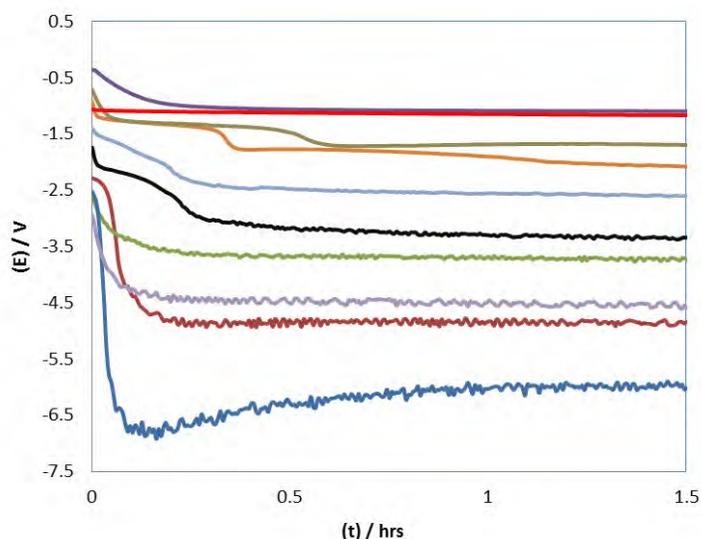


Figura 1. Familia de transitorios cronopotenciométricos a diferentes corrientes impuestas; 0.01 (morado), 0.017 (rojo), 0.025 (café), 0.05 (naranja), 0.1 (azul claro), 0.175 (negro), 0.25 (verde), 0.35 (morado claro), 0.5 (vino), 1 (azul) A.

Por otro lado, se observa que a valores de corriente impuesta de 0.01, 0.017, 0.025 y 0.05 se alcanza una meseta de potencial aproximado de -1094 mV que es atribuible a la reducción de las especies complejas de oxalato de hierro (III) a hierro (II) tales como el oxalato de hierro $[\text{Fe}(\text{Ox})]$ y el ion di oxalato ferrato (II) $[\text{Fe}(\text{Ox})_2^{2-}]$ con el tris oxalato

ferrato (III) que dependen de la concentración de oxalato y el pH como se observa en el diagrama de zona de predominios mostrado en la Figura 2, también se observa que las corrientes impuestas de 0.1 y 0.175 se estabilizan a -2800 mV a esta fase se le puede asociar la producción de hierro metálico, por otro lado, se encuentra que a una corriente impuesta de 0.25, 0.35, 0.5 y 1 a una meseta de potencial aproximado de -3300 a -6850 mV que favorece la producción de hidrogeno y depósito de Fe.

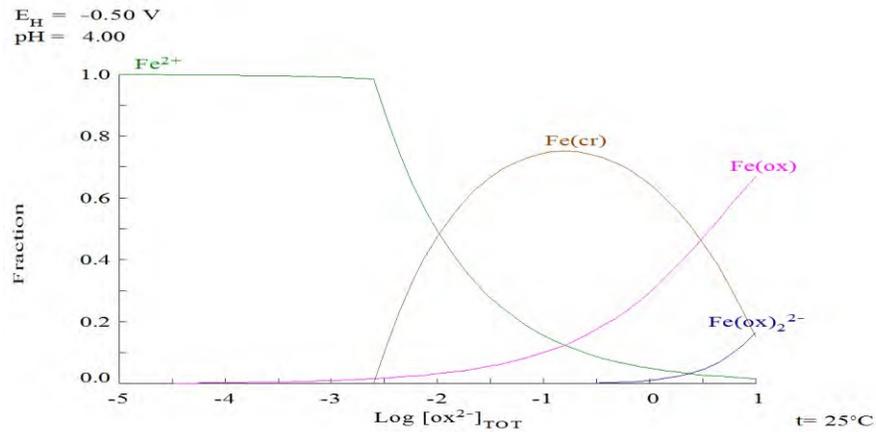


Figura 2. Diagrama de fracción de especie de Fe en presencia de Oxalato, imponiendo un potencial de electrodo de reducción -0.5 V a un pH de 4.

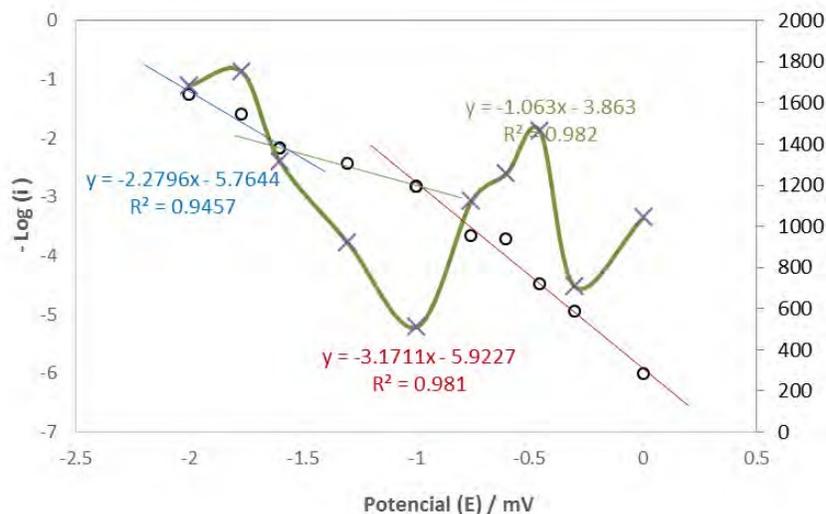


Figura 3. Cronopotenciometría y su correlación con la concentración del hierro en el baño electrolítico tratado.

En la Figura 3 se muestra el gráfico $-\text{Log}(i)$ vs Potencial (E) para los potenciales de estabilización obtenidos a partir de las cronopotenciometría y su correlación con la concentración del hierro en el baño electrolítico tratado. Se pueden observar tres regiones en las cuales la primera se asocia a los equilibrios Redox de las especies complejas de Fe y oxalato, la segunda se asocia a proceso de depósito de Fe metálico

y una última región acoplada al proceso de evolución de hidrógeno y depósito de hierro. Se observa que el depósito de hierro se favorece a valores de potencial mayores a 1000 mV .

Los resultados obtenidos mediante el Espectrómetro de Plasma Inducido (ICP), Tabla 1, nos muestra la concentración de la disolución madre que tiene una concentración de 1795 mg/L de Fe y 9.42 mg/L de Titanio (Ti). La disolución líquida obtenida después de cada proceso a distintas corrientes presenta las diferentes concentraciones de hierro (Fe) y titanio (Ti) en las que destaca que a una corriente aplicada de 0.1 A en donde hay una mayor remoción de Fe obteniendo como resultado una concentración de 509.5 ppm y para la remoción de titanio la corriente adecuada para una remoción de a una corriente de 0.1 A se obtuvo 19.22 mg/L. Sin embargo, se observa que la concentración de Ti es mayor que la presente en la disolución madre, debido a que el proceso de recuperación de Hierro permite que el óxido de Titanio se lixivie al encontrarse libre por la recuperación de Fe. Debido a un equilibrio químico de las especies de Fe y Ti con el oxalato que lixivie el Ti presente en los sobrenadantes presentes en la disolución y que son lixiviados al disminuir la presencia de hierro.

Tabla 1. Resultados de los análisis realizados mediante ICP a las muestras líquidas obtenidas de cada proceso a diferentes corrientes impuestas.

Corriente (i) / A	[Fe] / mg/L	[Ti] / mg/L
0.01	1684	14.2
0.017	1751	13.08
0.025	1316	11.89
0.05	919.6	12.52
0.1	509.5	19.22
0.175	1122	13
0.25	1256	14.74
0.35	1463	10.28
0.5	706.4	14.54
1	1043	11.67
Disolución Madre	1795	9.42

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos mediante el estudio cronopotenciométrico se demostró que se presentan tres diferentes procesos en los cuales podemos demostrar la reducción de las especies complejas de oxalato hierro (III) a hierro (II) y oxalato de hierro (Fe(Ox)) así como el ion di oxalato ferrato (II) (Fe(Ox)₂²⁻) con el tris oxalato ferrato (III), la segunda se asocia a proceso de depósito de hierro metálico y una última región acoplada al proceso de evolución de hidrogeno y depósito de hierro.

Así mismo, se determinó que el Ti presente en los sobrenadantes es lixiviado al recuperar el hierro acomplejado electroquímicamente.

AGRADECIMIENTOS

Al Área Académica de Ciencia de la Tierra y Materiales de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo por el espacio para realizar este trabajo.

REFERENCIAS

- [1] H.H. Murray. Applied Clay Mineralogy. Occurrences, Processing and Application of Kaolins, Bentonites, Palygorskitesepiolite and Common Clays. (2007).
- [2] C. Nkoumbou, A. Njoya, D.Njoya, C. Grosbois, D. Njopwouo, J. Yvon, F. Martin. Kaolin from Mayouom (Western Cameroon): Industrial suitability evaluation. Applied Clay Science, **43**, [1], 118-124 (2009).
- [3] G.E.Ekosse. Kaolin deposits and occurrences in Africa: Geology, mineralogy and utilization. Applied Clay Science **50**, [2], 212-236 (2010).
- [4] N.J. Saikia, D.J.Bharali, P.Sengupta, D.Bordoloi, R.L.Goswamee, P.C.Saikia, P.C.Borthakur. Characterization, beneficiation and utilization of a kaolinite clay from Assam, India. Applied Clay Science **24**, 93-103 (2003).
- [5] R. Asmatulu. Removal of the discoloring contaminants of east georgia Kaolin clay and its dewatering. Turkish J. Eng. Env. Sci. **26**, 447- 453 (2002).
- [6] C. Cameselle. M. Pazos, I. Vázquez, F. Moscoso, M. A. Sanromán. Electrokinetic Bleaching of Kaolin Clay, 6th Symposium on Electrokinetic Remediation, Vigo, España, 133-134. (2007).

OBTENCIÓN DE SÍLICA GEL FUNCIONALIZADA CON ÁCIDOS HÚMICOS Y SU UTILIZACIÓN EN LA EXTRACCIÓN DE COBRE (II)

Amayrani Avalos Guillén
Silvia Nieto Velázquez
Carlos Andrés Galán Vidal
María Elena Páez Hernández*¹

INTRODUCCIÓN

El cobre es un metal pesado contaminante del manto acuífero como consecuencia de los desechos generados por la limpieza de metales y baños de chapado, elaboración de papel, pulpa e industria de fertilizantes. La cantidad de Cu(II) que provoca daños en la ingesta es de 1 mg/L de agua potable, causando hemocromatosis, daño gastrointestinal y su acumulación en el hígado y en riñones [1].

Para la eliminación de éste y otros iones metálicos se han implementado diferentes métodos como precipitación, intercambio iónico, ósmosis inversa, sedimentación, etc., los cuales pueden resultar costosos [2, 3]. Por ello, el desarrollo de métodos para la eliminación de iones metálicos de medios acuosos ha sido objeto de diversas investigaciones. En este sentido, las técnicas de extracción en fase sólida han resultado ser de las más aceptadas debido a sus altos rendimientos y a que permite la desorción de forma práctica. Sin embargo, es un proceso muy complejo en el que variables como pH, temperatura y tiempo de contacto son de vital importancia [3].

Un ejemplo de un material adsorbente que cumple con las características para la sorción de iones metálicos son los materiales silíceos mesoporosos, los cuales presentan gran área superficial específica, gran volumen de poro, así como estabilidad mecánica y térmica. Otra ventaja es el hecho de que la superficie de este material puede modificarse incorporándole grupos funcionales orgánicos, originando materiales híbridos mesoporosos funcionales con estabilidad y

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Área Académica de Química. Carretera Pachuca–Tulancingo Km 4.5, Colonia Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo, C.P. 42184. Tel.: +52 (771) 7172000, ext. 2217, e-mail: paezh@uaeh.edu.mx.

selectividad diferente a la de la sílica [3]. Para lograr este tipo de materiales se han buscado moléculas que interaccionen con facilidad con metales; es por ello que la comunidad científica ha puesto gran atención en los Ácidos Húmicos (AH). Estas macromoléculas presentes en suelo, turbas, océanos y aguas dulces son excelentes dosificadores de nutrientes esenciales, vitaminas y elementos traza para plantas y suelo, y presentan una gran capacidad de retención y movilización de metales [4].

Existen estudios que muestran que los AH tienen una gran afinidad por diversos metales, entre los que destacan plomo y cobre [5]. Por esta razón, en este trabajo se busca la creación de un material híbrido basado en sílica gel y ácidos húmicos que permita la extracción del ion metálico Cu(II) en un porcentaje elevado.

EXPERIMENTACIÓN

Extracción de AH [6]

La muestra de suelo proveniente de “El chivito”, Tulancingo, Hgo, se preparó pulverizando y homogenizando las partículas de la muestra, se secó a 60° por 2 horas y se tamizó en mallas de 1 y 2 mm a fin de eliminar impurezas.

Se extrajeron los AH tomando muestras de 15 g de suelo que se pusieron en contacto y agitación con 120mL de una solución de NaOH y $\text{Na}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ a $\text{pH} \approx 13$, por 30 min. La mezcla se dejó reposar por 24 horas resguarda de la luz solar para evitar su descomposición. La solución resultante se filtró con papel filtro Whatman No. 42 para separar las sustancias húmicas; posteriormente se agregó HCl para separar los AH de los AF, centrifugando y filtrando la solución resultante con membranas de 0.22 μm (Millipore, GVHP). Los AHs obtenidos se secaron a 60° por 2.5 hrs.

Caracterización de AH

Para caracterizar el AH extraído, se determinó su acidez total (valoración indirecta por el método del $\text{Ba}(\text{OH})_2$), grupos carboxílicos (valoración indirecta por el método del $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) y grupos hidroxilo fenólicos (por diferencia entre los grupos anteriores) [7] y análisis elemental. Mediante un análisis espectrofotométrico se calculó el porcentaje de aromaticidad, el peso molecular promedio y el grado de humificación [8].

Funcionalización de sílice con AH

Método I. La funcionalización de la sílice se llevó a cabo empleando disoluciones de AH a diferentes concentraciones: 1000 ppm (SiO-AH₁₀₀₀) y 2000 ppm (SiO-AH₂₀₀₀). Cada solución se puso en contacto con sílice en proporción 0.1 g_{sílice}:1 ml_{AH} por 15 minutos; posteriormente el sólido se decantó y lavó, para finalmente secar en la estufa por 15 minutos a 60°C [9].

Método II. Para la funcionalización por esta metodología primero se realizó la activación de la sílice, colocando 3 g de SiO₂ en un matraz bola a la que se le añadieron 40 mL de HCl 3 mol L⁻¹. El sistema fue sometido a reflujo por 8 horas para posteriormente separarla y lavar el sólido (sílice) con agua desionizada. Finalmente, la sílica así activada (SiO-H) se secó por 15 horas a 150°C [10]. Siguiendo la técnica de Vrancken y colaboradores [11], los 3 g de SiO-H se pusieron en contacto con 50 mL de una solución de APTMS (3-Aminopropil-trimetoxisilano) al 6% v/v en tolueno, dejando en agitación por 2 horas a temperatura ambiente. La solución fue centrifugada para separar el nuevo producto (SiO-APTMS) y fue secada por 12 horas. Posteriormente se añadieron 3 g de SiO-APTMS a 50 mL de la disolución de AH, manteniendo el pH entre 7-8 y dejando agitación por 20 horas a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, la SiO-APTMS- AH fue puesta en contacto con 50 mL de una solución de anhídrido acético al 5% v/v en DMF y agitada por 8 horas. Finalmente se secó en la estufa durante 6 horas, lavada con acetona y agua desionizada previo a su secado en estufa por 12 horas (SiO-APTMS- AH_{Est}).

Siguiendo el mismo procedimiento, se prepararon sílicas empleando disoluciones de diferente concentración de AH, obteniendo los siguientes sólidos: SiO-APTMS-AH_{2000-Est} y SiO-APTMS-AH_{4000-Est}.

Extracción de Cu(II) con los materiales funcionalizados, iniciales e intermedios

Para los estudios de extracción se pusieron en contacto 10 mL de una disolución de 5 ppm de Cu(II) con 500 mg de cada una de las sílices (SiO-AH₁₀₀₀, SiO-AH₂₀₀₀, SiO-APTMS, SiO-APTMS-AH, SiO-APTMS-AH_{Estabilizada (2000 y 4000)} y SiO₂). Se mantuvieron en agitación continua por 2 horas y se centrifugaron a 2000 rpm para separar ambas fases.

El Cu(II) en solución se determinó en un espectrofotómetro de absorción atómica SpectrAA880 (Varian).

Para evaluar cómo se ve afectada la extracción con el pH de la disolución acuosa, se prepararon disoluciones de 5 ppm de Cu(II) ajustándose en cada una el valor de pH a 2, 4, 6, 8 y 9. Posteriormente se procedió a la extracción tal y como se describió anteriormente.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Extracción y caracterización de AH

Con las pruebas de caracterización, se corroboró que la extracción de AH se realizó con éxito; los resultados más relevantes se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados de la caracterización de los AH.

<i>Característica</i>	<i>Resultado</i>
Extracción	3.61% de AH extraído del suelo tratado
Acidez total	9.23 meq g ⁻¹ (%DER=4.26)
Determinación de grupos carboxílicos	3.52 meq g ⁻¹ (%DER=3.29)
Determinación de grupos hidroxilo fenólicos	5.70 meq g ⁻¹ (%DER=4.51)
Análisis elemental	%C 33.69, %H 2.37, %N 0.33, %O 63.60
Porcentaje de aromaticidad	67.32%
Peso molecular	5324.24 g mol ⁻¹
Grado de humificación	2.37%

Los resultados mostrados son característicos de los ácidos húmicos, comprobando así la obtención exitosa del mismo.

Funcionalización de la sílica con el AH

El espectro IR del silanol activado con OH (Figura 1) muestra una banda amplia entre 3000 y 3800 cm⁻¹ correspondiente a las vibraciones de estiramiento de los silanoles de superficie, una banda ancha e intensa alrededor de 1100 cm⁻¹ característica de la vibración de estiramiento antisimétrica del Si-O-Si, así como la vibración en el plano del enlace Si-O a 1669 cm⁻¹. Es interesante notar que la sílica funcionalizada con ácidos húmicos posee además de las propias de la sílica, las que

tiene el ácido húmico: bandas de absorción de los grupos O-H de alcoholes, fenoles y ácidos carboxílicos, y los N-H de aminas o amidas entre 3650 y 3100 cm^{-1} , así como las vibraciones de alargamiento de C-H de alcanos, cicloalcanos y alquenos de 3100 a 2840 cm^{-1} ; las vibraciones de C=O que se encuentran en los ácidos carboxílicos, cetonas, ésteres, quinonas y amidas de los compuestos alifáticos y aromáticos se encuentran entre 1710 y 1585 cm^{-1} , mientras que las bandas de flexión dentro del plano de 1440 - 1330 cm^{-1} se deben a la presencia de =C- H de alquenos, de O-H de alcoholes, ácidos carboxílicos y ésteres. Lo anterior comprueba su funcionalización, es decir, la presencia de ácidos húmicos en la sílica.

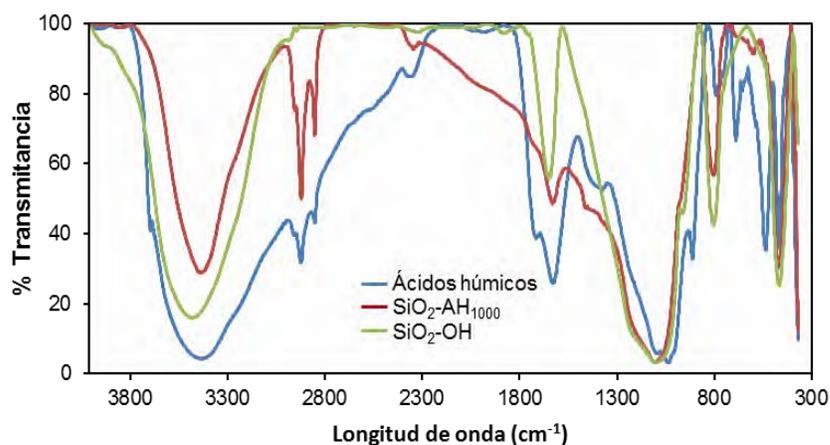


Figura 1. Espectro IR del ácido húmico extraído, la sílica y la sílica funcionalizada. Obtenidos en pastilla de KBr en un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo Spectrum GX.

Extracción de Cu (II) con sílice funcionalizada

Se realizó la extracción de Cu(II) con las diferentes sílicas funcionalizadas, así como con los materiales de partida e intermedios. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

En la tabla puede observarse la sílica por sí misma a pH 6 extrae al cobre gracias a la interacción del silanol desprotonado con el catión cobre. Sin embargo, como se verá más adelante, esta interacción depende de forma importante del pH. En cuanto a los métodos empleados para la funcionalización es posible ver que el II parecería ser más efectivo, en tanto que los sólidos obtenidos extraen un mayor porcentaje de cobre y los resultados tienen una menor dispersión.

Tabla 2. Porcentajes de extracción de cobre con los diferentes sólidos obtenidos durante la funcionalización.

Método	Sólido	% $E_{Cu(II)}$ ^{1,2}
I y II	SiO ₂	91.99 (0.01) ³
I	SiO-AH ₁₀₀₀	16.89 (39.60)
	SiO-AH ₂₀₀₀	56.08 (8.52)
II	SiO-H	8.33 (0.01)
	SiO-APTMS	88.08 (9.63)
	SiO-APTMS-AH ₂₀₀₀	93.08 (2.90)
	SiO-APTMS-AH ₂₀₀₀ -Est	94.28 (0.17)

¹ Extracciones realizadas conforme a la sección 4 de la Experimentación, a pH 6.

² Desviación estándar relativa en porcentaje (%) entre paréntesis

³ Material de partida en ambos métodos

A fin de conocer cuál era el sólido responsable de la remoción de cobre de disoluciones acuosas, se hicieron pruebas de extracción de Cu(II) con cada material resultante de las etapas de la funcionalización. Así, el silanol protonado (SiO-H) pudo extraer sólo alrededor del 8% (el cobre se ve repelido por la superficie cargada positivamente), mientras que cuando la sílica se trata con AMPTMS, la extracción aumenta gracias a los grupos aminos incorporados a la sílice. Posteriormente, este porcentaje de extracción vuelve a incrementarse cuando los ácidos húmicos se retienen en el material, removiendo más del 90% del cobre inicial. Esto último además se mejora en cuanto a la dispersión de los resultados, cuando el material se estabiliza desactivando el residuo de silanol haciendo el “tapado de extremos” o *end-capping* (estabilización).

Efecto de la variación de pH en la extracción de Cu(II).

De acuerdo con los resultados de la Figura 2, puede observarse que cuando las sílices sin funcionalizar están a valores de pH ácidos, no pueden extraer de manera efectiva al cobre debido a una repulsión de cargas. Sin embargo, cuando el pH aumenta a 6, la extracción se favorece debido a la desprotonación del material y a su atracción hacia el ion metálico. No obstante lo anterior, cuando el pH aumenta, la presencia de los hidroxocomplejos de cobre vuelve a disminuir la interacción entre el material y el sorbato.

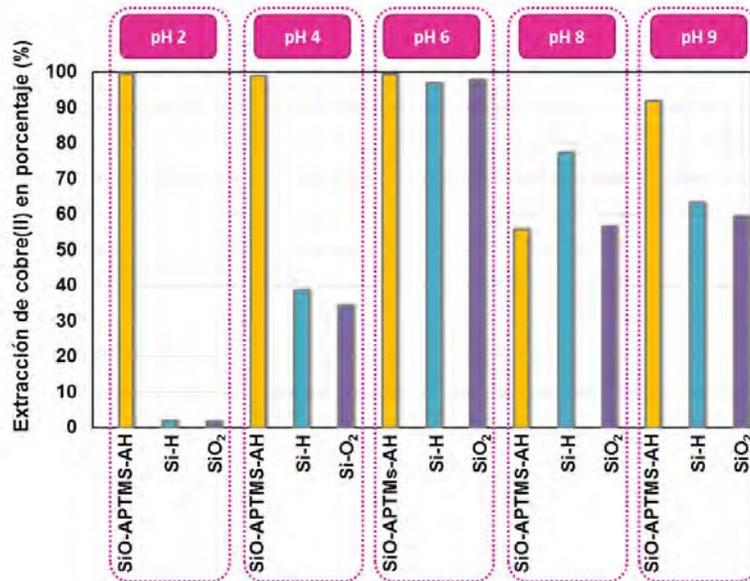


Figura 2. Extracción de cobre con la sílica funcionalizada por el método II, y su comparación con otras sílicas.

Gracias a la presencia de los ácidos húmicos en su composición, el material SiO-APTMS- AH es capaz de extraer satisfactoriamente al cobre aún a valores de pH ácidos. Esto es una ventaja con respecto a la utilización de la sílica sin funcionalizar, ya que el comportamiento de este material funcionalizado no depende el pH en el intervalo de pH de 2 a 6.

Es importante hacer notar, sin embargo, que a pH's mayores a 6, el material se vuelve inestable gracias a que el ácido húmico se solubiliza en el medio acuoso por lo que el porcentaje de extracción vuelve a disminuir a valores en los que la propia sílica extrae a los hidroxocomplejos de cobre.

Funcionalización de sílica con disoluciones de concentración diferente y su influencia en la extracción de cobre(II)

Para esta evaluación se prepararon dos materiales funcionalizados partiendo de disoluciones de AH con concentraciones diferentes de ácidos húmicos (2000 y 4000 ppm). Con estos experimentos se muestra que al aumentar la concentración de AH, más sustancia húmica quedará retenida en la sílica y con ello el nuevo material híbrido logrará retener completamente al Cu(II) que se encuentra en la solución.

CONCLUSIONES

Se confirmó que los AH pueden servir como agentes quelantes al mostrar que cuando se usan para funcionalizar sílica, se obtienen materiales que son útiles para la extracción de cobre(II).

También fue posible comprobar que para la funcionalización es necesario agregar un grupo orgánico (APTMS) para que haya un mejor “anclaje” de los AH; con ello se lograron porcentajes de extracción mayores al 90% de cobre de disoluciones acuosas. Aunque el material desarrollado es inestable a partir de pH 8, tiene la ventaja de poder usarse a valores de pH ácidos, a diferencia de la sílica sin tratar. Esto permitiría su utilización en la extracción de iones metálicos de disoluciones que resultaran de una digestión ácida, algo común en hidrometalurgia.

REFERENCIAS

- [1] Y. Li, Y. Qinyan, G. Baoyu. *Journal of Hazardous Materials*. **178**, 455-461 (2010).
- [2] R. O. Cañizares-Villanueva. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, **42**, 131-143 (2000).
- [3] N. Bensacia, I. Fechete, S. Moulay, O. Hulea, A. Boos, F. Garin. *Comptes Rendus Chimie*. **17**, 869-880 (2014).
- [4] R. A. Alvarez Puebla, C. Valenzuela-Calahorro, J. J. Garrido. *Langmuir*. **20**, 3657-3664 (2004).
- [5] S. Nieto-Velázquez, M. Pacheco-Hernández, C. A. Galán-Vidal, M. E. Páez- Hernández. *Información Tecnológica*. **22**, 45-54 (2011).
- [6] D. Garcia, J. Cegarra, M. P. Bernal, A. Communications in Soil Science and Plant Analysis., **24**, 1481-1494 (2008).
- [7] E.M. Perdue. Acidic functional groups of humic substances, en *Humic Substances in Soil, Sediment and Water. Geochemistry, Isolation, and Characterization*. Wiley/Interscience, New York (1985).
- [8] F.J. Stevenson, *Humus Chemistry*, 2a ed., Wiley/Inter-science, New York (1992).
- [9] L. K. Koopal, Y. Yang, A. J. Minnaard, P. M. Theunissen, W. H. Van Riemsdijk. *Colloids and Surfaces*. **141**, 385–395 (1998).
- [10] G. Islas, J. A. Rodríguez, M. E. Páez-Hernández, S. Corona-Avenidaño, A. Rojas-Hernández, E. Barrado. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. **39**, 658-665 (2016).
- [11] K.C Vrancken, K Possemiers, P Van Der Voort, E. F Vansant. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. **98**, 235-241 (1995)

ELIMINACIÓN DE Cr (VI) CON RESIDUOS DE PIMIENTA MODIFICADA POR XANTACION Y PARTÍCULAS DE Fe (II)

Bryan Jiménez Pineda
Gabriela Roa Morales*
Patricia Balderas Hernández
Carlos E Barrera Díaz
Julian Cruz Olivares¹

INTRODUCCIÓN

El cromo es uno de los elementos que pueden encontrarse en las aguas residuales procedentes de una gran variedad de procesos industriales. Su toxicidad depende del estado de oxidación y concentración en que se encuentra, siendo de especial importancia la eliminación de cromo hexavalente presente en los sistemas acuosos, por su reconocido carácter cancerígeno. La población está expuesta al cromo (en general al cromo III) por el consumo de alimentos, agua potable y el aire que contiene la inhalación de productos químicos. La ingesta diaria promedio del aire, del agua y los alimentos se estima entre 0.2 a 0.4 microgramos [1].

El tratamiento fisicoquímico utilizado más frecuentemente para el tratamiento de efluentes contaminados con Cr (VI) consta de dos etapas: en la primera, Cr (VI) es reducido a Cr (III) mediante el empleo de agentes químicos como FeSO_4 , FeCl_2 , NaHSO_3 o SO_2 . En una segunda etapa, el Cr (III) formado es precipitado como $\text{Cr}(\text{OH})_3$ o Cr_2O_3 [2].

Por lo que una alternativa para eliminación de metales ha sido la adsorción con diferentes materias, siendo los materiales de bajo costo una de las alternativas viables pues son de origen lignocelulosico y generalmente son residuos sólidos.

La pimienta de Jamaica es nativa de América y la zona de Cuetzalan en Puebla, se encuentra preferentemente en la vertiente del Golfo desde el norte de Puebla y Veracruz hasta el

¹ Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable (CCIQS) UAEM-UNAM. Carretera Toluca-Atlacomulco, Km 14.5. C.P. 50200, Toluca, Estado de México, México. groam@uaemex.mx , gabyroam@gmail.com

sur de la Península de Yucatán y planicie costera del sureste, en los estados de Campeche, Chiapas, Michoacán, Morelia, Oaxaca, Puebla, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Yucatán, Veracruz y Tabasco [3].

México, es uno de sus hábitats naturales, la producción regional fluctúa entre 250 y 300 toneladas de pimienta seca.

Modificación por reacción de Xantación [4].

La Xantación ha sido utilizada anteriormente en la celulosa y el aserrín, las algas pardas marinas, y la quitina aumentando cada vez la capacidad de adsorción en todos los casos. Este estudio describe la modificación de la cáscara de pimienta de Jamaica desengrasado por reacción de xantación para mejorar la eficiencia de absorción de Cr

(VI) en solución acuosa que tenga una reacción por la obtención de xantatos en condiciones de reacción simple con CS₂.

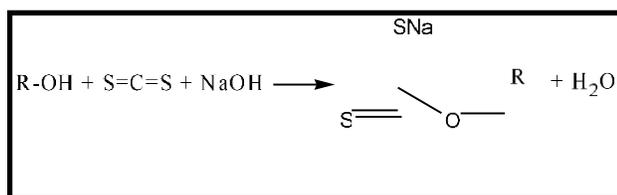


Figura 1: Reacción de xantación.

Lo que se conoce en química orgánica, como la reacción de Chugaev la cual es una reacción que implica la extracción de agua a partir de alcoholes produciendo alquenos. El producto intermedio de la reacción es una molécula de xantano. Por razones de estabilidad energética, el electrón sobrante del átomo de azufre forma un enlace covalente con el metano e igual el potasio con el iodo. El xantato intermedio es transformado en un tioéster [4].

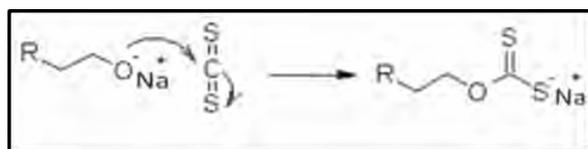


Figura 2: Formación de tioéster.

EXPERIMENTACIÓN

Lavado de los residuos de pimienta

A 100 g de residuos de Pimienta se les trato con 1000 mL de un sistema de H₂O/CH₃OH (40%:60%), con 500 mL de este sistema se realizó un primer lavado al vacío con la ayuda de un matraz Kitasato y un embudo buchner a los residuos de Pimienta para después dejarlos secar en una estufa por 24 horas a 70°C.

Modificación de los Residuos de Pimienta por la Reacción de Xantación

A los 100 g de residuos de pimienta ya secos se depositaron en un vaso de precipitados de 1 L para realizar la modificación mediante una reacción de Xantacion la cual es la primera etapa de la reacción de Chugaev; se le agrego 800 mL de NaOH (fermont) 3 mol/L y se dejó reaccionar por 3 horas con agitación; en este paso se extrae el H⁺ acido de los alcoholes secundarios que existen en los diferentes compuestos de los que está constituida la Pimienta, después se habrá que colocar un solvente que sea afín a Cr, para familiarizar el electrodo con el Cr(VI).

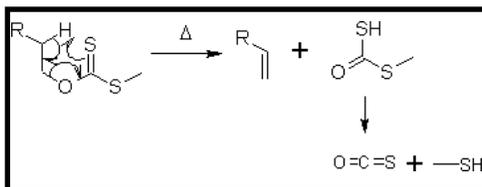


Figura 3: Mecanismo para la reacción de xantación

Preparación de partículas de Hierro [3,5]:

Partículas de hierro fueron sintetizadas mediante 250 mL de disolución de FeSO₄ (Fermont) 0.01M, solución la cual fue mezclada con 15 mL de 0.1mol/L disolución de NaOH (Fermont) y 60 mL 0.25 mL de NaBH₄ (fermont). La suspensión resultante se filtró a vacío y el sólido se lavó con acetona (fermont) de grado reactivo.

Preparación de partículas de hierro soportadas en la pimienta:

10 g de catalizador soportado en el material de tipo orgánico (Pimienta dioica L. Merrill) (fueron colocados en un matraz Erlenmeyer de 500 mL y mezclados con 250 mL de una solución 0.01 mol/L de FeSO₄ 24 h bajo agitación continua a temperatura ambiente y atmósfera de N₂. A continuación se añadieron 10 mL de solución de NaOH 0.1 mol/L y la suspensión resultante se

mantuvo bajo agitación durante más de media hora. Después de este tiempo, 60 mL de disolución de NaBH_4 0.25 mol/L se añadieron gradualmente a fin de obtener las partículas metálicas a través de la reacción de reducción química. Después el sólido fue filtrado a vacío y lavado con acetona de grado reactivo y etiquetado y etiquetado.

Sistemas de contacto tipo Batch

Preparación de 50 mL de una solución de Cr (VI) con una concentración de 25 mg/L. llevar a un pH=4. Agregar 10 mg del material bioadsorbente. Realizar una agitación de 200 rpm durante diferentes intervalos de tiempo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 4 a) se presenta el espectro de absorción de Cr (VI), en se observa una banda de absorción con un máximo de absorbancia en 366 nm y con la serie de espectros de absorción se elaboró una curva de calibración con tendencia lineal (figura 4 b)

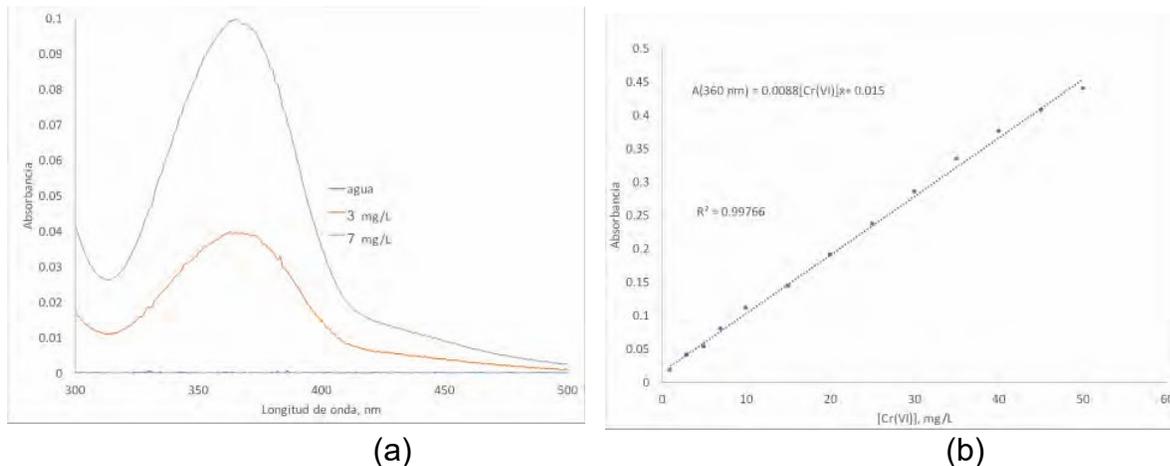


Figura 4. Espectro de absorción de Cr(VI) a diferentes concentraciones. Gráfica de curva de calibración de Cr de 0 a 50 mg L⁻¹.

En la Figura 5 se muestra el espectro de absorción de la técnica de difenil carbazida obtenida a partir de las pruebas de contacto tipo Bach, esta es correspondiente a la experimentación con pimienta sin modificar como podemos observar la máxima absorción de la pimienta es en un lapso de entre 105-110 minutos, siendo este el tiempo del cual se mantuvo en contacto la pimienta con la solución de cromo de 1 mg L⁻¹, a una agitación constante.

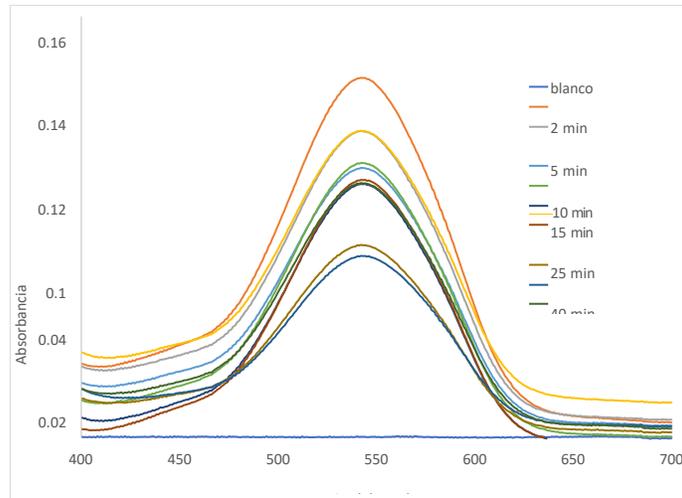


Figura 5. Espectros de Absorción obtenidos por medio de UV, de la solución de Cromo (VI) en contacto con pimienta sin modificar, la concentración de Cr es de 1 mg L^{-1} que está en contacto con 10 mg de material bioadsorbente

Como se puede observar en la Figura 6 se presenta el grafico de concentración de Cr (VI) en función del tiempo obtenidos de la familia de espectros de la Figura 6, esto con la utilización de pimienta sin modificar en un tiempo total de 115 minutos.

En la figura 6, se presenta el grafico de concentración de Cr (VI) en función del tiempo con la pimienta sin modificar. Se puede observar que el tiempo aumenta proporcionalmente a la remoción

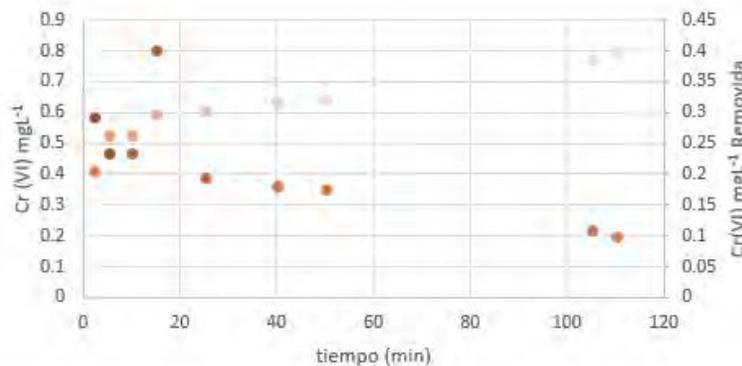


Figura 6. Gráfica obtenida por medio de adsorción de Cr (VI) con pimienta sin modificar. La concentración de la solución de Cr fue de 1 mg L^{-1} , que estuvo en contacto con 10 mg de pimienta a diferentes lapsos de tiempo.

Se procedió a modificar la pimienta y aplicar la misma metodología para la remoción de Cr (VI).

En la figura 7, se presenta el grafico de concentración de Cr (VI) en función del tiempo con la pimienta modificada por la reacción de xantación y con partículas de Fe. Se observa que el porcentaje de remoción de Cromo incrementa considerablemente y el tiempo de esta remoción disminuyo considerablemente.

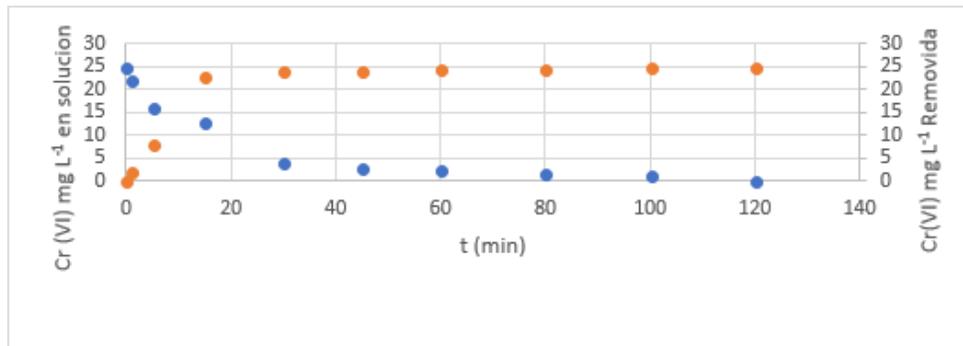


Figura 7. Grafica obtenida por medio de adsorción de Cr (VI) con la pimienta modificada. La concentración de la solución de Cr fue de 1 mg L^{-1} , que estuvo en contacto con 10 mg de pimienta a diferentes lapsos de tiempo.

CONCLUSIONES

- Este trabajo muestra que la remoción del Cr (VI) con pimienta modificada es notablemente mejor que con la pimienta sin modificar. En efecto se encontró que los efectos de concentración del Cr (VI) en solución disminuyeron considerablemente al estar en contacto con la pimienta modificada, además de que el tiempo que se encontró resulto ser mayor para lograr una alta remoción del Cr (VI) en solución con la pimienta sin modificar.
- Se muestra en el trabajo que las partículas de Fe son de gran utilidad para la remoción de Cr (VI) presente en las soluciones.
- Con la pimienta modificada se redujo cerca del 100 % de Cr (VI) en comparación con la pimienta sin modificar.

REFERENCIAS

- [1] Norma Oficial Mexicana NOM-002-SEMARNAT-1996. Consultado en línea: (8-febrero- 2018) <http://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/3295/1/nom-002-semarnat-1996.pdf>
- [2] R. Ramos Olmos, R. Sepúlveda Marqués, F. Villalobos Moreto. El agua en el medio ambiente: muestreo y análisis. UABC, México (2003).
- [3] T. Torres Blancas, G. Roa Morales, C. Barrera Díaz, F. Ureña Nuñez, J. Cruz Olivares, P. Balderas Hernandez, R. Natividad. Ozonation of Indigo Carmine Enhanced by Fe/Pimenta
- [4] N. Tapia “Adsorción y Biosorción, mecanismo y principales modelos para describir el fenómeno de biosorción”, Proyecto Palma PUCP, 3,5 y 6 de Agosto, 35-50. (2002) dioica L. Merrill Particles. International Journal of Photoenergy, 55-66 (2015).
- [5] W. Jiang, M. Pelaez, D. D. Dionysiou, M. H. Entezari, D. Tsoutsou, K. O’Shea. Chromium (VI) removal by maghemite nanoparticles. Chemical Engineering Journal **222**, 527-533 (2013)

REMOCIÓN Y BIOADSORCIÓN DE Cr(VI) EN SOLUCIÓN ACUOSA UTILIZANDO RESIDUOS DE CÁSCARAS DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*)

Samantha Itzel Marín Velázquez¹
Cindy Belén Gutiérrez Rebollar²
Gabriela Roa Morales^{1*}
Patricia Balderas Hernández¹
Carlos E Barrera Díaz¹
Julián Cruz Olivares¹

INTRODUCCIÓN

La disponibilidad de recurso hídrico de calidad es un factor de gran interés científico, debido a la gran carga de contaminantes de origen antrópico presente en las fuentes de agua, siendo los metales, de especial atención por la bioacumulación y la toxicidad que ocasiona a las especies vivas [1].

El cromo, se ubica como uno de los elementos más contaminantes, además de no ser química ni biológicamente degradable, por tanto, puede permanecer indefinidamente en el medio ambiente. Este metal presenta dos estados de oxidación: Cr (III) y Cr (VI). El primero de estos, aunque no es de carácter tóxico, mediante un proceso de óxido- reducción, se puede convertir en Cr (VI), el cual, es considerado tóxico, por ser capaz de absorberse, a través de la piel, provocando efectos negativos en la salud [2].

Se han usado diversas tecnologías para la remoción de iones metálicos en aguas residuales, entre las que destacan: precipitación química, intercambio iónico, membranas, extracción con solventes, osmosis inversa, entre otras; sin embargo, muchas son ineficientes, además de involucrar un gran uso de químicos, generando grandes cantidades de residuos

¹ Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM) Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable (CCIQS) UNAM-UAEM Área de Química Analítica. Laboratorio de Química Ambiental. Carretera Km. 14.5, Unidad San Cayetano, Toluca - Atlacomulco, 50200 Toluca de Lerdo, México. Tel: 01 722 276 6610. e-mail: gabyroam@gmail.com, samybellamy@gmail.com

² Universidad Univer Milenium Av. Miguel Hidalgo 500 Col. 5 de Mayo, C.P. 50000. Toluca, Estado de México. Tel. (722) 167 30 30 e-mail: starly93@hotmail.es.

contaminantes [3].

Además de la formación de lodos que tienen que estar sujetos a restricciones o la baja eficiencia del proceso en el caso de las membranas; por lo cual la disposición y almacenamiento de los desechos y lodos formados durante los procesos se convierte en un problema mayor a resolver [4].

Así ha ganado importancia la bioadsorción, usando adsorbentes de origen orgánico, como residuos agrícolas, microorganismos y biomasa de algas, para el tratamiento de aguas residuales, ya que es posible el uso de materiales más económicos, con igual eficiencia. La eficiencia del proceso, se basa en la presencia de grupos funcionales en la superficie de estos biomateriales, afines por los iones metálicos; estos grupos incluyen carboxilo, hidroxilo, sulfoxidos y amida [5].

La Organización Mundial de la Salud recomienda desde 1958 una concentración máxima de 0.05 mg/L de Cr (VI) en el agua de consumo [6]

La Agencia de protección al medio ambiente (en inglés, *Environmental Protection Agency*) (EPA) ha establecido un límite de 100 mg de Cr(III) y Cr(VI) por litro de agua

potable (ATSDR, 2000). Dosis letal cincuenta (DL50) oral-ratón es de 180 mg/k dosis letal total (DLT) oral-ratón es de 1,600 mg/k [7].

El peligro que el cromo hexavalente causa a los humanos y al medio ambiente, ha provocado que las autoridades ambientales exijan controles más estrictos sobre los límites permisibles de este metal, en México la modificación a la NOM-127-SSA1-1997 regula los límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización, en donde para el cromo total se tiene 0.05 mg/L y en las descargas de aguas residuales, en la NOM-001-SEMARNAT-1996 y NOM-002-SEMARNAT-1996, donde para el cromo hexavalente el Límite Máximo Permissible (LMP) promedio al mes es de 0.5 mg/L y el LMP promedio al día es 0.75 mg/L [8].

En la actualidad se ha generado la gran necesidad de producir métodos económicos y eficaces para la remoción de Cr (VI) en las aguas residuales, pero se ha encontrado que muchos de estos procesos son ineficaces pues implican altos costos para porcentajes relativamente bajos en recuperación [9].

En este trabajo se presenta la remoción de Cr (VI) utilizando residuos de cáscaras de maracuyá, donde se propone evaluar la eficiencia de la remoción en medio acuoso de esta especie química altamente tóxica.

EXPERIMENTACIÓN

Todas las soluciones se prepararon con agua deionizada $18.2 \text{ m}^2 \cdot \text{kg} \cdot \text{s}^{-3} \cdot \text{A}^{-2}$

Curva de calibración

Se preparó una disolución madre, estándar a partir $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (Sigma-Aldrich) a una concentración de 500 mg/mL y una disolución difenilcarbazona (marca Reagenzein merck) (5 mg/mL). Se realizaron diluciones a diferentes concentraciones para leer en el espectrofotómetro ultravioleta y determinar absorbancia y concentración.

Disolución de cromo (VI).

Disolución madre de cromo hexavalente (500 mg/L). Se pesaron 282.88 mg de dicromato de potasio, los cuales se secaron a una temperatura de 105°C durante una hora, posteriormente se llevó a aforo de 100 mL con agua deionizada.

En el desarrollo de la investigación se prepararon disoluciones de cromo hexavalente a 12 mg/L, a partir de una solución madre de 500 mg/L de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$.(Sigma-Aldrich).

Obtención de biomasa.

Se pesaron 10 mg de residuos de cáscaras de maracuyá secos, se reservaron en tubos de ensayo con tapa rosca en lugar fresco y libre de humedad.

Pruebas de contacto.

Se pesaron 10 mg de residuos de cáscaras de maracuyá (*Passiflora edulis*), se le adicionó un volumen de disolución sintética de Cr (VI) (10 mL) de concentración de 12 mg/L, se dejó agitando dicha mezcla durante hora y media, posteriormente se dejó precipitar la cáscara de maracuyá (*Passiflora edulis*) durante treinta horas y posterior a ello se determinó la concentración del cromo (VI) en la solución a través del método de la difenilcarbazona y espectrometría UV/VIS a 540 nm.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1 Curva de calibración de Cr (VI) con la difenilcarbazida.

La figura 1 muestra la curva de calibración; 12 mg/L de dicromato de potasio (Cr (VI)) en medio ácido y difenilcarbazida (DFC), a una longitud de onda de 540 nm. Se observa que la absorbancia aumenta proporcionalmente con respecto a la concentración, lo cual indica que existe una linealidad en la curva de calibrado con una confiabilidad del 99.81%.

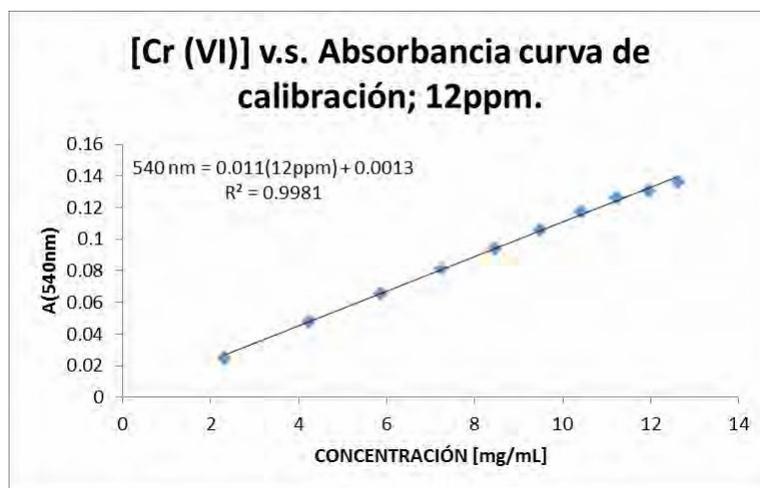


Figura 1. Curva de calibración Cr (VI) por el método de DFC.

En la figura 2 se presenta la familia de espectros de absorción del Cr (VI) antes del tratamiento con cáscara de maracuyá a diferentes concentraciones y la máxima fue de 12 mg/L, donde se observan dos bandas de absorción en los máximos de absorbancia en 390 y 250 nm que son típicas del Cr_2O_7^- . Es importante mencionar que existe otra banda que está muy cercana a 210 nm

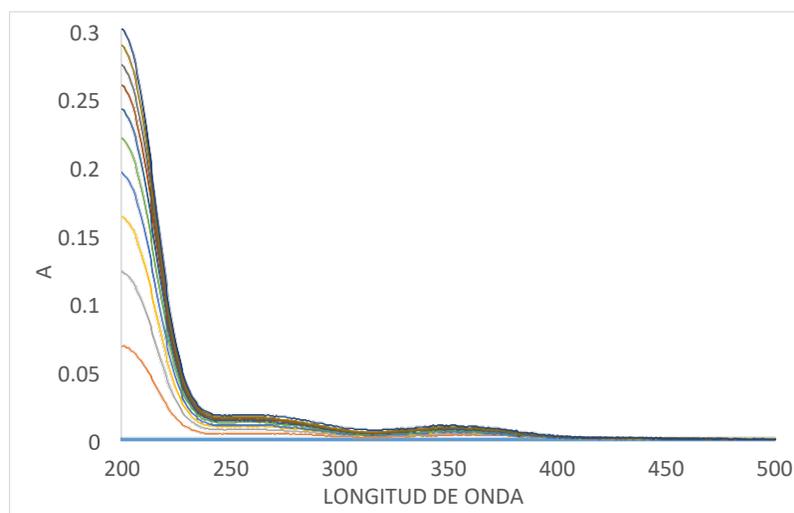
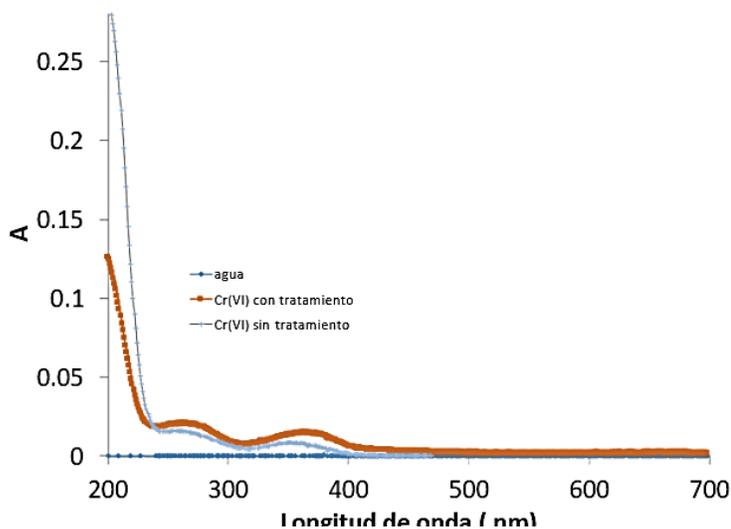


Figura 2 (a) Espectro de absorción de Cr (VI) sin tratamiento, espectrofotometría UV-VIS.

En la Figura 3 se presentan los espectros de absorción de una disolución de Cr (VI) antes y después del tratamiento de contacto con la cáscara de maracuyá. Se pesaron 10 mg de residuos de maracuya y se pusieron en contacto con 10 mL de una disolución de Cr

(VI) a 12 mg/L a diferentes tiempos. De acuerdo a los datos obtenidos, observamos que existe un incremento de la absorbancia en la disolución tratada con cáscara de maracuyá en las dos longitudes de onda en 390 y 250 nm. Y se presenta un decremento en la banda cercana a 200 nm.

Figura 3 Espectro de absorción de Cr (VI) con tratamiento (contacto con cáscara de maracuyá),



espectrofotometría UV-VIS.

Lo anterior indica que es posible que el Cr (VI) oxide la materia lignocelulósica del maracuya y posiblemente el Cr (III) forme un complejo que absorba en la misma longitud de onda del Cr (VI). Por lo que se realizó la cuantificación de Cr (VI) con DFC, y se obtuvo que hay una remoción del 12.34% de Cr (VI) en la solución.

CONCLUSIONES

Los residuos de cáscaras de maracuyá son biomateriales que son eficaces para la remoción de metales tóxicos como el cromo hexavalente, por lo cual pueden ser utilizados para la descontaminación de aquellos ambientes en los que esté presente.

- Utilizando técnicas analíticas de caracterización y cuantificación

(espectrofotometría UV-VIS) se puede determinar la concentración de cromo hexavalente a diferentes concentraciones en soluciones acuosa.

- La presencia de la cáscara de maracuyá (*Passiflora edulis*) favorece la reducción de cromo hexavalente a cromo trivalente, ya que de acuerdo a la cuantificación de la concentración de cromo hexavalente se tiene una remoción del 12.34%. Esto se debe a que la composición de la cáscara de maracuyá, la cual en su gran mayoría posee azúcares reductores, de manera que se favorece el proceso de óxido-reducción de la especie hexavalente de cromo.

AGRADECIMIENTOS

Al Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEM-UNAM, que nos brindó sus instalaciones, y apoyo para poder desarrollar este proyecto.

REFERENCIAS

- [1] A. R. Netzahuatl, G. Pineda, B. E. Barragan, E. Cristiani. Evaluación de la cáscara del aguacate para la remoción de cromo hexavalente y cromo total de soluciones acuosas. Revista CENIC. Ciencias Químicas, **41**, 1-10 (2010).
- [2] C. Tejada, A. Villabona, M. Jiménez. Remoción de cromo hexavalente sobre residuos de cacao pretratados químicamente. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica. **20**, 139-147 (2017).
- [3] Secretaría de Economía. Norma Mexicana NMX-AA-044-SCFI-2014. Análisis de agua: medición de cromo hexavalente en aguas naturales, salinas, residuales y residuales tratadas – método de prueba (cancela a la NMX-AA-044-SCFI-2001). Diario Oficial de la Federación México (2015).
- [4] L. Ercilia Garcés, S. C. Coavas. Evaluación de la capacidad de adsorción en la cáscara de naranja (*Citrus Sinensis*) modificada con quitosano para la remoción de Cr (VI) en aguas residuales. Universidad de Cartagena. Colombia (2012).
- [5] A. Baeza, A. de J. García. Principios de electroquímica analítica. Documentos de apoyo, UNAM. México (2011).
- [6] R. Hernández. Construcción, implementación y calibración de potenciómetro dedicado a mediciones voltamétricas. Tecnológico de Monterrey. Saltillo. México (2013).
- [7] L. Marina Carvajal, S. Turbay, L. M. Álvarez, A. Rodríguez, M. Álvarez, K. Bonilla, S. Restrepo, M. Parra. Propiedades funcionales y nutricionales de seis especies de *Passiflora* (Passifloraceae) del departamento del Huila. Colombia. Caldasia. Colombia. (2014).
- [8] C. Rosales. Estudio de la remoción de Cr (VI) presente en soluciones acuosas empleando un silicato natural y modificado. Universidad Autónoma del Estado de México. (2014).
- [9] M. Singanan, A. Abebaw, V. Singanan, Studies on the removal of hexavalent chromium from industrial wastewater by using biomaterials, Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry, **6**, [11], 2557-2564 (2007).

ANÁLISIS DE ESTEROIDES EN AGUA RESIDUAL MEDIANTE EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPE) Y CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS (GC-MS)

Francisco Rojo Callejas*,
Natalia Rubio Hernández¹

INTRODUCCIÓN

En el planeta se generan diferentes contaminantes, en su mayoría, son investigados para evaluar y evitar el daño a los ecosistemas. No todos son analizados, algunos son ignorados debido al poco conocimiento que se tiene sobre ellos. Un claro ejemplo de lo antes mencionado son los esteroides.

Este trabajo presenta una metodología optimizada para la extracción y el análisis cualitativo y cuantitativo de cuatro hormonas esteroidales de tipo sexual: 17β -estradiol y estriol de origen natural, etinilestradiol y mestranol de origen sintético, en aguas residuales de distintos canales del Valle del Mezquital, Hidalgo.

Basados en la información obtenida de la literatura, algunos autores sugieren que, para los esteroides, debido a que en aguas residuales se encuentran en concentraciones bajas, del orden de ppb ($\mu\text{g/L}$), sean la Extracción en fase sólida (SPE) en conjunto con la Cromatografía de gases acoplada a Espectrometría de masas (GC-MS) las técnicas para el análisis de estos compuestos. La primera nos permite extraer los analitos de interés de las muestras y la segunda como una técnica sensible que permite separar y detectar a bajas concentraciones los analitos en mezclas complejas.

¹ Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, División de Estudios de Posgrado, Laboratorio 102. Circuito Exterior S/N, Coyoacán, Cd. Universitaria, 04510 Ciudad de México, CDMX. frojo@unam.mx, natyrh_9@hotmail.com

EXPERIMENTACIÓN

Las muestras fueron tomadas de cuatro canales del Valle del Mezquital, Hidalgo: Dendhó, Sifón Bajai, Tlamaco-Juandhó y Canal Cerro de la Cruz.

El primer paso consistió en centrifugar 10 mL de cada muestra por 10 minutos a 6000 rpm para separar los residuos sólidos.

Para la SPE, se utilizaron cartuchos de C18 de 3 mL de capacidad, acondicionados con 10 mL de metanol y 10 mL de agua. Las muestras se pasaron a un flujo de 4 a 5 mL por minuto, el paso de lavado se realizó con mezcla de agua-metanol (90-10 % v/v), se hicieron dos eluciones; la primera con 5 mL de metanol-agua (90-10 % v/v) y la segunda con 5 mL de metanol. El eluato líquido fue evaporado a sequedad en atmósfera de Nitrógeno hasta obtener un sólido blanco que fue redissuelto en Dimetil formamida (DMF). Se tomaron 100 μ L de esta solución, que se colocaron en un vial de reacción, se le adicionó 50 μ L de la mezcla de reactivos sililantes, N,O-Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA) y Trimetilclorosilano (TMCS) 9-1 % v/v para formar el derivado sililado de cada esteroide y así, obtener un mejor análisis por GC-MS. El vial de la reacción perfectamente cerrado se coloca en una cámara de teflón, y se induce la reacción dentro de un horno de microondas a máxima potencia de 700 Watts por 3 minutos.

Una vez pasado el tiempo de reacción, se analizó en un Cromatógrafo de gases Hewlett-Packard modelo 5890 Series II Plus con detector selectivo de masas modelo Agilent

5973N. El modo de inyección fue "splitless", con un flujo de helio como fase móvil de

0.500 mL/min. La temperatura del inyector y la línea de transferencia fueron de 280°C, y la del horno con un programa de temperatura inicial de 240°C por 3 minutos, con un gradiente de 4°C/min hasta 280°C.

Los barridos se realizaron por "SCAN" en un intervalo de masas de 50 a 500 uma., y los barridos por Monitoreo de iones (SIM) fueron para los iones específicos de cada analito (Tabla 1).

Tabla 1. Iones seleccionados para barrido por SIM.

Compuesto	Iones
Estradiol	231, 285, 416
Mestranol	174, 227, 367
Etinilestradiol	196, 285, 425
Estriol	311, 386, 414

El análisis cuantitativo se realizó por estándar externo. La curva de calibración con cinco puntos de concentraciones: 0, 10, 20, 40 y 60 ppb ($\mu\text{g/L}$), cada disolución fue inyectada por triplicado y de manera creciente para tener un total de 15 puntos (Gráfica 1).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se analizaron los resultados de cada analito basados en la curva de calibración por estándar externo. Se calculó el coeficiente de correlación R^2 para evaluar la linealidad entre los puntos y la Desviación Estándar Relativa (DER%) para conocer la dispersión de cada punto de la curva.

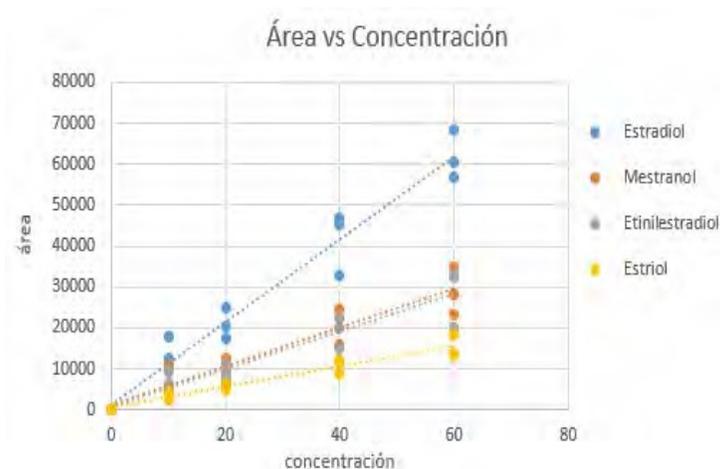


Figura 1. Curva de calibración por estándar externo de los cuatro esteroides.

Las curvas de calibración presentaron un comportamiento lineal, con una DER % promedio de todos los datos de 10.1164, al ser menor del 20% se puede concluir que los resultados de la concentración de los analitos a este nivel de ultra-trazas son confiables (Tabla 2).

Tabla 2. Resultados de linealidad y dispersión de datos de la curva de calibración.

Compuesto	r^2	DER %
Estradiol	0.9632	5.5909
Mestranol	0.9121	9.3362
Etinilestradio 	0.9022	15.4467
Estriol	0.9357	10.0917

De las cuatro muestras analizadas, los resultados nos muestran que en tres de ellas están presentes los cuatro analitos estudiados (Figuras 2 – 5). El orden de elución se presenta en la Tabla 3.

Tabla 3. Orden de elución.

Compuesto	tr (min)			
	Tlamaco-Juandhó	Dendhó	Sifón Bajai	Canal cerro de la cruz
Estradiol	5.628	5.668	ND	5.606
Mestranol	6.282	6.31	ND	6.26
Etinilestradio 	6.821	6.849	ND	6.794
Estriol	7.703	7.739	ND	7.679

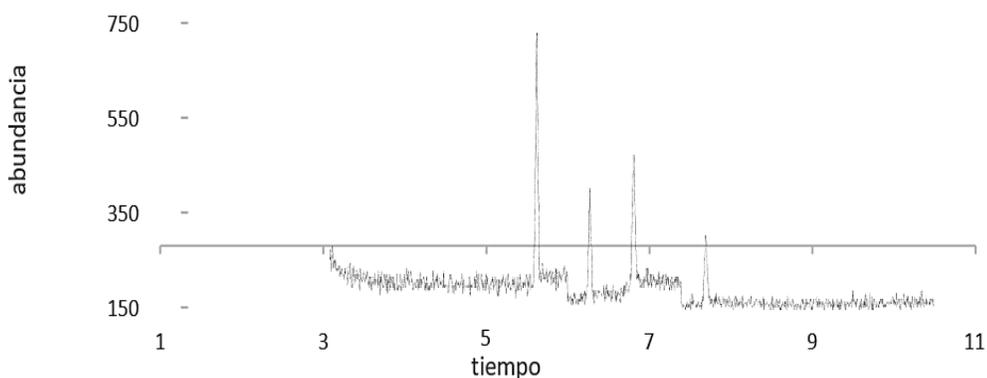


Figura 2. Cromatograma obtenido de la muestra de Tlamaco-Juandhó.

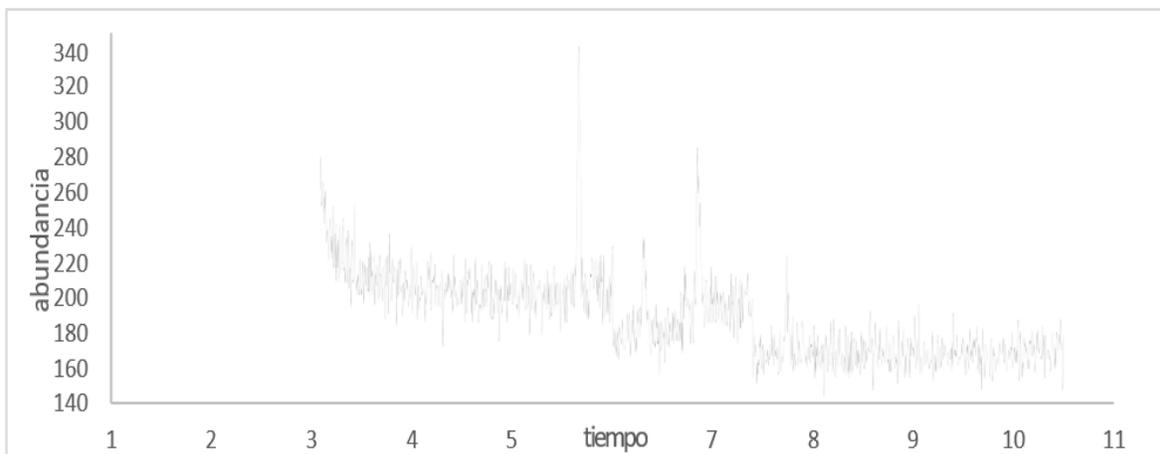


Figura 3. Cromatograma obtenido de la muestra de Dendhó.

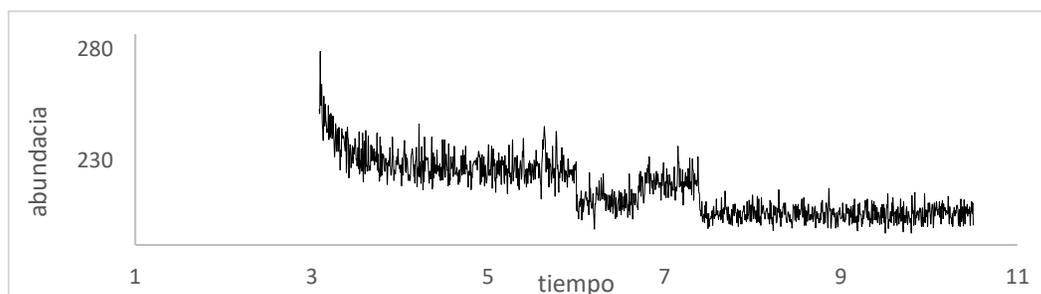


Figura 4. Cromatograma obtenido de la muestra de Sifón Bajai.

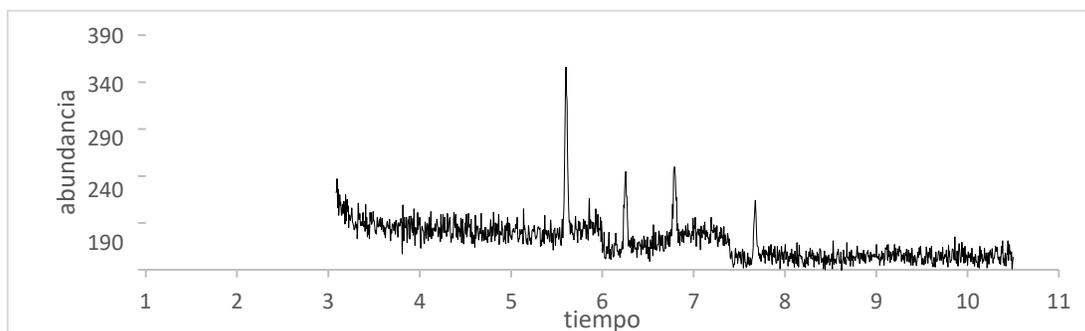


Figura 5. Cromatograma obtenido de la muestra de canal Cerro de la Cruz.

En tres de las muestras se observó que el estradiol es el que tuvo una mayor respuesta. Al analizar el segundo extracto con metanol no se encontró ninguno de los compuestos por lo que con la primera elución se logró extraer la mayor cantidad de los analitos.

En el Sifón Bajai no se encontraron cantidades que pudieran ser detectadas por el equipo, sin embargo, es posible que exista la presencia de alguno de los esteroides en concentraciones por

debajo de su límite de detección.

Se muestra el cromatograma obtenido únicamente para confirmar la inexistencia de los analitos en esta muestra.

La abundancia de cada analito es diferente en cada muestra-Se determinó la concentración de estradiol, mestranol, etinilestradiol y estriol en cada uno de los canales (Tabla 4).

Tabla 4. Concentración de los esteroides presentes en los cuatro canales estudiados.

Compuesto	Concentración (ppb)			
	Tlamaco-Juandhó	Dendhó	Sifón Bajai	CanalCerro de la Cruz
Estradiol	9.6632	2.6880	0	3.0835
Mestranol	7.0460	2.0924	0	1.1110
Etinilestradiol	11.2104	4.0386	0	3.1201
Estriol	14.2487	1.9734	0	2.4928

Se puede observar que la muestra de Tlamaco-Juandhó es la que contiene mayor concentración de los esteroides; las otras dos muestras, Dendhó y canal Cerro de la Cruz, los contienen en menor cantidad.

El etinilestradiol, que es un esteroide sintético utilizado en píldoras anticonceptivas, es el que se presenta en mayor concentración en las muestras. Mientras que el mestranol, también esteroide sintético, usado en anticonceptivos, es el que está presente en concentraciones más bajas. El estradiol y el estriol son de origen natural y producidos por la mujer, presentan concentraciones relativamente significativas dentro de las tres muestras.

CONCLUSIONES

La selección del programa de temperaturas en el análisis cromatográfico permitió determinar los analitos sililados con resolución mayor a 1,5; aunado a esto la mezcla de reactivos sililantes presentó picos cromatográficos simétricos y definidos. El tiempo de reacción con microondas fue menor comparado con otras formas de energía como, por ejemplo, con calentamiento en parrilla.

Con la SPE se lograron extraer los analitos de interés libres de interferencias, con selectividad y especificidad. Esta técnica no requiere grandes gastos de disolventes.

La metodología implementada permite cuantificar estos esteroides a niveles de mg/L con costos muy bajos.

Con los resultados obtenidos se puede concluir que el agua residual contiene una cantidad considerable de esteroides, se sabe que esta agua es utilizada para riego en la región del Valle del Mezquital sin ningún tratamiento previo. Esto puede afectar la salud humana y la de los animales, ya que son compuestos capaces de crear un desequilibrio hormonal, son, evidentemente, de los disruptores endócrinos que necesitan un monitoreo más amplio.

REFERENCIAS

- [1] Andrási, N., Helenkár, A., Vasantis-Zsigrai, A., Záray, G., & Monlár-Perl, I. The role of the acquisition methods in the analysis of natural and synthetic steroids and cholic acids by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **1218**, 8264- 8272, (2011).
- [2] Contreras, J., Meza, R., Siebe, C., Rodríguez, S., López, Y., Castillo, G., Eisenberg, J. Health risks from exposure to untreated wastewater used for irrigation in the Mezquital Valley, Mexico. *Water Research*, **123**, 834-850, (2017).
- [3] Hennion, M.-C. Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, **856**, 3-54, (1999).
- [4] Jiménez, B., Chávez, A., Barrios, E., & Pérez, R. Impact and potential of reused water in the Mezquital Valley. *Water* **21**, 34-36, (2000).
- [5] López de Alda María, Barceló Damiá. Review of analytical methods for the determination of estrogens progestogens in waste water. *Frrsenius J Anal Chem*, **371**, 437-447, (2001).
- [6] Orata, F. Derivatization Reactions and Reagents for Gas Chromatography Analysis. *Advanced Gas Chromatography - Progress in Agricultural, Biomedical and Industrial Applications*. Dr. Mustafa Ali Mohd, (2012). IntechOpen, DOI: 10.5772/33098. Available from: <https://www.intechopen.com/books/advanced-gas-chromatography-progress-in-agricultural-biomedical-and-industrial-applications/derivatization-reactions-and-reagents-for-gas-chromatography-analysis>
- [7] Rojas, E., & Rojo, F. (s.f.). Análisis de esteroides por GC-MS, utilizando microondas como fuente de energía en la reacción de sililación.
- [8] Siemensa, J., Huscheka, G., Siebeb, C., & Kaupenjohanna, M. Concentrations and mobility of human pharmaceuticals in the world's largest wastewater irrigation system, Mexico City–Mezquital Valley. *Water Research*, **42**, 2124 – 2134, (2008).

APORTE ANALÍTICO AL CONOCIMIENTO DE LAS PROPIEDADES QUÍMICAS DE LA BETANINA

Alan Eduardo Silva Tovar¹
Gerardo Reyes García¹
Edgar Islas Ortiz¹
Margarita Reyes Salas²
Octavio Reyes Salas^{1*}

INTRODUCCIÓN

Las betalaínas son pigmentos hidrosolubles nitrogenados cuyas tonalidades van de rojos violáceos a amarillos intensos; se encuentran exclusivamente en vegetales del orden de las cariofilales en los cuales se excluye la presencia de antocianinas. Esta diferencia es aprovechada para trazar relaciones taxonómicas entre los diferentes grupos vegetales. Al igual que muchos colorantes de origen natural, las betalaínas no son estables y por ende tampoco lo es el color que proveen; su estabilidad depende de diversos factores entre los que se encuentran el oxígeno, la luz, el pH, la presencia de iones metálicos, la temperatura, la actividad del agua, entre otros [1,2,3].

El ácido betalámico es el cromóforo común de todas las betalaínas, que se clasifican en betacianinas (rojas violáceas) y betaxantinas (amarillas); la diferencia entre unas y otras es la naturaleza del residuo unido al ácido betalámico: las betacianinas son los conjugados imina del cromóforo con la ciclo-3-(3,4-dihidroxifenil)-L-alanina (ciclo-DOPA), en tanto que las betaxantinas corresponden a una conjugación aminoácido o amina. Existen diversas fuentes de las cuales se pueden extraer betalaínas, la más importante de ellas es la raíz de betabel (*Beta vulgaris*), la cual produce un rendimiento de hasta 20 mg de pigmento por gramo de raíz, otra fuente importante de betalaínas son los frutos de la familia de las cactáceas sobre todo en los géneros *Opuntia* e *Hylocereus*; por otra parte, una fuente importante de betaxantinas se encuentra en el cardo suizo [4,5].

¹ Universidad Nacional Autónoma de México. Depto. de Química Analítica. Laboratorio 114 DEPg. Facultad de Química. Ciudad Universitaria. México D.F. Tel. (55) 56223787 Octavio_reyessalas@yahoo.de.

² Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Geología. Av. Universidad No. 3000, Coyoacán, Cd. Universitaria, C. P. 04510 Ciudad de México, CDMX.

La raíz de betabel contiene tanto betacianinas (betanina) como betaxantinas (*vulgaxantin I*), de las cuales la primera se encuentra en una mayor concentración (0.04-0.21%) que la segunda (0.02-0.14%), es por ello la característica coloración roja del betabel. La extracción de betanina del betabel se realiza principalmente por extracción sólido-líquido; se han utilizado medios acuosos, así como hidroalcohólicos y se ha visto que el rendimiento de la extracción es independiente del pH.

En la Figura 1 se muestra la estructura de la betanina donde puede observarse que tiene varias dobles ligaduras conjugadas, grupos ácidos carboxílicos, fenoles y aminas que permiten prever su capacidad química de reacción.

Como muchos otros pigmentos de origen natural, la betanina es capaz de formar diferentes complejos metálicos con diferentes metales tales como cobre, níquel, mercurio, calcio, europio y aluminio. Se cree que algunos de estos complejos preceden y favorecen la degradación de la betanina; sin embargo, se ha reportado también que estos compuestos han sido utilizados como un medio de favorecer la estabilidad del colorante [6,7].

Como ya se ha mencionado anteriormente existe evidencia de la formación de complejos de betanina. Mientras la mayoría de las referencias bibliográficas se limitan a la mera mención de estos compuestos o a su técnica de preparación, existe poca información sobre sus cualidades y parámetros fisicoquímicos e incluso si se calculan las diferentes constantes de formación de los complejos se da por hecho la estequiometría unitaria de dichos complejos.

Así pues, la contribución concreta de este trabajo será dar a conocer algunas de las propiedades químicas de la betanina (BET) que permitan su identificación y cuantificación en muestras diversas. Esto permitirá conocer el espectro real de posibilidades que ofrece este colorante, las cuales posteriormente podrán ser aplicadas.

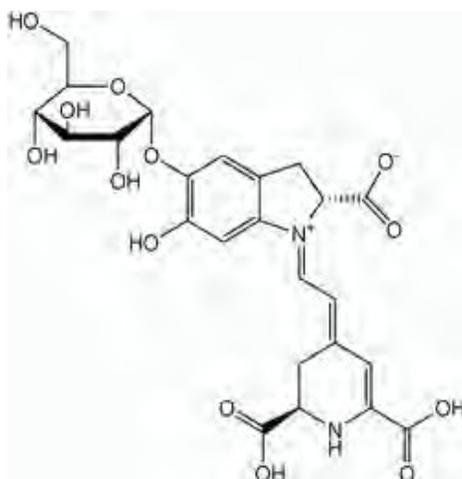


Figura 1. Estructura química de la betanina ($C_{24}H_{27}N_2O_{13}$). Identificación: E16: betanina roja; betalainina. Jugo de betanina roja: CAS #7659-95-2.

EXPERIMENTACIÓN

La muestra de betanina empleada se encontraba soportada en maltodextrina para estabilizarla, pues de otra forma, reacciona rápidamente al aire; dicha muestra fue solubilizada en un medio acuoso.

Para conocer las propiedades químicas de la betanina se realizaron diferentes titulaciones potenciométricas, en todas ellas se tomó un electrodo de plata-cloruro de plata como referencia, así mismo la diferencia de potencial se registró utilizando un potenciómetro analógico modelo 827 pH lab/ Metrohm.

La primera titulación potenciométrica fue una neutralización con hidróxido de sodio, a partir del pH propio de la betanina (ácido); igualmente se tituló potenciométricamente la betanina con Cu^{2+} ; la titulación se inició con un pH de 7, impuesto por adición de hidróxido de sodio.

Posteriormente se llevó a cabo una serie de análisis polarográficos usando el programa Computrace y el analizador polarográfico Metrohm 797 VA; en todos ellos se utilizó una disolución de acetato de amonio como electrolito soporte, además de fungir como amortiguador de pH a un valor de 7; se usó un electrodo de plata-cloruro de plata como referencia, así como un electrodo de platino como electrodo auxiliar; los barridos de potencial se realizaron entre 0.20 y -1.85 V, la

velocidad del barrido fue de 0.005 V/s (5 mV/s). Se efectuaron dos tipos diferentes de análisis polarográficos, el primero en polarografía clásica y el segundo en polarografía diferencial de impulso, con una amplitud de pulso de 0.05 V (50 mV); en ambos casos la velocidad de barrido fue de 0.005 V/s (5 mV/s).

En la primera serie de análisis se buscó conocer las diferentes señales que caractericen a la betanina en el medio elegido, estas señales podrían utilizarse posteriormente tanto para identificar, como para cuantificar la betanina, teniendo previamente una disolución patrón.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 2 se muestra un ejemplo de la curva de valoración de la betanina con NaOH estandarizada. Puede observarse un punto de equivalencia más o menos bien definido con un gasto de 202 micromol de sosa que corresponde al doble de las moles de betanina, por lo que puede asumirse que se valoran dos protones ácidos, muy probablemente los dos protones carboxílicos más libres. Se observa también, mal definido, otro punto de equivalencia con un gasto total cercano a los 300 micromoles de sosa, lo que implica que se valoraría también un fenol.

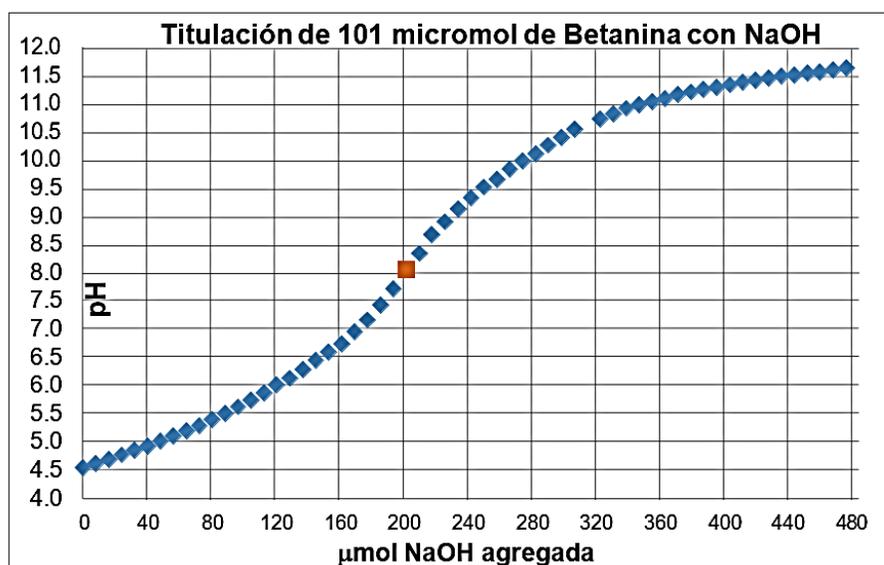


Figura 2. Titulación de betanina con NaOH.

A continuación, se muestra en la Figura 3 una curva típica de la valoración complejométrica de la betanina (BET) con Cu(II). El potencial de equilibrio fue medido con un electrodo de cobre respecto a una referencia de Ag/AgCl, 3 mol/L KCl. Se valoraron 52 micromol de betanina (5.0 mL de una disolución hecha con 0.9758 g de Betanina soportada en maltodextrina con un contenido del 14.7 % del colorante, disueltos en 25.0 mL). Al punto de equivalencia se gastaron entre 103 y 104 micromol de Cu(II) por lo que se infiere que el complejo formado tiene una estequiometría 2:1, cobre-BET.

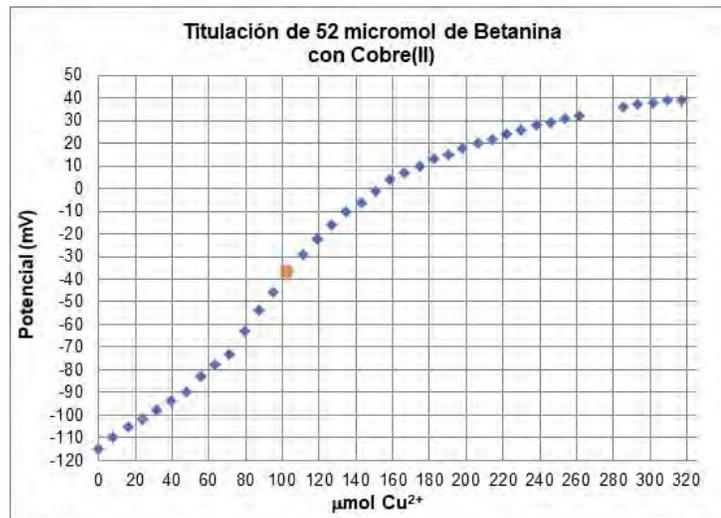


Figura 3. Valoración de 52 micromol de betanina con Cu(II).

Estudio polarográfico

En cuanto a la polarografía, los primeros resultados consisten en las polarografía de la betanina, mostrados a continuación en las figuras 4 y 5.

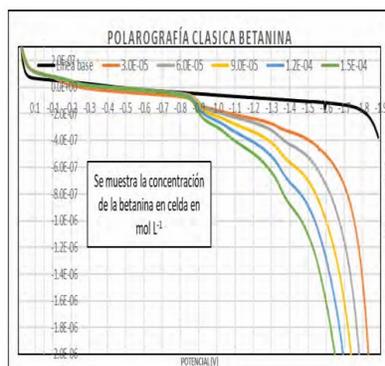


Figura 4. Polarografía clásica de Betanina

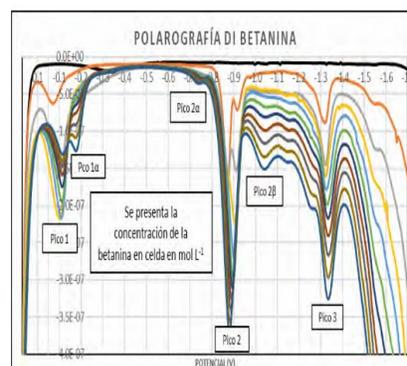


Figura 5. Polarografía diferencial de impulsos (DI) de Betanina

Estos polarogramas señalan en primer lugar la existencia de diferentes equilibrios redox presentes en la ventana de electroactividad del medio (acetato de amonio); los datos muestran en gran medida una marcada linealidad, en especial se toman en cuenta los datos del pico 2, a un potencial de -0.87 V, mostrados a continuación en la figura 6, cuya linealidad podría ser empleada para cuantificar la betanina.

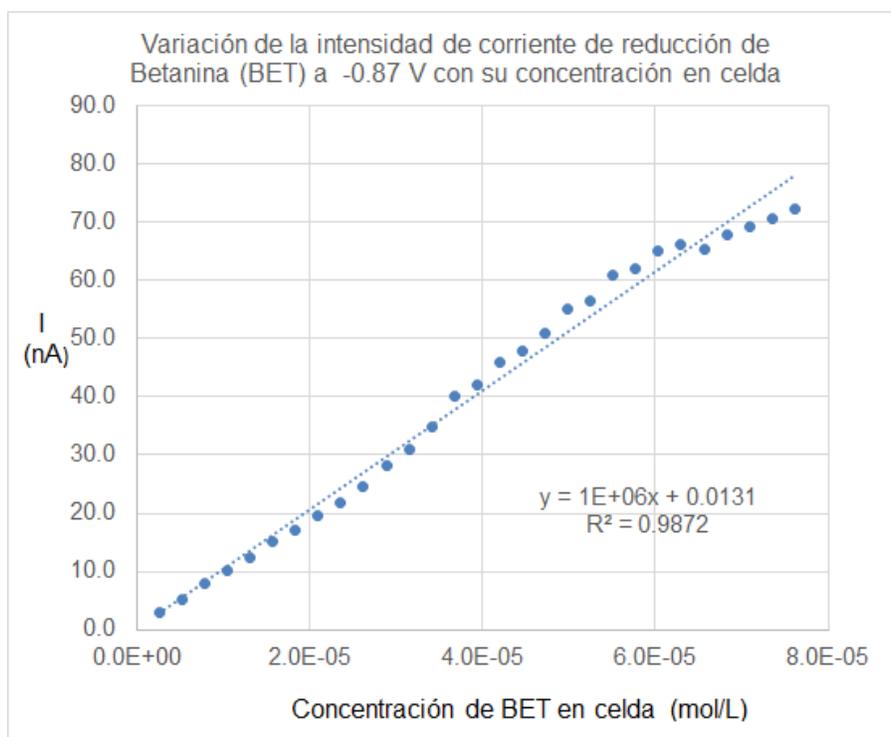


Figura 6. Variación de la corriente de reducción del pico a -0.712 V con la concentración de betanina (polarograma DI).

CONCLUSIONES

Se ha demostrado que la betanina puede preservarse soportada en maltodextrina, así mismo es posible observar que la betanina es cuantificable de forma confiable por medio de polarografía; dicho método debe ser perfeccionado. También se ha demostrado la presencia de un complejo entre la betanina y el Cu^{2+} de estequiometría 1:2 (Cu_2BET). Las tres propiedades químicas estudiadas de la betanina permiten considerar su cuantificación en muestras diversas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores del presente documento agradecen a la compañía Alteca S.A. la continua disponibilidad de apoyo a nuestro trabajo.

REFERENCIAS

- [1] H. Azeredo. International journal of food science & technology. **44**, [12] 2365-2376 (2009).
- [2] A. Gliszczyńska-Świątło, H. Szymusiak, & P. Malinowska. Food additives and contaminants. **23**, [11] 1079-1087 (2006).
- [3] J. H. Von Elbe, & E. L. Attoe. Food chemistry. **16**, [1] 49-67 (1985).
- [4] K. M. Herbach, F. C. Stintzing, & R. Carle. Journal of Food Science. **71**, [4] R41-R50 (2006).
- [5] L. C. P. Gonçalves, S. M. Da Silva, P. C. DeRose, R. A. Ando, & E. L. Bastos. PloS one. **8**, [9] (2013).
- [6] S. Wybraniec, K. Starzak, A. Skopińska, M. Szaleniec, J. Słupski, K. Mitka, & T. Michałowski. Food Science and Biotechnology. **22**, [2] 353-363 (2013).
- [7] N. Hettiarachchy, D. Muffett, E. Wedral. Eu. EP0200043 (C09B61/00//A23L1/275), 05 Dec1986. App. 86104839.5, 09 Apr 1986. 12p.

ALIMENTOS

DETERMINACIÓN ELECTROQUÍMICA DE CAFEÍNA EN EXTRACTO DE GRANOS DE CAFÉ VERDE

Ángel de Jesús Álvarez Romero¹
Gerardo Reyes García¹
Margarita Reyes Salas²
Edgar Islas Ortiz¹
Octavio Reyes Salas^{(1)*}

INTRODUCCIÓN

El café es la bebida producida a partir de las semillas tostadas de las bayas de los dos tipos principales de arbustos *Coffea arabica* (café arábigo) y *Coffea canephora* (café robusto) que pertenecen a la familia de las rubiáceas. El uso de las semillas o granos de café se inició en Etiopía, Egipto, Persia, Arabia y llegó hasta Constantinopla. Desde hace más de 2 siglos, el café se ha mantenido como una de las bebidas más populares del mundo. El café representa la mayor fuente de cafeína en la ingesta diaria, por lo cual es de gran interés el conocer las cantidades de este compuesto en el café, ya que afectarán a su calidad y riqueza.

El café verde es aquel grano de café que no ha sido sometido a un proceso de cocimiento o tostado como es la torrefacción; las cualidades del café verde pueden perdurar y acentuarse o disminuir en el café tostado y sus productos, según el tratamiento que se les dé. El contenido de cafeína en los granos de café verde puede ser considerado como un indicador de calidad que refleja tanto el origen botánico como el cuidado agrícola de las plantas de café. En efecto, el contenido de algunas sustancias en el café como el ácido clorogénico, la cafeína y los azúcares pueden ayudar a evaluar su calidad y origen botánico; por ejemplo, en general, el café arábigo contiene entre 0.9 y 1.3 % en materia seca de cafeína mientras que el robusta tiene entre 1.6 y 2.4 %.

¹ Universidad Nacional Autónoma de México. Depto. de Química Analítica. Laboratorio 114 DEPg. Facultad de Química. Ciudad Universitaria. México D.F. (55) 56223787. E-mail: oresal@unam.mx , Octavio_reyessalas@yahoo.de.

² Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Geología.

Esta variación puede ser debida a variaciones geográficas y climáticas o por el proceso al que es sometido el grano antes de su venta, por lo cual es de gran importancia tener un método para determinar de forma certera y sin muchas complicaciones este compuesto en el grano de café verde.

Por esta razón la cuantificación de cafeína en distintos productos de consumo diario es necesario; la cafeína es reconocida como el estimulador del sistema nervioso central más consumido en el mundo. Dentro de los métodos más utilizados para su detección y cuantificación se encuentra la cromatografía acoplada a un detector de UV-visible o IR, pero es un método generalmente más laborioso y de cierto costo, además de requerir que se purifique la muestra natural, por lo cual se han estado investigando alternativas más simples y baratas [1]. La cafeína es el nombre común de la 1,3,7-trimetilxantina, es la mejor estudiada de los granos de café, fue descubierta y aislada en 1819 por Friedrich Ferdinand Runge (estudio que realizó a petición de Johann Wolfgang von Goethe); es una sustancia que se encuentra de forma natural en al menos 63 tipos distintos de plantas, entre ellas el café; su concentración varía de forma sustancial dependiendo de la especie de café que se analice. Forma parte del grupo de las metilxantinas un tipo de alcaloides, junto con la teobromina, la teofilina y la para-xantina. En estado puro es un polvo blanco muy amargo con un punto de fusión de 236°C, pero sublima a 178°C. Posee un efecto farmacológico en el sistema nervioso central, el corazón, el sistema renal entre otros, no se acumula dentro del organismo y normalmente se excreta después de algunas horas de haberla consumido [2]. La cafeína puede ser benéfica en dosis bajas, pero el exceso de la misma puede llevar a trastornos y daños a la salud.

EXPERIMENTACIÓN

Las curvas de intensidad de corriente contra potencial del estudio electroquímico de la cafeína se trazaron usando el programa Voltmaster 4 versión 4.09 y el analizador polarográfico Voltalab 150 en conjunto con el stand MDE POL150 de Radiometer. Como electrodo de trabajo se utilizó el electrodo goteante de mercurio, como electrodo de referencia un electrodo de Ag/AgCl y como electrodo auxiliar un electrodo de platino.

Como patrón de referencia se empleó cafeína RA Aldrich de pureza mayor al 99.5 %. Para la extracción del analito de interés (cafeína) de las muestras de café, se partió de granos de café descascarillados, los cuales fueron finamente molidos. Después, se procedió a la extracción

utilizando un equipo Soxhlet y un cartucho de algodón; como disolvente se utilizó agua desionizada; se realizaron 25 extracciones.

Para la determinación de la cafeína en el extracto, se procedió a usar la polarografía de impulsos, para lo cual el extracto obtenido por medio del equipo Soxhlet se concentró y se llevó al aforo de 100.0 mL; este extracto se estudió utilizando K_3PO_4 0.5 (mol/L) como medio. Para aislar la cafeína, se procedió a su separación con cloroformo utilizando un embudo de separación y 4 extracciones de 10.0 ml cada una, estas fracciones se juntaron, se destiló el cloroformo y finalmente se procedió a sublimar la cafeína.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el estudio fundamental de la cafeína realizado por polarografía clásica, se observaron 2 señales (Figura 1), una señal en oxidación cerca de la barrera, pero ya que no aumenta con la concentración de cafeína en la celda se le atribuye a una adsorción en el electrodo; la segunda es una reducción alrededor de -1060mV esta curva se ve ligeramente deformada por lo cual sugeriría que el proceso puede tener problemas de cinética, pero que varía linealmente con la concentración de cafeína.

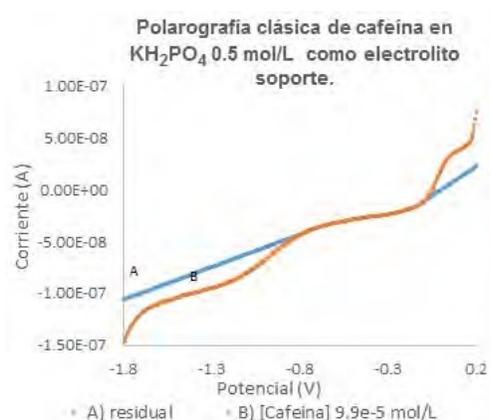


Figura1. Polarografía clásica de la adición de una disolución patrón de cafeína suficiente para obtener una concentración de 1×10^{-5} mol/L.

Con esta información se procedió a realizar adiciones patrón en una celda que contenía una alícuota del extracto de granos verde de café. Ahí se observó la señal de la cafeína rodeada de otras dos que parecen adsorciones.

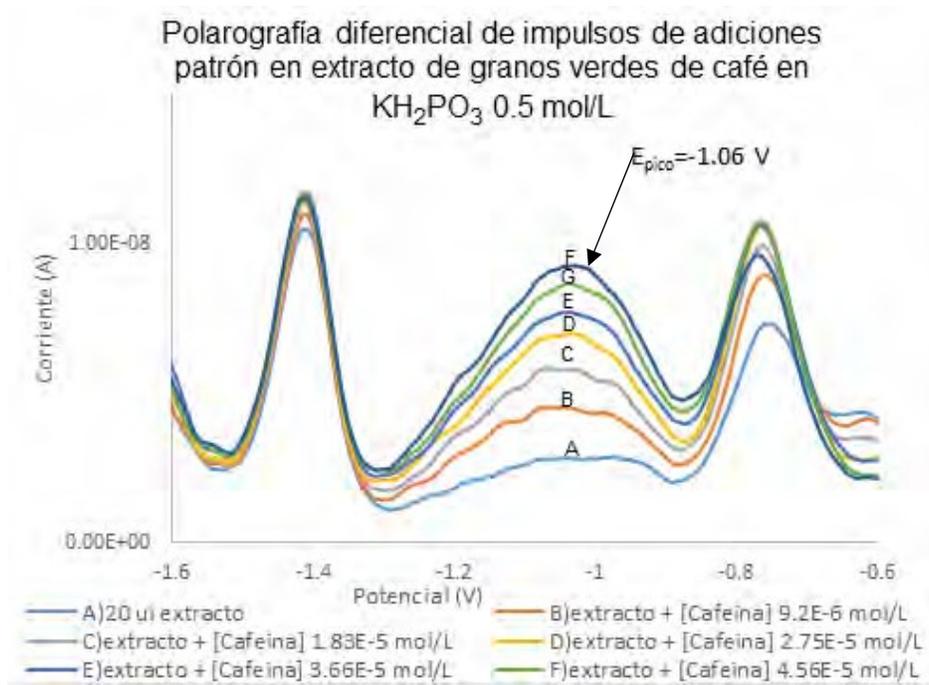


Figura 2. Polarografía diferencial de impulsos de las adiciones patrón de cafeína en una alícuota de extracto de granos verdes de café.

De las mediciones de estas curvas de la Figura 2 se obtuvo la siguiente curva de adiciones patrón (Figura 3) y los resultados de la tabla 1.

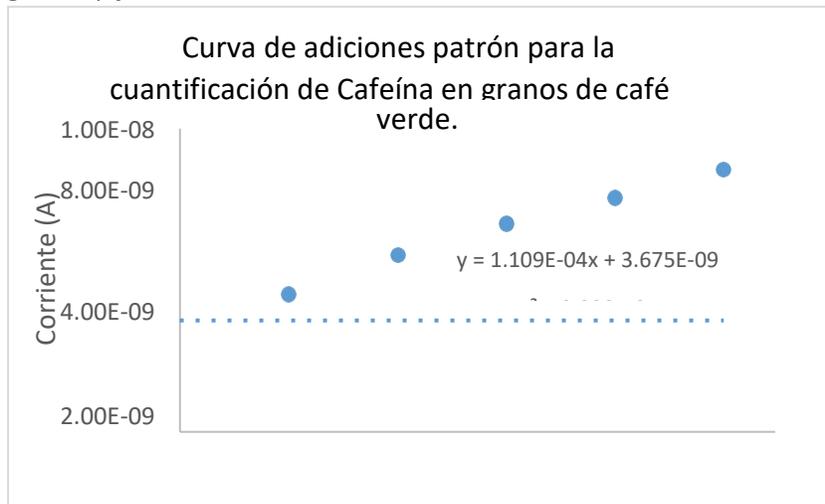


Figura 3. Curva de adiciones patrón de una disolución de cafeína 0.0092 mol/L en un extracto de granos verdes de café (mediciones realizadas a un potencial de -1.060 V).

Para el cálculo del límite de detección (LDD) y el límite de cuantificación (LDC) es

$$i_c = m(C_{Ni(II)}) + b ; \quad s_{i/c} = \sqrt{\frac{\sum (i_e - i_c)^2}{n-2}} ; \quad LDD = \frac{3s_{i/c}}{m} ; \quad LDC = \frac{10s_{i/c}}{m}$$

necesario evaluar la corriente calculada (i_c), así como obtener la desviación estándar de la recta (s/c):

Tabla 1. Resultados de la cuantificación de cafeína en granos de café verde.

LDD (mol/L) de cafeína	LDC (mol/L) de cafeína	% peso de cafeína en granos de café verde
1.82×10^{-5}	6.07×10^{-5}	2.79%

Se observó que el % de cafeína determinado en el extracto acuoso se encuentra dentro del intervalo reportado en la literatura, que es de 1-3% para la cafeína [3] en cafés verdes, lo cual nos indica una buena detección de la misma por este método. Las extracciones de cafeína por cloroformo, sin embargo, solo llegan al 1.09%; aún hay detalles técnicos para lograr aislar la cafeína de forma efectiva y evitar impurezas y pérdida de la misma en el proceso de extracción y la sublimación.

CONCLUSIONES

El porcentaje de cafeína determinado por medio de polarografía nos indica que la metodología electroquímica propuesta para la determinación de este analito es óptima, en el sentido que la cantidad obtenida es congruente con la estipulada en la bibliografía, de una forma relativamente sencilla, sin tener que recurrir a reactivos costosos o métodos complicados, de forma que podrá ser utilizada tanto para comparar la calidad de diferentes cafés, como para la determinación de los compuestos de una matriz más compleja como podrá ser un café ya preparado.

Los resultados experimentales muestran que de manera sencilla es posible cuantificar el contenido de cafeína por determinación amperométrica de la señal de reducción de la cafeína a un potencial de -1.060 V; en estas condiciones, el límite de detección encontrado es de 1.82×10^{-5} mol/L (3.5 mg/L). La aplicación de esta metodología electroquímica permitió determinar que el contenido de cafeína en extractos acuosos de granos de café verde biodinámico fue de 2.79 %, valor que se encuentra cerca del límite superior del contenido de cafeína reportado en otros trabajos sobre café verde.

Sin embargo, se debe seguir el trabajo para optimizar el método de obtención y purificación de la cafeína para aislarla del extracto acuoso.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los cafeticultores biodinámicos de Coatepec, Veracruz y a la cooperativa de café orgánico Maya Vinic de los Altos de Chiapas por el apoyo a este proyecto.

Se agradece también al CONACyT por la beca otorgada para los estudios de maestría de Gerardo Reyes García.

REFERENCIAS

- [1] Hec̃imovic', A. Belšćak-Cvitanovic', D. Horz'ic', D. Komes. Comparative study of polyphenols and caffeine in different varieties affected by the degree of roasting. *Food Chemistry* **129**, 991-1000 (2011).
- [2] Mumin, K.F. Akhter, Z. Abedin, Z. Hossain. Determination and characterization of caffeine in tea, coffee and soft drinks by SPE-HPLC. *Malaysian Journal of chemistry* **8**, 45-51 (2006).
- [3] A. Contreras. *Análisis comparado de Lípidos, ácido clorogénico y cafeína en grano de café verde (Coffea arabica) provenientes de cuatro estados de la república mexicana* (Tesis de licenciatura) universidad Nacional Autónoma de México, México (1996).

EVALUACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DE UN MÉTODO PARA ANÁLISIS DE PLAGUICIDAS EN PAPAYA Y AGUACATE MEDIANTE QUECHERS-CG-MS

Norma Susana Pano Farías¹
Silvia Guillermina Ceballos Magaña²
Roberto Muñiz Valencia³

INTRODUCCIÓN

Los plaguicidas se utilizan ampliamente para controlar las plagas que causan daños a los cultivos. De esta manera, la aplicación de estos compuestos pretende asegurar la cantidad y calidad de frutas y verduras requeridas para los consumidores. Sin embargo, esto puede conducir a la bioacumulación de residuos de plaguicidas. Por esta razón y teniendo en cuenta los efectos negativos de los plaguicidas sobre la salud humana, como genotoxicidad, inhibición de la actividad de la acetilcolinesterasa, toxicidad hepática y renal [1], el monitoreo de los plaguicidas es importante para asegurar una mínima exposición a ellos. Hoy en día la validación se considera una parte esencial de la evaluación del método; tiene el objetivo de determinar si un método analítico es adecuado y fiable para su propósito. Usando los datos producidos a partir de la validación del método se puede estimar la incertidumbre de éste. La incertidumbre es un parámetro importante para la evaluación del método, que se define como "un parámetro asociado con el resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que razonablemente podrían atribuirse al mensurando" [2].

¹ Centro de Innovación y Desarrollo Agroalimentario de Michoacán A.C., Carretera Antigua a Pátzcuaro Km 8.0, Estado de Michoacán, C.P. 58341. Tel: +52(443) 299-0181 Ext. 545.

² Universidad de Colima, Facultad de Ciencias, Bernal Díaz del Castillo 340, Estado de Colima, C.P. 28045. Tel/Fax: +52 (31) 23 16 11 351. e-mail: silvia_ceballos@uacol.mx

³ Universidad de Colima, Facultad de Ciencias Químicas, Carretera Colima-Coquimatlán km 9, Estado de Colima, C.P. 28400. Tel/Fax: +52 (31) 23 16 11 63.

La incertidumbre puede provenir de varias fuentes posibles, que están relacionadas con las diferentes etapas del método analítico. Las fuentes potenciales de incertidumbre son el muestreo, los efectos de la matriz, las incertidumbres del pesaje de muestras y equipo volumétrico, los valores de referencia, las aproximaciones y los supuestos incorporados en el método y procedimiento de medición y las variaciones al azar. Cada fuente de incertidumbre debe ser tratada independientemente para obtener su contribución a la incertidumbre global de un método analítico. En este sentido, las contribuciones de todas las fuentes de incertidumbre se consideran para estimar la incertidumbre combinada del método. A partir de la incertidumbre combinada se determina una incertidumbre expandida. Este último término representa un intervalo dentro del cual se cree que se encuentre un resultado analítico con un alto nivel de confianza [3]. En este trabajo se presenta el desarrollo de un método utilizando como técnica de preparación la técnica Rápido Fácil, Económico, Eficaz, Sólido y Seguro (conocida mejor como QuEChERS por el acrónimo en sus siglas en inglés) y cromatografía de gases acoplado a un detector de masas (GC-MS) para el análisis de plaguicidas de uso frecuente en papaya y aguacate. Los plaguicidas estudiados fueron representativos de tres de las clases más utilizadas en el mundo, que son: triazinas (ametrina y atrazina), carbamatos (carbarilo y carbofurán) y organofosforados (paratión metílico). El método propuesto fue validado de acuerdo con las directrices europeas. Además, se evaluó la incertidumbre expandida teniendo en cuenta las diferentes fuentes de incertidumbre que afectan al proceso. La evaluación de la incertidumbre se efectuó con el fin de aportar una validación más amplia a este método, el cual usa técnicas de preparación de muestra e instrumental comunes.

EXPERIMENTACIÓN

Se utilizaron estándares de los plaguicidas carbofurán (CF), carbarilo (CAR), atrazina (ATZ), ametrina (AME) y paratión metílico (MeP), con pureza superior al 98 %, ácido acético, metanol (MeOH) y acetonitrilo (AcN), se obtuvieron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). El helio (pureza 99.999 %) fue suministrado por Praxair (Colima, México). Semanalmente se preparó una solución madre de cada plaguicida a 50 mg/L en MeOH. Diariamente se prepararon soluciones de trabajo (de 1.0 a 8.0 mg/L) en MeOH. Las soluciones de trabajo se utilizaron para la optimización del método GC-MS y adición de las muestras de frutas utilizadas para la validación

del método. También se usaron el kit DisQuE para preparación de muestras marca Waters (Milford, MA, USA).

Se utilizó un cromatógrafo de gases Varian 3900 GC acoplado a un detector de espectrometría de masas Saturn-2100T controlado por el software MS Workstation versión 6.9, todos marca Varian (Palo Alto, CA, EE.UU.). Se usó la columna capilar Zebron ZB-5MS Crossbond (5% fenil-95% dimetil-polisiloxano, 30 m, 0.25 mm d.i., 0.25 μm de película) marca Phenomenex (Torrance, CA, EE.UU.).

El análisis mediante GC-MS se realizó mediante un gradiente de separación cromatográfico fue el siguiente: la temperatura inicial del cromatógrafo se ajustó a 140 °C, enseguida aumentó a 240 °C a 15 °C/min, nuevamente se incrementó a 280 °C a 40 °C/min, manteniéndose esta temperatura durante 3 minutos. El tiempo de análisis total fue de 6.5 minutos. Se inyectó un μL de muestra en modo dividido (2:1). La temperatura del inyector se fijó a 240 °C. El flujo de gas portador (He) fue de 1.1 mL/min. El espectrómetro de masas se operó en modo de ionización por impacto electrónico a 70 eV. Las temperaturas de la fuente de iones, caja de la fuente de ionización y línea de transferencia fueron 240, 50 y 260 °C, respectivamente. Para el análisis cualitativo, se realizó un escaneo de 75 a 280 masa/carga (m/z). Para el análisis cuantitativo de plaguicidas se utilizó el modo de monitoreo selectivo de iones (SIM, selected ion monitoring). La Tabla 1 muestra el peso molecular y los iones utilizados para el análisis cuantitativo.

Para realizar la preparación de las muestras, se seleccionaron frutas de papaya y aguacate se seleccionaron como muestras para este estudio. Estas frutas fueron elegidas debido a su importancia económica en el Estado de Colima, su complejidad como matriz y por tener diferente composición entre ellas. Con respecto a la composición de estas frutas, la papaya se caracteriza por 88 % de humedad, contenido moderado de carbohidratos (10 %) y bajo contenido de lípidos (0.3 %); mientras tanto, el aguacate se caracteriza por contenido de agua del 72 %, moderado contenido de carbohidratos (8 %) y contenido alto de lípidos (15 %). Después de lavar, pelar y homogeneizar las frutas, una porción de 0.6 kg se almacenó a -20 °C para su posterior tratamiento. Las muestras de frutas fueron tratadas según el método QuEChERS [4]. En el sistema de GC-MS se inyectó 1 μL del extracto.

El método propuesto fue validado siguiendo las directrices europeas [5,6]. El efecto matriz se estimó comparando las pendientes de las curvas estándar disueltas en la solución de extracción y las curvas de calibración con matriz añadida. La incertidumbre de la medición se estimó de acuerdo con los procedimientos recomendados por EURACHEM/CITAC para la cuantificación de la incertidumbre en la medición analítica [3]. La incertidumbre expandida (U_e) a un nivel de confianza del 95 % se obtuvo utilizando la concentración del nivel medio del intervalo lineal (4 mg/kg) y utilizando la Ecuación 1.

$$U_e = 2(U_c) \quad (1)$$

donde U_c es la incertidumbre combinada.

Para estimar la U_c del método, se identificaron seis principales fuentes de incertidumbre (u_i). Estas fuentes están asociadas con: preparación de la solución estándar (u_1), preparación de la curva de calibración (u_2), preparación de la muestra (u_3), precisión (u_4), exactitud/sesgo (u_5) y el ajuste lineal por mínimos cuadrados (u_6).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una vez optimizado, se llevó a cabo la validación del método para lo cual se evaluó la selectividad verificando la presencia de interferencias co-extraídas de la matriz en los cromatogramas de muestras blanco. La linealidad se estudió por medio de curvas de calibración en el intervalo de 1.0 a 8.0 mg/L de estándares disueltos en solución de extracción y en el intervalo de 1.0 a 8.0 mg/kg en matriz añadida de papaya y aguacate, ambos rangos son equivalentes. Los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) se calcularon utilizando la ecuación: $aDE_{\text{Blanco}} + Y_{\text{Blanco}}$, donde DE_{Blanco} es la desviación estándar de 20 muestras blanco, Y_{Blanco} es media de la señal de las muestras blanco, y a es 3 para LD o 10 para LC. A partir de estos resultados se puede concluir que el método tiene una sensibilidad ≤ 0.35 mg/kg para ambas frutas. Los porcentajes de recuperación obtenidos para cada plaguicida en ambas matrices oscilaron entre 72.0 y 104.3 %, excepto para la concentración a 1.0 mg/kg de carbofurán y atrazina en aguacate (69.7 y

60.6 %, respectivamente). El intervalo de recuperación de los plaguicidas se encuentra entre 70 al 120 %, el cual es aceptable bajo los criterios de la guía SANCO/12495/2011 [6]. La

precisión se expresó como desviación estándar relativa (DER) y se evaluó en diferentes días, es decir precisión inter-días. Para ello, se trataron y analizaron cinco matrices añadidas a dos niveles de concentración (1.0 y 8.0 mg/kg) en cinco días diferentes. Los valores de DER fueron inferiores al 20 %. Durante la evaluación del efecto matriz se observó, por lo tanto, para evitar este efecto matriz y asegurar resultados confiables es necesario utilizar curvas de calibración de matriz añadida. Los parámetros de validación para las frutas estudiadas se presentan en las tablas 1 y 2.

La evaluación de la incertidumbre del método se realizó considerando seis fuentes, a partir de éstas se calculó para las muestras de papaya las contribuciones globales a la incertidumbre combinada (U_c) del método por parte de las incertidumbres asociadas con u_1 (preparación de la solución estándar), u_2 (preparación de la curva de calibración) u_3 (tratamiento de preparación de muestra), u_4 (precisión) y u_5 (exactitud/sesgo) oscilaron entre 6.7 y el 11.7 % y u_6 (ajuste lineal por mínimos cuadrados) osciló entre 88.3 y 93.3 %. Del mismo modo, para el aguacate las contribuciones globales de las incertidumbres asociadas con u_1 , u_2 , u_3 , u_4 and u_5 variaron de 5.8 a 13.0 % y u_6 varió de 87.0 a 94.2%.

Tabla 1. Parámetros de validación usando el método QuEChERS-GC-MS.

		Papaya				
Plaguicida		CF	CAR	ATZ	MeP	AME
	LD ¹	0.03	0.17	0.18	0.35	0.11
	LC ²	0.06	0.31	0.42	0.75	0.22
Precisión (%DER) ³	1 mg/kg	13.9	12.5	5.4	15.3	14.1
	8 mg/kg	17.2	18.3	11.8	17.4	17.1
Recuperación (%)	1 mg/kg	93.9	90.1	72	76.8	91.3
	8 mg/kg	98.1	100	97.3	96.7	97.5

Tabla 2. Parámetros de validación usando el método QuEChERS-GC-MS.

		Aguacate				
Plaguicida		CF	CAR	ATZ	MeP	AME
LD ¹		0.19	0.14	0.14	0.16	0.28
LC ²		0.36	0.22	0.29	0.24	0.4
Precisión (%DER) ³	1 mg/kg	17.6	27.3	13.3	11	7
	8 mg/kg	15	14.7	17.2	13.5	12.4
Recuperación (%)	1 mg/kg	69.7	92.3	60.6	104.3	79.7
	8 mg/kg	97.7	100.7	99	100.1	100.1

¹ Límite de detección (mg/kg), ² Límite de cuantificación (mg/kg), ³ Desviación estándar relativa. ATZ: atrazina, AME: ametrina, CF: carbofurán, CAR: carbarilo, MeP: paratión metílico.

Tabla 3. Incertidumbres estimadas del método QuEChERS-GC-MS para diferentes fuentes, incertidumbre combinada (U_c) y expandida (U_e).

Fruta		Plaguicida				
		CF	CAR	ATZ	MeP	AME
Papaya	U_c (mg/kg)	0.315	0.334	0.257	0.341	0.352
	U_e^2 (mg/kg)	0.629	0.669	0.514	0.682	0.704
	U_e (%)	15.7	16.7	12.8	17.1	17.6
Aguacate	U_c	0.384	0.334	0.508	0.329	0.385
	U_e^2 (mg/kg)	0.768	0.669	1.016	0.658	0.770
	U_e (%)	19.2	16.7	25.4	16.5	19.2

Donde U_c es la incertidumbre del método; ² U_e es la incertidumbre expandida para un 4 mg/kg estimado para un nivel de confianza del 95 %. ATZ: atrazina, AME: ametrina, CF: carbofurán, CAR: carbarilo, MeP: paratión metílico.

De acuerdo con estos resultados, la incertidumbre asociada con u_6 presenta la mayor contribución para todos los plaguicidas analizados en papaya y aguacate. A primera vista los resultados de U_e de este método parecen ser altos, sin embargo, según la guía SANCO/12495/2011 la incertidumbre es aceptable cuando es inferior al 50.0 %. Aunque se recomienda el uso de estándar interno para minimizar la incertidumbre de las mediciones analíticas, en el caso del método propuesto las incertidumbres expandidas indican que no es necesario el uso del estándar interno. Los resultados de la estimación de la incertidumbre para ambas frutas se presentan en la tabla 2.

CONCLUSIONES

En este trabajo se presenta un método analítico para la determinación de carbofurán, carbarilo, atrazina, paratión metílico y ametrina en papaya y aguacate utilizando el método QuEChERS y GC-MS. Las condiciones optimizadas permitieron la separación de todos los plaguicidas con resolución a línea base utilizando una columna capilar Zebron ZB-5MS bajo una elución en gradiente de temperatura. Después de aplicar el tratamiento de muestra QuEChERS, el método propuesto fue validado satisfactoriamente usando muestras de papaya y aguacate. Los resultados indican que este método es selectivo, preciso y reproducible. La incertidumbre expandida del método es aceptable según la guía SANCO/12495/2011. Los límites conseguidos de este método son suficientes para cumplir con las regulaciones internas en México referentes a Límites Máximos para Residuos (LMR). Para el MeP no se alcanza la concentración regulatoria (MLR) en papaya. Sin embargo, se encontró que el método propuesto es adecuado para su aplicación a diferentes tipos de frutas. Adicionalmente, el método propuesto describe como calcular la incertidumbre combinada y la incertidumbre expandida.

AGRADECIMIENTOS

Pano Farias agradece a la Universidad de Colima por la infraestructura prestada y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), México, por la Beca otorgada para esta investigación.

REFERENCIAS

- [1] S. Singh, V. Kumar, S. Thakur, B. D. Banerjee, S. Chandna, R. S. Rautela, A. Rai. DNA damage and cholinesterase activity in occupational workers exposed to pesticides. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. **31**, 278–285 (2011).
- [2] S. Walorczyk, I. Kopeć, E. Szpyrka. Pesticide residue determination by gas chromatography-tandem mass spectrometry as applied to food safety assessment on the example of some fruiting vegetables. *Food Analytical Methods*, **9**, 1155–1172 (2016).
- [3] Citac, Eurachem. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. **126** (2000).
- [4] Association of Analytical Communities (AOAC) Official Method 2007.01.
- [5] Commission of European-Communities. Official Journal of the European Communities. Council Directive 2002/657/EC, 8–36 (2002).
- [6] European Commission. Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed. Document No. SANCO/12495/2011 (2012).

DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA PLAGUICIDAS EN MANGO UTILIZANDO MICRO-EXTRACCIÓN EN UNA SOLA GOTA Y CROMATOGRAFÍA DE GASES-ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Norma Susana Pano Farías^{1*}
Silvia Ceballos Magaña²
Vilma del Carmen Salvatierra Stamp²
Roberto Muñiz Valencia³
Brian Arturo Rodríguez Aguilar⁴

INTRODUCCIÓN

Debido al uso intensivo de plaguicidas para preservar la calidad y cantidad de los alimentos, sus residuos se pueden encontrar en frutas y verduras, y como consecuencia causar efectos tóxicos en el medio ambiente y la salud humana [1].

Los productos agrícolas, como frutas y vegetales, son matrices complejas y heterogéneas. Por lo tanto, para el análisis de plaguicidas en estos productos el tratamiento de muestras es un paso crucial durante el desarrollo de un método analítico. El objetivo del tratamiento de muestra es la extracción y concentración de los plaguicidas, así como la reducción o eliminación de las interferencias de la matriz [2]. De este modo, se mejora la selectividad y la sensibilidad de un método analítico.

¹ Centro de Innovación y Desarrollo Agroalimentario de Michoacán A.C., Carretera Antigua a Pátzcuaro Km 8.0, Estado de Michoacán, C.P. 58341. Tel: +52(443) 299-0181 Ext. 545.

² Universidad de Colima, Facultad de Ciencias, Bernal Díaz del Castillo 340, Estado de Colima, C.P. 28045. Tel/Fax: +52 (31) 23 16 11 351

³ Universidad de Colima, Facultad de Ciencias Químicas, Carretera Colima-Coquimatlán km 9, Estado de Colima, C.P. 28400. Tel/Fax: +52 (31) 23 16 11 63. e-mail: robemuva@yahoo.com

⁴ Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de la Costa Sur, Avenida Independencia Nacional 151, Estado de Jalisco, C.P. 48900. Tel: +52 (317) 3825010.

La tendencia actual en el tratamiento de muestras es el desarrollo de técnicas sencillas, rápidas, económicas, miniaturizadas y respetuosas con el medio ambiente, que utilizan unos pocos microlitros de disolventes [1, 3]. Así pues, la microextracción en una sola gota (SDME, por sus siglas en inglés Single Drope Micro-extraction) es una buena alternativa.

En el procedimiento SDME se suspende una microgota de 1 a 3 μL de algún disolvente orgánico (fase aceptora) en la punta de la aguja de una microjeringa, la microgota es expuesta a la muestra acuosa (fase donadora), ya sea por inmersión directa o espacio de cabeza. Después de la extracción la microgota se retrae de nuevo en la microjeringa y se inyecta en el sistema cromatográfico para su análisis [1–5]. Entre las ventajas del procedimiento SDME se encuentran simplicidad, uso de un volumen mínimo de disolvente orgánico, bajo costo, uso de equipo común de laboratorio, corto tiempo de extracción, alto factor de enriquecimiento, compatibilidad con técnicas de cromatografía de líquidos y gases, y que no presenta efecto memoria [3, 4, 6].

El procedimiento SDME acoplado a cromatografía de gases y diferentes detectores se ha utilizado para el análisis de plaguicidas en algunas matrices alimentarias líquidas y sólidas. Por ejemplo, agua, vino, jugos de naranja y tomate [3].

A pesar de que SDME es una técnica adecuada para el análisis de residuos de plaguicidas en diferentes tipos de muestras, aún continúa la tarea de aplicarla a otras matrices complejas de interés comercial y económico.

Por lo tanto, en este trabajo se presenta un método analítico para la determinación de 17 plaguicidas multiclase utilizando la extracción con disolvente asistida por ultrasonido, el procedimiento SDME y cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM).

EXPERIMENTACIÓN

Reactivos y materiales: Los estándares de plaguicidas, disolventes y cloruro de sodio se adquirieron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). La pureza de estos estándares fue superior al 95 %, excepto etoprofos (93.3 %). Todos los disolventes usados (acetonitrilo, metanol, tolueno, n-hexano, iso-octano y cloroformo) fueron grado HPLC. Se preparó una solución madre de 40 mg/L de cada estándar de plaguicida disuelto en metanol. Se preparó una solución de trabajo a 10 mg/L diluyendo la solución madre con agua ultrapura; la cual se utilizó para la optimización y validación del método. Se usaron viales de vidrio de 20 mL con tapas de rosca y septos de

silicona (Supelco, Bellefonte, PA, EE.UU.) y una micro-jeringa Hamilton Microliter 701N de 10 μ L con una punta biselada (Hamilton Co, Reno, NE, EUA).

Equipos: Cromatógrafo Varian 3900 GC acoplado a un detector de espectrometría de masas Saturn-2100T de Varian (Palo Alto, CA, EE.UU.), columna ZB-MultiResidue-2 (30 m, 0.25 mm d.i., 0.20 μ m de grosor de película) de Phenomenex (Torrance, CA, EE.UU.). Análisis por CG-EM: La temperatura inicial del horno fue 80 °C y se mantuvo durante 5 minutos, en seguida se incrementó a 220 °C a una velocidad de 25 °C/min, nuevamente se incrementó a una velocidad de 8 °C/min hasta 240 °C, finalmente se incrementó a 290°C a una velocidad de 20 °C/min, y se mantuvo esta temperatura por 5 minutos. La temperatura del inyector y flujo de gas acarreador (He) fueron 250 °C y 1.0 mL/min, respectivamente. El detector de espectrometría de masas fue operado en modo de ionización por impacto de electrones a una energía de colisión de 70 eV, con un inicio de detección a los 8.6 minutos para evitar el daño del filamento de la fuente de iones. La temperatura de la fuente de iones, carcasa de la fuente de ionización y línea de transferencia se fijó en 240, 50 y 260 °C, respectivamente. Para el análisis cualitativo la detección de masas se estableció en modo scan de 70 a 410 masa/carga (m/z). Para el análisis cuantitativo se utilizó el modo de monitoreo selectivo de iones (SIM).

Tratamiento de muestra:

Se utilizaron frutas de mango libres de plaguicidas. El mango fue elegido debido a su complejidad como matriz, importancia económica y producción en México. Las frutas recolectadas fueron lavadas, peladas y la porción comestible fue homogenizada, en seguida una cantidad representativa (0.6 kg) de la fruta fue colocada en un frasco y se almacenó a -20 °C hasta su tratamiento.

El procedimiento de pretratamiento de muestra optimizado fue el siguiente: se pesaron 3 g de muestra de mango homogeneizada y descongelada en un tubo cónico de 50 mL; a continuación se agregaron 9 mL de la solución de extracción (solución acuosa de al 10% de acetonitrilo sin ajuste de pH); se homogenizó la muestra manualmente durante 1 minuto; posteriormente se sonicó durante 15 minutos y se centrifugó a 3500 rpm durante 15 minutos. El sobrenadante se diluyó con agua Milli Q hasta 10 mL usando un matraz volumétrico. Finalmente, esta solución fue transferida a un vial de 20 mL para llevar a cabo el procedimiento de SDME.

Para la optimización y validación del método, las muestras de frutas se añadieron con la solución de trabajo de los estándares de plaguicidas, después de 120 minutos de reposo se añadió la solución de extracción y se aplicó el pretratamiento de muestra.

Antes de iniciar el procedimiento SDME, la micro-jeringa de 10 μL utilizada se lava cinco veces con el disolvente de la fase aceptora (tolueno). Posteriormente se introducen 2 μL de tolueno en la micro-jeringa; este volumen se expone después de que la aguja se introduce, a través del septo de la tapa del vial, por inmersión directa en el extracto obtenido en el pretratamiento. La extracción se lleva a cabo durante 30 minutos, a 45 °C y agitando a 700 rpm. Una vez finalizado el tiempo de extracción, la microgota se retrae en la micro-jeringa y se inyecta en el sistema CG-EM inmediatamente, en modo splitless. Cada análisis de extracción de muestra añadida de fruta se realizó por triplicado.

Validación del método: El método propuesto fue validado siguiendo las directrices europeas [7, 8]. Los parámetros evaluados fueron: linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, precisión y exactitud (recuperación). También se realizó la evaluación del factor de enriquecimiento y el efecto matriz.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los tiempos de retención (t_r) para cada plaguicida en condiciones de separación óptimas. También se presentan los iones seleccionados para la determinación de cada plaguicida. Durante el análisis cromatográfico se observaron picos adicionales de algunos estándares de plaguicida, que corresponden al producto de degradación térmica del cabofurán, 7-fenol carbofurán, los isómeros del clordano y endosulfán. En estos casos la suma de las áreas de todos los picos correspondientes al mismo plaguicida se consideró como la señal del compuesto.

Para la optimización del procedimiento SDME se evaluaron los siguientes parámetros: fase aceptora, composición de la solución de extracción, pretratamiento de muestra (peso de la muestra, volumen de la solución de extracción y tiempo de sonicación), volumen de la microgota, velocidad de agitación, porcentaje de NaCl, tiempo, pH y temperatura de extracción.

Cuatro disolventes fueron probados como fase aceptora: tolueno, cloroformo, iso-octano y n-hexano; de los cuales, tolueno presentó la mayor eficiencia de extracción para los 17 plaguicidas estudiados en solución acuosa (52 a 120 %).

La solución al 10 % de acetonitrilo presentó una mayor eficiencia de extracción para los 17 plaguicidas extraídos de muestras de mango añadidas.

Los otros parámetros se optimizaron utilizando la herramienta de diseño experimental empleando el software Statistica 8.0 (StatSoft, Tulsa, OK, USA). La optimización se realizó utilizando muestras añadidas de mango a una concentración de 500 µg/kg. Estos parámetros se dividieron en tres grupos, y se evaluaron a tres niveles (bajo, medio y alto), por lo tanto se realizó un diseño experimental factorial fraccional 3^{3-1} .

Para la determinación de los valores óptimos de cada parámetro se calculó la función de deseabilidad global. Los valores de la función de deseabilidad de Derringer (D) oscilan entre 0 y 1. Para una respuesta completamente indeseable $D \leq 0$ y para una respuesta totalmente deseada $D \geq 1$. Se construyeron gráficas de superficie de respuesta de la deseabilidad de cada nivel de los parámetros estudiados para obtener los valores óptimos, se muestra un ejemplo en la Figura 1. Todos los experimentos se realizaron por duplicado.

Tabla 1. Tiempos de retención (tr) e iones seleccionados para la detección de los plaguicidas de interés por CG-EM.

Plaguicida	tr (min)	iones monitoreados (m/Z)	Plaguicida	tr (min)	iones monitoreados (m/Z)
7-fenol carbofurán	8.74	164, 149, 131	Malatión	12.89	173, 127, 125
Profam	9.87	179, 93, 120	Clorpirifos	12.98	314, 97, 199
Etoprofos	10.87	158, 97, 243	Carbarilo	13.09	144, 115, 116
Cloroprofam	10.95	213, 127, 154	Heptacloro	13.72	301, 337, 372
Forato	11.19	260, 231, 199	trans-Nonaclor	13.86	409, 109, 237
Diazinón	11.51	304, 137, 276	cis-Nonaclor	13.96	272, 409, 237
Atrazina	11.65	200, 215, 202	trans-Clordano	14.04	375, 373, 377
Carbofurán	11.85	164, 149, 131	cis-Clordano	14.14	375, 373, 377
Disulfotón	11.9	89, 88, 97	α -Endosulfán	14.22	241, 207, 195
Ametrina	12.68	227, 212, 170	β -Endosulfán	15.37	241, 207, 195
Paratión metílico	12.8	263, 109, 125	Hexazinona	16.17	171, 83, 128

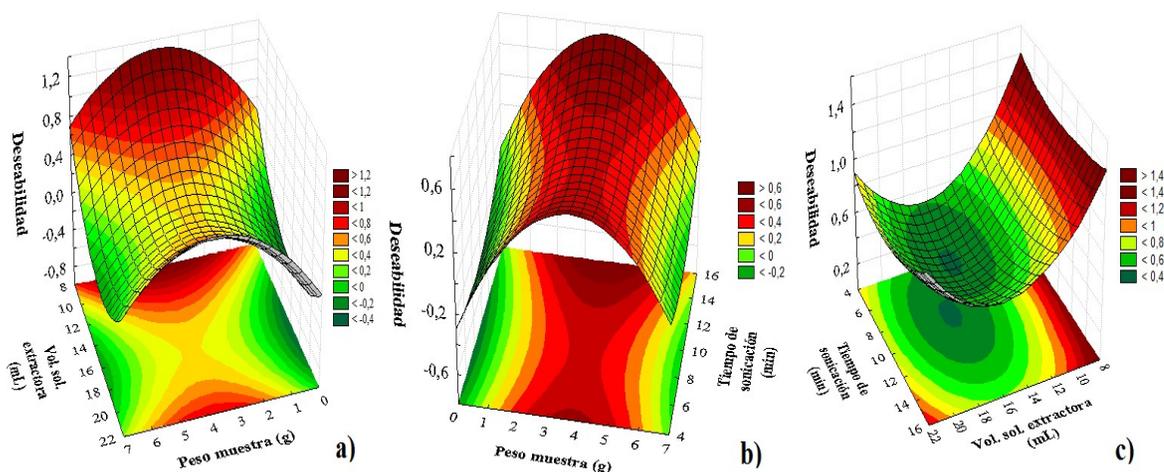


Figura 1. Gráficas de superficie de respuesta. a) Volumen de solución extractora (mL) vs peso de muestra (g), b) peso de muestra (g) vs tiempo de sonicación (min), c) tiempo de sonicación (min) vs volumen de solución extractora (mL).

Las condiciones experimentales óptimas encontradas fueron: 3.0 g de muestra, 9.0 mL de volumen de solución de extracción, 15 minutos de sonicación, 2 μ L de volumen de la microgota de tolueno, tiempo de extracción de 30 minutos, sin ajuste de pH, temperatura de extracción 45 $^{\circ}$ C, agitación 700 rpm y sin adición de NaCl.

El método fue validado en muestras de mango añadidas con concentraciones conocidas de los plaguicidas estudiados. Los parámetros evaluados fueron linealidad, límite de detección y cuantificación, precisión, exactitud y factor de enriquecimiento; los cuales se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Parámetros de validación del método SDME.

Plaguicida	Mango						
	RL ¹ (μ g/kg)	r^2	LD ³ (μ g/kg)	LC ⁴ (μ g/kg)	Precisión (DER,%) ⁵	Recuperación (%)	FE ⁷
					C1 ⁶	C1 ⁶	
Profam	5-1000	0.9966	3.64	6.87	19.1	103	37
Etoprofos	5-1000	0.9961	4.66	7.02	12.9	117	625
Cloroprofam	5-1000	0.9985	6.11	9.97	14.6	103	470
Forato	5-1000	0.9985	4.83	8.31	18.9	107	558
Diazinón	5-1000	0.9987	4.5	7.71	14.5	109	177
Atrazina	5-1000	0.9965	3.21	5.83	13.2	69	88
Carbofurán	5-1000	0.9992	1.26	6.3	2.4	108	71
Disulfotón	5-1000	0.9986	3.96	6.29	15.8	106	722
Ametrina	5-1000	0.9959	4.23	8.94	12.3	113	225

Paratión metílico	5-1000	0.9989	6.65	7.16	16.6	84	275
Malatión	5-1000	0.9989	0.14	9.45	9.6	85	187
Clorpirifos	10-1000	0.9978	8.29	22.49	16.2	94	147
Carbarilo	5-1000	0.9983	1.89	5.03	14.4	107	181
Clordano	100-1000	0.9962	169.2	202.61	17.5	104	127
Endosulfán	50-1000	0.9962	26.39	55.61	18.0	91	142
Hexazinona	25-1000	0.9952	23.43	47.33	15.1	94	20
Tetradifón	100-1000	0.9953	110.49	124.31	12.3	119	198

¹ Rango lineal; ² coeficientes de correlación; ³ límite de detección; ⁴ límite de cuantificación; ⁵ desviación estándar relativa; ⁶ concentración de 10 µg/kg, excepto clordano (100 µg/kg), endosulfán (50 µg/kg), hexazinona (25 µg/kg), y tetradifón (100 µg/kg); ⁷ factor de enriquecimiento.

Los valores del coeficiente de correlación (r) para las curvas de calibración en matriz añadida fueron superiores a 0.99 para todos los plaguicidas; por lo tanto, el método presentado es lineal para los rangos mostrados en la Tabla 2.

Los valores de LD de la mayoría de los plaguicidas estudiados fueron inferiores a 10 µg/kg. Con respecto al LC, los valores de este parámetro para 12 plaguicidas fueron inferiores a 10 µg/kg, y por lo tanto menores a los límites máximos de residuos permitidos por la Comisión Europea. El LC calculado para clorpirifos fue inferior a 50 µg/kg, el cual es inferior al LMR establecido para este plaguicida. Para el endosulfán el valor de LC calculado fue superior al LMR asignado para este plaguicida por la Comisión Europea, pero fue inferior al LMR especificado en el Codex Alimentarius [9].

La precisión intermedia se calculó como la desviación estándar relativa (DER) y se evaluó a la concentración baja (C1) del rango lineal de cada plaguicida. Los valores de DER (Tabla 2) variaron entre 2.4 a 19.1 %; considerándose aceptables según la guía SANTE/11945/2015.

La exactitud, evaluada como el porcentaje de recuperación, también se determinó a la concentración baja del rango lineal de cada plaguicida. Las recuperaciones obtenidas estaban en el intervalo de 69 a 119 %. Los valores de recuperación que oscilan entre 70 y 120% se consideran aceptables para este parámetro según la guía SANTE/11945/2015.

Los factores de enriquecimiento variaron de 20 a 722; estos valores son similares a los reportados para otros métodos usando SDME [3].

El efecto matriz calculado varió de -90 a -28 %. Estos resultados indican que el efecto matriz para este método corresponde a una supresión de señal. Además, estos resultados se consideran significativos para la cuantificación de plaguicidas; por lo tanto, se deben utilizarse curvas de calibración de matrices añadida para la cuantificación confiable de los analitos.

CONCLUSIONES

Se desarrolló y validó un método usando los procedimientos de extracción con disolvente asistido por ultrasonido, microextracción con una sola gota (SDME) y la técnica CG-EM para el análisis de plaguicidas de varias clases en muestras de mango.

Este método presentó buena linealidad, alta sensibilidad, precisión aceptable, exactitud satisfactoria y altos factores de enriquecimiento.

REFERENCIAS

- [1] P. Puri. *Int. J. Agric. Environ. Biotechnol.*, **7** [2], 331–342 (2014).
- [2] Y. B. Pakade and D. K. Tewary. *J. Sep. Sci.*, **33**, [23–24], 3683–3691 (2010).
- [3] M. A. Farajzadeh, S. M. Sorouraddin, M. R. A. Mogaddam. *Microchim. Acta*, **181** [9–10], 829–851 (2014).
- [4] J. P. dos Anjos, J. B. de Andrade. *Microchem. J.*, **112**, 119–126 (2014).
- [5] L. Kocúrová, I. S. Balogh, V. Andruch. *J. Sep. Sci.*, **36** [23], 3758–3768 (2013).
- [6] J. M. Kokosa. *TrAC Trends Anal. Chem.*, **71**, 194–204 (2015).
- [7] European Commission. “2002/657/EC: Commission Decision of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results,” *Off. J. Eur. Communities* (2002).
- [8] European Commission. “SANTE/11945/2015. Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis in food and feed,” 1–42 (2015).
- [9] Codex Alimentarius Commission. “Pesticide Residues in Food and Feed” (2016). <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/pestres/en/>.

ESTUDIO ELECTROQUÍMICO DEL ROJO ALLURA UTILIZANDO UN ELECTRODO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO CON NANOTUBOS DE CARBONO MULTIPARED TIPO BAMBÚ

Selene Irisais Rivera Hernández¹
Yessica Pazarán García¹
Silvia Corona Avendaño^{1*}
Gerardo Vázquez Huerta¹
Manuel Eduardo Palomar Pardavé¹
Mario Alberto Romero Romo¹
María Teresa Ramírez Silva²
María Elena Páez Hernández³

INTRODUCCIÓN

Uno de los colorantes sintéticos más utilizados en la industria alimentaria es el Rojo Allura, se adiciona principalmente a bebidas carbonatadas, jugos, néctares, repostería y confitería debido a sus características, es totalmente soluble en agua, estable a diversos factores como exposición a la luz, al tiempo (la vida de anaquel del colorante es aproximadamente de 4 años) y pH, además, no presenta interacción con otros aditivos presentes en la matriz del alimento evitando así impartir sabor y/o aroma^[1].

Debido a su bajo costo, en diversas ocasiones se añade en cantidades excesivas con la finalidad de ocultar cambios de coloración, los cuales pueden ser vinculados a malas prácticas de procesamiento o a deterioración microbiológica, esta acción, además de considerarse fraude alimentario puede repercutir en la salud del consumidor^[2], por lo que es necesario llevar a cabo un control de calidad estricto para asegurar que la concentración del colorante en el alimento no exceda los límites permisibles.

¹ Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco. Departamento de Materiales. Avenida San Pablo No. 180, Colonia Reynosa-Tamaulipas. C.P 02200. Ciudad de México, e-mail: *sylvia_cav@yahoo.com.mx

² Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Departamento de Química. Área de Química Analítica. San Rafael Atlixco 186, Iztapalapa, Vicentina, 09340 Ciudad de México, e-mail: mtrs218@hotmail.com

³ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química. Carretera Pachuca-Tulancingo. Km 4.5. C.P 41184. Mineral de la Reforma. Hidalgo, e-mail: paezh@uaeh.edu.mx

La cuantificación del Rojo Allura se realiza por espectrofotometría UV-Vis, HPLC o a través de una valoración volumétrica utilizando como agente valorante TiCl_3 ^[3], estos métodos presentan ciertas desventajas como el costo inicial del equipo en el caso de los métodos instrumentales o la presencia de interferencias en el caso de la titulación, por ello, es necesario desarrollar métodos analíticos que permitan su determinación de forma sencilla, rápida y confiable, lo que se puede lograr al desarrollar sensores electroquímicos.

Dentro de este tipo de sensores destacan los electrodos de pasta de carbono (EPC), los cuales son sencillos en su construcción, su superficie es renovada fácilmente, y pueden ser modificados con diversos materiales, en particular en este trabajo se utilizan nanotubos de carbono tipo bambú (NTCB) como agente modificante, debido a que presentan una mayor velocidad de transferencia de electrones y propiedades capacitivas, lo cual puede mejorar la señal electroquímica y los parámetros analíticos que lleven a un electrodo para la determinación de Rojo Allura.

EXPERIMENTACIÓN

Todas las soluciones fueron preparadas con agua desionizada $18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}^2$ obtenida de un equipo desionizador Milli Q. El electrolito soporte empleado fue 0.1 M NaCl , $\text{pH}=6.0$, como solución madre se empleó $1.0 \times 10^{-3} \text{ M Rojo Allura}/0.1 \text{ M NaCl}$.

El EPC se construyó mezclando polvo de grafito y aceite mineral en una proporción 1:1^[4], una vez obtenida la consistencia pastosa se rellenó un soporte de plástico y en un extremo se colocó un contacto eléctrico; para modificar el electrodo, se preparó una dispersión de NTCB (NanoLab, 95%, $\text{Ø } 30 \text{ nm}$, $l=1-5 \text{ }\mu\text{m}$) de la cual se tomó una alícuota de $40 \mu\text{L}$, que fueron depositados sobre la superficie del electrodo, posteriormente se secó en la estufa durante 5 minutos a una temperatura de 40°C .

Los experimentos electroquímicos se realizaron en un potencióstato-galvanostato AUTOLAB 30. Se utilizó una celda típica de tres electrodos: un EPC, EPC/NTCB ($A=1.95 \times 10^{-5} \text{ m}$) como electrodo de trabajo, un contraelectrodo de platino y como referencia un electrodo de Ag/AgCl , (3 M NaCl).

Para el estudio de velocidad se utilizó voltamperometría cíclica (VC) barriendo en una ventana de potencial de $0.0-1.0 \text{ V}$ en un intervalo de $0.01-0.3 \text{ V s}^{-1}$.

Para el estudio de variación de concentración se empleó voltamperometría diferencial de pulso (VDP) barriendo a una velocidad de 0.020 V s^{-1} . Con los datos obtenidos se construyó la curva de calibrado con la cual se calcularon los parámetros analíticos, límite de detección (LD), límite de cuantificación (LC), intervalo de linealidad y sensibilidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestran los voltamperogramas cíclicos obtenidos para el electrolito soporte utilizando el EPC y el EPC/NTCB, al realizar el barrido no se encontraron señales asociadas a procesos faradaicos. Se observa que al modificar el electrodo la corriente capacitiva aumenta, lo cual se asocia a un incremento en el área electroactiva del electrodo de trabajo.

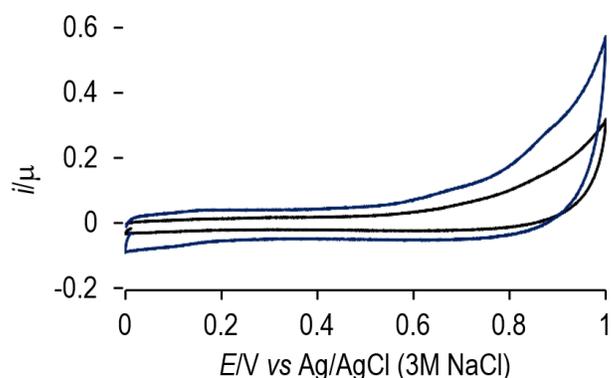


Figura 1. Voltamperogramas cíclicos para 0.1 M NaCl/EPC (línea negra), 0.1 M NaCl/EPC/NTCB (línea azul). Velocidad de barrido 0.1 V s^{-1} .

En la Figura 2 se muestran los voltamperogramas cíclicos obtenidos al emplear una solución $2 \times 10^{-5} \text{ M}$ Rojo Allura con cada uno de los electrodos. Al realizar el barrido en sentido anódico utilizando el EPC se encontró un pico de oxidación en 0.77 V , mientras

que al emplear EPC/NTCB el pico anódico se situó en 0.70 V , por lo que la modificación del electrodo favorece la oxidación del colorante, la cual se asocia a la presencia al grupo enol. Al invertir el sentido del barrido no se encontraron señales catódicas por lo que el proceso es irreversible.

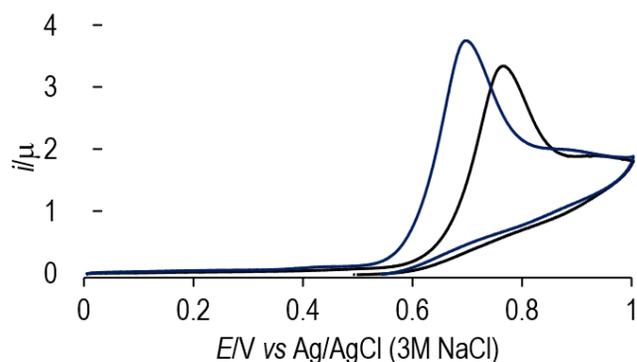


Figura 2. Voltamperogramas cíclicos para el sistema 2.0×10^{-5} M Rojo Allura/0.1 M NaCl/EPC (línea negra), NaCl/EPC/NTCB (línea azul). Velocidad de barrido 0.1 V s^{-1} .

Una vez identificado el proceso Redox del colorante, se realizó el estudio de variación de velocidad de barrido para cada uno de ellos. En la Figura 3a se muestra la familia de voltamperogramas obtenidos con el EPC, en donde se observa que, al incrementar la velocidad de barrido, la intensidad de corriente generada aumenta. Al graficar el logaritmo de la intensidad de pico anódico i_{pa} en función del logaritmo de la velocidad de barrido y realizar el ajuste lineal se obtuvo un coeficiente de correlación $R^2=0.9958$, $\log i_{pa} = 0.3401 \log v + 0.1500$ ($\log i_{pa}$)- $0.1500(\log v)$ (inserto), el valor de la pendiente indica que el proceso de transferencia de masa se rige por la difusión [5].

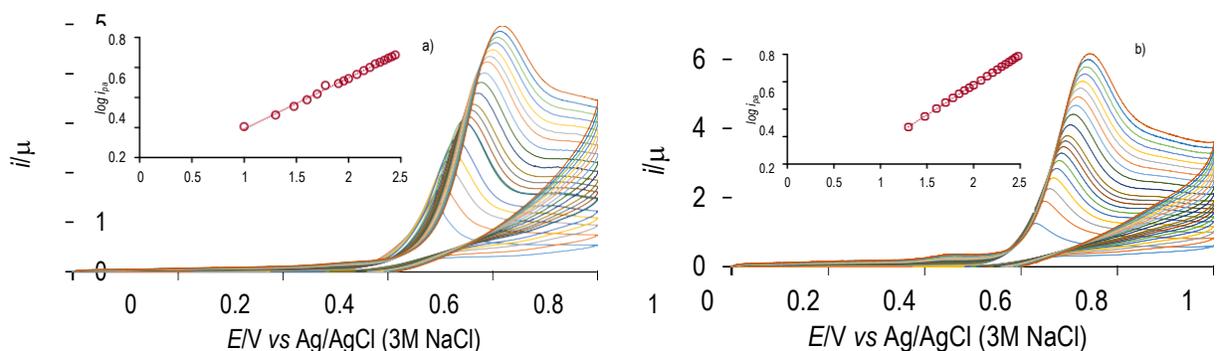


Figura 3. a) Familia de voltamperogramas cíclicos para los sistemas, 2.0×10^{-5} M Rojo Allura/0.1 M NaCl, a) EPC/Ag/AgCl (3M) /Platino, b) EPC/NTCB/Ag/AgCl (3M NaCl)/Platino. Intervalo de velocidad de barrido $0.01\text{-}0.3 \text{ V s}^{-1}$.

Por otra parte, en la Figura 3b se muestra la familia de voltamperogramas obtenidos con el EPC/NTCB, en donde se observa un comportamiento similar al mostrado por el EPC. Al realizar el ajuste lineal se obtuvo un coeficiente de correlación $R^2=0.9999$, $\log i_{pa}= 0.4376 \log v (\log i_{pa})- 0.2979 (\log v)$ (inserto) por lo que el proceso de transferencia de masa también se encuentra regido por la difusión.

En la Figura 4a se muestra la familia de voltamperogramas diferenciales de pulso obtenidos al variar la concentración de Rojo Allura en el sistema empleando un EPC, se observa el pico de oxidación en un valor 0.67 V, al ir incrementando la concentración de colorante, este pico aumenta y se desplaza ligeramente hacia valores mayores. Al graficar la corriente de pico anódico i_{pa} en función de la concentración de Rojo Allura [RA] (Figura 4b) se obtuvo la siguiente ecuación de la recta:

$$i_{pa}=0.0755 \mu\text{A}\mu\text{M}^{-1}[\text{RA}]+.0259\mu\text{A}, \text{ con un } R^2=0.9977.$$

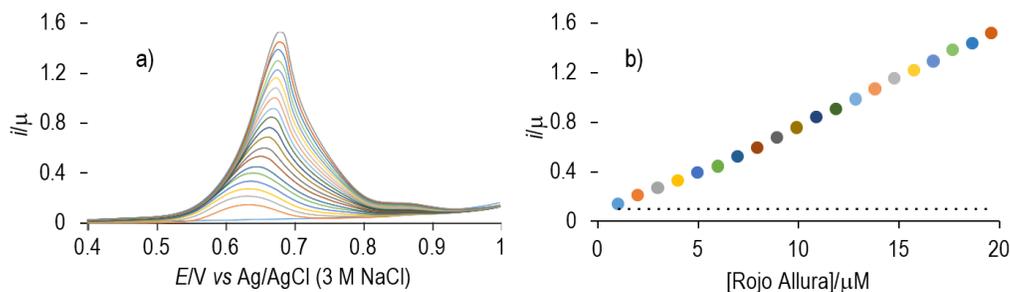


Figura 4. a) Familia de voltamperogramas diferenciales de pulso para el intervalo 9.9×10^{-7} - 1.96×10^{-5} M Rojo Allura/0.1 M NaCl, EPC/Ag/AgCl (3 M NaCl)/Platino. Velocidad de barrido 0.02 V s^{-1} . b) Ajuste lineal al graficar $i_{pa}/\mu\text{A}$ vs [Rojo Allura]/ μM .

Al utilizar el EPC/NTCB y realizar el estudio de variación de concentración se observó el pico anódico en un potencial 0.67 V, a diferencia del EPC, el pico anódico se mantiene en un potencial constante (Figura 5 a), al graficar i_{pa} vs la concentración de Rojo Allura, se obtuvo la curva de calibrado mostrada en la Figura 5b, en donde el $R^2=0.9979$, con una ecuación de la recta $i_{pa}=0.1122 \mu\text{A}\mu\text{M}^{-1}[\text{RA}]+.2192 \mu\text{A}$.

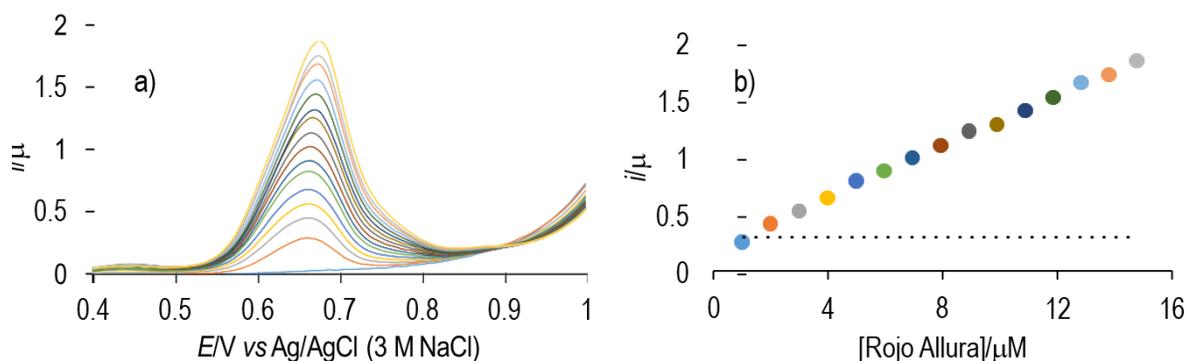


Figura 5. a) Familia de voltamperogramas diferenciales de pulso para el sistema 9.9×10^{-7} - 1.47×10^{-5} M Rojo Allura/0.1 M NaCl, EPC/NTCB/Ag/AgCl (3M NaCl)/Platino. Velocidad de barrido 0.02 V s^{-1} . b) Ajuste lineal al graficar i_{pa} vs [Rojo Allura]/μM.

Al emplear el EPC/NTCB se observó que la corriente anódica generada incrementó (Figura 6) lo que se significa un aumento en la sensibilidad del electrodo.

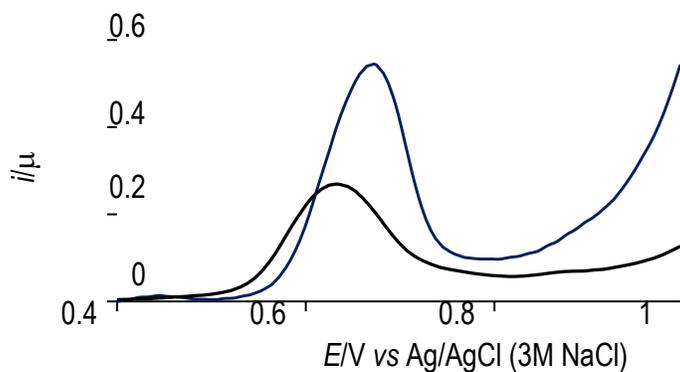


Figura 6. Voltamperogramas diferenciales de pulso para el sistema 3.0×10^{-6} M Rojo Allura/0.1 M NaCl, EPC/Ag/AgCl (3M NaCl)/Platino (línea negra) y EPC/NTCB/Ag/AgCl (3M NaCl)/Platino (línea azul).

A partir de las curvas de calibrado se calcularon los parámetros analíticos los cuales son mostrados en Tabla I. Con ambos electrodos es posible la cuantificación de Rojo Allura en concentraciones del orden μM, estos parámetros son equiparables a los reportados en la literatura, sin embargo, los electrodos con los que se ha cuantificado el colorante presentan algunas desventajas como el costo o el uso de reactivos tóxicos y difíciles de manejar o

modificaciones complejas. Con el EPC modificado se mejoró la sensibilidad y el LD.

Tabla I. Parámetros analíticos calculados para el Rojo Allura con diferentes electrodos de trabajo.

Electrodo	LD* (M)	LC**(M)	Sensibilidad ($\mu\text{A}/\mu\text{M}$) μM
EPC	8.23×10^{-7}	3.40×10^{-6}	0.07
EPC/NTCB	6.33×10^{-7}	1.15×10^{-6}	0.11
Gota de mercurio ^[7]	1.13×10^{-7}	4.4×10^{-6}	2.7
Diamante dopado con boro ^[8]	0.7×10^{-8}	-	-
Carbón vítreo/grafeno/nanopartículas ^[9]	8.0×10^{-7}	-	0.083

* $(3\sigma_b + Y_b)$

** $(10\sigma_b + Y_b)$ ^[6]

σ_b = Desviación estándar del blanco

Y_b = Señal del blanco

CONCLUSIONES

Utilizando el EPC y EPC/NTCB se determinó el proceso Redox del colorante, el cual es irreversible, el potencial de oxidación del Rojo Allura se encontró en 0.77 y 0.70 V, respectivamente. En ambos casos el proceso de transferencia de masa se encuentra regido por la difusión.

En cuanto a los parámetros analíticos, el EPC/NTCB mostró una mayor sensibilidad, así como un LC menor, por lo que permite cuantificar al colorante en concentraciones más bajas.

La modificación del electrodo favorece el proceso electroquímico del colorante, además de mejorar el límite de detección y cuantificación.

AGRADECIMIENTOS

SIRH (286216) agradece al CONACyT por el apoyo financiero otorgado para realizar los estudios de Doctorado. SCA, GVH, MRR, MEPP, MEPH agradecen al SNI por la distinción otorgada y a SEP PRODEP por la RED "RedNIQAE".

REFERENCIAS

- [1] The United States Pharmacopeial Convention. Allura Red Monographs. Food Chemical CODEX. (2010).
- [2] Commission of the European Communities. Laying Down Specific Purity Criteria Concerning Colours for use in Foodstuff. Commission Directive. (2008).
- [3] Norma Oficial Mexicana NOM-038-SSA1-1993. Bienes y Servicios. Colorantes Orgánicos Sintéticos. Especificaciones Sanitarias Generales.
- [4] M. T. Ramírez, M. E. Palomar, I. González. A. Rojas-Hernández. *Electroanalysis*, **7**, 184-188 (1995).
- [5] D. K. Gosser. *Cyclic Voltammetry. Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms*. VCH Publishers. Estados Unidos de América. (1993).
- [6] J. N. Miller, J. C. Miller. *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. Pearson. España. (2002).
- [7] S. Chanlon, L. Joly-Pottuz, M. Chatelut, O. Vittori, J. L. Cretier. *Journal of Food Composition and Analysis*, **18**, 503-505 (2005).
- [8] P. B. Deroco, R. A. Medeiros, R. C. Rocha-Filho, O. Fatibello-Filho. *Food Chemistry*, **247**, 66-72 (2018).
- [9] Y. Lanlan, S. Mengxing, Y. Xiu, Q. Lingbo. *Sensor and Actuators B: Chemical*, **225**, 10-15 (2016).

CARACTERIZACIÓN DEL BAGAZO, RESIDUO GENERADO EN EL PROCESO DE LA ELABORACIÓN DE CERVEZA ARTESANAL

Cynthia Iraís Hernández Quintero
María del Pilar Haro Vázquez*
Eugenia Gabriela Carrillo Cedillo¹

INTRODUCCIÓN

La cerveza es sin duda la bebida más antigua que el ser humano ha elaborado y consumido a lo largo del tiempo, puesto que el origen de las bebidas a base de la fermentación de granos es tan antiguo como el cultivo de los mismos cereales [1]. La historia de la cerveza está ligada a los primeros pasos dados por el hombre en la agricultura, en la antigüedad la cerveza era mayormente consumida por el pueblo egipcio, la cerveza migró a Europa y posteriormente a México, y posteriormente es traída a la Nueva España (México) con la llegada de Cristóbal Colón, el cual descubrió que ya existían bebidas nativas a base de maíz fermentado.

Es preciso mencionar que México se posicionó en la industria cervecera con la construcción de la red ferroviaria que marcó el inicio de la historia moderna en los años 80's, permitiendo la importación de maquinaria de los Estados Unidos de América, así como diferentes tipos de malta y equipos de enfriamiento.

El industrial cervecero Santiago Graf, quien en 1875 adquirió la Cervecería Toluca y México y en 1882 importó equipos alemanes que le permitieron elaborar la primer cerveza lager mexicana denominada "Toluca lager".

En 1891, se funda la Cervecería Cuauhtémoc, en Monterrey, Nuevo León, uniéndose a esta, en 1894 cuatro pequeñas cervecerías en Orizaba, Veracruz, en 1896 la Cervecería de

¹ Universidad Autónoma de Baja California. Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería. Químico Industrial. Calzada Universidad 14418 Parque Industrial Internacional Tijuana B.C. 22427 Tel. (664) 9797500. Fax. (664) 6822790. e-mail: irais.hernandez@uabc.edu.mx, pilarharo@uabc.edu.mx

Sonora y en 1900 la Cervecería del Pacífico y posteriormente en 1899 se fundó la gran cervecería Yucateca.

Para 1918 había 36 fábricas de cerveza en México, el año 1992, fue decisivo para la industria cervecera, ya que un grupo de empresarios españoles crearon la sociedad fundadora de la Cervecería Modelo [2].

En el siglo XXI surgió una nueva forma de elaboración de cerveza, conocida como cerveza artesanal, que cobró auge en varios países del mundo incluido México. La tendencia de consumo actual en este nicho de mercado fue la búsqueda y consumo de productos gourmet elaborados de forma artesanal.

A diferencia de la cerveza producida en grandes masas, la artesanal es hecha de manera manual o en su defecto con un control detallado de la maquinaria, la cual se produce en cantidades menores, siguiendo una "receta" propia del artesano, dando así un sabor único, personal y distintivo [3].

Baja California se ha convertido en la capital de la cerveza artesanal ocupando el 8% de la producción nacional. No solamente es reconocida en México, sus marcas ya han rebasado las fronteras y se venden alrededor de todo el mundo. Las ciudades de Tijuana y Ensenada resaltan entre las demás, por su amplia variedad de cervecerías artesanales, lugares independientes y tradicionales, perfectos para disfrutar de una buena cerveza totalmente distinta a la que se acostumbra tomar y además totalmente mexicana. Entre ambas ciudades se producen más de 100 etiquetas de cerveza artesanal, todas ellas únicas y distintas [4]. De la infinidad de variedades en las cervezas destacan entre otras la PORTER e IPA, siendo esta primera originaria de Londres en el año 1772 conteniendo tres categorías diferentes "Brown", "Robust" y "Baltic" con estilos diferentes en cada una de ellas, de color obscura que va del marrón al negro con tonos rojizos, su graduación de alcohol oscila entre 4.5 a 5.5% en estilo seco, el estilo IPA desarrollada en el mismo país siendo una combinación de tres estilos "Brown Ale" "Porter" y "Stout" caracterizada por un grado alto de amargor y graduación alcohólica de 5.1 a 7.6%, de un color que va del dorado claro hasta el un ámbar rojizo [5].

La producción de cerveza artesanal es de 104,446 hectolitros anuales, lo que nos da una cantidad de aproximadamente 2611 toneladas de malta, la cual durante el proceso solo sufre una lixiviación, posteriormente es retirada (grano remojado) y desechada. Las cantidades

desperdiciadas son considerables, ya que no presenta un aprovechamiento en específico, sin embargo, debido a que por cada 160 litros de cerveza elaborada se utilizan alrededor de 30-40 kg de malta al pasar por este proceso, el bagazo obtenido corresponde aproximadamente al 24 % masa de la malta utilizada, generando así suficiente bagazo que puede ser reutilizable en otros productos [6]. Cabe mencionar que no se encontraron publicaciones en las cuales se mencionara el contenido nutrimental del bagazo de la cerveza, solo se mencionaba su uso como complemento rico en fibra para alimento animal y para generación de biogás [7,8].

El objetivo de este trabajo es caracterizar el bagazo de la producción de cerveza IPA y PORTER de cervecerías artesanales de Tijuana B.C para posteriormente ser utilizado como complemento en la elaboración de un producto alimenticio de consumo humano, para la elaboración de barras energéticas, pan o galletas o bien simplemente como harina de bagazo para diversas preparaciones aprovechando su alto contenido en fibra.

EXPERIMENTACIÓN

Muestreo y acondicionamiento de muestras: se trabajó con el bagazo de dos tipos de cerveza, "IPA" y "PORTER", mostradas en la figura 1, elaboradas por cervecerías artesanales de la localidad, se colectaron un total de 5 muestras de cada tipo de cerveza al finalizar su elaboración en diferente fecha de producción. Las muestras fueron colectadas y resguardadas en bolsas de cierre hermético, conservadas en refrigeración para posteriormente ser secadas por evaporación en estufa.

En la tabla 1 se observan las características principales de las cervezas artesanales seleccionadas PORTER e IPA, las cuales son preparados con malta de trigo y varían en los tipos de malta de cebada utilizada (Pale Ale, Cristal, negra, chocolate y Munich) las cuales imparten características especiales en color, olor y sabor.

Se realizó el análisis organoléptico del bagazo en húmedo y posteriormente en seco a cada una de las muestras tomadas, las cuales son mostradas en la tabla 2.

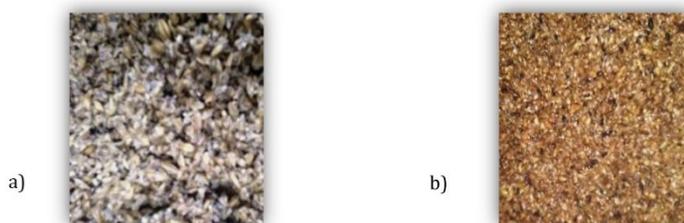


Figura 1.- Bagazo húmedo de a) IPA y b) PORTER

Tabla 1. Características de las cervezas tipo "IPA" y "PORTER" y las maltas utilizadas en su producción.

TIPO DE CERVEZA	CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES	MALTAS UTILIZADAS
IPA	De color pálido anaranjado, su graduación alcohólica 5.1 a 7.6 de alta fermentación y de sabor amargo.	Malta de trigo
		Malta Pale Ale
		Malta Cristal
PORTER	De color obscura de marrón rojizo al negro, su graduación alcohólica es de 4.5 a 5.5	Malta de trigo
		Malta Pale Ale
		Malta negra
		Malta de chocolate
		Malta Munich

Tabla 2. Características física y organoléptica de los bagazos

MUESTRAS FRESCA		
CARACTERÍSTICAS	IPA	PORTER
Color	Aperlado (Avena)	Cobrizo
Olor	Agrio	Cerveza amarga
Textura	Lechosa y blanda	Media
MUESTRAS SECAS		
CARACTERÍSTICAS	IPA	PORTER
Color	Dorado	Café
Olor	Suave (Cereal)	Fermentado fuerte
Textura	Fibrosa	Crocante
Apariencia	Parcialmente entero	mayormente cascarilla

Se realizaron los siguientes análisis bromatológicos para obtener la caracterización del bagazo:

- A) Determinación de humedad: se tomaron muestras que se encontraban en refrigeración, aproximadamente 2 g. El análisis fue determinado en termobalanza a 105° C hasta secado completo. Se registraron los valores obtenidos.
- B) Determinación de cenizas: las muestras secas fueron calcinadas con mechero hasta cenizas negras, posteriormente se terminó la calcinación en mufla a 700° C hasta cenizas blancas. Los resultados se obtuvieron en base al cálculo por diferencia

- de peso [9].
- C) Determinación de calcio y magnesio: Se utilizaron las cenizas obtenidas disolviéndolas en unas gotas de ácido nítrico, se aforaron a 100 mL y para la determinación se utilizaron alícuotas de 20 mL, el método utilizado fue titulación complejométrica con EDTA [10.]
- D) Determinación de carbohidratos totales: el método utilizado para esta determinación fue la de fenol-sulfúrico, los resultados fueron obtenidos mediante una ecuación "curva estándar de Glucosa", midiendo absorbancia en espectrofotómetro a 488 nm [11].
- E) Determinación de azúcares reductores: La técnica utilizada fue una titulación por método de Fehling [12].
- F) Determinación de grasas: se utilizaron de 2-3 g de la muestra seca utilizando el método soxhlet para la extracción de grasas, el resultado se obtuvo por diferencia de peso [13].
- G) Determinación de fibra: se colocaron 5 g de la muestra seca para la digestión la cual se realizó con H_2SO_4 y NaOH respectivamente para terminar el análisis con una calcinación donde el resultado se obtuvo por diferencia de peso [14].
- H) Determinación de proteína: se utilizó el método Kjeldahl para a determinación colocando de 0.1-0.2 g del bagazo en matraz y procediendo con la digestión con H_2SO_4 para su interpretación por absorbancia vs TKN (Total Nitrógeno Kjeldahl) en espectrofotómetro [15].
- I) Determinación de sodio: la técnica utilizada fue una titulación argentométrica con $AgNO_3$ 0.1M aplicando el método de Mohr [16].
- J) Determinación de sólidos disueltos: Se realizó una evaporación en estufa y los resultados fueron obtenidos por pérdida de peso.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cada una de las muestras fue analizada por separado obteniendo los resultados promedio que se muestran en la tabla 3, cabe mencionar que las consistencias de las muestras originales variaban por la cantidad de líquido contenido en el residuo, por lo cual se homogenizo antes de tomar la porción para la determinación de humedad y se realizó de dos puntos diferentes de la

muestra. Las muestras fueron secadas a una temperatura entre 50 y 60 °C, mezclando cada 12 horas y el tiempo de secado varió entre las muestras.

El contenido de carbohidratos totales presenta una mayor desviación estándar para ambas muestras, por lo cual se realiza un análisis de varianza a una vía, los datos fueron procesados mediante Statgraphics Centurion XVI.I. Los valores no tienen una distribución normal como se puede observar las dispersiones de cada bagazo en la figura 2.

Tabla 3. Tabla de resultados promedio de las 5 muestras por tipo de cerveza (tipo de bagazo) por análisis determinado (* muestra seca).

	Bagazo tipo PORTER (%)	Bagazo Tipo IPA (%)
Análisis	Valores ± desviación estándar.	
Humedad (muestra original)	78.27 ± 2.04	76.05 ± 0.99
Cenizas *	3.11 ± 0.18	5.21 ± 1.44
Sólidos disueltos*	1.15 ± 0.48	1.40 ± 0.33
Carbohidratos totales*	8.59 ± 5.91	6.55 ± 3.10
Azúcares reductores*	4.62 ± 2.10	4.01 ± 2.43
Grasas*	1.61 ± 0.43	4.38 ± 1.36
Fibra Cruda*	20.60 ± 0.21	15.32 ± 0.06
Proteína*	0.59 ± 0.08	0.41 ± 0.15
Cloruros como NaCl*	0.45 ± 0.05	0.98 ± 0.42

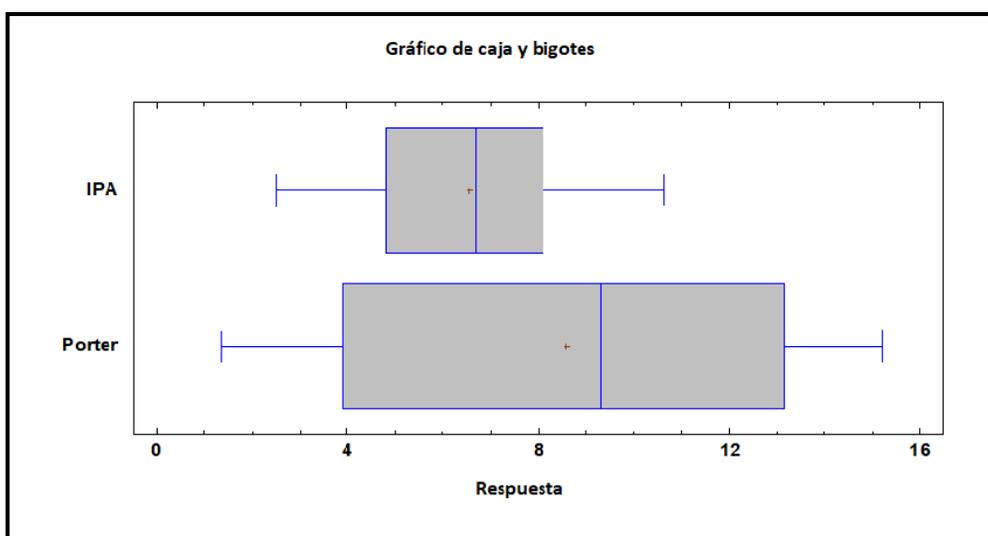


Figura 2. Diagrama de caja y bigotes al 95% confianza en la determinación de carbohidratos totales.

El bagazo de la cerveza PORTER presenta un mayor contenido fibra cruda, proteínas y carbohidratos totales, pero su contenido de azúcares reductores es menor que el que presenta el bagazo de la cerveza IPA como se puede observar en la figura 3.



Figura 3. Comparación de contenidos nutrimentales en los bagazos de la cerveza PORTER e IPA.

CONCLUSIONES

La cantidad de bagazo generado en la producción de cerveza artesanal es considerablemente alto y el contenido de humedad que presentan ambos bagazos es relativamente igual. El bagazo de la cerveza artesanal PORTER presenta características nutrimentales considerables para ser utilizado como complemento en la preparación de alimentos balanceados de consumo animal, no solo por su alto contenido de fibra, además de aprovecharlo para la elaboración de un producto para consumo humano.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería y a las cervecerías artesanales de la localidad que apoyaron esta investigación para tesis de licenciatura.

REFERENCIAS

- [1] S. Verti, El Mundo de la Cerveza, Selector (2002).
- [2] G. Recio, el Nacimiento de la Industria Cervecera en México, 1880-1910, (2004).
- [3] <https://www.debate.com.mx/mexico/tijuana-el-parairso-de-la-cerveza-artesanal-20171120-0212.html> (Consultado 10 marzo 2018)
- [4] <http://www.eluniversal.com.mx/articulo/menu/2017/08/4/7-cervecerias-artesanales-imperdibles-en-baja-california>. (Consultado 16 marzo 2018).
- [5] M. Gonzales, Principios de Elaboración De Las Cervezas Artesanales. 1 St Ed, Lulu Com, (2017)
- [6] <http://www.beerectorio.mx/p/estadisticas.html>. (Consultado el 12 marzo 2018).
- [7] C.A. Rodríguez, Producción de biogás a partir del bagazo cervecero, tesis, Universidad de Chile, (2012).
- [8] O.G. Alaniz, Adición de residuo de la industria cervecera al ensilaje de maíz como alternativa de forraje para ganado, tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional, (2018).
- [9] NMX-F-066-S-1978. Determinación de Cenizas en Alimentos
- [10] NMX-AA-072-SCFI-2001. Determinación de Dureza Total en Aguas.
- [119] S. Nielsen, Food Analysis Laboratory Manual, Kluwer Academic/Plenum Publishers (2003).
- [12] NMX-F-312-1978 Determinación de Reductores Directos y Totales en Alimentos.
- [13] NMX-F-427-1982. Determinación de Grasa (Método Hidrólisis Ácida).
- [14] NMX-F-090-S-1978. Determinación de Fibra Cruda en Alimentos.
- [15] NMX-F-608-NORMEX-2011. Determinación de Proteínas en Alimentos.
- [16] NMX-F-360-S-1981. Determinación de Cloruros como Cloruro de Sodio.

APLICACIÓN DE CELULOSA MICROCRISTALINA EXTRAÍDA DE *AGAVE SALMIANA OTTO* PARA LA ADSORCIÓN COLESTEROL

Karina Aguilar Arteaga^{1*}
Araceli Castañeda Ovando^{2*}
Fidel Pérez Moreno²
Victoriano Hernández Martínez¹
Luis Díaz Batalla¹

INTRODUCCIÓN

La celulosa es el principal componente estructural, que confiere fuerza y estabilidad a la pared celular de las plantas, formada por unidades de glucosa con enlaces β 1-4, la cual está organizada dentro de microfibras en la pared celular, interrumpida por hemicelulosa y rodeada por una matriz de lignina [1]. La mayoría de los componentes de la celulosa consisten de aproximadamente 40-55% de celulosa, 15-35% de lignina y 25-40% de hemicelulosa. En la pared celular de la planta la celulosa cristalina se encuentra incrustada con estas sustancias lo que dificulta la obtención de celulosa pura [2]. Químicamente, está confirmada por la presencia de tres grupos hidroxilo (-OH), donde los grupos hidroxilo secundarios se encuentra localizados en el C-2, y el C-3, y el grupo hidroxilo primario se encuentra localizado en el C-6. Como se muestra en la Figura 1 [3].

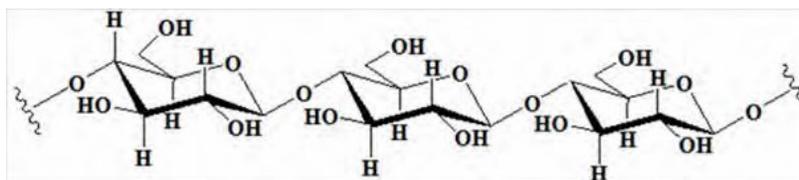


Figura 1. Representación de la estructura química de la celulosa.

¹ Universidad Politécnica de Francisco I. Madero. Ingeniería Agroindustrial. Domicilio Conocido s/n, Francisco I. Madero, 42660 Tepatepec, Hgo., México. e-mail: kaguilar@upfim.edu.mx

² Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química. Laboratorio de Físicoquímica de Alimentos 2. Ciudad Universitaria, Carr. Pachuca- Tulancingo km. 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo. México. C.P. 42184. Tel: +52 (771) 7172000 ext. 2512, Fax: +52 (771) 717 2109. e-mail: ovandoa@uaeh.edu.mx

La disposición espacial de las cadenas lineales de celulosas promueve la formación de puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo con las cadenas adyacentes resultando mayor o menor grado de cristalinidad de la celulosa. Estas regiones son denominadas regiones cristalinas donde las cadenas están ordenadas paralelamente, separadas por regiones menos ordenadas, con menor número de puentes de hidrógeno conocidas como amorfas. La celulosa amorfa es más reactiva debido a la accesibilidad a los grupos hidroxilo [4]. Se estima que la celulosa presenta aproximadamente 85% de regiones cristalinas y 15% de regiones amorfas, esta característica define el comportamiento de este biopolímero [5]. En los últimos años el campo de estudio de los biopolímeros ha tomado importancia por sus diversas aplicaciones, por ejemplo, en la elaboración de nuevos materiales, la miniaturización de componentes eléctricos, el tratamiento y/o diagnóstico de enfermedades, biocombustibles y la fabricación de textiles [6].

El presente trabajo propone la obtención y caracterización de microfibras de celulosa a partir de pencas de maguey, de desecho generadas por diferentes agroindustrias en el Estado de Hidalgo, para su aprovechamiento en la adsorción de colesterol, compuesto que pertenece al grupo de los esteroides, con un peso molecular de $386.66 \text{ g mol}^{-1}$. Esta molécula se compone de tres regiones: cola de hidrocarburos, un grupo hidroxilo, y 4 anillos de hidrocarburos (Figura 2).

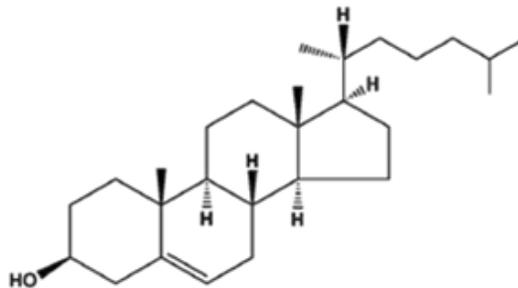


Figura 2. Estructura química del colesterol, cuya bajo polaridad se debe a la ausencia de grupos funcionales polares.

El colesterol es una molécula biológica importante en la estructura de las membranas celulares, es precursor para la síntesis de hormonas esteroideas y de ácidos biliares. El colesterol de la dieta y el que se sintetiza de nuevo transportándose y almacenándose como lipoproteínas. El depósito anormal de colesterol y de las lipoproteínas ricas colesterol en las arterias coronarias lleva a la arterioesclerosis y desarrollo de enfermedades de las arterias coronarias [7].

Los niveles de colesterol en humanos deben regularse para prevenir la sobreacumulación y el depósito anormal de colesterol en el organismo. Debido a su baja solubilidad en soluciones acuosas por su naturaleza no polar.

El presente trabajo se enfoca en el aprovechamiento de las fibras de maguey consideradas un desecho por la industria pulquera, mezcalera además de los residuos generados en la elaboración de barbacoa, que en estados del centro de México es considerada como una de las actividades económicas más importantes. Lo anterior con la finalidad de darle valor agregado a un material que se considera desecho. Por otro lado, la adsorción de colesterol en muestras alimenticias, es hoy una de las preocupaciones de la industria alimentaria, debido a los efectos adversos que representa este componente para el desarrollo de enfermedades crónicas degenerativas. Por lo que el desarrollo de materiales biodegradables que sean aprovechados para su eliminación de matrices alimenticias representa un campo importante de desarrollo.

EXPERIMENTACIÓN

Extracción y Purificación de las fibras de celulosa

Para retirar el contenido de hemicelulosa y lignina de las fibras de celulosa se siguió la metodología reportada por Polletto, M. y colaboradores [6]. Posteriormente se llevó a cabo el proceso de blanqueado en un sistema de reflujo se colocaron las fibras de celulosa con una solución de NaOH (26% p/p) y H₂O₂ (11% p/v) durante 2 h a 60 °C con agitación constante. Después del blanqueado se realizaron diversos lavados hasta que el agua de lavado tuviera un pH de 7, posteriormente se realizó el ablandamiento de las fibrillas utilizando un tratamiento térmico en autoclave a 1.2 kg/cm² (1.16141 atm) durante 15 min en medio acuoso. Después del tratamiento térmico las fibras de celulosa se secaron a 105 °C durante 90 min.

La cristalización de celulosa se realizó en 100 mL de HCl 3 mol L⁻¹ y 1 gr de celulosa, en base seca, a 60°C en agitación durante 1 h, posteriormente se realizaron lavados en agua destilada hasta alcanzar un pH neutro. La celulosa cristalizada se secó a 105°C durante 120 min. Con este procedimiento se logra un rompimiento de las fibras de celulosa para disminuir el tamaño de partícula.

Caracterización de las microfibras de celulosa

Para la caracterización se utilizaron técnicas instrumentales de análisis como la espectroscopia en el infrarrojo por transformadas de Fourier (FT-IR), la microscopía electrónica de barrido (MEB) y la termogravimetría.

Los espectros FT-IR se obtuvieron en un espectrofotómetro FT-IR Spectrum GX de Perkin Elmer y a partir de una pastilla de KBr, mezclando la muestra con KBr en relación 1:100. La morfología de las microfibras se determinó en un equipo de microscopia electrónica de barrido modelo JSM- 6300 (JEOL®, Japón). El análisis termogravimétrico se realizó en un equipo Mettler Toledo, modelo TGA/SDTA 851e capaz de registrar cambios de peso de una muestra en el rango de microgramos, alcanzando una temperatura máxima de 1600 °C. Para el análisis se emplea el software STARe versión 7.01, se emplearon crisoles abiertos de alúmina de 70 µL, en atmósfera de nitrógeno con flujo de 40 mL min⁻¹, con una velocidad de calentamiento de 10 °C min⁻¹, cambiando únicamente el rango de operación, siendo de 30 °C a 1300 °C para los análisis termogravimétricos.

Pruebas de adsorción de analitos de diferente polaridad

Para evaluar la efectividad de las microfibras de celulosa en procesos de adsorción se llevaron a cabo diversas pruebas para las cuales se utilizaron analitos de diferente polaridad se utilizaron antocianinas, colorante amaranto E-128 y finalmente colesterol.

Adsorción de colesterol: Optimización con un diseño Box-Behnken

Con la finalidad de encontrar las mejores condiciones de adsorción de colesterol sobre las microfibras de celulosa se llevó a cabo una optimización utilizando un diseño Box- Behnken, tomando como variables a optimizar la cantidad de celulosa, la concentración de colesterol y el tiempo de contacto, usando la cantidad de colesterol adsorbida como factor de respuesta. La Tabla 1 muestra los experimentos realizados para la optimización. La determinación de colesterol se llevó a cabo espectrofotométricamente, mediante una derivatización siguiendo la metodología Lieberman-Burchard, para la formación de la especie cromófora: ácido colestá-hexano-sulfónico cuya longitud de onda de máxima absorbancia es de 640 nm.

Se realizó una solución madre de 1000 mg kg^{-1} de colesterol en aceite vegetal, se pesaron 100 mg kg^{-1} , 550 mg kg^{-1} y 1000 mg kg^{-1} de dicha solución y se le agrego aceite hasta tener un peso final de 10 g, se adiciona la cantidad correspondiente de celulosa y se llevó a agitación a 500 rpm.

Posteriormente se separó la celulosa de la muestra por sedimentación

Se tomó 1 mL del sobrenadante, se añadieron $400 \mu\text{L}$ de anhídrido acético y $50 \mu\text{L}$ de H_2SO_4 aforando a 10 mL con cloroformo. Se midió la absorbancia a 640 nm, para cada una de las repeticiones y diferentes soluciones iniciales a 10%, 55% y 100% (%m/m). Los experimentos se realizaron por triplicado.

Tabla 1. Diseño experimental para la optimización de la cantidad de colesterol adsorbido sobre microfibras de celulosa

RunOrde r	PtTyp e	Block s	Celulosa, mg	Colesterol mg kg^{-1} 1	Tiempo, min
1	2	1	10	100	30
2	2	1	25	1000	50
3	2	1	10	550	10
4	2	1	10	1000	30
5	2	1	25	100	50
6	0	1	25	550	30
7	2	1	10	550	50
8	2	1	25	100	10
9	0	1	25	550	30
10	2	1	40	100	30
11	2	1	40	550	50
12	0	1	25	550	30
13	2	1	40	550	10
14	2	1	25	1000	10
15	2	1	40	1000	30

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Extracción, purificación y caracterización de las microfibras de celulosa

Con el método propuesto se logró la obtención de microfibras de celulosa mostradas en suspensión en la Figura 3a, presentan tamaño homogéneo y adecuado para ser utilizado como adsorbente en métodos dispersivos o en columnas empacadas. La Figura 3b muestra una microfotografía electrónica de barrido de las microfibras calculando un grosor promedio de 37.8 μm (10.2%DER, $n=3$).

La Figura 4 muestra los espectros infrarrojos representativos de las microfibras de celulosa nativa y celulosa cristalizada, se observan las bandas características de la celulosa a 3406 cm^{-1} para la vibración asimétrica del grupo $-\text{OH}$ presente en los ciclopiranos de las unidades de glucosa. Alrededor de los 2877 cm^{-1} y 2926 cm^{-1} se encuentran 2 bandas correspondientes a la vibración asimétrica de los grupos metilo y metileno, la banda en 1658 cm^{-1} corresponde a la vibración asimétrica del grupo carbonilo. La banda alrededor de los 1438 cm^{-1} está asociada con la estructura cristalina de la celulosa, mientras que la banda a los 941 cm^{-1} corresponde a la región amorfa de la celulosa [8]. Los espectros correspondientes a las microfibras de celulosa cristalizada no mostraron cambios en la funcionalización respecto al espectro de la celulosa nativa, por lo que se sugiere que no hubo cambios químicos estructurales en la celulosa durante el proceso de cristalización.

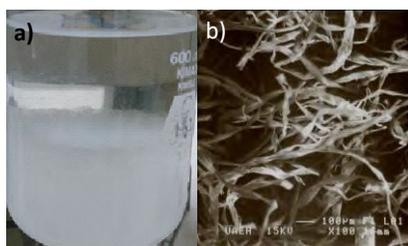


Figura 3. a) microfibras blanqueadas en suspensión acuosa y b) microfotografía de las microfibras con grosor promedio de 37.8 μm (10.2%DER, $n=3$).

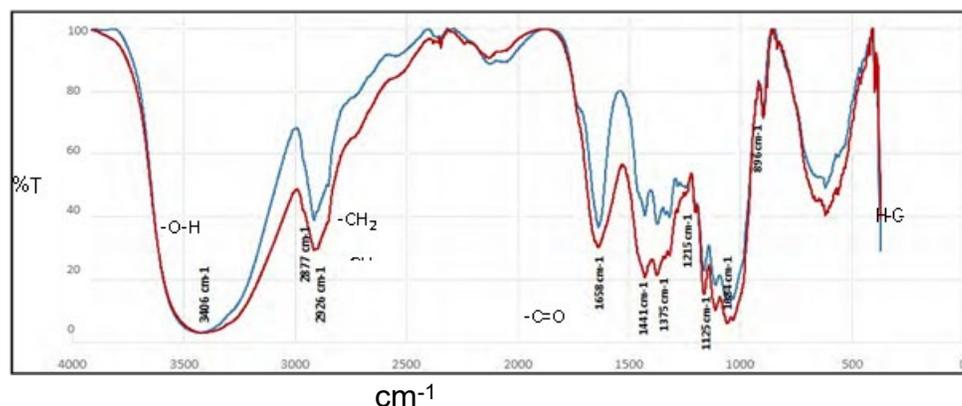


Figura 4. Espectros IR para las microfibras cristalizadas (y fibras de celulosa nativa (-))

El análisis termogravimétrico de las celulosas nativa y cristalizada mostró menor cantidad de pendientes de descomposición para la celulosa cristalizada lo que representa mayor estabilidad térmica en comparación con la celulosa nativa. La descomposición térmica para la celulosa cristalizada se produce entre los 325 °C y los 360°C, la mayor pérdida de masa se produce a los 340°C. Lo anterior demuestra que el proceso de cristalización confiera estabilidad y homogeneidad a la estructura de las fibras.

Características adsorbentes de las microfibras de celulosa

Las pruebas realizadas para la adsorción de antocianinas y colorante E-128 mostraron porcentajes de adsorción inferiores al 13% por lo que se descartaron moléculas polares llevándonos a proponer la adsorción de moléculas de baja polaridad como el colesterol. El modelo estadístico para la adsorción de colesterol presentó un coeficiente de ajuste del 70%, permitiendo alcanzar un porcentaje máximo de adsorción de 45%, cuando el tiempo de contacto era de 30 min, una concentración de colesterol de 100 mg kg⁻¹ y 40 mg de celulosa cristalizada como adsorbente. Los resultados mostrados en la Tabla 2 muestran que la cantidad de celulosa empleada como adsorbente en cada experimento es el factor determinante para la extracción de colesterol por lo que el factor principal es la cantidad de celulosa con un nivel de confianza del 95% ($p < 0.05$), ya que al utilizar una mayor cantidad de celulosa y un menor contenido de colesterol el porcentaje de extracción aumenta, mientras que el tiempo de contacto no se considera un factor determinante en el porcentaje de extracción.

Tabla 2. Resultados obtenidos para la adsorción de colesterol sobre microfibras cristalizadas de celulosa utilizando una optimización mediante un diseño experimental Diseño Box-Behnken.

RunOrder	Celulosa, mg	Colesterol mg kg ⁻¹	Tiempo, min	Ai	Af	mg kg ⁻¹
1	10	100	30	0.539	0.493	8.53
2	25	1000	50	0.617	0.431	301.46
3	10	550	10	0.575	0.516	56.43
4	10	1000	30	0.617	0.409	337.12
5	25	100	50	0.539	0.363	32.65
6	25	550	30	0.575	0.459	110.96
7	10	550	50	0.575	0.460	110.00
8	25	100	10	0.539	0.420	22.08
9	25	550	30	0.575	0.504	67.91
10	40	100	30	0.539	0.298	44.71
11	40	550	50	0.575	0.454	115.74
12	25	550	30	0.575	0.461	109.04
13	40	550	10	0.575	0.520	52.61
14	25	1000	10	0.617	0.468	241.49
15	40	1000	30	0.617	0.438	290.11

CONCLUSIONES

El análisis instrumental (MEB, FT-IR, TGA) permitió la caracterización de las fibras de celulosa nativa y microcristalina. El método de extracción y cristalización permite reducir considerablemente la polaridad de la celulosa aumentando sus características hidrofóbicas, favoreciendo el entrecruzamiento de las fibras aumentando la cristalinidad y por ende su estabilidad fisicoquímica.

El método desarrollado para la adsorción de colesterol presentó un porcentaje de extracción del 45%, bajo las mejores condiciones, optimizadas con un diseño experimental centrado Box-Behnken con un ajuste del 70%. Las mejores condiciones para la adsorción fueron de 40 mg de celulosa microcristalina, 100 mg de colesterol y 30 minutos de contacto.

REFERENCIAS

- [1] A. Dufresne, Nanocellulose: from nature to high performance tailored materials. Walter de Gruyter GmbH & Co KG. (2017).
- [2] P. Rachtanapun, S. Luankamin, K. Tanprasert, R. Suriyaterm. LWT-Food Science and Technology **48** [1], 52-58. 2012.
- [3] J. X. Sun, X. F. Sun, H. Zhao, R.C. Sun, Polymer Degradation and Stability **84**, 331- 339 (2004).
- [4] J. A. García Hortal. Fibras Papeleras, Ediciones UPC, Barcelona, Spain. (2007).
- [5] A. Mandal, D. Chakrabarty, Carbohydrate Polymers **86**, 1291-1299 (2011).
- [6] M. Poletto, L. Heitor, and A. J. Zattera, Materials, **7** [9], 6105-6119 (2014).
- [7] H. Osman, and C. Y. Kwee. Malaysian Journal of Analytical Sciences **10** [2] 205-210. (2006).
- [8] M. Åkerholm, B. Hinterstoisser, L. Salmén. Carbohydrate. Reserch **339**, 569-578 (2004).

CUANTIFICACIÓN DE TIAMINA EN LECHE POR FLUORESCENCIA

Michelle Aline Espíndola Ordoñez
Eugenia Gabriela Carrillo Cedillo*
María Del Pilar Haro Vázquez¹

INTRODUCCIÓN

La tiamina (vitamina B1) es esencial para la salud de todos los organismos vivos, su deficiencia se ha asociado durante mucho tiempo con enfermedades en animales como peces, aves, lagartos y mamíferos domesticados. La tiamina también está implicada en varias enfermedades humanas incluyendo Alzheimer, diabetes, demencia, depresión y, más notablemente, síndrome de Wernicke-Korsakoff y enfermedad de Beriberi. Sin embargo, sigue siendo un desafío analítico encontrar un método de detección altamente sensible y específico para tiamina, ya que se requiere su cuantificación a niveles de pM (pico molar) a nM (nano molar) en muestras de diferentes procedencias, y la detección rápida en el sitio sería altamente deseable [1]. Existen métodos analíticos basados en la ventaja de la carga catiónica de la tiamina a través del intercambio iónico para técnicas de aislamiento y separación [2], su detección basada en su actividad en la región del ultravioleta (UV) [3], y en la capacidad de ser oxidada y ser detectada por fluorescencia y quimioluminiscencia [4,5]. Otros métodos por HPLC son utilizados usando gradiente o derivatización postcolumna [6]. La *Food Agriculture Organization* (FAO por sus siglas en inglés) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomiendan consumir 0.4 mg por cada 1000 kcal de ingesta, para la mayoría de las personas [7]. La Ingestión Diaria Recomendada (IDR) ponderada para la población mexicana de acuerdo a la NOM-247- SSA1-2008 es 800 µg [8].

¹ Universidad Autónoma de Baja California, FCQI, Tijuana B.C. México, Calzada Universidad No.14418 Parque Industrial Internacional Tijuana B.C. C.P. 22390, Tel (664) 9797505 Ext. 54317 Fax (664) 6822790, e-mail: michelle.espindola@uabc.edu.mx, gaby@uabc.edu.mx*

El objetivo de este trabajo es determinar el contenido de tiamina presente en una muestra comercial de leche aplicando el método modificado en la NMX-247-SSA1-2008 [8], aplicando un diseño factorial mixto 3×2 con tres puntos centrales de resolución V para optimizar el volumen del ferricianuro alcalino con el fin de incrementar señal de fluorescencia en la muestra analizada.

EXPERIMENTACIÓN

Equipos: Equipo Fluorómetro (Turner Quantech IR Fluorometer) Balanza analítica (Mettler Toledo), Centrifuga (IEC Centra CL2), Micropipetas Eppendorf (10- 100 μL y 100-1000 μL).

Reactivos: Ácido clorhídrico (J.T. Baker), Clorhidrato de tiamina (Eastman), Ferricianuro de potasio (J.T. Baker) Hidróxido de sodio (productos químicos de Monterrey) Alcohol isopropílico (Fermont), Sulfato de Sodio Anhidro (Sigma-Aldrich), Cloruro de Sodio (Sigma-Aldrich).

Metodología: Primeramente, se realizaron cinco curvas de calibración con el estándar de clorhidrato de tiamina en diferentes días para verificar la respuesta de la señal analítica en un intervalo de 20 a 320 $\mu\text{g L}^{-1}$ y se obtuvieron los datos mostrados en la tabla 1.

Tabla 1. Curva de calibración para Clorhidrato de Tiamina

Tiamina ($\mu\text{g L}^{-1}$)	FIU
20	590.7
40	1092.7
60	1646.7
80	2144.7
100	2651.9
140	3663.7
180	4869.9
200	5704.8
320	8967.7

Procesamiento de muestra

Para eliminar las proteínas se utilizó 50 mL de muestra y se le adiciono 20 mg ácido cítrico, se separaron las fases y se filtró y el sobrenadante se utilizó para realizar el diseño de experimentos.

Posteriormente se utilizó un diseño factorial mixto 3×2 con tres puntos centrales, con 4 grados de libertad y resolución V, en la Tabla 1 se muestra la señal analítica obtenida en FIU (unidades de intensidad de fluorescencia), el volumen adicionado en µL de muestra procesada y de ferricianuro alcalino, los cuales fueron aforados en matraces volumétricos de 10 mL con agua desionizada.

Tabla 1. Diseño factorial mixto 3×2 con tres puntos centrales

Muestra procesada µL	Ferricianuro alcalino (Fa) µL	FIU
200	200	158
1700	600	1104
3200	1000	1852
1700	600	1100
1700	600	1107
1700	1000	1230
1700	200	380
200	1000	180
3200	200	510

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La cuantificación se basa en la reacción descrita en la NMX-247-SSA1-2008, en la cual la tiamina se transforma en tiocromo, las variantes propuestas son eliminar la extracción con disolvente orgánico y el HPLC, utilizando directamente el fluorómetro.

La tiamina no posee fluorescencia nativa por lo cual se le añade Fa para oxidarla a tiocromo como se muestra en la figura 1, este último produce una luz azul fluorescente que es medida con una $\lambda_{\text{excitación}} = 360 \text{ nm}$ y una $\lambda_{\text{emisión}} = 430 \text{ nm}$.

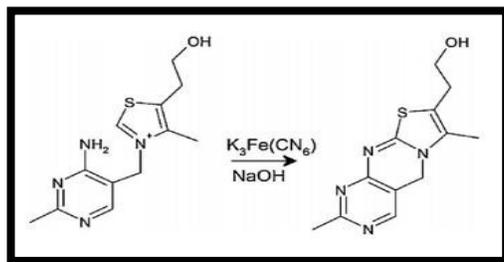


Figura 1. Reacción de oxidación de tiamina a tiocromo usando ferricianuro bajo condiciones alcalinas [1].

En la figura 2 se muestra el efecto que tiene el volumen adicionado del Fa en el volumen de muestra procesada, a mayor volumen de Fa mayor señal fluorescente (FIU).

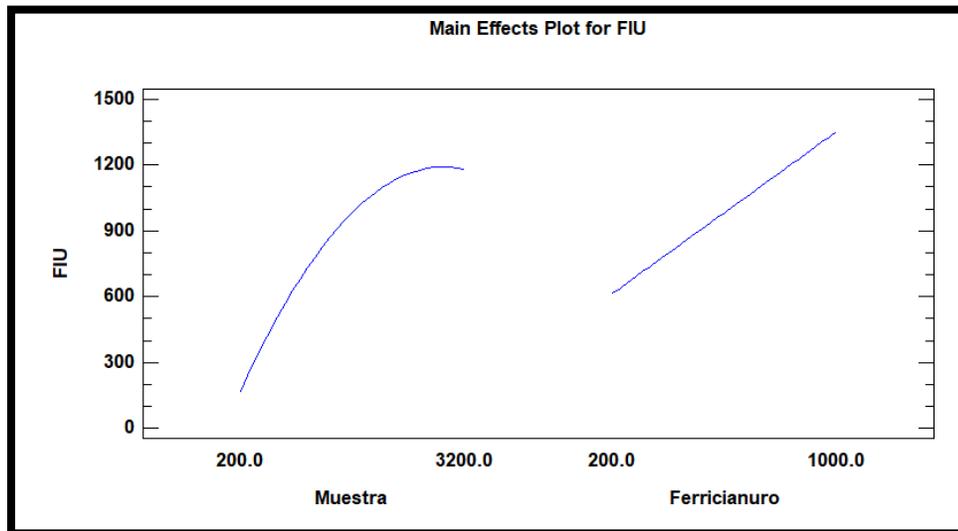


Figura 2. Gráfico de efectos principales

Con el diseño factorial se obtiene la ecuación de regresión lineal múltiple (1) con la cual se puede predecir la intensidad de fluorescencia si se cambia el volumen adicionado de Fa con un coeficiente de determinación de $r^2 = 0.9552$ $FIU = 21.0831 + 0.474569 * Muestra - 0.0125 * Fa - 0.000137422 * Muestra^2 + 0.00055 * Muestra * Fa$ (1)

En la figura 3 se muestra el gráfico de superficie de respuesta que predice el cambio de intensidad de fluorescencia.

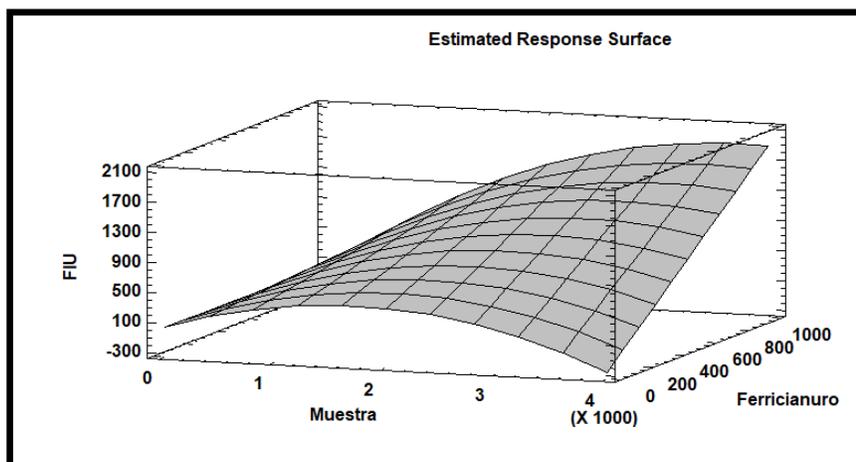


Figura 3 Gráfico de superficie de respuesta para FIU

Para realizar la linealidad del sistema [9] se prepararon estándares de clorhidrato de tiamina con concentraciones descritas en la tabla 1, utilizando 1000 μL de la disolución de Fa aforando a 10 mL, obteniendo la siguiente ecuación de regresión lineal (2) con un coeficiente de determinación de 0.9990:

$$\text{FIU} = 26.458 * [\text{tiamina } \mu\text{g L}^{-1}] + 36.650 \quad (2)$$

En la figura 4 se muestran los resultados obtenidos para la linealidad del método con su respectiva ecuación de regresión y coeficientes.

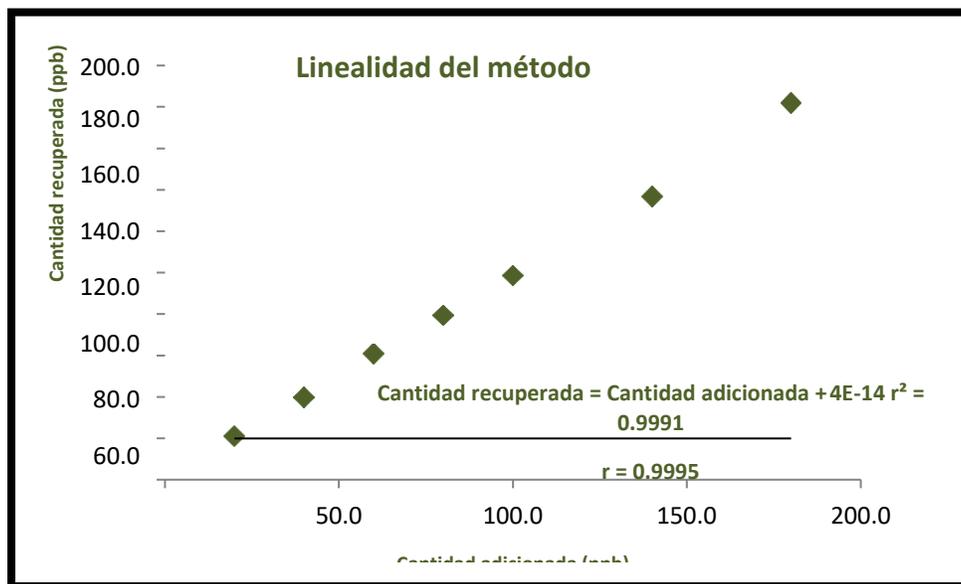


Figura 3. Linealidad el método

Aplicación del método a muestras de leche, se analizaron 3 diferentes lotes y los resultados se muestra en la tabla 5, previamente se realizó la eliminación de proteínas como se aprecia en la figura 4 y descrito en el procesamiento de muestra.



Figura 4. Eliminación de proteínas en la leche

Tabla 5. Determinación de tiamina en leche (Nutri Leche)

Número de Lote	Fecha de caducidad	Cantidad encontrada $\mu\text{g}/250\text{mL}$
J10S5ESYA	07 Feb 2018	201.9
TM1GNORAB	13 Jun 2018	213.7
B0956ERAD	09 Jun 2018	212.6

CONCLUSIONES

Se logró cuantificar tiamina a partir de muestras de leche comerciales de 3 diferentes lotes cuyo nombre es Nutri Leche la cual indica en su etiqueta que contiene 230 μg por cada 250 mL de leche por fluorescencia mediante la oxidación de tiamina a tiocromo. Los valores obtenidos están por debajo de lo indicado en la etiqueta, pero dentro de lo establecido por la OMS y la FAO.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma de Baja California

REFERENCIAS

- [1] A.K. Edwards, N. Tu-Maung, K. Cheng, B. Wang, A.J. Baeumner, C.E. Kraft. Thiamine Assays—Advances, Challenges, and Caveats, *Chemistry Open* **6** 178-191 (2017)
- [2] D.S. Herr, Synthetic Ion Exchange Resins in the Separation, Recovery, and Concentration of Thiamine. *Ind. Eng. Chem* **37** [7] 631- 634 (1945).
- [3] M. Gratacós-Cubarsí, C. Sárraga, M. Clariana, J.A. García Regueiro, M. Castellari. Analysis of vitamin B1 in dry-cured sausages by hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) and diode array detection. *Meat Science*. **87**, 234–238 (2011).
- [4] N. Grekas, A.C.Calokerinos. Determination of thiamine by continuous flow chemiluminescence measurement. *Talanta* **37** [11] 1043-1048 (1990).
- [5] C. Zhanga, G. Zhoua, Z. Zhanga, M. Aizawab. Highly sensitive electrochemical luminescence determination of thiamine. *Analytica Chimica Acta* **394**, [2–3], 165-170 (1999).
- [6] E. Pinto, M. Pedersén, P. Snoeijs, L. Van Nieuwerburgh, P. Colepicolo. Simultaneous Detection of Thiamine and Its Phosphate Esters from Microalgae by HPLC. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **291**, 344–348 (2002)
- [7] M.C. Latham. *Nutrición Humana en el Mundo en Desarrollo (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) Colección FAO: Alimentación y Nutrición* **29** Capitulo 11 (2002).
- [8] Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008, Productos y servicios. Cereales y sus productos. Cereales, harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas (2009).
- [9] Guía de validación de métodos analíticos. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México A.C (2002).

DETERMINACIÓN ELECTROQUÍMICA DE LA TARTAZINA UTILIZANDO UN ELECTRODO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO CON NANOTUBOS DE CARBONO MULTIPARED TIPO BAMBÚ

Selene Irisais Rivera Hernández¹

Gerardo Vázquez Huerta^{1*}

Silvia Corona- Avendaño

Manuel Eduardo Palomar Pardavé¹

Mario Romero-Romo¹

María Teresa Ramírez Silva²

María Elena Páez Hernández³

INTRODUCCIÓN

La Tartrazina (FD&C Amarillo 5, E102) es un colorante sintético de origen azoico ampliamente utilizado en la industria alimentaria, se adiciona en forma de sal sódica a bebidas carbonatadas, jugos, néctares, helados, polvos para preparar bebidas y gelatinas, productos de repostería y confitería, principalmente [1]. A pesar de considerarse un aditivo GRAS (generalmente reconocido como seguro, por sus siglas en inglés) en algunos países su uso se encuentra restringido puesto que su consumo se ha vinculado a intolerancias alimentarias (urticaria) en personas hipersensibles [2]. Con la finalidad de asegurar la salud del consumidor la FDA (Food and Drug Administration) recomienda una ingesta máxima de 200 mg al día de este aditivo, en el caso de México la legislación establece una máxima concentración en bebidas no alcohólicas de 100 mg L⁻¹ [3]. Por razón es de suma importancia contar con métodos analíticos que permitan la

¹ Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco. Departamento de Materiales. Avenida San Pablo No. 180, Colonia Reynosa-Tamaulipas. C.P 02200. Ciudad de México, e-mail: *gerardovazquez12@gmail.com

² Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Departamento de Química. Área de Química Analítica. San Rafael Atlixco 186, Iztapalapa, Vicentina, 09340 Ciudad de México, e-mail: mtrs218@hotmail.com

³ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química. Carretera Pachuca-Tulancingo. Km 4.5. C.P 41184. Mineral de la Reforma. Hidalgo, e-mail: paezh@uaeh.edu.mx

cuantificación de la Tartrazina de forma precisa, sencilla, rápida y con costos menores comparados con las técnicas empleadas con frecuencia (HPLC y espectrofotometría) UV-Vis [4-5]. Debido a que la Tartrazina presenta actividad redox, una alternativa viable para la determinación es el uso de sensores electroquímicos, en donde destacan por su uso los electrodos de pasta de carbono (EPC), los cuales pueden ser modificados fácilmente con diferentes materiales, siendo en la actualidad uno de los más empleados los nanotubos de carbono multipared tipo bambú (NTCB) ya que presentan mayor actividad catalítica y velocidad de transferencia de electrones debido a los grupos $-OH$ presentes en las ramificaciones, lo permite una mayor respuesta en la señal electroquímica de interés y en algunos casos el desplazamiento de las señales a valores de potenciales menores [6]. Aprovechando las ventajas de este material, en este trabajo se propone la determinación de la Tartrazina empleando un EPC modificado con NTCB (EPC/NTCB).

EXPERIMENTACIÓN

Las soluciones se prepararon con agua desionizada $18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$, obtenida de un desionizador Mili Q. Como electrolito soporte se utilizó $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaCl}$, $\text{pH}=6.0$, la solución madre empleada fue $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ Tartrazina/ $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaCl}$.

El EPC fue construido mezclando polvo de grafito y aceite mineral en una proporción 1:1 de acuerdo a lo reportado en la literatura [7]. La modificación del electrodo consistió en depositar en la superficie del EPC $40 \mu\text{L}$ de una dispersión de NTCB (NanoLab, 95%, $\varnothing 30 \text{ nm}$, $l=1-5 \mu\text{m}$), posteriormente se llevó a secado durante 5 minutos a una temperatura de 40°C .

Los experimentos electroquímicos (voltamperometría cíclica VC y voltamperometría diferencial de pulso VDP) se realizaron en un potenciostato-galvanostato AUTOLAB 30. Se empleó una celda electroquímica típica de tres electrodos: un alambre de platino como contraelectrodo, como referencia Ag/AgCl ($3 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaCl}$) y como electrodos de trabajo EPC y EPC/NTCB (Área geométrica $=1.95 \times 10^{-3} \text{ m}^2$).

Se realizó un estudio de velocidad de barrido empleando una ventana de potencial de $0.0-1.0 \text{ V}$ en un intervalo de $0.01-0.3 \text{ V s}^{-1}$.

Para el estudio de variación de concentración se empleó (VDP) barriendo a una velocidad de 0.020 V s^{-1} . Con los datos obtenidos se construyó la curva de calibrado con la cual se

calcularon los parámetros analíticos, límite de detección (LD), límite de cuantificación (LC), intervalo de linealidad y sensibilidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestran los voltamperogramas cíclicos obtenidos para la solución blanco ($0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaCl}$, $\text{pH}=6$) utilizando el EPC (línea negra) y el EPC/NTCB (línea verde), en ambos casos se observa que el electrolito soporte no presenta procesos redox. Con el electrodo modificado la corriente capacitiva aumenta, este comportamiento se encuentra asociado al aumento del área electroactiva del electrodo de trabajo.

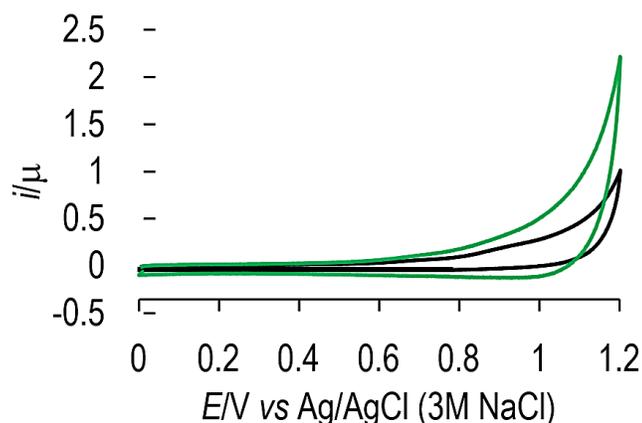


Figura 1. Voltamperogramas cíclicos para $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaCl}$ / EPC (línea negra), $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaCl}$ /EPC /NTCB (línea verde). Velocidad de barrido 0.1 V s^{-1} .

En la Figura 2 se muestran los voltamperogramas para el sistema $2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ Tartrazina/ $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaCl}$, al realizar el barrido en sentido anódico se encontró el pico de oxidación (asociado al grupo enol (inserto)) en un potencial 0.89 V , para ambos

electrodos. Sin embargo, con el electrodo modificado (EPC/NTCB) la intensidad de corriente de pico anódico es mayor, lo que indica una mayor sensibilidad. Al invertir el sentido del barrido no se encontraron señales catódicas por lo que el proceso es irreversible.

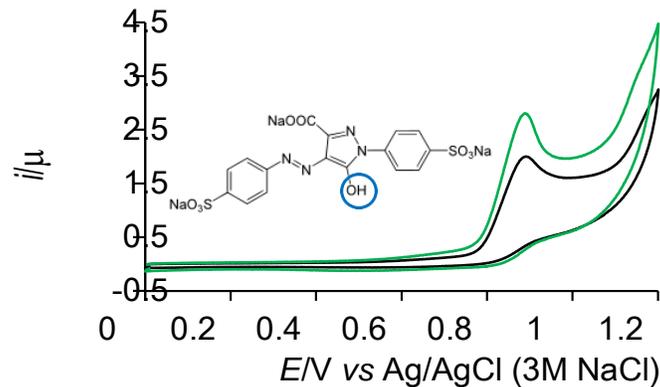


Figura 2. Voltamperogramas cíclicos para el sistema $2.0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ Tartrazina / 0.1 mol L^{-1} NaCl / EPC (línea negra), NaCl / EPC / NTCB (línea verde). Velocidad de barrido 0.1 V s^{-1} . Estructura química de la Tartrazina (inserto).

Posterior a la identificación del proceso redox de la Tartrazina se realizó el estudio de velocidad de barrido, en la Figura 3a se muestra la familia de voltamperogramas cíclicos obtenidos al utilizar el EPC, se observa que al incrementar la velocidad de barrido, la corriente aumenta, se observa también un ligero desplazamiento del pico anódico a potenciales mayores, comportamiento típico de un proceso irreversible.

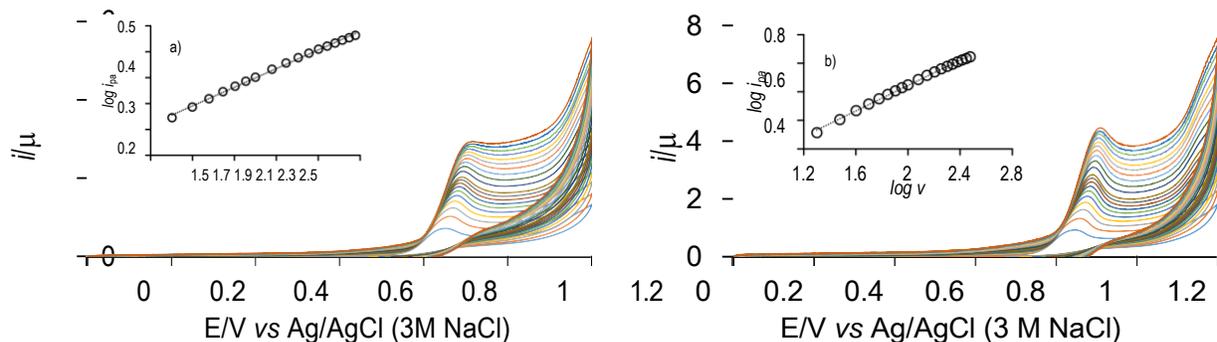


Figura 3. Familia de voltamperogramas cíclicos para los sistemas, $2.0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ Tartrazina/ 0.1 mol L^{-1} NaCl, a) EPC, b) EPC/NTCB. Intervalo de velocidad de barrido $0.01\text{-}0.3 \text{ V s}^{-1}$.

Cuando se grafica el logaritmo de la intensidad de pico anódico i_{pa} en función del logaritmo de la velocidad de barrido y se realiza el ajuste lineal se obtuvo un coeficiente de determinación $r^2=0.9977$, $\log i_{pa}= 0.3697 \log v (\log i_{pa})-0.4204(\log v)$ (inserto), el valor de la pendiente indica que el proceso de transferencia de masa se rige por la difusión [8]. En la Figura 3b se muestra la familia de voltamperogramas cíclicos para el EPC/NTCB, en donde el comportamiento es similar

al mostrado por el EPC, al realizar el ajuste lineal se obtuvo un coeficiente de determinación $r^2=0.9977$, $\log i_{pa}= 0.4457 \log v (\log i_{pa})-0.4479 (\log v)$ (inserto) por lo que el proceso de transferencia de masa también se encuentra regido por la difusión.

Posteriormente se realizaron las curvas de calibrado para cada uno de los electrodos, en la Figura 4 se muestra la familia de voltamperogramas diferenciales de pulso al utilizar el EPC, la concentración de Tartrazina se varió en un intervalo de $[2.99 \times 10^{-6} - 1.47 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}]$, se observa que al añadir el colorante al sistema, la intensidad de pico anódico generada aumenta, ya que esta propiedad es proporcional a la concentración de Tartrazina en el sistema, lo cual se corroboró al graficar la corriente de pico anódico i_{pa} en función de la concentración de Tartrazina [TRZ] (Figura 4b) y se obtuvo la siguiente ecuación de la recta:

$$i_{pa}=0.0393 \mu\text{A}\mu\text{M}^{-1}[\text{RA}]+2.0 \times 10^{-5} \mu\text{A}, \text{ con un } r^2=0.9923.$$

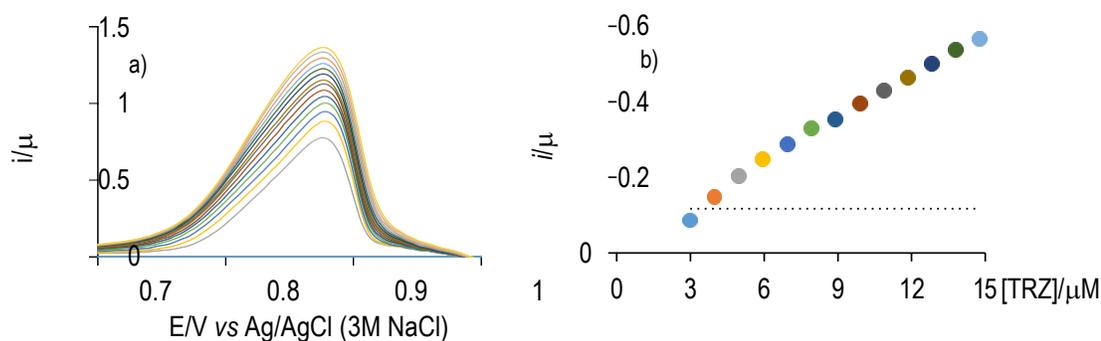


Figura 4. a) Familia de voltamperogramas diferenciales de pulso para el intervalo $2.99 \times 10^{-6} - 1.47 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, Tartrazina/ $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaCl}$, EPC. Velocidad de barrido 0.02 V s^{-1} . b) Ajuste lineal al graficar $i_{pa}/\mu\text{A}$ vs [Tartrazina]/ μM .

En la Figura 5a se observa la familia de voltamperogramas diferenciales de pulso para el EPC/NTCB, en donde se utilizó un intervalo de concentraciones más bajo $[9.99 \times 10^{-8} - 1.08 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}]$ Tartrazina/ $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaCl}$, al construir la curva de calibrado (Figura 5b) y realizar el ajuste lineal se obtuvo la siguiente ecuación de la recta:

$$i_{pa}=0.7355 \mu\text{A}\mu\text{M}^{-1}[\text{TRZ}]+0.067 \mu\text{A}, \text{ con un } r^2=0.9917.$$

Al emplear el electrodo modificado se obtuvo una mayor pendiente por lo que el electrodo presenta mayor sensibilidad.

A partir de las curvas de calibrado construidas se calcularon los parámetros analíticos mostrados en Tabla 1. Se observa que con ambos electrodos es posible la cuantificación de la

Tartrazina, sin embargo, con el electrodo modificado es posible realizar la determinación en concentraciones más bajas. Los parámetros analíticos reportados en este trabajo pueden ser comparados con los reportados en la literatura al emplear métodos electroquímicos. Algunos electrodos presentan límites de detección menores, sin embargo, requieren modificaciones que implican mayor uso de reactivos y tiempos largos de preparación, por lo que los electrodos propuestos en este trabajo resultan una alternativa para la determinación de Tartrazina.

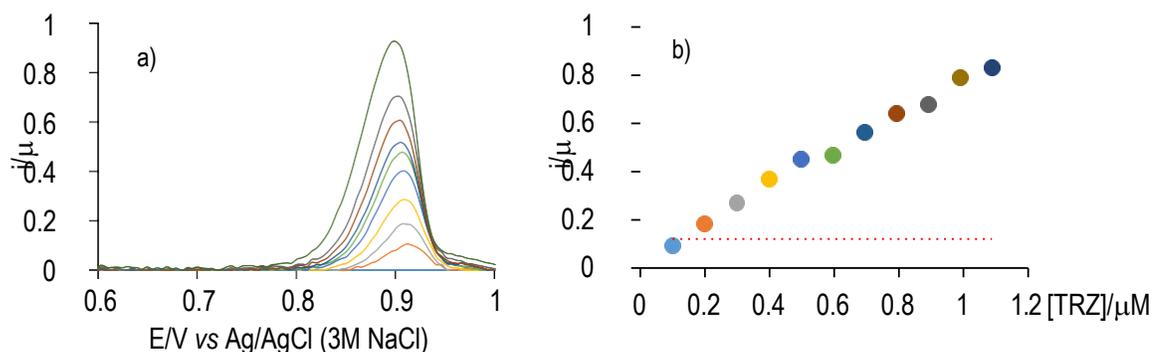


Figura 5. a) Familia de voltamperogramas diferenciales de pulso para el sistema 9.99×10^{-8} - 1.08×10^{-6} mol L⁻¹ Tartrazina /0.1 mol L⁻¹ NaCl, EPC. Velocidad de barrido 0.02 V s⁻¹. b) Ajuste lineal al graficar i_{pa} vs [Tartrazina]/ μ M.

Tabla 1. Parámetros analíticos calculados para la Tartrazina con diferentes electrodos de trabajo.

Electrodo	LD* (mol L ⁻¹)	LC** (mol L ⁻¹)	Sensibilidad (μ A/ μ M) μ M
EPC	1.05×10^{-6}	3.51×10^{-6}	0.03
EPC/NTCB	1.58×10^{-7}	3.16×10^{-7}	0.73
EPC/CTAB (Electrodo selectivo a iones) [9]	3.2×10^{-7}	-	16.8 (mV/década)
EPC/nanopartículas de oro [10]	2.0×10^{-9}	-	0.06
Electrodo de oro modificado con quitosano/ nanopartículas de óxido de calcio/ nanotubos de carbono multipared [11]	0.9×10^{-6}	-	0.04

n=3

* $(3S_b + Y_b)$

** $(10S_b + Y_b)$

σ = Desviación estándar del blanco

Y_b =Señal del blanco

CONCLUSIONES

Al utilizar los electrodos EPC y NTCB se determinó el proceso redox de la Tartrazina, el cual es irreversible al solo encontrarse la señal asociada a la oxidación, con ambos electrodos el pico anódico se situó en 0.89 V. En cuanto al proceso de transferencia Utilizando el EPC y EPC/NTCB se determinó el proceso redox del colorante, el cual es irreversible, el potencial de oxidación del Rojo Allura se encontró en 0.77 y 0.70 V, respectivamente. En ambos casos el proceso de transferencia de masa se encuentra regido por la difusión.

En cuanto a los parámetros analíticos, el EPC/NTCB presentó mejoras con respecto a los obtenidos con el EPC, por lo que la modificación del EPC es una estrategia viable para la cuantificación de Tartrazina.

AGRADECIMIENTOS

SIRH (286216) agradece al CONACyT por el apoyo financiero otorgado para realizar los estudios de Doctorado. SCA, GVH, MRR, MEPP, MEPH agradecen al SNI por la distinción otorgada y a SEP PRODEP por la RED "RedNIQAE".

REFERENCIAS

- [1] The United States Pharmacopeial Convention. Tartrazine. Monographs. Food Chemical CODEX. (2010).
- [2] M. O. Elhkim, F. Héraud, N. Bemrah, F. Gauchard, T. Lorino, C. Lambré, J. M. Frémy, J. M. Poul. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **47**, 308-316 (2007).
- [3] Norma Oficial Mexicana NOM-038-SSA1-1993. Bienes y Servicios. Colorantes Orgánicos Sintéticos. Especificaciones Sanitarias Generales.
- [4] N. Yoshioka, K. Ichihashi. *Talanta*, **74**, 1408-1413 (2008).
- [5] P. López de Alba, L. López-Martínez, V. Cerdà, L. M. De León-Rodríguez. *Química Analítica*, **20**, 63-72 (2001).
- [6] E. Frackowiak, F. Béguin. *Carbon*, **40**, 1775-1787 (2002).
- [7] M. T. Ramírez, M. E. Palomar, I. González. A. Rojas-Hernández. *Electroanalysis*, **7**, 184-188 (1995).
- [8] D. K. Gosser. *Cyclic Voltammetry. Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms*. VCH Publishers. Estados Unidos de América. (1993).
- [9] S. H. M. Abu, G. N. Abu, M. S. Saadeh, H. H. El. *Food Chemistry*, **138**, 126-132 (2013).
- [10] G. S. Medhi, M. Behpour, M. Golestaneh. *Food Chemistry*, **132**, 637-641 (2012).
- [11] R, Kobun, S. Siddiquee, S. M. D. Shaarani. *Transactions on Science and Technology*. **3**, 176-180 (2016).

DETERMINACIÓN DE HIERRO TOTAL EN VINO BLANCO POR ANÁLISIS DE INYECCIÓN EN FLUJO

Eugenia Gabriela Carrillo Cedillo*
María del Pilar Haro Vázquez¹

INTRODUCCIÓN

La calidad del vino depende de la combinación de muchos factores relacionados con su composición química. En particular, la presencia de iones inorgánicos en el vino es de gran interés, porque en algunos casos, son oligoelementos que también están relacionados con la estética y propiedades del producto final; sin embargo, en concentraciones más altas muchos de ellos se vuelven tóxicos. El hierro es encontrado en cantidades sustanciales en todas las variedades de uvas y vinos y es uno de sus principales componentes metálicos. En general, la presencia de hierro (Fe) en el mosto se asocia con la concentración Fe en el suelo y en las uvas. Sin embargo, otras posibles fuentes de contaminación por Fe en el vino incluyen la cosecha de uva, el transporte, la fermentación, el almacenamiento en tanques, entre otros. Una consecuencia de estos hechos es que la concentración de Fe de los vinos comerciales varía considerablemente, con concentraciones promedio en el rango de 0.5 a 5 mg L⁻¹ [1].

La evaluación del contenido de Fe en los vinos es de gran importancia ya sea debido a los cambios en la estabilidad que puede causar y sus efectos sobre la oxidación y envejecimiento del vino. Las concentraciones de hierro superiores a 10 mg L⁻¹ producen turbidez y cambios de color que afectan negativamente las propiedades organolépticas del vino [2].

En este trabajo se evaluó una configuración de inyección en flujo (FIA) para determinar hierro total espectrofotométricamente a 510 nm por la formación de un complejo naranja en presencia de 1,10 fenantrolina, en Vino Blanco Zinfandel L.A. Cetto del Valle de Guadalupe de Baja California México, en Vino tipo Lambrusco que de acuerdo con la definición de la NOM-199-

¹ Universidad Autónoma de Baja California, FCQI, Tijuana B.C. México, Calzada Universidad No.14418 Parque Industrial Internacional Tijuana B.C. C.P. 22390, Tel (664) 9797505 Ext. 54317 Fax (664) 6822790, e-mail: gaby@uabc.edu.mx*

SCFI-2017 [3], es el vino espumoso con denominación de origen, regulado por la legislación aplicable en el país de origen (República Italiana) y Vino Dulce Dulzino Moscato Blanco (Chile) con la finalidad de comparar el contenido de hierro total entre los vinos de diferentes países, para evaluar la configuración FIA se utilizó un diseño factorial 2^4 , este tipo de diseño tiene un resolución $V +$ esto indica que el diseño tiene una resolución superior a 5, lo que permite la estimación de interacciones de orden 3 o superior si se desea [4].

EXPERIMENTACIÓN

Equipos: Espectrofotómetro (HACH, modelo DR 5000) equipado con una celda de flujo de 10 mm (Agilent Technologies) para cuantificar el producto de reacción a 510 nm, Balanza Analítica (PB303-S Mettler Toledo), Bomba Peristáltica (Watson-Marlow Modelo 403U/VM4), Baño ultrasónico (Branson 2510 Ultrasonic Cleaner), Computadora con paquete estadístico Statgraphics Centurion XVI.I

Reactivos: Cloruro de 1,10-fenantrolina monohidratada [2.5×10^{-3} mol L^{-1}]*, hidrosulfito de sodio, citrato de sodio, sulfato ferroso heptahidratado (Sigma-Aldrich).

Se aplicó un diseño factorial 2^4 con 8 grados de libertad y tres puntos centrales, para evaluar la configuración de análisis por inyección en flujo, en la tabla 1 se muestra las variables seleccionadas.

Tabla 1. Diseño Factorial 2^4

E	Caudal mL/min	Longitud Reactor cm	Inyección μ L	1,10 Fenantrolina* mL/100 mL	E	Caudal mL/min	Longitud Reactor cm	Inyección μ L	1,10 Fenantrolina* mL/100 mL
1	1.0	50	200	2.0	11	1.0	50	100	5.0
2	0.5	50	200	2.0	12	0.8	150	140	3.5
3	1.0	200	100	5.0	13	0.5	200	200	5.0
4	1.0	200	200	2.0	14	1.0	200	200	5.0
5	1.0	200	100	2.0	15	0.5	50	100	5.0
6	0.5	200	200	2.0	16	0.5	200	100	5.0
7	0.5	200	100	2.0	17	1.0	50	200	5.0
8	0.5	50	200	5.0	18	1.0	50	100	2.0
9	0.8	150	140	3.5	19	0.5	50	100	2.0
10	0.8	150	140	3.5					

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para realizar la reacción se usó el procedimiento descrito por Mortatti et. al. [5]. Esta reacción procede en un amplio rango de pH de 2.0 a 9.0 en una relación molar de 3:1 (R: Fe^{+2}). La máxima de absorbancia del complejo se observa en los 510 nm y su absortividad molar ($\epsilon_{510 \text{ nm}}$) es de $1.1 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Se realizó una modificación utilizando como agente reductor al hidrosulfito de sodio como lo menciona Conley et. al. [6]. Una vez terminada la reacción se determina la longitud de onda máxima del complejo formado de $1.2 \text{ mg L}^{-1} \text{ Fe}^{+2}$ -1,10-fenantrolina, los resultados se muestran en la figura 1, obteniendo un valor de $\lambda_{\text{máxima}} = 510 \text{ nm}$.

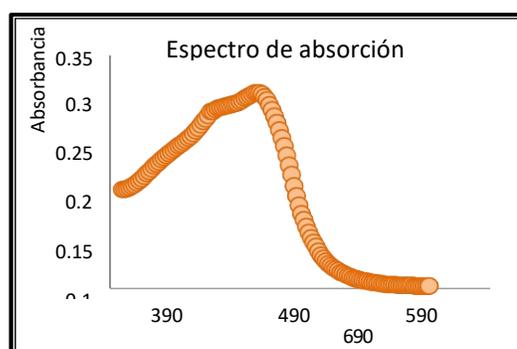


Figura 1. Espectro de absorción del complejo Fe^{+2} -1,10-fenantrolina [$2.15 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$: $8.8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$].

La configuración utilizada en la determinación de hierro total se puede apreciar en la figura 2.

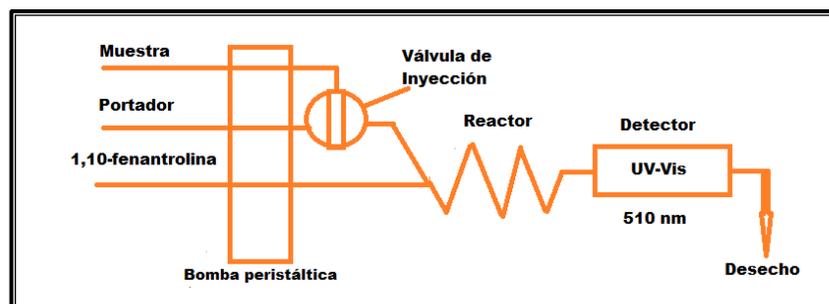


Figura 2. Configuración del sistema FIA

En la figura 3 se muestra la influencia de las variables estudiadas, y en la tabla 2 se puede observar las variables con significancia estadística.

Tabla 2. Análisis de Varianza para el diseño 2⁴

Fuente	SC	gl	MC	Dist. F	Valor p
A:Caudal	6.8063E-05	1	6.8063E-05	10.12	0.0130
B:Reactor	5.3566E-06	1	5.3566E-06	0.8	0.3982
C:Inyeccion	0.00437284	1	0.00437284	650.3	0.0000
D:1,10 Fenantrolina	6.0063E-05	1	6.0063E-05	8.93	0.0174
AB	6.25E-08	1	6.25E-08	0.01	0.9256
AC	1.0563E-05	1	1.0563E-05	1.57	0.2455
AD	2.2563E-05	1	2.2563E-05	3.36	0.1044
BC	5.8426E-05	1	5.8426E-05	8.69	0.0185
BD	3.0625E-06	1	3.0625E-06	0.46	0.5188
CD	5.0625E-06	1	5.0625E-06	0.75	0.4108
Total error	5.3795E-05	8	6.7244E-06		
Total (corr.)	0.00465916	18			

SC=suma de cuadrados, MC=media de cuadrados, gl=grados de libertad

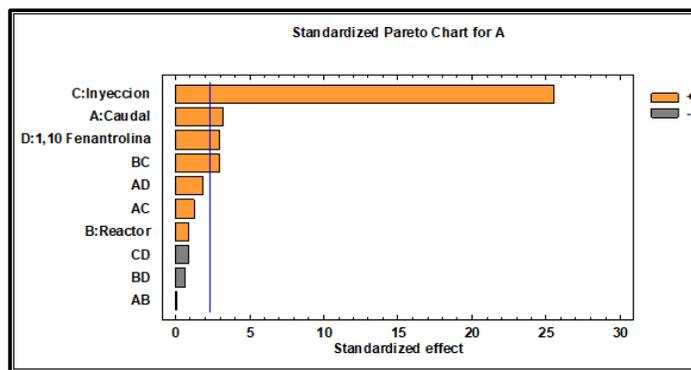


Figura 3. Diagrama de Pareto obtenido del diseño 2⁴ [4].

En el gráfico de cubo se puede determinar la absorbancia que se obtendría de acuerdo al volumen de inyección, al caudal y a la longitud del reactor seleccionada (ver figura 4).

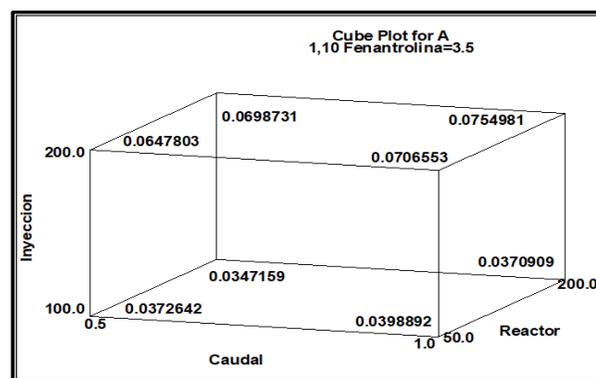


Figura 4. Gráfico de cubo con valores de absorbancia obtenido del diseño 2⁴

Se puede apreciar en el gráfico de efectos principales que el volumen de inyección es el factor más influyente, seguido del caudal (ver figura 5).

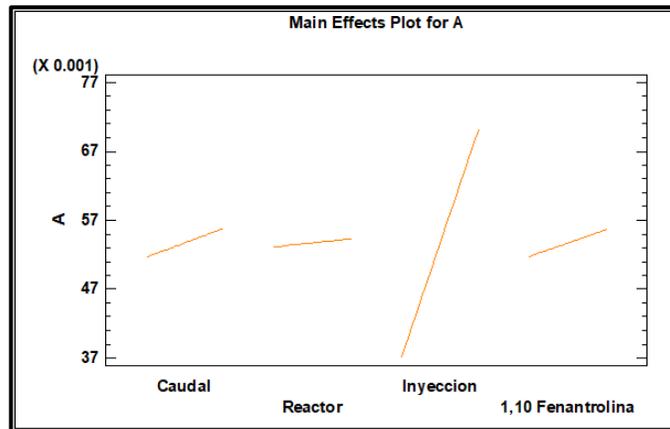


Figura 5. Gráfico de Efectos principales para la determinación de hierro total obtenido del diseño 2^4

Para realizar la curva de calibración para la determinación de hierro total se prepararon estándares 0.16, 0.24, 0.32, 0.40, 0.60, 1.0, 1.2, 1.6, 1.8, 2.0, 2.6 mg L^{-1} , obteniendo la siguiente ecuación de regresión lineal (1) con un coeficiente de determinación de 0.9995:

$$A^{\lambda=510 \text{ nm}} = 0.1312 * [\text{Fe mg L}^{-1}] + 0.0059 \quad (1)$$

Determinación de la linealidad del método

Para la determinación de la linealidad del método se debe de reportar la cantidad adicionada vs cantidad recuperada. Utilizando el método de estimación de mínimos cuadrados se calcula el valor de la pendiente (b_1), la ordenada en el origen (b_0), el

coeficiente de determinación (r^2), el intervalo de confianza para la pendiente ($IC\beta_1$), el intervalo de confianza para la ordenada al origen ($IC\beta_0$), y el coeficiente de variación de la regresión ($CV_{y/x}$) ver tabla 3 [7].

Tabla 3. Linealidad del método de la 1,10-fenantrolina

Parámetro	Valor obtenido
Pendiente (b_1)	0.1312
Ordenada en el origen (b_0)	0.0059
Coefficiente de determinación lineal (r^2)	0.9995
Coefficiente de correlación lineal (r)	0.9997
Intervalo de confianza para la pendiente ($IC\beta_1$)	0.1329 – 0.1296
Intervalo de confianza para la ordenada al origen ($IC\beta_0$)	0.0081 – 0.0037
Coefficiente de variación de la regresión ($CV_{y/x}$)	1.6
Límite de detección	0.057 ppm
Límite de cuantificación	0.174 ppm

Límite de detección del método (LD) y límite de cuantificación (LC)

LD con base en la curva de calibración y desviación estándar de la regresión ($S_{y/x}$).

$$LD = \frac{3.3 * S_{y/x}}{b_1} \quad (2)$$

LC con base en la curva de calibración y desviación estándar de la regresión ($S_{y/x}$).

$$LC = \frac{10 * S_{v/x}}{b_1} \quad (3)$$

Determinación de exactitud y repetibilidad del método

Para la determinación de exactitud y repetibilidad del método se debe preparar el placebo analítico equivalente a una muestra analítica por sextuplicado los cuales deben ser analizados por un mismo analista bajo las mismas condiciones y determinar la cantidad recuperada del analito lo cual se muestra en la tabla 4. Se calcula el porcentaje de recobro de cada placebo analítico o muestra adicionada, para obtener el cociente de la cantidad recuperada respecto de la cantidad adicionada expresada en porcentaje [7].

Tabla 4. Exactitud y repetibilidad del método

Cantidad adicionada (ppm)	Cantidad recuperada (ppm)	% de Recobro
0.568	0.564	99.4
0.568	0.572	100.7
0.568	0.564	99.4
0.568	0.557	98.0
0.568	0.580	102.0
0.568	0.564	99.4
0.568	0.572	100.7
Promedio		99.9
Desviación estándar		1.3
% CV		1.3
Intervalo de confianza para recobro		98.7 - 101.1

Los resultados obtenidos al aplicar este método para la cuantificación de hierro total a muestras de vino blanco provenientes de tres países son mostrados en la tabla 5.

Tabla 5. Determinación de hierro total en Vinos

Tipo de Vino	Cantidad encontrada mg L ⁻¹ Fe
Vino Blanco Zinfandel L.A. Cetto el Valle de Guadalupe Baja California (México)	0.295 ± 0.003
Vino Lambrusco Dolce Amore (Italia)	3.572 ± 0.003
Vino Dulce Dulzino Moscato Blanco (Chile)	2.114 ± 0.046

CONCLUSIONES

Con la configuración FIA propuesta se pueden realizar 28 determinaciones por hora, y con la modificación del hidrosulfito de sodio para convertir al Fe⁺³ en Fe⁺² se asegura que todo el hierro presente se cuantificara en las muestras. De acuerdo a los valores obtenidos en los vinos extranjeros analizados Vino tipo Lambrusco (República Italiana) y Vino Dulce Dulzino Moscato Blanco (Chile), se encuentran dentro del intervalo que se espera para vinos entre 0.5 y 5 mg L⁻¹. El contenido de hierro total en el vino Blanco Zinfandel L.A. Cetto del Valle de Guadalupe está por debajo de ese intervalo, lo cual es deseable debido al efecto que ocasiona en el vino, oxidación, rancidez y baja estabilidad. Comparando los resultados obtenidos en este estudio y los valores reportados por Riganakos y Veltsistas [2] entre 4 y 8 mg L⁻¹ de hierro para vinos blancos, los valores obtenidos de los tres vinos se encuentran por debajo de estos valores.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma de Baja California

REFERENCIAS

- [1] J.A. Lopez-Lopez, G. Albendín, M. I. Arufe, M. P. M. nuel-Vez. Simplification of Iron Speciation in Wine Samples: A Spectrophotometric Approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **63**, [18], 4545-4550 (2015).
- [2] K.A. Riganakos, P.G. Veltsistas. Comparative spectrophotometric determination of the total iron content in various white and red Greek wines. *Food Chemistry* **82**, 637–643 (2003).
- [3] NORMA Oficial Mexicana NOM-199-SCFI-2017, Bebidas alcohólicas-Denominación, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba (30 de octubre de 2017). (2017).
- [4] Statgraphics Centurion XVI User Manual 260-264 (2009).
- [5] J. Mortatti, F. J. Krug, L. C. R. Pessenda, E. A. G. Zagatto. Determination of Iron in Natural Waters and Plant Material with 1,10-Phenanthroline by Flow Injection. *Analyst*, **107**, 659-663 (1982)
- [6] R.F. Conley, H.J. Golding, M.W. Taranto. Improvement of Iron Bleaching in Clays Through Potentiometric Control of Sodium Dithionite Addition *Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev.* **3** [2], 183–188 (1964).
- [7] Guía de validación de métodos analíticos. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México A.C (2002).

APLICACIÓN DE ANÁLISIS POR INYECCIÓN EN FLUJO EN LA DETERMINACIÓN DE COBRE EN VINOS

Germán Adán Sánchez Gallegos
Eugenia Gabriela Carrillo Cedillo*
María del Pilar Haro Vázquez¹

INTRODUCCIÓN

El cobre (Cu) es uno de los metales de mayor preocupación en la industria del vino [1]. La presencia de iones de cobre (II) en el vino puede conducir a una excesiva oxidación, inestabilidad reductiva y coloidal. La fuente de cobre en el vino puede provenir del uso de sprays que contienen cobre y se utilizan en el viñedo y por la contaminación de vinos en el almacenamiento en bodegas [2]. Los metales presentes en el vino pueden provenir de la uva, de los productos fitosanitarios, de la maquinaria utilizada en el proceso de fabricación, de los aditivos agregados para acondicionar el mosto previo a la fermentación, entre otros. El control de algunos de ellos es fundamental para la obtención de un buen vino. La concentración de iones inorgánicos en vinos resulta de interés debido al efecto que pueden causar en el proceso tecnológico de su elaboración sino también por sus efectos sobre la salud. Conocer el contenido de metales en los vinos ha resultado muy útil para caracterizar el origen geográfico teniendo en cuenta la relación entre su concentración y la composición del suelo de donde proviene la uva [3]. Además, la adición de sulfato de cobre (hasta 10 mg L⁻¹) es una práctica enológica común para eliminar los compuestos sulfurosos de mal sabor por precipitación y posterior filtración. El límite de concentración de cobre recomendado por la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV) es de 1.0 mg L⁻¹. Las altas cantidades de cobre (> 20 mg L⁻¹) pueden incluso tener un impacto en las fermentaciones del mosto de uva [4]. Las concentraciones elevadas de cobre pueden causar deterioro oxidativo que conduce a la coloración rosada del vino tinto, el oscurecimiento del vino

¹ Universidad Autónoma de Baja California, FCQI, Tijuana B.C. México, Calzada Universidad No.14418 Parque Industrial Internacional Tijuana B.C. C.P. 22390, Tel (664) 9797505 Ext. 54317 Fax (664) 6822790, e-mail: adan.sanchez@uabc.edu.mx, gaby@uabc.edu.mx*

blanco y la formación de neblina. La concentración de cobre "segura" generalmente recomendada de cobre es inferior a $0.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ [5].

Por lo tanto, hay una continua necesidad para el desarrollo de un método simple, sensible y selectivo para la cuantificación de cobre con el fin de supervisarlo. Para la determinación de cobre se continuo con el trabajo previo de Carrillo Cedillo et al. [6] acoplada al análisis en flujo (FIA). Esta técnica se basa en la inyección de muestra líquida en movimiento no segmentado, dentro de una corriente portadora continua de un líquido adecuado. La muestra inyectada forma una zona, que es transportada hacia un detector, el cual registra continuamente la absorbancia u otro parámetro físico, ya que continuamente pasa el material de muestra a través de la celda de flujo [7].

EXPERIMENTACIÓN

Equipos: Espectrofotómetro (HACH, modelo DR 5000) equipado con una celda de flujo de 10 mm (Agilent Technologies) para cuantificar el producto de reacción a 510 nm, Balanza Analítica (PB303-S Mettler Toledo), Bomba Peristáltica (Watson-Marlow Modelo 403U/VM4), Baño ultrasónico (Branson 2510 Ultrasonic Cleaner), Computadora con paquete estadístico Statgraphics Centurion XVI.I

Reactivos: Ácido ascórbico, ascorbato de sodio, Tetra (p-toluensulfonato) de la 5, 10,15, 20-tetraquis (1-metilo-4 piridinio) porfirina, hidrosulfito de sodio, estándar de cobre 75 mg/L.

Metodología: Para optimizar los parámetros del sistema FIA se utilizó un diseño factorial fraccionado Plackett-Burman $2^6 \cdot 3/16$ de resolución III, con 3 puntos centrales y 8 grados de libertad. En la tabla 1 se muestran los experimentos ensayados que se utilizaron para llevar a cabo la optimización, los cuales indican las condiciones de trabajo.

Tabla 1. Diseño Factorial Fraccionado Plackett-Burman $2^6 \cdot 3/16$

E	R1	R2	Loop	Porfirina	Hidrosulfito	Velocidad	E	R1	R2	Loop	Porfirina	Hidrosulfito	Velocidad
	cm	cm	μL	M	M	rpm		cm	cm	μL	M	M	rpm
1	150	50	50	1.49E-05	0.056	30.0	9	30	200	200	1.49E-05	0.056	15.0
2	30	50	50	3.71E-05	0.056	30.0	10	150	200	200	1.49E-05	0.056	30.0
3	150	200	50	3.71E-05	0.028	15.0	11	30	50	50	1.49E-05	0.028	15.0
4	150	50	200	1.49E-05	0.028	15.0	12	100	130	125	2.60E-05	0.041	22.5
5	30	50	200	3.71E-05	0.056	15.0	13	30	200	50	1.49E-05	0.028	30.0
6	30	200	200	3.71E-05	0.028	30.0	14	100	130	125	2.60E-05	0.041	22.5
7	150	200	50	3.71E-05	0.056	15.0	15	150	50	200	3.71E-05	0.028	30.0
8	100	130	125	2.60E-05	0.041	22.5							

E = número de experimento, R1=primer reactor (cm), R2=segundo reactor (cm)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizó la reacción para determinar la longitud de onda máxima de la formación del complejo cobre-porfirina, los resultados se muestran en la figura 1, el valor obtenido de $\lambda_{\text{max}} = 434 \text{ nm}$.

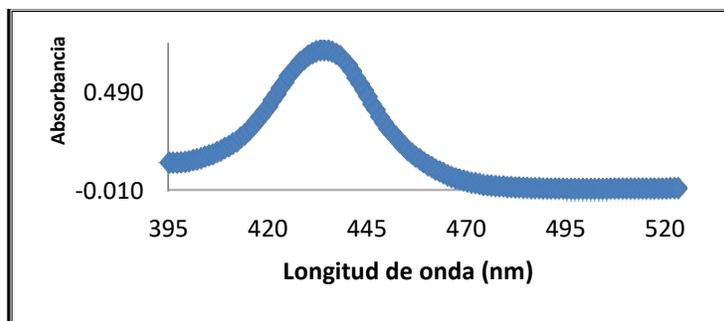


Figura 1. Espectro de absorción del complejo cobre-porfirina

En la figura 2 se puede apreciar la configuración utilizada para el análisis en flujo propuesta por Carrillo Cedillo et al. [6].

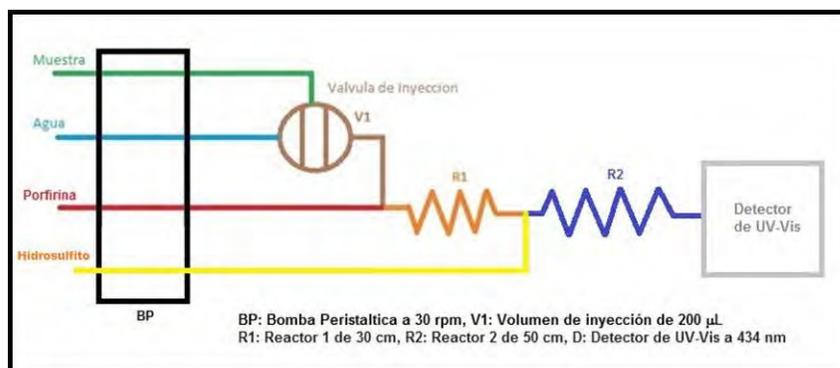


Figura 2. Configuración FIA para la determinación de cobre.

El diseño factorial fraccionado Plackett-Burman $2^{6*3}/16$ de la tabla 1 mostró que el volumen de inyección es el factor más influyente en la formación del complejo.

Tabla 2. Análisis de varianza del diseño Fraccionado Plackett-Burman $2^{6*3}/16$

Fuente	SC	gl	MC	Dist. F	Valor de p
A:R1	4.83E-07	1	4.83E-07	0.30	0.6017
B:R2	0.00024466	1	0.00024466	149.66	0.0000
C:Inyección	0.001083	1	0.001083	662.49	0.0000
D:Porfirina	8.5333E-05	1	8.5333E-05	52.20	0.0001
E:Hidrosulfito	2.1333E-05	1	2.1333E-05	13.05	0.0069
F:Velocidad	0.000003	1	0.000003	1.84	0.2125
Total error	1.3078E-05	8	1.6347E-06		
Total (corr.)	0.00145093	1 4			

En el Diagrama de Pareto (figura.3) se observa que el reactor 2 tiene influencia negativa en la formación de complejo cobre-porfirina.

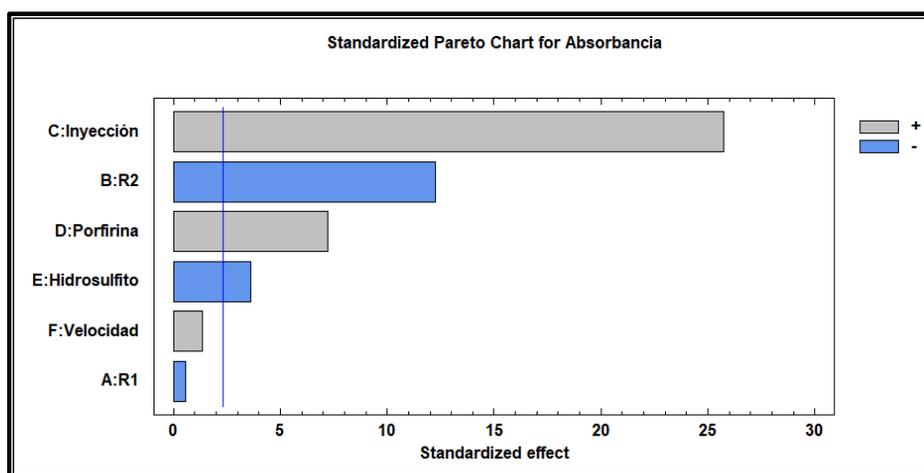


Figura 3. Diagrama de Pareto

Los valores óptimos para la formación del complejo Cu-porfirina se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Valores óptimos

Factor	Valor bajo	Valor alto	Optimo
R1 (cm)	50	150	50
R2 (cm)	50	200	50
Inyección μL	50	200	200
Porfirina (mol L^{-1})	1.49E-05	3.71E-05	3.71E-05
Hidrosulfito (mol L^{-1})	0.028	0.056	0.028
Velocidad (rpm)	15	30	30

Con los valores óptimos sugeridos por el diseño se realizó una curva de calibración para el Cu^{+2} con un intervalo de 40 a 280 $\mu\text{g L}^{-1}$, y el Diagrama obtenido se muestra en la figura 4.

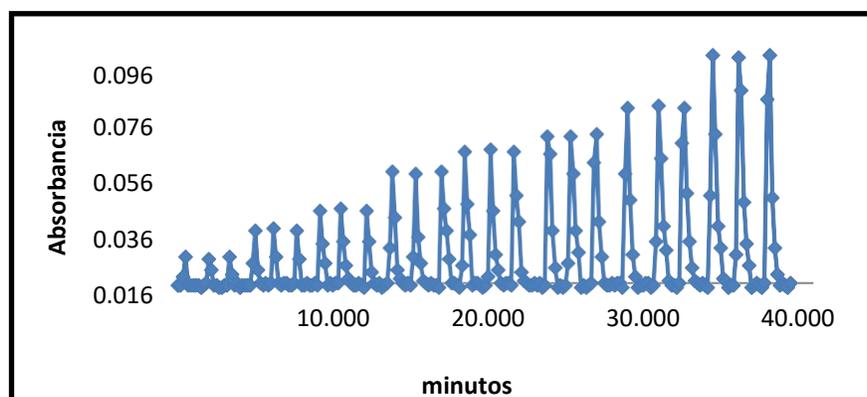


Figura 4. Fiagrama del complejo Cu-porfirina.

Se determinó precisión como reproducibilidad a partir de la disolución estándar de cobre, se inyectó siete veces un estándar de cobre de $168 \mu\text{gL}^{-1}$ por triplicado y el fiagrama obtenido se muestra en la figura 5.

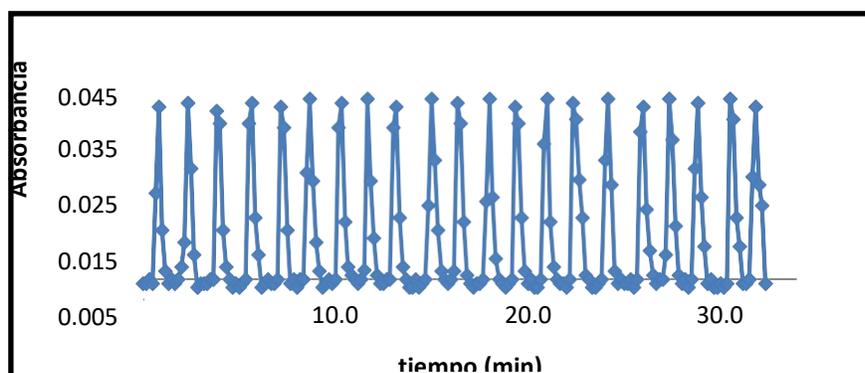


Figura 5. Fiagrama de precisión como reproducibilidad

Con el método optimizado se determinó el contenido de cobre en diferentes presentaciones de vinos provenientes de tres países México, Italia y Chile, los resultados se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Contenido de cobre en muestras de vino

Vino	Concentración $\mu\text{g/L Cu}$
L.A. Cetto Blanc de Zinfandel México 11.5 % Alc. Vol. Cont. Net. 187 mL	64
Reservado 2016 Merlot Valle Central Viña Estefamyar Vino Tinto Chileno 13% Alc. Vol. Cont. Net. 750 mL	151
Dulzino Moscato Blanco Sweet Wine 2016/Chile 9.5 % Alc. Vol. Cont. Net. 750 mL	398
Lambrusco Dolce Amore Rose Italia 8.5% Alc. Vol. Cont. Net. 750 mL	310

CONCLUSIONES

La concentración de cobre total sugerida como "segura" es inferior a $500 \mu\text{g L}^{-1}$, aun cuando el límite de concentración de cobre recomendado por la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV) es igual a 1.0 mg L^{-1} ($1000 \mu\text{g L}^{-1}$), este método propuesto permite la cuantificación de cobre en vino en un rango de 40 a $280 \mu\text{g L}^{-1}$, con un coeficiente de determinación de 0.9974 . Las muestras analizadas se encuentran dentro del rango sugerido como seguro obteniendo valores de $64 \mu\text{g L}^{-1}$ para Blanc de Zinfandel, México, $151 \mu\text{g L}^{-1}$ en Merlot Valle Central, Chile, $398 \mu\text{g L}^{-1}$ presente en Dulzino Moscato, Chile y $310 \mu\text{g L}^{-1}$ para Lambrusco Dolce Amore Rose de procedencia italiana.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma de Baja California

REFERENCIAS

- [1] X. Sun, T. Ma, J. Yu, W. Huan, Y. Fang, J. Zhan. Investigation of the Copper Contents in Vineyard Soil, Grape Must and Wine and the Relationship Among them in the Huaizhuo Basin Region, China: A preliminary study. **241**, 40-50 (2018).
- [2] A. Clark, N. Kontoudakis, C. Barril, L.M. Schmidtke. Measurement of Labile Copper in Wine by Medium Exchange Stripping Potentiometry Utilising Screen Printed Carbon Electrodes. **154**, 431-47 (2016).
- [3] P. Gonzalez, V. Prieto-Hernandez, M. Pistón. Determination of Sodium, Calcium and Copper in Uruguayan Wines and Study of the Relationship of these Elements to the Type of Wine. **4**, 27-35 (2013).
- [4] S. Shut, S. Zauner, G. Hampel, H. Koning, H. Claus. Biosorption of Copper by Wine Relevant Lactobacilli. **145**, 126-131 (2011).
- [5] M.R. Provenzano, H. El Bilali, V. Simeone, N. Baser, D. Mondelli, G. Cesari. Copper Contents in Grapes and Wines from a Mediterranean Organic Vineyard. **122**, 1338-1343 (2010).
- [6] E. G. Carrillo Cedillo, M. P. Cañizares Macías, A.I. Ames López, R.G. Sepúlveda Marqués. Aplicación de Diseño Factorial Plackett-Burman en la Optimización de Parámetros para Determinar Cobre. Aportaciones Científicas en Química Analítica, XXIX Congreso Nacional de Química Analítica 464-469 (2016).
- [7] M.P. Cañizares Macías. Análisis por Inyección en Flujo: Herramienta Clave para la Automatización Analítica. **46**, 167-174 (2002).

CARACTERIZACIÓN DE LOS POLIFENÓLES DE LOS RESIDUOS DEL FRUTO DE CAFÉ POR ELECTROFORESIS CAPILAR PARA EL DESARROLLO DE UNA TISANA

Carlos Daniel Mayorga Nieto¹
María Gabriela Vargas Martínez²
María Andrea Trejo Márquez¹
David Rodrigo López Soto¹
Selene Pascual Bustamante¹

INTRODUCCIÓN

El café o cafeto pertenece a la familia de las rubiáceas, en la que se incluyen más de 500 géneros y alrededor de 800 especies. De todas las especies, solamente se cultivan 10, y dos de ellas han sido descritas como las más importantes por corresponder a más del 90

% de la producción mundial: *Coffea arabica* y *Coffea canephora* conocida comúnmente como variedad robusta. Los cafetos producen frutos rojos, llamados cerezas de café (ver Figura 1), con dos núcleos que contienen cada uno un grano o semilla de café de color verde, también llamamos café a una de las bebidas de mayor consumo en el mundo, que se realiza mediante una infusión de los granos tostados y molidos del árbol del cafeto [1].

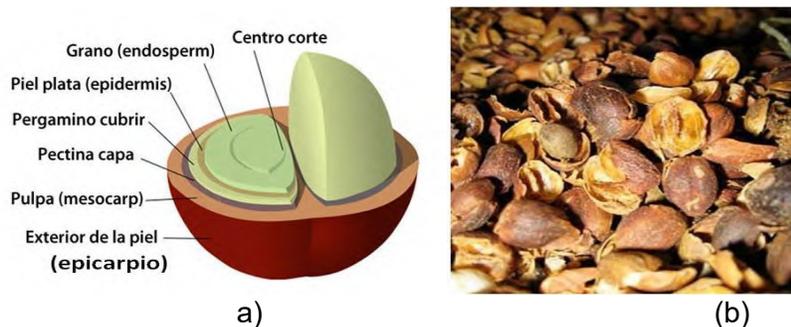


Figura. 1 a) Estructura de una cereza de café, b) Cascarilla (epicarpio) subproducto producción

¹ Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Laboratorio de Postcosecha de Productos Vegetales, Centro de Asimilación Tecnológica. Jiménez Cantú s/n, San Juan Atlamica, 54729, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México,

² Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Laboratorio de Desarrollo de Métodos Analíticos, Avenida 1° de Mayo, S/N, Cuautitlán Izcalli, 54740, Edo México, Tel: 56232003. Correo: gvargasm@unam.mx

de café.

En la industrialización del café se estima que sólo el 5 % de la biomasa generada se utiliza en la elaboración de la bebida mientras que el porcentaje restante son residuos o subproductos tales como hojas, ramas, tallos, frutos verdes, cascara y pulpa. Estos residuos pueden ocasionar contaminación en agua, aire y suelo [2].

En los últimos años han aumentado las propuestas tecnológicas de productos alimenticios con características fisiológicamente funcionales aprovechando los subproductos de la industria agroalimentaria. Diferentes investigaciones sugieren el empleo de los subproductos del café y su composición, ya que han demostrado una respuesta en la reducción de enfermedades crónicas y neurodegenerativas como el Alzheimer y el Parkinson [2]. Este efecto se debe a la presencia de compuestos con propiedades antioxidantes, éstos evitan que se produzcan daños tisulares por radicales libres, al reducir su formación o eliminarlos una vez originados.

La tisana es la bebida que se consigue al hervir determinadas combinaciones de hierbas o especias en agua, o también se refiere a frutas secas o deshidratadas y cortezas. Difieren de las infusiones en que estas últimas utilizan temperaturas sin llegar al hervor. Ambas son bebidas asociadas a la presencia de polifenoles; este grupo de compuestos reportan múltiples efectos biológicos, tales como una gran actividad antioxidante [3].

La electroforesis capilar (EC) es una técnica de separación que ha sido reportado innumerables veces en la determinación de polifenoles contenidos en extractos vegetales y alimentos [4]. Tiene las ventajas de que es una técnica con gran poder de separación, rápida, barata y con un consumo mínimo de muestra y disolventes.

Por lo tanto, el presente trabajo tiene como objetivos determinar los fenoles totales y la capacidad antioxidante de la cascarilla de café por espectrofotometría, así como identificar y cuantificar los polifenoles contenidos en estas muestras por EC, ambas técnicas utilizando dos métodos de extracción: a) infusión y b) percolado. Lo anterior con la finalidad de generar una propuesta tecnológica (tisana) para el aprovechamiento de los residuos obtenidos durante la producción del café (cascarilla) para dar una alternativa al productor que como consecuencia reduzca las pérdidas económicas, así como el impacto ambiental y social referente a la salud de los consumidores al desarrollar una bebida funcional.

EXPERIMENTACIÓN

Material Biológico: La materia prima que se utilizó para el presente trabajo fue la cascarilla (epicarpio) del fruto del café procedente del estado de Nayarit. Una vez obtenida se procedió a reducir el tamaño de partícula empleando un molino de café marca Hamilton Beach. Una vez molida la cáscara se homogeneizó el tamaño de partícula a un promedio de 1 mm y así favorecer la extracción para su posterior análisis.

Obtención de los extractos a partir de la cascarilla de café

a) Para el método de infusión, se utilizó una relación de 1:12 soluto: solvente, es decir 8.33 g de muestra en 100 ml de agua a diferentes temperaturas (70, 80, 90 °C). La muestra se pesó dentro de unos sobres hechos con porta-filtros de una cafetera, y se sumergieron los sobres con muestra en el agua caliente durante 10 minutos. Posteriormente se dejó enfriar y se hizo la cuantificación de compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y cafeína.

b) En el método de percolado se utilizó la misma relación 1:12, 8.33 g de muestra se pesaron en porta-filtros de una cafetera, en una base simulando una cafetera y se vertieron por la parte superior 100 ml de agua a diferentes temperaturas (70, 80, 90 °C), atravesando el lecho de solutos. Posteriormente se dejó enfriar y se hizo la cuantificación de compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y cafeína.

Método 1: Evaluación del contenido de Fenoles Totales: Se utilizó el método de Folin-Ciocalteu (FC) [5]. El ensayo consiste en una mezcla de ácidos fosfomolibdico y fosfotúngstico (pH 10) con la finalidad de que se genere un ion fenolato que reduce al reactivo FC y genera la formación de un complejo de Mo(V) que presenta una coloración azul cuya absorbancia se mide a una longitud de onda de 765 nm.

Método 2: Evaluación de la actividad antioxidante con ABTS: el radical ABTS•+ se obtiene tras la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2.45 mM, concentración final) incubados a temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) y en la oscuridad durante 16 h. Una vez

formado el radical ABTS•+ se diluye con etanol hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0.70 (± 0.1) a 754 nm. El antioxidante sintético de referencia, Trolox que reaccionará con el radical ABTS•+, se ensaya a una concentración de 0-15 μM [6]. Método 3: Determinación de ácido clorogénico y cafeína por EC: Se utilizó un equipo de Electroforesis Capilar P/ACE MDQ, Beckman Coulter (Fullerton, CA, USA). Las mediciones se realizaron utilizando capilares de sílice fundida de 50 μm de diámetro interno, 54 cm de longitud total y 43.5 cm de longitud efectiva, la detección se realizó a 200 nm, a un voltaje aplicado de 26.8 KV. Las corrientes obtenidas fueron alrededor de 80 μA . El buffer de corrida o separación consistió en un buffer de boratos 50 mM (a partir de tetraborato de sodio) y como disolvente agua desionizada a pH 9.4.

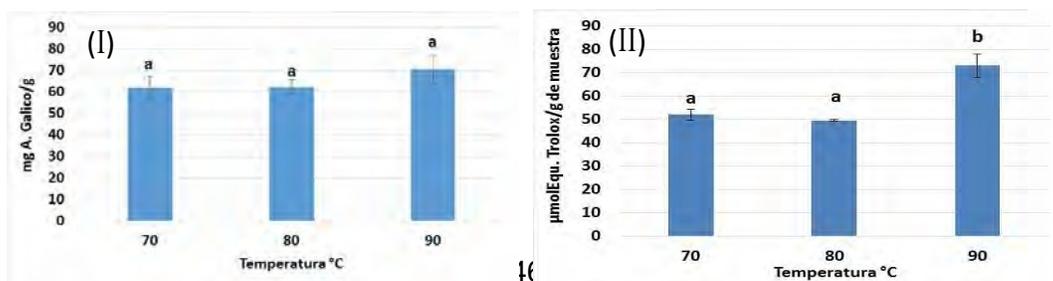
Tratamiento estadístico. Se aplicó un análisis de varianza ANOVA y comparación de medias aplicando un nivel de significancia del 5% por el programa estadístico IBM SPSS y/o Statgraphics Centurion XVI.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de los métodos 1 y 2 para la selección de las mejores condiciones de extracción de las cascarillas de café

Para determinar el método de preparación de la tisana con el cual se extrae un mayor contenido de compuestos fenólicos, así como mayor actividad antioxidante, se procedió a evaluar dos métodos de lixiviación, en donde se determinó el efecto de la temperatura (70, 80, 90° C) y los métodos de lixiviación a) infusión, b) percolado, seleccionando el que presente las mayores concentraciones en los compuestos de interés.

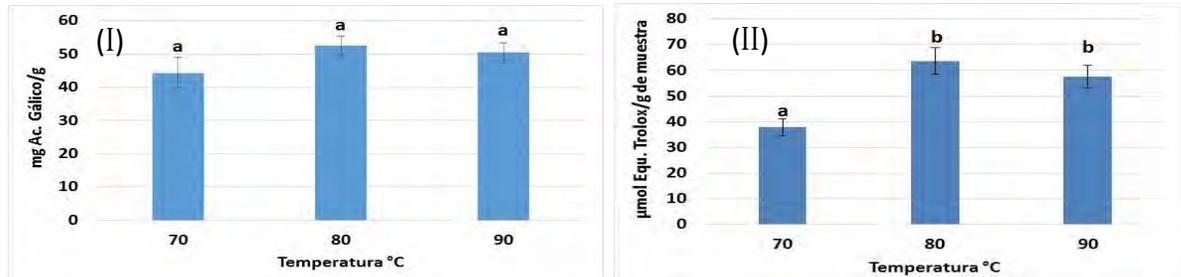
En la figura 2 se observa que no existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la concentración de fenoles totales obtenida de los extractos obtenidos por infusión a las tres diferentes temperaturas; sin embargo, en cuanto a la capacidad antioxidante si hay una diferencia significativa aumentando al realizar la extracción a 90°C.



* Las barras verticales representan \pm desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Figura 2. Contenido de (I) fenoles totales y (II) actividad antioxidante en los extractos de cascarilla de café obtenidos por el método de infusión.

En el caso de los extractos obtenidos por percolado, no se observa diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en el contenido de fenoles por efecto de la temperatura, mientras que la actividad antioxidante si aumenta de forma significativa a temperaturas mayores de 80°C.



* Las barras verticales representan \pm desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Figura 3. Contenido de (I) fenoles totales y (II) actividad antioxidante de los extractos de cascarilla de café obtenidos por el método de percolado.

Sin embargo, la infusión preparada a 90°C presentó alrededor de 30% más capacidad antioxidante (73.02 µmol ET/ g de muestra) con evidentes diferencias significativas que la preparada por percolado a las mismas condiciones.

Evaluación del método No. 3, para la selección de las mejores condiciones de extracción de las cascarillas de café.

Inicialmente se midieron los estándares de ácido clorogénico y ácido cafeico por el método No. 3 de EC los cuales se muestran en la Figura 4.

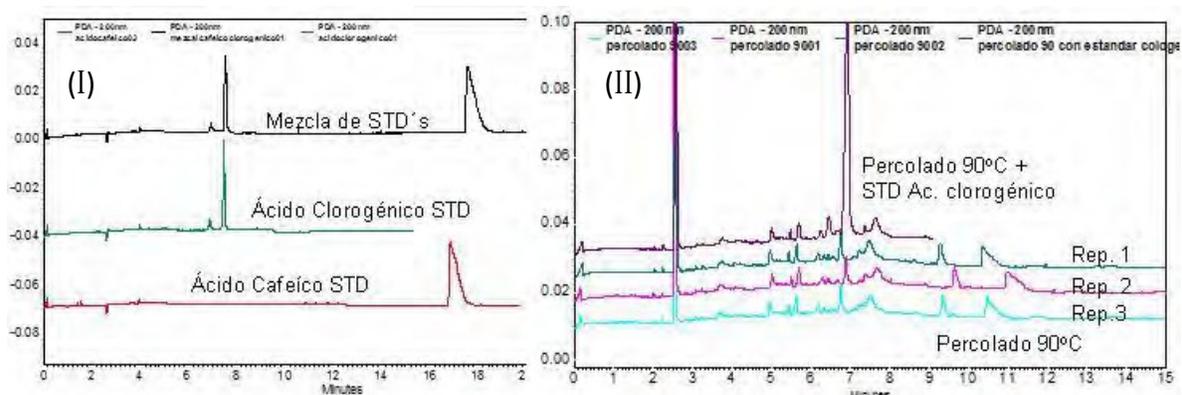


Figura 4. Electroferogramas de (I) estándares y (II) ejemplo de extracto de cascarilla de café obtenida por percolado a 90°C, sus 3 repeticiones y la adición de ácido clorogénico STD para

su confirmación.

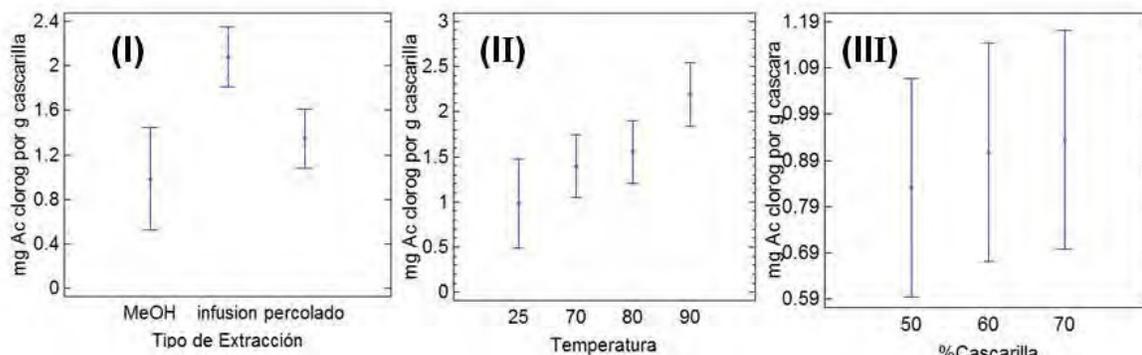


Figura 5. Contenido de Ac. Clorogénico influenciado por (I) método de extracción y (II) temperatura (°C) y (III) el porcentaje de cascarilla de la tisana a 90°C.

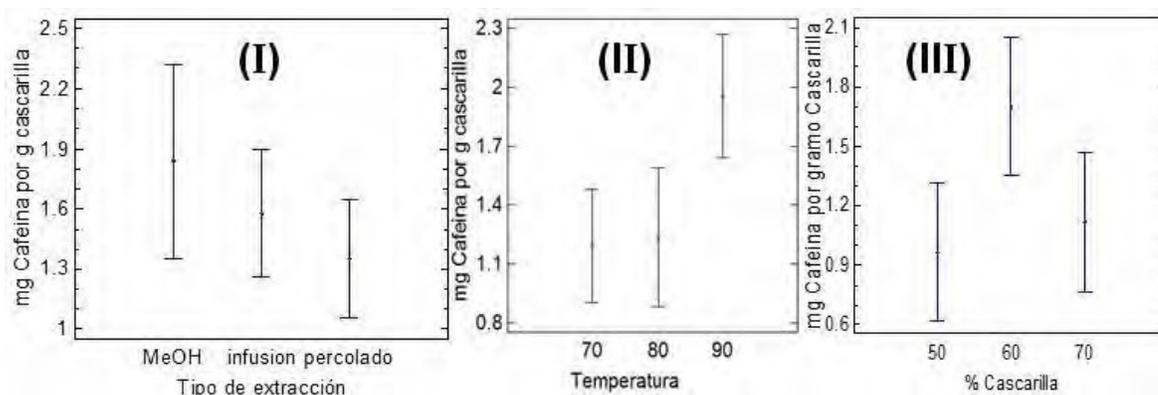


Figura 6. Contenido de cafeína influenciado por (I) método de extracción y (II) temperatura (°C) y (III) el porcentaje de cascarilla de la tisana a 90°C.

Como se puede observar en la Figura 5(I) usando el método No. 3, existe diferencia significativa en el contenido de ácido clorogénico el cual es mayor al utilizar la infusión como método de extracción, además de que es evidente que su extracción aumenta con la temperatura, teniendo el mayor contenido a 90°C. Lo anterior concuerda y confirma los resultados obtenidos a las mismas condiciones con los métodos 1 y 2.

Por otro lado, la extracción de cafeína solo aumenta de forma significativa al realizarse a 90°C, pero se pueden considerar iguales los tipos de extracción utilizados, ya que no se observan diferencias. En cuanto al porcentaje ideal de cascarilla a utilizar, este factor no parece influir en el contenido de ácido clorogénico, mientras que la extracción máxima de cafeína se da cuando hay 60% de cascarilla.

CONCLUSIONES

En la relación solvente:soluto, se encontró que a mayor cantidad de soluto se obtiene una mayor concentración de compuestos fenólicos en disolución y de igual forma una mayor capacidad antioxidante, quedando entonces una relación 1:12. En esta cantidad de disolvente limpio se observó se pueden extraer más compuestos fenólicos y/o antioxidantes benéficos para la salud. La temperatura fue un factor importante en la obtención de los compuestos fenólicos, antioxidantes, contenido de ácido clorogénico y cafeína, siendo significativamente mayor a 90°C. El método de extracción fue un factor importante a considerar, confirmándose tanto con medidas de fenoles totales, capacidad antioxidante y las mediciones de ácido clorogénico y cafeína que el método que extrae de mejor forma los componentes de interés es la infusión.

La cascarilla de café es un residuo que aún posee cualidades antioxidantes por la presencia de los compuestos que tienen esta propiedad como los polifenoles, por lo que su utilización en el desarrollo de nuevos productos es una alternativa de uso a este desecho generado en la producción del café.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue financiado por el proyecto Desarrollo tecnológico para el aprovechamiento integral de frutas y hortalizas (PAPIIT IT201216) de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UNAM.

REFERENCIAS

- [1] A. I. Antiasarán, J. A Martínez Hernández., M. Muñoz, Alimentos: composición y propiedades, McGraw-Hill, España (2000).
- [2] L. Fonseca, L. Calderón, M. Rivera, Capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales en café y subproductos del café producido y comercializado en norte de Santander (Colombia) (2014).
- [3] M. Agüero, C. Segura, J. Parra, Revista UNICIENCIA. **28** [1] 34-42. (2014).
- [4] F. Gatea, E.D. Teodor, A.O. Matei, Food Anal Methods **8** 1197 (2015) <https://doi.org/10.1007/s12161-014-0006-5>
- [5] V. Singleton, R. Orthofer, R. Lamuela-Raventós. Reagent Methods in Enzymology, **299** 152-179.(1999).
- [6] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C Rice-Evans, Free Radic. Biol. Med. **26** [9-10] 1231-1237 (1999).

DETERMINACIÓN ENZIMÁTICA DE UREA EN LECHE POR FIA

Humberto Gómez Ruiz
Lucía Hernández Garcíadieago¹

INTRODUCCIÓN

La leche es uno de los ingredientes fundamentales en la dieta humana; es una excelente fuente de energía, proteínas, minerales y vitaminas. Desde el punto de vista químico, la leche es un fluido biológico complejo, que contiene numerosos compuestos que van desde iones metálicos hasta enzimas [1]. La urea es producto final del metabolismo del nitrógeno por lo que es un constituyente natural de la leche, representa la mayor parte (55%) del nitrógeno no proteico [2, 3]. La concentración normal de urea en leche es de 180 a 400 mg/L [4]; concentraciones de urea en leche mayores a 700 mg/L pueden causar indigestión, acidez, úlceras, daño renal e incluso cáncer [5]. En algunos países la urea y la melanina se utilizan como adulterante de la leche para incrementar el contenido de proteína [6], así como para incrementar su consistencia y blancura [7]. El contenido de urea en leche se ha ligado también a su estabilidad térmica a altas temperaturas [8], por lo que se adiciona a la leche para incrementar su tiempo de vida de anaquel [5].

La Norma Oficial Mexicana NOM-155-SCFI-2012 [9] define a la leche como “el producto obtenido de la secreción de las glándulas mamarias de las vacas, sin calostro el cual debe ser sometido a tratamientos térmicos u otros procesos que garanticen la inocuidad del producto; además puede someterse a otras operaciones tales como clarificación, homogeneización, estandarización u otras, siempre y cuando no contaminen al producto y cumpla con las especificaciones de su denominación” y clasifica a la leche para consumo humano de acuerdo al

¹ Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, Departamento de Química Analítica. Av. Universidad 3000, Distrito Federal, C.P. 04510. Tel: +52 (55) 56 22 3786, Fax: +52 (55) 56 22 37 23, e-mail: lhdez@unam.mx

tipo de grasa (butírica, entera, semidescremada, parcialmente descremada), proceso primario (rehidratada, reconstituida, deslactosada), proceso secundario (pasteurizada, ultrapasteurizada, microfiltrada, ultraevaporada, condensada, azucarada, deshidratada o en polvo y concentrada) y sabor (con sabor a...). En dicha norma se establecen las especificaciones para cada tipo de leche, sin embargo, no se encuentra contemplado el contenido de urea en estas especificaciones, siendo importante la determinación y cuantificación de urea en leches, por lo que en el presente trabajo se propone un método por inyección en flujo para la determinación enzimática de urea en leche.

La especificidad del método se logró utilizando la enzima ureasa inmovilizada en vidrio de poro controlado (CPG), aunado a la integración de una celda de difusión de gases (CDG) a la configuración FIA. El método propuesto se basa en la hidrólisis de urea (1) (catalizada por la enzima ureasa) a pH 7:



El amonio producido confluye con una disolución a pH 12.50 El amoniaco resultante del equilibrio ácido-base permea a través de una membrana hidrofóbica colocada en una celda de difusión de gases (CDG) y se disuelve en la disolución aceptora que contiene el indicador azul de bromotimol. El aumento en el pH de la disolución aceptora provoca un aumento en la absorbancia, que es detectada espectrofotométricamente a 590 nm. La altura de la señal (en unidades de absorbancia) es proporcional a la concentración de urea en la disolución inyectada. [10]

EXPERIMENTACIÓN

Reactivos y disoluciones

- a) Inmovilización de enzimas: Vidrio de poro controlado (CPG) malla 120-200, 242 Å de diámetro de poro. 3-aminopropiltriethoxisilano (Aldrich). Glutaraldehído 25% (Aldrich). Enzima ureasa (EC 3.5.1.5) tipo III, 27 UI/mg (Sigma).
- b) Reacción de determinación: Disoluciones amortiguadoras de fosfatos 5×10^{-2} M pH 7 y bórax-EDTA, pH 12.5. Disolución de azul de bromotimol 0.02 g/100 mL. Ajustar la absorbancia a un valor entre 0.45 y 0.65. Disoluciones estándar de amonio y urea.

Instrumentación

Las determinaciones se realizaron en una configuración FIA utilizando una bomba peristáltica Gilson Minipuls 3, válvula de inyección manual Reodyne de 6 puertos, espectrofotómetro UV-Visible Perkin Elmer Lambda 25, equipado con celda de flujo de cuarzo de 1 cm de paso óptico y 0.08 ml de volumen interno.

La enzima inmovilizada se empacó en tubería de teflón de 9.5 cm de longitud y 2 mm de diámetro interno.

Para el reactor L, confluencias y el resto del sistema de transporte se utilizó tubería de teflón de 0.7 mm de diámetro interno. En la celda de difusión de gases se utilizó una membrana de teflón de 0.45 μm de diámetro de poro

Configuración

La configuración utilizada se muestra en la Figura 1. Se inyectan 200 μL de disolución estándar o muestra sobre la disolución portadora (disolución amortiguadora de fosfatos 5×10^{-2} M pH 7). Si la disolución inyectada contiene urea, ésta se hidroliza en el reactor enzimático dando como productos bicarbonato y amonio, que confluyen con la disolución donadora básica. El amoniaco resultante permea a través de la membrana de la celda de difusión de gases y se disuelve en la disolución aceptora que contiene el indicador azul de bromotimol. El aumento en la absorbancia en la disolución aceptora es detectado a 590 nm.

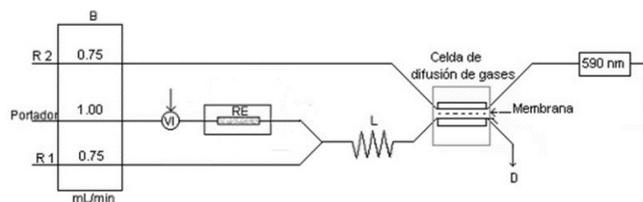


Figura 1. Configuración para la determinación de urea. B: Bomba peristáltica; VI: Válvula de inyección (200 μL); Portador: Disolución amortiguadora de fosfatos 5×10^{-2} M pH 7; R1: Disolución donadora básica bórax-EDTA, pH 12.5; R2: Disolución aceptora de azul de bromotimol 0.02 g/100 mL; RE: Reactor enzimático; L: 120 cm; D: Desecho

El trabajo experimental constó de los siguientes pasos:

Preparación del reactor enzimático. La enzima ureasa se inmovilizó en vidrio de poro controlado (CPG) de acuerdo con la metodología descrita por Johansson y Ögren [11]. La enzima inmovilizada se empacó en una tubería de teflón de 9.5 cm de longitud y 2 mm de diámetro interno y se integró a la configuración FIA mostrada en la Fig. 1. Al finalizar el análisis el reactor se guardó en refrigeración.

Evaluación del método propuesto

- a) Eficiencia del reactor enzimático. Para la evaluación de la eficiencia de la enzima se inyectaron por triplicado disoluciones equimoleculares de amonio y urea. Se construyó la curva de calibración de amonio, y a partir del valor de altura de pico (en Absorbancia) de las disoluciones de urea se calculó la concentración de amonio producido (ver ecuación 2). Con estos resultados se graficó

$$|NH^+| = f|UREA| \quad (2)$$

El valor de la pendiente de esta recta, y considerando la relación estequiométrica de la reacción de hidrólisis, corresponde a la eficiencia del reactor enzimático, de acuerdo a la ecuación 3:

$$\eta = \frac{2|P|}{|S|} \quad (3)$$

En donde: η = eficiencia de la enzima. P = Producto de la reacción enzimática (amonio). S = Sustrato (urea)

- b) Intervalo lineal. Se prepararon e inyectaron por triplicado disoluciones de urea en un intervalo de concentración de 1 a 30 mg/L. Los valores de altura de cada señal obtenida (en unidades de absorbancia) se graficaron en función de la concentración de urea y se determinó el intervalo lineal.
- c) Límites de detección (LD) y cuantificación (LC). Para la determinación LD, LC e intervalo lineal, se inyectaron por triplicado disoluciones de urea en un intervalo de concentración de 18 a 3 mg/L. Los valores de altura de cada señal obtenida fueron empleados para el análisis de regresión lineal. El cálculo de LD y LC se hizo por el

método de mínimos cuadrados [12].

Análisis de muestras

Las muestras analizadas fueron las siguientes:

Tabla 1. Muestras de leche analizadas

LECHE ULTRAPASTEURIZADA		LECHE PASTEURIZADA	
LALA	Entera	LALA	Entera
	Baja en grasa		
	Light		
ALPURA	Entera	ALPURA	Entera
	Light		
	Deslactosada		
STA CLARA	Entera	STA CLARA	Entera
	Light		
	Deslactosada		

Para establecer el factor de dilución se prepararon diluciones 10:25, 5:25, 205:25, 1:25 y 0.7:25 de leche entera. Se inyectaron las disoluciones estándar de urea de 18 y 3 mg/L (extremos de la curva de calibración) y posteriormente las diluciones de leche preparadas. A fin de determinar si la concentración de amonio presente en las muestras contribuye a la señal obtenida por urea, se retiró el reactor enzimático en la configuración y se inyectaron las mismas diluciones de leche preparada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Preparación del reactor enzimático. La enzima ureasa inmovilizada se empacó en un tubo de teflón de 2 mm de diámetro interno y 9.5 cm de longitud.

Evaluación del método propuesto.

- a) Eficiencia del reactor enzimático. Se inyectaron las disoluciones de amonio y urea como se describió en el inciso 2a de la sección de experimentación. Con los valores de altura de

pico (en Absorbancia) se construyó la curva de calibración de amonio. Con esta curva de calibración y las señales obtenidas de las inyecciones correspondientes a urea se calculó la concentración de amonio (producto de la reacción enzimática) obtenida. La Figura 2 muestra el fiograma y la gráfica $[NH_4^+] = f[UREA]$. La eficiencia del reactor, calculada a partir de la pendiente de esta recta fue de 56 %

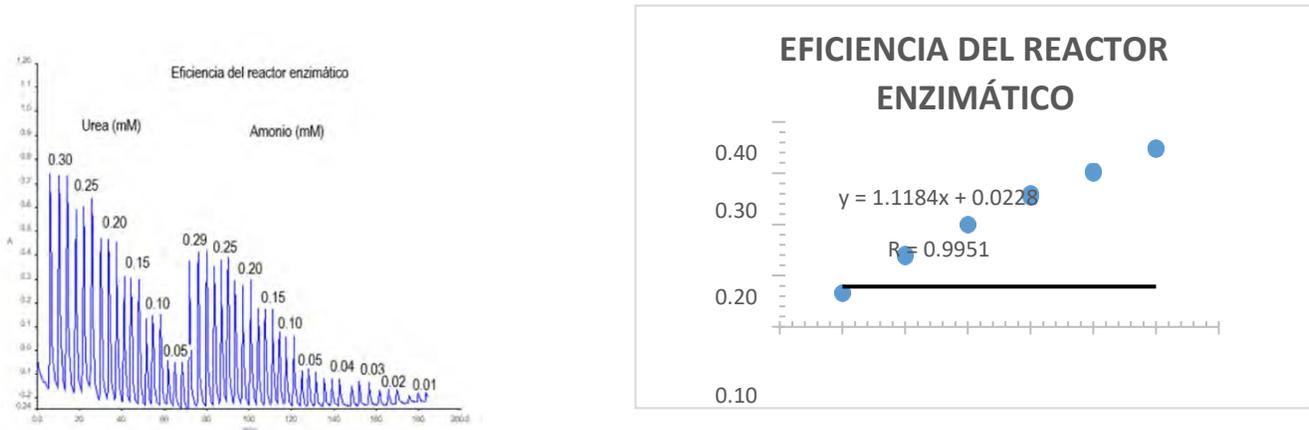


Figura 2. Eficiencia del reactor enzimático.

b) Intervalo lineal. En la Figura 3 se muestra el fiograma obtenido de las inyecciones de ureasa en un intervalo de concentraciones entre 30 y 1.2 mg/L. Se construyó la gráfica Absorbancia = f(concentración). En ésta se puede observar que el intervalo lineal para la determinación de urea es de 20 a 3 mg/L

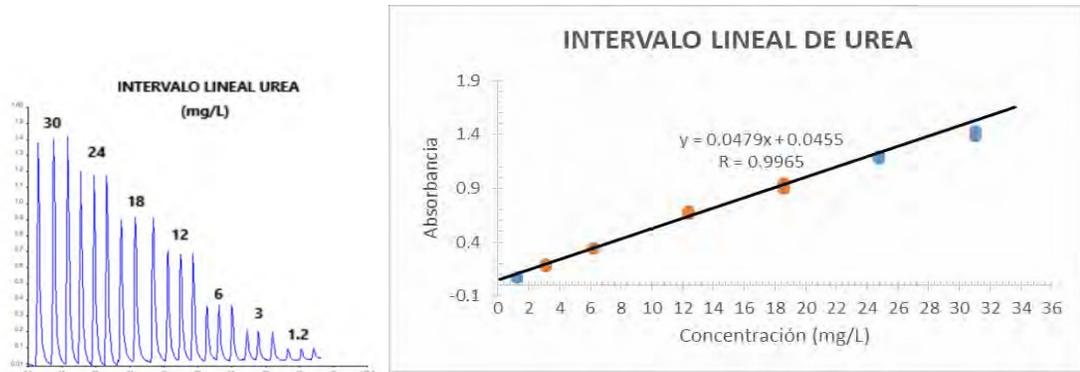


Figura 3. Determinación del intervalo lineal de ureasa.

c) Límites de detección (LD) y cuantificación (LC). Se inyectaron por triplicado disoluciones de urea en un intervalo de concentración de 18 a 3 mg/L. Los valores de altura de cada señal obtenida fueron empleados para el análisis de regresión lineal. El cálculo de LD y LC se hizo por el método de mínimos cuadrados utilizando las correspondientes barras de confianza. Los valores calculados son LD 1.16 mg/L y LC 2.30 mg/L. En la Figura 4 se muestra la gráfica que ejemplifica el cálculo.

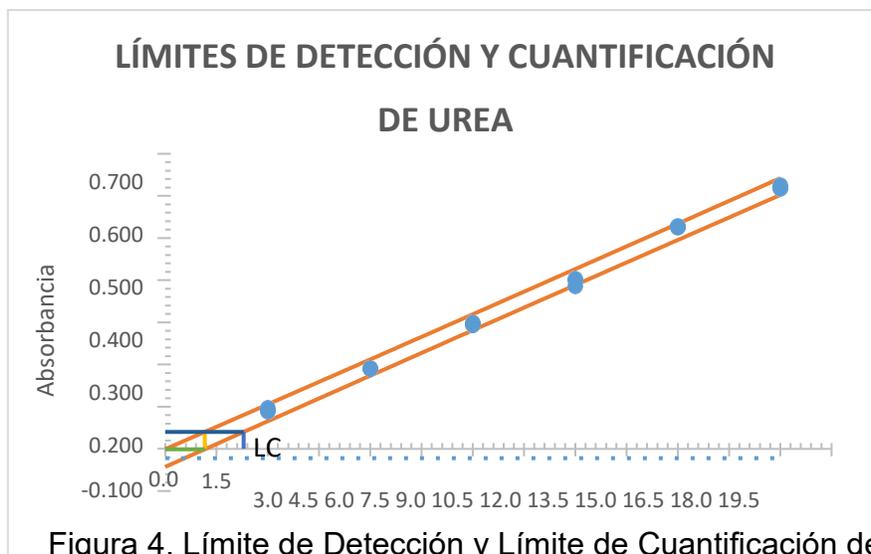


Figura 4. Límite de Detección y Límite de Cuantificación de urea

Análisis de muestras. En la Figura 5 se muestra el diagrama obtenido para determinar la dilución adecuada de las muestras de leche. En este diagrama se observa que la dilución

adecuada de las muestras debe ser menor a 0.7:25. A este valor de dilución la señal obtenida sin el reactor enzimático (señal correspondiente a amonio) tiene una altura que representa menos del 8% de la altura de la señal de urea. Se determinó el contenido de urea en muestras de leche realizando una dilución 0.5:25, una vez inyectados los estándares de urea y muestras se retiró el reactor enzimático y se determinó el contenido de amonio, inyectando estándares de 0.74 a 3.71 mg/L y realizando diluciones de leche 5:25



Figura 5. Diluciones de las muestras de leche

Los resultados obtenidos de la determinación de urea y amonio en las muestras analizadas se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Resultados determinación de urea y amonio

LECHE ULTRAPASTEURIZADA		UREA (mg/L)	AMONIO (mg/L)	LECHE PASTEURIZADA ENTERA	
Lala	Entera	315.5	7.3	Lala	356.6
	Baja en grasa	359.0	7.8		
	Light	333.4	19.1		
Alpura	Entera	322.1	9.2	Alpura	332.0
	Light	256.3	6.9		
	Deslactosada	258.6	8.4		
Santa Clara	Entera	270.8	4.9	Santa Clara	331.5
	Light	300.3	5.2		
	Deslactosada	323.2	5.3		

En esta tabla se observa que el contenido de urea en las leches analizadas se encuentra dentro del intervalo normal de concentraciones de urea en leches y ninguna de las muestras rebasa el valor de concentración máxima aceptada para no causar daños a la salud (700 mg/L). El intervalo de concentraciones de urea encontrado fue de 256 a 359 mg/L.

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se propuso un método para la determinación y diferenciación de urea y amonio en leche. La integración del reactor enzimático y la celda de difusión de gases a la configuración FIA le confiere al método una mayor selectividad, por lo que no es necesario realizar ningún tratamiento de la muestra, a excepción de la dilución de la misma. El método propuesto es sencillo y permite el análisis de numerosas muestras de forma rápida, precisa y selectiva. La capacidad de análisis de muestras por unidad de tiempo de FIA permite su implementación en programas de aseguramiento y control de calidad. De acuerdo a los límites reportados en la bibliografía y a los resultados obtenidos en el análisis, el contenido de urea en las muestras de leche analizadas no sobrepasa los límites máximos establecidos.

El método propuesto para la determinación de urea y amonio puede aplicarse a otro tipo de muestras; el tratamiento de las mismas deberá establecerse de acuerdo a las características de cada matriz

REFERENCIAS

- [1] Noyhouzer, T., et al. A new approach for measuring the redox state and redox capacity in milk. *Analytical Methods*, **1**, 93-99 (2009).
- [2] Trivedi, U.B., et al. Potentiometric biosensor for urea determination in milk. *Sensors and Actuators B*, **140**, 260-266 (2009).
- [3] Georgia-Paraskevi, N., et al. Construction of a simple optical sensor based on air stable lipid film with incorporated urease for the rapid detection of urea in milk. *Analytica Chimica Acta*, **675** [1], 58-63 (2010).
- [4] Geetesh, K., et al. Flow injection analysis biosensor for urea analysis in adulterated milk using enzyme thermistor. *Biosensors and Bioelectronics*, **26**, 1560-1564 (2010)
- [5] Yaping Yu, et al. Discrimination of milk adulterated with urea using voltammetric electronic tongue coupled with PCA-LSSVM. *Int. J. Electrochem. Sci.*, **10**, 10119-10131 (2015).
- [6] Madeshwari Ezhilan, et al. Design and development of electrochemical biosensor for the simultaneous detection of melamine and urea in adulterated milk samples. *Sensors and*

- Actuators B, **238**, 1283-1292 (2017).
- [7] Rajan Sharma, et al. A method for estimation of urea using ammonia electrode and its applicability to milk samples. *Journal of Dairy Research*, **75**, 466-470 (2008)
- [8] Amrita Poonia, et al. Detection of adulteration in milk: A review. *International Journal of Dairy Technology*, **70** [1], 23-42 (2017).
- [9] Secretaría de Economía. Norma Oficial Mexicana NOM-155-SCFI-2012, Leche – Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.
- [10] Stein, K.; Shi, R.; Schwedt, G. Determination of L-asparagine using flow-injection systems with spectrophotometric and potentiometric detection. *Analytica Chimica Acta* **336**. 113-122 (1996).
- [11] Johansson, G.; Ögren. L. An enzyme reactor electrode for urea determinations. *Anal. Chim. Acta* **84**, 23-29, (1976).
- [12] Vogelgesang, J.; Hädrich, J. Limits of detection, identification and determination: a statistical approach for practitioners. *Accred Qual Assur*, **3**, 242-255 (1998).

Ambientales

DETERMINACIÓN ELECTROQUÍMICA EN LÍNEA DE Cr (VI) EMPLEANDO UN ELECTRODO MODIFICADO CON UN POLI (LÍQUIDO IÓNICO) MAGNÉTICO

Thania Alexandra Ferreira García¹

José Antonio Rodríguez^{1*}

Carlos Andrés Galán Vidal¹

Yolanda Castrillejo² Enrique Barrado²

INTRODUCCIÓN

El Cr(VI) es un elemento carcinogénico y mutagénico y debido a su solubilidad en agua se encuentra biodisponible. En las últimas décadas el desarrollo de métodos analíticos para su determinación ha sido un tema de interés y las técnicas electroquímicas plantean una opción viable ya que son simples, sensibles, requieren instrumentación menos costosa que la mayoría de las técnicas instrumentales convencionales y permiten la especiación de los estados de oxidación del cromo sin tratamiento previo de la muestra.

[1] Las técnicas de redisolución catódica en discontinuo se aplican generalmente en la determinación de Cr(VI). En éstas los fenómenos de preconcentración se ven favorecidos por convección forzada en tiempos limitados. Las técnicas de determinación en continuo poseen una mayor flexibilidad en cuanto al volumen de muestra que está en contacto con electrodo de trabajo, lo que permite controlar el tiempo de contacto del analito para la acumulación con la finalidad de incrementar la sensibilidad. Otra ventaja de estos sistemas al ser empleados en técnicas en redisolución es la posibilidad de detener el flujo para realizar la medición. Dentro de los métodos

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química, Carr. Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Mineral de la reforma, Hidalgo, México. C.P. 42184, Tel: (771) 7175200 ext. 2202, e-mail: jara.uaeh@gmail.com.

² Universidad de Valladolid. Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Paseo de Belén 7, Valladolid, España, C.P. 47011.

de determinación en continuo, ha sido descrito muy poco en la literatura para su aplicación en el análisis de Cr(VI); sin embargo, se han implementado técnicas electroquímicas con electrodos de mercurio [2] acopladas a técnicas de FIA. En este proyecto se propone el uso de una técnica voltamperométrica para la determinación en línea de Cr(VI) empleando un electrodo serigrafiado modificado con partículas magnéticas recubiertas de cloruro de poli(1-alil-3-metilimidazolio). La integración de las partículas magnéticas en el sólido adsorbente permite incorporar y renovar el adsorbente en el sistema electroquímico de manera sencilla con la manipulación de un campo magnético externo aumentando la eficiencia del proceso.

EXPERIMENTACIÓN

Síntesis del adsorbente cloruro de poli(1-alil-3-metilimidazolio) magnético

El adsorbente empleado se sintetiza en dos etapas. La primera de ellas consiste en la obtención de magnetita mediante coprecipitación. Se disuelven 12.96 mmol de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en 100 mL de agua desionizada y se adiciona NaOH (6.0 M) hasta alcanzar un valor de pH de 10.0 ± 0.2 . La suspensión se agita a 300 rpm, se burbujea una corriente de aire y se calienta a 100°C durante 45 min manteniendo el valor de pH constante. La fase magnética se separa aplicando un campo magnético externo y decantando el sobrenadante. La magnetita se lava con agua desionizada (3x10mL) y etanol (2x10mL). El núcleo magnético se recubre con la fase polimérica. Para ello se dispersa la magnetita en 15 mL de metanol y se transfiere a un matraz balón. Se añaden 4 mmol de etilenglicol dimetacrilato y 2 mmol de cloruro de 1-alil-3-metilimidazolio. Posteriormente se adicionan 0.5 mmol de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ como iniciador radicalario y el sistema se coloca a reflujo empleando un baño de agua, se realiza una rampa de temperatura de t. a. a 60°C durante las primeras dos horas de reacción, para posteriormente mantener la temperatura constante (60°C) durante dos horas para la obtención del adsorbente $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-IL}$.

Determinación electroquímica de Cr(VI) en continuo

Para la determinación se utiliza un Bipotenciostato μStat 200 de Dropsens (Asturias, España), con un software Dropview para. La configuración del sistema de muestra en la Figura 1.

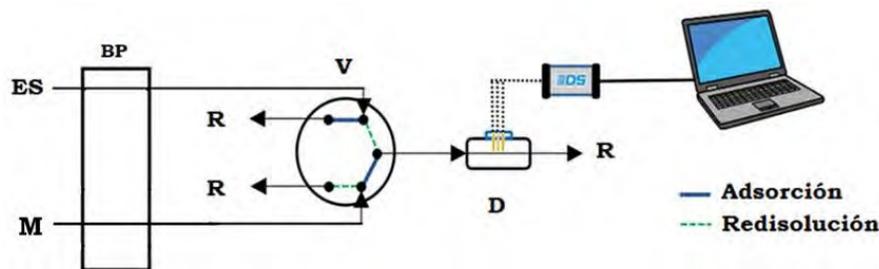


Figura 1. Sistema de determinación para la determinación de Cr(VI). ES: electrolito soporte Britton-Robinson H₃BO₃, H₃PO₄ y CH₃COOH (todos 0.01 M) y NaCl 0.1 M, M: muestra, BP: bomba peristáltica, V: válvula de inyección, R: residuos, D: detector

El electrodo serigrafiado se coloca en una celda de metacrilato de coque frontal (Dropsens, modelo DRP-FLWCL) y se adicionan 10 μ L de una dispersión acuosa del adsorbente magnético (1.0 mg mL⁻¹) sobre el electrodo de trabajo en presencia de un campo magnético externo. La muestra y el electrolito soporte se hacen pasar a través de la celda utilizando una bomba peristáltica (Gilson minipuls 3, Francia) y una válvula de inyección de 4 vías (Gilson).

El proceso de determinación de Cr(VI) consta de dos etapas:

- Etapas de adsorción: La válvula de inyección se coloca en posición de adsorción y la solución de Cr(VI) se hace pasar a través de la celda electroquímica con una velocidad del flujo de 0.5 mL min⁻¹ y un volumen de muestra de 5 mL aplicando un potencial de corriente nula. Bajo estas condiciones la especie de Cr(VI) (HCrO₄⁻) es intercambiada por los iones Cl⁻ contenidos en la fase polimérica del adsorbente.
- Etapas de redisolución: Una vez concluido el tiempo de adsorción, la válvula se cambia a posición de redisolución y se hace pasar el electrolito soporte (Britton Robinson pH=2.5±0.2) a través de la celda durante 30 s, permitiendo la desorción del Cr(VI) para facilitar el transporte de masa hacia la superficie del electrodo. Posteriormente se detiene el flujo y se aplica un barrido de potencial en sentido catódico (0.6 a -0.6 V vs Ag) empleando voltamperometría diferencial de pulsos (amplitud de 50 mV, paso de potencial de 6 mV, periodo de pulso de 4 ms, velocidad de barrido de 50 mV s⁻¹). Al finalizar el análisis el adsorbente se renueva retirando el campo magnético externo. Los parámetros experimentales: volumen de la muestra, velocidad de flujo, pH y cantidad de adsorbente se optimizan con un diseño de parámetros de Taguchi.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización del adsorbente

La evaluación de los grupos funcionales presentes en la superficie de los sólidos se realizó mediante espectroscopía infrarroja (FT-IR) con la finalidad de confirmar la formación del recubrimiento polimérico. Se observa una banda característica a 560 cm^{-1} para la vibración de flexión del enlace Fe-O. La reacción de polimerización en el sólido recubierto genera la presencia de bandas en 1137 cm^{-1} y 1722 cm^{-1} correspondientes a grupos C-O-C y C=O debidos al uso de etilenglicol dimetacrilato como agente entrecruzante. Además, se observa una banda a 1635 cm^{-1} característica del enlace doble C=C del anillo del imidazolio (Figura 2) [2].

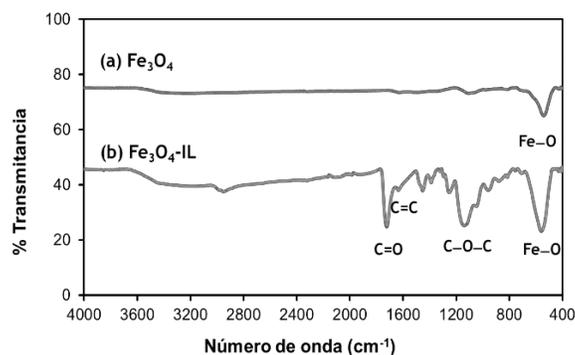


Figura 2 Espectros de IR para (a) la magnetita y (b) Fe₃O₄-IL

La morfología de las partículas se analizó mediante microscopía electrónica de barrido. La micrografía de la magnetita (Fig. 3a) muestra la formación de partículas esféricas de aproximadamente 50 nm de diámetro. Las micrografías obtenidas luego de la reacción de polimerización (Fe₃O₄-IL) (Fig. 3b) indican la formación de un recubrimiento polimérico sobre agregados de partículas magnéticas.

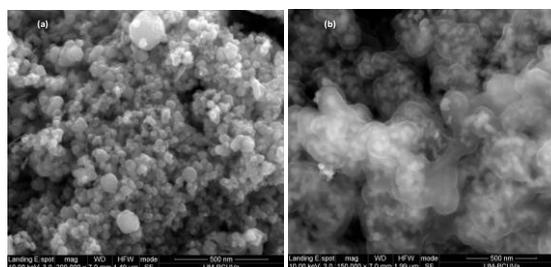


Figura 3. Micrografías de SEM obtenidas para (a) Fe₃O₄ y (b) Fe₃O₄-IL

Determinación en continuo de Cr(VI) mediante AdCSV

Los factores velocidad de flujo, el volumen de muestra la cantidad de adsorbente y el valor de pH se evaluaron y optimizaron mediante un diseño de parámetros de Taguchi $L_9(3^4)$ en el que se evaluaron los factores a tres niveles, cada experimento se realizó por triplicado empleando una concentración de Cr(VI) de $10 \mu\text{g L}^{-1}$. Con los resultados obtenidos se realizó el análisis de medias, cuyo resultado se muestra en la Figura 4.

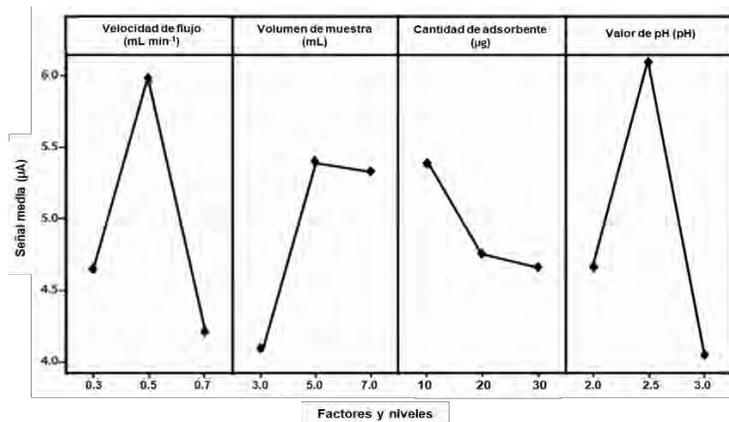


Figura 4. Efecto de los factores de control en el pico de corriente obtenido

El efecto del tiempo de contacto fue evaluado en función de la velocidad de flujo y del volumen de la muestra, como resultado, si la velocidad de flujo es muy grande y el volumen de la muestra es pequeño, el tiempo de contacto será insuficiente y la cantidad de Cr retenida en la superficie será pequeña y en consecuencia se obtiene una respuesta analítica menor. Los valores seleccionados como óptimos son velocidad de flujo de 0.5 mL min^{-1} y volumen de muestra de 5.0 mL . Se obtuvo que el pico de corriente disminuye con la cantidad de adsorbente, ya que la difusión del analito a la superficie del electrodo mejora al disminuir la cantidad de adsorbente empleado, por lo que el valor óptimo seleccionado es de $10 \mu\text{g}$. El valor óptimo de pH del electrolito soporte tiene influencia sobre la carga del adsorbente, grado de ionización y especiación del metal en solución, lo cual se favorece a un valor de 2.5 [3].

Parámetros analíticos de la metodología

Una vez optimizadas las condiciones experimentales para la determinación, se realizaron líneas de calibrado empleando disoluciones estándar y haciendo las determinaciones por triplicado. Además se evaluó el efecto de la matriz en la determinación de Cr(VI) empleando: agua destilada, agua desionizada y agua potable (Tabla 1).

Tabla 1. Parámetros analíticos de las líneas de calibrado evaluando diferentes matrices

Parámetro	Agua desionizada	Agua destilada	Agua potable
Límite de detección ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0.5	0.5	0.9
Límite de cuantificación ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1.5	1.5	3.0
Intervalo lineal ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1.5-8.0	1.5-6.2	3.0- 6.2
Sensibilidad ($\mu\text{A L } \mu\text{g}^{-1}$)	0.145 ± 0.005	0.158 ± 0.005	0.028 ± 0.002

Al emplear agua potable como matriz, se observa una disminución importante en la sensibilidad, por lo cual se decidió realizar la determinación de Cr(VI) en las muestras empleando el método de adición patrón. La precisión se evaluó en términos de repetitividad y reproducibilidad. Se analizaron una serie de soluciones conteniendo 2.5, 3.8 y 5.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(VI) ($n=3$). La determinación muestra buena repetitividad y reproducibilidad, con % de desviación estándar relativa de 0.6% y 4.2% respectivamente (Tabla 2).

Tabla 2. Resultados obtenidos al evaluar la precisión del método.

[Cr(VI)] ($\mu\text{g L}^{-1}$) 1)	Repetitividad % DER	Reproducibilidad % DER
2.5	0.6	4.2
3.8	0.3	2.2
5.0	0.5	2.8

Para conocer la selectividad del método, se evaluó la presencia de iones encontrados en muestras de agua potable considerando los límites máximos permisibles establecidos por la NOM-127-SSA1-1994. Se realizó la determinación en soluciones de Cr(VI) de 5.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ en presencia del interferente a analizar, los aniones producen una disminución en la señal menor al 10% en las siguientes concentraciones: CO_3^{2-} (97.6%, 50.0 $\mu\text{g L}^{-1}$), SO_4^{2-} (90.9%, 500.0 $\mu\text{g L}^{-1}$), Hg(II) (94.8%, 1.0 $\mu\text{g L}^{-1}$) y NO_3^- (93.1%, 10.0 mg L^{-1}) PO_4^{3-} , Fe(III), Zn(II), Cu(II), Cd(II), Pb(II), Cr(III) afectan a la señal en un tanto por ciento < 5.0% a las concentraciones descritas como límites máximos permisibles. El método de redisolución propuesto es adecuado para analizar muestras de agua mediante adición estándar.

Análisis de muestras de agua potable

La exactitud del método se evaluó comparando los resultados obtenidos de la determinación de Cr(VI) en 10 muestras de agua potable con los obtenidos utilizando la metodología oficial (NMX-044-SSA1-1994), y evaluando una muestra certificada. Los resultados se compararon mediante una prueba t, asumiendo varianzas comparables. Los valores de $t_{calculada}$ no exceden a los de $t_{crítica}$ (2.8, $\alpha=0.05$, g.l.=4 para muestras y 4.3, $\alpha=0.05$, g.l.=2 para la muestra certificada) por lo que no hay diferencias significativas.

CONCLUSIONES

La metodología propuesta para la determinación en continuo de Cr(VI) presenta, bajo condiciones óptimas un límite de detección de $0.5 \mu\text{g L}^{-1}$, y una sensibilidad analítica adecuada, lo que satisface los requerimientos de detección de la OMS. El electrodo modificado con el cloruro de poli(1-alil-3-metilimidazolio) magnético permite analizar Cr(VI) de manera selectiva en presencia de iones encontrados normalmente en agua potable, debido a que las etapas de adsorción y detección son independientes. Los parámetros analíticos demuestran que la metodología propuesta es una alternativa viable para la determinación de Cr(VI) en muestras de agua.

REFERENCIAS

- [1] R. Ouyang, W. Zhang, S. Zhou, Z. Xue, L. Xu, Y. Gu, Y. Miao, *Electrochim. Acta.* **113**, 686-693 (2013).
- [2] T.A. Ferreira, J.A. Rodríguez, C.A. Galán-Vidal, Y. Castrillejo, E. Barrado, *Talanta.* **183**, 172-176 (2018).
- [3] H.M. Al-bishri, T.M. Abdel-Fattah, M.E. Mahmoud, *J. Ind. Eng. Chem.* **18**, 1252-1257 (2012).

OPTIMIZACIÓN Y VALIDACIÓN DE UNA METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE PARAQUAT EN MATRICES ACUOSAS AMBIENTALES

Olivia Zamora Martínez^{1,2}
Frida Karen Reyes Berber^{1,2}

I INTRODUCCIÓN

En la actualidad se utilizan diversos compuestos para potencializar la producción de cultivos, entre los cuales se encuentran los plaguicidas, éstos se pueden definir como cualquier agente utilizado para matar organismos no deseados tales como insectos (insecticidas), caracoles y babosas (molusquicidas), roedores (rodenticidas), plantas (herbicidas) u hongos (fungicidas). Los plaguicidas pueden clasificarse de varias maneras, de acuerdo a su toxicidad, su grupo químico o su modo de acción [1]. Dentro del grupo de los herbicidas se encuentra el paraquat, que es un compuesto moderadamente peligroso (clase II) de acuerdo con la clasificación de la Organización Mundial de la Salud [2] y moderadamente estable, por lo que su monitoreo en diversas matrices ambientales es de vital importancia. El paraquat es un herbicida de amonio cuaternario, específicamente se refiere al catión 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridilio, comercialmente se encuentra en forma de sal con los aniones bromuro, cloruro o metansulfonato [3]. Es un herbicida de contacto de amplio espectro postemergente, muy empleado debido a su rápida acción en plantas terrestres y acuáticas. Además, es fuertemente adsorbido por la materia orgánica del suelo lo cual provoca su desactivación e inmovilización; sin embargo, puede ser transportado hacia los mantos acuíferos [4]. Debido a su estructura química es posible su determinación por medio de espectroscopia ultravioleta, sin embargo, ya que se trata de una técnica de análisis no

¹ Universidad Nacional Autónoma de México-Ciudad Universitaria. Instituto de Geología, Departamento de Edafología, Laboratorio de Cromatografía. C.P. 04510. Tel: +55 56224240 ext. 81853, e-mail: dafri.reyes@gmail.com.

² Laboratorio Nacional de Geoquímica y Mineralogía. Paseo de la Coordinación Científica, Coyoacán, UNAM C.U., C.P. 04510. Tel: +55 56224240 ext. 81853, email: oliviazm@geologia.unam.mx.

selectiva, es necesario llevar a cabo una meticulosa evaluación de su cuantificación, que involucra la optimización y la validación de la metodología, así como la determinación de sus alcances analíticos.

EXPERIMENTACIÓN

Preparación de las disoluciones

Para preparar los estándares de paraquat se empleó como disolvente una disolución de cloruro de amonio al 2.5% m/v aproximadamente. Esta disolución también se utilizó como blanco. Los estándares se obtuvieron mediante la dilución de una disolución de paraquat (~1000 mg/L), la cual se almacenó en un frasco ámbar y en refrigeración [5].

Validación del método

Para seleccionar la longitud de onda a la cual se tiene la máxima absorbancia del paraquat se realizó un barrido de una disolución que contenía 25 mg/L del analito en el intervalo de 200 nm a 400 nm. La máxima absorbancia se encontró a 258 nm.

Intervalo lineal

Se determinó el intervalo en el que el analito presenta una respuesta lineal de la absorbancia en función de su concentración, mediante la elaboración de curvas de calibración preparadas por cuadruplicado de manera independiente, considerando 9 niveles de concentración en el intervalo comprendido entre 0.5 mg/L y 50.0 mg/L.

2.1. Límites de detección y cuantificación

Se realizaron 7 mediciones de la absorbancia de disoluciones independientes de 0.2 mg/L de paraquat. El límite de detección se calculó de acuerdo a la ecuación 1 y el límite de cuantificación se calculó de acuerdo a la ecuación 2 [6].

$$LD = \bar{x} + 3s \quad (1)$$

$$LC = \bar{x} + 10s \quad (2)$$

dónde:

s = desviación estándar de la absorbancia (uA)

\bar{x} = promedio de las 7 repeticiones (uA)

2.2. Repetibilidad

En días diferentes se preparó por triplicado y se midió la absorbancia de estándares de paraquat

de: 0.5, 2.0, 7.0, 15.0, 27.4, 45.0 y 50.0 mg/L. Para la precisión se calculó el porcentaje del coeficiente de variación de acuerdo a la ecuación 3 [6].

$$CV (\%) = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \quad (3)$$

2.3. Veracidad

En un mismo día se preparó por triplicado y se midió la absorbancia de las disoluciones de paraquat de: 1.0, 5.0, 10.0, 20.0, 25.0, 30.0, 40.0 y 50.0 mg/L. Cada estándar fue analizado como muestra, determinando su concentración mediante la interpolación de su absorbancia determinada en una curva de calibración de paraquat. La veracidad se evaluó como porcentaje de recuperación, debido a la falta de un material de referencia de paraquat en el laboratorio:

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{C_{\text{recuperada}}}{C_{\text{adicionada}}} \times 100 \% \quad (4)$$

Las muestras se obtuvieron del Parque Nacional de Lagunas de Montebello que se encuentra al sureste de Chiapas, en la frontera con Guatemala. La toma de muestras se realizó en temporada de lluvias. Se tomaron 2 litros de agua a un metro de profundidad en diversos puntos lacustres conocidos como: San Lorenzo (S02, S04, S06, S08, S09), Balemteic (BT01, BTO3), Bosque Azul (B07), Yalmus (Y01) y Vuelta el agua (V02) de acuerdo con lo descrito en la NOM-AA-104-1988 [7]. Durante la recolección de las muestras se midieron los siguientes parámetros fisicoquímicos: pH, conductividad eléctrica (CE), sólidos totales disueltos (STD) y temperatura.

3.1. Conservación, almacenamiento y tratamiento de las muestras

Se llenaron contenedores de polipropileno con la muestra, se taparon y se guardaron, de manera individual en bolsas de plástico, dentro de una hielera durante el viaje. En el laboratorio las muestras se almacenaron en refrigeración a 4°C. Posteriormente, se filtraron en un equipo de microfiltración de vidrio al vacío y se utilizó una membrana de poliamida, con un tamaño de poro de 0.45 µm.

3.2. Blancos de muestras

Para preparar 10.0 mililitros de los blancos de muestras se agregó un poco de muestra al matraz, luego se añadió la alícuota correspondiente de la disolución de NH_4Cl al 2.5 % m/v y se llevó a la marca de aforo con la muestra. La medición de la absorbancia se realizó de la siguiente manera: primero, se medía el blanco (agua desionizada), luego la muestra y por último las disoluciones de los blancos de muestra. Lo anterior se llevó a cabo para cada una de las muestras de las Lagunas de Montebello.

3.3. Muestras fortificadas

Para preparar 10.0 mililitros de las muestras fortificadas, se agregó un poco de muestra al matraz, luego se añadió la alícuota correspondiente de la disolución estándar de paraquat y se llevó a la marca de aforo con la muestra. Lo anterior se realizó por triplicado para cada una de las muestras de las Lagunas de Montebello.

3.4. Evaluación del efecto matriz

Para determinar la concentración de cada una de las muestras fortificadas se corrigió la absorbancia medida experimentalmente de la siguiente manera:

$$A_{\text{corregida}} = A_{\text{experimental}} - A_{\text{blanco de muestra}} \quad (5)$$

Como la absorbancia de los blancos de muestra fue independiente del volumen agregado de la alícuota de NH_4Cl al 2.5 % m/v, se tomó el promedio de todos los blancos de dicha muestra para realizar la corrección. Posteriormente, se calculó la concentración determinada al sustituir la absorbancia corregida A (ecuación 5) en la ecuación de la recta obtenida de la curva de calibración. Finalmente, se graficó la concentración determinada en función de la concentración adicionada para cada una de las muestras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Validación

Se decidió llevar a cabo el desarrollo de la metodología de análisis, su optimización y su aplicación en las muestras reales en el pico de mayor absorbancia (258 nm), ya que este permite obtener la mayor señal del analito, lo cual permite analizar muestras con más bajos niveles de

concentración de paraquat. Cabe mencionar que la cuantificación del analito también podría llevarse a cabo en 204 nm, sin embargo, además de ser una longitud de onda en la que se obtendrían menores límites de detección y de cuantificación, la posibilidad de presentar interferencias de análisis es más alta que en 258 nm, ya que se encuentra muy cerca de la zona del UV en donde muchas especies también presentan absorción. Se comprobó la linealidad de la curva de calibración para el paraquat en el intervalo de concentraciones de 0.5 mg/L a 50 mg/L, ya que la ecuación de la curva de calibración tiene un coeficiente de correlación (r) mayor a 0.98 (Tabla 1), de acuerdo a lo establecido por la Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura (CCAYAC) de la Secretaría de Salud [8]. La ecuación de la curva de calibración del paraquat es la siguiente:

$$\text{Absorbancia (uA)} = \frac{0.0601}{\text{mg}} \cdot \text{Concentración} \frac{\text{mg}}{\text{L}} + 0.005 \quad (6)$$

Se determinó un límite de detección de 0.29 mg/mL. Con respecto al límite de cuantificación, el valor determinado se encuentra muy cercano al punto más bajo del intervalo lineal y su valor de % CV cumple con el recomendado por la CCAyAC (% CV < 10) [8].

Tabla 1. Parámetros de la validación del método para determinar paraquat mediante espectrofotometría ultravioleta.

Parámetro	Valor obtenido	Criterios de aceptación [8]
Intervalo lineal	(0.5 – 50) mg/L $r = 0.9997$	$r \geq 0.98$ para cuantificación de residuos e impurezas
Sensibilidad analítica	(0.0601 ± 0.0005) uA·L/mg	Pendiente: valor cercano a 1
Límite de detección	(0.29 ± 0.41) mg/L	-
Límite de cuantificación	(0.44 ± 0.41) mg/L %CV= 6.3	Menor o igual al nivel inferior en el intervalo de trabajo. %CV < 10
Veracidad	(90.0 - 103.2) % recobro	0.1 a 100 mg/L 70 - 110 %
Repetibilidad	Menor % CV= 0.3 % Mayor % CV= 4.8 %	0.1 a 100 mg/L CV ≤ 15%

Para la repetibilidad el mayor coeficiente de variación fue de 4.8 %, correspondiente al nivel de concentración inferior del intervalo lineal (0.5 mg/L), lo cual era esperado debido a la mayor dificultad al preparar adecuadamente una disolución tan diluida y porque, a pesar de tener una desviación estándar similar al resto de las concentraciones, el valor de la absorbancia

promedio de este estándar es muy bajo en comparación con los otros estándares; lo cual hace que el porcentaje del coeficiente de variación se eleve. Por el contrario, el menor coeficiente de variación, 0.3 %, corresponde al nivel de concentración superior del intervalo lineal (50 mg/L), debido a la menor dificultad al preparar adecuadamente una disolución más concentrada y porque, a pesar de tener una desviación estándar similar al resto de las concentraciones, el valor de la absorbancia promedio de este estándar es muy alto en comparación con los otros estándares; lo cual hace que el porcentaje del coeficiente de variación disminuya.

De acuerdo con los resultados, la metodología de trabajo es precisa, ya que todos los porcentajes de los coeficientes de variación correspondientes a los distintos niveles de concentraciones evaluados son menores al 15 %, de acuerdo al criterio de aceptación establecido por la CCAyAC [8] para concentraciones comprendidas entre 0.1 a 100 mg/L de residuos y contaminantes en alimentos y aguas (tabla 1).

Para evaluar la veracidad se calculó la concentración, de estándares analizados como muestras, mediante el uso de la ecuación de la curva de calibración, así como los porcentajes de recobro. El menor y mayor porcentaje de recobro fueron 90.0 % y 103.2

%, respectivamente; los cuales satisfacen el criterio de aceptación, recomendado por la Secretaría de Salud, correspondiente a estos niveles de concentración de residuos y

contaminantes en alimentos y aguas (tabla 1), ya que éstos están comprendidos en el intervalo de 70 % a 110 %. Con esto es posible decir que todos los parámetros determinados cumplieron los criterios de aceptación para la validación de métodos fisicoquímicos recomendados por la Secretaría de Salud [8].

Sin embargo, ya que el nivel máximo permisible por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de paraquat en agua potable es 3 $\mu\text{g/L}$ y por la directiva de la Unión Europea para la presencia de herbicidas en agua de consumo humano es un total de 0.1 $\mu\text{g/L}$. Estos valores se encuentran muy por debajo de los límites de detección (290 $\mu\text{g/L}$) y de cuantificación (440 $\mu\text{g/L}$) del método.

2. Evaluación del efecto matriz

En la siguiente tabla se muestran los parámetros de las regresiones lineales de concentración recuperada en función de la concentración adicionada para cada uno de los niveles de concentración de estudio.

Tabla 2. Efecto matriz en la cuantificación de paraquat en las muestras de estudio.

Clave	Lugar	Pendiente m (uA*L/mg)	Ordenada al origen b (uA)	Coefficiente determinación R ²	Coefficiente correlación r
Y01	Lago Yalmus	1.017 ± 0.012	0.02 ± 0.36	0.9995	0.9997
V02	Lago Vuelta el agua	1.017 ± 0.021	0.04 ± 0.62	0.9985	0.9992
S02	Lago San Lorenzo	1.011 ± 0.015	0.02 ± 0.45	0.9992	0.9996
S04		1.017 ± 0.010	0.04 ± 0.30	0.9996	0.9998
S06		1.001 ± 0.007	-0.01 ± 0.20	0.9998	0.9999
S08		1.035 ± 0.011	0.06 ± 0.31	0.9996	0.9998
S09		1.009 ± 0.016	0.00 ± 0.48	0.9991	0.9995
BT01	Laguna Balamtetic-Tepancoapan	1.010 ± 0.009	0.18 ± 0.26	0.9997	0.9999
BT03		1.012 ± 0.012	-0.13 ± 0.35	0.9995	0.9997
B07	Lago Bosque Azul	1.027 ± 0.010	-0.03 ± 0.29	0.9997	0.9998

Tabla 3. Porcentajes de recuperación de paraquat en las disoluciones fortificadas.

Concentración adicionada (mg/L)	% Recuperación									
	Y01	V02	S02	S04	S06	S08	S09	BT01	BT03	B07
0.5	78.9	75.4	88.7	92.9	90.8	86.8	77.2	104.5	85.4	80.0
1.0	93.3	88.7	97.1	97.5	97.0	95.6	90.2	103.0	92.1	89.9
5.0	97.1	95.6	100.2	101.7	99.7	101.6	97.1	104.3	100.3	98.2
25.0	105.3	106.7	103.1	103.2	100.7	106.9	104.3	104.7	99.2	105.2
45.0	101.7	103.0	100.8	102.7	99.4	103.8	100.1	101.1	101.3	103.1
50.0	100.9	99.7	101.0	100.8	100.4	102.7	100.8	101.0	101.0	101.7

En la tabla 3, se presentan los respectivos porcentajes de recobro de las muestras fortificadas, que indican el efecto de la matriz sobre los diferentes niveles de concentración de paraquat de estudio.

Como se observa en la tabla 2 todas las pendientes de las rectas obtenidas son cercanas a 1 ($\mu\text{A}\cdot\text{L}/\text{mg}$) y sus respectivos valores de coeficiente de correlación son ≥ 0.9992 , por lo cual se cumple con el criterio de linealidad establecido por la CCAyAC de la Secretaría de Salud. Además, los valores de los porcentajes de recuperación obtenidos para todas las muestras en todos los niveles de concentración de trabajo se encuentran dentro del intervalo comprendido entre el 70 % y 110 % de recuperación que establece la CCAyAC como criterio de aceptación para estos niveles de concentración, por lo cual se confirma que la metodología de análisis no presenta interferencias de matriz en los niveles de concentración de estudio.

CONCLUSIONES

El método propuesto es lineal y exacto (veracidad y precisión) por lo que es aplicable a muestras acuosas con niveles de concentración dentro del intervalo de 0.5 a 50 mg/L.

Se determinaron las siguientes figuras de validación: intervalo lineal (0.5–50) mg/L, sensibilidad (0.0602 ± 0.0005) $\mu\text{A}\cdot\text{L}/\text{mg}$, coeficiente de correlación $r=0.9997$, límite de detección 0.29 mg/L, límite de cuantificación 0.44 mg/L, precisión (% CV: 4.8 %) y veracidad (90.0 % - 103.2 %).

Las muestras del Parque Nacional de Lagunas de Montebello no presentan interferencias debidas a la matriz ya que obtuvieron recobros dentro del intervalo comprendido entre el 70% y 110 % de recuperación que establece la CCAyAC como criterio de aceptación.

Para disminuir los valores del límite de detección y del límite de cuantificación es necesario desarrollar un tratamiento de preconcentración del analito, siendo la extracción en fase sólida una alternativa.

Es conveniente ampliar el alcance del método a distintos tipos de muestras acuosas como lo son el agua residual, de manantial o de río; ya que en este tipo de matrices pueden existir interferencias que dificulten la aplicación del método, para lo cual se debe evaluar el efecto de la matriz por medio de los porcentajes de recobro en muestras fortificadas a distintos niveles de concentración.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

REFERENCIAS

- [1] F. D. Dick, Parkinson's disease and pesticide exposures. *British Medical Bulletin*. 219- 231 (2006).
- [2] A. H. Dawson, M. Eddleston, L. Senarathna, F. Mohamed, G. Indika, S. J. Bowe, G. Manuweera, N. A. Buckley. Acute Human Lethal Toxicity of Agricultural Pesticides: A Prospective Cohort Study. *PLoS Medicine*. **7**, [10] 1-10 (2010).
- [3] M. Aramendía, V. Borau, F. Lafont, A. Marinas, J. M. Marinas, J. M. Moreno, J. M. Porras, F. J. Urbano, Determination of diquat and paraquat in olive oil by ion-pair liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry (MRM). *Food Chemistry*. **87**, 181-188 (2006).
- [4] M. Pateiro-Moure, E. Martínez-Carballo, M. Arias-Estévez, J. Simal-Gándara, Determination of quaternary ammonium herbicides in soils Comparison of digestion, shaking and microwave-assisted extractions. *Journal of Chromatography A*. 110-116, (2008).
- [5] O. Zamora Martínez. Protocolo de trabajo: Determinación y cuantificación de paraquat en muestras acuosas. Laboratorio de Cromatografía, Instituto de Geología-LANGEM, UNAM. (2014).
- [6] J. N. Miller, J. C. Miller. Estadística y quimiometría para química analítica. Cuarta ed. Prentice Hall. Madrid. (2002).
- [7] NMX-AA-104-1988. Plaguicidas -determinación de residuos en agua- método de toma de muestras.
- [8] G. Vega Rodríguez, Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos, CCAyAC Secretaría de Salud. México. (2011).

ADMINISTRACIÓN DE ALUMINIO Y METILNITROSOUREA (MNU) Y BIODISPONIBILIDAD DE HIERRO, COBRE Y ZINC EN SANGRE DE RATAS CUANTIFICADOS POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

Alejandro Monserrat García Alegría¹

Agustín Gómez Álvarez²

Rafael Canett Romero³

María Guadalupe Cáñez Carrasco¹

Kareen Krizzan Encinas Soto²

Claudio Alfredo López Miranda⁴

INTRODUCCIÓN

El aluminio en sus formas solubles recientemente ha sido objeto de estudios para determinar su potencial tóxico en animales de laboratorio y en humanos [1,2]. Resultados previos indican que el aluminio ha sido asociado con alteraciones neurodegenerativas [3], daño hepático [4], cáncer de mama [5], y daño a nivel de médula ósea y hematológico [6], entre otras. Con respecto a esto último, algunos investigadores han determinado que existe asociación entre formas solubles de aluminio y anemias ferropénicas [7]. Más aún, otros investigadores han sugerido la posibilidad de que el aluminio tiene la capacidad de secuestrar iones metálicos como el hierro [8] y esto se asocia directamente con anemias ferropénicas [7]. Por tal razón, el objetivo del presente trabajo fue determinar si la administración de aluminio (AlCl_3) por vía intragástrica, solo o combinado con MNU, afecta la biodisponibilidad de los minerales esenciales hierro (Fe), cobre (Cu) y zinc (Zn), CUANTIFICADOS MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA POR FLAMA.

¹ Universidad de Sonora, Departamento de Ciencias Químico Biológicas. Luis Encinas y Rosales s/n colonia Centro. Hermosillo, Sonora, México. C.P 83000. Teléfono +52 (66) 22 59 21 63. monserrat.garcia@unison.mx*

² Universidad de Sonora, Departamento de Ingeniería Química y Metalurgia.

³ Universidad de Sonora, Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos.

⁴ Universidad de Sonora, Departamento de Matemáticas.

EXPERIMENTACIÓN

Químicos

El reactivo N-metil-N-nitrosourea (MNU) N1517-1G lot # SLBF6813V Sigma Chemical Co. El cloruro de aluminio (AlCl_3) lot #, Sigma Chemical Co.

Modelo experimental

Se seleccionaron 12 ratas hembra Sprague Dawley desarrolladas de la colonia del bioterio del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos de la Universidad de Sonora, con un peso entre 180 y 220 g a los 50 días de edad.

Diseño experimental (tratamientos)

Grupos de tres ratas fueron asignadas completamente al azar a uno de los siguientes tratamientos experimentales: Tratamiento A, ratas sin aluminio y sin MNU (Control negativo, -Al/-NMU). Tratamiento B, ratas con aluminio a 2000 mg/L y sin MNU (+2000Al/-NMU). Tratamiento C, ratas con aluminio a 2000 mg/L y con MNU (+2000Al/+MNU). Tratamiento D, ratas sin aluminio y con MNU (control positivo, -Al/+MNU). Las ratas sin aluminio y sin MNU fueron tratadas con solución salina fisiológica al 0.98% para igualar las condiciones de manejo animal. A las ratas se les administró 1 mL de la solución de aluminio (AlCl_3) por vía intragástrica (gavage) por cinco días a la semana durante 15 días.

En tanto que la vía de administración de MNU fue por vía intraperitoneal, a los 50 días de edad [9,10].

Administración de Metilnitrosourea

Las ratas fueron tratadas con dosis de 50 mg/Kg de peso corporal de la rata con MNU (N-metil-N-nitrosourea, N1517-1G Sigma-Aldrich, aplicado como agente genotóxico [11,12].

Condiciones de manejo de bioterio

Ciclos de luz/oscuridad de 12 h, humedad entre 40 y 70%, temperatura entre 18 y 22 °C, agua y alimentos *ad libitum* [13].

Dieta

Dieta basal de alimento tipo pellets que contiene 23% de proteína, 1% de vitaminas, 4% de minerales, 4% de fibra, 6.5% de grasa, 0.2% de bitartrato de colina, 0.2% de metionina, otros componentes menores de la dieta y almidón hasta completar el 100%. Humedad máxima 12%.

Este alimento es producido por LabDiet, de Estados Unidos de Norteamérica y comercializado por PetFood de México [14].

Toma de muestras de sangre periférica: Obtenidas por punción intracardiaca de ratas anestesiadas en cámara de halotano y posteriormente eutinizadas por dislocación cervical, de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-033-ZOO-1995 y NOM-062-ZOO- 1999, para evitar el sufrimiento animal [15,16]. A estas muestras se les cuantificó la concentración de aluminio, hierro, cobre y zinc

Determinación de la concentración de aluminio, hierro, cobre y zinc

Previamente las muestras fueron digeridas en horno de microondas TITAN MPS [17]. Para ello se pesaron 0.4 ± 0.02 g de sangre y se colocaron en tubos de digestión de teflón de 15 x 2.5 cm que contienen 7 mL de HNO₃ concentrado y las condiciones de digestión fueron 200°C, 35 barr, 1600 watts, durante 47 minutos [18]. El residuo ácido resultante se aforó a 100 mL con agua desionizada para posteriormente cuantificar la concentración de aluminio, hierro, cobre y zinc.

La determinación de la concentración de aluminio, hierro, cobre y zinc en estándar, material de referencia certificado y sangre completa de las ratas, se hizo mediante espectroscopia de absorción atómica en el equipo automatizado AAnalyst 400 en modalidad flama (EAAF) para Fe, Cu y Zn, en tanto que para Al la modalidad fue horno de grafito (EAAHG), bajo las condiciones de operación recomendadas por el proveedor [19,20]. Las curvas de calibración para cada metal se realizaron por triplicado y con cinco concentraciones para cada uno. Para Al las concentraciones fueron 20, 40, 60, 80 y 100µg/L; las concentraciones para Fe fueron 2, 5, 15, 30 y 60 mg/L; para Cu fueron 0.5, 1, 2,5 y 15 mg/L; y para Zn fueron 0.25, 0.5, 1, 2 y 4 mg/L. Es importante señalar que previamente, el método analítico para la cuantificación de aluminio había sido optimizado y posteriormente se realizó la validación y la estimación de la incertidumbre expandida del método analítico para cuantificar aluminio por EAAF y EAAHG [21, 22, 23].

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron evaluados mediante un análisis de varianza (ANOVA), para ello se utilizó en estadístico F con un nivel de significancia del 5% ($\alpha = 0.05$), obtenido mediante una prueba de aleatorización.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Previo a la cuantificación de Al, Fe, Cu y Zn, se realizaron las curvas de calibración para cada uno de los metales. Las curvas de calibración se hicieron por triplicado y se utilizaron cinco concentraciones para cada elemento. Las curvas de calibración se pueden observar en las Figuras 1, 2, 3 y 4. En ellas se puede apreciar que los valores para los coeficientes de correlación (r) son 0.9952, 0.9985, 0.9999 y 0.9995 para Al, Fe, Cu y Zn, respectivamente. Estos valores son aceptables, ya que sobrepasan el valor de $r = 0.995$ de acuerdo a lo establecido en la normatividad nacional e internacional [24,25].

Con respecto a los resultados para determinar si el Al solo o combinado con MNU afecta la biodisponibilidad de elementos traza esenciales (Fe, Cu y Zn) en sangre periférica de ratas Sprague Dawley, en la Tabla 1 se puede apreciar que no existe diferencia significativa ($\alpha = 0.05$) entre los tratamientos experimentales con respecto a la concentración de Fe, Cu y Zn, obtenidos a través de la dieta. Es decir, la administración de Al y/o MNU como agentes genotóxicos, no afectan la biodisponibilidad de estos elementos, con lo cual se puede aseverar que estos resultados no concuerdan con los obtenidos por otros investigadores que señalan que el Al es capaz de secuestrar a estos metales [7,8]. Sin embargo, hay que considerar que en el presente trabajo la administración de Al se realizó durante 15 días y no se podría aseverar esto si la administración de Al fuera por periodos de exposición más prolongados.

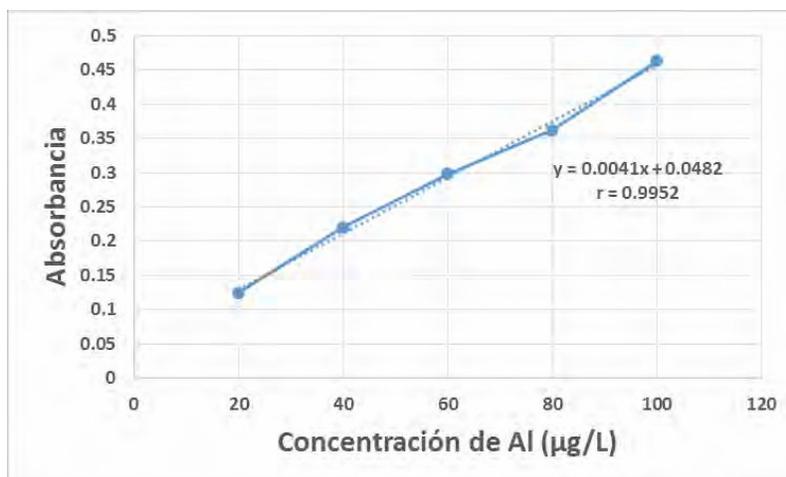


Figura 1.- Curva de calibración para aluminio (Al).

Tabla 1.- Concentración de Al, Fe, Cu y Zn en sangre periférica de ratas Sprague Dawley, determinados por absorción atómica.

TRATAMIENTOS	Al (µg/L)	Fe (mg/L)	Cu (mg/L)	Zn (mg/L)
GRUPO A (-Al/-MNU)	0.401	2.443	0.000	0.078
GRUPO B (+2000Al/-MNU)	376.362	2.331	0.003	0.081
GRUPO C (+2000Al/+MNU)	372.564	2.223	0.005	0.097
GRUPO D (-Al/+MNU)	0.443	2.302	0.007	0.099

La concentración de cada elemento representa la media de tres réplicas obtenidas para cada uno de los tratamientos experimentales.

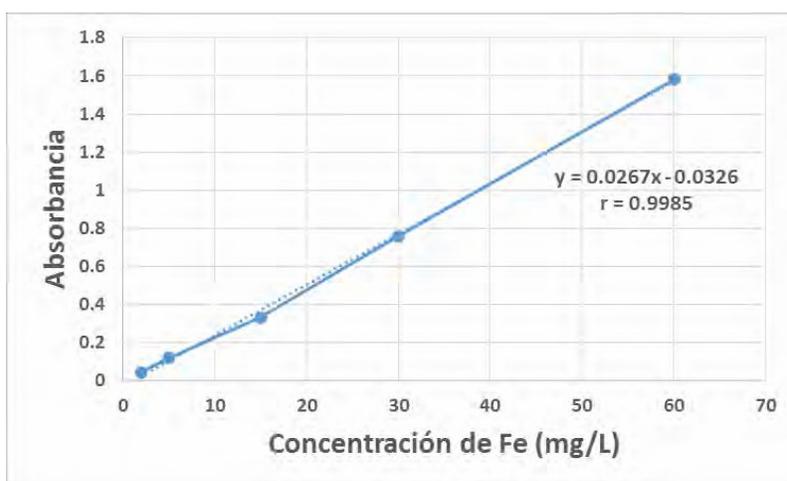


Figura 2.- Curva de calibración para hierro (Fe).

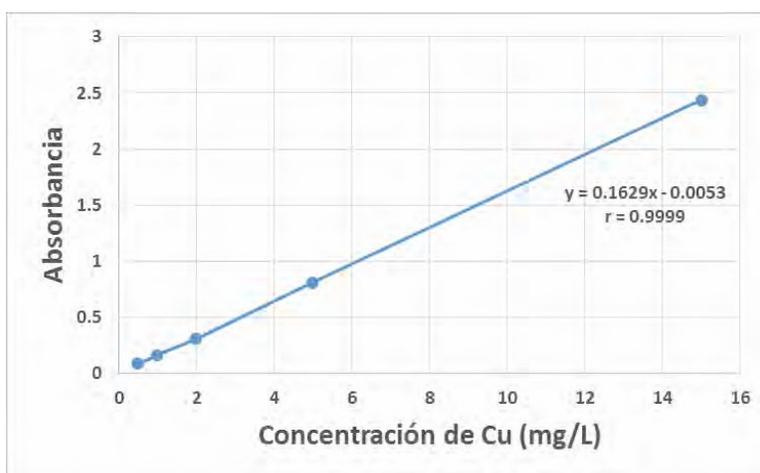


Figura 3.- Curva de calibración para cobre (Cu).

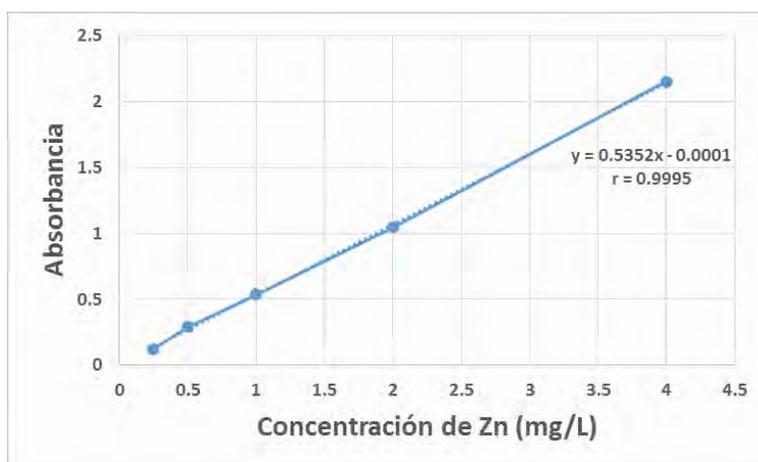


Figura 4.- Curva de calibración para Zinc (Zn).

CONCLUSIONES

El aluminio (AlCl_3) administrado por vía intragástrica, solo o en combinación con MNU, no altera la biodisponibilidad de hierro (Fe), cobre (Cu) y zinc (Zn) en sangre periférica de ratas Sprague Dawley.

REFERENCIAS

- [1] P.B. Tchounwou, C.G. Yedjoum, A.K. Patlolla, D.J. Sutton. *EXS.* **101**:133-164 (2012).
- [2] L.A.F. Gil, C.E.P. da Cunha, M.S.G. Gustavo, M.F.M. Salvarani, A. Ronnie, A.F.C. Lobato, M. Mendonça, O.A. Dellagostin, F.R. Conceição. *PLOS ONE* **8**(7):e69692 (2013).
- [3] C. Zhang, Y. Li, C. Wang, R. Lv, T. Song T *PLOS ONE.* **8**(8):1-8 e17087 (2013).
- [4] Y. Zhu, Y. Han, H. Zhao, J. Li, C. Hu, Y. Li Y, Zhang Z. *Food and Chemical Toxicology.* **51**:210-214 (2013).
- [5] P.D. Darbre. *Journal of Inorganic Biochemistry.* **99**:1912-1919 (2005).
- [6] V. Lambert, R. Boukhari, M. Nacher, J.P. Goullé, E. Roudier, W. Elguindi, A. Laquerrière, G. Carles. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **83**(5):1100-1105 (2010).
- [7] M. Farina, F.S. Lara, R. Brandão, R. Jaques, J.B.T. Rocha. *Toxicology letter.* **132**:131- 139 (2002).
- [8] M.V. Peto. *Rejuvenation Research.* **13**(5):589-598 (2015).
- [9] A. Balasubramanyam, N. Sailaja, M. Mahboob, M.F. Rahman, S. Misra, S.M. Hussain, P. Grover. *Mutation Research* **676**:41-47 (2009).
- [10] M. Hirata-Koizumi, S. Fujii, A. Ono, A. Hirose, T. Imai, K. Ogawa, M. Ema, A. Nishikawa. *Reproductive Toxicology.* **31**:219-230 (2011).
- [11] P. Guillino, H. Pettigrew, F.N. Grantham. *J. Natl. Cancer Inst.* **54**:401-414 (1975).
- [12] B. Bobrowska-Korczak, D. Skrajnowska, A. Tokarz. *J Biomed Sci.* **19**(43):1-9 (2012).
- [13] Y.C. Chou, R.C. Guzman, S.M. Swanson, J. Yang, H.M. Lui, V. Wu, S. Nandi. *Carcinogenesis.* **20**(4):677-684 (1999).

- [14] S.L. Rees, S. Panesar, M. Steiner, A.S. Fleming. (2006) *Hormones and Behavior* **49**:337-345 (2006).
- [15] Norma Oficial Mexicana. NOM-033-ZOO-1995. Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres. (1995).
- [16] Norma Oficial Mexicana. NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. (1999).
- [17] Perkin Elmer. Manual operation of equipment microwave furnace model TITAN MPS. (2014).
- [18] D. Bohrer, M.B. Dessuy, R. Kaizer, P.C. do Nascimento, M.R.C. Schetinger, V.M. Morsch, L.M. Carvalho, S.C. Garcia. *Analytical Biochemistry*. **377**:120-127 (2008).
- [19] T.J.C. Neiva, A.L. Benedetti, S.M.C.N. Tanaka, J.I. Santos, E.A. D'Amico. *Braz J Med Biol Res* **35**(3):345-350 (2002).
- [20] Perkin Elmer. Manual operation of equipment atomic absorption spectroscopy model AAnalyst 400. (2012).
- [21] A.M. García-Alegría, A. Gómez-Álvarez, I. Anduro-Corona, A. Burgos-Hernández, E. Ruiz-Bustos, R. Canett-Romero, H.F. Astiazarán-García. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. **34**(1):17-24 (2017).
- [22] A.M. García-Alegría, A. Gómez-Álvarez, I. Anduro-Corona, A. Burgos-Hernández, E. Ruiz-Bustos, R. Canett-Romero, M.G. Cáñez-Carrasco, H.F. Astiazarán-García. *MAPAN- Journal of Metrology Society of India*. **32**(1):1-11 (2017).
- [23] A.M. García-Alegría, A. Gómez-Álvarez, I. Anduro-Corona, A. Burgos-Hernández, E. Ruiz-Bustos, R. Canett-Romero, K.K. Soto-Encinas, Astiazarán-García HF. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. **34**(3). (2018). Aceptado para publicación.
- [24] CENAM-EMA. Guía técnica sobre trazabilidad e incertidumbre en las mediciones analíticas que emplean las técnicas de espectrofotometría de absorción atómica y de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente. México, D.F. (2008).
- [25] EURACHEM/CITAC Guide CG 4. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. (2012).

DETERMINACIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES EN MUESTRAS DE AGUA EMPLEANDO HF-LPME Y UPLC-MS/MS

Vilma del Carmen Salvatierra Stamp¹
Silvia Guillermina Ceballos Magaña²
Roberto Muñiz Valencia^{1*}

INTRODUCCIÓN

Los contaminantes emergentes (CEs) son compuestos orgánicos (fármacos, productos de cuidado personal, hormonas sintéticas y aditivos industriales, entre otros) capaces de alterar el sistema endocrino provocando efectos adversos en la biota con la cual está en contacto. [1-3]. Estos compuestos no suelen estar regulados pudiéndoseles encontrar en diversas matrices medioambientales a muy bajas concentraciones (desde $\mu\text{g/L}$ a ng/L). Debido a ello se están desarrollando diversas técnicas de concentración previo a la cuantitativa. Técnicas miniaturizadas como la microextracción en fase líquida con fibra hueca (HF-LPME) permiten la limpieza y extracción de los analitos empleando cantidades mínimas de disolventes orgánicos, logrando una extracción eficiente en un menor tiempo de experimentación [4-5]. El propósito de este trabajo fue desarrollar un método analítico para la determinación de 27 CEs. Para ello se realizó la concentración de los analitos mediante la microextracción en fase líquida con fibra hueca, y se cuantificó empleando la cromatografía de líquidos de ultra alta eficacia acoplada a un detector de espectrometría de masas en tándem. Con la finalidad de obtener los mejores resultados y

¹ Universidad de Colima, Facultad de Ciencias Químicas, Carretera Colima- Coquimatlán km 9, Estado de Colima, C.P. 28400. Tel/Fax: +52 (31) 23 16 11 63. e-mail: robemuva@yahoo.com

² Universidad de Colima, Facultad de Ciencias, Bernal Díaz del Castillo 340, Estado de Colima, C.P. 28045. Tel/Fax: +52 (31) 23 16 11 351.

factores de enriquecimiento más altos se optimizó la etapa de la separación cromatográfica, la detección y la preparación de muestra, considerando todos los factores que afectan la técnica de microextracción.

EXPERIMENTACIÓN

Reactivos y materiales

Todos los estándares analíticos estudiados – anilina (ANL), metformina (MTF), acetaminofen (ACF), carbazol (CZL), aldicarb (ALD), cafeína (CFN), tiabendazol (TBN), carbaril (CBR), ibuprofeno (IBP), atrazina (ATZ), carbofuran (CBF), ácido 2,4- diclorofenoxiacético (2,4D), ametrín (AMT), bisfenol A (BPA), diurón (DIU), carbamazepina (CMZ), metil paratión (MPR), disulfotón (DSF), triclosán (TCS), diazinón (DZN), tebuconazol (TBC), malatión (MLT), clorpirifos (CPF), hidrocortisona (HDR), temefos (ABT), glibenclamida (GBD) y 4 nitrofenol (4NF) – tuvieron 98% de pureza, y los disolventes orgánicos empleados (1-octanol, tolueno, iso-octano, acetona, ácido fórmico (HCOOH), metanol (MeOH) y acetonitrilo (AcN) fueron de calidad UPLC-MS. Se prepararon soluciones individuales y una mezcla a 1000 mg/L en MeOH, almacenándolas para preparar soluciones de trabajo posteriores, y se empleó un sistema de purificación de agua Milli-Q, de Millipore, para el agua ultrapura. La preparación de muestra se realizó empleando una fibra hueca de polipropileno, Accurel Q 3/2, de 200 μm , de grosor de pared, 600 μm de diámetro interno, y 0.2 μm de tamaño de poro.

Condiciones cromatográficas

Se empleó un equipo ACQUITY de Cromatografía de líquidos de ultra alta eficacia (UPLC) Clase-H, con sistema cuaternario, acoplado a un detector de espectrometría de masas de tipo triple cuadrupolo (TQD) con una fuente de ionización en electrospray Z- Spray. La separación cromatográfica se logró con una columna ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1x100mm, 1.7 μm) operando a 30 °C. La fase móvil empleada fue agua (A)/AcN (B), ambos con 0.1% de ácido fórmico (HCOOH), operando a un flujo de 0.40 mL/min, con gradiente de elución de 0-3 minutos, gradiente lineal de 3 a 33% de B; de 3-7 minutos, permanece a 33% de B; de 7-13 minutos, gradiente lineal de 33 a 95% de B; y permanece a 95% por 1 minuto. El volumen de inyección se estableció en 5 μL empleando el automuestreador, manteniendo las muestras a 15 °C.

El flujo del gas de cono empleado fue de 50 L/h, y del gas de desolvatación fue de 600 L/h. El gas de colisión empleado fue el Argón, al 99.9%, para la operación del modo MS/MS. Se aplicó un voltaje de capilar de 3.0 kV, con temperatura de desolvatación 300°C, y la temperatura de la fuente 150 °C. Todos los compuestos fueron analizados en modo ESI positivo, con excepción del 4NF que fue analizado en modo ESI negativo. El espectrómetro de masas (MS) fue operado en modo monitoreo de reacción múltiple (MRM). La energía de colisión y el voltaje de cono empleado para la detección de los analitos dependió de cada compuesto. El procesamiento de datos se realizó con el programa MassLynx V4.1.

Preparación de muestras

La preparación de la muestra se realizó mediante HF-LPME, para ello se tomaron muestras de agua de 1000 mL ajustándolas a pH 7 y se les agregó 3% de NaCl agitándola hasta disolución total. El agua preparada se llevó a un recipiente ovoide de base plana colocada en una placa calefactora con agitación a 100 rpm. En el caso dado, se le adicionó la mezcla de CEs para el respectivo análisis, a la concentración requerida, y se agitó durante 5 minutos para su homogenización.

Se cortó y acondicionó una pieza de 5.5 cm de la fibra hueca, para posteriormente introducirle 40 µL e impregnarla de 1-octanol. La fibra cargada se introdujo en el recipiente ovoide, y al finalizar el experimento se recuperó el disolvente retrayendo el émbolo de la jeringa y se inyectó en el sistema UPLC-MS/MS.

Validación del método

El rendimiento del método se evaluó mediante la estimación de la linealidad, la exactitud, la precisión y los límites de detección y cuantificación, siguiendo los lineamientos establecidos en las guías de validación de la ICH [6] y de la Comisión Europea 2002/657/EC [7]

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Optimización de la detección

Se realizó la infusión directa de 20 µL de una mezcla de los estándares a 10 mg/L. La evaluación de los parámetros para la ionización se realizó esperando una mayor sensibilidad para lograr su optimización. Se mantuvieron constantes el flujo del gas de cono en 50 L/h, la temperatura de la

fuente en 150 °C, y la temperatura de desolvatación en 300 °C; y se evaluó en un intervalo de 2 a 75 V el voltaje de cono, y de 2 a 80 V la energía de colisión. La evaluación de los resultados se realizó a través del sistema IntelliStart, implementado en el sistema UPLC-MS/MS.

Optimización cromatográfica

Se inyectó una mezcla de estándares de los 27 CEs a 5 mg/L, con la columna a 30 °C y a 0.40 mL/min de flujo. La separación cromatográfica óptima se logró en 13 minutos, y muestra que diversos compuestos eluyen con tiempos de retención (t_{ret}) muy cercanos, tal como es el caso de MTF ($t_{ret}=0.61$ min) y ANL ($t_{ret}=0.69$ min); o coeluyen como el 2,4D y el CBF, ambos con $t_{ret}=6.03$ min; o que la intensidad de un analito es mayor de modo que “esconde” la elución de otro analito menos intenso, como es el caso del MLT ($t_{ret}=11.07$ min) y del IBP ($t_{ret}=11.09$ min). Sin embargo, en este método, utilizando el detector de espectrometría de masas es posible detectar los compuestos haciendo una detección selectiva de iones. Con este tipo de detección, los t_{ret} similares para varios analitos no constituyen un problema.

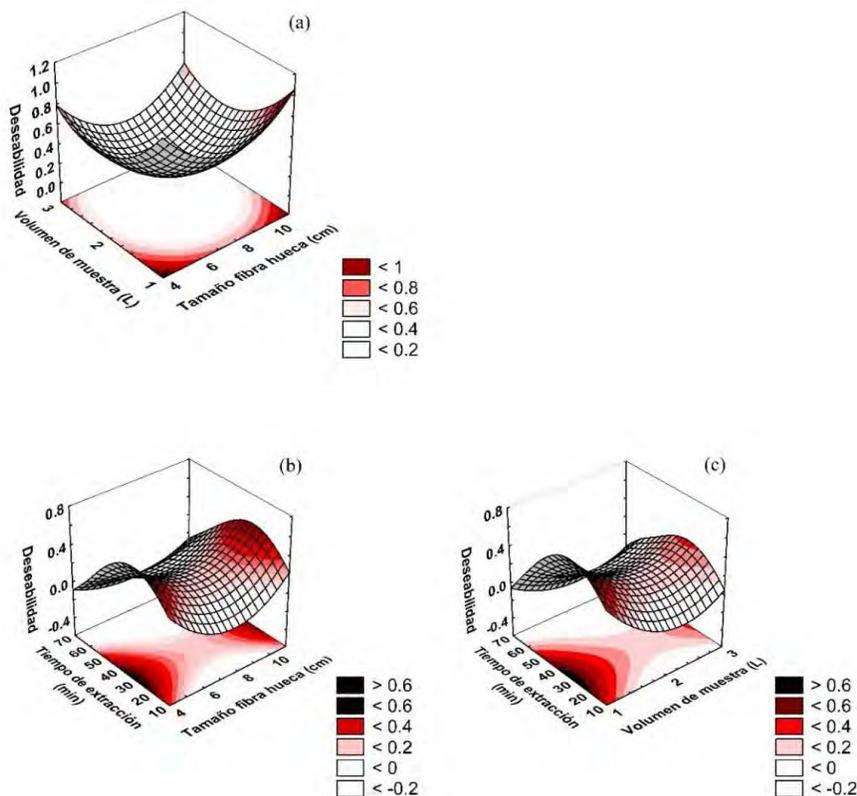


Figura 1. Gráfica de las superficies de respuesta para el DOE-1, evaluada por pares de factores: (a) Volumen de la muestra vs Tamaño de la fibra hueca, (b) Tiempo de extracción vs Tamaño de la fibra hueca, y (c) Tiempo de extracción vs Volumen de muestra, para el análisis de 27 CEs usando HF-LPME

Preparación de muestra usando HF-LPME

Se seleccionó al 1-octanol como el disolvente de extracción y se evaluó el pH de la muestra en un intervalo de 3.0 hasta 9.5 por triplicado ($n=3$), observándose que a pH 7 se obtienen los mejores resultados. Se realizaron 2 diseños de experimentos (DOE) fraccionados a 3 niveles, para 3 factores, $L^{k-1} = 3^{3-1} = 9$, para evaluar los parámetros restantes [8]. Es así que, en el primer diseño de experimentos (DOE-1) se evaluó el tamaño de la fibra (k_1), el volumen de la muestra (k_2), y el tiempo de extracción (k_3), dando como resultado 9 experimentos (3^{3-1}). La Figura 1 muestra las superficies de respuesta de esta evaluación, en donde la zona más oscura corresponde a la mayor deseabilidad ($d=1$). En esta gráfica la mayor deseabilidad ($d=0.93$) está dada cuando se trabajó con un volumen de muestra de 1 L y con tamaño de fibra de 5 empleando 30 minutos para la extracción de los analitos.

En el segundo diseño de experimentos (DOE-2), los factores que se evaluaron fueron: velocidad de agitación (k_1), temperatura de la muestra (k_2), y efecto de la fuerza iónica (k_3). Para ello se realizó la matriz experimental considerando la experimentación como un diseño factorial fraccionado, a 3 niveles: 3^{3-1} . Las gráficas de superficie de respuesta (en base a la deseabilidad) de estos parámetros da como resultado que a $d = 1$, los parámetros óptimos son: 100 rpm, 24 °C y 3% de NaCl adicionada, como se puede ver en la Figura 2.

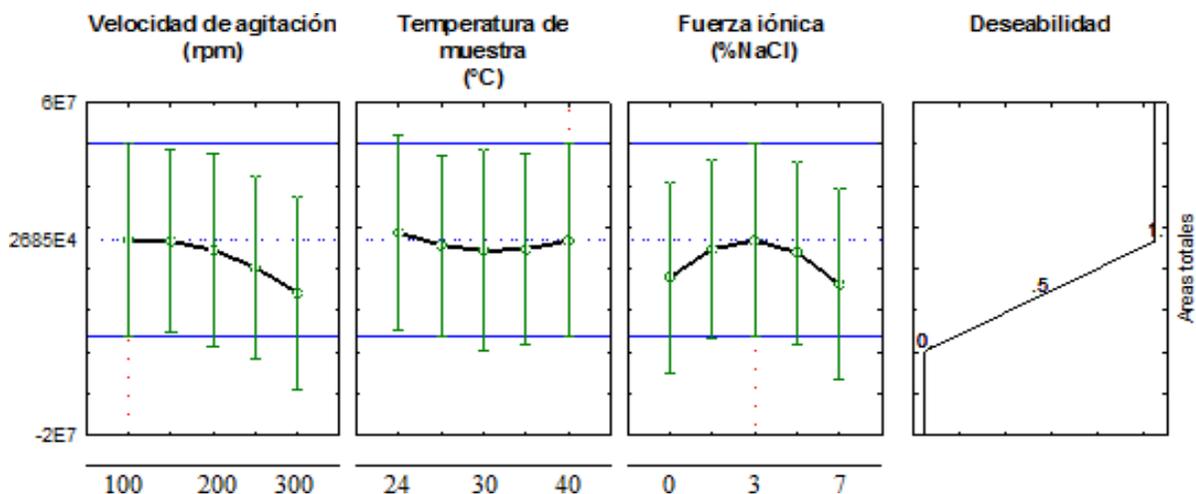


Figura 2. Gráfica de los perfiles de deseabilidad ($d = 1$) para los parámetros evaluados en el DOE-2, al emplear HF-LPME para el análisis de los 27 CEs.

Validación del método

El método fue validado siguiendo los lineamientos establecidos en las guías de validación de la ICH y de la Unión Europea. La linealidad fue evaluada en un intervalo de concentración de 0.3 µg/L hasta 100 µg/L, variando este intervalo dependiendo del analito. En todos los casos el valor de $r > 0.99$, con una desviación estándar relativa menor al 2%. Esta evaluación se llevó a cabo por triplicado. Para evaluar la precisión del método se realizó en términos de la desviación estándar relativa (DER), y se encontró en un intervalo de 2.75 a 14.98%. La exactitud se evaluó como el porcentaje de recuperación obteniéndose que éstas varían de 80.6% para CPF hasta 127.8% para ACF, los cuales se encuentran dentro de los intervalos aceptados para este parámetro evaluado. Los límites de detección y cuantificación se evaluaron por triplicado, los cuales se encuentran en un intervalo de 1.09 ng/L (BPA) a 98.15 ng/L (ABT), y de 2.13 ng/L (BPA) a 126.50 ng/L (ALD), para LD y LC, respectivamente.

Factor de enriquecimiento

El cálculo del factor de enriquecimiento (FE) se realizó mediante la relación de la concentración del analito en la fase orgánica ($C_{\text{orgánica}}$) y la concentración inicial del analito en la muestra (C_{acuosa}). El intervalo del FE encontrado se encuentra entre 34.7, para HDR, hasta 8595.2, para BPA.

Aplicabilidad del método

La aplicación del método se llevó a cabo mediante el análisis de diez muestras de agua: ocho de ellas provinieron de aguas superficiales (MAS-n) tomadas de puntos ($n=3$) a lo largo del cauce de los ríos Armería y Tuxcacuesco, en los Estados de Colima y Jalisco [9], México; y dos fueron recolectadas de efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales (MEP-n) dentro del Estado de Colima. Todas las muestras fueron procesadas, por triplicado, de acuerdo a la metodología descrita previamente. De los resultados obtenidos se puede aseverar que MAS-1 y MAS-7 presentan las mayores concentraciones en la mayoría de los compuestos. Algunas concentraciones no pudieron ser detectadas como en el caso de ALD para MAS-2, MAS-8 y MEP-2; sin embargo, este mismo compuesto se encontró por debajo del LC, pero fue mayor al LC en las muestras MEP-1, MAS-5 y MAS-6.

CONCLUSIONES

Empleando HF-LPME se desarrolló un método analítico sensible y multiresidual, para analizar de manera simultánea 27 contaminantes emergentes, analizando las muestras a través de un cromatógrafo de líquidos de ultra alta eficacia, acoplado a un detector de masas en tándem. La técnica de microextracción fue optimizada considerando todos los parámetros que tienen alta probabilidad de causar un efecto (positivo o negativo) en el proceso de extracción; de manera que, permitió un factor de enriquecimiento dentro de un intervalo de 34.7 (para HDR) a 8595.2 (para BPA), empleando como volumen de la fase donadora 1 litro de agua (pH 7.0) y volumen de la fase receptora únicamente 20 μL (correspondiente a los 5 cm de fibra hueca empleada), lográndose LD y LC en un intervalo de 1.09 ng/L (BPA) a 98.15 ng/L (ABT), y de 2.13 ng/L (BPA) a 126.50 ng/L (ALD), para LD y LC, respectivamente. La aplicación del método se realizó de manera satisfactoria con muestras de aguas de diferentes calidades: efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales y otras muestras provenientes de diversos ríos dentro del estado de Colima.

AGRADECIMIENTOS

Salvatierra Stamp agradece a la Universidad de Colima por la infraestructura prestada y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), México, por la Beca otorgada para esta investigación.

REFERENCIAS

- [1] N. Bolong, A.F. Ismail, M.R. Salim, T. Matsuura. *Desalination*. **239**, 220-246 (2009).
- [2] B. Petrie, R. Barden, B. Kasprzyk-Horden. *Water Research*. **72**, 3-27 (2015).
- [3] C. Boix, M. Ibáñez J.V. Sancho, J.R. Parsons, Pim de Voogt, F. Hernández. *Journal of Hazardous Materials*. **302**, 175-187 (2016).
- [4] M. Da La Guardia, S. Garrigues. *Royal Society of Chemistry*. ISSN: 1757-7039 (2011).
- [5] M.A. Farajzadeh, A. Asghari, B. Feriduni. *Journal of Food Composition and Analysis*. **48**, 73-80 (2016).
- [6] ICH. *Guidance for Industry Q2B Validation of Analytical Procedures: Methodology* (1996).
- [7] Commission of European-Communities. *Council Directive 2002/657/EC*. *Official Journal of the European Communities*, 8–36 (2002).
- [8] M.P. Callao. *Trends in Analytical Chemistry*, **62**, 86–92 (2014).
- [9] CONAGUA. *Instituto Nacional de Estadística e Informática*. ISBN 970-13-0478-0 (2008).

OPTIMIZACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO POR EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA PARA LA PRECONCENTRACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE PARAQUAT EN MUESTRAS DE AGUA EPICONTINENTAL

Alberto Colin Segundo¹
Olivia Zamora Martínez^{2, 3}
Blanca Lucia Prado Pano^{2,3}

INTRODUCCIÓN

El uso intensivo de pesticidas ha planteado una problemática importante sobre el medio ambiente y la salud humana, ya que son potenciales contaminantes del agua, suelo y sedimento. Entre los pesticidas, los herbicidas, resultan ser los más peligrosos para la contaminación de aguas superficiales, subterráneas y sedimentos. De este modo, el uso de estas sustancias, junto con la presencia de los subproductos de su degradación en el ambiente, han llevado al desarrollo de programas de vigilancia y gestión por parte de las agencias estatales y federales de distintos países, para la protección de los cuerpos de agua. Lo anterior requiere de un monitoreo constante de la concentración de estos herbicidas en zonas de alta irrigación, para lo cual se necesita desarrollar métodos analíticos para el tratamiento y análisis de muestras ambientales [1, 2].

El 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridilo, cuyo nombre común es paraquat, es un herbicida no selectivo de acción rápida, ampliamente usado en la agricultura para el control de malas hierbas [3]. Se puede encontrar como un sólido cristalino, en gránulos o en solución acuosa. Es utilizado

¹ Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. Av. Universidad 3000, Ciudad de México. C.P. 04510. Departamento de Química Analítica. Tel. +52 (55) 5622 3186. E-mail albert123ae@hotmail.com

² Universidad Nacional Autónoma de México-Ciudad Universitaria. Instituto de Geología, Departamento de Edafología, Laboratorio de Cromatografía. C.P. 04510. Tel: +55 56224240 ext. 81853.

³ Laboratorio Nacional de Geoquímica y Mineralogía. Paseo de la Coordinación Científica, Coyoacán, UNAM C.U., C.P. 04510. Tel: +55 56224240 ext. 81853, email: oliviazm@geologia.unam.mx.

principalmente para cultivos de maíz, plátano, árboles frutales, plantíos de té, entre otros. Es considerado como un herbicida altamente tóxico y su uso está prohibido desde 2007 en 32 países, incluyendo los 27 de la Unión Europea [4]. Pese a que en México el paraquat está catalogado como un plaguicida de uso restringido, su venta se realiza de manera desregulada [5].

Al ser el paraquat un compuesto incoloro es imposible realizar su determinación por medio de espectrofotometría de manera directa. Sin embargo, debido a su naturaleza química es posible hacerlo reaccionar con ditionito de sodio en medio básico para producir un derivado colorido que es determinado en el visible [6].

Por otra parte, se emplean métodos de preparación y preconcentración de muestras, con el fin de separar los analitos de los componentes de la matriz que interfieren con el análisis. Uno de estos métodos de preconcentración es la Extracción en Fase Sólida (EFS) la cual consiste en la partición de compuestos entre dos fases; los analitos al ser extraídos se reparten entre un sólido y un líquido y estos analitos deben tener una mayor afinidad por la fase sólida que por la matriz de la muestra (retención o etapa de adsorción). Los compuestos retenidos en la fase sólida se pueden eliminar en una etapa posterior mediante la elución con un disolvente que tenga mayor afinidad por los analitos (elución o etapa de desorción) [7, 8].

Es por ello que en el presente trabajo se planteó el desarrollo y la optimización de un método analítico para la cuantificación y preconcentración del herbicida paraquat en muestras de agua de origen ambiental.

EXPERIMENTACIÓN

La determinación de la absorbancia se realizó en un espectrofotómetro marca *Thermo Scientific Evolution* modelo 201 empleando una longitud de onda de 394 nm.

Para determinar la concentración de paraquat en muestras de agua, se empleó como referencia el método desarrollado por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA por sus siglas en inglés), en el cual se cuantifica este compuesto en suelos empleando espectrofotometría [5]. Se realizó una reacción de óxido-reducción del paraquat con ditionito de sodio al 0.8% m/v en medio básico (NaOH 0.10 mol/L), la cual produce un radical de color azul.

Una vez preparadas las disoluciones correspondientes, se procedió con la obtención de los parámetros típicos de una validación analítica: intervalo lineal y de trabajo, exactitud, precisión, límite de detección y de cuantificación, así como la evaluación del efecto de matriz al trabajar con muestras de agua ambiental. El desarrollo experimental y los resultados de la validación del método instrumental fueron presentados en el XXVII Congreso Nacional de Química Analítica [11], y a partir de ellos, en este trabajo, se optimizó la extracción del pesticida empleando cartuchos de EFS como método de preparación de muestra, utilizando una bomba de flujo constante. Los parámetros optimizados del cartucho de extracción son: acondicionamiento, equilibramiento y lavado del cartucho, selección del eluyente, evaluación del volumen de ruptura, selección de la velocidad de flujo de la muestra y evaluación del protocolo de EFS en muestras ambientales.

Acondicionamiento, equilibramiento y lavado. Se emplearon las condiciones establecidas por el fabricante para desarrollar el proceso de EFS. Sin embargo, al ser un material genérico no selectivo, es preponderante optimizar las condiciones con el fin de maximizar la eficiencia del cartucho de extracción. Para el acondicionamiento se empleó metanol grado cromatográfico, para el equilibramiento agua desionizada y para el lavado ácido clorhídrico 0.10 mol/L. Se cargó un volumen de muestra de 10.0 mL de concentración conocida de paraquat. La velocidad de flujo usada fue de 1 mL/min.

Selección del eluyente. Para elegir el mejor eluyente, se consideraron las investigaciones realizadas por Pico y colaboradores [9], donde se tomó al cloruro de amonio como principal constituyente de la mezcla a emplear. El eluato fue recolectado en fracciones de volumen conocido usando un flujo de 1 mL/min y analizado por el método espectrofotométrico. Los eluyentes evaluados fueron los siguientes: NH_4Cl (5 %, 20 % y 25 % m/V), NH_4Cl (5 % m/V):Metanol, NH_4Cl (5 % m/V):acetonitrilo y NH_4Cl (25 % m/V):acetonitrilo.

Selección del flujo de carga de la muestra. Para este parámetro, se fijó un volumen de carga de 10.0 mL a una concentración de 5.0 mg/L empleando los siguientes flujos: 1 mL/min, 2 mL/min, 3 mL/min y 4 mL/min. Para la elución del analito se recolectaron fracciones de volumen conocido de cloruro de amonio concentrado y se analizaron por el método instrumental validado.

Determinación del volumen de ruptura o fuga. Se evaluó el volumen en el cual el pesticida se fugaba del sistema, para lo cual, durante el paso de carga de la disolución problema, en cada experimento, se mantuvo una cantidad constante y conocida de paraquat en diferentes volúmenes de agua desionizada (de 10.0 mL hasta 500.0 mL).

Evaluación del protocolo de EFS optimizado en muestras ambientales. En una primera etapa, se decidió realizar los ensayos sin utilizar el protocolo de tratamiento de muestra, por lo que se realizaron experimentos de recobro sobre muestras de agua ambientales, una muestra proveniente del río Amacuzac, Morelos, una muestra de agua de manantial y una muestra de agua residual, estas últimas dos provenientes del Valle del Mezquital, Hidalgo. Las muestras fueron fortificadas con paraquat para cinco niveles de concentración comprendidos entre 0.08 y 0.50 mg/L. Los fortificados fueron determinados por medio de curvas de calibración externas con el método instrumental validado. Posteriormente, y con el fin de comparar los recobros obtenidos sin el tratamiento de muestra, se aplicó el método optimizado por EFS en muestras ambientales, empleando fortificados con paraquat en nueve niveles de concentración definidos entre 0.01 y 1.5 mg/L. Previo al tratamiento de la muestra por EFS, las muestras de agua fueron filtradas a través de un sistema de vacío empleando una membrana de tamaño de poro de 0.45 µm. Para calcular porcentaje de recuperación para cada punto a optimizar se empleó la siguiente ecuación 1:

$$\%R = \frac{\text{masa del pesticida eluido}}{\text{masa del pesticida cargada}} \times 100 \quad (1)$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Validación del método instrumental

En la tabla 1 se resumen los resultados de la validación del método instrumental usado para la detección y cuantificación del paraquat en muestras de agua.

Tabla 1. Características de la validación para la cuantificación de paraquat en agua.

Parámetro	Valor
Intervalo lineal	0.08 – 14 mg/L
Ecuación de regresión	A = 0.1432Conc.(mg/L) + 0.0141
Límite de detección (LDD)	0.01 mg/L
Límite de cuantificación (LDC)	0.08 mg/L
	Conc. (mg/L) % CV Global

Precisión	0.5	2.5
	5.0	2.7
Exactitud	Conc. (mg/L)	% Exactitud
	0.8	93.2
	4.0	97.2

Acondicionamiento, equilibramiento y lavado

Las disoluciones generadas de las etapas de carga y lavado fueron analizadas con el método instrumental validado, con el objetivo de verificar que el cartucho de EFS es capaz de retener todo el analito durante la carga, y que éste no se pierda al realizar el lavado del cartucho, por lo que los resultados obtenidos, fueron menores al límite de detección (<LD) (Tabla 2).

Tabla 2. Resultados de los análisis de paraquat en las etapas de carga y lavado.

Condición	Cantidad de paraquat determinada (µg)
Carga (200 µg)	< LD
Lavado (HCl 0.1 mol/L)	< LD

< LD= Menor al límite de detección

Selección del eluyente

Es importante que el eluyente seleccionado cumpla con las características necesarias que permitan obtener una buena cuantitatividad de extracción, así como ser compatible con el método instrumental y de preferencia que pueda eluir al analito con el menor volumen posible. En la tabla 3 se presentan los porcentajes de recuperación obtenidos al evaluar distintas soluciones como eluyentes. Se observa que hay tres soluciones que presentan los mayores porcentajes de recuperación: el NH₄Cl al 25 %, la mezcla de NH₄Cl 25 %/acetoneitrilo 90:10 y la solución de cloruro de amonio saturada; siendo esta última la seleccionada para realizar la elución del analito del cartucho de EFS.

Tabla 3. Evaluación de diferentes tipos de eluyentes para la recuperación de paraquat

Eluyente	Volumen (mL)	% recuperación
a. NH ₄ Cl 5%	30	84.2
b. NH ₄ Cl 5 %/Metanol 1:1	15	61.6
c. NH ₄ Cl 5%/Acetonitrilo 60:40	15	59.8
d. NH ₄ Cl 20%	10	84.5
e. NH ₄ Cl 25%	10	95.4
f. NH ₄ Cl 25%/Acetonitrilo 90:10	10	92.8
g. NH ₄ Cl saturada	10	96.1

Evaluación de la velocidad de flujo de carga

Los resultados de los ensayos al modificar el flujo de la carga de la muestra (tabla 4), demostraron que el analito se retiene en la resina de manera independiente al flujo, debido a que se presentaron porcentajes de recuperación muy similares y en todos los casos superiores al 95%, sin la pérdida del analito durante la etapa de carga ya que en todos los experimentos no se detectó paraquat en las soluciones de carga una vez que éstas habían sido percoladas por el cartucho (efluentes). Es por ello que se decidió trabajar con la velocidad de flujo más alta que es la de 4 mL/min.

Tabla 4. Efecto de la velocidad del flujo de carga de disoluciones de paraquat.

Flujo de carga (mL/min)	% recuperación
1	105.9
2	107.8
3	95.1
4	104.7

Determinación del volumen de ruptura o fuga

La evaluación de volúmenes desde 10.0 hasta 500.0 mL, permitió verificar el comportamiento de la retención del paraquat en el cartucho de EFS ya que, al analizar los efluentes producidos en cada una de las cargas realizadas, no se detectó la presencia de paraquat. Sin embargo, es claro que al incrementarse el volumen de carga los valores de recuperación durante la etapa de elución van disminuyendo ligeramente (tabla 5). Empero, debido a que el objetivo de esta parte es la mayor preconcentración del analito, se decidió fijar en 500.0 mL el volumen máximo de carga en los cartuchos, porque se logra una concentración de la muestra de 50x (500.0 mL carga/10.0 mL elución).

Tabla 5. Porcentajes de recuperación al variar el volumen de carga de paraquat.

Volumen de la solución de paraquat (mL)	Concentración de la solución de paraquat ($\mu\text{g/mL}$)	% recuperación
10.0	5.0	114.7
25.0	2.0	92.4
50.0	1.0	96.9
100.0	0.5	93.0
250.0	0.2	86.6
500.0	0.1	87.0

Evaluación del protocolo de EFS optimizado en muestras ambientales

Los resultados obtenidos de los recobros realizados a las muestras de agua sin realizar un tratamiento previo (tabla 6), en algunos casos, no son aceptables para los niveles de concentración seleccionados, ya que sobrepasan el intervalo de aceptación, el cual está comprendido entre 80 y 110% [10], donde posiblemente se tiene una mayor influencia por parte de los componentes de la matriz; a su vez, es sabido que conforme se disminuye la concentración en una muestra, el error sistemático aumenta, lo cual es evidente al comparar los recobros obtenidos entre las muestra de mayor concentración con las de menor concentración en una misma matriz. Además de lo anterior, dado que las concentraciones de trabajo se encuentran próximas al límite de cuantificación (tabla 1), el error antes mencionado también aumenta, lo que conlleva a que los recobros obtenidos para algunas de las muestras no sean admisibles.

Tabla 6. Porcentajes de recobros obtenidos sin previo tratamiento de la muestra.

Muestra	Manantial		Río		Residual	
C_{real} (mg/L)	$C_{\text{determinada}}$ (mg/L)	% Recobro	$C_{\text{determinada}}$ (mg/L)	% Recobro	$C_{\text{determinada}}$ (mg/L)	% Recobro
0.08	0.11	140.2	0.11	134.2	0.09	110.4
0.12	0.16	133.2	0.15	127.3	0.14	113.3
0.25	0.27	108.8	0.27	106.9	0.24	96.4
0.35	0.37	107.0	0.39	111.8	0.33	93.4
0.50	0.55	109.8	0.54	108.8	0.48	96.4

Por otro lado, los porcentajes de recobros obtenidos aplicando EFS como método de preparación de muestra (tabla 7), se observa que para niveles de concentración por arriba de 0.02 mg/L son aceptables, ya que se encuentran entre el 90 y 105% para las cuatro matrices estudiadas. Comparando los porcentajes de recobro obtenidos, empleando un tratamiento previo a la muestra con los resultados donde no se aplicó dicho tratamiento, se observa una clara mejoría. Con esto se comprueba que el tratamiento previo al análisis de la muestra funciona para eliminar los interferentes de la matriz.

Así mismo, se logró cuantificar el pesticida en concentraciones por debajo del intervalo lineal y del límite de detección del método instrumental (<0.08 mg/L), sin embargo, debido a las limitantes del método espectrofotométrico, no fue posible reconcentrar soluciones de paraquat en

muestras ambientales en concentraciones por debajo de 0.01 mg/L debido a que la solución saturada de NH_4Cl empleada como eluyente, interfiere en la cuantificación del analito en el eluato.

Tabla 7. Porcentajes de recobros obtenidos para paraquat.

Muestra	Desionizada	Manantial	Río	Residual
C_{cargada} (mg/L)	% Recobro	% Recobro	% Recobro	% Recobro
0.02	97.6	92.7	n. r.	90.2
0.05	93.7	95.6	n. r.	99.5
0.10	98.5	98.5	n. r.	104.9
0.15	100.8	97.6	n. r.	103.4
0.25	91.0	105.2	107.1	100.4
0.75	100.5	102.9	106.3	99.8
1.0	100.6	102.5	103.7	102.5
1.5	99.5	98.7	98.5	99.1

n. r. (No realizado)

Dado que el tamaño de la muestra a tratar por el método de EFS es de 500.0 mL, no se pudo determinar el límite de detección (LDD) y el límite de cuantificación de forma experimental, sin embargo, se logró cuantificar al paraquat hasta una concentración de 0.02 mg/L, debido a que se obtuvieron valores de recobro aceptables para tres de las cuatro matrices evaluadas, por lo que el límite de cuantificación podría estar cercano a este valor (tabla 7).

CONCLUSIONES

Se optimizó el método de tratamiento de la muestra donde el eluyente seleccionado fue una disolución de cloruro de amonio concentrado. También se comprobó que la retención del paraquat en el sistema de EFS es independiente del flujo de carga de la muestra y que se puede cargar hasta un volumen de 500.0 mL debido a que el pesticida no se fugó del sistema. Por otro lado, se presentaron valores de recobro aceptables para los niveles de concentración evaluados, entre el 90 y 105 %, cuando se aplica el método de pre- concentración en muestras de agua ambientales eliminándose el efecto matriz. El factor de concentración encontrado fue de casi 50 veces. Sin embargo, solo se logró una buena preconcentración de hasta 0.02 mg/L debido a las limitantes del método instrumental empleado para el análisis de las muestras resultantes del método de tratamiento de muestra propuesto.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT) a través de la beca número 666582 y del proyecto 220489. A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico a través del proyecto PAPIIT IN215512. Al proyecto 177603 “Estudio hidrológico y de calidad del agua del sistema lagunar de Montebello, Chiapas”, de Fondo sectorial de Investigación y desarrollo sobre el agua, CONACYT.

REFERENCIAS

- [1] J. E. Barbash, G. P. Thelin, D. W. Kolpin, R. J. Gillio. Major herbicides in ground water: Results from the national water-quality assessment. *Journal Environmental Quality* **30** [3] 831- 845. (2001)
- [2] R. Fytizas. Toxicity of paraquat to three marine organisms. *Bulletin Environmental Contamination Toxicology*. **25** 283-288. (1980)
- [3] P. Lott, J. Lott, D. Doms. The Determination of Paraquat. *Journal of Chromatography Science*, **16**, 390-395. (1978)
- [4] Watts M. Paraquat. *Pesticide Action Network Asia and the Pacific (PAN AP)*. (2011)
- [5] CICOPLAFEST (Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas), 2004. **Catálogo de Plaguicida** [En línea]. Fecha de consulta: 12 de marzo del 2017. Disponible en: <http://www.cofepris.gob.mx/AZ/Paginas/Plaguicidas%20y%20Fertilizantes/CatalogoPlaguicidas.aspx>
- [6] S. H. Yuen, J. E. Bagness, D. Myles. Spectrophotometric Determination of Diquat and Paraquat in Aqueous Herbicide Formulations. *Analyst*, **92**, 375-381 (1967)
- [7] L. Barrueta, B. Gallo, F. Vicente. A Review of Solid Phase Extraction: Basic Principles and New Developments. *Chromatographia*, **40**, [7, 8] 474-483 (1995)
- [8] B. Buszewski, M. Szultka. Past, Present, and Future of Solid Phase Extraction: A Review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, **42**, 198-213 (2012)
- [9] M.T. Galceran. Análisis de amonio cuaternario (quats) utilizados como herbicidas v controladores del crecimiento. *Plaguicidas. Aspectos ambientales, analíticos y toxicológicos* Ed. I Morell y L. Candela, 239-257 (1998)
- [10] I. Taverniers, M. De Loose, E. Van Bockstaele. Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *Trends in Analytical Chemistry*, **23** [8] (2004)
- [11] XXVII Congreso Nacional de Química Analítica. Compendio de artículos de investigación en Química Analítica 136 (2014)

CINÉTICA DE LACCASA Y SU MECANISMO DE INHIBICIÓN PARA LA DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE IONES MERCURIO

Jorge Juárez Gómez¹
María Teresa Ramírez Silva¹
Manuel Palomar Pardavé²
Mario Romero Romo²
Silvia Corana Avendaño²

INTRODUCCIÓN

El problema de la contaminación en los efluentes de agua de origen antropogénico es sin duda, uno de los aspectos más preocupantes de la degradación de los medios naturales por parte de la civilización contemporánea. Dentro de la contaminación del agua, uno de los contaminantes más importantes es el mercurio, metal con elevada toxicidad debido su efecto directo sobre los organismos vivos, así como su biodisponibilidad. Uno de los efectos adversos de este metal es la reducción de la actividad enzimática de los organismos vivos, por lo cual, entre otras cosas, es de suma importancia su cuantificación.

Algunos metales se encuentran en forma natural en la corteza terrestre. Estos se pueden convertir en contaminantes si su distribución en el ambiente se altera mediante actividades humanas [1,2]. Dentro de los metales con alta toxicidad se encuentra el mercurio, el cual es altamente biodisponible y de alta exposición en el ambiente. El mercurio existe en tres estados de oxidación; metálico (Hg^0), mercurioso (Hg^+) y mercúrico (Hg^{2+}) [3]. Estas formas difieren en el grado de toxicidad y los efectos en el sistema nervioso, digestivo e inmunológico, así como en pulmones, riñones, piel y ojos [4,5].

¹ Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, Departamento de Química, Área de Química Analítica, San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, Del. Iztapalapa, C.P. 09340 México DF. +52 (55) 5804 4600 Ext. 4377

² Departamento de Materiales, Área de Ingenierías de Materiales, Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco, México DF. México.

Se han reportado diversos estudios de inhibición con iones mercurio(II) empleando diversas enzimas, por ejemplo laccasa (*Daedaleaquercina*; *Leptographiumqinlingensis*), en donde el mercurio fue el inhibidor más potente, llegando hasta un 98% de inhibición a una concentración del ión de 10mM [6,7]; celulasa (*Schizophyllumcommune*), la cual presenta alta sensibilidad por mercurio modificando las características espectrofotométricas de la enzima [8]; invertasa (levadura), presentando una mayor inhibición respecto a iones Ag^+ , observándose una inhibición desde 10^{-7} M [9], α -amylase (*Paecilomycesvariotii*), mostrando una actividad relativa de 77% al colocar una concentración 10Mm de Hg^{2+} [10], ácido 5-aminolevulinico dehidratasa (maíz), en donde los iones mercurio(II) modifican la afinidad por el sustrato y la velocidad de la reacción basando los resultados en la evaluación de K_m y V_{max} [11], xylanasa (*Trichodermainhamatum*), observando una actividad enzimática del 14.4% (2mM) y 4.0% (10mM) para xylanasa tipo 1, así como actividad del 15.6% (2mM) y 5.9% (10mM) de mercurio(II) [12].

En este trabajo se realiza el estudio espectrofotométrico de laccasa proveniente de *Trametesversicolor* con tres diferentes sustratos (ácido cafeico, ácido gálico y catecol); evaluando su actividad y el grado de inhibición de la misma en presencia de mercurio(II),

observándose que concentraciones milimolares de mercurio pueden reducir el grado de reacción de la laccasa. La medición de la actividad enzimática y los efectos de inhibidores nos permiten un mejor conocimiento del catalizador biológico y sus posibles aplicaciones futuras, como una cuantificación indirecta del inhibidor mismo.

EXPERIMENTACIÓN

Las pruebas cinéticas UV-Vis se realizaron en un Perkin Elmer Spectrometer Lambda 20. La absorbancia de la oxidación de ácido cafeico fue monitoreada a 410 nm con diferentes concentraciones de sustrato (10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 150, 200 y 250 μ M); la absorbancia de la oxidación de catecol fue monitoreada a 390 nm con diferentes concentraciones de sustrato (100-1400 μ M) y la absorbancia de la oxidación de ácido gálico fue monitoreada a 385 nm con diferentes concentraciones de sustrato (100-1400 μ M). Las concentraciones de Hg(II) para la inhibición de Laccasa fueron de 0.05, 0.1, 0.5, 1, 2, 3 y 4 mM. Los tiempos de incubación para la inhibición fueron de 2, 5 y 10 minutos de contacto. La concentración de Laccasa fue 10 μ g mL⁻¹

en todos los casos. Todas las pruebas se realizaron a temperatura ambiente en celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico y en buffer de acetatos (0.1 M pH 4.5).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización del sistema y cinética enzimática

El sistema fue caracterizado a través de espectroscopía de UV-Vis desde 800 a 200 nm. La Laccasa de *Trametesversicolor*, (TvL) presenta dos máximos de absorción en 210 y 275 nm; mientras que el ácido cafeico (CA) muestra bandas máximas de absorción a 241, 285 y 322 nm. Su producto de oxidación (cafeoquinona, CAQ) presenta tres máximos de absorción en 250, 322 y 410 nm (figura 1a). La señal de la cafeoquinona a 410 nm permite la cuantificación del producto de la reacción enzimática sin presentar interferencias de otros componentes de sistema. La figura 1b muestra los resultados experimentales y el ajuste al modelo cinético de Michaelis-Menten de las velocidades iniciales de la reacción en función de la concentración de CA, obteniéndose una $K_m = 43 \pm 6 \mu\text{M}$ y una $V_{max} = 90 \pm 3 \mu\text{M s}^{-1}$.

Cinética de inhibición

La inhibición de TvL se estudió a diferentes concentraciones de mercurio (0.01, 0.05, 0.1, 1, 2, 3 y 4 mM) y 2 minutos de contacto. Los resultados cinéticos se muestran en la figura 2a. Se puede observar que conforme aumenta la concentración de mercurio la velocidad máxima disminuye y la constante de Michaelis aumenta, al llegar a una concentración de mercurio de 2 mM estos parámetros no sufren cambios significativos.

En la figura 2b se muestra la gráfica de doble recíproco para el sistema TvL-CA donde se observa que cuando aumenta la concentración de iones mercurio también aumenta la pendiente de cada una de las curvas, esto nos indica que el mecanismo de inhibición está descrito por un modelo de inhibición mixta, aunque al parecer está más cercano al modelo de los inhibidores no competitivos.

En la figura 3 se muestra la curva de calibración para el porcentaje de inhibición de Laccasa por el efecto de mercurio a pequeñas concentraciones. El método presenta un límite de detección de $3.6 \pm 0.3 \mu\text{M}$ y un intervalo lineal de (0.05 a 0.6) mM.

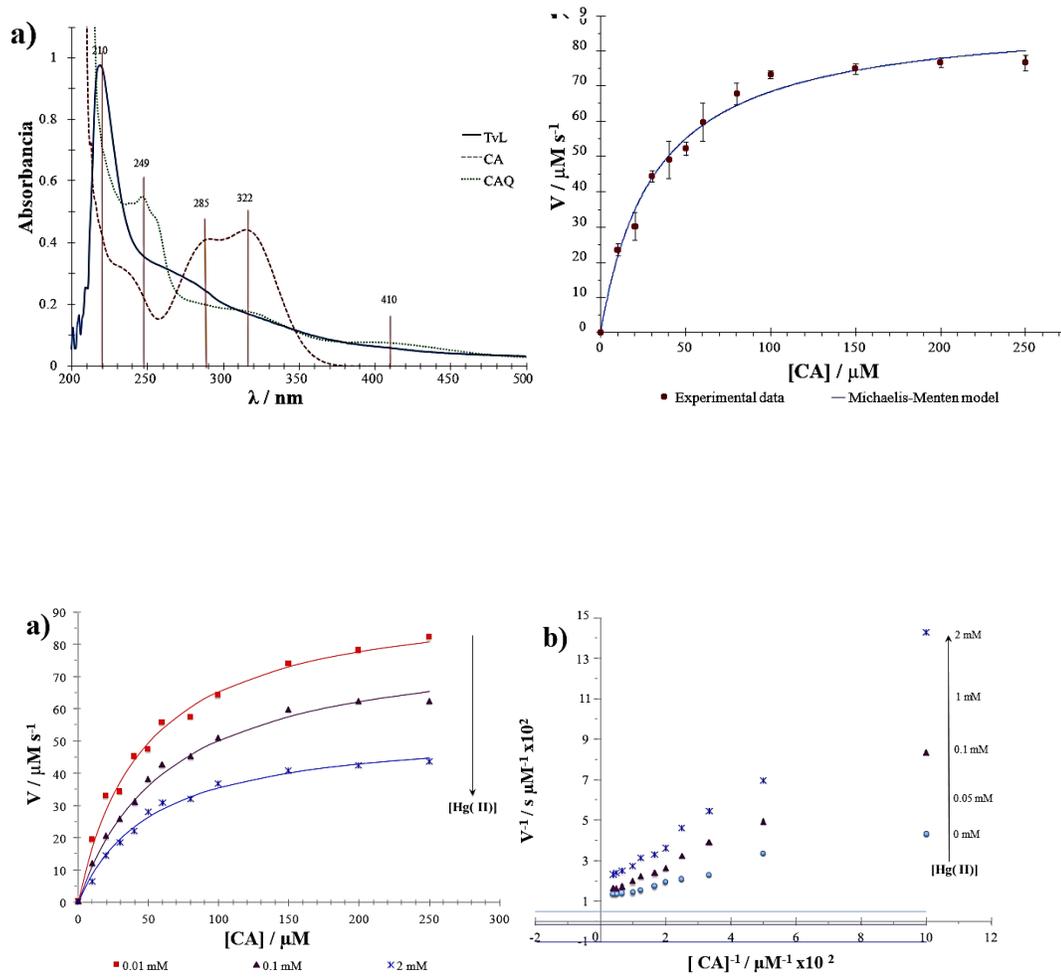


Figura 1. (a) Espectros de absorción para el sistema TvL-CA-CAQ. (b) Velocidad en función de la concentración de sustrato para la oxidación de ácido cafeico por Laccasa a pH 4.5 en buffer de acetatos.

Figura 2. (a) Velocidad de la reacción en función de la concentración de CA para diferentes concentraciones de mercurio y 2 minutos de contacto. (b) Gráfico de doble recíproca ($1/V$ vs $1/[\text{CA}]$) para el sistema TvL-CA.

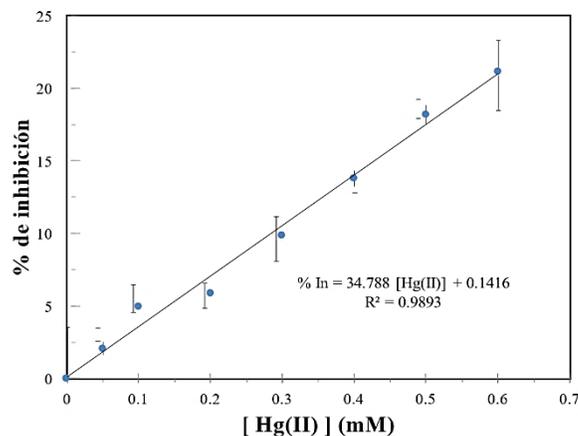


Figura 3. Curva de calibración del sistema TvL-CA para del porcentaje de inhibición como respuesta.

CONCLUSIONES

Este trabajo reporta la inhibición enzimática de Laccasa por iones mercurio(II) mediante pruebas espectrofotométricas UV-Vis. La reacción de oxidación de ácido cafeico catalizada por Laccasa se ajusta a una cinética del tipo de Michaelis-Menten resultando en una K_m de $43 \pm 4 \mu\text{M}$ y una V_{max} de $90 \pm 3 \mu\text{M s}^{-1}$. Pequeñas concentraciones de iones mercurio (II) lograron inhibir la actividad enzimática de TvL en tan solo 2 minutos de contacto si diferencia significativa a mayores tiempos.

AGRADECIMIENTOS

JJG y MTRS agracen a CONACyT por el apoyo del proyecto 237327. Finalmente, JJG, MTRS, MRR, MPP y SCA agradecen al SNI por la distinción recibida.

REFERENCIAS

- [1] F. Akbar Jana, M. Ishaqa, I. Ihsanullahb, S.M. Asim. *J Hazard Mat* **176**, 609–616. (2010).
- [2] Q. Wang, Z. Li, S. Cheng, Z. Wu. *Chemosphere* **78**, 604–608. (2010).
- [3] P. Grandjean. Mercury. Reference Module in Biomedical Sciences: Elsevier. International Encyclopedia of Public Health, 434-442. (2014)
- [4] M. Valko, H. Morris, M.T.D. Cronin. *Curr Med Chem.* **12**, 1161-1208 (2005)
- [5] S.M. Bradberry. *Medicine* (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/>
- [6] Baldrian P. *Applied Microbiology and Biotechnology.* **63** [5], 560-563 (2004).
- [7] Hu X, Wang C, Wang L, Zhang R, Chen H. *World Journal of Microbiology and Biotechnology.* **30** [4], 1285-1290 (2014).
- [8] Gianfreda L, Xu F, Bollag J-M. *Bioremediation Journal.* **3** [1], 1-26 (1999).
- [9] Hailemariam K, Bolger PM. Toxic metals: Mercury A2 - Motarjemi, Yasmine. *Encyclopedia of Food Safety.* Waltham: Academic Press. 52-355 (2014).
- [10] OMS. Mercurio y salud 2016. [Cited 2016 June 08] Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs361/en/>.
- [11] Pletz J, Sánchez-Bayob F, Tennekese HA. *Toxicology.* **10**, 47–349 (2016).
- [12] HsiHC, Jiang CB, Yang TH, Chien LC. *Chemosphere.* **100**, 71–76 (2014).

MICROEXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA EN LA PRECONCENTRACIÓN DE FIPRONIL EN MUESTRAS ACUOSAS

Eduardo Esteban Reyes Sánchez
Miguel Velázquez-Manzanares
Edith Madaí Colunga Urbina
Iliana Margarita de la Garza Rodríguez
Judith Amador Hernández^{1*}

INTRODUCCIÓN

El fipronil, 5-amino-1-[2,6-dicloro-4-(trifluotometil)fenil]-4-[(1R,S)-(trifluorometil)sulfinil]-1H-pirazol-3-carbonitrilo (Figura 1), es un insecticida que pertenece al grupo de los fenilpirazoles [1]. Su solubilidad en agua es baja, siendo más soluble en matrices orgánicas no polares [2]. Presenta un coeficiente de partición octanol-agua ($P_{o/w}$) de log

4.01 [3], siendo del mismo orden de los hidrocarburos aromáticos. El mecanismo de acción es a nivel del sistema nervioso central, bloqueando los receptores GABA α de los canales de los iones cloruro en el proceso de sinapsis, lo que conlleva a una sobre exaltación del organismo que culmina con la muerte [1,4].

Su comercialización empezó a finales del siglo pasado, pero sus aplicaciones han ido en aumento en las últimas décadas, gracias a que tiene un amplio espectro de acción tanto en plagas urbanas como agrícolas [5]; actualmente se emplea para combatir plagas que han desarrollado resistencia a otros insecticidas [6].

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Blvd. Venustiano Carranza s/n, Col. Republica Oriente, Saltillo, Coahuila, CP 25280, México. Tel: +52 (844) 415 5392 ext. 112. e-mail: amadorjudith@live.com.mx.

Los productos de degradación son más persistentes y tóxicos que la molécula original [1,7]. Los estudios que comprueban su bioacumulación en organismos complejos como lo son peces y aves [8], el envenenamiento de abejas al momento de la polinización [9] y el escándalo que se vivió en Europa el año pasado donde se reportaron casos de productos avícolas contaminado por fipronil [10], generan la necesidad de estudiar este insecticida con mayor detenimiento.

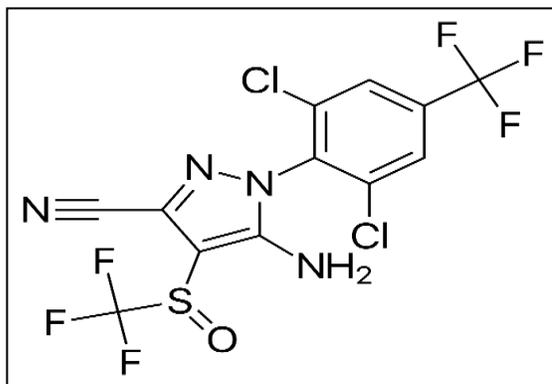


Figura 1. Estructura química del insecticida fipronil [1].

La microextracción líquido-líquido dispersiva (DLLME) es una técnica que se ha introducido en el ámbito analítico en la búsqueda por reducir la cantidad de reactivos tóxicos involucrados en el trabajo de laboratorio [11] y la utilización de disolventes extractantes menos tóxicos para el personal de laboratorio y el ambiente como parte del desarrollo de la Química Analítica Verde [12]; además, permite la preconcentración de analitos antes de su análisis por técnicas instrumentales como la cromatografía de líquidos (LC). Si bien la utilización de clorobenceno como disolvente en DLLME no es tan extendida, se propone su uso en este trabajo por las ventajas que ofrecen su polaridad y densidad, aunado a su menor toxicidad que otros disolventes halogenados y su rápida degradación en el medio por efecto de microorganismos [13].

Así, en este trabajo se pone a punto la preconcentración de fipronil a partir de muestras acuosas por DLLME, utilizando clorobenceno como extractante y llevando a cabo su determinación por LC.

EXPERIMENTACIÓN

Instrumentación

Se utilizó un cromatógrafo de líquidos de *YL Instruments*, modelo 9300, provisto de bomba cuaternaria, desgasificador a vacío, inyector manual y detector fotométrico. La columna fue *Thermo Hypersil C₁₈ GOLD* de 250 x 4.6 mm x 5 µm. El flujo fue de 1 mL min⁻¹. La separación en fase inversa se llevó a cabo usando como disolventes acetonitrilo en ácido fórmico al 1% V/V (A) y agua (B) en la modalidad de gradiente: 0 min, 60% A / 40% B; 15 min, 100% A. La longitud de onda de trabajo fue a 280 nm. El volumen de inyección fue de 20 µL. Como equipo adicional, se utilizó un baño ultrasónico de *Branson*, una centrífuga de *CRM Globe* y un rotavapor de Buchi.

Reactivos

Todos los reactivos fueron al menos grado analítico. El fipronil (FP) se obtuvo de *Sigma- Aldrich* con una pureza superior al 98 % p/p. El metanol (MeOH) y acetonitrilo (ACN) fueron grado HPLC de *JT Baker*; el agua tridestilada fue de *Jalmek*.

La disolución patrón de FP se preparó a 100 mg L⁻¹ en ACN y se mantuvo a 4°C protegida de la luz para su almacenamiento; en tales condiciones, se comprobó su estabilidad durante al menos un mes. Las disoluciones de trabajo se prepararon al momento de su utilización, a partir de la disolución patrón.

Procedimiento

En un tubo cónico de vidrio de 15 mL se agregaron 10 mL de una disolución acuosa fortificada con FP, a la cual se adicionaron 300 µL de CB como extractante, 50 µL de ACN como dispersante y 200 µL de NaCl al 5 % p/V. La mezcla se introdujo en el baño ultrasónico por 10 minutos y después se centrifugó a 3500 rpm por 8 minutos. La fase orgánica se extrajo con la ayuda de una pipeta Pasteur y se transfirió a un vial, para llevarlo a sequedad en un rotavapor a vacío a 70 °C por 10 min. El analito se resuspendió en 100 µL de ACN y se inyectó en el cromatógrafo. Finalmente, se estimaron los porcentajes de recuperación usando el área bajo la curva como señal analítica. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 2 se muestra el cromatograma típico de FP; como puede observarse, en las condiciones de operación el fipronil sale prácticamente a la mitad de la corrida cromatográfica, ya que en el futuro se hará la separación de la mezcla de FP con otros tres productos de degradación. Por el momento, se ha puesto a punto la etapa de preconcentración sólo con FP como analito.

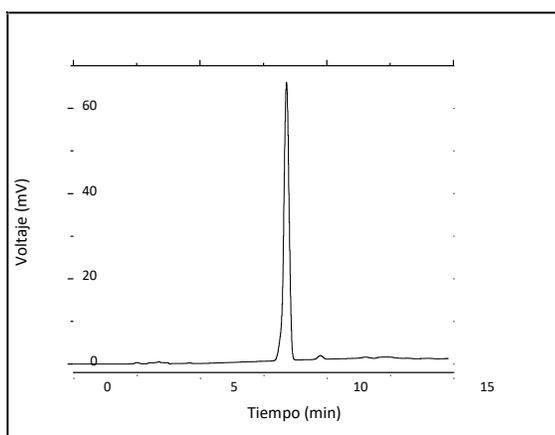


Figura 2. Cromatograma típico de FP.

En la Tabla 1 se muestran las variables estudiadas en la optimización de la DLLME, así como las condiciones seleccionadas para llevar a cabo la preconcentración.

Tabla 1. Variables evaluadas durante la puesta a punto de la microextracción como técnica de preconcentración de fipronil en muestras acuosas.

Variable	Condiciones estudiadas	Condición elegida
Naturaleza del extractante	Hexano, 1,2-dicloroetano, cloruro de metileno, clorobenceno	Clorobenceno
Volumen del extractante	100 a 300 μL	300 μL
Naturaleza del dispersante	Acetona, metanol, acetonitrilo	Acetonitrilo
Volumen del dispersante	50 a 200 μL	50 μL
Naturaleza de sal salino para efecto	Cloruro de sodio, sulfato de magnesio	Cloruro de sodio
Volumen de disolución	50 a 250 μL	200 μL

salina al 5 % p/V		
Tiempo de mezclado asistido por ultrasonido	2 a 15 min	10 min
Tiempo de centrifugación a 3500 rpm	2 a 13 min	8 min

En cuanto al extractante, el hexano presentó dificultades para su recuperación por ser menor su densidad que el agua; el resto de los disolventes no tuvo problema en este sentido, ya que se facilitó su recuperación al quedar en la parte cónica del tubo de centrifuga. En relación al volumen de extractante, se obtuvo una mayor respuesta con 300 μL , ya que con volúmenes menores la recuperación del analito también disminuyó [12,14].

Por otra parte, fue necesario elegir el codisolvente o agente dispersante, cuya función es favorecer la transferencia del analito de la fase acuosa a la fase orgánica [15]. En la evaluación de los tres disolventes (Figura 3), el ACN es el que muestra en general una mayor preconcentración del analito y por ende una mayor señal analítica. Dado que en el intervalo estudiado no se reconoce una variación significativa, se eligieron 50 μL como volumen de trabajo.

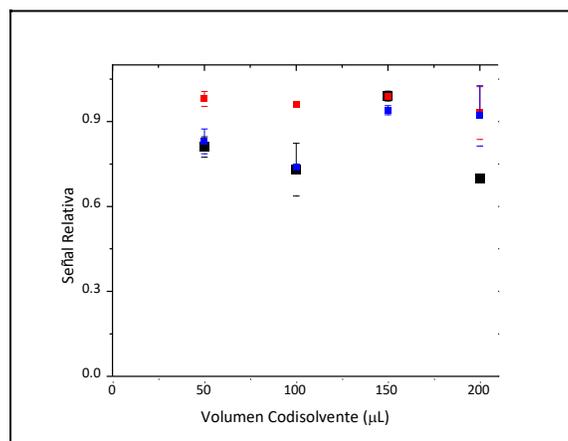


Figura 3. Influencia del codisolvente o agente dispersante en la extracción de fipronil.

También se estudió la influencia de una sal en el medio, por efecto del *salting out* en la extracción. En este caso, se trabajó con una disolución al 5 % p/V de dos sales, NaCl y MgSO₄, como representativas de iones monovalentes y divalentes; la concentración de sal en el medio varió en función de los volúmenes añadidos de estas disoluciones. De acuerdo con los resultados obtenidos, hubo una diferencia significativa entre las especies mono y divalentes. Si bien en otros trabajos se ha observado un mayor efecto salino con especies polivalentes, en este caso las mayores recuperaciones se obtuvieron con NaCl, siendo esta sal la elegida a un volumen de 200 μL .

Posteriormente, se estudió el efecto del tiempo de mezclado asistido por ultrasonido y la separación de las fases por medio del tiempo de centrifugación a 3500 rpm. El tiempo mínimo requerido de mezclado fue de 10 minutos, después del cual los rendimientos de recuperación se mantuvieron prácticamente constantes. Por otro lado, 8 minutos de centrifugación fueron suficientes para separar adecuadamente las fases, tal como se observa en la figura 4.

Una vez separadas las fases por centrifugación, fue necesario recuperar el extracto orgánico y llevar a sequedad para posteriormente resuspenderlo en una alícuota de ACN, con el fin de controlar el volumen final en el que queda el analito. Para ello, se estudiaron distintas condiciones de evaporación del disolvente después de la centrifugación, siendo la operación más práctica su eliminación al vacío en un rotavapor, introduciendo a su vez el vial en un baño a 70°C para acelerar el proceso de evaporación. Cabe destacar que en tal operación fue posible trabajar simultáneamente con cinco viales, lo que favoreció el número de muestras analizadas por unidad de tiempo.

Es importante hacer mención que, en las condiciones de trabajo propuestas, no se observó descomposición del analito. La resuspensión del analito en 100 μL de ACN permitió alcanzar un factor de preconcentración de 100. Por otra parte, en las condiciones de trabajo propuestas el porcentaje de recuperación del FP fue del 50 %, con desviaciones estándar relativas menores al 5 %.

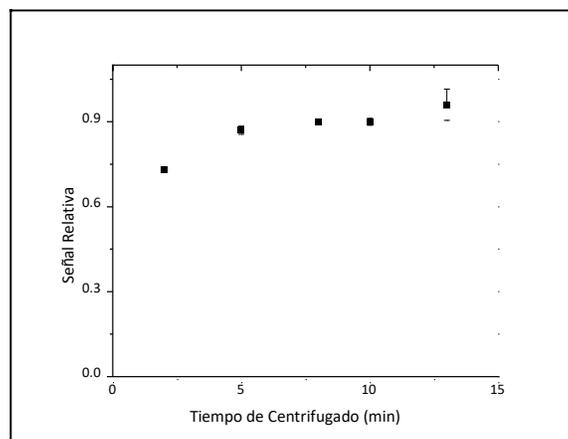


Figura 4. Efecto del tiempo de separación de las fases por centrifugación.

CONCLUSIONES

Se desarrolló con éxito un procedimiento para la extracción de FP contenido en agua utilizando como disolvente orgánico el clorobenceno. En comparación con otros estudios de multiresiduos de plaguicidas en agua donde se utiliza la DLLME, el porcentaje de recuperación fue aceptable. Por otro lado, cabe destacar que el uso de clorobenceno como extractante tiene un impacto ambiental positivo, ya que la toxicidad de este disolvente es menor a otros compuestos halogenados usados con el mismo fin. Finalmente, la naturaleza y cantidades de reactivos utilizados en este trabajo, el consumo energético y el tiempo de análisis involucrado concuerdan con las premisas propuestas en la Química Analítica Verde.

REFERENCIAS

- [1] C.D. Tingle, J.A. Rother, C.F. Dewhurst, S. Lauer, W.J. King. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* **176**, 1-66 (2003).
- [2] A. Bobé, C.M. Coste, J.F. Copper. *J. Agric. Food Chem.* **45**, 4861-4865 (1997).
- [3] K.K. Ngim, D.G. Crosby. *Environ. Toxicol. And Chem.* **20**, 972-977 (2001).
- [4] U. Rudolph, H. Möhler. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **44**, 475-498 (2004).
- [5] R.L. McMahan, M.J. Strynar, S. Dagnino, D.W. Herr, V.C. Moser, S. Garantziotis, E.M. Andersen, D.L. Freeborn, L. McMillan, A.B. Lindstrom. *Environ. Internat.* **78**, 16- 23 (2015).
- [6] F. Mohamed, L. Senarathna, A. Percy, M. Abeyewardene, G. Eaglesham, R. Cheng, S. Azher, A. Hittarage, W. Dissanayake, M.H. Rezvi Sheriff, W. Davies, N.A. Buckely, M. Eddleston. *J. Tox.* **42**, 955-963 (2004).
- [7] A. Bobé, P. Meallier, J.F. Cooper, C.M. Coste. *J. Agric. Food Chem.* **46**, 2834-2839 (1998).

- [8] J.P. Cravedi, G. Delous, D. Zalko, C. Viguié, L. Debrauwer. *Chemosphere*. **93**, 2276-2283 (2013).
- [9] Y. Aliouane, A.K. el Hassani, V. Gary, C. Armengaud, M. Lambin, M. Gauthier. *Environ. Tox. And Chem.* **28**, 113-122 (2009).
- [10] The Guardian. Egg contamination scandal widens as 15 EU states, Switzerland and Hong Kong affected. 11 August 2017. <https://www.theguardian.com/world/2017/aug/11/tainted-eggs-found-in-hong-kong-switzerland-and-15-eu-countries>. Acceso: 25 de marzo de 2018.
- [11] M.A. Farajzadeh, M. Bahram, J.A. Jönsson. *Anal. Chim. Act.* **591**, 69-79 (2007).
- [12] C. Cortada, A. Canals, L. Vidal. Nuevas metodologías y aplicaciones de las técnicas de microextracción líquido-líquido para la determinación de contaminantes orgánicos. Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Facultad de Ciencias. Universidad de Alicante. (2012).
- [13] Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (ATSDR). 1990. *Reseña Toxicológica del Clorobenceno*. Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE. UU., Servicio de Salud Pública.
- [14] S.S. Caldas, C. Rombaldi, J.L. de Oliveira Arias, L. Cardoso Marube, E.G. Primel. *Talanta*. **146**, 676-688 (2016).
- [15] Y. Liu, E. Zhao, W. Zhu, H. Gao, Z. Zhou. *J. of Chromatography A*. **1216**, 885-891 (2009).

DESARROLLO DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE PIROXICAM SOBRE UN ELECTRODO DE PASTA DE CARBONO

Miguel Ángel Martínez Cruz¹
María Teresa Ramírez Silva^{1*}
Manuel Palomar Pardavé²
Mario Alberto Romero Romo²
Silvia Corona Avendaño²

INTRODUCCIÓN

El Piroxicam (PX), Figura 1 es un fármaco antiinflamatorio no esterooidal del grupo de los oxicams el cual es indicado para el tratamiento de artritis reumatoide, osteoartritis, espondilitis anquilosante, afecciones musculoesqueléticas agudas, gota aguda, dolor postoperatorio y dolor postraumático agudo, también posee propiedades analgésicas y antipiréticas [1].

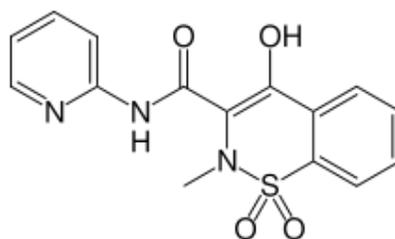


Figura 1. Molécula de PX.

Sin embargo, su uso se ve limitado por la posible aparición de efectos adversos, potencialmente letales, como puede ser la enfermedad ulcerosa péptica o la insuficiencia renal, debido a que los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) inhiben la enzima ciclo- oxidasa, pero no la actividad peroxidasa del enzima [2]. Estos estudios permiten analizar el daño causado a los seres humanos de la tercera edad a largos tiempos de prescripción médica.

¹ Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, Departamento de Química, Av. San Rafael Atlixco #186, Col. Vicentina, México, D.F., C.P. 09340. E-mail: mtrs218@xanum.uam.mx

² Universidad Autónoma Metropolitana Azcapotzalco, Departamento de Materiales, Av. San Pablo #180, Col. Reynosa-Tamaulipas, México, CDMX., C.P. 02200.

Por otro lado, el alto consumo de los AINEs y la forma que se desechan se han considerados como contaminantes emergentes [3]. Por esta razón, el objetivo de este trabajo es desarrollar un método analítico para la cuantificación de Piroxicam sobre un electrodo de pasta de carbono, se seleccionó este electrodo de trabajo porque es renovable, reproducible y de bajo costo.

EXPERIMENTACIÓN

Todos los reactivos son grado analítico, piroxicam (Sigma Aldrich), NaOH 1N (J.T. Baker) y HCl 1N (J.T. Baker); las soluciones fueron preparadas con agua desionizada. El desionizador utilizado fue Milli-Q (Millipore) con resistividad de 18.7 MΩcm. El potenciómetro y el electrodo de vidrio pH 0-14 (HACH). Durante el experimento las soluciones de PX en la celda se mantuvieron en atmósfera de nitrógeno y protegidas de la luz a temperatura constante de 25°C con un recirculador (LAUDA E200).

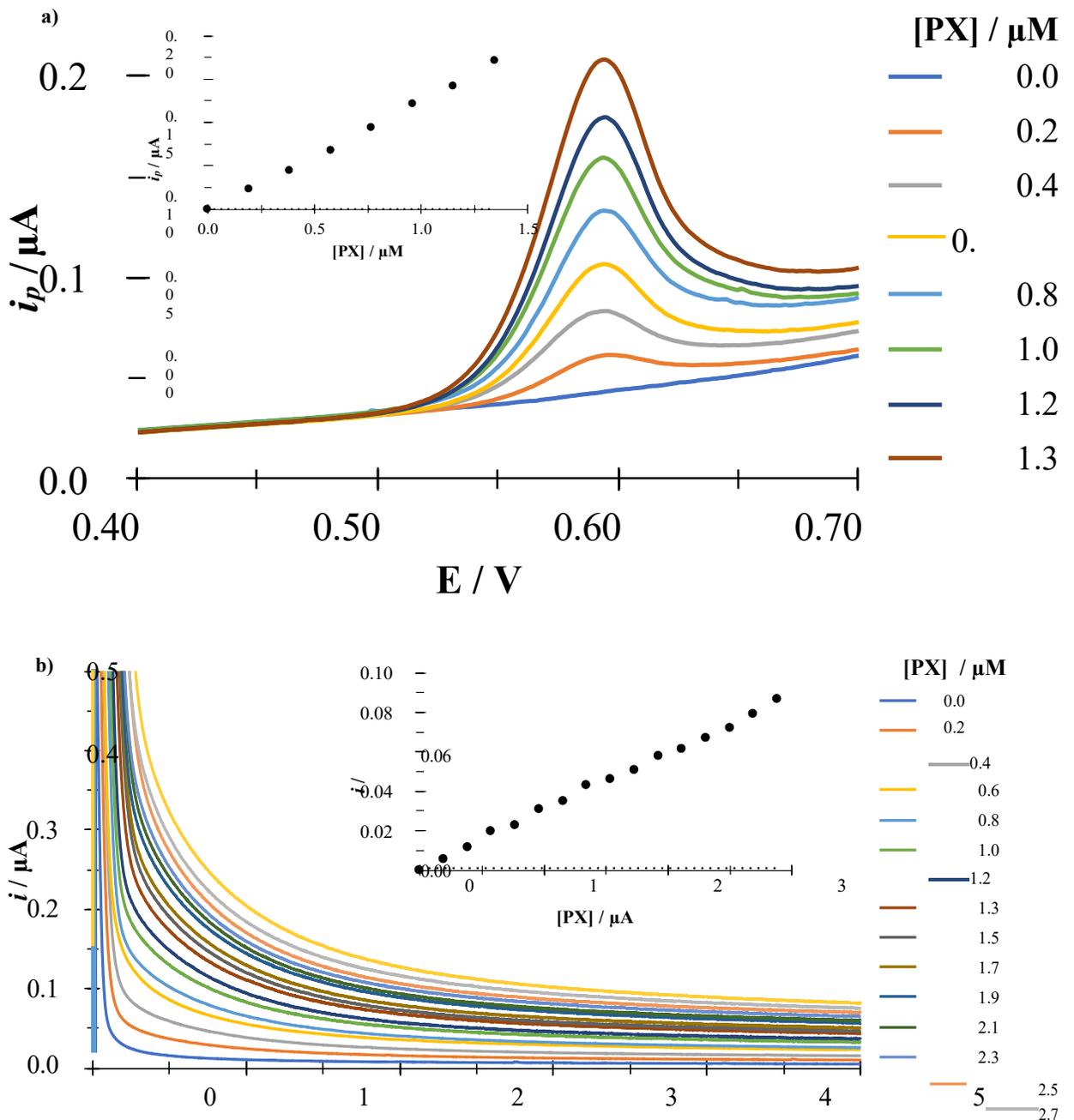
Se utilizó un potenciostato Epsilon (BASi) para el estudio electroquímico con una celda convencional de tres electrodos. El electrodo de pasta de carbón (EPC) electrodo de trabajo fue preparado a partir de polvo de Grafito (Johnson Matthey 1 μm, 99.9%) y aceite mineral (Nujol) de Sigma-Aldrich con una relación de peso 1:1. Como contra-electrodo se utilizó un alambre de platino (BASi MW-1032) y como electrodo de referencia Ag/AgCl KCl 3M (BASi MF-2052), todos los potenciales en este trabajo están referidos a este electrodo de referencia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Debido a las propiedades de la molécula, en la literatura Rodríguez-Barrientos determina 2 valores de pKa para PX por espectroscopía UV-Vis; el primero 2.12 se asigna al grupo enólico y el segundo 5.31 al grupo piridínico [4], por la alta acidez del grupo enólico a partir de una caracterización del comportamiento de protonación [5]. Esto afecta el elegir las condiciones de trabajo porque el pH afecta el comportamiento de la molécula por eso es importante considerar los pKa.

CUANTIFICACIÓN DE PX UTILIZANDO UN EPC A PH 3.543

Se obtuvieron las curvas de calibración mediante diferentes técnicas electroquímicas, voltamperometría cíclica (VC), cronoamperometría (CA) y disco rotatorio (DR), sobre un electrodo de pasta de carbono a diferentes concentraciones de PX a pH 3.543. Como se puede observar en la Figura 2 las corrientes fueron proporcionales a las concentraciones añadidas del fármaco



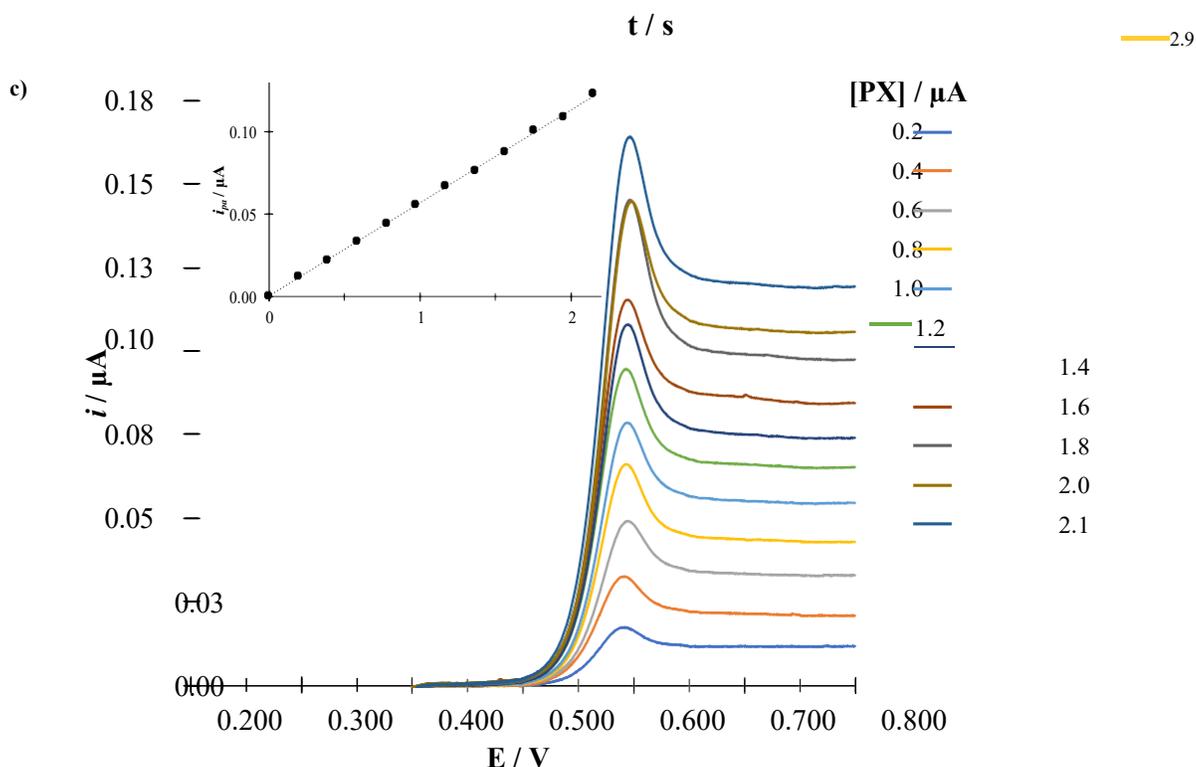


Figura 2. Familia de: a) VC's, a velocidad de barrido 0.1Vs^{-1} (En el inserto se presenta la gráfica $i_p = f [\text{PX}]$ a 0.596 V); b) cronoamperogramas, para un potencial impuesto de 0.630 V (En el inserto se presenta el gráfico de $i = f [\text{PX}]$ a 4 s); c) voltamperogramas de barrido lineal, a velocidad de barrido de 15 mVs^{-1} y una velocidad de rotación del electrodo de 300 rpm (En el inserto se presenta la gráfica $i_L = f [\text{PX}]$ a 0.680 V). A diferentes concentraciones de HPX a pH 3.543 sobre un EPC.

Como se puede observar en el inserto de cada figura se aprecian las curvas de calibración que siguen una tendencia lineal de la corriente en función de la concentración de PX. En la Tabla 1 se presenta la ecuación de las rectas obtenidas para las diferentes técnicas. En DR se eligió a un potencial de 0.680 V porque la corriente está limitada por la difusión, y antes de llegar a esta corriente limite hay otras contribuciones por lo cual no es posible construir una CC.

Tabla 1. Ecuación de las rectas que se encuentran en el inserto de cada técnica electroquímica de la Figura 2.

Técnica	Ecuación de la recta	r^2
VC	$i = (0.1255 \pm 0.0029)\mu\text{A}\mu\text{M}^{-1}[\text{PX}] - (0.0056 \pm 0.0024)\mu\text{A}$	0.9967
CA	$i = (0.02908 \pm 0.00040)\mu\text{A}\mu\text{M}^{-1}[\text{PX}] + (0.00090 \pm 0.00068)\mu\text{A}$	0.9974
DR	$i = (0.05653 \pm 0.00044)\mu\text{A}\mu\text{M}^{-1}[\text{PX}] + (0.00024 \pm 0.00055)\mu\text{A}$	0.9994

COMPARACIÓN DE PARÁMETROS ANALÍTICOS PARA PROPONER UN MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN

Se obtuvieron los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) con los datos de cada recta [6], así como la sensibilidad de la curva de calibración para las diferentes técnicas, estos valores se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Cálculo del límite de detección y cuantificación para PX a distintas técnicas a pH 3.543 sobre el EPC.

Técnica	Velocidad de barrido mV/s	Sensibilidad ($\mu\text{A}\mu\text{M}^{-1}$)	LD (μM)	LC (μM)
VC	100	$(125.5 \pm 2.9) \times 10^{-3}$	0.097	0.291
DR (300 rpm)	15	$(55.60 \pm 0.41) \times 10^{-3}$	0.054	0.181
CA		$(29.08 \pm 0.40) \times 10^{-3}$	0.146	0.487

Se puede observar en la Tabla 2 que la técnica que presenta mejor sensibilidad es la VC, sin embargo, el DR presenta mejor LC y LD. La CA no mejora los parámetros analíticos. Es este trabajo se desea mejorar los LD y LC por lo tanto la técnica de DR es adecuado para llevar a cabo la cuantificación de PX.

En la Tabla 3 se presenta una comparación de LD obtenidos para PX por medio de otros métodos y técnicas experimentales, se puede apreciar que utilizando simplemente un EPC se alcanza el mismo orden de magnitud e incluso mejora este parámetro y muy cercano al valor reporta por espectrofluorimetría.

Tabla 3. Comparación de LD de PX obtenido en otros trabajos mediante diversas técnicas experimentales con el obtenido en este trabajo.

Técnica	LD (ppm)	Referencia
Electrodo de pasta de carbono en solución acuosa mediante DR.	0.018	Este trabajo
HPLC	0.035	[7]
Electrodo de pasta de carbono modificado con nanotubos de carbono de paredes múltiples por voltamperometría de diferencia de pulso.	0.1	[8]
Espectrofluorimetría	0.01	[9]

RECOBRO

Para conocer la precisión por DR se hace la recuperación de PX sobre un EPC a pH 3.543, se obtuvieron los recobros de tres puntos para conocer el porcentaje de recuperación y así tener un método confiable para la cuantificación de este fármaco. En la Tabla 4 se presenta los datos obtenidos.

Tabla 4. Estudio de recuperación de PX sobre un EPC a pH 3.543 por la técnica de DR. _____

$[PX]_{\text{Calculada}} / \mu\text{M}$	$[PX]_{\text{Recuperada}} / \mu\text{M}$	Recobro (%)	Error (%)
0.5832 ± 0.0016	0.591 ± 0.019	101.3	1.3
0.9719 ± 0.0022	0.998 ± 0.018	102.6	2.6
1.3607 ± 0.0083	1.372 ± 0.018	100.8	0.8

Como es posible observar en la información proporcionada en la Tabla 4, estadísticamente el porcentaje de error obtenido para cada punto es menor al 3% por lo que el método con las condiciones impuestas para la cuantificación de PX es confiable, y los valores de recuperación también se consideran aceptables (101.60 ± 0.94) %, lo que demuestra la precisión del método propuesto.

CONCLUSIONES

Se analizó el comportamiento electroquímico de PX a pH 3.543, se determinó que de las técnicas propuestas el DR presenta mejor límite de detección y cuantificación por lo tanto se propone esta técnica para la cuantificación de PX. Los recobros realizados permitieron conocer la confiabilidad en el método propuesto.

AGRADECIMIENTOS

MAMC agradece a CONACyT por la beca otorgada para la realización de posgrado, número de becario (616057). MTRS agradece a CONACyT por el apoyo mediante el proyecto 237327.

REFERENCIAS

- [1] A. Bello. Vademécum Farmacológico-Terapéutico. Ed. Andrés Bello, (1991).
- [2] M. Salido, L. Abásolo, A. Bañares. Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud **25**, 46-52 (2001).
- [3] Barceló LD, López de Alda MJ. Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. Fundación Nueva Cultura del Agua. Panel Científico- Técnico de seguimiento de la política de aguas.
- [4] D. Rodríguez-Barrientos, A. Rojas-Hernández, A. Gutiérrez, R. Moya-Hernández, R. Gómez-Balderas, M. T. Ramírez-Silva. Talanta. **80**, 754-762 (2009).
- [5] Tesis de Moya Hernández, María R. "Estudio de especiación química de los fármacos antiinflamatorios tenoxicam y piroxicam con cationes metálicos de interés biológico". Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, (2003).
- [6] James N. Miller, Jane C. Miller, Estadística y Quimiometría para Química Analítica. Pearson. 4ª Edición. 2002.
- [7] M.F. Abdulkarim, G.Z. Abdullah, M.H.F. Sakeena, M. Chitneni, M.F. Yam, E.S. Mahdi, I.M. Salman, O.Z. Ameer, M.A. Sattar, M. Basri, A.M. Noor. International Journal of Drug Delivery. **3**, 51-54 (2011).
- [8] A. Abbaspour, R. Mirzajani. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. **44**, 41-48 (2007)
- [9] G.M. Escandar, A.J. Bystol, A.D. Campiglia. Analytica Chimica Acta. **466**, 275-283 (2002).

CUANTIFICACIÓN DE FLUORUROS EN AGUA DE DIFERENTES POZOS DE LA COMARCA LAGUNERA MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA VISIBLE

Florencia Mayeli Silva Enriquez
Iliana Margarita de la Garza Rodríguez
Judith Amador Hernández
Edith Madaí Colunga Urbina^{1*}

INTRODUCCIÓN

Hoy en día a falta de agua en Coahuila ha provocado el desarrollo de grandes obras subterráneas para la explotación de los mantos acuíferos. Cuando se extrae el agua de manantiales, atraviesa los suelos por percolación disolviendo diversas sales, las principales sales son de fluoruros de calcio (CaF_2) y sodio (NaF) [1,2], además la presencia de cesio, litio, cloro y bromo, provocan altas concentraciones de fluoruros [1]. Los fluoruros (F^-) forman sales de flúor o compuestos binarios unidos a otro elemento [2], también se asocia con el aluminio en agua dulce, en forma de AlF_2 se deposita en los sedimentos en donde se adhieren con mucha fuerza a otras partículas que están presentes en el medio. Los suelos o sedimentos que presentan flúor al estar en contacto con el agua pueden ser removidos por el movimiento de está incorporándose y/o acumulándose en raíces de las plantas y/o quedarse disueltos en el agua [3]. La concentración natural de fluoruros en el agua depende de varios factores como: pH, sólidos totales disueltos, alcalinidad, aniones, cationes, dureza, temperatura, etc. [4,5,6,7,8]. Otra manera de encontrar a los fluoruros en el medio ambiente de forma natural es la meteorización, emisiones volcánicas y de forma antropogénica: por la combustión del carbón, elaboración de acero y otros procesos industriales [9].

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Laboratorio de Química Analítica Ambiental, Blvd. Venustiano Carranza y José Cárdenas Valdez S/N Col. Republica Oriente, Saltillo Coahuila, C.P. 25280. Tel. (844) 4159534, ext. 112, e-mail: fenriquez@uadec.edu.mx, guanajuatita@hotmail.com*

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), explica que los fluoruros tienen efectos beneficiosos como perjudiciales en la salud humana siendo las altas concentraciones de fluoruros las que provocan efectos tóxicos en el ser humano [10].

En la actualidad consumimos alimentos y bebidas de venta en diferentes comercios que no incluyen dentro de su información nutrimental la cantidad de fluoruros. Los fluoruros aún no son requeridos en las etiquetas de los productos de venta y de consumo humano (Modificación a la NOM-051-SCFI/SSA1 2010, Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados) [11] y son de gran importancia ya que en muchos de los alimentos y bebidas se encuentran presentes, por ejemplo, en aguas embotelladas, jugos embotellados, algunas variedades de té y café y en productos de higiene personal como la pasta dental [12]. Los fluoruros se encuentran en forma natural en el agua [13]. Algunos de los beneficios que tiene consumir agua con la cantidad adecuada de fluoruros son: reducir las caries dentales, potente estimulador de proteínas (involucradas en la transducción de señales como lo son las proteínas G y MAPK) [14], e inhibidor de enzimas (que controlan el ciclo de las células) [15]. Actualmente el flúor es utilizado en muchos tratamientos dentales. Sin embargo, uno de los efectos más perjudiciales sobre el consumo de altas concentraciones de fluoruros es la fluorosis dental, esto ocurre en niños menores a 8 años de edad que han sido sometidos a ingesta excesiva de fluoruro durante la formación de los dientes, esto se debe, a que niveles muy altos del anión perturban el buen funcionamiento de las células que forman el esmalte dental (odontoblastos), y por lo tanto, impiden que el esmalte madure de una forma normal, apareciendo manchas amarillas que es una condición irreversible en el diente [16]. Esto sucede porque los fluoruros son rápidamente absorbidos a través de la mucosa gástrica, una vez que entra al estómago reacciona con el ácido clorhídrico y forma ácido hidrofúorhídrico, el cual es corrosivo en la mucosa gástrica, particularmente cuando hay mucha acidez gástrica, posteriormente pasa al plasma y a las tres horas de ser ingerido se presenta la concentración máxima, que es absorbida en los intestinos por mecanismos de transporte pasivo, depositándose en tiroides, aorta, riñones, esqueleto y dientes (principal depósito) [2].

En México, la concentración máxima permitida de fluoruros en agua de consumo humano es de 1.5 mg/L (Modificación a la NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental, agua para uso y consumo humano) [17], mientras que la Organización Mundial de Salud solo permite 0.7 mg/L [12]. La ciudad de Torreón se encuentra en la Comarca Lagunera (zona que abarca algunos de

los municipios de Durango y Coahuila) en esta zona se han sobreexplotado los mantos freáticos y las presas en los últimos años y lejos de resolverse este problema ha ido aumentando la demanda del agua. Lo cual ha generado un recurso no sustentable, debido a la capacidad de recarga de agua de los acuíferos es menor que el agua que se extrae, además, ya se ha reportado la presencia de diferentes contaminantes como el arsénico, cloruros, fluoruros, etc. [18].

El presente trabajo tiene por objetivo determinar la concentración de fluoruros de diferentes pozos que sirven de abastecimiento a la red municipal de la Comarca Lagunera utilizando el método espectrofotométrico en la región visible mediante la reacción entre los iones fluoruro y el complejo Zirconilo-SPADNS [19] y poder establecer si es agua apta para el consumo humano.

EXPERIMENTACIÓN

Las muestras fueron recolectadas en envases de polietileno de 1 L y se almacenaron hasta su análisis a 4 °C.

Para la determinación de ion fluoruro se utilizó el método descrito en la norma NMX-AA-077-SCFI-2001 [19], en el cual se hace reaccionar los Fluoruros contenidos en las muestras con el complejo Zirconilo SPADNS (Zr-SPADNS) formando un anión complejo incoloro (ZrF_6^{2-}) y se cuantificó utilizando un espectrofotómetro UV/Vis, Cary Eclipse marca Varian.

Reactivos

- Reactivo Zirconilo en medio ácido. - $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$ 8.25×10^{-4} mol L^{-1} + HCl 8.4 mol L^{-1} ;
Reactivo SPADNS.- sal disódica del ácido 4,5-dihidroxi-3 (parasulfofenilazo)-2,7-naftalendisulfónico 3.36×10^{-3} mol L^{-1} .
- Reactivo Zr-SPADNS: Relación 1:1 (reactivo zirconilo: reactivo SPADNS). Blanco reactivo. - 5 mL reactivo SPADNS + 5 mL HCl 8.4 mol L^{-1} . Estándar certificado de 1000 mg/L de fluoruros de AcuStandard.

Procedimiento general. Estándar de F^- (0.2 mg/L a 1.0 mg/L) en 5 mL de agua desionizada + 1 mL Zr-SPADNS + 10 segundos de agitación. Leer a 570 nm en espectrofotómetro UV/Vis. Las muestras se realizaron por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se presenta la curva de calibrado de fluoruros de la cuantificación de las muestras.

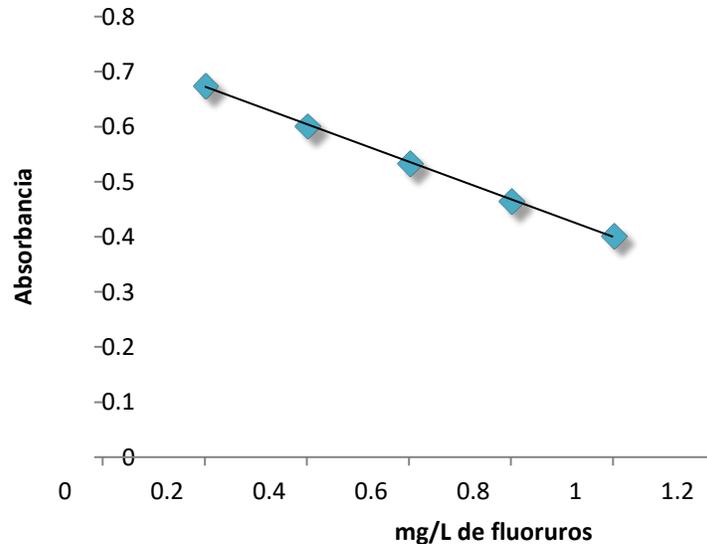


Figura 1. Curva de calibrado para fluoruros

En la tabla 1 se presentan los parámetros analíticos para conocer la precisión y seguridad del método.

Tabla 1. Parametros analíticos

% DER	0.37% para 0.2 mg/L de F ⁻ 0.68% para 1.0 mg/L de F ⁻
% E	0.83% para 0.2 mg/L de F ⁻ 1.53% para 1.0 mg/L de F ⁻

En la figura 2 se presentan las concentraciones de fluoruros que se obtuvieron para cada una de las muestras analizadas y se observa que ninguna de las muestras sobrepasa el límite máximo permisible establecido en la Modificación a la NOM-127-SSA1-1994 de 1.5 mg/L. Por lo tanto, la empresa que distribuye el agua por la red municipal no enfrentaría ninguna sanción, a pesar de encontrar habitantes con manchas blancas y hasta color marrón en la dentadura de los habitantes de la comarca lagunera. Sin embargo, se puede observar que el agua de dos pozos (M9 y M13) presentan concentraciones por arriba del límite permisible que la Organización Mundial de Salud establece de 0.7 mg/L, y al menos dos pozos mas (M15 y M20) están muy cerca de la

concentración permisible de la OMS, estos pozos se pueden considerar como tóxicos, pero al ser combinados con agua de otro pozo la concentración disminuirá, a pesar de ello, los fluoruros se estarán acumulando en los intestinos, tiroides, aorta, riñones, esqueleto y dientes de los habitantes de las colonias que son abastecidos con esos pozos.

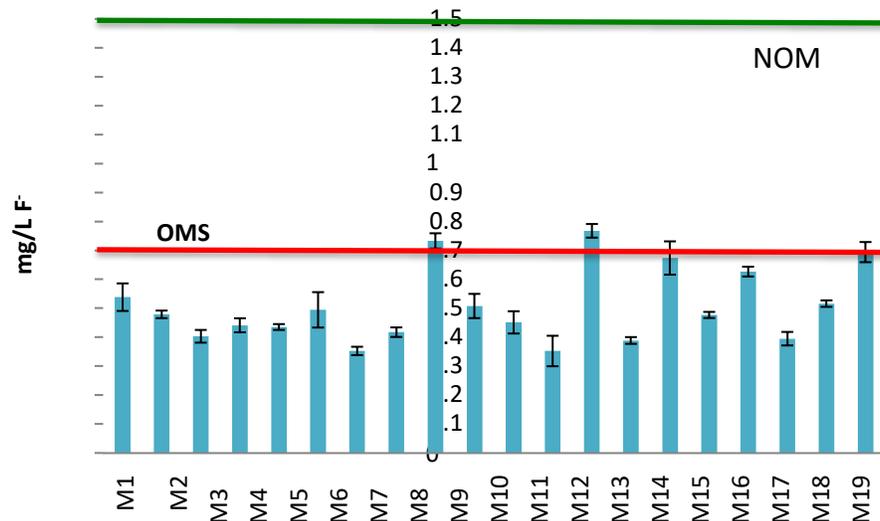


Figura 2. Concentración de fluoruros presente en las muestras

CONCLUSIONES

Con los resultados que se obtuvieron podemos concluir que según la norma mexicana, el agua de los 20 pozos no sobrepasa los límites permisibles y puede ser distribuida por la red municipal, sin embargo, dos pozos de agua (M9 y M13) presentan concentraciones por arriba de las establecidas por la OMS y dos más (M15 y M20) están muy cerca de dicha concentración, esto nos permite deducir cuales son las sales presentes en el suelo que está en contacto con el agua de los pozos antes mencionados, las sales más frecuentes son: fluorita (CaF_2), criolita (Na_3AlF_6) y fluorapatita [$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$].

El consumo de esta agua pueden generar la fluorosis dental y hasta la fluorosis esquelética, si se tiene evidencia en el sector salud sobre la salud dental de los adultos mayores que habitan las colonias que son abastecidas con el agua de estos pozos y tiene la presencia de fluorosis dental elevada, nos lleva a pensar que han consumido el ion fluoruro desde niños, pero si los adultos mayores de esas mismas colonias presentan fluorosis mínima y los niños presentan fluorosis dental elevada, el pozo ha sido sobre explotado ya que regularmente se están

abasteciendo aguas de tipo fósiles (aquellas que están a mayor profundidad del pozo) son las que están consumiendo los niños y en los adultos no se tendría fluorosis dental elevada debido a que no la pueden absorber porque solo se absorbe en el desarrollo infantil.

REFERENCIAS

- [1] L. Galicia, Análisis de la concentración de fluoruro en agua potable de la delegación Tláhuac, Ciudad de México. *Rev. Int. Contam. Ambient*, **27**, 283-289, (2011).
- [2] M. Ryczel, Flúor y Agua de Consumo, Su relación con la salud Controversias sobre la necesidad de fluorar el agua de consumo. *Boletín Del ATA*, **20** [72], 21–26, (2006).
- [3] Y. Rincón, P. Rodríguez, Estrategia en planta para reducir la concentración de flúor en aguas residuales provenientes de la industria siderúrgica, México, 5-7 Tesis: Maestría, (2016).
- [4] R. Kahama, D. Kariuki, H. Kariuki, L. Njenga, Fluorosis in children and sources of fluoride around lake Elementaita region of Kenya, *fluoride*, **30**, 19-25, (1997).
- [5] S. Grobler, A. Louw, W. Van, T. Kotze, Dental Fluorosis and caries experience in relation to three different drinking water fluoride levels in South Africa. *Int J Paediatr Dent*, **11**, 372 - 379, (2001).
- [6] P. Harrison, Fluoride in water: a UK perspective. *fluorine chem*; **126**, 1448-56, (2005).
- [7] K. Msonda, W. Masamba, E. Fabiano, A study of fluoride ground water occurrence in Nathenje, Lilogwe, Malawi. *Phys Chem Earth*, **11**, 78-84, (2007).
- [8] G. Viswanathan, A. Jaswanth, S. Gopalakrishnan, S. Sibailango, Mapping of fluoride endemic areas and assessment of fluoride exposure. *Sci Total Environ*; **407**, 79-87, (2009).
- [9] R. Liteplo, R. Gomez, P. Howe, H. Malcom, *Fluoruros*, World Health Organization, Geneva, 240, (2002).
- [10] Organización Mundial de la Salud, Boischio, A. Flúor en el agua de consumo, http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=8193%3A2013-fluor-agua-consumo&catid=4716%3Ageneral&Itemid=39798&lang=es, 19 de octubre de (2017).
- [11] NOM-051-SCFI/SSA1-2010, Modificación a la NOM-051-SCFI/SSA1-2010 Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados- Información comercial y sanitaria (2014). http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5356328&fecha=14/08/2014
- [12] R. Hurtado, J. Gardea, Estimación de la exposición a fluoruros en Los Altos de Jalisco, México. *Salud pública México*, **47**, 58-63, (2005).
- [13] F. Maraver, I. Vitoria, J. Almerich-Silla, F. Armijo. Fluoruro en aguas minerales naturales envasadas en España y prevención de la caries dental. 16-17, (2015).
- [14] A. Rigalli, L. Pera, L. Brun, V. Di Loreto, Determinación de la concentración de flúor en muestras biológicas, 1–115, (2011).
- [15] K. Lau, J. Farley, T. Freeman, D. Baylink, A proposed mechanism of the mitogenic action of fluoride on bone cells inhibition of the activity of an osteoblastic acid phosphatase. *Metabolism*, **9**, 858-868, (1989).

- [16] I. Hidalgo, J. Duque, F. Mayor, J. Zamora, Fluorosis dental: no solo un problema estético. *Rev cubana Estomatol*, **44**, 34, (2003).
- [17] NOM-127-SSA1-1994, Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización (2000).
- [18] F. Suarez, Inocuidad de agua potable embotellada en la ciudad de Torreon, Coahuila. Tesis Licenciatura, UAAAN, (2011).
- [19] NMX-AA-077-SCFI-2001, "Análisis de aguas - determinación de fluoruros en aguas naturales, residuales y residuales tratadas" (2001)

DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS TOTALES DEL PETRÓLEO: UN ANÁLISIS DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS EMPLEADOS PARA LA ELABORACIÓN DE UNA LÍNEA BASE AMBIENTAL

Carlos Mario Morales Bautista¹
Carlos Jesús Torres Palma²
Candelario Méndez- Olán¹
Maricela de Jesús Alor Chávez¹

INTRODUCCIÓN

Uno de los recursos naturales más importantes de la república mexicana son las reservas petroleras, ubicadas principalmente, en la zona del Golfo [1]. Con la última reforma de ley en materia energética, se permitió la apertura de este sector para la inversión del capital privado, también se crearon nuevas instituciones como la Agencia de Seguridad, Energía y Ambiente (ASEA). Entre sus facultades, este instituto establece los criterios que deben cumplir las empresas que deseen invertir en el desarrollo de actividades que competen al ramo petrolero, estos reglamentos están incluidos en guías, y éstas están clasificadas según el área en que se vayan a realizar las operaciones. En el caso de las empresas que reactivarán campos o pozos petroleros, uno de los requisitos indispensables es definir una Línea Base Ambiental (LBA), la cual debe contener todos los impactos previos y los que estarán asociados a las actividades petroleras terrestres de exploración y extracción de hidrocarburos [2]. En términos de impacto en suelos, las guías no mencionan un método específico para la determinación de hidrocarburos, solo sugieren que debe establecerse una metodología para evaluar los posibles pasivos ambientales mediante técnicas convencionales que permitan entender si existe o no un impacto ambiental previo al arranque de operaciones, con el fin de deslindar responsabilidades y coadyuvar en la toma de decisiones en el caso de problemas legales o sociales.

¹Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. División Académica de Ciencias Básicas. Carretera Cunduacán-Jalpa KM. 1 Col. La Esmeralda CP. 86690. Tel. (993) 3581500 Cunduacán, Tabasco, México. carlos.morales@ujat.mx*

²Kanan-Ambiental S.A. de C.V. Ampliación Laguna Mecoacán 82 A. C.P. 86019 Villahermosa, Tabasco, México. Tel. (993) 3533638

Hasta la fecha, en México aún se siguen evaluando los límites máximos permisibles de Hidrocarburos Totales del Petróleo (HTP) mediante los métodos establecidos en la NOM- 138-SEMARNAT-SSA1-2012 (NMX-AA-134-SCFI-2006, similar a los métodos EPA 3540 y EPA 166-A, todos basados en una extracción continua en Soxhlet), sin embargo, existen técnicas similares, por ejemplo, el método EPA SW-846 9074 o método PetroFlag y el método EPA 1664 o método infracal [3]. Muchas investigaciones mencionan que estos métodos varían su efectividad, debido a diferentes factores, principalmente por tres, el primero es el tipo de suelo, el segundo el tipo de hidrocarburo y el tercero el tipo de disolvente que se empleó en la determinación analítica. Estas incertidumbres han llevado a establecer diagnósticos ambientales erróneos que conllevan impactos en la fertilidad de los suelos y la salud, principalmente porque no se determinan las fracciones residuales que generalmente causan repelencia al agua o no se consideran impactos acumulativos o de transformación de fracciones lixiviables que causan efectos nocivos en la salud (derivados del 2-natfol) [4, 5]. En el caso de la iniciativa privada, este factor es muy importante debido a que operar en un área en donde pueden existir conflictos sociales y legales, es de alto riesgo para las inversiones a largo plazo. Debido a que existe incertidumbre en que procedimiento es más efectivo y como parte de un servicio de vinculación en la implementación de una LBA, en el presente trabajo se evalúan dos metodologías normadas con modificaciones establecidas en la literatura y propias del laboratorio, estas metodologías fueron el método PetroFlag y el Soxhlet, no se evaluó el método infracal ya que este se basa en un proceso de extracción de analito mediante una columna de sílica activada, que utiliza como disolvente de extracción al hexano, está demostrado que este compuesto no extrae las fracciones polares y asfaltenos, las cuales están asociadas a la repelencia al agua [6]. Las muestras de suelo se obtuvieron de diferentes zonas del Campo Moloacán (PEMEX Exploración y Producción) ubicadas en los municipios de Moloacán e Ixhuatán de Sureste del estado de Veracruz. La cuenca de extracción de hidrocarburos considerada fue la del sureste [7].

EXPERIMENTACIÓN

Aunque se siguió lo especificado en la normativa, algunos autores añaden que, al muestrear un suelo contaminado con petróleo crudo, debe también de establecerse las características geomorfológicas del sitio, esto con el fin de determinar cómo se encuentra el hidrocarburo en la

matriz del suelo, principalmente, en áreas en las que el contaminante ha sido intemperizado [8]. Basados en los derrames reportados en la literatura así como en la ubicación de las instalaciones petroleras del sitio en estudio, en un primer plano se realizó una inspección empleando barrenas y nucleadores, lo anterior con el fin de determinar si existía secuestro biológico o desplazamiento del contaminante, ya que se conoce que hasta los 80's la fosa de desechos y los contrapozos se encontraban sin obra civil de contención, así como los sitios donde existieron derrames se desconocía si se atendió o no el evento. Como resultado, se identificaron 104 sitios impactados, por cuestiones de formato, en este trabajo se presentan 15, estos presentaban la mayor cantidad de hidrocarburo en la matriz de suelo.

Debido a que las áreas impactadas por cada sitio eran diferentes, se tomaron muestras al azar de suelo contaminado conforme a lo especificado en la NOM-138-SEMARNAT SSA1-2012, por cada sitio también se tomó una de testigo. Para obtenerlas, en el caso del suelo contaminado, se empleó una barrena de acero inoxidable desde el primer horizonte hasta donde ya no se observaba mancha del hidrocarburo. Posteriormente, las muestras se etiquetaron y se conservaron en recipientes de vidrio de boca ancha de 250 mL, para su transporte se conservó en frío empleando una nevera con hielo, posteriormente se trasladaron al laboratorio para realizar las pruebas de Petroflag y Soxhlet. Para las muestras de suelos testigos, se empleó un núcleo de golpe, el cual permitió extraer el perfil completo, se identificó el número de horizontes, estos se etiquetaron por separado y conservaron en bolsas negras de plástico (2 kg), se transportaron en frío al laboratorio donde se determinaron las características físicas y químicas con base en la NOM-021-SEMARNAT-2000, debido a que en trabajos anteriores se ha observado que parte de la materia orgánica es arrastrada por el disolvente, también se realizaron los ensayos de HTP a las muestras testigos considerando una muestra homogenizada de todos los horizontes, los resultados se les restaron a la concentración de los suelos contaminados según le correspondiera [9,10].

El método Petroflag con modificaciones se realizó de la siguiente manera: las muestras fueron secadas, molidas y tamizadas. Se tomó 1 g y se mezcló con 5 mL de CCl_4 , se dejaron en agitación continua durante 24 horas, luego se dejó reposar y se extrajo una alícuota mediante filtrado (0.18 mm), ésta se analizó en un espectrómetro Uv-Vis Varian Cari 300. La determinación de HTP se realizó mediante la evaluación de una curva de calibración construida por diluciones de petróleo crudo pesado (pozo Mol-156, localizado en la zona de estudio) en CCl_4 , debido a que

el equipo Petroflag es un analizador portátil y solo considera una longitud de onda alrededor de 350 nm, en este trabajo se realizó un barrido, en el cual se eligió el pico con mayor absorción del crudo con la menor interferencia con el disolvente, la cual fue a 320 nm [11].

Por otro lado, para la extracción Soxhlet con modificaciones, se siguieron los siguientes pasos: primero, se determinó la textura de las muestras testigos, ya que en trabajos anteriores se ha observado que los suelos con petróleo crudo más pesados requieren menor tiempo de extracción (6 h), y que ésta sólo se logra en un 60%, en cambio los suelos con petróleos crudos medianos requieren al menos 8 h de extracción. En cuanto al tipo de suelo, se ha observado que los suelos con textura arcillosa requieren al menos

12 horas de extracción en comparación con los suelos con textura granular mayor (arenosa), también se ha observado que la materia orgánica influye en agregar ácidos húmicos al extracto, por lo que la determinación del extracto del testigo coadyuva en establecer si se está cuantificando demás o no [3, 12, 13, 14]. Debido a que las muestras representan suelos con hidrocarburos intemperizado, se realizó una extracción continua de 5 g de suelo con 100 mL de CCl_4 a 12 horas, posteriormente la muestra se pasó por un rotavapor a 60 °C para recuperar el disolvente, el extracto se evaporó en una estufa a atmósfera constante (60 °C) durante 24 horas, posteriormente se pesó y se determinó el HTP por método gravimétrico. Cabe mencionar que todas las pruebas se realizaron por quintuplicado y se aplicó una prueba estadística ANOVA para observar diferencias significativas. En el caso del CCl_4 recuperado se oxidó con KMnO_4 , se recuperó en el rotavapor para darle reúso y el residuo que se generó se confinó para darle disposición final con base en la normativa mexicana [15].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1, se muestran los resultados de las muestras testigos conforme a la NOM- 021-SEMARNAT-2000.

En los resultados de las muestras de suelos testigos, se puede observar que las muestras P-48, P-58 y P-66 presentan texturas arcillosas, las cuales contrastan con el resto, que poseen textura arenosa. En cuanto a %MO, las muestras P-48, P-58 y P-66, también tienen un mayor porcentaje, esto se debe a que estas muestras se encontraban en una zona aluvial, a diferencia del resto que se muestrearon en una zona de lomerío, estos dos parámetros y el pH coinciden con lo reportado en la literatura, la cual establece que para los suelos de lomerío presentan

textura limo-arenosa y valores de pH ácidos, y la zona aluvial suelos con textura arcillosa con un porcentaje de materia orgánica medio con pH parcialmente neutros, el área de estudio está considerada con vocación de uso agrícola ganadera, por lo que los porcentajes altos de DA, DR y bajos de porosidad están relacionados con el pisoteo del ganado [16, 17]. No se observan problemas de salinidad. Cabe resaltar que, en la determinación de capacidad de campo, el método empleado fue el de la columna, algunas muestras no se saturaban, la única humedad retenida fue la que era agregada por la parte superior, lo anterior se debe a la repelencia al agua según lo reportado en la literatura [18].

Tabla 1. Características de los suelos testigos.

ID	%M O	N	P	K	Ca	Mg	Na	p H	CE	DA	DR	%P	CC	%R	% A	%L
PA-14	2.3	0.11	12	0.21	18.3	18.3 8	0.2 6	6. 1	0.33	1.12	2.47	54	13	20	62	18
PA-16	1.9	0.21	12	0.33	25.5	2.00	1.3 3	6. 2	0.25	1.13	2.27	50	14	23	66	11
PA-17	1.7	0.13	13	0.30	18.7	14.0	1.2 6	6. 1	0.13	1.21	2.48	50	18	20	62	18
PA-20	1.1	0.23	11	0.34	25.5	20.9	1.1 4	6. 9	0.15	1.11	2.26	51	10	23	65	12
PA-29	2.0	0.11	13	0.44	18.7	18.3 0	1.1 6	6. 1	0.31	1.12	2.38	55	12	20	60	20
PA-49	4.9	0.22	11	0.31	25.0	2.06	1.2 4	7. 2	0.21	1.12	2.37	52	33	53	36	11
PA-58	4.3	0.10	14	0.21	19.0	17.0	1.3 6	7. 1	0.13	1.12	2.38	53	38	54	22	18
PA-66	4.7	0.21	11	0.53	20.0	2.67	1.3 3	7. 2	0.22	1.11	2.23	52	34	59	30	11
PA-67	1.3	0.12	15	0.21	18.3	22.0 0	1.2 1	6. 1	0.33	1.13	2.48	54	12	20	70	10
PA-69	1.9	0.11	11	0.23	25.5	22.1 0	1.3 4	6. 2	0.13	1.13	2.17	50	11	23	66	11
PA-73	1.3	0.11	13	0.22	18.3	18.3 8	1.2 6	6, 0	0.11	1.11	2.44	55	13	21	71	8
PA-78	1.1	0.21	14	0.33	25.5	2.33	1.5 4	6. 4	0.21	1.11	2.35	52	10	22	69	9
PA-87	2.3	0.13	16	0.25	18.3	18.4 5	1.6 6	6. 0	0.33	1.14	2.28	49	11	20	69	11
PA-89	1.9	0.22	12	0.34	25.5	2.06	1.5 4	6. 3	0.24	1.23	2.37	52	11	23	66	11
PA-90	1.3	0.11	17	0,2	18.3	18.3 3	0.7 6	6. 3	0.37	1.13	2.48	52	13	21	66	13

%MO: materia orgánica. N: nitrógeno total, P: fósforo ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). K: potasio, Ca: calcio, Mg: magnesio y Na: sodio ($\text{Cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$). CE: conductividad eléctrica ($\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$). DA: densidad Aparente. DR: densidad Real. %P: porosidad. CC: capacidad de Campo (%). %R: arcilla, %A: arena y %L: limo.

En la tabla 2, se presentan los resultados de HTP determinado por ambos métodos.

En los resultados de las muestras analizadas por los dos diferentes métodos se puede observar que la técnica Soxhlet muestra una mejor extracción (aun restándole la concentración obtenida de los testigos), la cual se encuentra aproximadamente al doble con respecto a la

encontrada el método petroflag. En cuanto al fundamento de cada técnica, el método Soxhlet suele tener mayor rendimiento debido a que se maneja un volumen mayor de disolvente por cantidad de analito, también el contacto del disolvente de extracción es mucho mayor a través de los sinfones; en el caso del PetroFlag, existe la hipótesis que el tiempo de contacto no sea el suficiente o bien que la fase en la que actúa el disolvente para extraer el analito también influye, ya que en este método es empleado en fase líquida a diferencia del Soxhlet que se emplea en fase líquida-vapor. Por otro lado, se puede observar que las modificaciones empleadas tales como el tipo de disolvente y el tiempo de extracción, mantienen la misma tendencia al comparar entre tipo de suelos entre un método y otro. Sin embargo, algunos trabajos mencionan que la solubilidad de los compuestos de los petróleos crudos también depende de la clasificación de este ($^{\circ}$ API), así como de la cuenca de donde es extraído y también del proceso de donde venga antes del derrame (pozo, batería, emulsificadora, gas y petroquímica básica, refinería o terminal marítima para exportación). Por lo anterior, el trabajo queda delimitado solo para la zona de estudio, o bien como antecedente para comparar estudios similares pero que cuenten con las consideraciones anteriormente mencionadas.

Tabla 2. HTP suelos contaminados.

ID	Pasivo Ambiental	Estratos	Profundidad	(mg de h · kg de suelo)	
				Petroflag	Soxhlet
PA-14	Vega de arroyo contaminado en el ejido Esfuerzo del Trabajo	4	1 m	7,628	10,435
PA-16	Línea de grupo 113 de 4"Ø. A un costado de Batería Mol-1	6	1 m	6,278	9,700
PA-17	Quemador en parte trasera de batería Mol-2	2	1 m	13,324	21,000
PA-20	Línea de grupo 113 de 4"Ø. HC semi solidificado en zona baja	8	1 m	31,048	65,000
PA-29	Pozo 463 fuga de aceite	6	2 m	12,400	23,450
PA-49	Sitio impactado con HC cercano a pozo 384	4	1 m	6,948	12,380
PA-58	Pozo 720 presencia de HC alrededor del pozo	3	1 m	11,128	21,327
PA-66	Punto cercano al pozo 455	2	1 m	7,728	10,300
PA-67	Presencia de HC intemperizado, Cercano a pozo 626	4	1.50 m	10,000	17,502
PA-69	HF-2004-P475-002. Derrame en ducto 3" Ø del pozo 475)	6	1 m	27,000	51,564
PA-	Pozo 637, fuga de HC en árbol de válvulas	8	1 m	23,367	50,450

73					
PA-78	Pozo 641, hidrocarburo intemperizado en la pera del pozo	12	1 m	12,748	30,300
PA-87	Presencia de hidrocarburo en el pozo Mol 645	2	1 m	35,756	45,230
PA-89	Derrame de Hidrocarburo cerca de línea de 2"del pozo Moloacán 716	2	1 m	34,000	65,723
PA-90	Presencia de HC intemperizado, cerca del pozo Mol-685	2	1 m	3848	7,045

CONCLUSIONES

Se concluye que, de los métodos analíticos estudiados, el método citado por la NMX-AA- 134-SCFI-2006 presenta una mayor extracción de hidrocarburos en comparación con el Method 9074, al menos para suelos con hidrocarburos intemperizados en condiciones ambientales tropicales y suelos con vocación de uso agrícola-ganadero.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco por permitir la presente investigación a través del convenio de vinculación, a la empresa Kanan-Ambiental y el consorcio CANAMEX-PetroFac por el financiamiento y proporción de muestras de este estudio.

REFERENCIAS

- [1] R. P. Víctor. Sistema de estimación, certificación y aprobación de reservas de hidrocarburos en México; análisis de desempeño. *Ing., Inv. y Tecn.* **14** [3], 451-460 (2013).
- [2] A. M. Cantú, I. A. R. I Lema. Las sustancias químicas en México. Perspectivas para un manejo adecuado. *Rev. Inter. de Cont. Amb.* **33** [4], 719-745 (2017).
- [3] M. Pons-Jiménez, A. Guerrero-Peña, J. Zavala-Cruz, A. Alarcón. Extracción de hidrocarburos y compuestos derivados del petróleo en suelos con características físicas y químicas diferentes. *Univ. y Cienc.* **27** [1], 1-15 (2011).
- [4] D.C. Marín-García, R.H. Adams, R. Hernández-Barajas. Effect of crude petroleum on water repellency in a clayey alluvial soil. *Int. J. of Env. S. and Tech.* **13**[1], 55-64 (2016).
- [5] J.L. Arcaya, U. Salazar, L. Morales, Y. Moncada y E. Bonilla, E. *Ciencias Básicas.* **56**, [Suppl.1] 597-598 (2015).
- [6] R.H. Adams, A.L. Álvarez-Ovando, N. Castañón. Efecto de la concentración de hidrocarburos sobre la producción del pasto (*Brachiaria humidicola*) en Texistepec, Veracruz. *Phyton.* **84** [1], 222-232 (2015).
- [7] I.L. Sánchez, E.E. Hernández-Domínguez. Ronda uno. La implementación de la reforma energética de México. *Summa Iuris.* **5** [2], 232-244 (2017).
- [8] R.H. Adams, J. Zavala-Cruz, F. Morales-García. Concentración residual de hidrocarburos en

- suelo del trópico. II: afectación a la fertilidad y su recuperación. *Interc.* **33** [7], 483-489 (2008).
- [9] C.M. Morales-Bautista, R.H. Adams, F. Guzmán-Osorio, D.C. Marín-García. Dilution-extrapolation hydrometer method for easy determination of API gravity of heavily weathered hydrocarbons in petroleum contaminated soil. *Ener. and Env. R.* **3** [1], 115-119 (2013).
- [10] C.M. Morales-Bautista, R.H. Adams, R. Hernández-Barajas, C.E. Lobato-García, J.G. Torres-Torres, J. G. Characterization of fresh and weathered petroleum for potential impacts to soil fertility. *Int. J. of Env. S. and T.* **13** [11], 2689-2696 (2016).
- [11] Velasco Betancourt, C. E. Métodos de análisis y sus efectos ambientales. PUCE. U.S.A. (2015).
- [12] C.G. Martínez-Chávez, C.M. Morales-Bautista, M. Alor-Chávez. Extracción de hidrocarburo pesado en suelo arenoso. *Avanc. en Cien. e Ing.* **8**[11], 42-47 (2017).
- [13] M. Hernández García, C.M. Morales Bautista, C. Méndez Olán, R.H. Adams. Extracción de Hidrocarburo Pesado en Suelo Acrisol. *Revista Ciencias Básicas.* **4** [3], (2016).
- [14] M.U. Cuadrado, M.L. De Castro, M.A. Gómez-Nieto. Comparison and joint use of near infrared spectroscopy and Fourier transform mid infrared spectroscopy for the determination of wine parameters. *Talanta.* **66** [1], 218-224 (2005)
- [15] P. Campechano-Barradas, C.M. Morales-Bautista. Diagnóstico de la generación de residuos peligrosos en laboratorios de ciencias básicas de la UJAT. *Kuxulkab'.* **19** [11], 34-37 (2014).
- [16] J. Zavala-Cruz, F. Gavi-Reyes, R.H. Adams-Schroeder, R. Ferrera-Cerrato, D.J. Palma-López, H. Vaquera-Huerta, J.M. Domínguez-Ezquivel. Derrames de petróleo en suelos y adaptación de pastos tropicales en el Activo Cinco Presidentes, Tabasco, México. *Terra Lat.* **23** [3], 293-302 (2005).
- [17] R.H. Adams, F. Guzmán-Osorio, J. Zavala-Cruz. Water repellency in oil contaminated sandy and clayey soils. *Int. J. of Env. S. & Techn.* **5** [4], 445-454 (2008).
- [18] R.H. Adams, F. Guzmán-Osorio, V.I Domínguez-Rodríguez. Field-scale evaluation of the chemical-biological stabilization process for the remediation of hydrocarbon-contaminated soil. *International Journal of Environmental Science and Technology*, **11** [5], 1343-1352 (2014).

DETERMINACIÓN DE PLOMO-DITIZONA-TRITON X100 MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Mara Florencio Martínez
Edith Madaí Colunga Urbina
Judith Amador Hernández
Miguel Velázquez Manzanares
Iliana Margarita de la Garza Rodríguez¹

INTRODUCCIÓN

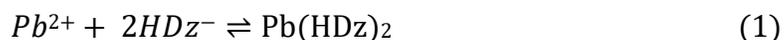
Las actividades económicas e industriales, la expansión urbana, y el crecimiento poblacional sin control, son sinónimos de contaminación ambiental de suelo, aire y agua, situación perjudicial para la salud del ser humano. El plomo es un elemento que ha sido manejado por el ser humano por más de 6000 años, sus aplicaciones comprenden desde la elaboración de tuberías, cables, insecticidas, hasta municiones y aditivos para la gasolina [1]. Previo al auge industrial, a nivel global, el promedio de la cantidad de plomo en la sangre de un individuo era de 0.016 µg/dL, hoy en día, un individuo que habita en zonas remotas, alejadas de cualquier tipo de instalación industrial y maquinaria, incluyendo vehículos automotores, posee un nivel de plomo entre 0.78 y 3.20 µg/dL y en niños en promedio, 10 µg/dL [2]. Si se presenta una exposición prolongada de plomo, este puede desencadenar manifestaciones neuropsicológicas negativas irreversibles y perjudiciales en el desarrollo cognitivo, efecto que se refleja mediante la disminución del coeficiente intelectual de un individuo [3]. El plomo es un agente teratógeno y carcinógeno que inhibe el crecimiento fetal y posible aborto espontáneo en mujeres con niveles de plomo en la sangre, de 10 µg/dL aproximadamente [4].

Una de las principales formas de exposición al plomo es mediante el consumo de agua proveniente de cuerpos de agua contaminados o de su distribución en las zonas urbanas donde

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica., Blvd. Venustiano Carranza y Cárdenas Valdez S/N, Col. República Oriente, Saltillo, Coahuila. CP: 25280, Tel: (844)4159534 ext. 112 E-mail: mara_martinez@uadec.edu.mx , iligarza4@hotmail.com

se realiza mediante un sistema de tuberías que comunican los depósitos de dicho líquido a los diferentes puntos de llegada, como casas habitación, industria, etc., estas tuberías y soldaduras utilizadas para la distribución pueden contener cobre y plomo debido a la corrosión, provocando la contaminación del agua que fluye a través de ellas [5]. El plomo se puede encontrar en 3 estados de oxidación; (0), (II) y (IV). Los iones más comunes encontrados en la naturaleza son los de Pb (II), ya que el Pb(IV) se forma únicamente bajo condiciones de oxidación extremas [6]. En México, NOM-127-SSA1- 1994 presenta el límite permisible de plomo en el agua para consumo humano de 0.025 ppm y cinco años después se redujo a 0.01 ppm, esto nos indica la toxicidad de dicho metal [7]. Uno de los métodos más utilizados para la determinación de plomo es utilizando el complejo de Pb-ditizona por espectrofotometría de UV/Vis. La formación de complejos metálicos en medio micelar acuoso es un proceso de enfoque verde y ecológico, ya que se descarta el uso de disolventes orgánicos (cloroformo) que por su naturaleza química son contaminantes y peligrosos para la salud humana, los surfactantes tienen amplios beneficios para la formación de los complejos ya que se requieren bajas concentraciones para la extracción del ion metálico, dentro de los surfactantes más comunes se encuentra el [p- (1,1,3,3-tetrametilbutil) fenil] éter (Triton-X100) el cual es un surfactante no iónico constituido por una cadena hidrófoba y una hidrófila, siendo esta última la que permite una gran estabilidad de micelas en medios acuosos por la formación de puentes de hidrógeno con el agua, las cuales tienen la capacidad de solubilizar compuestos orgánicos como la ditizona [8].

La difeniltiocarbazona ($C_{13}H_{12}N_4S$), comúnmente llamada ditizona, es un compuesto orgánico fotosensible que reacciona con determinados metales, los productos de dichas reacciones son sales metálicas, las cuales presentan color en solución [9]. La ditizona puede reaccionar de dos formas con metales pesados, dando dos tipos de complejos (tautomería); ceto-enol. Los complejos primarios (tautómero ceto) son de mayor importancia analítica debido a que son más estables que los secundarios (tautómero enol). En los ditizonatos ceto, el átomo de azufre, que poseen en su estructura molecular, actúa como donador de electrones, ligando al átomo metálico [10]. La estructura molecular de la ditizona primaria, y su comportamiento ante el Pb (II), conducen a una relación estequiométrica de 2:1, respectivamente, dicha proporción es establecida por el número de oxidación del metal. La formación de ditizonatos primarios de plomo está representada por la siguiente fórmula (1), [11]:



La formación de un complejo organometálico con el plomo (figura 1) en medio micelar proporciona la sensibilidad, al método, para posibilitar su detección espectrofotométrica. El presente trabajo tiene por objetivo determinar la concentración de plomo en agua mediante la formación del complejo Pb-ditizona y un surfactante no iónico con detección espectrofotométrica UV-Vis.

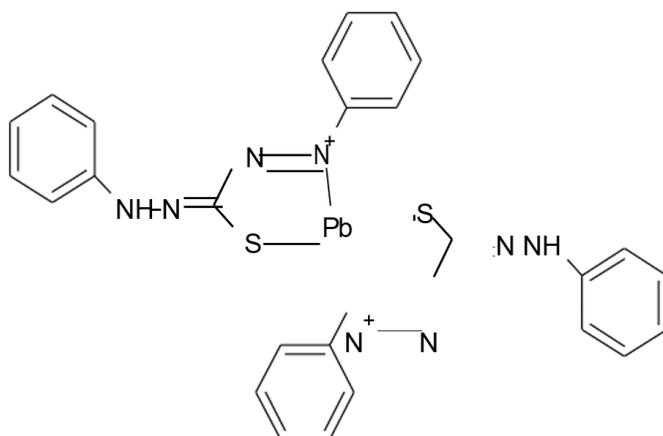


Figura 1. Complejo Pb-Ditizona.

EXPERIMENTACIÓN

Procedimiento General

Reactivo Ditizona/Tritón X-100.- ditizona 1.5×10^{-3} mol/L, tritón X-100 0.155 mol/L, etanol 1.6%, HCl 0.1 mol/L filtrado y aforado a 25 ml con agua desionizada.

Estándar de 100 mg/L de Pb se elaboró utilizando $\text{Pb}(\text{CH}_2\text{COOH})_2$. Disolución reguladora H_3BO_3 0.3 mol/L más NaOH 0.09 mol/L pH=8.7 Orden de reactivos

En la tabla 1 se presentan las mezclas que se estudiaron y se obtuvo el espectro de cada disolución.

Tabla 1. Orden de reactivos estudiados

Estándar de 10 mg/L Pb	Disolución Reguladora	Ditizona/tritón X
Disolución Reguladora	Ditizona/tritón X	Estándar de 10 mg/L Pb
Ditizona/tritón X	Estándar de 10 mg/L Pb	Disolución Reguladora

Señal analítica

Se realizaron espectros de la disolución con la mezcla que presentó el color rosa característico del complejo Pb-ditizona en un barrido de 200 a 800 nm, en un espectrofotómetro Cary 50 Bio UV-Vis de Varian.

Intervalo de trabajo de plomo

Se realizó una serie de once estándares en un intervalo de 1 a 25 mg/L de Pb

Curva de calibrado de Pb

Se realizó una serie de cinco estándares en un intervalo de 5 a 10 mg/L y se utilizó una $\lambda=513$ nm

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 2 se presentan los resultados obtenidos para conocer el orden de los reactivos.

Tabla 2. Orden de reactivos estudiados y su respuesta

Mezcla	1°	2°	3°	Color observado
1	Estándar de 10 mg/L Pb	Disolución Reguladora	Ditizona/tritón X	Color naranja
2	Disolución Reguladora	Ditizona/tritón X	Estándar de 10 mg/L Pb	Color naranja
3	Ditizona/tritón X	Estándar de 10 mg/L Pb	Disolución Reguladora	Color rosa

En la figura 2 se presentan los espectros obtenidos de cada mezcla y se puede observar que al utilizar la tercera mezcla se presenta el color característico del complejo Pb-ditizona, a partir de este punto se utilizó el orden de reactivos de acuerdo a la mezcla 3.

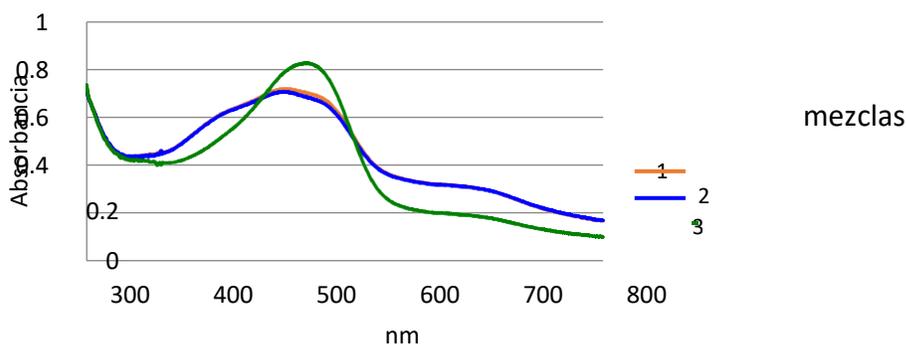


Figura 2. Espectros obtenidos de las mezclas según el orden de los reactivos.

La longitud de onda que se seleccionó para este trabajo fue de 513 nm, en la figura 3 se observa la señal analítica del complejo Pb-ditizona.

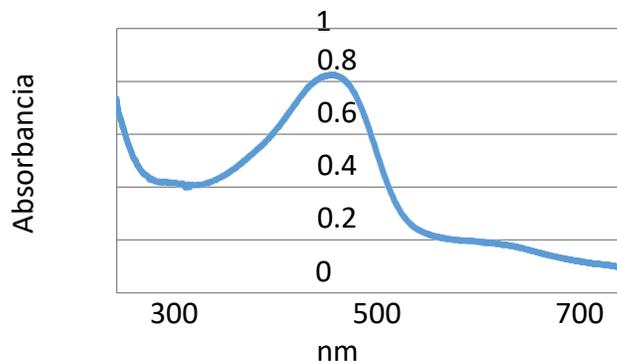


Figura 3. Espectro de complejo Pb-ditizona

Al estudiar el intervalo de trabajo se observó un color naranja en las primeras tres disoluciones y a partir de la cuarta disolución se observa el color rosa característico del complejo Pb-Ditizona por lo que se decidió utilizar un intervalo de trabajo de 5 a 10 mg/L de Pb.

En la figura 4 se presenta la curva de calibrado de Pb-ditizona donde se presenta la ecuación de la recta que se utilizó para la cuantificación de Pb.

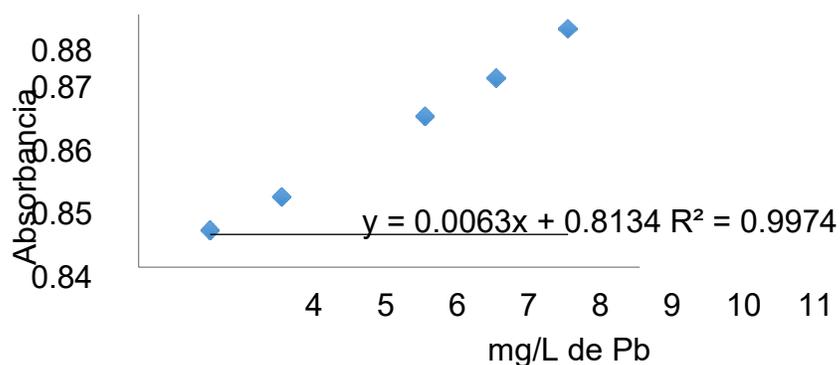


Figura 4. Curva de calibrado de Pb.

En la tabla 3 se presentan los resultados de 4 soluciones sintéticas con cinco repeticiones cada una.

CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos podemos concluir que la formación del complejo Pb- Ditzona en medio micelar nos permite la cuantificación de plomo a concentraciones menores de 10 mg/L.

Tabla 3. Concentraciones de plomo obtenidas de las disoluciones sintéticas analizadas

disolución n	mg de Pb/L
1	5.3496±0.2544
2	5.9962±0.0648
3	8.9820±0.2358
4	10.1017±0.172 4

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Concejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico brindado con la beca 621609 durante la realización de esta investigación.

REFERENCIAS

- [1] Periodic Table- Royal Society of Chemistry. Retrieved marzo 7, 2018, from <http://www.rsc.org/periodic-table/element/82/lead>. (2015).
- [2] S. Tong, Y. von Schirnding, T. Prapamontol. Environmental lead exposure: a public health problem of global dimensions. In Bulletin of the World Health Organization World Health Organization. **78**, 1068-1077 (2000).
- [3] P. Poma. Intoxicación por plomo en humano. An Fac med. **69**,120-126 (2008)
- [4] D. Bellinger. Teratogen update: lead and pregnancy. In Birth Defects Research Part A. **73**,409-420 (2005).
- [5] B. Zietz, J. Dassel, S. Kevekordes, H. Dunkerlberg. Lead contamination in tap water of households with children in Lower Saxony, Germany. Science of the Total Environment. **275**, 19-26 (2001).
- [6] H. Abadin, A. Ashizawa, YW. Stevens, F. Lladós, G. Diamond, G. Sage, M. Citra, A. Quinones, S. Bosch, S. Swarts. Toxicological Profile for Lead. Atlanta: Agency for Toxic Substances and Disease Registry (US) (2007).
- [7] G.O. Fernández, Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, "Salud Ambiental, Afua para Uso y Consumo Humano-Límites Permisibles de Calidad y Tratamientos a que Debe Someterse el Agua para su Potabilización. Ciudad de México (2000).
- [8] A. Soto, M. Rodriguez, C. Soto, L. Vicente. Complementary experimental-simulation study of surfactant micellar phase in the extraction process of metallic ions: Effects of temperature and salt concentration. Chemical Physics, **501**,15–25 (2018).
- [9] H. Liebhafsky, E. Winslow. Diphenylthiocarbazone (Dithizone) as an Analytical Reagent. Journal of Chemical Education, **59**,1966-1971 (1937).
- [10] G. B. Application of Selective Reagents in quantitative chemical Analysis. Organic Reagents in Metal Analysis: International Series of Monographs in Analytical Chemistry, **54**, 67-138 (1973).
- [11] A. Kar . Determination of Lead (I) by the Dithizone Method. In Pharmaceutical Drug Analysis. India (2005).

DESARROLLO DE UN SISTEMA DE SEPARACIÓN Y ANÁLISIS DE IONES METÁLICOS POR COMPLEJOMETRÍA EN ELECTROFORESIS CAPILAR

Lorena Camargo Medrano
Israel Samuel Ibarra Ortega*
José Antonio Rodríguez Ávila
María Elena Páez Hernández
Eva María Santos López¹

INTRODUCCIÓN

La contaminación del aire representa un importante riesgo medioambiental y de salud pública. De acuerdo con el Programa de Gestión para Mejorar la Calidad del Aire del Estado de Hidalgo (PROAIRE 2016-2024), la contaminación del aire provoca 7 millones de defunciones prematuras a nivel mundial; convirtiéndose en uno de los mayores riesgos sanitarios. La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera que el 80% de las defunciones prematuras relacionadas con la contaminación del aire se deben a cardiopatía isquémica y accidente cardiovascular, mientras que un 14% se deben a neumopatía obstructiva crónica o infección aguda de las vías respiratorias inferiores, y un 6% a cáncer de pulmón. Tan sólo, durante el año 2013, en Hidalgo ocurrieron 13,159 defunciones, de las cuales el 26% han sido causadas por padecimientos que pudieran relacionarse a contaminantes atmosféricos.

Dentro de los contaminantes de aire más relevantes se encuentran las partículas pequeñas que derivan del uso de combustibles fósiles, actividades de minería, erosión, entre otras actividades antropogénicas. La exposición a partículas de diámetro menor a 10 micrones (PM₁₀) presentes en el aire contaminado está estrechamente vinculado a la creciente incidencia de cáncer, especialmente de pulmón y puede provocar cardiopatías y neumopatías. Se estima que la exposición a partículas de origen antropogénico reduce la esperanza media de vida en 8.6 meses [1].

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química, Laboratorio de Química Analítica. Carr. Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, C.P. 42076, Pachuca, Hidalgo. Tel +52 (771) 7172000 ext. 2217, *e-mail: israel_ibarra@uaeh.edu.mx

Algunas de las partículas de mayor riesgo en la salud humana, son aquellas relacionadas con los metales pesados como cadmio (Cd), cromo (Cr), mercurio (Hg), plomo (Pb) o arsénico (As) que son tóxicos aún en concentraciones bajas. Las formas más comunes de exposición a este tipo de compuestos son a través de la ingesta, emisiones vehiculares, inhalación de partículas contaminadas y exposición ambiental. Estos elementos son conocidos por tener la capacidad de bioacumularse a través de la cadena trófica pudiendo persistir en la misma y en ciertos órganos humanos [2].

Debido a las repercusiones que pueden provocar los metales pesados en la salud humana, es que se han desarrollado diferentes técnicas para el análisis de los mismos en diferentes matrices biológicas, como orina, sangre, saliva y diversas muestras de tejido. Sin embargo, las muestras de cabello se han considerado recientemente como una muestra alternativa para estos análisis y monitoreos, ya que se trata de una muestra poco invasiva de fácil recolección, transporte y almacenamiento; y que, además no se degrada tan rápidamente como otras muestras biológicas [2].

Por otro lado, los métodos analíticos más utilizados para la determinación y cuantificación de metales pesados son la espectrometría de adsorción atómica (EAA) [3], espectrometría de emisión atómica (EEA) [2,4], cromatografía de gases acoplado a

espectrometría de masas (GC-MS) y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) [6,7]. Así mismo, se han desarrollado metodologías para la determinación de metales pesados mediante electroforesis capilar (CE) [8]. La CE es altamente utilizada por su alta eficiencia en los sistemas de separación, resolución en los análisis, automatización, tratamientos sencillos, y adicionalmente por ser una técnica económica y ambientalmente amigable.

El presente trabajo se centra en la evaluación y optimización de las condiciones de separación y detección mediante electroforesis capilar, de metales como Cr^{3+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} y Cd^{2+} , por complejometría con ácido etilendiamintetraacético (EDTA), así como la obtención de los parámetros analíticos correspondientes para su posible uso en el análisis de muestras biológicas como el cabello.

EXPERIMENTACIÓN

Reactivos y disoluciones

Todas las disoluciones fueron preparadas disolviendo el respectivo reactivo grado analítico en agua desionizada con una resistividad específica menor de $18.0 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$. Las distintas soluciones estándar fueron preparadas mediante dilución de disoluciones madre de la sal correspondiente a cada metal $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, CuSO_4 , $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$, CdCl_2 a una concentración $\sim 200 \text{ mg L}^{-1}$ (reactivos de Sigma Aldrich). Como agente complejante se utilizó una disolución estándar de EDTA a concentración 100 mmol L^{-1} . Dichas disoluciones se almacenaron a 4°C y se renovaron cada quince días.

Como electrolito soporte se utilizó una disolución de tetraborato de sodio 20 mmol L^{-1} y ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 2 mmol L^{-1} , ajustada a pH 9. Como estándar interno se utilizó ácido pícrico con una concentración de 20 mg L^{-1} .

Procedimiento de análisis en electroforesis

Al inicio de cada día de trabajo el capilar se activa con $\text{NaOH } 1.0 \text{ mol L}^{-1}$ durante 15 min, seguido por $\text{NaOH } 0.1 \text{ mol L}^{-1}$ durante 10 min, agua desionizada por 10 min y finalmente la disolución de electrolito soporte por 10 min. El capilar se lava entre cada análisis mediante la siguiente metodología: $\text{NaOH } 1.0 \text{ mol L}^{-1}$ por 4 min, $\text{NaOH } 0.1 \text{ mol L}^{-1}$ por 2 min, agua desionizada por 2 min y electrolito soporte por 2 min. Todos los lavados se realizan a una presión de 20 Psi.

Los análisis se realizaron en un equipo Beckman Coulter P/ACE 5500, con detector de arreglo de diodos. Los datos obtenidos fueron adquiridos y analizados mediante el software P/ACE MDQ versión 2.3. Las condiciones de separación fueron: capilar de sílice fundida (41.7 cm x $75 \mu\text{m}$ D.I), longitud de onda (λ) de 200 nm, modo de inyección hidrodinámico a 0.5 Psi por 5 s, capilar a temperatura de 25°C , voltaje de separación 16 kV, y polaridad de separación normal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Optimización del sistema electroforético

- Uso de un agente complejante

Aunque CE es un método analítico que permite el análisis y la separación de especies iónicas, mediante las diferentes de movilidades electroforéticas de cada especie de acuerdo a su relación

masa/carga aplicando un voltaje en un medio electrolítico, en ocasiones es complicada la separación de especies catiónicas. Debido a la alta movilidad

[1] (Pb) en el aire ambiente como medida de protección a la salud de la población (1993)

que presentan los cationes dentro del electrolito soporte y que al aplicar el voltaje de separación (polaridad normal) se propicia que estas especies viajen con gran velocidad dentro del capilar hacia el cátodo del sistema electroforético causando ser expulsadas, por lo que es casi imposible su identificación y por ende determinación.

Dado que los analitos de interés son especies catiónicas, se debe de utilizar una técnica que permita su análisis mediante CE. Dentro de la bibliografía existen diferentes técnicas que permiten el estudio de especies catiónicas, dentro de las cuales se encuentran la complejación precapilar y dentro del capilar [8]. El presente en una primera etapa se realizó la complejación de los analitos bajo el esquema de (complejación precapilar), para ello se adicionó EDTA necesaria para la complejación de los iones metálicos de interés, adicionalmente para garantizar la completa complejación de los analitos durante su separación electroforética se adiciono una pequeña concentración de EDTA (2 mmol L^{-1}) en la composición de la solución electrolito. [8].

- Efecto del pH en el sistema de separación

Conforme el presente trabajo es necesario que los analitos se encuentren en forma iónica complejada para poder llevar a cabo su separación en forma aniónica. En este sentido, al fijar un pH de trabajo mediante el uso de electrolitos soporte, se asegura que los analitos de interés posean dicha carga y exista movilidad en el sistema.

Con base en lo anterior, se llevó a cabo la evaluación del efecto del pH en la solución del electrolito en un intervalo de 6.0 a 12.0, partiendo de las sales correspondientes para cada ajuste de pH; fosfatos (pH 6 y 12) y boratos (pH 8, 9 y 10). De acuerdo a los electroferogramas obtenidos en la evaluación del pH en la solución electrolito se observó que a valores de pH entre 10 y 12 no se tiene una separación adecuada, mientras que a valores de pH de 8 la separación analítica se ve afectada, sin embargo, se obtuvo que la mejor resolución y separación de los analitos de interés se lleva a cabo a pH 9, en dónde la formación de hidroxocomplejos no es posible debido a la baja concentración de los metales y a el exceso de EDTA, lo que se pudo corroborar con la creación de los correspondientes diagramas de zonas de predominio con el software MEDUSA.

- Voltaje aplicado para la separación

Una vez establecido el pH de separación se realizó la evaluación del voltaje aplicado en la separación. Para ello, se preparó una solución de metales complejados a 10 mg L^{-1} para su análisis por electroforesis capilar. Para ello se evaluó la aplicación de un voltaje en la separación de 12, 14, 16, y 18 kV. Con base a los resultados obtenidos se deduce que, a mayor voltaje se disminuye el tiempo de separación de los analitos, por lo que se selecciona un voltaje óptimo en la separación de 16 kV, proporcionando una ventaja adicional en el número de análisis en menores periodos de tiempo y minimizando el consumo de solventes sin afectar la resolución de las señales analíticas, ya que, a voltajes mayores, se ve afectada la resolución de las señales analíticas.

- Optimización de la concentración de agente complejante

Para optimizar la concentración de complejación se evaluó la concentración de EDTA en un intervalo de 10 a 30 mmol L^{-1} . Conforme los electroferogramas, desde 10 mmol L^{-1} los analitos se encuentran en su estado complejo, observando una señal analítica correspondiente al EDTA sin reaccionar, esto se corroboró al incrementar la concentración del agente complejante, observando un incremento en la señal analítica del EDTA en el electroferograma obtenido, sin alterar las señales correspondientes a los metales complejados, tal y como se puede observar en la Figura 1.

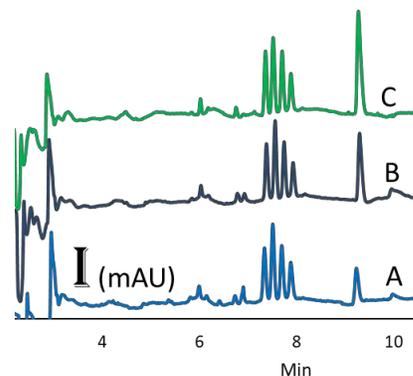


Figura 1. Electroferogramas correspondientes a la evaluación de la concentración de agente complejante. A) EDTA 10 mmol L^{-1} , B) EDTA 20 mmol L^{-1} , C) EDTA 30 mmol L^{-1} . Analizado a 16 kV y 200 nm

- Evaluación de la composición del electrolito soporte

De acuerdo con los estudios de pH correspondientes en el sistema de separación, se seleccionó el uso de tetraborato de sodio ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) en el electrolito soporte, adicionando EDTA (2 mmol L^{-1}). Para optimizar la resolución en las señales obtenidas se evaluó la concentración de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ que permitía la mejor separación. Para ello se prepararon soluciones del electrolito con concentración de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ de $15\text{-}25 \text{ mmol L}^{-1}$. De acuerdo a los electroferogramas obtenidos (Figura 2), se observa que al disminuir la concentración de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ las señales correspondientes a los analitos de interés se solapan, esto puede explicarse debido a que la viscosidad del medio electrolítico disminuye y permite que los analitos tengan una movilidad parecida. Es por ello que se decide trabajar con 20 mmol L^{-1} como la concentración óptima de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ dentro del electrolito soporte, ya que se obtiene una buena resolución entre las señales de interés y, a que a concentraciones mayores el tiempo de análisis se incrementa.

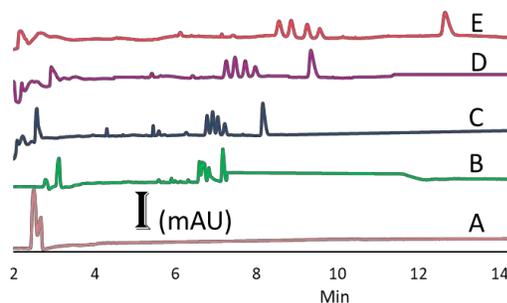


Figura 2. Evaluación de la composición del electrolito soporte. Buffer 2 mmol L^{-1} EDTA, $\text{pH}=9$ con $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$: A) 5 mmol L^{-1} , B) 10 mmol L^{-1} , C) 15 mmol L^{-1} , D) 20 mmol L^{-1} , E) 25 mmol L^{-1} . Analizado a 16 kV y 200 nm , $[10 \text{ mg L}^{-1}]$ de cada metal complejados con [EDTA] 30 mmol L^{-1} .

- Identificación y obtención de parámetros analíticos

Para la identificación de las señales analíticas obtenidas (Figura 3), se analizó mediante las condiciones óptimas una muestra de concentración conocida de los analitos de interés y se agregó un volumen determinado de cada analito por separado, con el fin de observar un incremento en la señal correspondiente.

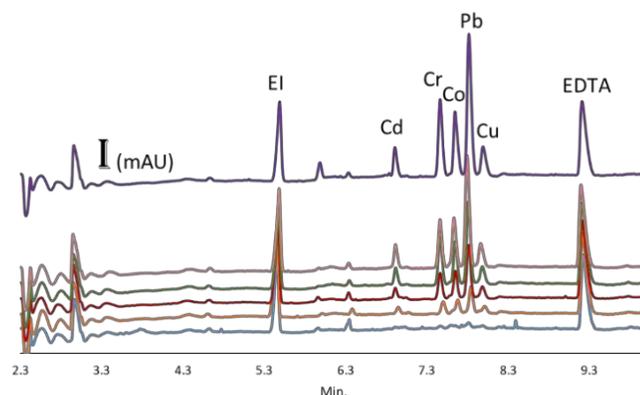


Figura 3. Electroferograma correspondiente a la identificación de los analitos y curva de calibrado de 1-30 mg L⁻¹ de metales (Cd, Cr, Co, Pb y Cu), complejados con EDTA 40 mmol L⁻¹ y 20 mg L⁻¹ de ácido pícrico (EI). Analizado a 16 kV y 200 nm.

Conforme las condiciones óptimas se construyó una curva de calibrado (Figura 3) en un intervalo de 1-30 mg L⁻¹, utilizando como estándar interno (EI) el ácido pícrico en una concentración de 20 mg L⁻¹. Los resultados obtenidos de la regresión se muestran en la Tabla 1, donde se observa que todos los metales presentan buen coeficiente de determinación ≥ 0.990 , logrando alcanzar límites de detección que van desde 2.787 mg L⁻¹ hasta 3.667 mg L⁻¹.

De acuerdo a los resultados obtenidos se plantean como perspectivas del trabajo disminuir aún más los límites de detección y cuantificación (LOD y LOQ, respectivamente), para la aplicación del método desarrollado en el análisis de muestras de cabello o de interés ambiental en donde la contaminación por metales pesados oscila en el rango de $\mu\text{g g}^{-1}$ [2] y $\mu\text{g L}^{-1}$ [9]. Para ello se plantea el uso de una técnica de extracción en fase sólida (SPE) que sea lo suficientemente eficaz y selectiva.

Tabla 1. Parámetros de regresión de la curva de calibrado (mUA) contra la concentración de metales

Metal/parámetro analítico	Cd ²⁺	Cr ³⁺	Co ²⁺	Pb ²⁺	Cu ²⁺
Pendiente	0.185±0.010	0.617±0.029	0.501±0.022	1.153±0.065	0.249±0.012
Ordenada	0.044±0.009	-0.020±0.025	0.075±0.020	0.096±0.059	0.053±0.011
r ²	0.991	0.993	0.994	0.991	0.993
LOD (mg L ⁻¹)	3.522	3.667	2.787	3.579	3.133
LOQ (mg L ⁻¹)	10.565	11.000	8.361	10.737	9.400

CONCLUSIONES

Conforme a las condiciones óptimas de separación y análisis de los metales de interés mediante electroforesis capilar utilizando como técnica de identificación complejometría a partir de EDTA, se concluye que el método provee rapidez, una buena linealidad y bajos límites de detección que van desde del 2.787 mg L⁻¹ hasta 3.667 mg L⁻¹, lo cual se resume por ende en bajos límites de cuantificación.

Se plantea como perspectivas el uso de un método de extracción en fase sólida con la finalidad de aumentar aún más la sensibilidad de la metodología propuesta y ser así aplicable para las muestras de interés.

AGRADECIMIENTOS

L.C.M. agradece a CONACyT por el apoyo para realizar sus estudios de posgrado. Al financiamiento PRODEP-PTC “Síntesis y aplicación de polímeros molecularmente impresos acoplados a sistemas de separación instrumentales en el análisis de residuos de iones metálicos y pesticidas en muestras de interés ambiental y alimenticio”

REFERENCIAS

- [2] Programa de Gestión para Mejorar la Calidad del Aire del Estado de Hidalgo. PROAIRE 2016-2024.
- [3] H. Kumakli, A. V. Duncan, K. McDaniel, T. S. Mehari, J. Stephenson, L. Maple, Z. Crawford, C. L. Macemore, C. M. Babyak, S. O. Fakayode. Environmental biomonitoring of essential and toxic elements in human scalp hair using accelerated microwave-assisted sample digestion and inductively coupled plasma optical emission spectroscopy. *J. Chemosphere*. **174**, 708-715, (2017).
- [4] L. Wang, Y. Zhang, X. Zhou, F. Qin, Z. Zhang. Optical sulfur dioxide sensor based on broadband adsorption spectroscopy in the wavelength range of 198-222 nm. *J. SNB*. **241**, 146-150, (2017).
- [5] I-M. Chung, J-K. Kim, J-K. Lee, S-H. Kim. Discrimination of geographical origin of rice (*Oryza sativa* L.) by multielement analysis using inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy and multivariate analysis. *J. JCS*. **65**, 252-259, (2017).
- [6] J. L. Nasa, F. Modugno, M. Aloisi, A. Lliveras-Tenorio, I. Bonaduce. Development of a GC-MS method for the qualitative and quantitative analysis of mixtures of free fatty acids and metal soaps in paint samples. *J. ACA*. **1001**, 51-58, (2018).
- [7] R. Pechancova, T. Pluháček, J. Gallo, D. Milde, Study of Chromium Species Release from Metal Implants in Blood and Joint Effusion: Utilization of HPLC-ICP-MS. *Talanta*, **185**, 370-377, (2018).
- [8] I. Boukhobza, D. C. Crans. Application of HPLC to measure vanadium in environmental,

biological and clinical matrices. J. ARA BJC. article in press (2017), <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.10.003>.

- [9] J. Sáiz, I. J. Koenka, T. D. Mai, P. C Hauser, C. García-Ruiz. Simultaneous separation of cations and anions in capillary electrophoresis. J. TRAC. **62**, 162-172, (2014).
- [10] NORMA Oficial Mexicana NOM-026-SSA1-1993, Salud ambiental. Criterio para evaluar la calidad del aire ambiente con respecto al plomo (Pb). Valor normado para la concentración de plomo

DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE Fe^{2+} , Fe^{3+} y Fe TOTAL EN LIXIVIADOS MINEROS MEDIANTE ESPECTROSCOPÍA VISIBLE

Olivia Zamora Martínez^{1,2}
Mariana Velázquez Castro^{1,2}

INTRODUCCIÓN

Actualmente la minería a cielo abierto es una de las más factibles y comúnmente utilizadas. Esta actividad provoca que los minerales sulfurosos queden expuestos a la presencia de agua y oxígeno, llevándose a cabo procesos de oxidación que generan disoluciones ácidas que contienen altos contenidos de sulfatos, metales y metaloides [1]. Lo anteriormente mencionado se conoce como drenaje ácido de mina (DAM), esta problemática se relaciona con los procesos de oxidación de la pirita y otros minerales sulfurados, reacciones de neutralización e hidrólisis donde se generan especies secundarias, consideradas poco solubles como lo son los hidróxidos. El drenaje ácido representa un riesgo para el ambiente ya que afecta aguas superficiales, aguas subterráneas, suelos, sedimentos, flora y fauna [2]. Dentro de las especies generadas durante el DAM se encuentra el hierro, el cual no es considerado un contaminante como tal, sin embargo, la presencia de especies de Fe cataliza la generación del DAM con la subsecuente lixiviación de elementos potencialmente tóxicos (EPT's) como el plomo, arsénico y cadmio, entre otros. La relación hierro ferroso/hierro férrico presente en residuos provenientes de minerales sulfurados, es un factor determinante para la generación del DAM, ya que el Fe^{3+} oxida más rápido a la pirita en comparación con el oxígeno. Por lo tanto, la cantidad de Fe^{3+} producida controla la cantidad de pirita que será oxidada, dando como resultado que la conversión de Fe^{2+} a Fe^{3+} se vea acelerada

¹ Universidad Nacional Autónoma de México-Ciudad Universitaria. Instituto de Geología, Departamento de Edafología, Laboratorio de Cromatografía. C.P. 04510. Tel: +55 56224240 ext. 81853.

² Laboratorio Nacional de Geoquímica y Mineralogía. Paseo de la Coordinación Científica, Coyoacán, UNAM C.U., C.P. 04510. Tel: +55 56224240 ext. 81853, email: oliviazm@geologia.unam.mx.

y con ello inicie la oxidación de otros minerales sulfurados que liberan elementos potencialmente tóxicos (Figura 1) [3].

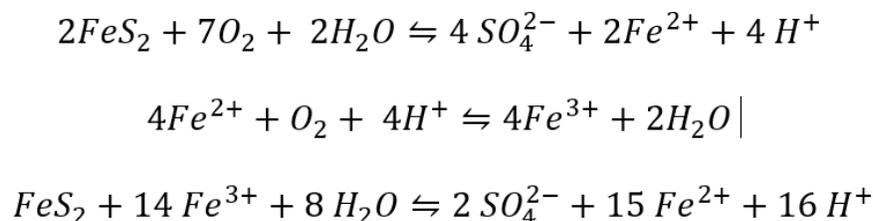


Figura 1. Formación del drenaje ácido de mina a partir de la piritita [4].

De acuerdo con lo anterior, el contenido de Fe presente en el DAM es un indicador de riesgo indirecto, por lo que su monitoreo es muy importante. Debido a esto, en el presente trabajo se optimizaron y adecuaron tres metodologías que permiten determinar el contenido de Fe total, Fe (II) y Fe (III) en lixiviados de mina.

EXPERIMENTACIÓN

Condiciones de trabajo

La determinación del contenido de Fe total, Fe^{2+} y Fe^{3+} se llevó a cabo mediante la formación de complejos coloridos que absorben en la región del visible. Para la cuantificación de Fe^{2+} se utilizó o-fenantrolina como complejante, para Fe^{3+} se utilizó tiocianato y para Fe total o-fenantrolina e hidroxilamina, todos ellos en medio ácido. Se prepararon disoluciones patrón para cada analito mediante la dilución de un estándar que contenía aproximadamente 1 000 mg/L en agua ultrapura.

Con la finalidad de encontrar los máximos de absorción de cada complejo, a una disolución que contenía el equivalente a 10 mg/L de hierro complejado, se le realizó un barrido de longitud de onda comprendido entre 400 y 750 nm. Las mediciones se realizaron con un espectrofotómetro UV-Visible, marca Thermo Scientific®, modelo Evolution 201. En la tabla 1, se resumen las condiciones de trabajo para la generación de los complejos de hierro.

Tabla 1. Condiciones de trabajo para la obtención de los complejos de hierro.

Analito	Reactivo	Concentración
Fe ²⁺	o-Fen	2.5 x 10 ⁻³ M
Fe total	NH ₂ OH	2 %
Fe ³⁺	SCN ⁻	0.45 M

Adecuación del método Intervalo lineal

Se determinó el intervalo en el que el analito presenta una respuesta lineal de la absorbancia en función de su concentración, mediante la elaboración de curvas de calibración preparadas por triplicado de manera independiente, considerando 9 niveles de concentración en el intervalo comprendido entre 0.01 mg/L y 20.0 mg/L.

Este parámetro se reporta en términos de la repetibilidad de 5 mediciones para tres niveles de concentración, bajo, medio y alto, y se presenta como el porcentaje del coeficiente de variación de acuerdo con la ecuación 1.

$$\% CV = \frac{S}{\bar{x}} * 100 \quad (1)$$

Este parámetro se reporta como el porcentaje de error asociado a la determinación de la concentración de los analitos de estudio, cuando disoluciones de concentración conocida de éstos son analizadas como muestras y mediante una curva de calibración, se verifica su concentración. Para ello se seleccionaron tres niveles de concentración (bajo, medio y alto), los cuales fueron preparados por quintuplicado de manera independiente.

$$\%error = \frac{Concentración_{calculada} - Concentración_{real}}{Concentración_{real}} * 100 \quad (2)$$

Límites detección y cuantificación

Se realizaron 7 mediciones de la absorbancia de disoluciones preparadas de manera independiente que contenían concentraciones muy bajas de cada analito (0.01 mg/L para Fe total, 0.02 mg/L para Fe²⁺ y 0.05 mg/L para Fe³⁺). El límite de detección se calculó de acuerdo a la ecuación 3 y el límite de cuantificación se calculó de acuerdo a la ecuación 4 [5].

$$LD = \bar{x} + 3s \quad (3)$$

$$LC = \bar{x} + 10s \quad (4)$$

Donde: s = desviación estándar de la absorbancia (uA)
 \bar{x} = promedio de las 7 repeticiones (uA)

Evaluación de interferencias

Se llevó a cabo la fortificación de un lixiviado de mina proveniente de minerales sulfurados. La evaluación de interferencias de matriz se presenta como la recuperación obtenida para cada analito en los tres niveles de concentración de trabajo y se calcula de acuerdo con la ecuación 5 [6].

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{(C_{\text{muestra fortificada}} - C_{\text{muestra}})}{C_{\text{adicionada}}} \times 100 \quad (5)$$

Donde: C muestra fortificada = concentración determinada en el lixiviado fortificado
 C muestra = concentración del lixiviado sin fortificar
 C adicionada = nivel de concentración utilizado para fortificar

Uso de técnica de análisis confirmatoria

Finalmente, a un conjunto de 57 muestras de lixiviados de mina procedentes de la zona norte de México, generados a partir del contacto del drenaje ácido de mina proveniente de jales mineros sulfurados y minerales alcalinos (eutita, filita y piedra caliza), los cuales fueron acidificados y conservados en refrigeración a 4 °C, se le determinó el contenido de Fe total por medio de dos metodologías analíticas, la propuesta en el presente trabajo y la espectrometría de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parámetros de desempeño

Las tres determinaciones presentan intervalos lineales con sensibilidades semejantes (los valores de pendiente de las tres curvas de calibración son muy parecidos entre sí). Los

resultados de la regresión lineal se presentan en la tabla 2, en donde se puede observar que los valores de los coeficientes de correlación obtenidos son ≥ 0.99 , criterio establecido para ser aceptado como un comportamiento lineal [6]. Los valores de precisión y de exactitud de las 3 determinaciones se presentan en la tabla 3. Con respecto a los valores de % DER para los tres niveles de concentración de trabajo y los tres analitos de estudio se encontró que todos ellos fueron $\leq 3\%$. Con respecto a la exactitud los porcentajes de error absoluto obtenidos $\leq 15\%$, por lo que es posible decir que se cuenta con metodologías precisas y exactas para la cuantificación de Fe total, Fe²⁺ y Fe³⁺ mediante espectrometría visible. Con base en los resultados obtenidos, se observa que las especies de hierro presentan valores de LD ≤ 0.12 mg/L, mientras que los valores de LC se encuentran muy cercanos al valor de concentración más bajo de su respectivo intervalo lineal de concentraciones.

Tabla 2. Análisis de regresión lineal para los tres analitos al 95 % de confianza para 10 niveles de concentración (n= 3).

Analito	Intervalo lineal (mg/L)	Ordenada al origen	Pendiente (L/mg)	Coefficiente de correlación (r)
Fe total	0.05 – 17.5	-0.0007 \pm 0.0213	0.1944 \pm 0.0025	0.9997
Fe ²⁺	0.05 – 17.5	0.0171 \pm 0.0209	0.2043 \pm 0.0023	0.9996
Fe ³⁺	0.15 – 17.5	-0.0133 \pm 0.0165	0.1846 \pm 0.0018	0.9997

Tabla 3. Evaluación de la exactitud y precisión de los tres analitos de estudio (n= 5).

Analito	Precisión		Exactitud	
	Concentración (mg/L)	DER (%)	Concentración (mg/L)	Error (%)
Fe total	0.5	1.7	1.0	4.2
	7.0	1.6	5.0	5.4
	17.5	1.2	15.0	0.4
Fe ²⁺	0.5	0.9	1.0	7.1
	7.0	2.9	5.0	2.5
	17.5	1.8	15.0	1.9

Fe ³⁺	0.4	1.6	0.6	3.4
	7.0	1.3	9.0	0.2
	13.0	0.1	16.0	0.3

Tabla 4. Valores de LD y LC determinados por medio de espectroscopía visible para cada analito (n= 7).

Analito	Concentración utilizada (mg/L)	LD (mg/L)	LC (mg/L)
Fe total	0.01	0.02	0.05
Fe ²⁺	0.02	0.04	0.05
Fe ³⁺	0.05	0.12	0.14

Evaluación de interferencias

Los resultados de la fortificación de la mezcla de los lixiviados de mina que se muestran en la tabla 5, permiten observar que las recuperaciones se encuentran dentro del intervalo comprendido entre el 85 y 115 %, tal como se establece que debe ocurrir de acuerdo con lo descrito por [7] para considerar que se cuenta con una metodología libre de interferencias.

Tabla 5. Evaluación de interferencias en pruebas de fortificación (n= 3).

Especie	Concentración adicionada (mg/L)	Recuperación (%)
Fe total	0.5	81.4
	50	90.4
	100	102.0
Fe ²⁺	0.5	90.9
	50	95.4
	100	101.2
	0.5	112.0

Fe ³⁺	50	107.0
	100	94.1

Intercomparación de metodologías

En la figura 2 se muestra el gráfico generado de la comparación de los valores de concentración de Fe total obtenidos con ICP-OES y espectroscopia visible. En la figura 2 se tiene un comportamiento lineal del contenido de Fe total determinado por medio de espectroscopia en función del contenido total de Fe cuantificado mediante la técnica de ICP-OES para las 57 muestras de lixiviados mineros. El valor del coeficiente de determinación (R^2) es de 0.9955, con un valor de pendiente muy cercano a la unidad el cual indica que los resultados obtenidos por ambas técnicas son iguales.

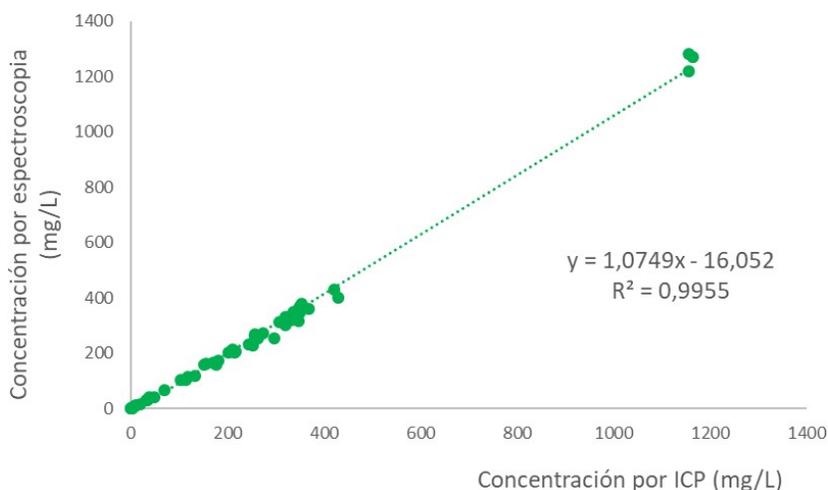


Figura 2. Comparación de los resultados obtenidos de Fe total por medio de ICP-OES y espectroscopia visible para las 57 muestras de lixiviados de mina.

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos se puede afirmar que es posible la determinación por espectroscopia visible, del contenido de Fe total, Fe (II) y Fe (III) en las muestras de lixiviados de mina de estudio.

Las metodologías optimizadas y adecuadas para este tipo de muestras presentaron intervalos de lineales de concentración entre 0.05 y 17.5 mg/L del analito, son precisas (% CV \leq 3%), exactas (% error \leq 7.1 %) y se encuentran libres de interferencias.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

REFERENCIAS

- [1] F.M. Romero, M.A. Armienta, G. González-Hernández. Solid phase control on the mobility of potentially toxic elements in an abandoned lead/zinc mine tailings impoundment, Taxco, Mexico. *Applied Geochemistry* 22, 109-127 (2007).
- [2] O. Morton Bermea, J.M. Gómez Bernal, M.A. Armienta, R. Lozano, E. Hernández Álvarez, F. Romero, J. Castro Larragoitia. Metal accumulation by plant species growing on a mine contaminated site in Mexico. *Environmental Earth Science*. 71 (12), 5207-5213 (2014).
- [3] B.G. Lottermoser. *Mine Wastes: Characterization, treatment and environmental impacts*. Springer 3th ed. Berlín Heidelberg, New York, USA (2007).
- [4] J. García Guinea y J. Martínez Frías. *Recursos minerales de España, textos universitarios*, Madrid España (1992).
- [5] J.N. Miller y J.C. Miller. *Estadística y quimiometría para química analítica*. 4° ed., Prentice Hall. Madrid, España, (2002).
- [6] Secretaria de Salud, CCAYAC. *Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos* (2011).
- [7] I. Taverniers, M. De Loose y E. Van Bockstaele. Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *Trends in Analytical Chemistry*. 23, 535-552 (2004).

ESTUDIO DE LA TOXICIDAD EN *CHLORELLA VULGARIS* DE Pb, Cd Y As PARA SU POSIBLE USO EN BIORREMEDIACIÓN

Mariana Angélica Valencia Pesqueda¹
Agueda Elena Ceniceros Gómez^{1*}
Margarita Eugenia Gutiérrez Ruíz¹
Norma Ruth López Santiago¹
Jaime Díaz Ortega²

INTRODUCCIÓN

Los residuos en los que se pueden clasificar los residuos domésticos e industriales contienen una amplia gama de contaminantes y, al ingresar a los cuerpos de agua, afectan en gran medida al ecosistema natural. Entre los contaminantes del agua comunes, los metales pesados son la mayor preocupación ambiental debido a su aparentemente alta toxicidad y persistencia. Además, estos metales tóxicos no son biodegradables y se acumulan fácilmente en los tejidos vivos, lo que provoca diversos trastornos biológicos en el ser humano. Las microalgas han despertado interés como bioindicadores, debido a su fácil disponibilidad y alta capacidad de absorción de estos metales pesados, principalmente por su capacidad de crecer en agua dulce, marina o incluso en aguas residuales. Además, las microalgas no requieren tierras fértiles para la producción y no compiten con los cultivos alimentarios [1].

Chorella vulgaris es una microalga esférica con un diámetro de 2-10 μm . Su crecimiento fotoautótrofo está limitado por el agotamiento de nutrientes (especialmente nitrógeno), atenuación de la luz, cambio en el pH, limitación de carbono y la acumulación de oxígeno fotosintético. Su rigidez preserva la integridad de la célula y es básicamente una protección contra los invasores y el medio ambiente extremo. Varía de acuerdo con cada fase de crecimiento

¹ Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. Laboratorio de Biogeoquímica Ambiental. Av. Universidad 3000, Ciudad Universitaria, C.P. 04510, Coyoacán, Ciudad de México. Tel: +52 (55) 56224336. e-mail: mavp_24@hotmail.com

² Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Geología. Laboratorio de paleosuelos. Av. Universidad 3000, Ciudad Universitaria, C.P. 04510, Coyoacán, Ciudad de México. Tel: +52 (55) 56224324 Ext. 153. e-mail: biotic08@gmail.com

[2]. Tiene un gran potencial para la biorremediación de diferentes calidades de aguas residuales, alto contenido de aceite, condición de cultivo mixotrófico, y tiene alta tasa de crecimiento en varias condiciones adversas como altos niveles de metales pesados [1].

El uso de organismos como las microalgas ha sido útil, en la evaluación del impacto ambiental provocado por exposición a metales pesados. Este estudio tiene como objetivo evaluar a *Chlorella vulgaris*, una microalga de agua dulce como bioindicador (especies que se utilizan como indicadores primarios de contaminación ambiental) de contaminación por Pb, Cd y As [3] y de ser posible como una propuesta de biorremediación para estos elementos.

Experimentación

C. vulgaris se sembró en medio Bristol líquido [4], se puso en incubación en períodos 12 h de luz y 12 h de oscuridad controladas. Posteriormente se fue monitoreando el crecimiento por medio de espectrometría UV-vis tomando 10 mL de muestras cada 4 días, con los resultados obtenidos se construyó una curva de crecimiento (Figura 1).

Para cada elemento se realizaron tres bioensayos, utilizando la microalga en fase exponencial. Una vez en esta fase, los medios de cultivos fueron adicionados con soluciones de Cd, Pb y As. Las concentraciones utilizadas en los bioensayos se muestran en la Tabla 1.

Los reactivos utilizados fueron $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ y $\text{NaH}_2\text{AsO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ con purezas mayores a 99.5%.

Tabla 1. Concentraciones (mg/L) utilizadas para los bioensayos en *Chlorella vulgaris*.

Elemento	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7
As	0	10	20	30	50	75	120
Pb	0	0.6	1.2	3.5	6	8	10
Cd	0	0.1	0.25	0.5	1	3	5

Posteriormente con el objetivo de 40X se cuantificaron por triplicado las microalgas, para cada concentración, por el método de Neubauer [7]. Para ello se tomaron 10 μL de muestra y se colocaron en la cámara cubriendo con un cubreobjetos.

Una vez obtenidos los resultados, se realizó un análisis estadístico PROBIT, para calcular la CL_{50} con un intervalo de confianza del 95%.

Adicionalmente, se realizó un análisis por ICP-OES en un equipo Agilent Technologies

5100, para determinar la bioabsorción de los elementos potencialmente tóxicos por *Chlorella vulgaris* a tiempos 0 y a las 96 h.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1, se muestra la curva de crecimiento de *Chlorella vulgaris* en medio Bristol, se observa un comportamiento esperado con las 5 fases de crecimiento [4]

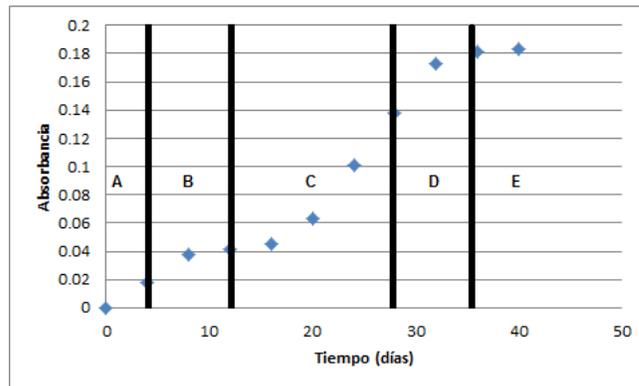


Figura 1. Curva de crecimiento de *Chlorella vulgaris* en medio Bristol. A) Fase Lag, B) Fase de aceleramiento, C) Fase exponencial, D) Fase de Desaceleración de crecimiento, E) Fase estacionaria.

Como se mencionó en la sección de metodología, se realizaron tres bioensayos para cada elemento potencialmente tóxico evaluado: Pb, Cd y As, adicionando estos metales en los medios de cultivo como se muestra en la tabla 1. Para ello las microalgas se utilizaron en fase exponencial para evitar la formación de flóculos, el tiempo de exposición total fue de 96 h, tomando una muestra para su posterior cuantificación por el método de Neubauer cada 24 h. Con los resultados obtenidos se realizó un análisis PROBIT para calcular la CL₅₀, para cada elemento, se obtuvo un valor para cada 24 h hasta llegar a las 96h.

Los resultados de CL₅₀ (Tabla 2) indican que para la microalga *Chlorella vulgaris* el orden de toxicidad de mayor a menor es Cd(II)>Pb(II)>As(V). De acuerdo con la bibliografía consultada las CL₅₀ son las que se esperaban siendo el Cd el elemento más tóxico para las microalgas, seguido por el Pb y por último el As. Tanto el Cd y Pb son cationes divalentes mientras que el As(V) es un anión, por lo que la interacción con el microorganismo de cationes y aniones es diferente [3,5,6].

Tabla 2. CL50 calculada con el programa STATGRAPHICS centurión por análisis PROBIT para Pb, Cd y As a 24, 48, 72 y 96 h

Metal	Concentración (mg/L)	Tiempo de exposición (h)			
		24	48	72	96
Plomo (II)		9.46421 ±0.53475	8.48934 ±0.49748	6.24012 ±0.35695	3.9028 ±0.2849
Cadmio (II)		8.06039 ±1.58198	7.16651 ±1.2657	3.58211 ±0.36163	0.89125 ±0.16666
Arsénico (V)		126.037 ±7.467	108.667 ±6.573	102.089 ±6.007	83.5166 ±3.6105

Con los resultados obtenidos a 96h y usando el programa estadístico STATGRAPHICS se calcula la CL₅₀, a 96 h, se eligió el tiempo máximo de exposición de los elementos potencialmente tóxicos en *Chlorella vulgaris*.

Después de observar los datos obtenidos por la cuantificación por cámara de Neubauer e ICP-OES se llegó a la conclusión de que el Cd es el elemento más tóxico para las microalgas, pero también que la capacidad de *Chlorella vulgaris* para bioabsorberlo es casi del 80% (Tabla 3), lo cual hace posible que este microorganismo pueda ser usado como bioindicador de contaminación y además, para biorremediación de diferentes matrices como son agua y suelo. En cambio, aunque la microalga es muy resistente a As (Tabla 2), no es capaz de bioabsorber este elemento.

Tabla 3. Resultados de bioabsorción de As (concentración inicial 120 mg/L), Cd (concentración inicial 5 mg/L y Pb (concentración inicial 10 mg/L) por ICP-OES.

Elemento/ conc.	%Absorción	Elemento/ conc.	%Absorción	Elemento/ conc.	%Absorción
Pb0	0	As0	0	Cd0	0
Pb1	4.167	As1	>1	Cd1	53
Pb2	5	As2	>1	Cd2	56.33
Pb3	6.875	As3	>1	Cd3	69
Pb4	7	As4	>1	Cd4	80
Pb5	8	As5	>1	Cd5	80
Pb6	12.75	As6	>1	Cd6	80

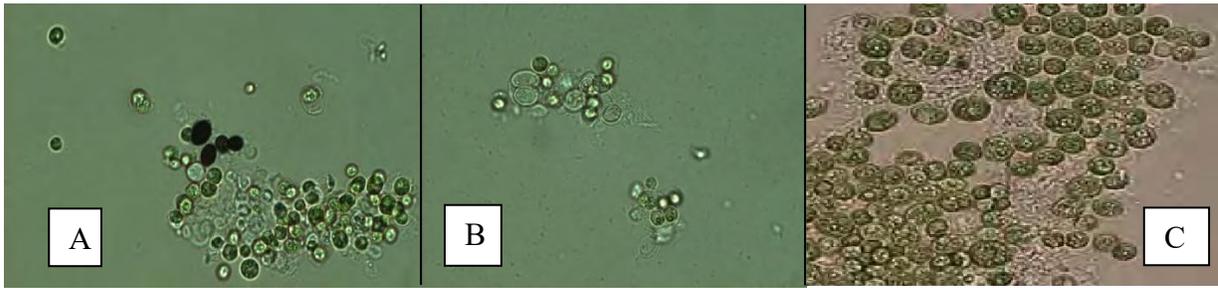


Figura 2. *Chlorella vulgaris* en microscopía óptica en 40X, A) 96 h de exposición con As a 100 mg/L, B) 96h después de la adición de Cd 5 mg/L, C) después de la adición de Pb 10 mg/L con tiempo de exposición de 96h.

En las observaciones al microscopio en un aumento de 40X, se concluye que en la interacción del As en una concentración de 100 mg/L con la microalga se observan precipitados negros dentro de la célula, lo cual indica que el As es capaz de entrar en la membrana celular, se puede observar también la pérdida de pigmento del microorganismo (Figura 2A). Las microalgas fueron expuestas en la máxima concentración de As (120 ppm).

La Figura 2B muestra la letalidad después de 96 h de la adición de Cd (5 mg/L), se observan células sin pigmento y lisadas, siendo éste el elemento más tóxico para ellas. En los resultados con Pb en una concentración de 10 mg/L se observa que existen células vivas y muertas; además de tener un diámetro mayor (Figura 2C).



Figura 3. *Chlorella vulgaris* adicionada con Cd después de 96 h de exposición.

La Figura 3 nos muestra cómo se pierde gradualmente el pigmento de las microalgas de forma macroscópica, después de estar expuestas durante 96 h a 5 mg/L de Cd, el cual se observa es el más letal para *Chlorella vulgaris*.

CONCLUSIONES

Se calcularon las CL₅₀ de Cd, Pb y As a 24, 48, 72 y 96 h de exposición a diferentes concentraciones de estos elementos por medio de un análisis estadístico PROBIT. Los resultados de CL₅₀ a 96 h para los elementos son: para Cd 1.53724 mg/L; para Pb 2.29357 mg/L y el menos tóxico As(V) con 40.7404 mg/L.

El orden de toxicidad de los elementos es Cd(II)>Pb(II)>As(V), determinado a partir de la CL₅₀.

Los resultados de ICP-OES indican que la *Chlorella vulgaris* tiene capacidad de absorción hasta del 80% de cadmio, en la biosorción de plomo se obtuvo hasta un 12.75%, la bioadsorción de As es menor al 1.

La microalga *Chlorella vulgaris* mostró ser un bioindicador de contaminación de Cd y Pb y se podría utilizar para la remediación de aguas y suelos contaminados con esos elementos, siendo más efectivo para Cd.

AGRADECIMIENTOS

Al Laboratorio de Bioquímica Ambiental, Facultad de Química, UNAM en especial a la Q. Leiny López Hernández por su paciencia y enseñanzas para el desarrollo de este proyecto.

REFERENCIAS

- [1] H. Znad, A. M. DAI Ketife, S. Judd, F. AlMomani, B. Vuthaluraa. Bioremediation and nutrient removal from wastewater by *Chlorella vulgaris*. **110**, 1-7 (2018).
- [2] C. Safi, B. Zebib, O. Merah, P. Pontalier, C. Vaca-García. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. **35**, 265-78 (2014)
- [3] P.J. Sanches-Filho, J. Schwartz-Caldas, N. Nunes da Rosa, F. O. Peres-Pereira. Toxicity test and Cd, Cr, Pb and Zn bioaccumulation in *Phallocceros caudimaculatus*. **4**, 206- 211 (2017).
- [4] L. López. Estudio de la biodegradación por *Chlorella vulgaris* de aminas alifáticas usadas como agentes de flotación. (2016).
- [5] C. Vellinger, M. Parant, P. Rousselle, F. Immel, P. Wagner, P. Usseglio-Polatera. Comparison of arsenate and cadmium toxicity in a freshwater amphipod (*Gammarus pulex*). **160**, 66-73 (2012).
- [6] Y. Romero, C. Lodeiros, M. Esclapés, N. Marín, M. Guevara, y E. Morales. Efecto tóxico del cadmio sobre microalgas aisladas al nororiente de Venezuela. **27** [3] 104-109 (2002).
- [7] B. Arredondo, D. Voltolina. Concentración, recuento celular y tasa de crecimiento. Métodos y Herramientas Analíticas en la Evaluación de la Biomasa Microalgal. Cap.2 (2007).

CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DE ACEITE DE SOYA GASTADO PARA SU USO EN LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL

Isaí Vázquez Garrido¹
Gilles Berhault²
Alfredo Guevara Lara¹
José Antonio Rodríguez Ávila¹
Antonio Rafael Tapia Benavides¹

INTRODUCCIÓN

El biodiesel generalmente se obtiene por transesterificación de los triglicéridos presentes en los aceites vegetales con metanol y un catalizador homogéneo (principalmente KOH) para formar biodiesel, glicerol y alcohol. Las materias primas utilizadas principalmente para la fabricación de biodiesel son aceites vegetales refinados de maíz, colza, soya, girasol o palma. No obstante, el uso de aceites comestibles vegetales refinados está limitado, ya que principalmente su fabricación está destinada para el consumo humano. Para solucionar este problema, se ha estudiado el uso de los aceites residuales de la industria alimentaria. Sin embargo, los aceites residuales de la industria alimentaria difícilmente pueden procesarse por transesterificación [1-3]. La causa de que los aceites gastados no puedan ser transformados fácilmente en biodiesel puede estar relacionada con los cambios físicos y químicos que se llevan a cabo durante la cocción o fritura de los alimentos [4]. Durante la fritura los ácidos grasos presentes en el aceite pueden ser oxidados por un proceso denominado rancidez oxidativa. En este proceso, un hidrógeno unido a un carbono sp^2 de los ácidos grasos insaturados, es extraído para formar un radical libre. El radical libre desencadena una serie de reacciones autocatalíticas, que generan

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química. Carr. Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Col. Carboneras, Mineral de la Reforma, México. C.P. 42184. Tel: +52 (771) 717 2000. Ext. 2202. e-mail: isaivazquezqa@gmail.com.

²Institut de Recherches sur la Catalyse et l'Environnement de Lyon. 2 av. Albert Einstein, Villeurbanne, Francia. C.P. 69100.

principalmente peróxidos. Posteriormente, ocurren otras reacciones, que dan lugar a productos volátiles como aldehídos y cetonas [4]. Estos compuestos podrían estar relacionados con la baja eficiencia de la transesterificación de aceites gastados de la industria alimentaria. Por tal motivo, en este trabajo se determinaron las propiedades fisicoquímicas de los aceites de soya para observar las diferencias entre el aceite nuevo y el gastado, y conocer las causas probables por las cuales no ocurre la transesterificación con el aceite gastado.

EXPERIMENTACIÓN

La densidad, la humedad y materia volátil, el índice de peróxido, el valor ácido y el perfil de ácidos grasos se determinaron por triplicado para conocer las propiedades fisicoquímicas de los aceites nuevos y gastados.

Densidad

La densidad de los aceites se midió a 25°C por el método del picnómetro, de acuerdo a la norma NMX-F-075-1987 [5]. El picnómetro con un volumen de 25 cm³ se llenó con la muestra de aceite evitando la formación de burbujas y se enrazó la rama del capilar. La densidad se determinó con la ecuación 1:

$$densidad = \frac{m_1 - m_2}{V} \quad (1)$$

Donde m_1 es la masa del picnómetro enrazado con aceite, m_2 es la masa del picnómetro vacío y V es el volumen del picnómetro.

Humedad y materia volátil

La medición de la humedad y materia volátil se realizó de acuerdo a la metodología establecida por la norma NMX-F-211-1987 [6]. En un vaso de precipitado se pesaron 20 g de una muestra de aceite y se calentó a una temperatura de 120 °C hasta la desaparición de vapor y de burbujas en la muestra. Finalmente, se enfrió la muestra a temperatura ambiente y se pesó para determinar la humedad y materia volátil de acuerdo a la ecuación 2:

$$\%HMV = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100 \quad (2)$$

Donde m_1 es la masa de la muestra y m_2 es la masa de la muestra sin humedad y materia volátil.

Índice de peróxido

5.0 g de aceite se añadieron en un matraz Erlenmeyer con 10 mL de diclorometano y 15 mL de ácido acético glacial para determinar el índice de peróxidos. Posteriormente, se adicionó 1 mL de KI 1 mol/L y se dejó reposar 1 minuto. Se colocó la muestra en un recipiente con agua hirviendo durante 1 minuto más. Después, se agregaron 10 mL de agua hirviendo y se realizó la valoración con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.0097 mol/L (previamente estandarizado con KIO_3 0.0017 mol/L) con una solución de almidón como indicador. El índice de peróxido se expresó en miliequivalentes por kilogramo de muestra (meq kg^{-1}) de acuerdo a la ecuación 3:

$$\text{Índice de peróxidos} = \frac{1}{2} \times \frac{(V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} - V_0) C}{m_{\text{aceite}}} \quad (3)$$

donde $V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}$ es el volumen gastado de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, V_0 es el volumen del blanco, C es la concentración en mol/L del $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ y m_{aceite} es la masa del aceite en kilogramos.

Valor ácido y porcentaje de ácido oleico

Una solución de etanol al 95% v/v se neutralizó previamente con una solución de KOH 0.1 mol/L. Después, se añadieron 5 gramos de aceite en un matraz y se adicionaron 20 mL de la solución de etanol y dos gotas de fenolftaleína. Finalmente, se valoraron las muestras con una solución de KOH 0.094 mol/L (estandarizada con ftalato ácido de potasio 0.05 mol/L) hasta observar el cambio de color del indicador. La acidez se reportó como porcentaje de ácido oleico con la ecuación 4:

$$\text{acidez (ácido oléico)} = \frac{\text{Meq}_{\text{ácido oléico}} C V}{m_{\text{aceite}}} \times 100 \quad (4)$$

donde C es la concentración de la solución de KOH en mol/L, V es el volumen gastado y

$Meq_{\text{ácido oleico}}$ son los miliequivalentes del ácido oleico (0.282 g).

Perfil de ácidos grasos

Las muestras de aceite nuevo y gastado se derivatizaron añadiendo a una ampolleta 0.25 mL de aceite, 0.25 mL de trifluoruro de boro en metanol (Fluka, 1.3 M) y 0.5 mL de una solución de NaOH 1 mol/L. La ampolleta se cerró y se calentó a baño de agua durante 10 minutos. Finalmente se realizaron dos extracciones consecutivas con 0.5 mL de hexano. El extracto obtenido se aforó a 2 mL con hexano con una concentración final de 320 ppm de n-hexadecano como estándar interno. 1 μ L del extracto se inyectó en un cromatógrafo de gases Perkin Elmer AutoSystem con un detector de ionización en flama (FID) y una columna HP-Ultra 2 (30 m x 0.332 mm i.d.).

El porcentaje de cada componente se obtuvo de acuerdo a las ecuaciones 5 y 6:

$$f_i = \frac{A_i}{\sum A_i} \quad (5)$$

$$\% \text{ ácido graso (m/m)} = f_i \times 100 \quad (6)$$

donde A_i es el área del pico correspondiente a un ácido grasos, $\sum A_i$ es la suma de las áreas de todos los picos de ácidos grasos y f_i es la fracción del ácido graso del total de ácidos grasos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la caracterización de los aceites de soya se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas de los aceites nuevo y gastado determinadas por los métodos estándar.

Propiedades	Aceite Nuevo	Aceite gastado
Densidad a 25°C (g/mL)	0.922±0.003	0.923±0.010
Humedad y materia volátil (%)	0.20±0.02	0.23±0.01
Índice de peróxidos meq/Kg	53.48±1.58	12.30±0.71
Acidez (% ácido oleico)	0.56±0.01	1.33±0.05

Como se observa en la Tabla 1, las densidades de ambos aceites no muestran una diferencia. También, el contenido de humedad y materia volátil es mayor en el aceite gastado que en el aceite nuevo. El aceite nuevo tiene un porcentaje de acidez de 0.56%. Sin embargo, el aceite gastado contiene un porcentaje de acidez de 1.33 %. Además, el aceite gastado contiene un menor índice de peróxidos que el aceite nuevo. Esto puede estar relacionado con su elevado contenido de humedad y materia volátil. El bajo contenido de peróxidos puede ser causado por la formación de productos secundarios de reacción, donde los peróxidos han sido transformados a materia volátil. La descomposición de los peróxidos ocurre debido a una exposición prolongada del aceite a temperaturas mayores a 180°C [6-7]. El porcentaje de acidez puede relacionarse con la cantidad de ácidos grasos libres en el aceite. El aceite gastado muestra una mayor cantidad de ácidos grasos libres causada por la rancidez hidrolítica del aceite durante el proceso de cocción de los alimentos [6]. Los ácidos grasos libres producidos pueden reaccionar con el KOH (catalizador) en las reacciones de transesterificación y reducir la eficiencia del proceso.

Por otra parte, se analizaron en un cromatógrafo de gases las muestras derivatizadas de los aceites nuevo y gastado para conocer la composición de ácidos grasos. Los cromatogramas obtenidos se muestran en la Figura 1.

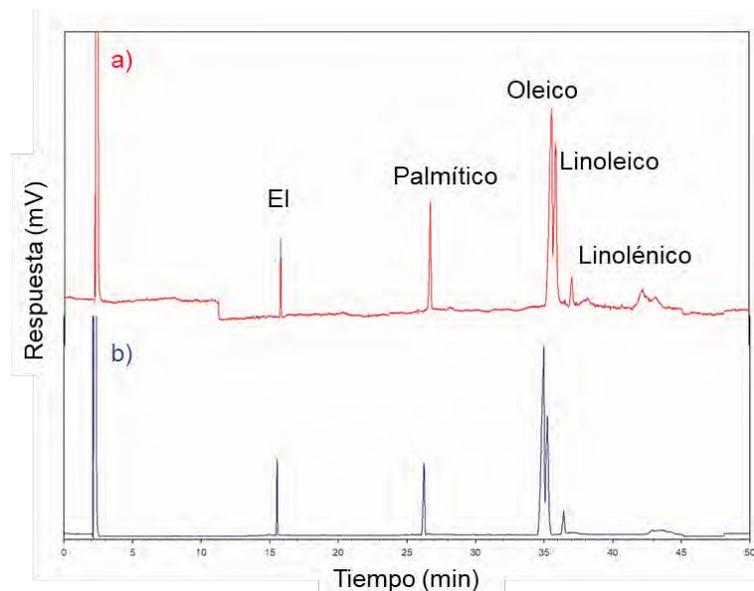


Figura 1. Cromatogramas de los metilésteres obtenidos por la derivatización de aceites de soya. a) Aceite nuevo b) Aceite gastado.

En la Figura 1 se muestran los cromatogramas de los aceites nuevo y gastado. En los

cromatogramas se observa la elución de los metilésteres de los ácidos grasos presentes en los aceites. El solvente es el primer compuesto en ser eludido a un tiempo de 2.2 minutos, seguido por el estándar interno a 15.8 minutos. Finalmente, se observan la elución de los metilésteres de los ácidos grasos palmítico, oleico, linoleico y linolénico a 26.2, 34.8, 35.2 y 37.5 minutos, respectivamente. En los cromatogramas se observa que la intensidad del estándar interno es similar, sin embargo, las intensidades de los metilésteres de los ácidos grasos son diferentes para el aceite nuevo y gastado.

Los resultados de las concentraciones y porcentajes de ácidos grasos presentes en los aceites se muestran en la Tabla 2. El aceite gastado posee una mayor cantidad de ácido palmítico, ácido linoleico y ácido linolénico que el aceite nuevo. Probablemente, una cantidad mayor de ácido palmítico y de ácidos grasos poliinsaturados como el linoleico y el linolénico pueden disminuir la eficiencia del proceso de transesterificación. Además, el aceite nuevo presenta una mayor cantidad de ácido oleico.

Tabla 2. Porcentaje y concentración de ácidos grasos presentes en el aceite de soya

Ácido graso	% ácido graso (p/p)		C_i Mol L ⁻¹	
	Nuevo	Gastado	Nuevo	Gastado
Palmítico	11.8	13.5	0.39	0.43
Oleico	54.3	48.8	1.59	1.37
Linoleico	29.1	32.1	0.86	0.92
Linolénico	4.7	5.5	0.13	0.14

En estos resultados también se puede observar que el contenido de ácido oleico es mayor que el de otros ácidos grasos para ambos aceites. El elevado contenido de ácido oleico podría mejorar la calidad del biodiesel obtenido, ya que favorece la estabilidad al contener una concentración menor de ácidos grasos polinsaturados.

CONCLUSIONES

El aceite gastado presenta un menor índice de peróxidos que el aceite nuevo debido a la formación de la materia volátil durante el procesamiento de los alimentos a altas temperaturas.

Además, se concluye que el aceite de soya gastado no se transesterifica por el método convencional con KOH y metanol debido a que presenta una mayor cantidad de materia volátil y un mayor contenido de acidez. Por lo tanto, es recomendable el uso de otros catalizadores o la implementación de nuevos procesos para la producción de biodiesel a partir de aceite vegetal gastado.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen su apoyo al programa ECOS ANUIES-CONACYT con el número de referencia 275186 y CONACYT no. 256345/CB-2015-01.

REFERENCIAS

- [1] A. Demirbas, *Applied Energy* **86** [1S] S108-S117 (2009)
- [2] F. Ma, M. A. Hanna, *Bioresource Technology*. **70** [1] 1-15 (1999).
- [3] P. Girard, A. Fallot, *Energy for Sustainable Development* **10** [2] 92-108 (2006).
- [4] D.B. Min *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. Estados Unidos (2008)
- [5] Norma Mexicana NMX-F-075-1987.
- [6] Norma Mexicana NMX-F-211-1987
- [7] A. Chatzilazarou, O. Gortzi, S. Lalas, E. Zoidis, J. Tsaknis, *Journal of Food Lipids*, **13** [1] 27-35 (2006).

MODIFICACIÓN DE UN ELECTRODO DE PASTA DE CARBONO CON GLUCONOLACTONA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE DICLOFENACO

Carlos Hernández Rodríguez¹
Luz María Torres Rodríguez^{1*}
Ramón Fernando García De la Cruz²

INTRODUCCIÓN

Los contaminantes emergentes son aquellos que se caracterizan por estar presentes a bajas concentraciones, no estar regulados por normatividades nacionales ni su presencia es vigilada rutinariamente [1], entre éstos se encuentran los fármacos los cuales no se degradan completamente en el cuerpo humano y son normalmente excretados a través de la orina y las heces fecales, por donde llegan al ambiente [2,3]. En México se han encontrado diversos fármacos en cuerpos de agua. Por ejemplo, en el sistema de irrigación de aguas residuales del Valle del Mezquital, en el Estado de Hidalgo, se determinó la presencia de ibuprofeno ($0.19-0.58 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), naproxeno ($0.25-6.74 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) y diclofenaco ($0.04-0.55 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) [4]. Los antiinflamatorios aparecen con una frecuencia relativamente alta en las aguas de todo el mundo debido a que su uso se encuentra ampliamente extendido al ser económicos, de venta libre y poseer propiedades analgésicas y antipiréticas [1].

La cuantificación de diclofenaco (Figura 1a) en aguas debe realizarse a través de un método asequible, sensible y limpio. Los métodos electroquímicos presentan las ventajas de tener tiempos de análisis más cortos, su costo es menor con respecto a otras técnicas (v.g. HPLC) y poseen una buena sensibilidad [5,6]. La cuantificación electroquímica de diclofenaco se puede

¹ Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Facultad de Ciencias Químicas. Laboratorio de Electroquímica. Av. Manuel Nava # 6 Zona Universitaria. C. P. 78210. San Luis Potosí, S. L. P., México. Tel: +52 (444) 826 2300 ext. 6543 carlos89hr@gmail.com, luzmaria@uaslp.mx

² Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Facultad de Ciencias Químicas. Laboratorio de Bioquímica Vegetal. Av. Manuel Nava # 6 Zona Universitaria. C. P. 78210. San Luis Potosí, S. L. P., México. Tel: +52 (444) 826 2300 ext. 6472 rgarcia@uaslp.mx

realizar con electrodos sin modificar, aunque la modificación implica una mejora significativa en la señal analítica obtenida [6,8].

En el caso de este fármaco está reportado que con la técnica de HPCL se obtiene un límite de detección de $0.022 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ mientras que con un electrodo de pasta de carbono sin modificar puede obtenerse de $19 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ [6]. El límite de detección puede mejorarse con un electrodo de pasta de carbono modificado con tirosina, donde se obtiene un límite de $3.28 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ [6]. Dicha posibilidad motiva este trabajo para modificar un electrodo de pasta y obtener un límite de detección todavía más pequeño.

Se ha reportado que una forma de modificar un electrodo consiste en el empleo de ciclodextrinas, las cuales están formadas por unidades de glucosa enlazados en forma de conos. En diferentes trabajos se ha mostrado que cuando éstas se inmovilizan sobre un electrodo a través de un proceso de oxidación electroquímica se cataliza la respuesta del ácido ascórbico [7], mientras que, cuando las ciclodextrinas se inmovilizan sin ser oxidadas no se observa la catálisis [8]. Se plantea la hipótesis de que las glucosas oxidadas facilitan la transferencia electrónica en una reacción electroquímica. Así, se propone la cuantificación de diclofenaco empleando un electrodo modificado con una glucosa oxidada, la gluconolactona (Figura 1b). Hasta hoy no hay trabajos sobre uso de estos electrodos pese a que son económicamente accesibles y biodegradables.

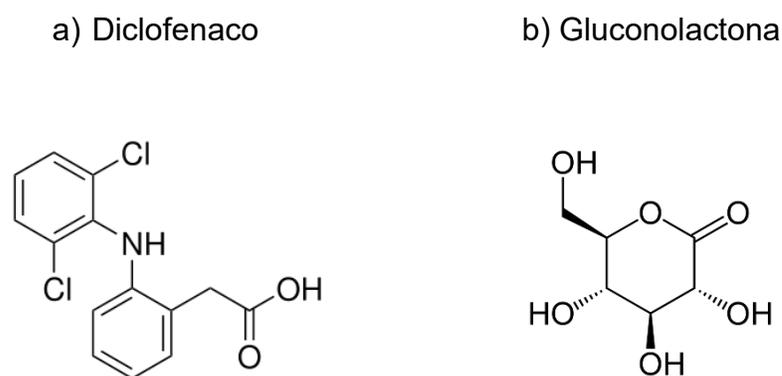


Figura 1. Estructuras químicas de diclofenaco [6] y gluconolactona [9].

EXPERIMENTACIÓN

Sistema de trabajo. Se utilizó un sistema de tres electrodos: el auxiliar fue un alambre de platino; como referencia se utilizó uno de Ag/AgCl $3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (BASi MF-2052) y por último un electrodo de trabajo de pasta de carbono compuesto por 63 % de polvo de grafito natural (Alfa Aesar) y 37 % de nujol (Sigma Aldrich) con área de 0.145 cm^2 . Se utilizó un postencioestado/galvanostato marca BASi Epsilon. Los experimentos se llevan a cabo bajo una atmósfera inerte de nitrógeno y las soluciones utilizadas fueron desoxigenadas por burbujeo con este mismo gas.

- Disoluciones. Las disoluciones utilizadas en este trabajo fueron grado analítico empleando como disolvente agua desionizada con resistividad de $18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$.
- Depósito de gluconolactona. El electrodo de pasta de carbono se modificó utilizando una solución de gluconolactona $0.005 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ mediante la técnica de voltamperometría cíclica. Se hicieron 60 barridos de potencial entre 0 y 1450 mV a una velocidad de barrido de $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$. El electrolito soporte utilizado fue ácido perclórico $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$.
- Cuantificación de diclofenaco usando el electrodo modificado. Se construyó la curva de calibración para el diclofenaco utilizando el electrodo modificado con gluconolactona mediante adiciones sucesivas de $40 \mu\text{L}$ de una disolución de diclofenaco $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ en 10 mL de KCl $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Tras cada adición se agitó a 400 rpm durante 20 segundos. Se utilizó la técnica de voltamperometría cíclica y también la voltamperometría lineal de onda cuadrada; los parámetros utilizados fueron: amplitud: 25 mV; frecuencia: 15 Hz; escalón: 4 mV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En una primera etapa del trabajo se realizó la formación del depósito de gluconolactona sobre el electrodo de pasta de carbono. El procedimiento fue el mismo que el usado en la inmovilización de ciclodextrinas, y consiste en realizar barridos de potencial en medio ácido. La respuesta obtenida se muestra en la Figura 2, en donde se observa un ligero incremento de corriente con cada barrido de potencial. Este comportamiento es característico de la inmovilización de una especie electroactiva en la superficie de un electrodo. La curva presentó un

pico anódico localizado en 1299 mV, similar al observado en el depósito de ciclodextrinas [10].

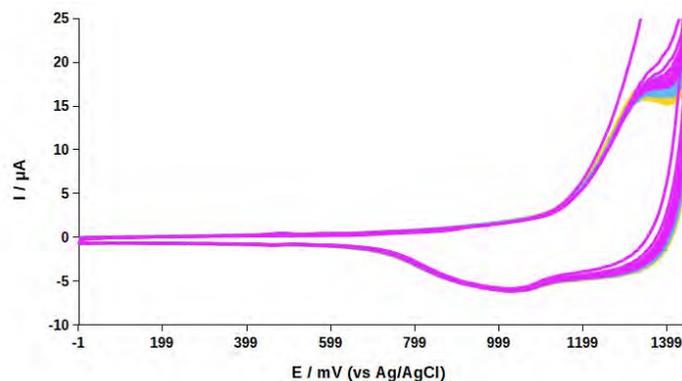


Figura 2. Voltamperograma cíclico obtenido durante la inmovilización de gluconolactona sobre un electrodo de pasta de carbono. Electrolito soporte: HClO_4 $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Velocidad de barrido: $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$.

Para verificar la formación de un depósito sobre la superficie del electrodo se realizaron voltamperogramas cíclicos a distintas velocidades de barrido utilizando como electrolito soporte ácido perclórico $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. En la Figura 3a se puede apreciar que la corriente de pico localizada en 500 mV se incrementa linealmente con la velocidad de barrido; lo que es característico de una especie electroactiva fija a la superficie del electrodo (Figura 3b). Finalmente, se comparó la respuesta potenciodinámica del electrodo modificado con gluconolactona y el no modificado (Figura 3c). Se puede apreciar que las respuestas son distintas, lo que corrobora que ambos electrodos son diferentes.

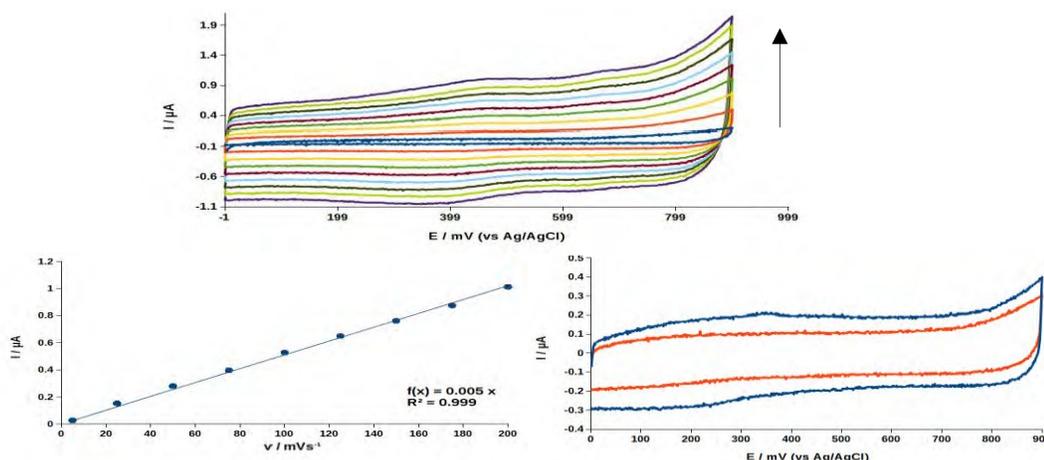


Figura 3. a) Voltamperogramas cíclicos obtenidos a diferentes velocidades de barrido del electrodo de pasta de carbono modificado con gluconolactona. La flecha indica la evolución de la corriente con la velocidad de barrido. Electrolito soporte: HClO_4 $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. 1. Velocidades de barrido: 5, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175 y $200 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$; b) I vs velocidad de barrido para el pico localizado en 500 mV . c) Voltamperograma cíclico de electrodo de pasta de carbono: i) electrodo sin modificar y ii) electrodo modificado con gluconolactona. Electrolito soporte: KCl $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$; velocidad de barrido: $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$.

Una vez corroborada la inmovilización de gluconolactona se procedió a cuantificar el diclofenaco con este electrodo mediante adiciones sucesivas de una disolución de diclofenaco empleando la técnica de voltamperometría cíclica. Se observó el pico característico de la oxidación irreversible del diclofenaco (pico I) así como dos picos más (IIa y IIb) atribuidos a la oxidación-reducción de un subproducto [5] (Fig. 4a). La corriente del pico anódico irreversible aumentó con la concentración de diclofenaco hasta alcanzar un valor constante. Este comportamiento se puede atribuir a que el diclofenaco se adsorbe en la superficie del electrodo y a que los sitios de adsorción se agotan tras varias adiciones, por lo que los datos se ajustaron al modelo de adsorción de Langmuir; se encontró que los datos tienen un buen ajuste donde el I_{max} calculado fue de $14.50 \mu\text{A}$ (el experimental fue de $10.99 \mu\text{A}$) y la constante de Langmuir de $0.071 \mu\text{A}^{-1}$ (Fig. 4b y 4c). Estos resultados muestran que el diclofenaco se adsorbe sobre la superficie del electrodo modificado. Para corroborarlo se realizaron barridos de potencial a diferentes velocidades; se encontró que el voltamperograma cíclico presenta los picos IIa y IIb y la corriente fue proporcional a la velocidad, lo que muestra que los subproductos del diclofenaco se acumulan en el electrodo modificado (gráficos no mostrados).

En lo que concierne a los datos de la curva calibración, fue posible obtener un límite de detección de $0.44 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ y de cuantificación de $1.48 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

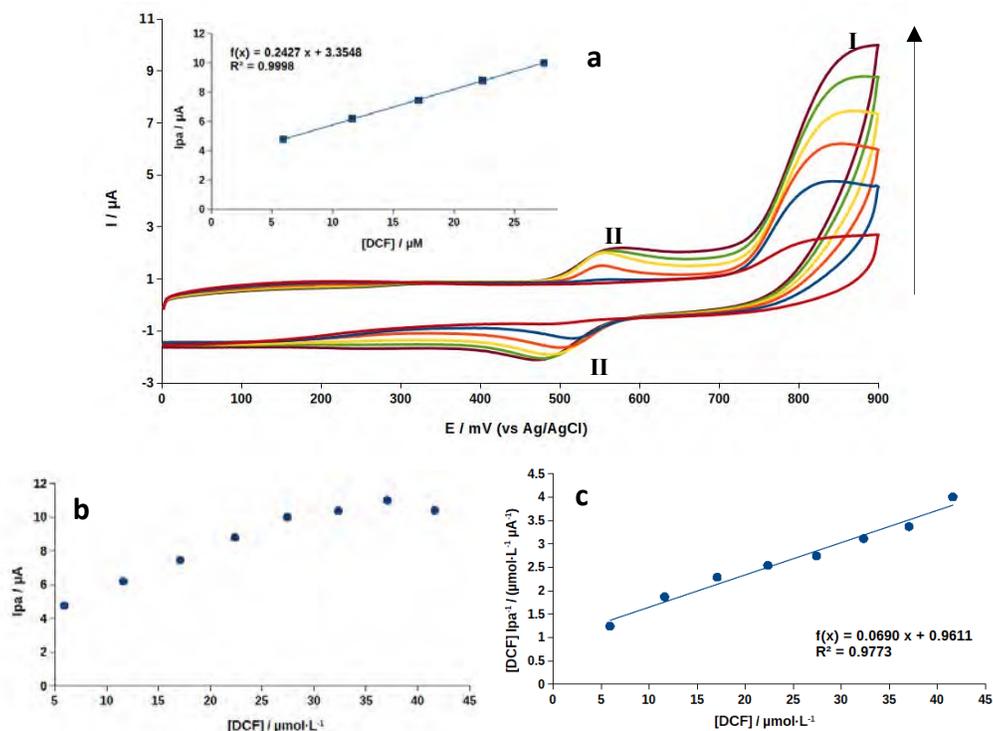


Figura 4. a) Voltamperograma cíclico en la cuantificación de diclofenaco. La flecha vertical indica el aumento de la corriente con la concentración; recuadro: curva de calibración ($R^2=0.9998$); b) picos de corriente anódica vs concentración del fármaco; c) Ajuste de los datos al modelo de Langmuir. Electrolito soporte: $\text{KCl } 0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$; velocidad de barrido: $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$.

Como parte de una tercera etapa de este estudio se trabajó a concentraciones más bajas de diclofenaco siguiendo el método de adiciones sucesivas y se empleó una técnica más sensible realizar la oxidación del fármaco (Figura 5). Se realizaron veinte adiciones ($0- 0.3772 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) para distinguir el punto en donde el pico de oxidación se formaba y poder realizar la curva de calibración. El potencial en donde se forman los picos es cercano a los reportados en la literatura [5,6]. Se realizó la curva de calibración considerando las adiciones en donde se distingue claramente el pico de oxidación, que corresponde al rango de concentración de $0.1959-0.3063 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (Figura 5). El límite de detección obtenido fue de $0.0098 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ y el de cuantificación de $0.0327 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, los cuales son menores a los encontrados en la literatura (electrodo modificado con tirosina, $3.28 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; HPCL, $0.022 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; electrodo de pasta de carbono sin modificar, $19 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) [6]. No se observó un estancamiento de la corriente anódica con el aumento de la concentración; no obstante, los picos de oxidación irreversible del fármaco reportados se

observaron aminorados y no se distinguen claramente, como se puede apreciar en la misma figura en el rango de potencial de 799-899 mV. En la Figura 5 también se puede apreciar que la corriente obtenida en el electrodo de pasta de carbono sin modificar es mucho menor a la del electrodo modificado a la misma concentración ($0.3772 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) lo cual corrobora que la respuesta del diclofenaco es mejor en el electrodo modificado.

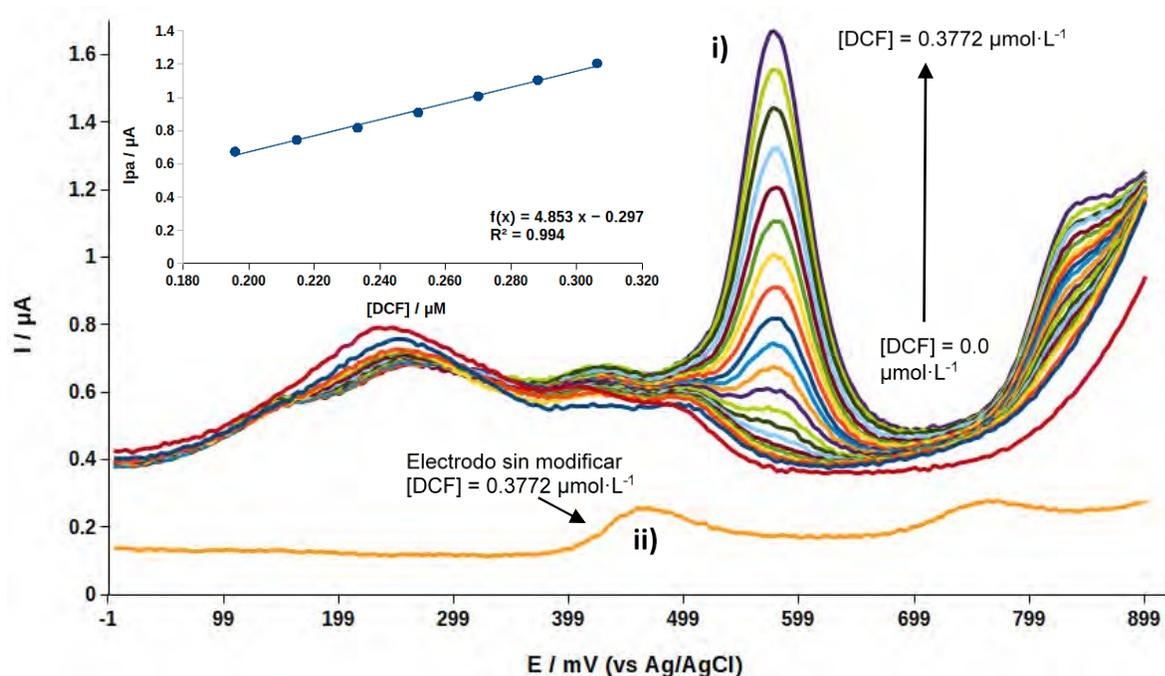


Figura 5. i) Voltamperograma lineal de onda cuadrada de 20 adiciones sucesivas ($0- 0.3772 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) de diclofenaco utilizando el electrodo modificado. La flecha vertical indica el aumento de la corriente con la concentración. ii) Voltamperograma lineal de onda cuadrada con el electrodo sin modificar en presencia de $0.3772 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de diclofenaco. Electrolito soporte: KCl $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (pH = 5.5). Velocidad de barrido: $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$. Recuadro: curva de calibración ($R^2=0.994$) para los picos en 576 mV.

CONCLUSIONES

La inmovilización de la gluconolactona se pudo realizar sobre el electrodo de pasta de carbono; el diclofenaco se adsorbe sobre la superficie del electrodo; con la modificación de un electrodo de pasta de carbono usando gluconolactona fue posible realizar la cuantificación de diclofenaco mediante la técnica de voltamperometría lineal de onda cuadrada obteniendo un límite de detección de $0.0098 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ y de cuantificación de $0.0327 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, siendo estos valores menores a los reportados en la literatura.

AGRADECIMIENTOS

Carlos Hernández Rodríguez agradece a CONACYT la beca otorgada para estudios de maestría (633433/485924). Se agradece el apoyo económico otorgado por la SEP a través del Proyecto PFCE-2017-24MSU0011E-06.

REFERENCIAS

- [1] G. R. Quadra, H. O. de Souza, R. D. Costa, M. A. D. Fernandez. *Environmental Science and Pollution Research*. **24** [2] 1200–1218 (2017).
- [2] J. Debska, A. Kot-Wasik, J. Namiesnik. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. **34** [1] 51–67 (2004).
- [3] K. J. Ottmar, L. M. Colosi, J. A. Smith. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. **84** [5] 507–512 (2010).
- [4] J. Siemens, G. Huschek, C. Siebe, M. Kaupenjohann. *Water Research*. **42** [8-9] 2124– 2134 (2008).
- [5] G. Y. Aguilar-Lira, G. A. Alvarez-Romero, A. Zamora-Suarez, M. Palomar-Pardave, A. Rojas-Hernandez, J. A. Rodriguez-Avila, M. E. Paez-Hernandez. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. **794** 182–188 (2017).
- [6] D. S. Guzman-Hernandez, M. A. Martinez-Cruz, M. T. Ramirez-Silva, M. Romero- Romo, S. Corona-Avendano, L. H. Mendoza-Huizar, M. Palomar-Pardave. *Analytical Methods*. **8** [44] 7868–7872 (2016).
- [7] M. T. Ramirez-Silva, M. Palomar-Pardave, S. Corona-Avendano, M. Romero-Romo, G. Alarcon-Angeles. *Molecules*. **19** [5] 5952–5964, (2014).
- [8] L. Fritea, M. Tertis, T. L. Topala, R. Sandulescu. *Farmacia*. **61** [6] 1054–1068 (2013).
- [9] L. Ruijiang, W. Peng, R. Haohao, L. Hong, D. Zhengwen, Y. Yonggang. *International Journal of Polymer Science*. **2018** 11 (2018).
- [10] G. R. Morales, T. R. Silva, L. Galicia. *Journal of Solid State Electrochemistry* **7** [6] 355–360 (2003).

EVALUACIÓN DE LA MODIFICACIÓN DEL CONTENIDO PROTEICO DE LACTOSUERO ÁCIDO MEDIANTE UN SISTEMA BIOELECTROQUÍMICO CON ELECTRODOS DE TITANIO

Grisell Gallegos Ortega¹
Víctor Esteban Reyes Cruz^{1*}
José Ángel Cobos Murcia^{1,2}
María Aurora Veloz Rodríguez¹
Pedro Alberto Ramírez Ortega³
Julio César Juárez Tapia¹
Gustavo Urbano Reyes¹

INTRODUCCIÓN

Los sistemas bioelectroquímicos (BES, por sus siglas en inglés) son sistemas que aprovechan el metabolismo bacteriano para transferir electrones y transformar efluentes contaminados. En estos sistemas se utilizan electrodos microbianos, los cuales están constituidos por sustratos sólidos con bacterias soportadas en su superficie en forma de biopelícula [1-5]. En los BES, los electrodos microbianos son polarizados positiva o negativamente, en cuyo caso serán llamados bioánodos o biocátodos, respectivamente. En el caso de los bioánodos los electrones son cedidos por los microorganismos al electrodo y en los biocátodos los electrones son aceptados por las entidades bacterianas desde el electrodo [6,3].

Aunque su comprensión no ha sido del todo descrita, se sabe que su funcionamiento está basado en el de un sistema electroquímico, en el que se tiene un electrodo positivo y uno negativo,

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Ciencias de la Tierra y Materiales. Laboratorio de Procesos Electroquímicos. Carr. Pachuca – Tulancingo Km 4.5. Mineral de la Reforma, Hidalgo. C.P. 42074. Tel: +52 (771) 717 2000. E mail: grisell.gallegos@hotmail.com, reyesacruz16@yahoo.com, maveloz70@yahoo.com.mx, gurbano2003@yahoo.com.mx.

² Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Depto. De Cátedras, Av. Insurgentes Sur 1582, Col. Crédito constructor, Deleg. Benito Juárez, Ciudad de México, C.P. 03940, México. catseven78@gmail.com

³ Universidad Tecnológica de Tulancingo. Centro de Desarrollo en Nanotecnología. Camino a Ahuehuetitla 301, Reforma la Presa, Tulancingo, Hidalgo. C.P. 43642. Tel +52 (775) 755 8210 pedroramirez@utec-tgo.edu.mx

con una solución electrolítica y una condición energética dada en condiciones galvánicas o electrolíticas [4]. De manera general, los sistemas electroquímicos cuentan con las características de ser amigables con el medio ambiente, poseer alta eficiencia y rentabilidad. El auge en la investigación de los BES ha ido incrementándose debido a los resultados que han mostrado, para tratar aguas residuales de diversas naturalezas, tales como las procedentes de la industria cervecera, papelera, panificadora, de curtiembres, así como aguas con compuestos clorados, por mencionar algunos [7,8].

A pesar de que cada vez se suman nuevas investigaciones que giran en torno a los BES, así mismo, el número de contaminantes vertidos también incrementa. Tal es el caso de la industria quesera, la cual, según datos de la Organización para la Alimentación y la Agricultura de las Naciones Unidas (FAO), en el mundo cada año se producen más de 18 millones de toneladas [9]. Conjuntamente con la elaboración de quesos se obtiene un subproducto conocido como lactosuero, el cual posee elevado contenido de materia orgánica compuesta por lípidos, carbohidratos, minerales y proteínas. Estas características le otorgan valores de Demanda Química de Oxígeno mayores a 110,000 mg de O_2/L , mismos que lo posicionan como un contaminante al ser vertido en mantos acuíferos sin un tratamiento previo [10].

Particularmente las proteínas del lactosuero, que aunque tienen un valor nutricional elevado; son moléculas de alto peso molecular que al estar libres en mantos acuíferos resultan ser contaminantes. Un método para la cuantificación de proteínas es el método de Biuret, basado en la formación de un complejo coloreado entre el Cu^{2+} del reactivo de Biuret y los grupos NH de los enlaces peptídicos en medio básico. La intensidad de coloración es directamente proporcional a la cantidad de proteínas (enlaces peptídicos), con máximos de absorción de radiación electromagnética a 330 nm y a 545 nm [11].

Por ello, en el presente trabajo se realizó un estudio espectrofotométrico de la modificación proteica del lactosuero, estableciendo un análisis comparativo entre dos sistemas de modificación proteica en batch: sistema bioelectroquímico con biocátodo de Titanio obtenido a potencial impuesto Vs un sistema microbiológico convencional en batch con biocátodo de Titanio obtenido en condiciones microbiológicas convencionales.

EXPERIMENTACIÓN

Se llevó a cabo la modificación de electrodos de Titanio para generar electrodos microbianos; para ello dos superficies de Titanio fueron tratadas mecánicamente con una lija de agua de 320 granos/pulgada, y limpieza por ultrasonido durante 10 minutos. Posteriormente las superficies fueron sometidas a una modificación superficial con una biopelícula de un consorcio bacteriano que ha sido previamente preparado, caracterizado y adaptado a partir de microorganismos seleccionados de acuerdo al trabajo publicado en la referencia [12].

La generación de la biopelícula sobre las superficies de Titanio se llevó a cabo en sistemas separados, cada uno cargado con un medio de cultivo enriquecido (Caldo Nutritivo Peptona de Caseína), posteriormente los sistemas fueron puestos bajo condiciones de crecimiento de la biopelícula distintos en un periodo de 168 horas; uno de los sistemas fue puesto bajo el uso de una técnica potencioestática, con imposición de 0.8 V en una fuente de poder marca BK Precision, el otro sistema se dejó bajo condiciones microbiológicas (sin imposición de potencial).

Una vez generados los electrodos microbianos, se llevó a cabo el tratamiento simultáneo del lactosuero en dos sistemas en batch con un arreglo de dos electrodos, *Sistema bioelectroquímico*: un ánodo de Titanio y como cátodo el electrodo microbiano de Titanio generado bajo potencial impuesto, *Sistema microbiológico*: un ánodo de Titanio y como cátodo el electrodo microbiano de Titanio generado en condiciones microbiológicas. Adicionalmente se montaron los respectivos sistemas control de estos sistemas, los cuales consistieron en sistemas idénticos; pero exceptuando el uso de los electrodos microbianos, por lo que en su lugar se emplearon como cátodos electrodos de Titanio sin modificar (electrodos abióticos).

Todos los sistemas fueron cargados con 60 mL de lactosuero, el *Sistema bioelectroquímico* y su sistema control se pusieron en operación utilizando una técnica potencioestática en una fuente de poder marca BK Precision, imponiendo 0.8 V de potencial de celda. Mientras que el *Sistema microbiológico* y su sistema control se operaron sin la imposición de un potencial. Todos los sistemas permanecieron en tales condiciones durante un período de 20 días.

Transcurrido el tiempo de operación, se realizó un análisis cuantitativo del contenido de proteínas del lactosuero proveniente de los sistemas evaluados, comparándolo con el contenido

de proteínas de un lactosuero sin tratar. Dicha evaluación se realizó mediante espectrofotometría UV-Vis en un espectrofotómetro marca Perkin Elmer a una longitud de onda de 545 nm, utilizando el método de Biuret para la cuantificación de proteínas, haciendo uso de un estándar de Albúmina Sérica Bovina (ASB) al 22% de la marca IMMUCOR y un reactivo de Biuret preparado al disolver 3.8 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 6.7 g NaEDTA en 700 mL de H_2O , en cuya solución se agregaron 200 mL de NaOH 5 mol/L y luego 1 g de KI como estabilizante. Para la realización de dicho ensayo, primeramente, se efectuaron las lecturas correspondientes al estándar, requeridas para obtener la curva de calibración, seguidamente de las lecturas de absorbancia de las muestras a determinar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestra el análisis cuantitativo comparativo del contenido de proteínas del lactosuero sin tratar (barra azul) y el tratado con los sistemas de tratamiento evaluados (bioelectroquímico y microbiológico) que se presentan en las barras color naranja. Estos sistemas de tratamiento son comparados a su vez, con un sistema control en el cual se utilizó el electrodo de Titanio sin modificar con los microorganismos, es decir, un sistema abiótico cuyo contenido proteico también fue evaluado y es presentado en las barras grises. Ello con el fin de evidenciar o descartar que la transformación en la concentración proteica presentada por los sistemas podría estar dada por la contribución de los microorganismos inoculados.

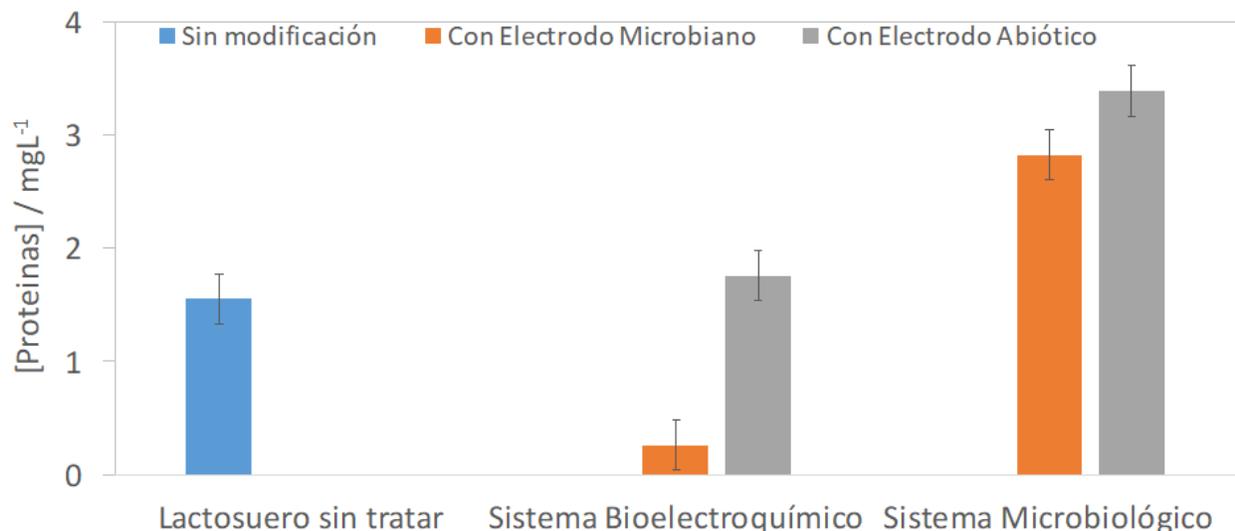


Figura 1. Contenido de proteínas en el Lactosuero sin tratar (barra azul) y Tratado mediante un Sistema Bioelectroquímico y un Sistema Microbiológico.

En el análisis cuantitativo mostrado en la Figura 1 se observa que el lactosuero inicial presentó una concentración de 1.6 mg/mL. Después del tratamiento con el *Sistema bioelectroquímico*, el lactosuero presentó una disminución en la concentración proteica con valores de 0.3 mg/mL. Esta transformación puede ser asociada a la contribución de la transferencia electrónica mediada por las bacterias del electrodo microbiano, pues mientras mayor número de bacterias existan, mayor es el número de mediadores electrónicos presentes y mayor es la masa transformada. Sin embargo, en el contenido proteico del sistema control del sistema bioelectroquímico; se observa que al emplear un electrodo de titanio sin bacterias (abiótico) el contenido de proteínas no muestra una variación significativa, presentando un valor de 1.8 mg/mL, a pesar de ser un sistema polarizado.

Por otro lado, al utilizar el electrodo microbiano sin imposición de un potencial electroquímico (sistema microbiológico convencional) se observa que el contenido de proteínas se incrementa a un valor 2.8 mg/mL, lo que es atribuido al fraccionamiento de las proteínas en aminoácidos, debido a la acción microbiana o a factores medioambientales. Ello se respalda con los resultados observados del sistema en abiótico sin imposición de potencial (sistema control del sistema microbiológico), donde el valor del contenido proteico fue de 3.4 mg/mL.

CONCLUSIONES

En el presente trabajo, mediante el uso del método de Biuret, fue posible evaluar el contenido proteico de lactosuero, así como el efecto que se obtiene en este contenido al tratar el lactosuero con electrodos microbianos. Con estos resultados se determinó que empleando los sistemas bioelectroquímicos existe una mejor eficiencia para el tratamiento de proteínas presentes en el lactosuero cuando se trata de disminuir su concentración, que la presentada por los sistemas microbiológicos convencionales. Adicionalmente, este estudio encamina a proceder a nuevos análisis relacionados con los procesos de transformación proteica que se llevan a cabo bajo las condiciones de tratamiento planteadas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores externan su gratitud al CONACyT por el apoyo financiero otorgado en la beca 710030 así como al Programa de Cátedras CONACyT.

REFERENCIAS

- [1] Z. He & L.T. Angenent. Application of Bacterial Biocathodes in Microbial Fuel Cells, **18**, [19-20], 2009-2015 (2006).
- [2] M. Rosenbaum, M.T. Agler, J.J. Fornero, A. Venkataraman, L.T. Angenent. Integrating BES in the wastewater and sludge treatment line. IWA, Inglaterra. (2010).
- [3] D.M. Revelo, N.H. Hurtado, J.O. Ruiz. Celdas de combustible microbianas (CCMS): Un reto para la remoción de materia orgánica y la generación de energía eléctrica, **24** [6], 17-28 (2013).
- [4] D.M. Revelo, N. Hurtado, J.O. Ruiz, S. López. Uso de Microorganismos Nativos en la Remoción Simultánea de Materia Orgánica y Cr (VI) en una Celda de Combustible Microbiana (CCM) de Biocátodo, **26** [6], 77-88 (2015).
- [5] M. Aguilar González, G. Buitron, A. Shimada Miyasaka, O. Mora Izaguirre. Estado actual de los sistemas bioelectroquímicos: Factibilidad de su uso para aumentar la producción ruminal de propionato, **50**, [2] 149-166 (2016).
- [6] M. Rosenbaum, F. Aulenta, M. Villano, L.T. Angenent. Cathodes as electron donors for microbial metabolism: Which extracellular electron transfer mechanisms are involved? **102**, [1], 324-333 (2011).
- [7] F. Aulenta, P. Realea, A. Canossa, S. Rossetti, S. Paneroa, M. Majonea. Characterization of an electro-active biocathode capable of dechlorinating trichloroethene and cis-dichloroethene to ethene, **25**, [7], 1796-802 (2010)
- [8] S. Velasquez, I. Head, T. Curtis, K. Scott. Factors affecting current production in microbial fuel cells using different industrial wastewaters. **102**, [8], 5105-5112(2011).
- [9] Organización para la Alimentación y la Agricultura de las Naciones Unidas. Obtenido de Base de datos: www.fao.org/home/es/ (2017).
- [10] J. Callejas Hernández, F. Prieto García, V.E. Reyes Cruz, Y. Marmolejo Santillán, M. Mendez Marzo. Caracterización fisicoquímica de un lactosuero: potencialidad de recuperación de fósforo, **22**, [1] 11-18 (2012).
- [11] P. Roca, J. Oliver, A. Rodriguez. Bioquímica: técnicas y métodos. Hélice, España. (2003).
- [12] G. Gallegos Ortega, V.E. Reyes Cruz, J.A. Cobos Murcia, M.A. Veloz Rodriguez, J. Hernandez Avila, J.L. Imbert Palafox. Acondicionamiento y caracterización de bacterias electrótrofas para la formación de biopelículas, **3** [1] 15-23 (2016).

TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES MUNICIPALES MEDIANTE UN SISTEMA DE ELECTROCOAGULACIÓN

Monserrat Ballesteros Balbuena
Patricia Balderas Hernández
Gabriela Roa Morales
Carlos Barrera Díaz¹

INTRODUCCIÓN

Se estima que solo el 2.5% del agua en el planeta es dulce, y de esta cantidad el 70% no está disponible para consumo, aunado a esto la contaminación generada por actividades antropogénicas conduce a la disminución de los recursos hídricos. En México la contaminación de los ríos se presenta en todo el territorio, sin embargo, los más afectados son el Atoyac (Puebla, Tlaxcala y Oaxaca) y el Lerma-Santiago (Estado de México, Guanajuato, Michoacán, Jalisco y Nayarit) [1]. La cuenca del Río Lerma es la más importante en la meseta central; en esta región se han situado las principales regiones urbanas, industriales, agrícolas y ganaderas [2]. Debido a esto, se ha provocado una fuerte degradación del medio ambiente, lo que ha llevado a la desaparición de la flora y fauna, además de efectos severos en la salud de la población [3, 4, 5]. Los tratamientos empleados para recuperar la calidad del agua consisten en procesos físicos, químicos y biológicos. Entre ellos la electrocoagulación (EC), la cual se basa en un proceso físico- químico de coagulación de sistemas coloidales bajo la acción de una corriente eléctrica directa [6]. La eliminación de contaminantes ocurre mediante reacciones químicas, o por fijación físico-química a materiales generados por la erosión del electrodo [7]. Entre los trabajos que reportan la eficiencia de la electrocoagulación para la eliminación de contaminantes del agua, se encuentra la investigación realizada por Illhan [8] donde se reportó la disminución de la demanda química de oxígeno (DQO) y sólidos suspendidos (60% y 70%, respectivamente) en aguas residuales domésticas utilizando electrodos de hierro. El consumo eléctrico fue de 0.4 kW h m⁻³ para aguas residuales con carga orgánica alta y 0.2 kW h m⁻³ para carga orgánica baja. En otro

¹ Universidad Autónoma del Estado de México. Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable. Carretera Toluca-Atlacomulco Km 14.5, C.P. 50200, Toluca, Estado de México. +52 (722) 276 6610. e-mail: monserrat.ballesteros@gmail.com

estudio se eliminó el fósforo soluble y la DQO de aguas residuales urbanas mediante un electrodo de diamante [9]. Además se ha reportado el uso de electrodos de cobre en aguas residuales industriales, obteniendo una remoción de 56% de DQO después de 30 minutos de tratamiento empleando electrodos de cobre a una densidad de corriente de 14.2 mA cm^{-2} [10]. En la presente investigación se estableció un sistema de electrocoagulación para llevar a cabo el tratamiento de aguas residuales municipales empleando electrodos de cobre.

EXPERIMENTACIÓN

Muestreo de agua residual municipal

Las muestras de agua residual municipal se colectaron en la planta tratadora Toluca Norte, situada en el municipio de Toluca, Estado de México. El agua residual se tomó del colector que se ubica después de las rejillas de desbaste. Se colectaron muestras de 10 L en recipientes de polietileno e inmediatamente se transportaron al laboratorio, posteriormente se llevaron a refrigeración a 4°C para su posterior caracterización.

Reactor de electrocoagulación

El reactor de electrocoagulación fue una columna cilíndrica con una entrada de flujo ascendente. Para este proceso se usaron electrodos de cobre (Cu). Se colocaron 12 electrodos (seis ánodos y seis cátodos) dentro de la columna a una corriente de 4A. La experimentación se hizo con un tiempo de residencia hidráulica de 1 hora.

Análisis de agua residual

La caracterización del agua residual se hizo mediante la determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) usando la técnica propuesta por Carbajal [11], espectroscopía UV-Visible, color, pH y conductividad eléctrica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1, se muestra el diagrama de Pourbaix de la especiación de cobre, se observa que a potenciales entre 0.5 y 2 a pH de 4 a 7 se presenta la especie $\text{Cu}(\text{OH})_2$ que de acuerdo a Barrera [10] es la responsable de formar los flóculos durante la electrocoagulación.

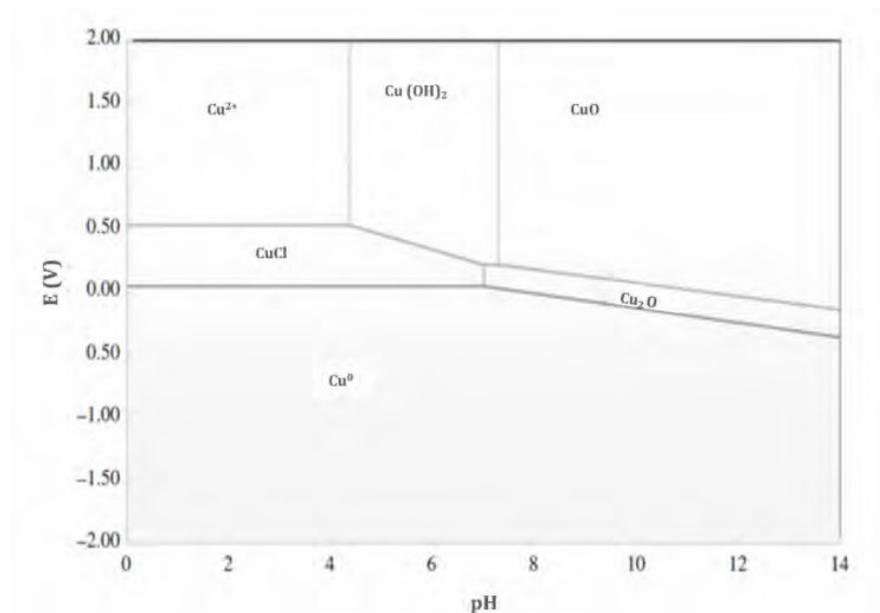
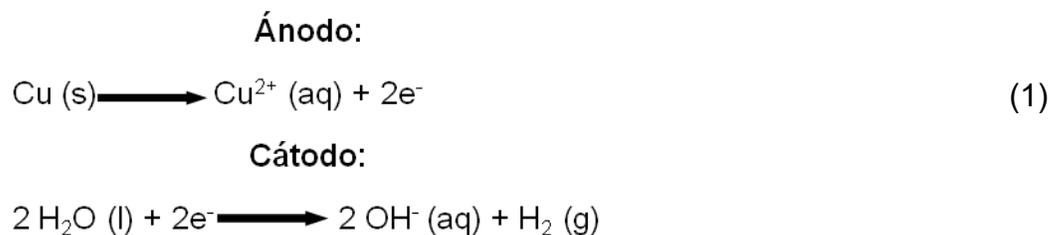


Figura 1. Diagrama de Pourbaix de especies de Cu en disolución acuosa. Adaptado de Barrera [10].

Para el tratamiento de electrocoagulación se utilizaron los electrodos de Cu aplicando una corriente de 4 A durante 60 minutos tomado muestras a diferentes intervalos de tiempo. De acuerdo con Baes y Mesmer [12], las reacciones que ocurren durante la electrocoagulación con electrodos de cobre son las que se muestran en la ecuación (1):



En la figura 2, se observa el gráfico de concentración de DQO en función del tiempo. Los resultados mostraron que la DQO tiene un descenso rápido durante los primeros 15 minutos. La mayor eficiencia de remoción se determinó al tiempo 40, donde se obtuvo una disminución del 44% de la carga orgánica. Sin embargo, se observó que después de este tiempo la concentración tiende a incrementar de $149 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ a $175 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ al final del tratamiento (60 minutos)

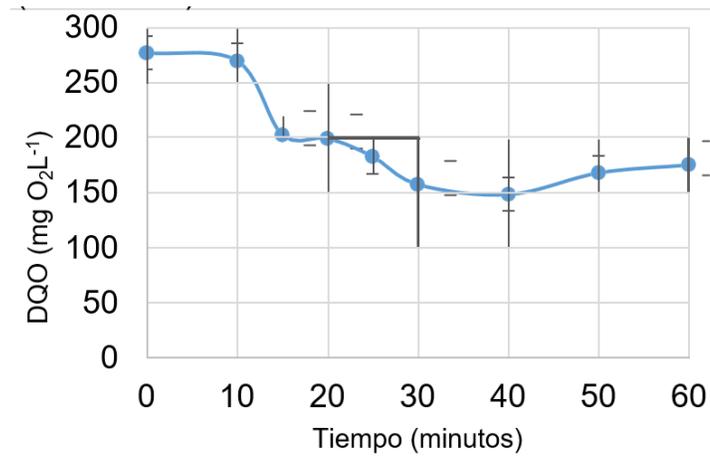


Figura 2. Reducción de DQO en función del tiempo de tratamiento. Análisis de DQO en agua residual municipal después del tratamiento de electrocoagulación con electrodos de cobre.

En cuanto al pH (figura 3), el valor fue incrementado durante toda la reacción, hasta llegar a más de 9 unidades. Este cambio puede relacionarse con la reducción del agua que aumenta la concentración de OH^- mientras transcurre el tiempo de reacción. Durante la electrocoagulación el ascenso del pH se controla con la liberación de iones metálicos que forman hidróxidos; sin embargo, cuando la concentración de estos iones disminuye, se produce un aumento en el pH [13].

La figura 4, exhibe los espectros UV-Vis del agua residual antes y después del tratamiento. Se observa que al tiempo 0 (T0) el agua residual tiene una absorbancia importante a una longitud de 200-400 nm asociada a la materia orgánica. La absorbancia a dicho intervalo se vio disminuida a partir del minuto 10 (T10), y esta disminución fue sucesiva hasta los 50 minutos.

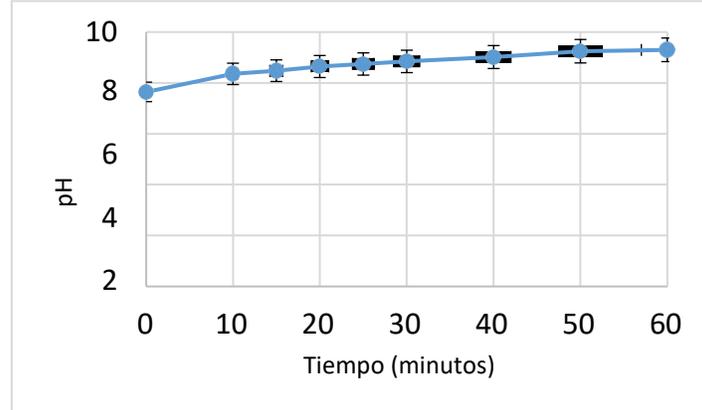


Figura 3. Determinación de pH en agua residual municipal durante el tratamiento electroquímico.

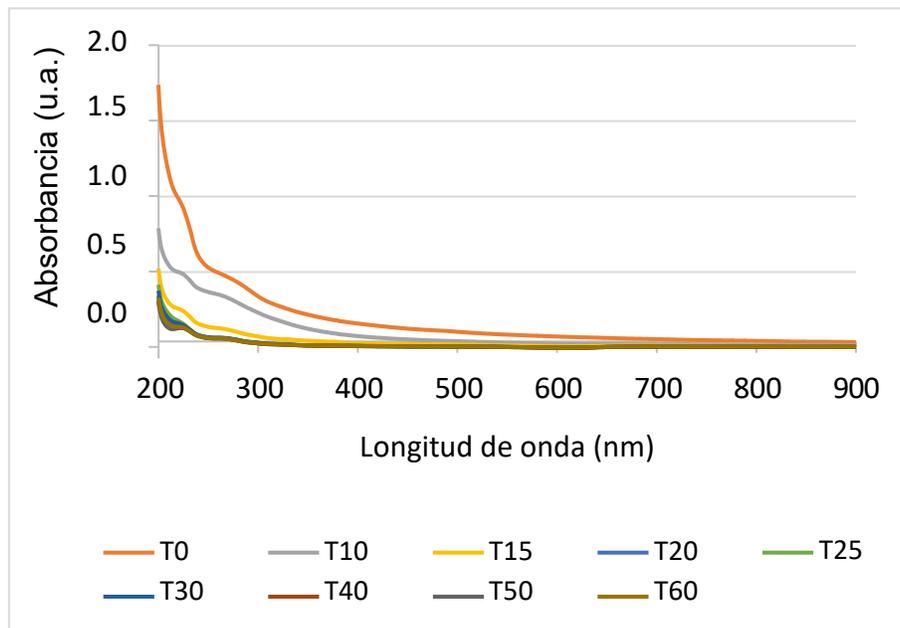


Figura 4. Variación de los espectros UV-Vis del agua residual municipal después del tratamiento de electrocoagulación. T0-T60: agua residual municipal tomada a los 0, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 y 60 minutos de tratamiento.

En la Tabla 1, se muestra la caracterización del agua residual cruda y tratada. Después de la evaluación de los parámetros se encontró que la mayor eficiencia se obtiene transcurridos 30 minutos de la electrocoagulación. A este intervalo de tiempo la demanda química de oxígeno se redujo en un 33%, mientras que el color disminuyó en un 70%.

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos del agua residual antes y después de 30 minutos de tratamiento electroquímico.

Parámetro	Agua residual municipal	Agua residual después del tratamiento
DQO (mg L ⁻¹)	277	118
pH	7.6	8.8
CE (μS)	364.8	373.8
Color (Pt-Co)	182	54

CONCLUSIONES

El uso de electrodos de cobre para el tratamiento de aguas residuales municipales disminuyó la demanda química de oxígeno en un 33%, respecto a la eliminación del color, se obtuvo una eficiencia del 70%. El rango de pH favoreció la formación de especies Cu (OH)₂ (s) lo cual ocasionó la generación de flóculos que ayudaron a la precipitación de las partículas coloidales haciendo que el tiempo de sedimentación de estas se redujera considerablemente.

REFERENCIAS

- [1] Conagua (Comisión Nacional del Agua). Estadísticas del Agua en México. (2014). Recuperado de <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/EAM2014.pdf>
- [2] J.E. Sedeño-Díaz, E. López-López. *Water Resources Management*. **21** [10] 1797-1812 (2007).
- [3] S.B. Boehm, J.J.M. Durán, R.M. Sánchez, R.A. Torres. *Los estudios del agua en la cuenca Lerma-Chapala-Santiago*. El Colegio de Michoacán, Zamora, Mich.; Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jal. (2002).
- [4] M. Medina-Nava. Utilización del Índice de Integridad Biótica (IIB) para determinar áreas de conservación de peces en la cuenca Lerma- Chapala en Michoacán. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, México. (2003).
- [5] R.T.T Arteaga. *Effluent taxes for regulating water pollution from manufacturing firms in the Lerma River Basin, Mexico*. Environment Department, University of York, Heslington, UK. (2004).
- [6] M. Sillanpää, M. Shestakova. *Electrochemical Water Treatment Methods: Fundamentals, Methods and Full Scale Applications*. Butterworth-Heinemann. (2017).
- [7] H. Liu, X. Zhao, J. Qu. *Electrocoagulation in water treatment*. In *Electrochemistry for the Environment* Springer, New York, NY. 245-262 (2010).
- [8] F. Illhan, U. Kurt, O. Apaydin, M.T. Gonullu. *Environmental Engineering Science* **154**, 381–389 (2008).
- [9] M.A. Rodrigo, P. Cañizares, C. Buitrón, C. Saez. *Electrochimica Acta*, **55**, 8160–8164 (2010).
- [10] C. Barrera-Díaz, B. Frontana-Urbe, B. Bilyeu. *Chemosphere*, **105** 160–164 (2014).
- [11] P. Carbajal-Palacios. *Sustitución del agente oxidante en la determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) y tratamiento de los residuos generados: hacia un análisis sustentable*. Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México. (2016).
- [12] C. Baes, R. Mesmer. *The Hydrolysis of Cations*. Robert E Krieger, Malabar, FL. (1986).
- [13] E. Bazrafshan, L. Mohammadi, A. Ansari-Moghaddam, A. H. Mahvi. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, **13** [1] 74. (2015)

Aplicaciones Diversas

DESARROLLO DE UNA FIBRA DE MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA CON RECUBRIMIENTO BASADO EN TETRAFLUOROBORATO DE 1-DECIL-3-METILIMIDAZOLIO

Omar Portillo Castillo¹
Rocío Castro Ríos¹
Abelardo Chávez Montes²
Marsela Garza Tapia^{1*}

INTRODUCCIÓN

La microextracción en fase sólida (SPME), es una técnica de preparación de muestra, en la cual la fase extractante se encuentra inmovilizada a manera de recubrimiento en una fibra que puede ser de sílice fundida o de algún material metálico [1]. Esta técnica es un proceso basado en el equilibrio de partición de los analitos entre la matriz de la muestra y la fase extractante; la cual se lleva a cabo en dos etapas: la extracción del analito de la muestra y la desorción del mismo para su posterior análisis. El proceso de extracción puede llevarse a cabo de dos formas, por inmersión directa (DI) o por contacto con el *headspace* (HS) [2]. Actualmente, los recubrimientos de fibras de SPME disponibles comercialmente son escasos, además de presentar algunas limitaciones en cuanto a su selectividad, temperatura de operación, incompatibilidad con algunos solventes o diferentes matrices; así como dificultades para la extracción de compuestos altamente polares y no volátiles en matrices acuosas [3]. Para superar estos inconvenientes, y aumentar la resistencia física y química de las fibras, se han desarrollado nuevos recubrimientos a base de materiales que presentan una mayor variabilidad en su composición química y les confieren una mayor selectividad

¹ Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina, Departamento de Química Analítica. Av. Madero y Dr. Eduardo Aguirre Pequeño s/n, Col. Mitras Centro, C.P. 64460, Monterrey, N.L., México. * e-mail: marselagarza07@hotmail.com

² Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Química. Av. Pedro de Alba s/n, Cd. Universitaria, C.P. 64420, San Nicolás de los Garza, N.L., México.

a las mismas [4]. Algunos de los materiales que se han empleado en la fabricación de nuevos recubrimientos son los líquidos iónicos (ILs). Estos compuestos son sales orgánicas, las cuales poseen puntos de fusión menores a 100 °C, están constituidos por un catión orgánico y un anión orgánico o inorgánico. Los ILs poseen una alta estabilidad térmica, despreciable presión de vapor y una viscosidad variable [5]. Debido a su composición iónica poseen una naturaleza dual que les permite experimentar interacciones tanto con moléculas polares como no polares, lo cual los ha convertido en buenos candidatos para ser empleados como solventes de extracción en diferentes técnicas de preparación de muestra [6]. Existen reportes que indican que la alta viscosidad de los ILs contribuye a generar un mejor recubrimiento en las fibras de SPME, aumentando la integridad y la homogeneidad de la película formada; al mismo tiempo, su estado líquido favorece el proceso de extracción debido a que se facilita la difusión de los analitos de la matriz de la muestra a la fase extractante [7]. Las fibras desarrolladas en base a ILs han sido fabricadas por metodologías basadas en procesos físicos y/o químicos, por ejemplo, el método de inmersión-aglutinación para recubrir fibras de sílice y metálicas. Este procedimiento consiste en sumergir la fibra que se desea recubrir durante un tiempo determinado en el material a depositar, en

ocasiones, cuando el material es altamente viscosos es necesario emplear una mezcla de este con algún solvente orgánico, el material depositado se fija en la fibra mientras que el solvente es evaporado [8]. Por otra parte, se ha demostrado que el desgaste de las fibras metálicas con ácidos o algún reactivo corrosivo permite una mayor penetración y adherencia del IL sobre la superficie [9]. Otra forma de fabricar fibras con mayor grosor de recubrimiento y de mayor resistencia física y química por este método, ha sido el utilizar los ILs en conjunto con un adhesivo o un aglutínate [10]. En este trabajo, se presenta el desarrollo y caracterización preliminar de una fibra de SPME basada en el líquido iónico tetrafluoroborato de 1-decil-3-metilimidazolio.

EXPERIMENTACIÓN

Para la fabricación de la fibra de SPME, se evaluó como soporte un alambre de acero inoxidable de 0.012 in de diámetro (American Ortho Tech, USA). Los cuales fueron desgastados empelando ácido clorhídrico (J. T Baker, 36.5–38%), ácido nítrico (CTR, 65%), hidróxido de sodio (Fluka, 98%). Durante el proceso de desgaste la temperatura se mantuvo constante, empleando un baño con recirculador termostatzado Haake B3 (Thermo Scientific, USA) y una placa de calentamiento con

agitación magnética CIMAREC (Thermo Scientific, USA). Una vez transcurrido el tiempo de desgaste, los alambres fueron lavados con agua desionizada durante 15 min en un baño de ultrasonido Bransonic 3510 (Branson, USA). La evaluación del proceso de desgaste de los alambres se llevó a cabo con ayuda de un estereoscopio Leica 2000M (Leica, Alemania).

Para formar el recubrimiento de la fibra se utilizó el líquido iónico tetrafluoroborato de 1-decil-3-metilimidazolio ([DMIM][BF₄]) (Iolitec, 98%) y los adhesivos Silicón líquido (Pelikan, México), Pegamento UHU (UHU, Alemania), Pegamento Total Tech (Ceys, España), Silicón F101Sista (Henkel, USA) y Cemento amarillo de CPVC (Oatey, USA), además de diclorometano (Tedia, Pesticide), tolueno (Sigma, 99.5%), hexano (Mallinckrodt, 95%) y acetona (J. T. Baker, ACS).

El peso de las sustancias se obtuvo en una Balanza semianalítica GX-200 (AND, USA) y las mezclas de las estas fueron agitadas en un Vortex Thermolyne Tipo 37600 Barnstead International (Thermo Scientific, USA). El análisis microscópico del recubrimiento se realizó con un Microscopio digital serie KEYENCE VHX-5000 (Keyence, Japón) y un Microscopio electrónico de barrido TOPCON SM-510 (TOPCON, Japón).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La fabricación de la fibra se dividió en tres etapas: como primera etapa el desgaste de los soportes metálicos, posteriormente la obtención de una mezcla homogénea de adhesivo-líquido iónico y por último realizar el recubrimiento del soporte desgastado con la mezcla homogénea obtenida. Una vez hecho el recubrimiento, se llevó a cabo la caracterización de la uniformidad y espesor del recubrimiento. Todos los experimentos realizados en este trabajo fueron llevados a cabo por triplicado.

Para iniciar la fabricación, se cortaron fragmentos de 7 cm de longitud del alambre de acero inoxidable, de los cuales 3 cm fueron desgastados por inmersión en HNO₃ concentrado, HCl concentrado y HCl 5 N; dicho desgaste se realizó a 50 °C por periodos de 10 a 180 min y se observaba la presencia de rugosidad, porosidad o cambio en la morfología de la superficie de los mismos, mediante un estereoscopio.

En el caso del tratamiento con HNO₃ 15 N, no se observó desgaste aparente en los alambres, por lo que este tratamiento fue descartado. Posteriormente se trataron los alambres con

HCl 12 N, presentando desgaste e incremento en la porosidad desde los 10 min, sin embargo, se observó una disminución considerable de su diámetro, por lo que se decidió realizar un tratamiento menos agresivo con HCl 5 N.

Después de la inmersión en la solución 5 N, los alambres presentaban desgaste y porosidad en todos los tiempos evaluados, lo cual era más evidente a partir de los 60 min, como se puede observar en la Figura 1. El desgaste de los alambres fue logrado con un ácido menos corrosivo en comparación con el HF reportado por Kang y colaboradores, aunque el tiempo del tratamiento fue más prolongado [11]. Las condiciones seleccionadas para el desgaste de los alambres se muestran en la Tabla 1. Como se mencionó anteriormente el uso de un adhesivo favorece el recubrimiento del soporte con el líquido iónico, por lo que inicialmente se evaluó la solubilidad de los adhesivos en diclorometano, acetona, tolueno y hexano, con la finalidad de disminuir su viscosidad, utilizando 1 g de adhesivo y cantidades de 0.25 a 1 mL de solvente, todas las mezclas fueron agitadas en vortex durante 1 min, en todos los casos la inspección de las pruebas fue visual. El Silicón F101 Sista fue insoluble en todos los solventes, por lo que fue descartado. El UHU y el Silicón Pelikan fueron solubles en diclorometano y acetona (1 g/0.50 mL), el pegamento Total Tech y el Cemento Amarillo fueron solubles en tolueno en condiciones de 1 g/0.75 mL y 1 g/1 mL, respectivamente. Posteriormente se probó la miscibilidad de estos compuestos al mezclarlos con el líquido iónico; para estos ensayos se mezcló 0.1 g de los diferentes adhesivos con 0.1 mL de líquido iónico, todas las mezclas fueron agitadas durante 1 min en vortex y su evaluación fue visual. El Cemento Amarillo formó un precipitado al estar en contacto con el líquido iónico, mientras que la mezcla del pegamento Total Tech no fue homogénea, por lo que estos adhesivos fueron descartados del estudio. Los adhesivos UHU y Silicón Pelikan formaron mezclas homogéneas con el líquido iónico, por lo que fueron seleccionados para continuar con el desarrollo de la fibra.

El recubrimiento de los alambres desgastados se realizó por el método de Inmersión–Aglutinación, de tal forma que se sumergieron 1.4 cm de longitud del alambre desgastado en las mezclas homogéneas de adhesivo y líquido iónico. Los ciclos de inmersión se evaluaron realizando 1 inmersión por 1 min, 3 inmersiones por 30 segundos cada una y 3 inmersiones de 1 min cada una. En todos los casos una vez recubiertos los alambres, se llevaron a sequedad por 1 h a temperatura ambiente y posteriormente se secaron durante 30 min a 40 °C en la estufa. La mezcla formada por el Silicón Pelikan y el líquido iónico formó una película sobre el alambre en todas las condiciones evaluadas, sin embargo el recubrimiento formado con 3 inmersiones de 1 min cada

una fue la de mayor homogeneidad tras la inspección visual. Mientras que la mezcla de UHU con líquido iónico, también fue capaz de formar una película sobre el alambre, siendo la condición de 3 inmersiones de 30 segundos la que resultó ser más homogénea, sin embargo, se observaba la formación de una gota de la mezcla en la parte distal del alambre, lo cual fue resuelto al añadir diclorometano a la mezcla antes del recubrimiento. En la Tabla 2 se resumen las condiciones óptimas de recubrimiento para las fibras de SPME. Al observar las fibras en el microscopio digital KEYENCE VHX-500, se pudo ver que las mezclas de los adhesivos con el líquido iónico eran capaces de formar una película delgada sobre la superficie de los alambres, como se puede notar en los incisos a) y b) de las microfotografías de la Figura 2.

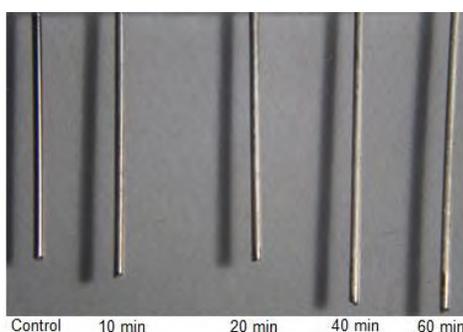


Figura 1. Alambres de 0.012 in, después del tratamiento con HCl 5 N a los diferentes tiempos evaluados.

Tabla 1. Condiciones de tratamiento para el desgaste de los alambres.

Tratamiento	
Sustancia	HCl 5N
Tiempo	60 min
Temperatura	50 °C
Longitud de desgaste del alambre	3 cm

De igual forma las fibras fueron observadas en el microscopio electrónico de barrido. En la Figura 3 inciso a), se muestran imágenes de las zonas evaluadas de la fibra fabricada con Silicón Pelikan, en donde se puede ver que el recubrimiento no era uniforme, ya que presenta 2 zonas con distinto espesor. La primera zona con un espesor promedio de 5.72 μm y la otra zona con un espesor promedio de 8.49 μm . De igual manera se evaluó la fibra de UHU, en la cual se pudo ver que el recubrimiento era uniforme, ya que solo se distingue una zona de recubrimiento con un espesor promedio de 7.12 μm . En la Figura 3 inciso b), se muestran imágenes obtenidas del recubrimiento de esta fibra y la medición del mismo. Shi y colaboradores desarrollaron un

recubrimiento en base al líquido iónico trifluorofosfato de tris(pentafluoroetilo) y mencionan que no fue posible determinar el espesor del recubrimiento debido a la forma líquida que posee el líquido iónico aun en la superficie del alambre [12], contrario a ellos, en este trabajo si fue posible medir el espesor del recubrimiento, debido probablemente a la presencia de los adhesivos como parte del recubrimiento; los cuales le confieren mayor adherencia al soporte metálico tal y como lo reportan He y colaboradores, los cuales desarrollaron un recubrimiento a base de líquidos y un elastómero de silicón que presentó un espesor de 55 μm [10], es importante destacar que el espesor conseguido por He y et al. es mayor al conseguido en este trabajo hasta el momento. Tomando en cuenta los resultados obtenidos en la microscopía electrónica en cuanto a la uniformidad y espesor de la película, se decidió seleccionar a la fibra de UHU para continuar con el resto del desarrollo experimental. Para una mejor manipulación de las fibras fabricadas estas fueron montadas en una jeringa de plástico de 1 mL, como se puede ver en la imagen de la Figura 4.

Tabla 2. Condiciones óptimas del proceso de recubrimiento sobre los alambres desgastados para fabricar la fibra de SPME.

Adhesivo (cantidad)	Líquido iónico DMIM-BF ₄	Solvente (cantidad)	Ciclos (inmersiones/duración)
Silicón Pelikan (0.2 g)	0.2 mL	-	3 inmersiones/1 min
UHU (0.2 g)	0.2 mL	Diclorometano (0.1 mL)	3 inmersiones/30 s

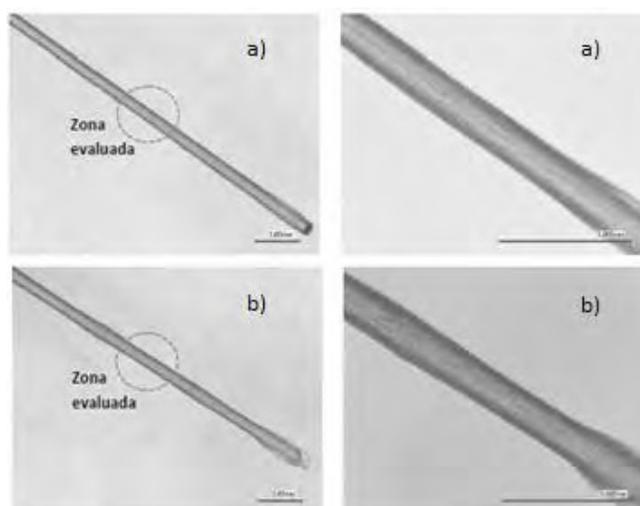


Figura 2. Microfotografías de: a) fibra con recubrimiento UHU+ DMIM-BF₄ y b) fibra con recubrimiento Silicón Pelikan+ DMIM-BF₄.

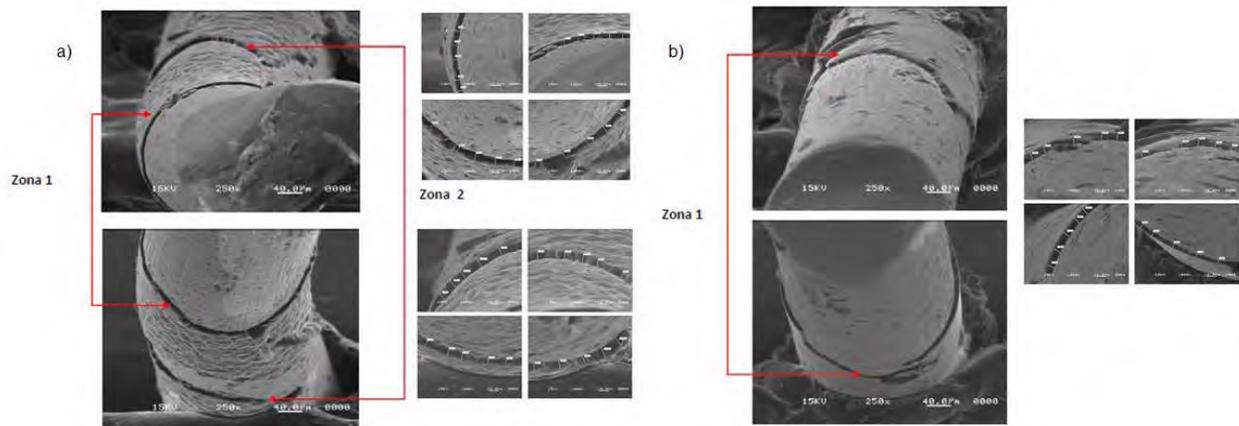


Figura 3. Electromicrofotografías de: a) fibra a base de Silicón Pelikan/DMIM-BF₄, en donde se puede observar la zona de recubrimiento, así como la medida de su espesor y b) fibra a base de UHU/DMIM-BF₄, en donde se puede observar la zona de recubrimiento, así como la medida de su espesor.



Figura 4. Montaje de la fibra fabricada en una jeringa de 1 mL.

CONCLUSIONES

Se fabricó una fibra de SPME con soporte metálico desgastado con HCl 5 N, con un recubrimiento en base al líquido iónico tetrafluoroborato de 1-decil-3metilimidazolio y el adhesivo comercial UHU. Dicha fibra presenta una buena estabilidad mecánica, buena adherencia y uniformidad del recubrimiento, el cual presentó un espesor promedio de 7.12 μm .

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por los Fondos: PRODEP 2016 (Folio: UANL-PTC-935), Ciencia Básica 2015 del CONACYT (Clave 256711) y PAICyT 2015 (Clave: CE340-15).

REFERENCIAS

- [1] Pawliszyn, J. Solid Phase Microextraction. Theory and practice; USA, 2010. [2] Mehdinia, A.; Aziz Z., M. O. TrAC. **51**, 13–22 (2013).
- [3] Souza, E. A.; Risticvic, S.; Pawliszyn, J. TrAC. **43**, 24–36 (2013).
- [4] Xu, J.; Zheng, J.; Tian, J.; Ouyang, G. TrAC. **47**, 68–83 (2013).
- [5] Ho, T. D.; Hantao, L. W.; Anderson, J. L. Anal. Chem. **86**, 262–285 (2014). [6] Poole, C. F.; Lenca, N. TrAC. **71**, 144–156 (2015).
- [7] Aguilera, H. E.; Lucena, R.; Cárdenas, S.; Valcárcel, M. TrAC. **29**, 602–616 (2010).
- [8] Aziz, Z. M. O.; Mehdinia, A. Microchim. Acta. **181**, 1169–1190 (2014).
- [9] Huang, K. P.; Huang, B. Y.; Liu, C. Y. Anal. Chim. Acta. **645**, 42–47 (2009). [10] He, Y.; Pohl, J.; Thomas, M. J. Chromatogr. A. **1216**, 4824–4830 (2009).
- [11] Kang, H; Mao, Y. Wu, J. RSC Adv. **5**, 41934–41940 (2015).
- [12] Shi, F.; Liu, J.; Liang, K.; Liu, R. J. Chromatogr. A. **1447**, 9–16 (2016)

ELECTROFORESIS CAPILAR: SEPARACIÓN DE ISÓMEROS OXIDADOS DE LOS HIDROXIBENZALDEHÍDOS

Guadalupe Albarrán Sánchez
Edith Mendoza Villavicencio¹

INTRODUCCIÓN

La electroforesis capilar (EC) cuenta con la potencialidad de separar todo tipo de compuestos, moléculas orgánicas e inorgánicas, pequeñas y grandes, ionizadas o neutras [1, 2]. Por otro lado, actualmente se realizan muchos estudios sobre los efectos químicos de reacciones de oxidación que se llevan a cabo por procesos de oxidación avanzados (AOPs) en sistemas acuosos, para la descontaminación de aguas, de tal forma que estos métodos han abierto muchas posibilidades para el estudio de síntesis y degradación de compuestos orgánicos mediante reacciones con el radical hidroxilo ($\bullet\text{OH}$) [3-6]. Los métodos que frecuentemente se utilizan para producir este radical son los siguientes: Reacción Fenton, fotocatalisis, UV-peróxidos, sonólisis, radiólisis, entre otros. En los procesos de oxidación avanzada el radical OH ataca a las posiciones libres y sustituidas de los compuestos orgánicos contaminantes. Por lo que se producen varios compuestos oxidados, los cuales algunos de ellos son isómeros y por ello presentan características tanto físicas como químicas muy similares, estas propiedades hacen que los productos oxidados formados sean difíciles de separar. El objetivo en este estudio es obtener una buena separación de los isómeros y otros compuestos formados en los AOPs de los tres isómeros de hidroxibenzaldehídos (HBAL) ya que son muy dañinos en el ambiente acuático, estos están presentes porque son precursores de productos farmacéuticos y cosméticos. Así que se esperan los isómeros dihidroxibenzaldehídos

¹ Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Ciencias Nucleares, Av. Universidad 3000, Circuito Exterior, Cd. Universitaria, 04510. Cd. de México. Teléfono +52 (55) 5622-4674. Fax: +52 (55) 5623-3777. e-mail: albarran@nucleares.unam.mx

(DHBAL) y otros productos oxidados formados. Además, de la identificación y cuantificación de cada uno de los compuestos producidos.

EXPERIMENTACIÓN

- Reactivos. - Los 2-, 3- y 4-HBAL, DHBAL, catecol (CAT), resorcinol (RES), hidroquinona (HQ), dodecil sulfato de sodio (SDS), todos fueron de la más alta pureza, metanol (CHROMASOLV) grado CLAR, todos éstos fueron adquiridos en Aldrich. Las soluciones amortiguadoras de boratos pH 9.3 y fosfatos pH 7.0 de 50 mmol/dm³ fueron adquiridas en Agilent Technologies. El agua utilizada, en todos los experimentos y en las disoluciones patrón fue obtenida de un purificador compacto Milli-Q Plus (Millipore), Water System.
- Preparación de las muestras. - Se prepararon disoluciones 1 mmol/dm³ de los HBAL, de cada disolución se tomaron alícuotas de 3 cm³ y se colocaron en viales especiales para el tratamiento de oxidación.
- Análisis de las muestras. - Inmediatamente después de la reacción de oxidación, las muestras fueron analizadas en un equipo de electroforesis capilar de alta resolución, que tiene acoplado un detector de UV-visible de arreglo de diodos, marca Agilent 1600-3D. Para la separación se utilizó una columna capilar y celda de alta sensibilidad de 72 cm y

8.5 cm de la salida del detector con un diámetro interno de 75 µm. Se aplicó un alto voltaje y el tipo de inyección fue hidrodinámica, como solución amortiguadora se utilizó boratos o fosfatos y para la formación de micelas se usó el surfactante SDS.

Cualificación y cuantificación. - Cada uno de los productos oxidados fue identificado usando compuestos auténticos, comparando su espectro de absorción de radiación UV y su tiempo de migración. La cuantificación se realizó mediante la preparación de disoluciones patrones en un intervalo de concentración entre 0 y 100 µmol/dm³ de cada uno de los productos oxidados. Así se realizaron las curvas de calibración y con éstas se determinó las sensibilidades (S_{λ}) de cada compuesto mediante gráficas del área del pico electroforético, determinadas en el máximo de longitud de onda de su espectro de UV, en función de la concentración para cada uno de los productos oxidados formados después de un tratamiento, usando la siguiente ecuación $S_{\lambda} = A_{\lambda} /$

[Q], donde A se determinó a partir del área de los picos de un producto oxidado en particular y de concentración conocida [Q].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Inicialmente en los tres isómeros del hidroxibenzaldeído se usó una solución amortiguadora de boratos 10 mmol/dm³ con pH 9.3, 50 mmol/dm³ de SDS y un voltaje de 25 kV.

Para lograr una buena separación de todos los compuestos que se presentan en los esquemas 1, 2 y 3, fue necesario variar los parámetros como voltajes (de 15 a 25 kV), temperatura (de 15 a 25 °C), solución amortiguadora (fosfatos y boratos), pH de la solución (7 a 9.3), concentración de la solución amortiguadora (10 a 50 mmol/dm³), adición de modificadores (metanol, acetonitrilo, SDS), modo de electroforesis capilar (electroforesis por zona y cromatografía electrocinética micelar), diferentes concentraciones de SDS (0 a 75 mmol/dm³). Cada uno de los experimentos de oxidación se realizó por triplicado, siendo los resultados repetibles.

2-Hidroxibenzaldeído

En la figura 1 se presenta la reacción de oxidación del 2-HBAL mediante el radical OH. El análisis muestra seis productos aparentemente, aunque únicamente cinco productos fueron esperados. El 2-HBAL produce cuatro isómeros de posición y otro compuesto oxidado. Los cuatro isómeros se forman por el ataque del radical hidroxilo a las posiciones libres de anillo aromático, el quinto compuesto se forma por una reacción de sustitución del radical a la posición del grupo funcional aldehído dando como resultado la formación del CAT, este producto se forma gracias a que el grupo -OH es fuertemente activante y orientador orto-para.

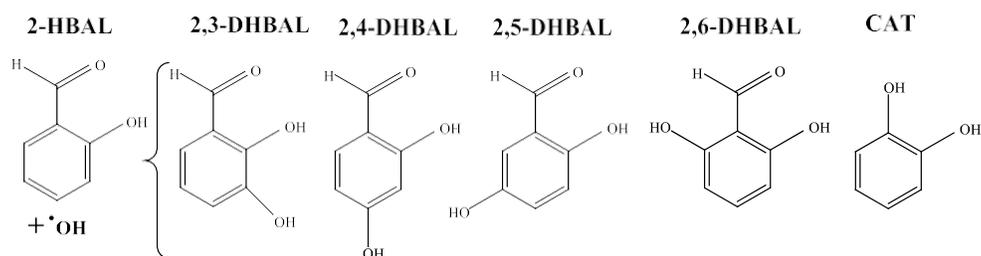


Figura 1. Reacción de oxidación del 2-HBAL.

Cada uno de estos compuestos fue bien separado e identificado por sus tiempos de migración y sus espectros en la región ultravioleta, comparados con muestras patrón. La separación se realizó usando una solución amortiguadora de boratos 10 mmol/dm^3 a pH 9.3, 50 mmol/dm^3 de SDS y 22 kV, generándose una corriente de $35 \mu\text{A}$. De las condiciones iniciales, el voltaje se modificó para tener una mejor resolución. La Figura 2 muestra la separación de estos compuestos oxidados.

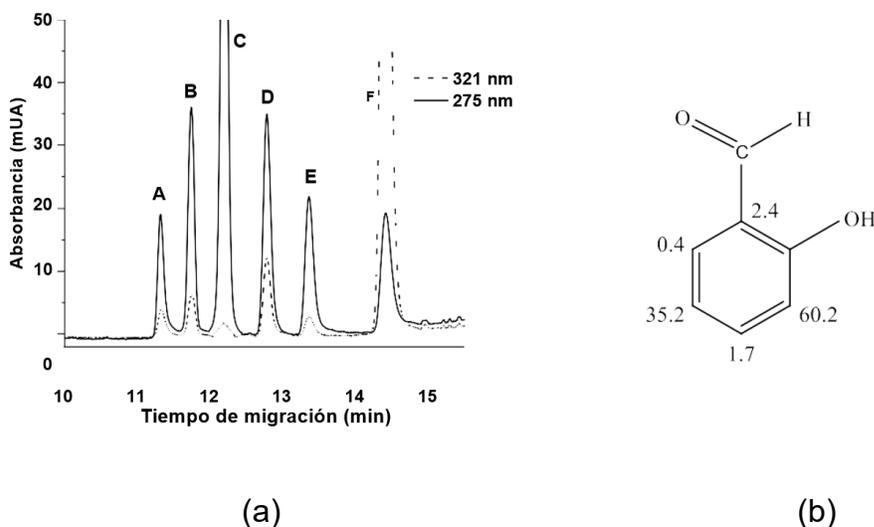


Figura 2. a) Electroferograma de los productos oxidados por el ataque del radical OH al 2-HBAL. La separación corresponde a: A) 2,5-DHBAL, B) 2,3-DHBAL, C) CAT, D) 2-HBAL, E) 2,6-DHBAL y F) 2,4-DHBAL. b) En la molécula se representa en porcentaje formado en las diferentes posiciones de ésta.

La eficiencia calculada fue mayor a 92,000 platos teóricos y la resolución como se puede observar es mayor a uno. Estos parámetros nos permitieron realizar una cuantificación adecuada.

3-Hidroxibenzaldehído

De la misma forma que el 2-HBAL, el 3-HBAL mostró seis picos que corresponderían a cinco productos oxidados Figura 3. De éstos, los cuatro DHBALs eran los predominantes y el resorcinol se formó en nivel de trazas, ya que el sustituyente -OH en el anillo está en posición meta al grupo aldehído, siendo que el grupo -OH es un fuerte orientador orto- para.

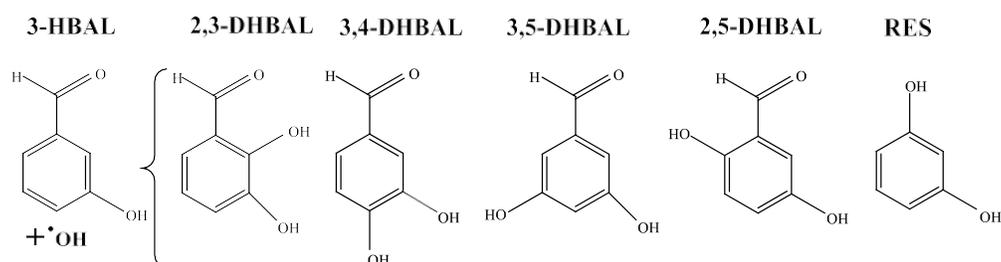


Figura 3. Productos esperados en la oxidación del 627-HBAL en solución

La separación inicial se realizó con todos los compuestos esperados como se muestra en el electroferograma de las figuras 4 y 5.

La separación de los productos oxidados del 3-HBAL fue difícil usando las condiciones iniciales, ya que de seis compuestos únicamente se observaban cinco picos con mala resolución, el último pico contenía dos compuestos que presentaban un tiempo de migración idéntico y sus espectros en UV se sumaban, además que éstos eran muy semejantes, por lo que no se podía usar diferentes longitudes de onda para identificar a cada uno de ellos. (Figura 4).

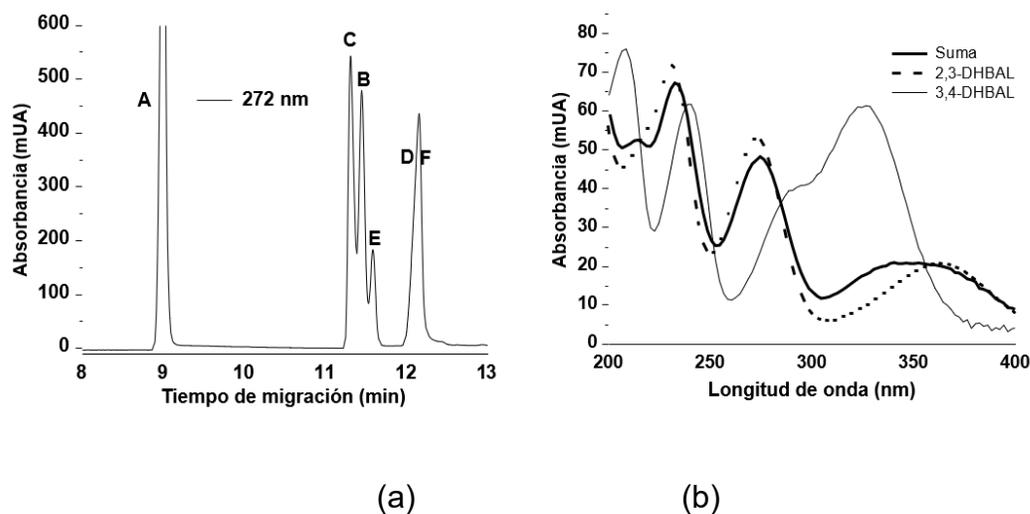


Figura 4. a) Electroferograma de la separación de los productos oxidados del 3-HBAL. Los picos corresponden a A) RES, B) 3,5-DHBAL, C) 2,5-DHBAL, D) 3,4-DHBA, E) 3- HBAL, F) 2,3-DHBAL. b) Espectros UV de: suma de los dos espectros de D y F, D) 3,4- DHBA y F) 2,3-DHBAL.

Así que fue necesario realizar muchas pruebas cambiando todos los parámetros que se tienen. Finalmente se logró una separación adecuada utilizando una solución de fosfatos a pH 7 de concentración 10 mmol/dm^3 y 75 mmol/dm^3 de SDS, un 5 % de metanol como aditivo y 23 kV, donde se obtuvo una corriente de $50 \mu\text{A}$. El modo usado fue cromatografía electrocinética micelar. La Figura 5 muestra la separación de estos compuestos obtenidos de una solución oxidada. En el pH 7 todos los compuestos son neutros, esto hace que en el caso particular del 3-HBAL se requiera de una mayor concentración de SDS para mejorar la constante de distribución con ello optimizar la movilidad de los productos oxidados. Además, para conseguir la óptima separación se probó con aditivos y la mejor separación fue agregando metanol.

En este caso, la eficiencia calculada fue en el intervalo de 85,000 a 100,000 platos teóricos y la resolución fue bien definida, aunque esta separación fue difícil por lo que los picos no presentaron una buena simetría debido a una alta conductividad de los compuestos, sin embargo, se realizó la cuantificación muy bien y con gran repetibilidad.

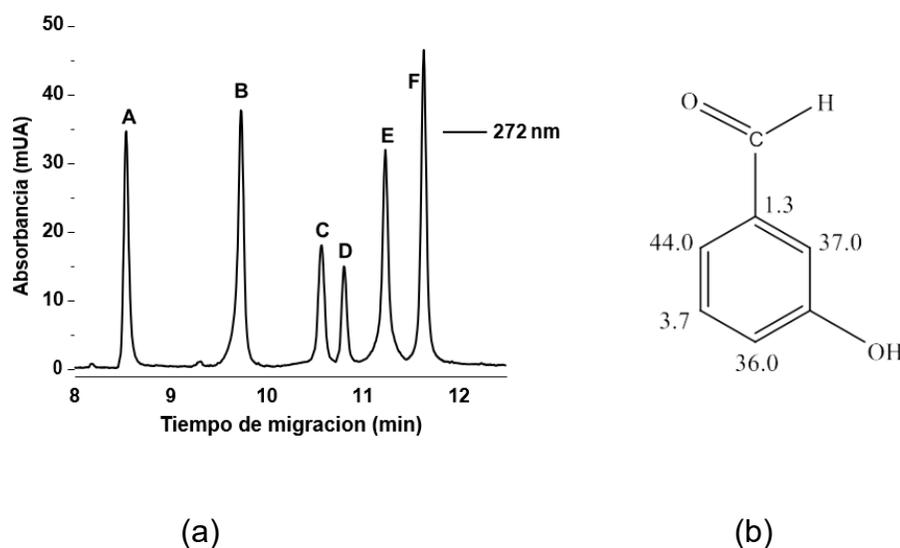


Figura 5. a) Electroferograma de la separación de los productos oxidados del 3-HBAL. Los picos corresponden a A) RES, B) 3,5-DHBAL, C) 2,5-DHBAL, D) 3,4-DHBA, E) 3-HBAL, F) 2,3-DHBAL. b) La molécula presenta las concentraciones de cada producto en $\mu\text{mol/dm}^3$ de un tratamiento donde se administró una energía de 250 J/kg .

4-Hidroxibenzaldehído

Para el caso del 4-HBAL, se obtienen menos compuestos ya que éste es simétrico. Así que el 3,4-DHBAL se forma en gran cantidad, puesto que la posición 3 está libre y es adyacente al grupo -OH (posición orto), mientras que la posición 4 (posición meta) no es muy atacada por el radical OH. La reacción de sustitución se lleva a cabo en mayor proporción que la reacción de adición a la posición 3, puesto que es una posición para al grupo funcional -OH.

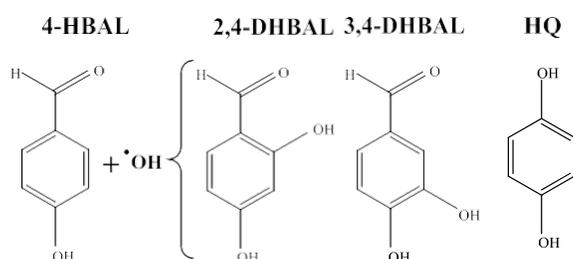


Figura 6. Productos esperados de la oxidación del 4-HBAL en solución acuosa.

En el caso de la separación de los compuestos oxidados a partir del 4-HBAL, este no fue difícil ya que son menos los productos oxidados y con la experiencia obtenida con el 2-HBAL. La separación se hizo con las condiciones iniciales y no hubo necesidad de cambiar el voltaje aplicado para obtener una resolución excelente y una eficiencia muy buena, ya que los picos fueron simétricos, razón por lo cual la movilidad de estos compuestos fue moderada. Considerando el área bajo la curva en el electroferograma fue posible obtener la concentración de los productos formados en función de la energía absorbida.

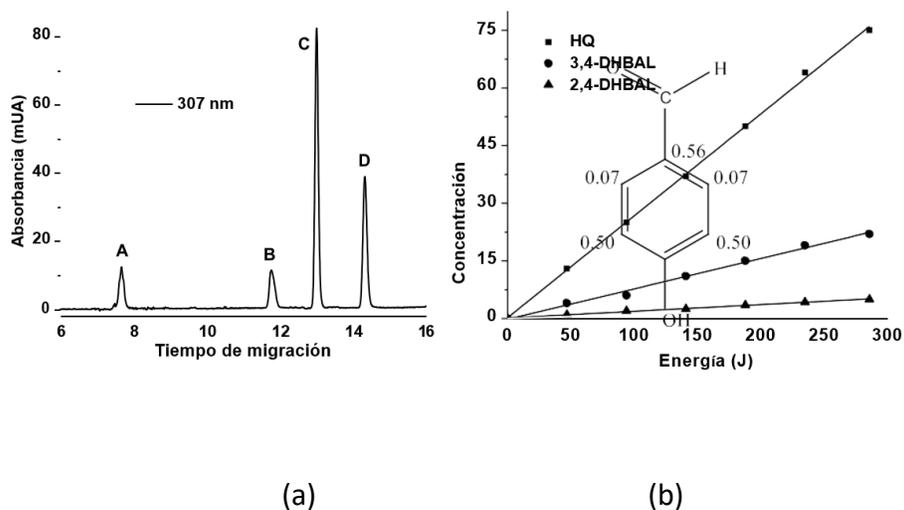


Figura 7. a) Electroferograma de los productos oxidados de una solución diluida de 4-HBAL. Los picos corresponden a A) HQ, B) 3,4-DHBAL, C) 4-HBAL y D) 2,4-DHBA. b) Gráfica de la concentración en función de la energía absorbida. c) Molécula que indica la proporción en que se forman los productos.

CONCLUSIONES

La electroforesis capilar como método de separación en este estudio produjo resultados exitosos, el cual permitió identificar, y cuantificar muy bien a todos los productos oxidados de los hidroxibenzaldehídos en solución acuosa, por lo que es un método aplicable para estudios de AOPs, siguiendo la formación de los productos oxidados y la total destrucción de ellos.

El modo de separación de cromatografía electrocinética micelar permitió discernir la proporción de ataque del radical OH, permitiendo distinguir las reacciones de adición y sustitución. La eficiencia fue alta y la resolución fue aceptable para la cuantificación de cada compuesto oxidado.

Las ventajas encontradas en el método son que las soluciones amortiguadoras usadas para la separación son de su bajo costo y fácilmente preparadas en el laboratorio, además, de que se usan cantidades pequeñas para los análisis. Otras ventajas de la EC son su alta eficiencia y que los análisis se realizan en tiempos cortos, la cantidad de muestra inyectada es del orden de nL.

AGRADECIMIENTOS

Al Fís. Francisco García por la irradiación de las muestras.

REFERENCIAS

- [1] P. S. Bonato, V.A.P. Jabor, *Quim. Nova*, **28**, 683-691 (2005).
- [2] M. Wasielewska, A. Banel. y B. Zygmunt. *Int. J. Environ. Sci. Develop.* **5**, 414-425 (2014)
- [3] M. Torun, D. Solpan, O. Guven. *Hacettepe J. Biol. Chem.* **42**, 115-127 (2014).
- [4] B. Garza-Campos, E. Brillas, A. Hernández-Ramírez, A. El-Ghenymy, J.L. Guzmán- Mar, E.J. Ruiz-Ruiz. *J. Hazard. Mater.* **319**, 34-42 (2016).
- [5] L. Szabó, T. Tóth, R. Homlok, E. Takács, L. Wojnárovits. *Radiat. Phys. Chem.* **81**, 1503-1507 (2012).
- [6] G. Albarrán, E. Mendoza. *Radiat. Phys. Chem.* **147**, 27-34 (2018).

ANTIOXIDANTES NATURALES Y SU PODER REDUCTOR FRENTE A IONES PLATA

Lidia Meléndez Balbuena*
Dulce María Torres Mentado
Alejandra Castro Lino
Ismael Soto López
Blanca Martha Cabrera Vivas
Guadalupe López Olivares
Ana Lilia Padilla Velasco¹

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha incrementado el interés en la búsqueda de antioxidantes naturales, generalmente constituidos por mezclas de compuestos con elevada diversidad molecular y funcionalidad biológica, extractos vegetales contienen antioxidantes, entre los cuales los más importantes son los compuestos polifenólicos [1] y los flavonoides, compuestos con alta capacidad antioxidante y bajos potenciales redox, los bajos potenciales redox de estos antioxidantes hacen termodinámicamente favorable la reducción de la gran mayoría de radicales libres y algunos metales. [2] Los flavonoides y los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de muchas plantas, y juegan un papel fundamental en la variación de la actividad antioxidante. Se han clasificado en distintos grupos según el número de átomos de carbono y la estructura de su esqueleto base, siendo el uso de extractos vegetales es una opción para la recuperación, de metales ya que ellos contienen en su estructura poderosos antioxidantes como los compuestos polifenólicos y los flavonoides, capaces de reducir a los iones metálicos a metales. [3]

En este sentido, y tomando en cuenta la gran diversidad de vegetales que existen, así como su disponibilidad y que no solo disminuirían los costos de los procedimientos químicos, si no también sería un procedimiento más amigable con el entorno, sin olvidar el aporte de la

¹ Universidad Autónoma de Puebla. Facultad de Ciencias Químicas. Área de Química Inorgánica. Avenida San Claudio y 18 sur, Colonia San Manuel, Ciudad Universitaria. Puebla, Pue. C.P. 75570 Tel: 22 29 55 00. e-mail: lmbalbuena@hotmail.com.

investigación en la química, el objetivo de este trabajo de investigación fue utilizar los extractos vegetales del diente de León (*Taraxacum officianale*), perejil (*Petroselinum crispum*) y el té negro (*Camellia sinensis*), como agentes reductores de la plata de su forma iónica a su forma metálica. Se identificó cualitativamente la presencia de polifenoles en los extractos vegetales, responsables de su propiedad como antioxidantes y se cuantificó el rendimiento de la plata obtenida con cada uno de los extractos vegetales utilizados. [4]

La reducción de la plata iónica a plata metálica se llevó a cabo a partir del compuesto de coordinación diaminplata(I), preparado de la reacción química entre el cloruro de plata y el hidróxido de amonio. La adición de los extractos vegetales a este compuesto de coordinación propicio la reducción de la plata en forma iónica a plata metálica.

EXPERIMENTACIÓN

Los vegetales utilizados fueron diente de León (*Taraxacum officianale*), perejil (*Petroselinum crispum*) y el té negro (*Camellia sinensis*), adquiridos en el mercado de la Ciudad de Puebla. Los extractos vegetales fueron preparados utilizando 1.0 g de cada uno de ellos (Diente de león, perejil y hierbabuena) en 100 ml de agua destilada en ebullición, hasta obtener un volumen de 70 ml, esta infusión se filtra y se deja enfriar. Se utilizó agua porque tiene una elevada capacidad de extracción de polifenoles y no presenta toxicidad [3]. Los extractos se almacenaron a 4°C.

La identificación de compuestos fenólicos, flavonoides y taninos, se llevó a cabo a través de los ensayos: Shinoda para Flavonoides (Una coloración rosada, roja, violeta o naranja indican una prueba positiva), ensayo del FeCl_3 para compuestos fenólicos (un color verde, azul o negro la prueba se considera positiva) y el ensayo de la gelatina-sal para taninos (precipitado verde, azul o negro la prueba se considera positiva). [4]

Preparación del diaminplata(I) a partir de AgCl : Se utilizó 1.5 g de cloruro de plata que fue tratado con una disolución de hidróxido de amonio al 30%, con la finalidad de obtener el diaminplata(I).[5]

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La figura 1 muestra la fotografía de los extractos acuosos preparados, como se puede observar presentan diferentes tonos de coloración muy probablemente esto es debido a su diferente composición química de cada uno de ellos.



Figura 1. Extractos acuosos de los vegetales utilizados.

La identificación de los polifenoles presentes en los extractos dio positiva en todos los casos, mostrando los cambios de color, así como la presencia de precipitados debido a la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides y taninos. En la figura 2, se observa la imagen de las pruebas poniendo en evidencia la presencia de polifenoles.

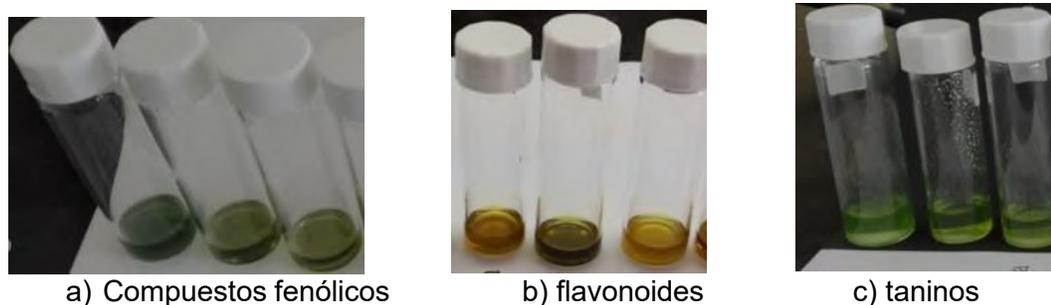
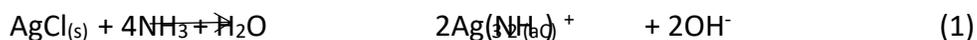
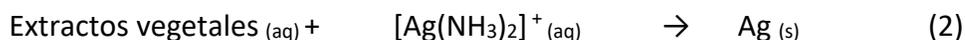


Figura 2. Pruebas químicas cualitativas de la presencia de polifenoles.

La reacción química que se llevó a cabo en la preparación del diaminplata(I), se muestra en la ecuación 1 [5].



La adición de 10 ml de los extractos preparados al diaminplata(I) origina que los iones plata se reduzcan a plata metálica, esto es debido a que $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ es un oxidante muy débil que reacciona en el transcurso de 15 min con los componentes de los extractos vegetales, la plata formada se depositó en el fondo del recipiente como resultado de la reducción de la plata de Ag^{1+} a $\text{Ag}^0_{(s)}$, se muestra en la ecuación 2 la reacción química [6].



La plata en forma metálica se precipitó al fondo del recipiente, se filtró y se lavó cuatro veces con 5 ml de agua, finalmente fue pesada. Esta operación se llevó a cabo con cada uno de los extractos, hierbabuena, diente de león y perejil. La figura 3 muestra la plata precipitada en el fondo del recipiente, así como la plata obtenida en el papel filtro, para el caso del uso del extracto de hierbabuena, se obtiene una plata limpia con aspecto brillante.



Figura 3. Plata en el fondo del recipiente y en el papel filtro

La plata precipitada se obtiene en forma de hojuelas y polvo muy fino, fue necesario lavar varias veces debido a que quedaban residuos de los extractos utilizados, muy probablemente subproductos que se formaron en el transcurso de la reacción. La figura 4, muestra la apariencia de la plata recuperada con cada uno de los extractos acuosos.

La plata obtenida a partir de 1.5 g AgCl utilizando los extractos vegetales fue pesada para cada uno de los casos, la plata recuperada con el extracto *Petroselinum crispum* fue de 0.8816 g, *Taraxacum officianale* de 1.0238 g y para *Camellia sinensis* 0.9623 g. Los resultados revelan que el extracto acuoso del *Taraxacum officianale* mostro mayor capacidad para reducir la plata iónica a plata metálica.

En la tabla 1, se muestran las cantidades de plata obtenida en cada una de las muestras utilizadas, y los rendimientos.



a) Perejil b) Diente de león c) té negro

Figura 4. Aspecto de la plata obtenida con cada uno de los extractos.

Tabla 1. Cantidad de plata recuperada de 1.5 g de AgCl.

Extractos acuosos	Plata recuperada (g)	Porcentaje de plata recuperada.
<i>Petroselinum crispum</i>	0.8816	78.09 %
<i>Taraxacum officianale</i>	1.0238	90.69%
<u><i>Camellia sinensis</i></u>	0.9623	85.26 %

CONCLUSIONES

Los resultados muestran la capacidad antioxidante de los extractos vegetales en los tres casos. La cantidad de plata obtenida en forma metálica fue mayor para el caso del diente de León, mostrando mayor eficacia como agente antioxidante. La plata obtenida es una plata limpia y brillante, con un rendimiento aceptable, que depende de cada uno de los extractos utilizados y de los componentes de cada uno de ellos.

En conclusión, el uso de extractos vegetales acuosos en la recuperación de la plata contenida en las placas radiográficas resulta una opción eficiente de bajo costo y amigable con el medio ambiente que se enmarca en la denominada “química verde”. Este método ofrece vastas posibilidades teniendo en cuenta la gran diversidad de plantas con amplia variedad de metabolitos que incluyen agentes reductores y estabilizantes en su composición.

En virtud de estos resultados se plantea seguir los estudios con otros tipos de extractos vegetales, así como investigar las cantidades de extracto y los tiempos de reducción óptimos.

REFERENCIAS

- [1] V. Makarov, S. Makarova, A. J. Love. Biosynthesis of Stable Iron Oxide Nanoparticles in Aqueous Extracts of *Hordeum vulgare* and *Rumex acetosa* Plants. *Langmuir.*, **30** [20], 5982–5988 (2014).
- [2] R. M. Han, J. P. Zhang, L. H. Skibsted. Reaction Dynamics of Flavonoids and Carotenoids as Antioxidants. *Molecules.*, **17**, 2140-2160 (2012).
- [3] M. Naczek, F. Shahidi. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm Biomed. Anal.*, **41**: 1523-1542 (2006).
- [4] L. V. García, D. M. Rojo, E. Sánchez. “Plantas con propiedades antioxidantes”. *Revista Cubana de Investigación Biomédica* **20** [3]: 231-235 (2001).
- [5] A. D. Skoog A.D., West, M. D., Holler, F. J., Crouch, S. R. Fundamentos de química analítica. 8ª. Ed. CENGAGE. Learning (2010).
- [6] J. S. Phillips, S. Strozak, et al. Química conceptos y aplicaciones. Mc Graw-Hill. México, (2000)
- [7]. I. Ignat, I. Volf, V. I. Popa. A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem.*, **126**, 1821-1835 (2011).

ESTUDIO ELECTROQUÍMICO ANALÍTICO DEL ÁCIDO CLOROGÉNICO EN EXTRACTO DE GRANOS VERDES DE CAFÉ

Ángel de Jesús Álvarez Romero¹
Gerardo Reyes García¹
Margarita Reyes Salas²
Edgar Islas Ortiz¹
Octavio Reyes Salas^{1*}

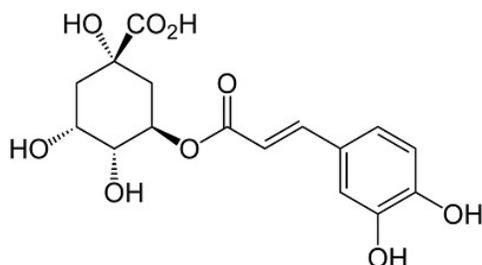
INTRODUCCIÓN

En los últimos años los ácidos clorogénicos han tenido gran atención, ya que existen variados artículos en donde se ponen de manifiesto sus cualidades antioxidantes, antiinflamatorias y otras actividades biológicas en pruebas in vitro de gran interés científico; inclusive, existen patentes donde se describe el procedimiento de aislamiento de estos compuestos [1,2]. Sin embargo, estudios dedicados a la cuantificación de estos compuestos en sus fuentes naturales son escasos y la mayoría emplea métodos de tipo cromatográfico o espectrofotométrico [3,4,5] que son métodos buenos pero costosos y laboriosos. En este sentido, este trabajo propone una metodología de cuantificación basada en la electroquímica que presenta excelentes cualidades analíticas [1,6].

Ácidos clorogénicos es el nombre trivial que se usa para definir a un tipo mayoritario de compuestos fenólicos encontrados en el café; su nombre proviene del griego $\chi\lambda\omega\rho\acute{o}\varsigma$ (verde ligero) y $-\gamma\acute{\epsilon}\nu\omicron\varsigma$ (que crea), debido a que los extractos toman un color verde al ser oxidados. El compuesto más representativo y que recibe el nombre común de ácido clorogénico es el ácido 3-(3,4-Dihydroxycinnamoyl) quínico que tiene la siguiente estructura:

¹ Universidad Nacional Autónoma de México. Depto. de Química Analítica. Laboratorio 114 DEPg. Facultad de Química. Ciudad Universitaria. 04510 Cd. México (55) 56223787 e-mail: oresal@unam.mx, Octavio_reyessalas@yahoo.de.

² Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Geología. Ciudad Universitaria. 04510 Cd. México



Estructura del ácido 3-(3,4-dihidroxicinamoil) quínico

Con un peso molecular de 354.31g/mol y un pKa reportado de 3.33, este compuesto y otros isómeros similares (ésteres de ácidos ferúlicos, cumáricos, caféicos y quínicos) que se encuentran en muchas plantas que se aprovechan como alimento o por sus propiedades medicinales como por ejemplo en granos verdes de café. Tienen una resistencia térmica relativamente baja por lo cual se degradan durante el tostado y los productos de degradación se añaden a otros compuestos volátiles que enriquecen el aroma y sabor de la bebida. Es mayormente soluble en agua, etanol y metanol y mezclas de estos, pero insoluble en disolventes poco polares.

El objetivo del presente trabajo es establecer condiciones de aplicación de métodos analíticos electroquímicos para conocer la concentración del ácido clorogénico en un extracto de granos verdes de café.

EXPERIMENTACIÓN

Las curvas de intensidad de corriente contra potencial del estudio electroquímico del ácido clorogénico se trazaron usando el programa Voltmaster 4 versión 4.09 y el analizador polarográfico Voltalab 150 en conjunto con el stand MDE POL150 de Radiometer. Como electrodo de trabajo se utilizó el electrodo goteante de mercurio, como electrodo de referencia un electrodo de Ag/AgCl y como electrodo auxiliar un electrodo de platino. Las valoraciones potenciométricas se realizaron con un Potenciómetro Metrohm 827 pH lab y un electrodo combinado de vidrio usando una disolución estandarizada de NaOH 0.048 mol/L para titular al ácido clorogénico. Como electrolitos soporte se emplearon disoluciones acuosas de KNO₃ y de NaCH₃COO 0.5 mol/L como electrolito soporte, estas disoluciones fueron desoxigenadas por burbujeo de nitrógeno. El estudio previo se realizó con ácido clorogénico grado reactivo analítico Sigma-Aldrich y la cuantificación se realizó en un extracto de granos verdes de café de Coatepec, Veracruz; el café se molió hasta

tener un polvo fino y por medio de un equipo Soxhlet se obtuvo un extracto acuoso que se llevó al aforo a 100.0 mL con agua desionizada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como el clorogénico es un ácido orgánico se le realizó una valoración ácido base para determinar la concentración de la disolución y comprobar la pureza del reactivo; se utilizó una disolución de NaOH 0.048 mol/L estandarizada con biftalato de potasio. De esta valoración se obtuvo la siguiente curva.

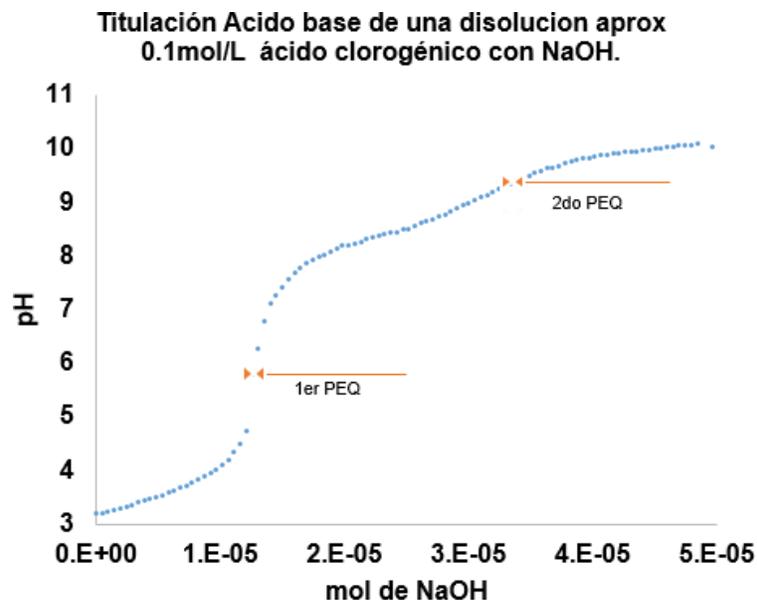


Figura 1.- Valoración de 1.0 mL de disolución de ácido clorogénico \cong 0.01mol/L con NaOH 0.048mol/L.

Si se considera la estructura del ácido clorogénico se puede observar que posee 3 protones ácidos, uno proveniente de un ácido carboxílico con un pKa reportado de 3.33 y dos protones fenólicos de los cuales no se tienen datos reportados. Por la cantidad de mol gastada en ambos puntos a la equivalencia suponemos que el primer salto corresponde al ácido carboxílico y el segundo a los 2 protones fenólicos. Los saltos de potencial se determinaron por el método de primera derivada, el primero en 1.26×10^{-5} mol NaOH (pH de 6.0) y el segundo a 3.48×10^{-5} mol NaOH (pH de 9.5). La pureza determinada del reactivo con estos datos es de 99.5% y la concentración de la disolución es de 0.011mol/L.

En el estudio electroquímico, los mejores resultados para la determinación del ácido clorogénico se obtuvieron en el electrolito soporte de acetatos (NaCH_3COO 0.5 mol/L) ya que aquí se observó mejor definición de las señales. Se observan dos señales una de ellas que probablemente corresponda a la oxidación del mercurio en presencia del ácido clorogénico y una señal en reducción; esta señal de reducción puede estar asociada a la producción de hidrógeno debido a la reducción del protón más ácido del clorogénico, ya que se sitúa en un potencial similar a la de otros ácidos carboxílicos.

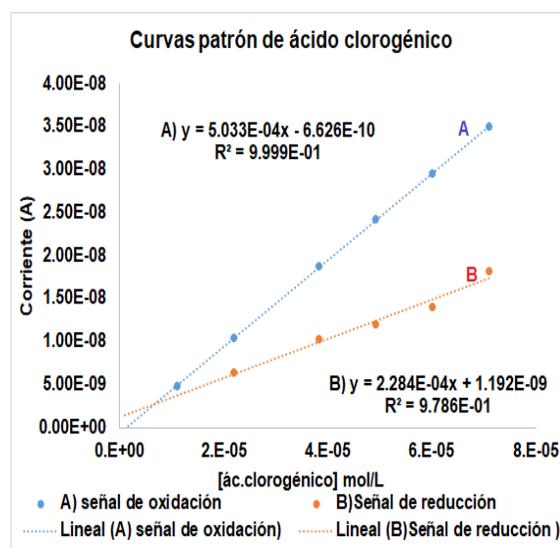
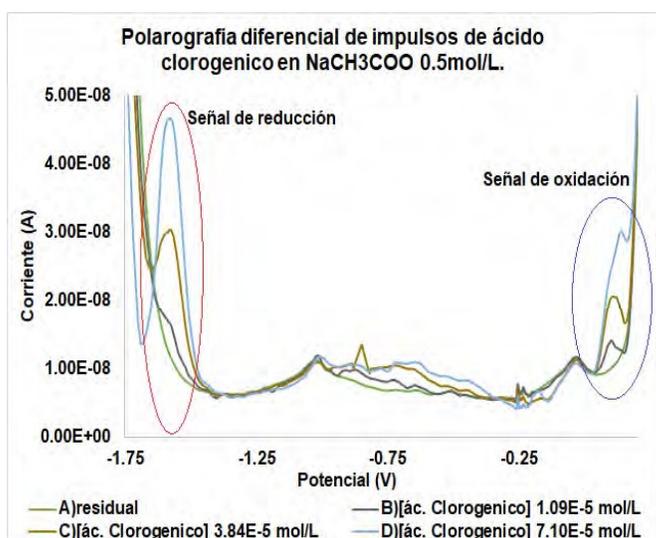


Figura 2.- Polarogramas diferenciales de impulsos (PDI) a distintas concentraciones de ácido clorogénico en medio acuoso con NaCH_3COO 0.5mol/L.

Figura 3.- Curvas patrón de las mediciones de corriente en polarografía diferencial de impulsos (PDI) de las señales de oxidación (B) y reducción (A) del ácido clorogénico.

A continuación, se muestran los datos de límite de detección y cuantificación para estas curvas. Para el cálculo del límite de detección (LDD) y el límite de cuantificación (LDC) es necesario evaluar la corriente calculada (i_c), así como obtener la desviación estándar

$$i_c = m(C_{Ni(II)}) + b ; \quad s_{i/c} = \sqrt{\frac{\sum(i_e - i_c)^2}{n-2}} ; \quad LDD = \frac{3s_{i/c}}{m} ; \quad LDC = \frac{10s_{i/c}}{m}$$

Tabla 1.- Límite de detección (LDD) y límite de cuantificación (LDC) de las dos señales polarográficas del ácido clorogénico.

Señal	LDD (mol/L) del ácido clorogénico.	LDC (mol/L) del ácido clorogénico.
Oxidación ($E_p=+0.130$ V)	1.41×10^{-6}	1.95×10^{-5}
Reducción ($E_p=-1.570$ V)	1.80×10^{-6}	3.1×10^{-6}

Estos datos son sólo una estimación obtenida a partir de la regresión lineal de las curvas patrón. Valores más precisos se obtendrán cuando se realice una validación del método. Sin embargo, los valores de las pendientes de las rectas obtenidas indican que la señal de reducción tiene mayor sensibilidad. Con base en estos resultados se procedió a obtener una curva de adiciones patrón de ácido clorogénico sobre una muestra de granos verdes de café usando las mismas condiciones experimentales.

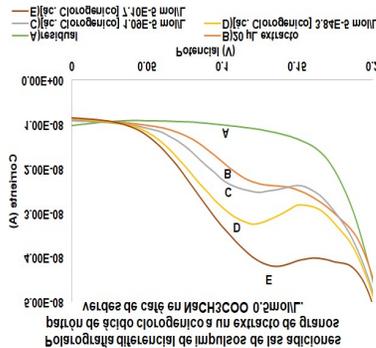


Figura 3.- Polarogramas diferenciales de impulsos de las adiciones patrón de ácido clorogénico a un extracto de granos verdes

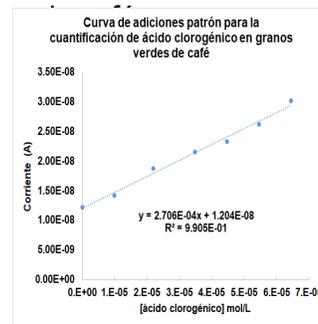


Figura 4.- Curva por PDI de adiciones patrón para la cuantificación de ácido clorogénico en un extracto de granos verdes de café.

En la Figura 3 se presenta sólo la señal de oxidación del ácido clorogénico, ya que la muestra desplaza la barrera de reducción traslapándose con la señal del clorogénico. La Figura 4 muestra la curva de adiciones patrón de clorogénico a la muestra extraída de los granos verdes de café. Se determinó que el contenido de ácido clorogénico en esta muestra de granos verdes de café provenientes de Coatepec, Veracruz es del $5.46 \pm 0.44\%$ en peso de la muestra seca. El cálculo del intervalo de confianza se realizó con la siguiente ecuación:

$$\text{intervalo de confianza} = \pm \frac{t_{\alpha=0.02} S_{ic}}{\sqrt{n}}$$

Donde $s_{i/c}$ es la desviación estándar de la recta y $t_{\alpha=0.02}$ es el valor de la distribución t de student con un $\alpha=0.02$; n el número de puntos en la recta.

CONCLUSIONES

Por su carácter de ácido carboxílico, fue posible la valoración de una disolución de ácido clorogénico que sirvió como patrón secundario.

El estudio electroquímico del ácido clorogénico patrón mostró que es posible identificarlo y cuantificarlo por este método, ya que presenta señales proporcionales a la concentración; esto ha permitido la identificación y cuantificación del analito en un extracto natural de granos de café verde. El ácido clorogénico presenta 2 señales, pero en la muestra natural una se ve afectada por el desplazamiento de la barrera de reducción y por ello la cuantificación se llevó a cabo con las mediciones de corriente en la señal de oxidación. La cuantificación de ácido clorogénico fue posible en una matriz natural compleja de una forma relativamente sencilla, sin tener que recurrir a métodos más laboriosos. Sin embargo, el intervalo de confianza muestra que el error en las mediciones es considerablemente grande por lo cual es necesario optimizar las condiciones experimentales para mejorarlo.

El porcentaje relativamente alto de ácido clorogénico en el polvo de café verde (mayor al 5%) es congruente con lo reportado en la literatura (variaciones entre el 3 y el 7 %); este valor permite considerar la posibilidad de obtener este compuesto de interés comercial a partir de los granos verdes del café.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los cafeticultores biodinámicos de Coatepec, Veracruz por el apoyo a este proyecto.

Se agradece también al CONACyT por la beca otorgada para los estudios de maestría de Gerardo Reyes García.

REFERENCIAS

- [1] J. Texeira, A. Gaspar, E.M. Garrido, J. Garrido, F. Borges. Hydroxycinnamic Acid Antioxidants: An Electrochemical Overview. *BioMed Research International* (2013).
- [2] V. Marquez, A. Farah. Chlorogenic acids and related compounds in medicinal plants and infusions. *Food Chemistry* **113**, 1370-1376, (2008).
- [3] C.P. Bicchi, A.E. Binello, G.M. Pellegrino, A.C. Vanni. Characterization of Green and Roasted Coffees through the Chlorogenic Acid Fraction by HPLC-UV and Principal Component Analysis. *J. Agricultural Food Chemistry* **43**, 1549-1555 (1995).
- [4] R. Kopsch, C.F. Güsswien, H. Lutz, M. Ball, P. Habert. Process for separating and producing Chlorogenic Acid. United States Patent No. 4872987 OCT 10 (1989).
- [5] Z. Yang, Z. Tan, F. Li, X. Li. An effective method for the extraction and purification of chlorogenic acid from ramie (*Boehmeria nivea* L.) leaves using acidic ionic liquids. *Industrial Crops And Products* **89**, 78-86 (2016).
- [6] C. Torres, M.M. Barsan, C. Brett. Simple electrochemical sensor for caffeine based on carbon and Nafion modified carbon electrodes. *Food Chemistry* **149**, 215-220 (2014).

EVALUACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE CdTe/CdS EN EL ANÁLISIS DE GLIFOSATO MEDIANTE EL ANÁLISIS POR INYECCIÓN EN FLUJO

Raybel Muñoz Ramírez
José Antonio Rodríguez*
Israel Samuel Ibarra
Alfredo Guevara Lara
María Elena Páez Hernández¹

INTRODUCCIÓN

El glifosato (N-fosfonometil-glicina) es un herbicida organofosforado de amplio espectro, no selectivo, utilizado mundialmente para el control de hierba y vegetación en áreas como la agricultura y silvicultura [1]. Su amplio uso se debe a su bajo costo, así como a los menores efectos tóxicos en mamíferos en comparación a otros herbicidas; sin embargo, esto ha generado abuso en el uso de este pesticida provocando problemas ambientales como acumulación en suelos debido a su absorción por la alta polaridad que presenta la molécula, riesgos toxicológicos asociados por ingestión de agua contaminada con el herbicida, por lo que la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos ha establecido un máximo permisible en agua potable [2].

Se han desarrollado diferentes técnicas analíticas para la cuantificación de glifosato, entre las que destacan la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) y la cromatografía de gases. Sin embargo, debido a su alta polaridad, alto punto de ebullición y la ausencia de un grupo cromóforo es necesaria una derivatización previa para su análisis [3].

En años recientes el uso de nanocristales coloidales de materiales semiconductores o puntos cuánticos (QDs) ha incrementado debido a las propiedades fotoluminiscentes que presentan, por lo que estos nanomateriales se han incorporado gradualmente en sistemas

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Área Académica de Química, Carretera Pachuca-Tulancingo Km 4.5, Pachuca, Hidalgo, C. P., 42184, Tel: +52 (771) 7175200, ext. 2202, e-mail: josear@uaeh.edu.mx

analíticos, mayoritariamente como sensores químicos en mediciones basadas en cambios en la fluorescencia, generalmente las interacciones entre el analito de interés y los QDs inducen en los últimos mecanismos de abatimiento o incremento de la señal a los que se les da seguimiento para su cuantificación [4].

Se han sintetizado una gran variedad de compuestos binarios, entre los más estudiados se encuentran las nanopartículas de CdSe, CdTe, ZnSe, CdS, InP y las de tipo núcleo/coraza, las cuales como núcleo son las antes mencionadas recubiertas de CdS o ZnS, siendo estas últimas las que presentan mayor fluorescencia [4].

Los efectos de abatimiento o incremento de la señal de emisión de QDs en presencia de diferentes analitos han permitido el diseño de estrategias de análisis en discontinuo y en flujo, las últimas presentan ventajas como fácil manejo de soluciones, alta repetibilidad, bajo consumo de reactivos y la posibilidad de miniaturizar sistemas analíticos [5]. En el presente trabajo se integran nanopartículas de CdTe/CdS a un sistema de análisis por inyección en flujo (FIA) para la evaluación de los efectos luminiscentes del glifosato en las nanopartículas.

EXPERIMENTACIÓN

Síntesis de CdTe/CdS

La síntesis de las nanopartículas de CdTe/CdS de tipo núcleo/coraza se lleva a cabo en tres etapas, en la primera etapa se pesan 50.8 mg (0.4 mmoles) de telurio en polvo y 37.8 mg (1 mmol) de NaBH₄ en un matraz balón de 2 bocas, posteriormente se adicionan 10 mL de agua desionizada y se colocan a reflujo hasta que la solución adquiera un color vino, indicativo de la formación de NaHTe.

En la segunda etapa, se obtiene el núcleo de CdTe adicionando a un segundo matraz

36.6 mg de CdCl₂ (0.2 mmoles), 42.5 mg de ácido mercaptopropiónico (0.4 mmoles) y 40 mL de agua desionizada ajustando el pH a un valor de 10.0 con NaOH 0.1 M. Posteriormente se adicionan 2 mL de la disolución de NaHTe, la reacción coloca a reflujo hasta que la coloración se torne naranja, la cual se alcanza alrededor de 10 minutos de reacción indicando la formación de CdTe.

Posteriormente, se adicionan 6 mg de tiourea (0.08 mmoles) como fuente de azufre y se mantiene la reacción en reflujo durante 120 minutos [6]. Al término de la reacción se evalúa la fluorescencia de las nanopartículas en presencia de glifosato en discontinuo, para ello se realiza una dilución 1:20 de nanopartículas de CdTe/CdS como blanco y se obtiene el espectro de emisión (420-700 nm) excitando a 400 nm, posteriormente a una misma dilución de nanopartículas se le añade glifosato (200 μM) y se obtiene el espectro bajo las mismas condiciones.

Integración de CdTe/CdS en el análisis de glifosato mediante FIA

Con la finalidad de integrar las partículas de CdTe/CdS, se empleó un sistema FIA de baja dispersión (Fig. 1) que consta de una bomba peristáltica de velocidad programable (BP), una válvula de inyección (VI) de 25 μL , un reactor (R) de 50 cm acoplado a un detector de fluorescencia (D) con longitud de onda de excitación de 400 nm y registrando la señal de emisión a 570 nm. Las nanopartículas de CdTe/CdS fueron incorporadas en dos sistemas independientes donde se añadieron en la solución acarreadora o en la muestra.

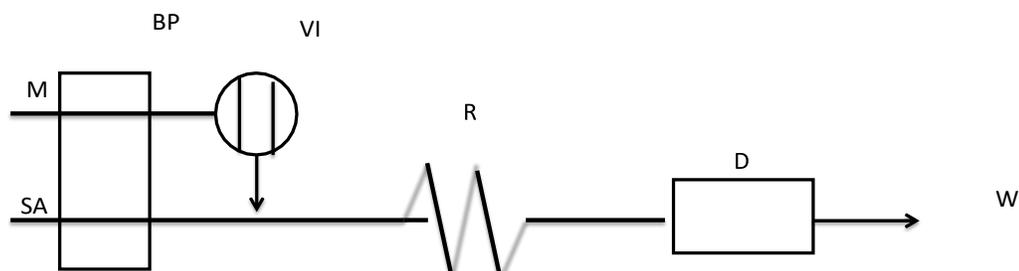


Figura 1. Diagrama de sistema de análisis por inyección en flujo para la determinación de glifosato por fluorescencia.

En el primer sistema (FIA 1) se realiza una detección indirecta, para ello la solución acarreadora (SA) consta de nanopartículas de CdTe/CdS previamente sintetizadas (dilución 1:10) tamponada a pH 10.0 con solución amortiguadora de boratos 30 mM, esta fluye a una velocidad de 0.5 mL min^{-1} , posteriormente las soluciones estándar de glifosato (M, 60 – 300 μM) se inyectan en la VI, registrando la señal de emisión.

En la segunda modalidad, (FIA 2) se pretende observar el efecto de abatimiento por la agregación de nanopartículas, por lo que la solución acarreadora está compuesta únicamente de solución tampón de boratos (30 mM, pH= 10.0) y las muestras inyectadas constan de una mezcla de nanopartículas de CdTe (1:10) y glifosato a diferentes concentraciones (50 – 300 μ M) preparadas 10 minutos previo al análisis, dichas soluciones son inyectadas y analizadas en el sistema FIA propuesto. Para ambas modalidades la inyección se hace por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los espectros de emisión muestran que la fluorescencia de las nanopartículas (Fig. 2.a) disminuye en presencia de glifosato (200 μ M, Fig. 2.b). Esta disminución de la señal analítica está relacionada a la interacción entre los grupos fosfonato del glifosato y la superficie de la nanopartícula de CdTe/CdS, los que induce a una agregación [7].

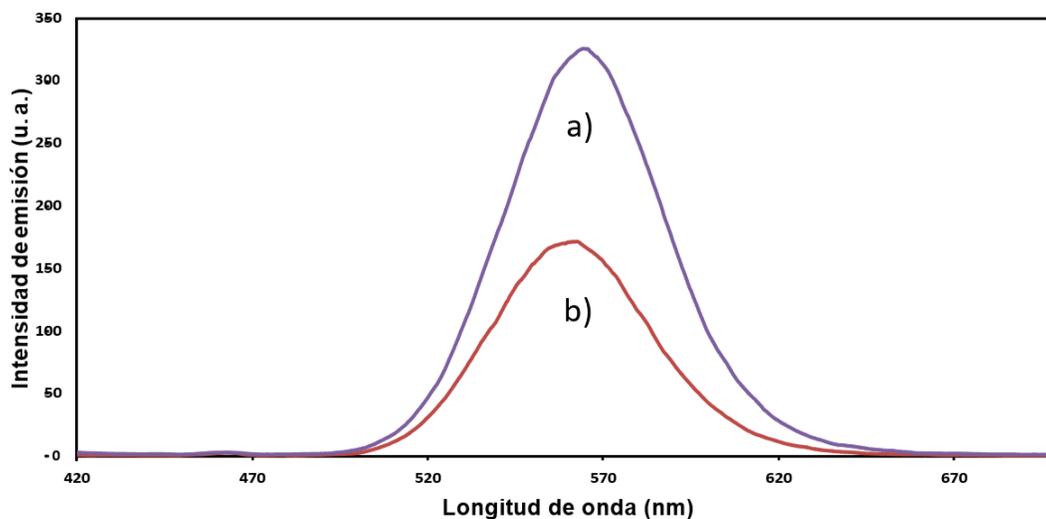


Figura 2. Espectros de emisión de nanopartículas de CdTe/CdS en ausencia (a) y presencia de glifosato 200 μ M (b).

En el sistema FIA 1, donde la solución acarreadora contiene CdTe/CdS, se observa un abatimiento de la señal de fluorescencia (Fig. 3), sin embargo, el efecto es el mismo para las diferentes concentraciones de glifosato y el blanco, lo que indica que la disminución de la señal analítica es debida a la dilución de las nanopartículas. El tiempo de contacto entre el glifosato y las nanopartículas no es suficiente para observar una tendencia en la señal analítica. Se ha descrito en análisis en discontinuo que la mezcla (glifosato-CdTe) se debe dejar reaccionar durante 15

minutos para que se observe de forma adecuada la interacción [4], por lo que el tiempo transcurrido desde la inyección hasta la detección no es suficiente para observar la formación del aducto glifosato-QD y en consecuencia no hay un abatimiento o aumento de señal de fluorescencia.

Debido a que no se observa efecto en las nanopartículas en la modalidad anterior se opta por preparar las mezclas QD-glifosato previo a la inyección a la solución acarreadora de boratos. En la Figura 4 se observa un efecto de disminución de la señal cuando el glifosato está presente, lo que permite corroborar que para que se observen los cambios en la fluorescencia de las nanopartículas de CdTe/CdS es necesario un tiempo de reacción que permita observar la interacción con el glifosato.

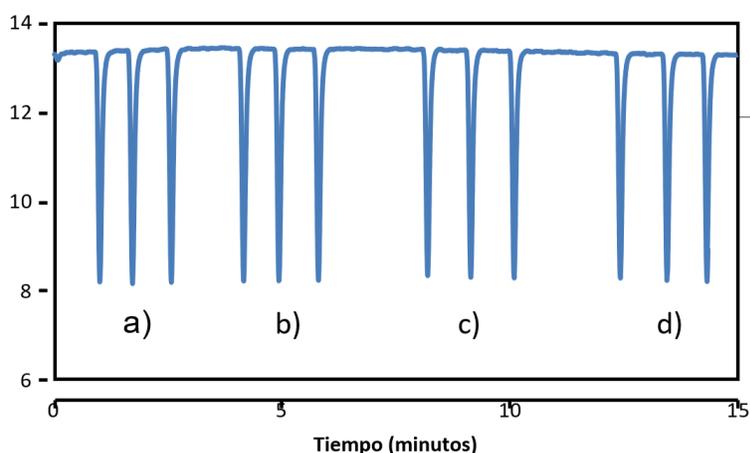


Figura 3. Diagrama de nanopartículas de CdTe/CdS en ausencia y presencia de glifosato. (a) Blanco, (b) 60, (c) 120 y (d) 180 μM utilizando el sistema FIA 1

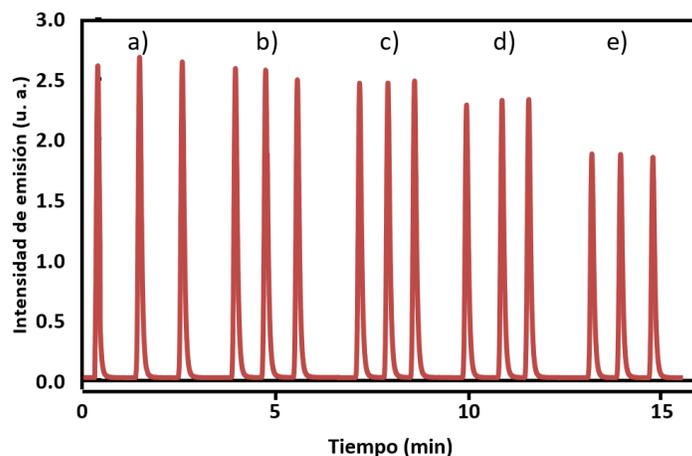


Figura 4. Diagrama de nanopartículas de CdTe/CdS en ausencia y presencia de glifosato a diferentes concentraciones. (a) blanco, (b) 60, (c) 120, (d) 180 y (e) 300 μM utilizando el sistema FIA 2.

El abatimiento observado se atribuye a la formación de un aducto de glifosato-QD, el cual aumenta el tamaño de partícula y con ello se produce una disminución de la señal analítica. Este comportamiento ha sido observado en sistemas en discontinuo donde se produce una agregación nanopartículas de CdTe en presencia de Ni²⁺ [8]. A partir del abatimiento de la señal de fluorescencia se construyó la línea de calibrado obteniéndose los parámetros de la regresión que se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Parámetros de la regresión de las líneas de calibrado, señal de emisión (u. a.) vs concentración de glifosato (μM)

Parámetro	Valor
Raíz cuadrada de la varianza residual, s_e	0.0230
Ordenada al origen, $b_0 \pm ts(b_0)$ (i. e.)	2.7507 ± 0.0532
Pendiente $b_1 \pm ts(b_1)$, (i. e. μM^{-1})	-0.0029 ± 0.0003
Intervalo lineal (μM)	78.1 – 295.0
Límite de detección (μM)	26.0
Repetibilidad (%DER)	1.1
Velocidad de muestreo (muestra h^{-1})	60
Coefficiente de determinación (r^2)	0.9958

CONCLUSIONES

Se diseñó un sistema de análisis por inyección en flujo para la determinación de glifosato incorporando nanopartículas de CdTe/CdS en la solución acarreadora y en la muestra. Cuando las nanopartículas se incorporan en la solución acarreadora se observa un abatimiento de la señal debido al efecto de dilución, sin embargo, cuando se adicionan a la muestra se observa un abatimiento por la agregación de las partículas por el glifosato. Durante el análisis de muestras complejas es necesaria la incorporación de un sistema de separación debido a la posible interacción con otros componentes de la matriz analítica.

REFERENCIAS

- [1] M. Piriyaipittaya, S. Javanta, S. Mitra, N. Leepipatpiboon, *Journal of Chromatography A*, **1189**, 483-492 (2008)
- [2] H. U. Lee, H. Y. Shin, J. Y. Lee, Y. S. Song, C.C. Park, S. W. Kim, *Journal of Agriculture Food Chemistry*, **58**, 12096-12100 (2010)
- [3] S. D. Stalikas, S. N. Konidari, *Journal of Chromatography A*, **907**, 1-19 (2001)
- [4] J. Guo, Y. Zhang, Y. Luo, F. Shen, C. Sun, *Talanta*, **125**, 385-392 (2014)
- [5] W. H. Zhang, D. Zhang, Zhang R. J., F. Xia, Y. F. Liu, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*,

402, 895-901(2012)

[6] Z. Liu, S. Liu, P. Ying, Y. He, *Analytica Chimica Acta*, **745**, 78-84 (2012)

[7] J. Chen, A. Xiao, Z. Zhang, Y. Yu, Z. Yan, *Spectrochimica Acta Part A*, **151**, 506- 5098(2015)

[8] H. Zare, M. Ghalkhani, O. Akhavan, N. Taghavinia, M. Marandi, *Material Reseach Bulletin*, **95**, 532-538 (2017).

-

DETERMINACIÓN DE HIDROXILOS FENÓLICOS Y ALCOHÓLICOS EN LIGNINAS POR RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^{13}C $\{^1\text{H}\}$

Jorge Alberto García Martínez*
 José Antonio Toledo Antonio
 María Antonia Cortés Jácome¹

INTRODUCCIÓN

La lignina es una macromolécula compleja constituida por unidades fenilpropanoides (C_9) denominadas *p*-hidroxifenilo (*H*), guayacilo (*G*) y siringilo (*S*) (Fig.1) que se encuentran unidas por diversos tipos de enlaces carbono-oxígeno (C-O) y carbono-carbono (C-C). Un modelo estructural propuesto para este polímero natural se encuentra en la Figura 2 [1].

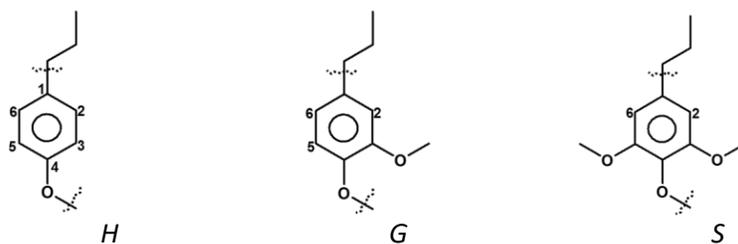


Figura 1. Unidades fenilpropanoides encontradas en ligninas.

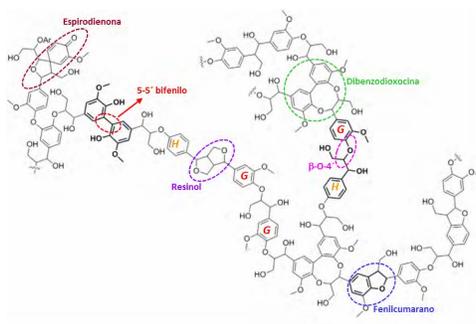


Figura 2. Modelo molecular propuesto para una lignina conformada por unidades G y H. En los

¹ Instituto Mexicano del Petróleo, Dirección de Investigación en Transformación de Hidrocarburos, Gerencia de Desarrollo de Materiales y Productos Químicos. Eje Central Lázaro Cárdenas Norte 152, CDMX, C.P. 07730. *Tel.: +52 (55) 9175-8269, e-correo: jgarcia@imp.mx

círculos y elipses se denotan algunos de los tipos de enlaces que conectan las unidades fenilpropanoides.

La lignina no tiene estructura química única ya que ésta varía con la fuente vegetal y los métodos de aislamiento. Debido a que es un copolímero tridimensional, amorfo, constituido por diversas unidades fenilpropanoides entrecruzadas y diferentes tipos de enlaces entre éstas, su caracterización detallada es un desafío y su topología molecular no ha sido elucidada por completo [2]. Las características moleculares de este biopolímero lo convierten en materia prima apropiada para producir hidrocarburos aromáticos y otros compuestos químicos de interés industrial como los fenólicos y sus derivados [3].

Actualmente, en el Instituto Mexicano del Petróleo (IMP) se desarrolla un proyecto de investigación orientado a la despolimerización y desoxigenación de ligninas como una alternativa a las tecnologías que se basan en el uso de materiales fósiles para la producción de combustibles y productos químicos de interés industrial. El objetivo de éste es obtener compuestos aromáticos que se utilicen como sustancias químicas de alto valor agregado y como materia prima para la industria petroquímica. Para entender los mecanismos de reacción involucrados en la transformación de lignina en hidrocarburos aromáticos y fenoles fue necesario implementar y desarrollar métodos analíticos para caracterizar tanto la materia prima como los productos obtenidos.

En este trabajo se presentan los resultados alcanzados en la determinación de grupos hidroxilo en una lignina técnica Kraft (LTK), proveniente de gimnospermas, que se empleó como sustrato en la investigación de diversos sistemas de despolimerización y desoxigenación. La cuantificación de hidroxilos fenólicos y alcohólicos, tanto primarios como secundarios, presentes en la LTK se efectuó por medio del análisis de su producto de acetilación. El análisis se llevó a cabo por Resonancia Magnética Nuclear de ^{13}C (RMN ^{13}C).

EXPERIMENTACIÓN

La LTK se aisló de un licor negro por precipitación, con ácido sulfúrico, a pH 2; se purificó por redisolución en medio básico, reprecipitación en medio ácido y lavado con agua desmineralizada. La acetilación de la LTK se llevó a cabo con una mezcla de piridina y anhídrido acético (1:1 vol) a temperatura ambiente. La obtención de los espectros de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, con datos cuantitativos, de

la LTK y de su acetato se realizó en un espectrómetro marca Bruker, modelo Avance III HD, en la frecuencia de 75 MHz. Los experimentos se llevaron a cabo bajo la condición de desacoplamiento intermitente inverso (DII) de protones. Las muestras se analizaron como disoluciones en dimetilsulfóxido hexadeuterado (DMSO) a las cuales se les añadió acetilacetato de cromo (AACr) como reactivo de relajación en concentración 0.01 M. La concentración de muestra empleada fue de 300 mg/mL. Las condiciones experimentales para adquirir los espectros fueron: ángulo de excitación, 30° ($3 \mu\text{s}$); tiempo de adquisición, 1.82 s; tiempo de relajación, 2 s; amplitud espectral, 240 ppm; 32 K puntos de datos y 60 000 transientes. La señal del DMSO (39.5 ppm relativa al tetrametilsilano) se utilizó como referencia de los desplazamientos químicos. Los experimentos se efectuaron a temperatura ambiente con las disoluciones de muestra en tubos de 5 mm de diámetro externo. El procesamiento de los espectros se realizó con el paquete MestReNova.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para determinar la concentración de las diversas clases de hidroxilos en la LTK ésta se acetiló y el producto de acetilación se analizó por RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ cuantitativa. Los espectros infrarrojos (IR) de la LTK y de su acetato se encuentran en la Figura 3. En la lignina de origen se observan, además de las señales del núcleo aromático, una banda prominente en 3410 cm^{-1} correspondiente al grupo hidroxilo y una señal de carboxilo en 1710 cm^{-1} , entre otras. En su producto de acetilación es evidente una disminución considerable de la señal hidroxílica y la aparición de dos señales de carbonilo; una en 1760 cm^{-1} y otra en 1740 cm^{-1} . De éstas, la primera es asignada al acetato de fenol y la segunda al acetato de alcohol. La banda de carboxilo que aparece en la LTK no es notoria en su derivado acetilado debido a que quedó sobrepuesta con la del carbonilo del éster de alcoholes. En el acetato de LTK se observa un incremento en la intensidad de la señal en 1370 cm^{-1} debida al aumento de metilos causado por la introducción de grupos acetilo. Puesto que en la LTK el número de hidroxilo, determinado de acuerdo al método ASTM E222 [4], fue de 100.15 mg KOH/g y en su acetato, de $<0.01 \text{ mg KOH/g}$, estos datos confirman que la acetilación de los hidroxilos fenólicos y alcohólicos de la lignina fue completa y que la señal en 3510 cm^{-1} , que se encuentra en el acetato de lignina, se debe a los hidroxilos que forman parte de los grupos carboxilo. Por consiguiente, el número de grupos acetilo en el acetato de la LTK debe ser igual al

número total de hidroxilos fenólicos y alcohólicos de la lignina original.

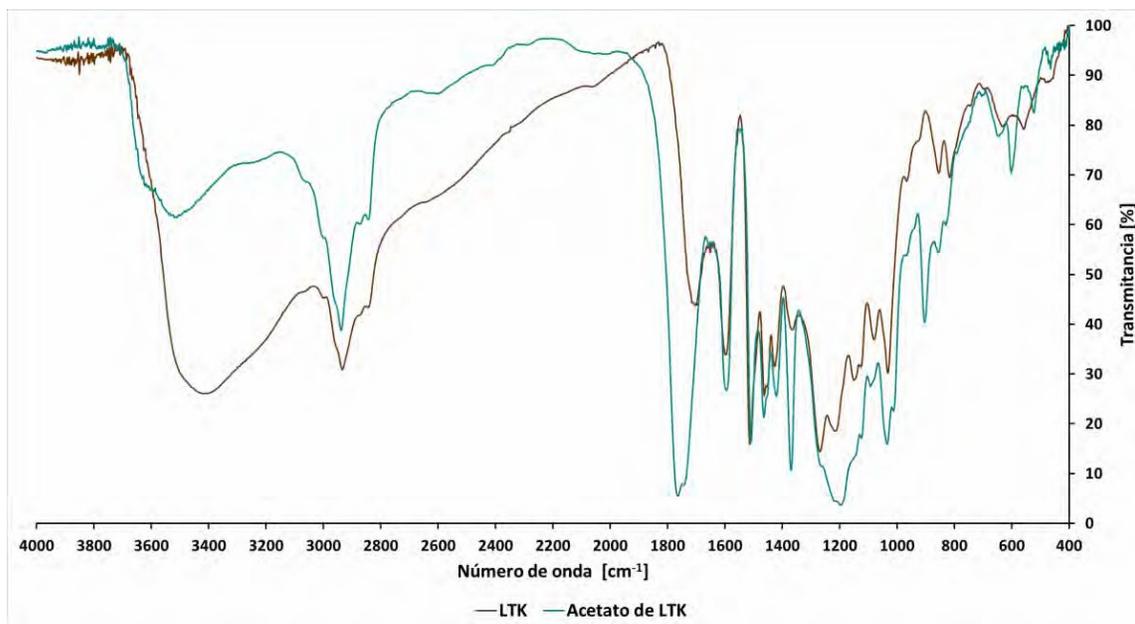


Figura 3. Espectros IR de la LTK (café) y de su acetato (verde).

Para determinar la concentración de acetilos en el acetato de la LTK, y por ende el de hidroxilos en esa lignina sin acetilar, fue necesario desarrollar un método cuantitativo por RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$. Para lograr que la integración en el espectro de RMN ^{13}C representara la proporción correcta de los núcleos, a la disolución de la muestra se adicionó AACr como reactivo de relajación y la detección se llevó a cabo por medio del experimento de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ bajo la condición de DII [5]. El AACr acelera la relajación longitudinal de los núcleos de carbono y asegura su relajación completa entre pulsos mientras que el DII suprime el Efecto Nuclear de Overhauser. Para el establecimiento de las condiciones óptimas de análisis se realizó un estudio de los efectos que el tiempo de espera de relajación y la concentración del reactivo de relajación utilizados tienen en la intensidad relativa de las señales que aparecen en el espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$. El espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de la LTK y de su acetato, obtenidos en DMSO, en el modo de DII, con un tiempo de relajación de 2 s y una concentración de AACr 0.01 M se muestra en la Figura 4. En ambos espectros los carbonilos de cetonas y aldehídos se encuentran en el intervalo de 210-180 ppm; los carbonilos de ácidos carboxílicos y ésteres en 180-165 ppm; los carbonos aromáticos, en 164-102 ppm; los carbonos saturados oxigenados, en 90-50 ppm y los carbonos saturados no oxigenados

en 50-10 ppm. En el derivado acetilado de la LTK se observa un conjunto de señales intensas en el intervalo de 172 a 165 ppm; éstas corresponden a los carbonilos en acetatos de alcoholes primarios (171.3-169.9 ppm), de alcoholes secundarios (169.9-169.3 ppm) y de fenoles (169.3-166.0 ppm). La señal en 20.6 se asigna a todos los carbonos metílicos de los grupos acetilo.

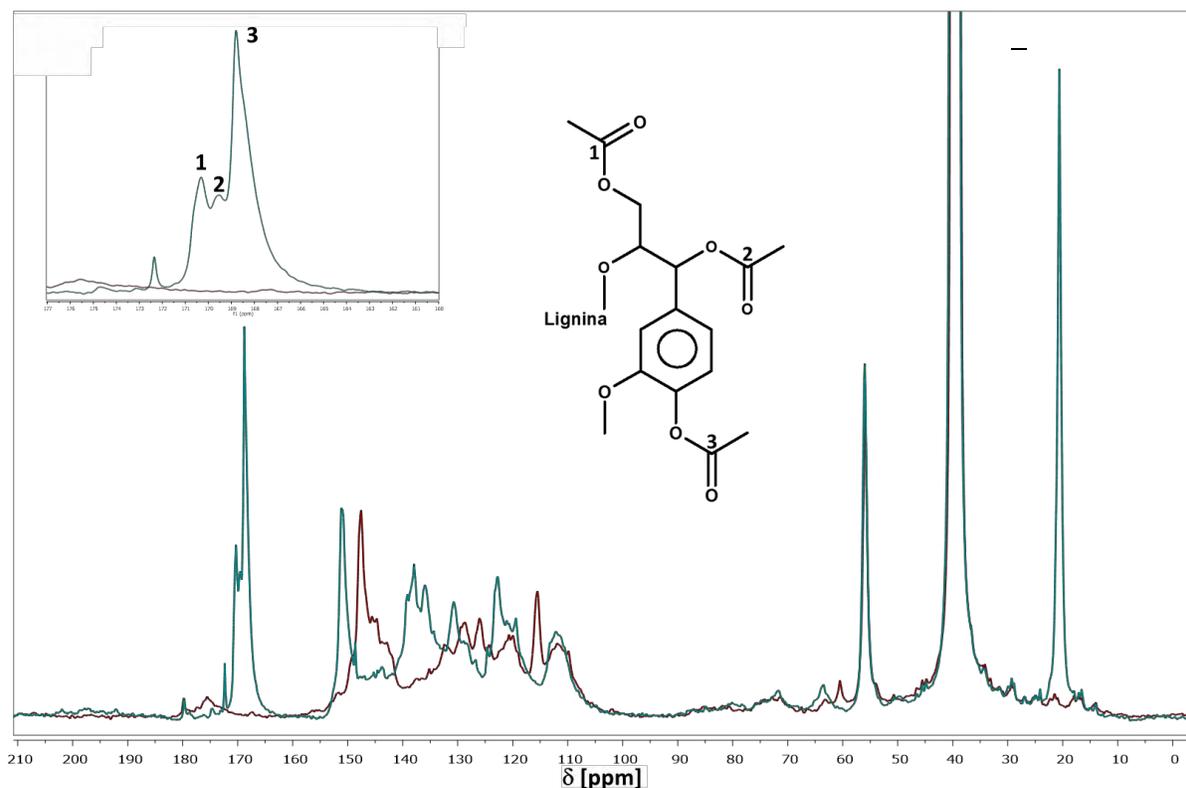


Figura 4. Espectros de RMN¹³C {¹H} en el modo de DII, obtenidos en la frecuencia de 75 MHz, de la LTK (café) y de su acetato (verde), disueltos en DMSO. La señal en 39.5 ppm es debida al disolvente. En el inserto se aprecian las señales originadas por los carbonilos de diferentes tipos de acetatos: 1) de alcoholes primarios, 2) de alcoholes secundarios y 3) de fenoles.

El número de los diversos hidroxilos en la LTK fue calculado por medio de las señales de los carbonilos de las diferentes clases de acetato formadas en su derivado acetilado. La región aromática del espectro de RMN ¹³C se usó como referencia interna; ésta comprende seis carbonos aromáticos. El valor de esta integral dividido entre 6 es equivalente a un anillo aromático y, por consiguiente, a una unidad C₉. Las ecuaciones empleadas para determinar la abundancia de los grupos hidroxilo fueron las siguientes:

$$I_{AA} = I_{164-102}/6 \quad (1)$$

$$OH_{ap} = (I_{171.3-169.9}/I_{CA}) \times 100 \quad (2)$$

$$OH_{as} = (I_{169.9-169.3}/I_{CA}) \times 100 \quad (3)$$

$$OH_f = (I_{169.3-166.0}/I_{CA}) \times 100 \quad (4)$$

donde I_n , integral en el intervalo de desplazamiento químico indicado por n (por ejemplo, $I_{164-102}$ indica el valor de la integral entre 164 y 102 ppm); I_{AA} , integral por anillo aromático; OH_{ap} , número de hidroxilos alcohólicos primarios; OH_{as} número de hidroxilos alcohólicos secundarios; OH_f número de hidroxilos fenólicos. La concentración de cada tipo de hidroxilo está referido a 100 unidades C_9 .

En la Tabla 1 se encuentra el número de hidroxilos fenólicos y alcohólicos, tanto primarios como secundarios, determinados cuantitativamente en la LTK con base en los datos contenidos en el espectro de RMN $^{13}C\{^1H\}$ de su producto de acetilación. El número de carbonilos de acetato en la LTK acetilada es igual al de los hidroxilos en la lignina de origen.

Tabla 1. Número de diferentes tipos de hidroxilo por 100 unidades C_9 en la LTK.

Número de hidroxilos / 100 unidades C_9		
Alcohólicos		Fenólicos
Primarios	Secundarios	
25	17	77

La aplicación de la metodología de RMN ^{13}C desarrollada para cuantificar los hidroxilos en la LTK indicó que los de tipo fenólico son los predominantes y que los que se encuentran en menor proporción son los alcohólicos secundarios. Si bien, los valores determinados son del orden de los reportados en la literatura para ligninas Kraft de tipo guayacilo [6,7,8] es importante tener en cuenta que los cálculos efectuados para estimarlos son aproximaciones en virtud de la naturaleza compleja del material. Sin embargo, la información obtenida es útil y es posible considerar que los resultados obtenidos son cercanos a los reales.

CONCLUSIONES

El método que se empleó para acetilar la LTK fue cuantitativo; por consiguiente, el número de grupos hidroxilo en ésta es igual al de los grupos acetilo determinados en su acetato. La RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ permitió diferenciar y cuantificar los hidroxilos presentes en la LTK. El efecto combinado de la adición de AACr a la disolución de la muestra y la adquisición del espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ en el modo de DII permitió obtener señales con datos cuantitativos para determinar los diferentes tipos de hidroxilo presentes en la LTK. La alta concentración de hidroxilos fenólicos encontrado en esta lignina es congruente con el proceso de pulpeo Kraft al que se sometió el material lignocelulósico del cual se obtuvo. El tiempo de análisis puede reducirse, y la precisión de la determinación aumentarse, si los experimentos se efectúan en espectrómetros de RMN con campo magnético de intensidad mayor al que se utilizó (7.05 T) en este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Al IMP por las facilidades otorgadas en la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

- [1] A. L. Jongerius. *Catalytic Conversion of Lignin for the Production of Aromatics. Tesis de Doctorado*. Utrecht University. Utrecht, Netherlands. (2013).
- [2] P. Azadi, O. R. Inderwildi, R. Farnood, D. A. King. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **21**, 506-523 (2013).
- [3] D. Shen, G. Liu, J. Zhao, J. Xue, S. Guan, R. Xiao. *J. of Analytical and Applied Pyrolysis*, **112**, 56-65 (2015).
- [4] American Standards for Testing and Materials. ASTM E222-10. *Standard Test Methods for Hydroxyl Groups Using Acetic Anhydride Acetylation*.
- [5] E. Breitmaier. *Carbon-13 NMR Spectroscopy*. VCH Publishers. New York. (1987).
- [6] A. Berlin, M. Balakshin. *Bioenergy Research: Advances and Applications*. Elsevier. Amsterdam. (2014).
- [7] M. Balakshin, E. Capanema. *J. of Wood Chem. and Technol.* **35**, 220-237 (2015).
- [8] P. Korntner, I. Summerskii, M. Bacher, T. Rosenau, A. Potthast. *Holzforschung* **69**, 807-814 (2015).

DETERMINACIÓN SIMULTÁNEA DE GLUCOSA Y COLESTEROL POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ULTRAVIOLETA VISIBLE EMPLEANDO CALIBRACIÓN MULTIVARIANTE

Jessica Torres Gámez
José Antonio Rodríguez Ávila*
Carlos Andrés Galán Vidal¹

INTRODUCCIÓN

La glucosa y el colesterol tienen un papel importante en los procesos fisiológicos del cuerpo humano. El aumento de glucosa en la sangre es la característica más común que presenta el organismo al desarrollar diabetes; esta enfermedad es una de las principales causas de muerte de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud. Al igual que la glucosa, la alteración del nivel de colesterol en la sangre puede provocar diversas enfermedades cardíacas y cardiovasculares como la hipertensión, arteriosclerosis, enfermedades coronarias, trastorno en el metabolismo de lípidos y trombosis cerebral, entre otras. De acuerdo a diversos estudios, se ha observado que ciertas enfermedades pueden desarrollarse al incrementarse los niveles de glucosa y colesterol simultáneamente. Tal es el caso de la aterosclerosis ya que los altos niveles de glucosa en la sangre inducen a una mayor acumulación de colesterol. Es por esto que en los últimos años se ha buscado el desarrollo de métodos efectivos y confiables que permitan la detección simultánea de ambos analitos para ayudar en el diagnóstico clínico oportuno [1].

Para la determinación de colesterol y glucosa se han empleado métodos electroquímicos, espectroscopia de infrarrojo cercano y espectroscopia de masas. Sin embargo, en alguna de estas técnicas se requieren instrumentos costosos y entrenamiento especial en el manejo de la

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química, Carr. Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, 42184, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México. e-mail: jara.uaeh@gmail.com

instrumentación. Es por eso que es importante el desarrollo de un método rápido y robusto que permita la determinación directa de glucosa y colesterol. En este sentido, la espectrofotometría de UV-Vis es una técnica relativamente económica y bien establecida en el área clínica para la determinación de glucosa y colesterol. En ambos casos, el método se basa en una reacción enzimática y la adición de un agente cromóforo para generar un compuesto que puede ser detectado en la región UV-Vis [2].

La metodología convencional de espectrofotometría UV-Vis no está diseñada para la determinación simultánea de glucosa y colesterol. No obstante, existen reportes en los cuales se combinan la espectrometría de UV-Vis con métodos quimiométricos cuantitativos para la determinación multicomponente de azúcares. Esta alternativa ha sido evaluada como una técnica viable [3].

Tomando en cuenta los antecedentes antes mencionados, el objetivo de este trabajo es establecer un método por espectrofotometría UV-Vis empleando métodos quimiométricos, PLS (regresión por mínimos cuadrados parciales) y redes neuronales, para la determinación simultánea de glucosa y colesterol.

EXPERIMENTACIÓN

Disoluciones estándar

Se prepararon soluciones estándar de glucosa (50 µg/mL) y colesterol (50 µg/mL). Posteriormente se prepararon una serie de disoluciones en un intervalo de 2 a 8 µg/mL, las cuales contenían a ambos analitos. Todas las soluciones fueron preparadas con buffer MOPs (pH 6), el cual contenía Triton X-114 (10%).

Construcción del diseño de calibración

Las disoluciones que contenían a ambos analitos fueron empleadas para la calibración por PLS y redes neuronales. Para la preparación de las soluciones se consideraron las concentraciones dentro del intervalo de respuesta lineal, al igual que las mezclas de los dos componentes no excedieran el máximo de absorbancia.

La composición del set de calibración fue construida de acuerdo con un diseño de dos factores a tres niveles. En la Tabla 1, se especifica la composición de cada una de las soluciones. Inicialmente se trabajó en la región de 380-800 nm (5 nm de intervalo), sin embargo, la región de 400-600 nm fue la seleccionada para trabajar debido a la información significativa que proporcionaba.

Tabla 1. Composición de las soluciones empleando un diseño 3^2

Número de disolución	Glucosa ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Colesterol ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
1	2	2
2	2	4
3	2	6
4	4	2
5	4	4
6	4	6
7	6	2
8	6	4
9	6	6

Para construir el set de datos de validación, se emplearon cuatro disoluciones. Este set fue utilizado para comprobar el comportamiento del modelo frente a muestras distintas a las utilizadas en la construcción del mismo. La composición de las disoluciones se presenta en la Tabla 2.

Tabla 2. Composición de las soluciones empleadas en el set de validación

Número de disolución	Glucosa ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Colesterol ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
1	3	3
2	3	5
3	5	3
4	5	5

Aplicación de PLS y redes neuronales artificiales (ANN).

- Regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS).

La calibración del modelo fue construida por mínimos cuadrados parciales. El número óptimo de factores fue determinado por el intervalo de longitud de onda donde se obtenía información significativa. Los datos fueron procesados mediante Minitab 17 [4].

- Redes neuronales artificiales.

Se compararon diferentes arquitecturas para construir y validar el modelo de la red, la cual consistía en una capa de entrada, una capa oculta y una capa de salida. El número de neuronas en la capa de entrada es igual al número de variables independientes obtenidas por espectrofotometría UV-Vis, en este caso 41 valores. El número de neuronas en la capa de salida corresponde al número de variables de salida, para este caso es la concentración de cada uno de los analitos.

El número de neuronas en la capa oculta se obtuvo de la evaluación de la arquitectura de la red neuronal artificial, seguido de los siguientes procedimientos: se creó una red neuronal artificial con un número inicial de neuronas en la capa oculta, se definió el tipo de entrenamiento y la función de transferencia. La red fue entrenada con el set de calibración de datos, considerando el 70% de los datos para el aprendizaje, el 15% para el monitoreo y el 15% restante para el test. La red fue validada empleando el set de datos de validación. El procesamiento se realizó con el software Matlab 2017 con la herramienta de redes neuronales [5].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizó un escaneo en un intervalo de 380- 800 nm, para lo cual se emplearon disoluciones de glucosa y colesterol. Así, se pudo observar que el máximo de absorbancia se presenta en 550 nm, esto se presentó en ambos analitos. Los espectros de UV-vis obtenidos se presentan en la Figura

1

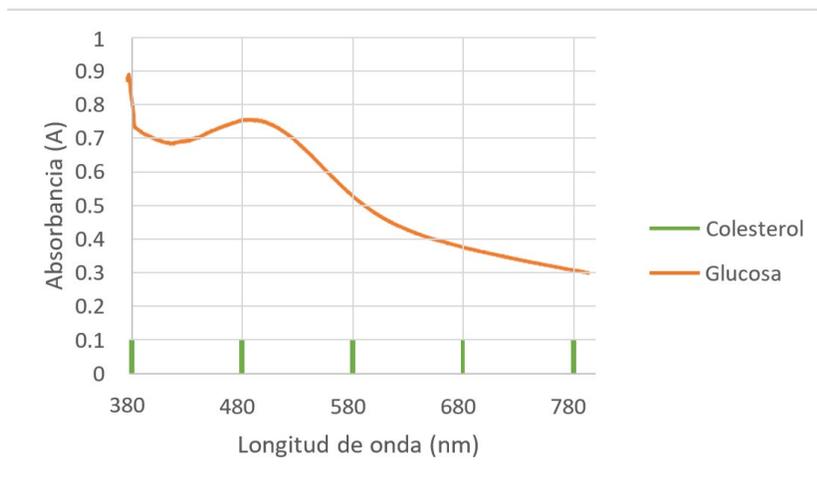


Figura 1. Espectros de UV- Vis de glucosa y colesterol a 5 µg/mL.

La determinación simultánea se llevó a cabo en un intervalo de 2- 8 µg/mL. Dicho intervalo se seleccionó debido a que en él, las disoluciones no mostraban turbidez y la coloración mostraba un aumento de acuerdo a la composición que estas tenían. Para obtener los espectros, se prepararon las nueve disoluciones correspondientes del set de calibración y las cuatro soluciones pertenecientes al set de validación. Los espectros obtenidos se muestran en la Figura 2.

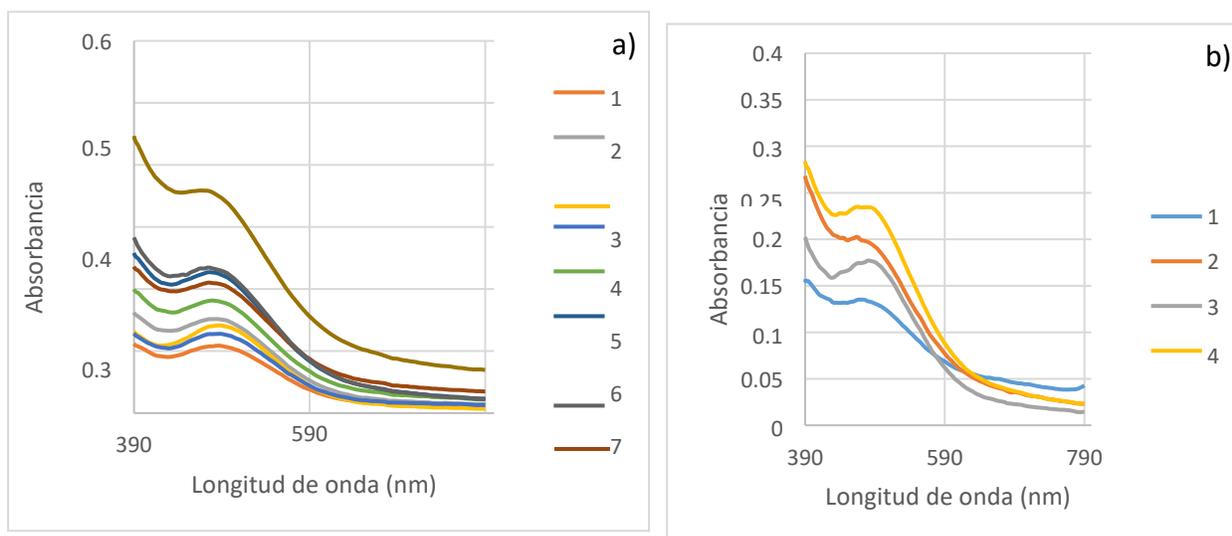


Figura 2. Espectros de UV-vis de las soluciones con diversas composiciones de glucosa y colesterol. a) Set de calibración. b) Set de validación. (Ver tablas 1 y 2).

Para llevar a cabo el análisis de datos mediante PLS y redes neuronales artificiales se seleccionó la región de 400- 600 nm en la cual responden ambos analitos; de acuerdo a lo

observado anteriormente.

Mediante el análisis por PLS se obtuvieron los parámetros de calibración, los cuales se muestran en la Tabla 3. En dicha tabla se observa el coeficiente de regresión y el error cuadrado medio, los cuales indican que la calibración del modelo no es del todo satisfactoria.

Tabla 3. Parámetros en el modelo de PLS obtenidos durante la calibración.

Analito	r^2	RMSE ($\mu\text{g}/\text{mL}$)*
Glucosa	0.914 5	3.8
Colestero l	0.912 2	2.5

*RMSE: raíz cuadrada del error cuadrático medio

Posterior a la calibración, se utilizó el set de validación para comprobar el comportamiento del modelo y la exactitud que este tiene. En la Tabla 4 se puede observar los valores predichos, así como el porcentaje de error relativo (%RE) para cada uno de los casos. En los resultados se puede observar que los porcentajes de error se ubican entre 5.8 y 39.0%, por lo que este modelo no es adecuado para realizar la determinación de glucosa y colesterol.

En el análisis por redes neuronales artificiales se optimizó la arquitectura de la red, para posteriormente realizar la calibración y la estimación de los resultados. En la Tabla 5, se muestran los parámetros optimizados y el coeficiente de regresión obtenido.

Tabla 4. Aplicación del modelo PLS para estimar el valor de glucosa y colesterol en set de validación.

Glucosa			Colesterol		
Valor	Valor predicho	%RE *	Valor	Valor predicho	%RE *
3	3.2	7.7	3	3.5	16.7
3	4.2	39.0	5	4.1	17.8
5	3.7	26.0	3	3.8	26.7
5	4.7	5.8	5	4.5	10.6

* %RE Porcentaje de error relativo.

Tabla 5. Parámetros optimizados en la red neuronal artificial

	Glucosa	Colesterol
Arquitectura	41-25-1	41-15-1
Número de iteraciones	26	28
Función de transferencia en la capa oculta	Tansig	Tansig
r^2	0.9793	0.9998
RMSE*	0.4	7.2e-12

Para comprobar la eficiencia del modelo y la exactitud que este tiene, se empleó el set de validación. En la Tabla 6 se presentan los resultados obtenidos durante la prueba donde se pueden observar porcentajes de error entre 3.2 y 13.3, los cuales son significativamente menores a los obtenidos en el modelo de PLS.

Tabla 6. Aplicación del modelo ANN para estimar el valor de glucosa y colesterol en set de validación.

Glucosa			Colesterol		
Valor	Valor predicho	%RE*	Valor	Valor predicho	%RE*
3	3.3	10.0	3	2.7	10.3
3	3.4	11.6	5	4.5	9.4
5	4.7	6.6	3	2.6	13.3
5	4.8	3.2	5	5.3	6.6

CONCLUSIONES

En este estudio, se realizó la determinación simultánea de glucosa y colesterol mediante espectrofotometría de UV-Vis. El emplear métodos quimiométricos como PLS y redes artificiales neuronales, hace factible la determinación de dos o más componentes mediante técnicas espectrofotométricas.

La aplicación de estos dos modelos permitió la determinación simultánea de glucosa y

colesterol. Para el modelo de PLS se encontraron porcentajes de error relativo menores al 40%; mientras que para las redes neuronales artificiales se obtuvieron porcentajes menores al 15%; siendo éste el modelo competitivo con respecto a equipos comerciales. Los glucómetros comerciales reportan un error de $\pm 15\%$ conforme a lo establecido por la ISO15197:2013 para estos dispositivos, mientras que los errores presentados en los dispositivos portátiles que permiten medir los niveles de colesterol se encuentran entre el $\pm 15\text{--}20\%$. Los resultados obtenidos mediante el modelo de redes neuronales, se encuentra dentro del intervalo establecido para estos dispositivos [6].

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido financiado gracias al apoyo de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, del PRODEP y del CONACyT (Ref: 624277). JTG agradece al CONACyT la beca otorgada para estudios de Maestría (No. 828195). JARA y CAGV agradecen al SNI-CONACyT la distinción otorgada.

REFERENCIAS

- [1]. X. Sun; Y. Zhang; D. Zheng; et.al. *Biosensors and Bioelectronics* **92** 81-86. (2017).
- [2]. T. Jessen; P. Bjerrum; H. Verder; et. al. *Clinical Biochemistry* **47** 1306- 1312. (2014).
- [3]. C. Zhang; Y. Yun.; Z. Zhang; et. al. *International Journal of Biological Macromolecules* **87** 290- 294 (2016).
- [4]. A.C. de Oliveira Neves; A. Antunes de Araújo; et. al. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **66** 252-257 (2012).
- [5]. N. Tonello; M.B. Moressi; et. al. *Talanta* **158** 306- 314 (2016).
- [6]. Federación Mexicana de Diabetes. La exactitud de los glucómetros ¿Qué tan eficaces son? - Federación Mexicana de Diabetes. Disponible en: <http://fmdiabetes.org/la-exactitud-los-glucometros-tan-eficaces/> [Acceso 3 abr. 2018]. (2018).

DESARROLLO DE UN BIOSENSOR PARA LA DETERMINACIÓN DE GLUCOSA Y ÁCIDO ASCÓRBICO MEDIANTE VOLTAMPEROMETRÍA LINEAL

Jessica Torres Gámez
Edgar González López
Carlos Andrés Galán Vidal*
José Antonio Rodríguez Ávila
María Elena Páez Hernández¹

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de biosensores se ha incrementado debido a las diversas exigencias en el sector industrial, ambiental y clínico; ya que estos dispositivos presentan numerosas ventajas como la sensibilidad, selectividad, simpleza en su operación y su bajo costo. Los biosensores han sido implementados en procesos de control en la industria alimenticia y en el análisis de agua, entre otros.

La glucosa es probablemente uno de los más importantes compuestos biológicos ya que forma parte de múltiples reacciones biológicas. El análisis de glucosa en la sangre es de suma importancia, ya que los altos niveles de este compuesto están asociados con la diabetes mellitus. Esta enfermedad se produce cuando el páncreas no genera insulina o cuando el cuerpo no puede asimilarla para llevar a cabo un adecuado funcionamiento. En ambos casos esto provoca que los niveles de glucosa en sangre se incrementen [1]. El ácido ascórbico (Vitamina C) es una vitamina soluble, la cual se encuentra presente en el sistema biológico y en productos alimenticios (vegetales y frutas, particularmente en los cítricos). El ácido ascórbico tiene un rol importante en la biosíntesis del colágeno, absorción de hierro y activación de la respuesta inmune, entre otros. Además, es un poderoso antioxidante [2].

La determinación de glucosa es uno de los problemas más importantes para la industria

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química., Carr. Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, 42184, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México. e- mail: galanv@uaeh.edu.mx

alimenticia y el sector clínico, por eso en los últimos años se ha desarrollado diversos biosensores para su determinación. De igual manera la industria alimenticia ha buscado diversas alternativas para la determinación de ácido ascórbico, ya que este es un indicador de la calidad del producto y es utilizado para evaluar su condición durante la manufactura y almacenamiento del producto [1,2]. Frecuentemente, el ácido ascórbico es considerado un interferente en la determinación de glucosa.

Debido a las necesidades presentadas, en los últimos años se han desarrollado diversas metodologías para la determinación independiente de cada uno de los analitos. Algunos métodos que se han empleado son los colorimétricos, cromatografía de líquidos de alta eficiencia y electroquímicos; destacando estos últimos ya que permiten obtener menores límites de detección. En algunos casos la glucosa y ácido ascórbico son separados previamente antes de su detección. [2].

De acuerdo al marco presentado anteriormente, el objetivo de este trabajo es el desarrollo de un biosensor voltamperométrico que permita la determinación simultánea de glucosa y ácido ascórbico empleando métodos quimiométricos para el procesamiento de los datos.

EXPERIMENTACIÓN

Soluciones estándar

Se preparó una solución estándar de glucosa (25 milimol/L) y un estándar de ácido ascórbico (0.5 milimol/L). Dichos estándares se emplearon para la preparación de las soluciones pertenecientes a la matriz de calibración. Todas las soluciones fueron preparadas con buffer de fosfatos (pH 7).

Construcción del biosensor

En un electrodo de carbón vítreo, se depositan 2.0 μL de una solución de TCNQ (tetracianoquinodimetano) disuelto en acetonitrilo y se deja evaporar por 15 minutos; este servirá como mediador del sistema. Una vez evaporado el disolvente, se deposita una gota de 5.0 μL de solución de la enzima glucosa oxidasa (10.0 mg/mL) y se deja evaporar a temperatura ambiente por 60 minutos. Para el entrecruzamiento e inmovilización de la enzima se coloca una gota de 5.0 μL de solución de glutaraldehído al 8.0 % dejándose evaporar a temperatura ambiente por 30 minutos. Posteriormente, se agregan 10.0 μL de una disolución de glicina 0.1 M; finalmente se enjuaga con agua desionizada y se deja en refrigeración 2-8° C en un desecador. El biosensor se utiliza un día posterior a su preparación.

Determinación de glucosa y ácido ascórbico

Para la determinación simultáneamente de glucosa y ácido ascórbico se prepararon siete mezclas con concentraciones conocidas de ambos analitos en el intervalo ubicado entre y 0.09 milimol/L para ácido ascórbico y entre 2.0 y 5.5 milimol/L de glucosa. Cada mezcla fue analizada mediante voltamperometría lineal. Las composiciones de las muestras se enlistan en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición de las soluciones empleadas en el análisis.

Número de solución	Glucosa (milimol/L)	Ácido ascórbico (milimol/L)
1	3.5	0.08
2	4.5	0.09
3	2.0	0.07
4	5.0	0.06
5	2.5	0.05
6	5.5	0.04
7	4.0	0.02

Calibración multivariante

- Regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS).

La calibración del modelo fue construida por mínimos cuadrados parciales. El número óptimo de factores fue determinado por el método de stepwise, dicho método es un modelo de regresión en el cual se seleccionan las variables predictivas y por lo general el modelo emplea una secuencia de pruebas F o pruebas *t*, en donde los criterios de intervalos de confianza permiten seleccionar las variables de respuesta. Empleado el método mencionado con anterioridad, se obtuvo la matriz de variables de respuesta que contenía la información significativa y cuyos datos fueron procesados mediante Minitab 17.

- Redes neuronales artificiales.

Se compararon diferentes arquitecturas para construir y validar el modelo de la red, la cual consistía en una capa de entrada, una capa oculta y una capa de salida. El número de neuronas en la capa de entrada es igual al número de variables independientes, en este caso 70 valores significativos obtenidos por el método de

stepwise. El número de neuronas en la capa de salida corresponde al número de variables de salida, para este caso es la concentración de cada uno de los analitos. El número de neuronas en la capa oculta se obtuvo de la evaluación de la arquitectura de la red neuronal artificial, seguido de los siguientes procedimientos: se creó una red neuronal artificial con un número de neuronas en la capa oculta, se definió el tipo de entrenamiento y la función de transferencia. La red fue entrenada con el set de calibración de datos, considerando el 70% de los datos para el aprendizaje, el 15% para el monitoreo y el 15% restante para el test. Todo el procedimiento se realizó en el software Matlab 2017 con la herramienta de Redes Neuronales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron los voltamperogramas correspondientes a la glucosa y ácido ascórbico (Figura 1). En los cuales se puede observar que las señales correspondientes para cada analito se encuentran en los mismos potenciales, lo que provoca el traslape de las señales.

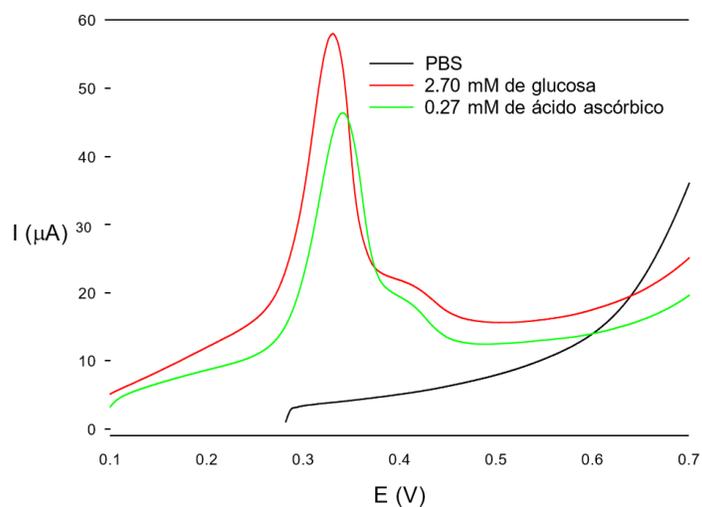
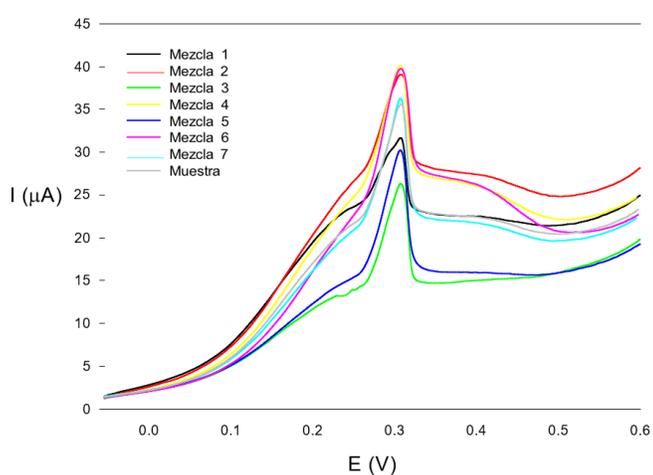


Figura 1. Voltamperogramas lineales correspondientes a glucosa (2.7 milimol/L) y ácido ascórbico (0.27 milimol/L) empleando PBS como medio.

Posterior al análisis individual de los analitos, se obtuvieron los voltamperogramas correspondientes a las mezclas y a una muestra cuya concentración fue 4 milimol/L de glucosa y 0.06 milimol/L de ácido ascórbico. Dicha muestra servirá para evaluar la exactitud de los modelos quimiométricos. Los voltamperogramas obtenidos se muestran en la Figura 2.

Figura 2. Voltamperogramas lineales de las mezclas de glucosa y ácido ascórbico. (Ver Tabla 1)



Posteriormente, se llevó a cabo el análisis de datos por regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS), con el cual se obtuvieron los parámetros de calibración. En la Tabla 2, se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 2. Parámetros obtenidos en el modelo PLS

	r^2	MSE (milimol/L)*
Glucosa	0.853	1.9705
	4	
Ácido ascórbico	0.217	0.0007
	9	

*MSE: Error cuadrático medio

Tabla 3. Concentraciones calculadas y porcentajes de error obtenidos en las soluciones mediante el modelo de PLS.

	Glucosa			Ácido ascórbico		
	Valor	Valor predicho	%RE*	Valor	Valor predicho	%RE*
1	3.5	2.11	39.66	0.08	0.22	181.57
2	4.5	4.79	6.43	0.09	0.09	- 0.42
3	2.0	1.77	11.57	0.07	0.04	48.71
4	5.0	4.94	1.11	0.06	0.05	23.97
5	2.5	2.82	12.93	0.05	0.03	43.18
6	5.5	5.62	2.22	0.04	0.06	40.11
7	4.0	3.89	2.52	0.02	0.06	191.47
M	4.0	3.93	1.79	0.06	0.05	16.89

*%RE: error relativo

Después de obtener los parámetros del modelo, se realizó la predicción de la concentración de la muestra. En la Tabla 3, se muestra las concentraciones estimadas para cada una de las mezclas y la muestra, así como los porcentajes de error obtenidos para cada una de ellas.

De acuerdo a los resultados presentados con anterioridad, el modelo predice de mejor manera las concentraciones de glucosa en comparación con los valores predichos para el ácido ascórbico. En el caso de la glucosa los porcentajes de error se encuentran en el intervalo de 1.11-39.66% en tanto que para el ácido ascórbico los porcentajes de error se encuentran dentro del intervalo de 0.42-191.47%. Además de lo antes mencionado, los coeficientes de correlación son lejanos a 1 y el error cuadrático medio de la glucosa es muy elevado; por lo que no se considera que el modelo sea el adecuado para llevar a cabo el análisis.

En el análisis por redes neuronales artificiales se optimizó la arquitectura de la red, para posteriormente realizar la calibración y la estimación de los resultados. En la Tabla 4, se muestran los parámetros optimizados y el coeficiente de correlación obtenido.

Tabla 4. Parámetros optimizados en la red neuronal artificial.

	Glucosa	Ácido ascórbico
Arquitectura	10-10-1	10-15-1
Número de iteraciones	4	4
Función de transferencia en la capa oculta	Tansig	Tansig
r^2	0.9992	0.9990
MSE*	3.3e-23	6.1e-15

*MSE: error cuadrático medio

Tabla 5. Concentraciones calculadas y porcentajes de error obtenidos empleando redes neuronales artificiales

	Glucosa			Ácido ascórbico		
	Valor	Valor predicho	%RE*	Valor	Valor predicho	%RE*
1	3.50	3.49	0.29	0.08	0.07	9.02
2	4.50	4.49	0.22	0.09	0.08	1.18
3	2.00	2.22	11.00	0.07	0.06	8.00
4	5.00	4.98	0.40	0.06	0.06	1.27
5	2.50	2.71	8.40	0.05	0.05	1.90
6	5.50	5.10	7.27	0.04	0.04	2.53
7	4.00	4.70	17.50	0.02	0.02	9.03
M	4.00	3.81	4.75	0.06	0.06	5.32

*%RE: error relativo

Con los parámetros optimizados, se empleó la red neuronal artificial para predecir la concentración de las muestras. De igual forma se obtuvieron las concentraciones predichas por el modelo para las mezclas. En la Tabla 5 se muestran los resultados obtenidos durante la calibración.

Como se muestra en la Tabla 5, los porcentajes de error obtenidos para la glucosa se encuentran en un intervalo de 0.22-17.50%; en tanto que para el ácido ascórbico los porcentajes están en un intervalo de 1.18-9.03%. Los cuales en comparación con los porcentajes obtenidos en el modelo de PLS son mejores. Los valores predichos por la red neuronal son más cercanos al

valor real, por lo que podríamos decir que el modelo tiene una mejor exactitud que el modelo de PLS.

En un estudio realizado por Gutés y col. emplean redes neuronales y un arreglo de tres biosensores para determinar la concentración de glucosa y ácido ascórbico en un estudio voltamperométrico, en este estudio los porcentajes de error para glucosa fueron de 0.87- 12.00%; mientras que para ácido ascórbico fueron de 2.10- 284.00%. Comparando los resultados que se obtuvieron en este trabajo los porcentajes de error que se obtuvieron son inferiores a los reportados en la literatura. Por lo que se propone que este modelo es una alternativa competitiva para realizar la determinación de las concentraciones del sistema glucosa y ácido ascórbico [3].

CONCLUSIONES

En este trabajo se desarrolló un biosensor para la determinación simultánea de glucosa y ácido ascórbico. Para el análisis de las respuestas se emplearon dos metodologías, regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS) y redes neuronales artificiales; siendo este el modelo que mejor predice las concentraciones de las mezclas empleadas. Los porcentajes de error obtenidos para glucosa fueron de 0.22 -17.50% y para ácido ascórbico de 1.18 – 9.03%, siendo estos inferiores a los reportados en la literatura.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido financiado gracias al apoyo de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, del PRODEP y del CONACyT (Ref: 624277). JTG y EGL agradecen al CONACyT la beca otorgada para estudios de Maestría. CAGV, JARA y MAPH agradecen al SNI-CONACyT la distinción otorgada.

REFERENCIAS

- [1] O. Amor- Gutiérrez; E. Rama; et. al. Journal Chemical Education. **94**, 806-812 (2017)
- [2] A. Pisoschi; A. Danet; S. Kalinowski. Journal of Automated Methods and Management in Chemistry. **93**, 2- 8 (2008).
- [3] A. Gutés; A. Ibáñez; et. al. Electroanalysis. **18**, 82- 86 (2006).

ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE Y REGRESIÓN PARCIAL POR MÍNIMOS CUADRADOS EN LA ESTIMACIÓN DE COORDENADAS CROMÁTICAS EN CIELAB

Perla María Gelacio Valdez
Miguel Velázquez-Manzanares
Edith Madaí Colunga Urbina
Iliana Margarita de la Garza Rodríguez
Judith Amador-Hernández^{1*}

INTRODUCCIÓN

El color es el resultado de la apreciación subjetiva del entorno, pero de suma importancia para el hombre ya que en él se basan muchas de sus decisiones de la vida diaria. A nivel industrial, el color de una materia prima o de un producto terminado puede ser uno de los parámetros de mayor importancia para su aceptación o rechazo. Por ello, en las últimas décadas se ha puesto especial atención a su caracterización a través de herramientas objetivas y de fácil interpretación.

Existen distintas interacciones entre la radiación electromagnética de la región UV- Visible con un objeto que determinan la percepción del color. Si éste es opaco, la radiación incidente puede ser reflejada de manera especular (si la superficie es lisa, tipo espejo) o de forma difusa (si la superficie es rugosa); el tipo de radiación reflejada será consecuencia de la composición química de su superficie y determinará el color del objeto. Por otro lado, si el cuerpo es transparente o traslúcido, el color corresponderá a la radiación transmitida a través de él, lo cual está nuevamente relacionado con su composición química [1].

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica. Blvd. V. Carranza s/n, Saltillo, Coahuila. México. C.P. 25280. Tel: +52 (844) 415 9534 ext. 112. Email: amadorjudith@live.com.mx.

Atributos del color

Las propiedades o atributos del color son:

- Tono o Matiz: Cualidad por la cual un color recibe su nombre y puede diferenciarse de los demás; está asociado a la longitud de onda dominante de radiación reflejada o transmitida.
- Luminosidad: Este término se utiliza para describir qué tan claro u oscuro es un color y también se refiere a la cantidad de luz percibida. Los colores que tienen un valor alto (claros), reflejan más luz y los de valor bajo (oscuros) absorben más luz.
- Saturación: Éste representa la viveza o palidez de un color, su intensidad, e incluso puede estar relacionado con el ancho de banda de la luz que se visualiza. Los colores puros son completamente saturados. Con esta propiedad se puede diferenciar un color intenso de uno pálido [2].

Caracterización del color

Para reconocer el color en un objeto, se requiere de tres factores: una fuente de luz (iluminante), un objeto (muestra) y un observador. El iluminante es una fuente de luz estandarizada, cuya potencia radiante y espectro de emisión es reconocida internacionalmente. Esto se debe a que la percepción del color es afectada por diferencias en la distribución de energía de las distintas fuentes de luz. Existen diferentes iluminantes, como el A (incandescente), D65 (luz de día) y F2 (fluorescente).

Por otro lado, la percepción del color de un objeto no solo depende de la luz que llega al ojo procedente del propio objeto, sino también de la luz que se recibe del objeto y de su entorno. En 1931 y en 1964 la Comisión Internacional de Iluminación (CIE, por sus siglas en francés) desarrolló el concepto de observador estándar, el cual se basa en la respuesta humana promedio al estímulo visual por luz de distintas longitudes de onda; los observadores estándar más populares son el de 2° (visión cercana) y a 10° (visión lejana) [3].

Así, los instrumentos de medición de color reconocen éste de manera equivalente a como lo hace el ojo humano: una fuente de radiación es proyectada sobre un objeto y la radiación reflejada o transmitida por éste es proyectada hacia elementos que la descomponen, para dar lugar a la noción de color. Es importante destacar que es posible expresar los atributos del color a través de

sistemas numéricos conocidos como espacios de color, donde tales atributos se representan mediante coordenadas cromáticas. Uno de los más aplicados en diversos ámbitos de la ciencia y la tecnología es el CIELAB, cuyas coordenadas cromáticas son:

- a) L^* : se refiere a la luminosidad y se expresa en porcentaje, desde el 0 que indica negro al 100 que indica blanco.
- b) a^* : indica la posición del color, que va desde el rojo ($+a^*$) hasta al verde ($-a^*$).
- c) b^* : se trata de la posición entre el amarillo ($+b$) y azul ($-b$).
- d) La estimación de coordenadas cromáticas se logra mediante la aplicación de diversas ecuaciones que permiten traducir la información óptica en este tipo de valores, a través de software especializados [4].

En este trabajo, se exploró inicialmente la influencia del pH en las coordenadas cromáticas de dos colorantes sintéticos en disolución, ampliamente utilizados en la industria textil: azul 2R (CAS 70209-96-0) y rojo burdeos (CAS 52333-30-9). Posteriormente, se aplicó la Regresión Parcial por Mínimos Cuadrados para predecir las coordenadas cromáticas en CIELAB de disoluciones acuosas de éstos, en función del espectro de absorción de la disolución y su pH, con el fin de reemplazar en lo sucesivo software especializados en color por otros softwares estadísticos de uso más generalizado y menor costo.

EXPERIMENTACIÓN

Instrumentación

Se utilizó un espectrofotómetro UV Visible modelo Cary 300 de Agilent Technologies, así como un pHmetro modelo pH210 de Conductronic. Para el tratamiento de datos se utilizó el software WinUV Color de Agilent Technologies, así como Origin Pro 8 de OriginLab Corporation y Pirouette v.4.2 de Infometrix.

Reactivos

Todos los reactivos fueron al menos grado analítico; en todos los ensayos se utilizó agua grado ACS de Jalmek. Los colorantes estudiados correspondieron a la marca Huntsman Internacional de México y fueron: a) azul 2R, CAS 70209-96-0; y b) rojo burdeos B, CAS 52333-30-9. Para cada

uno de los analitos, se prepararon disoluciones acuosas de 100 mL a 50 mg L⁻¹ en NaCl 0.1 mol L⁻¹, con el fin de mantener constante la fuerza iónica del medio; estas disoluciones se prepararon el día de trabajo. También se prepararon disoluciones acuosas de hidróxido de sodio (NaOH) y ácido clorhídrico (HCl) en distintas concentraciones, las cuales se almacenaron a 8 °C hasta su uso.

Procedimiento

Para cada valoración ácido-base, se dispuso de un vaso de precipitados de 150 mL con agitación constante, dentro del cual se insertaron un termómetro y un electrodo de pH combinado y se adicionó la disolución del colorante. Entonces, a ésta se adicionaron volúmenes adecuados de la disolución ácida y/o básica, registrando variaciones en el pH de 0.2 unidades, aproximadamente. Así, el estudio se realizó de un pH altamente ácido a medio neutro, y viceversa, con el fin de reconocer si el proceso es reversible o si se presentan reacciones de degradación secundarias. En cada condición de pH se registró el espectro de absorción correspondiente, frente a un blanco reactivo, con una resolución de 1 nm y a una velocidad de barrido de 300 nm min⁻¹, en el intervalo de 380 a 730 nm por ser la región de interés la del espectro visible. Cada ensayo se hizo por triplicado.

Tratamiento de datos

Los espectros de absorción registrados a cada condición de pH se organizaron en Excel y se representaron gráficamente para reconocer las bandas de absorción que correspondieron a las formas ácida y básica, respectivamente. Posteriormente, los espectros de absorción se transformaron a espectros de transmisión y a partir de ellos se estimaron las coordenadas cromáticas L*, a* y b* del espacio de color CIELAB, usando el observador a 10° y el iluminante D65. Estos datos se representaron gráficamente para visualizar la influencia del pH en el color observado en cada caso.

Por otro lado, los espectros de absorción registrados en cada condición de pH se organizaron en un arreglo matricial para su análisis por Regresión Parcial por Mínimos Cuadrados (PLS). Se aplicó el centrado sobre la media como estrategia de pretratamiento de datos y se estimó el número óptimo de factores, tomando en cuenta parámetros como el Error Estándar de Calibración y la Varianza Acumulada [5]. Finalmente, con los modelos construidos se predijeron las coordenadas cromáticas de series de muestras de predicción y se calculó el error o diferencia entre las coordenadas estimadas experimentalmente frente a las coordenadas predichas. Para el

azul 2R, se consideró una serie de calibración de 15 muestras y una serie de validación de 7 muestras, mientras que para el rojo burdeos se usó una serie de calibración de 12 muestras y una serie de validación de 7 muestras. En todos los casos, las muestras estuvieron caracterizadas por sus espectros de absorción, coordenadas cromáticas y pH.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Influencia del pH en el Azul 2R

En la figura 1 se presentan sus espectros de absorción en disolución acuosa, modificando el pH del medio en medio ácido. Como puede apreciarse, el espectro presenta una banda de absorción con un máximo a 590 nm, en el cual hay un efecto hipocrómico conforme disminuye el pH. El efecto observado fue reversible, yendo de un medio altamente ácido a neutro. Se observa en este caso un punto isobéptico a 520 nm, con la aparición de una banda de baja intensidad con un mínimo a 443 nm. Por otro lado, la aparición de una segunda banda con desplazamiento hipsocrómico al disminuir el pH, tiene un efecto representativo en las tres coordenadas cromáticas. La cromaticidad cambia conforme disminuye el pH, de un tono azul de saturación baja con tendencia ligeramente al verde, a un azul apenas perceptible con una tendencia también apenas perceptible al rojo (muy cercano al punto acromático). El cambio en la saturación del tono azul es significativo, ya que $\Delta b^* = 23$, mientras que a^* cambia del eje verde (-9.9) al rojo (+2.1); la luminosidad aumenta en 8 unidades. En otras palabras, el color de la disolución cambia significativamente en el intervalo $pK_a + 2 > pH > pK_a - 2$, debido a la presencia en distinta proporción de dos especies químicas, el ácido y la base conjugada. Por otro lado, la disminución del pH lleva a espectros de menor intensidad en todo el intervalo espectral, que inciden en una disminución significativa de la saturación del tono, quedando cercana al eje acromático ($a^* = 0$, $b^* = 0$, independientemente de L^*).

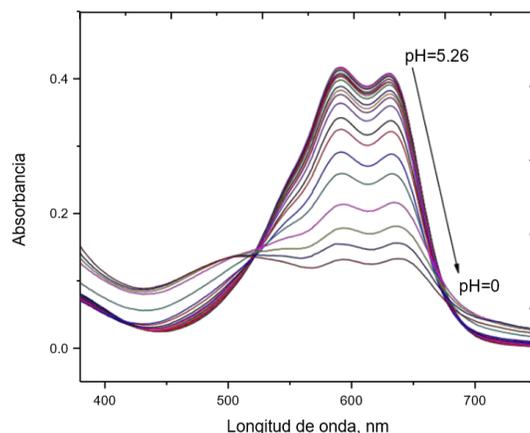


Figura 1. Influencia del pH en los espectros de absorción del colorante azul 2R.

Predicción de coordenadas cromáticas por PLS para azul 2R

Se propuso aplicar PLS para predecir coordenadas cromáticas del azul 2R en función del pH. Como variables independientes se consideraron los espectros de absorción en distintas condiciones de pH y como variables dependientes las coordenadas cromáticas L^* , a^* y b^* . En la Tabla 1 se presentan las coordenadas cromáticas predichas para la serie de validación. Considérese que, en todos los casos, delta (Δ) corresponde a la diferencia entre la coordenada esperada (calculada a través del software WinUV Color) y la estimada (calculada mediante el software con PLS). Como puede observarse, el valor de delta es menor a 1 en todos los casos, valor aceptado en lo general entre las tolerancias visuales a diferencias de color (colores con coordenadas cromáticas diferentes pero que se perciben visualmente como iguales) [6].

Tabla 1. Coordenadas cromáticas predichas en la serie de validación de azul 2R.

pH	a^* estimada	Δa^*	b^* estimada	Δb^*	L^* estimada	ΔL^*
4.97	-9.95	-0.05	-27.42	0.42	81.12	0.08
4.01	-9.99	-0.01	-27.49	0.49	81.10	0.00
3.12	-9.65	0.05	-26.82	0.22	81.32	0.08
2.52	-9.23	0.03	-26.00	0.20	81.58	-0.08
2.05	-8.63	0.03	-24.81	-0.0	81.98	0.02
0.96	-6.26	0.26	-20.15	-0.85	83.50	0.00
0.20	0.03	-0.07	-7.73	0.53	87.56	-0.16

Influencia del pH en el rojo burdeos

En la Figura 2 se presentan los espectros de absorción del compuesto en disolución acuosa, modificando el pH del medio con la adición de HCl. Como puede reconocerse, el espectro presenta un máximo de absorción a 520 nm, el cual presenta un efecto hipocrómico conforme disminuye el pH. Esto puede deberse a que al protonarse el grupo sulfónico presente en su estructura su otrora carga negativa no puede entrar en resonancia con el resto de insaturaciones conjugadas.

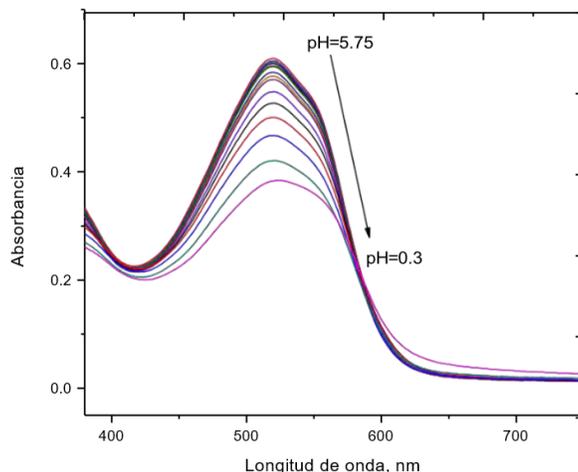


Figura 2. Influencia del pH en los espectros de absorción del colorante rojo burdeos.

Respecto a sus coordenadas cromáticas en el espacio CIELAB, la coordenada predominante para este compuesto es $+a^*$, por lo que el matiz o tono es rojo de saturación baja con tendencia apenas perceptible al azul. Conforme disminuye el pH en el intervalo de 5.7 a 0.6, la variación en $+a^*$ es de 16.3 unidades. La coordenada cromática complementaria, $-b^*$, disminuye en apenas una unidad y la luminosidad o L^* aumenta en 6.4 unidades. En general, se reconoce que conforme disminuye el pH del medio, disminuye la saturación y aumenta la luminosidad, pero sin cambio en el tono.

Tabla 2. Coordenadas cromáticas predichas en la serie de validación de rojo burdeos.

pH	a^* estimada	Δa^*	b^* estimada	Δb^*	L^* estimada	ΔL^*
4.91	42.40	0.03	-3.90	0.04	72.80	0.05
4.29	42.50	-0.01	-3.80	0.00	72.90	0.07
3.71	42.30	0.09	-3.80	-0.17	73.10	0.02

3.09	42.20	0.01	-3.70	-0.10	73.10	0.00
2.88	41.30	0.19	-3.60	-0.26	73.70	0.02
2.48	39.50	0.25	-3.30	-0.15	74.30	-0.10
1.27	36.20	-0.05	-2.40	0.41	75.50	-0.05

-

Predicción de coordenadas cromáticas por PLS para rojo burdeos

En la Tabla 2 se integran las coordenadas cromáticas predichas en la serie de validación también integrada por 7 muestras; el modelo de calibración se ha construido con 2 componentes principales para cada coordenada cromática. Como puede apreciarse en dicha tabla, en todos los casos, las diferencias de color entre el valor predicho matemáticamente y el experimental es menor a 1, lo cual pone de manifiesto la capacidad del modelo para predicción del color como satisfactoria.

CONCLUSIONES

Las coordenadas cromáticas de los dos colorantes cambiaron conforme disminuía el pH de las disoluciones, disminuyendo también la saturación del medio. Por ello, para disoluciones de colorantes con grupos funcionales ácidos o básicos, el pH es un factor que puede manipularse con el fin de alcanzar distintos grados de saturación e incluso variaciones en la cromaticidad.

La variación de las coordenadas cromáticas de los colorantes en disolución azul 2R y rojo burdeos en función del pH no fue un obstáculo para predecir sus coordenadas cromáticas mediante la Regresión Parcial por Mínimos Cuadrados. En todos los casos, las diferencias o variaciones (Δ) en las coordenadas de CIELAB estimadas por PLS y WinUV Color fueron menores a 1. De esta manera, es posible determinar el color de una disolución usando equipos más sencillos y accesibles, como lo es un espectrofotómetro convencional y un software quimiométrico, en lugar de utilizar equipos muy sofisticados o software especializados en la caracterización del color, que incrementan el costo del estudio.

REFERENCIAS

- [1] N. Ohta, A.R. Robertson. Colorimetry: Fundamentals and Applications. Wiley. Chichester UK. (2005).
- [2] R.G. Kuehni. Color: An Introduction to Practice and Principles. Wiley. Chichester UK. (2005).
- [3] J. Bujdud. La medida práctica del color. Maestría en Ciencias Ópticas. Universidad de Guanajuato. México. (1999).
- [4] P. Capilla Perea, J. Artigas, J. Pujol. Fundamentos de colorimetría. Universitat de València. Valencia. (2002).
- [5] R. Brereton. Applied Chemometrics for scientists. Wiley. Chichester UK. (2007).
- [6] J. Carranza Gallardo. Manejo de las fórmulas de diferencias de color vs límites de aceptabilidad.
https://www.cenam.mx/publicaciones/gratuitas/descarga/simposio%202002/doctos/te01_7.pdf.
Acceso: 7 de abril de 2018.

DESARROLLO DE UN SISTEMA DE PRE-CONCENTRACIÓN EN LÍNEA EN ELECTROFORESIS CAPILAR EN EL ANÁLISIS DE COLORANTES AZOICOS

Juan Francisco Flores Aguilar
Israel Samuel Ibarra Ortega*
José Antonio Rodríguez Ávila
María Elena Páez Hernández¹

INTRODUCCIÓN

Los colorantes sintéticos son aditivos que en años recientes han llamado la atención del mundo científico debido a que actualmente se producen más de 7×10^5 toneladas de colorantes sintéticos anualmente, emitiendo entre el 10-15 % de la producción a efluentes industriales y por tanto a cuerpos de agua causando problemas medioambientales en ambientes acuáticos [1], además de graves problemas de salud humana, por lo cual se han desarrollado diferentes normas que plantean límites máximos de este tipo de aditivos en diferentes productos.

Dentro de los colorantes más utilizados en la industria textil, farmacéutica, cosmética y alimenticia se encuentra la tartrazina (Tar), amarillo ocaso (SY) y el rojo allura (AR) los cuales en su estructura presentan un grupo azo (-N=N-) y anillos aromáticos (Figura 1), mismos que bajo condiciones anaeróbicas pueden degradarse a aminas aromáticas, compuestos considerados como carcinogénicos [2].

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química, Laboratorio de Química Analítica. Carr. Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, C.P. 42076, Pachuca, Hidalgo. Tel +52 (771) 7172000 ext. 2217, *e-mail: isio.uaeh@gmail.com

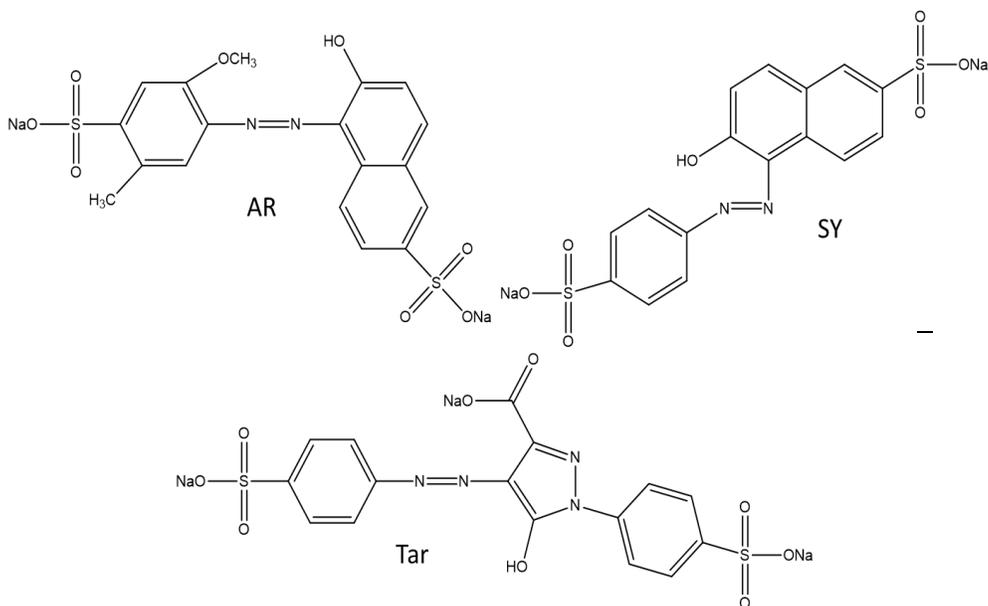


Figura 1: Estructuras químicas de los colorantes Tar, SY y AR.

Debido a la problemática y a la gran importancia que este tipo de compuestos representan, se han desarrollado diversas técnicas analíticas que permiten la identificación y determinación de estos compuestos en muestras complejas, entre las cuales se encuentran las técnicas cromatográficas como la cromatografía líquida de alta Resolución (HPLC) y cromatografía en capa fina [3, 4], así como técnicas no cromatográficas como la electroforesis capilar (CE); esta última altamente utilizada por su alta eficiencia en el sistema de separación, resolución en los análisis, automatización, tratamientos sencillos, y adicionalmente por ser una técnica económica y ambientalmente amigable [5].

Sin embargo de acuerdo a la matriz analítica se requiere el uso de técnicas de preconcentración como una herramienta utilizada en el análisis fisicoquímico de estas especies químicas, debido que permiten la separación y el enriquecimiento de estos azo compuestos en estado líquido o sólido, dentro de las cuales se encuentran la técnicas como la extracción líquido-líquido y la extracción en fase sólida siendo estas denominadas como técnicas fuera de línea, sin embargo en diversas ocasiones estas resultan ser costosas y dependiendo de la matriz pueden ser muy laboriosas. Es por ello que en los últimos años se han desarrollado técnicas de preconcentración en línea teniendo numerosas ventajas como el minimizar la manipulación de la muestra y posible automatización del análisis [6]. En años recientes se han desarrollado técnicas de preconcentración en línea en CE como el método de *Large-VolumeSampleStacking* (LVSS)

donde en una primer etapa (Figura 2 a) existe la inyección de muestra en el capilar, posteriormente (Figura 2 b)) se aplica un voltaje en polaridad reversa para permitir la preconcentración de analitos aniónicos y eliminación de compuestos neutros y catiónicos de la matriz, finalmente (Figura 2 c), d)) se aplica un voltaje en polaridad normal para la correcta separación de los analitos de interés.

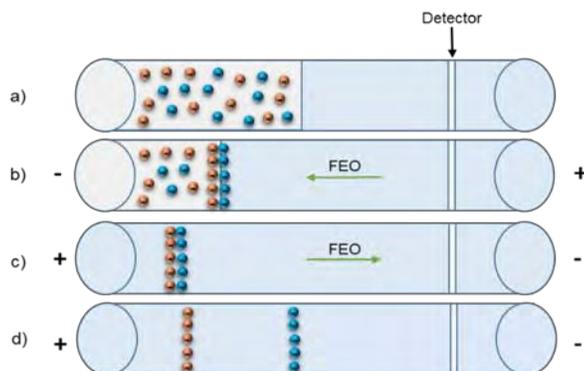


Figura 1: Sistema de preconcentración por LVSS, a) inyección de muestra, b) aplicación de un potencial de preconcentración en polaridad reversa, c) aplicación de un voltaje en polaridad normal, d) separación de los analitos por CE.

El presente trabajo se centra en la evaluación y optimización de las condiciones de separación, detección y preconcentración por electroforesis capilar acoplado a LVSS, de Tar, AR y SY, así como, la obtención de los parámetros analíticos correspondientes.

EXPERIMENTACIÓN

Reactivos y disoluciones

Todas las disoluciones fueron preparadas disolviendo el respectivo reactivo grado analítico en agua desionizada con una resistividad específica menor de $18.2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$. Las distintas soluciones estándar fueron preparadas mediante dilución de una solución madre de tartrazina, amarillo ocaso y rojo allura a una concentración 500 mg L^{-1} (reactivos de Sigma Aldrich). Dichas soluciones se almacenaron a 4°C y se renovaron cada tercer día. Como electrolito soporte se utilizó una solución de tetraborato de sodio 15 mM con β - ciclodextrina 2 mM , ajustada a pH 10. Como estándar interno se utilizó ácido pícrico.

Procedimiento de análisis en electroforesis

Al inicio de cada día de trabajo el capilar se activa con NaOH 1.0 M durante 15 min, seguido por NaOH 0.1 M durante 10 min, agua desionizada por 10 min y finalmente la solución de electrolito soporte por 10 min. El capilar se lava entre cada análisis mediante la siguiente metodología: NaOH 1.0 M por 2 min, NaOH 0.1 M por 1 min, agua desionizada por 1 min y electrolito soporte por 2 min. Todos los lavados se realizan a una presión de 20 Psi.

Los análisis se realizaron en un equipo BeckmanCoulter P/ACE 5500, con detector de arreglo de diodos. Los datos obtenidos fueron adquiridos y analizados mediante el software P/ACE MDQ versión 2.3. Las condiciones de separación fueron: capilar de sílice fundida (41.7 cm x 75 μ m D.I), longitud de onda (λ) de 214 nm, modo de inyección hidrodinámico a 0.5 Psi por 5 seg, el capilar a temperatura de 25 °C, voltaje de separación 14 KV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis por CE

En una primera etapa se realizó la identificación del perfil electroforético de la mezcla de los tres colorantes (Figura 3), las señales fueron identificadas por la coinyección de estándares [5,6].

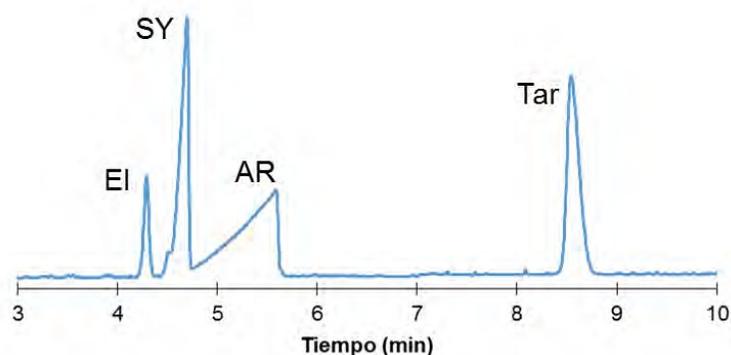


Figura 3: Electroferograma de una solución a 20 mg l⁻¹ de amarillo ocaso (SY), rojo allura (AR), tartrazina (Tar) y 5 mg l⁻¹ de ácido pícrico (EI), analizada a 14 KV y λ 214nm.

Desarrollo y optimización del sistema de preconcentración LVSS

Conforme la baja sensibilidad de CE en la determinación de los azocolorantes se evaluó su análisis mediante CE bajo la modalidad LVSS como sistema de preconcentración en línea, por lo que se realizó una serie de experimentos con la finalidad de lograr mejorar la sensibilidad analítica del

sistema mediante el estudio del tiempo de inyección (T_i), voltaje en polaridad reversa (V_R) y el tiempo de aplicación del voltaje en polaridad reversa (T_R).

Tiempo de inyección

El tiempo de inyección de la muestra por LVSS es un parámetro de suma importancia. De acuerdo con la literatura se reporta que a mayor tiempo de inyección mayor factor de preconcentración, para ello se evaluaron tiempos de inyección en un intervalo de 120- 180 en modo hidrodinámico con una presión de 0.5 psi.

Voltaje en polaridad reversa

El voltaje aplicado en polaridad reversa en LVSS es un parámetro que puede afectar el de enriquecimiento en un sistema en línea (*on-line*), debido a que puede ser insuficiente para realizar una correcta preconcentración o bien generar la pérdida de los analitos de interés [7]. En el presente trabajo se estudió dicho efecto con la aplicación de voltajes de 4, 6 y 8 KV en polaridad reversa, observado que, a mayor voltaje aplicado, los analitos que presentan mayor movilidad electroforética estos son eliminados, mientras que a bajos voltajes aplicados, la eliminación de la matriz acuosa resulta incompleta impidiendo la separación en modo normal.

Tiempo de aplicación del voltaje en polaridad reversa

La evaluación del tiempo de aplicación del voltaje en sentido inverso es un parámetro que juega un papel crucial en el enriquecimiento de los analitos, para ello se evaluó con un intervalo de tiempo de 120 y 180 seg. A mayor cantidad de tiempo aplicado mayor es la probabilidad de originar la pérdida del analito, mientras que, con tiempos bajos, la eliminación de la matriz analítica puede ser insuficiente para llevar a cabo la separación analítica de los azo colorantes,

Conforme a los factores en un sistema de preconcentración en línea se plantean diversos experimentos de entre los cuales se muestra un resumen a continuación en la Tabla 1.

Tabla 1: Factores de preconcentración obtenidos para colorantes sintéticos empleando un método LVSS-CE.

T _i (seg)	V _{PR} (KV)	T _R (seg)	Factores de preconcentración			
			SY	AR	Tar	Total
120	4	120	0.00	0.00	9.88	9.88
120	6	150	8.26	27.64	10.96	46.86
120	8	180	0.00	0.00	0.00	0.00

150	6	120	30.11	37.61	13.23	80.95
150	8	150	0.00	15.12	13.12	28.24
150	4	180	29.77	39.97	14.06	83.80
180	8	120	37.35	47.79	16.42	101.57
180	4	150	0.00	0.00	0.00	0.00
180	6	180	25.97	31.97	40.72	14.53

Según los resultados mostrados en la tabla anterior y tomando en cuenta la suma de los factores de preconcentración analizados se seleccionó como punto óptimo un T_i de 180 seg, un V_{PRde} de 8 KV y un T_R de 120 seg, donde se obtiene el mayor factor de preconcentración (Figura 4).

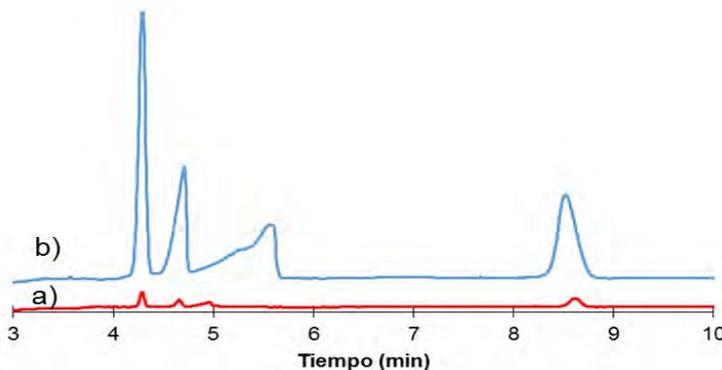


Figura 4: Electroferograma obtenido de una solución de 1 mg l^{-1} de amarillo ocaso (SY), rojo allura (AR), tartrazina (Tar) y 0.25 mg l^{-1} de ácido pícrico (EI), analizada a 14 KV y λ 214 nm. a) por CE y b) por LVSS-CE en condiciones óptimas.

Parámetros analíticos

Finalmente se realizó curva de calibrado multianalito en un rango de concentración de 1 a 40 mg l^{-1} , mediante CE acoplado a un detector DAD obteniendo los resultados mostrados en la tabla 2, donde es posible observar una baja sensibilidad mediante la técnica de CE convencional para los tres analitos teniendo límites de detección (LOD) de entre 5.3 y $6.3 \text{ mg}_{\text{colorante}} \text{ l}^{-1}$, simultáneamente se observan los parámetros obtenidos de una curva de calibrado a un rango de concentraciones de $50 - 900 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ por LVSS-CE bajo condiciones óptimas, observando un menor LOD y un menor límite de cuantificación (LOQ), lo que permite corroborar la preconcentración de los analitos de interés.

Tabla 2: Parámetros analíticos de las curvas de calibrado de colorantes sintéticos por CE.

Parámetro	CE			LVSS-CE		
	SY	AR	Tar	SY	AR	Tar
Rango lineal (mg l ⁻¹)	2 - 40	2 - 30	2 - 40	0.05-0.9	0.1 -0.9	0.05 -0.9
Intersección	-0.161	-0.483	-0.050	0.099	-0.180	0.162
Sensibilidad	1.242	2.035	1.299	1.140	1.637	1.699
Coefficiente de correlación (r ²)	0.991	0.993	0.991	0.992	0.991	0.995
LOD (mg l ⁻¹)	5.314	6.282	5.732	0.099	0.149	0.067
LOQ (mg l ⁻¹)	17.712	20.939	19.107	0.329	0.495	0.222
Repetitividad (%DER n=3)						
	25 mg l ⁻¹			600 µg l ⁻¹		
	1.476	1.922	1.867	0.988	0.901	2.392

CONCLUSIONES

Se logró desarrollar un método sensible, rápido y simple para el análisis simultáneo de SY, AR y Tar mediante LVSS-CE, logrando obtener un bajo LOD (entre 0.07 y 0.15 mg_{colorante} l⁻¹). Los resultados del presente estudio demuestran un gran potencial para la aplicación del método desarrollado en la determinación de dichos analitos en concentraciones traza, con enormes ventajas como la simplicidad en el análisis, la fácil operación, bajo costo y alta sensibilidad.

AGRADECIMIENTOS

La investigación se realizó gracias al financiamiento del proyecto PRODEP-PTC "Síntesis y aplicación de polímeros molecularmente impresos acoplados a sistemas de separación instrumentales en el análisis de residuos de iones metálicos y pesticidas en muestras de interés ambiental". JFFA agradece a CONACyT por el apoyo para realizar sus estudios de posgrado.

REFERENCIAS

- [1] G. L. Dotto, L. A. A. Pinto. Carbohydrate Polymers. **84**, 231-238, (2011).
- [2] A. Gottlieb, S. C. Shaw, A. Smith, A. Wheatley, S. Forsythe. Journal of Biotechnology. **101**, 49-56, (2003).
- [3] M. Kucharska, J. Grabka. Talanta. **80**, 1045-1051, (2010).

- M. S. García-Falcón, J. Simal-Grándara. *Food Control*. **16**, 293-297, (2005).
- [4] W. Chai, H. Wang, Y. Zhang, G. Ding. *Talanta*. **149**, 13-20, (2016).
- [5] J. A. Rodríguez, I. S. Ibarra, J. M. Miranda, E. Barrado, E. M. Santos. *Analytical Methods*. **8**, 8466-8473, (2016).
- [6] G. Islas, J. A. Rodríguez, I. Pérez-Silva, J.M. Miranda, I.S. Ibarra. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. **2018**, 1-7, (2017).
- [7] C. Chen, X. Li, X. Xie, F. Chang, M. Li, Z. Zhu. *Analytical Methods*. **8**, 4272-4276, (2016).

—

EVALUACIÓN POTENCIOMÉTRICA DE UN ELECTRODO MODIFICADO CON UN NUEVO MATERIAL METAL-ORGÁNICO⁻

Ingrid Guadalupe Meza Pardo¹
José Ángel Cobos Murcia²⁽¹⁾
María Aurora Veloz Rodríguez⁽¹⁾
José María Rivera Villanueva³
Víctor Esteban Reyes Cruz⁽¹⁾

INTRODUCCIÓN

El electrodo de pasta de Carbón se ha utilizado desde 1958 usando técnicas voltamperométricas, con el paso del tiempo se han ido modificando estos mismos con diversos métodos como por ejemplo depósito de películas [1], adsorción de monocapas autoensambladas, drop casting, autoensamblado capa-por-capita, con sulfuros metálicos [2], polímeros conductores [3], redes metalorgánicas (MOFs).

Durante los últimos años, los *Metal Organic Frame Work* (MOFs por sus siglas en inglés), también conocidos como polímeros de coordinación porosos, han sido de gran

interés debido a sus propiedades únicas y aplicaciones variadas. Los MOFs se consideran híbridos debido a su composición ya que se sintetizan con precursores orgánicos y precursores metálicos [4]

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Área Académica de Ciencias de la Tierra y Materiales, Carr. Pachuca-Tulancingo km 4.5 s/n, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México. C.P. 42074

² Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Depto. de Cátedras, Av. Insurgentes Sur 1582, Col. Crédito constructor, Deleg. Benito Juárez, Ciudad de México, CP 03940, México.

³ Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Químicas, Prol. Ote. 6 No. 1009, col. Rafael Alvarado, C.P. 94340, Orizaba, Veracruz.

Los materiales hechos a base de MOFs han captado la atención debido a sus propiedades excepcionales, como alta área superficial, baja densidad, alta porosidad y capacidad de adsorción, estabilidad térmica y una funcionalización química variable; por lo que tiene aplicaciones en diversas áreas tales como purificación de gas, separación de gases, almacenamiento de gases como el hidrógeno, catálisis y aplicaciones biomédicas como captura y liberación de fármacos [5].

La técnica potenciométrica permite seguir los cambios de potencial que son proporcionales a la actividad de las especies participantes del equilibrio, lo cual registra la actividad que es perteneciente al electrodo [6].

En la presente investigación se utilizó la técnica potenciométrica con potencial de corriente nula debido a las ventajas que presenta al seguir los cambios en la concentración de un metal como lo es el Cobre, debido a que en investigaciones futuras se pretende utilizar como sensor potenciométrico en baños electrolíticos.

Es por ello que se tiene como hipótesis que es posible sintetizar, caracterizar y evaluar diferentes materiales que permitan el desarrollo de electrodos modificados que presenten señales electroquímicas asociadas a la concentración de metales, para ser empleados en la elaboración de sensores electroquímicos útiles en metodologías de control de calidad de la industria de la galvanoplastia y minera, por lo que el objetivo del presente trabajo es evaluar de la respuesta potenciométrica de electrodos modificados con MOF, mediante técnicas electroquímicas para su aplicación como sensores electroquímicos.

EXPERIMENTACIÓN

Preparación del MOF-RPR se realizó una síntesis mecano-química utilizando reactivos de grado analítico SIGMA ALDRICH, como precursor orgánico 4,4'-dipiridil y como metálico acetato de zinc trihidratado. Se mezclaron en un mortero, se trituró hasta obtener una mezcla homogénea de forma pastosa, se agregó metanol como disolvente y por último se metió a secar en el horno a 105 °C (318 K) por 10 minutos.

La caracterización electroquímica se realizó empleando electrodos de pasta de carbón (EPC), que fueron preparados empleando reactivos de la marca SIGMA-ALDRICH, se utilizó polvo de grafito con un tamaño de grano <20 µm y como aglomerante aceite Nujol, en una proporción 2:1 de grafito y aglomerante.

Los EPC modificados con el MOF-RPR pasta de carbono se realizó en la misma proporción que los EPC, pero se incorporó el MOF en una proporción 1:2 respectivamente. Los experimentos electroquímicos se llevaron a cabo en una celda electroquímica en un arreglo de tres electrodos, como electrodo de trabajo se utilizaron EPC y el EPCM con MOF-RPR, como electrodo de referencia se utilizó un electrodo de Calomel saturado y como contra electrodo una barra de Platino (Pt). Como electrolito se utilizó NaCl con CuSO_4 a distintas concentraciones 1×10^{-2} , 1×10^{-3} , 1×10^{-4} y 1×10^{-5} mol/L, los electrodos fueron evaluados por cronopotenciometría en presencia y ausencia en Oxígeno (O_2) mediante su desplazamiento con burbujeo de nitrógeno (N_2) por 1 min/mL, en un intervalo de 700 s, todo esto con ayuda del equipo Potenciostato Galvanostato marca Autolab PGSTAT30, con software NOVA 2.0, el tratamiento de datos estadísticos se realizó con el software NCSS, versión 7.1.20.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestran los transitorios potenciométricos registrando sus valores de potencial de equilibrio a diferentes valores de concentraciones de Cobre ($[\text{Cu}]$). Se puede observar que se presenta una variación del potencial en función del tiempo atribuido a los cambios de $[\text{Cu}]$. Se observa que la respuesta potenciométrica tiene una variación de potencial el cual se estabiliza a valores de tiempo superiores a 200 s, alcanzando una estabilización de 0.1 mV/s, esto por el método de la derivada ($\Delta E/\Delta t$).

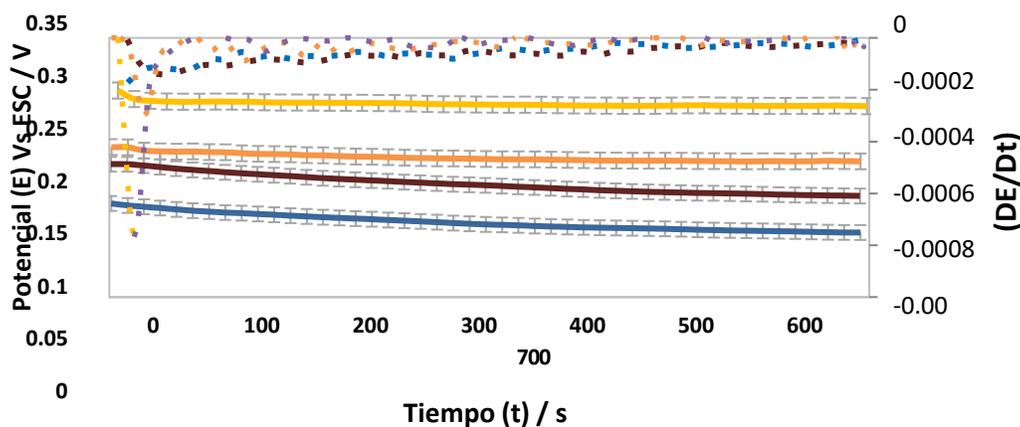


Figura 1 Transitorios potenciométricos (Línea continua) a diferentes $[\text{Cu}]$: 1×10^{-2} (amarillo), 1×10^{-3} (naranja), 1×10^{-4} (café) y 1×10^{-5} (azul), todos en mol/L. Además de los valores de la primera derivada del potencial en función del tiempo (línea punteada) de las diferentes concentraciones evaluadas (mismos colores).

En la Figura 2 se muestra la curva de calibración utilizando el electrodo modificado (rojo), presentando el valor promedio de potencial en función de p [Cu]. Cada punto presenta una desviación estándar no mayor a 10 mV, además se observa que presenta una respuesta lineal en el intervalo de concentraciones evaluadas, con una ecuación lineal con valores de pendiente de 50.9 ± 7.8 mV por década de [Cu] que corresponde a la transferencia de un electrón durante el proceso Redox y una intersección de 347 ± 28 mV que como lo indica la ecuación $E = E^0 + \frac{0.06V}{n}p[Cu]$ la cual es en función al valor de potencial estándar que es atribuible a las reacciones que suceden entre la interfase del electrodo y el electrolito $Cu^{2+} + 1e^- \rightleftharpoons Cu^+$ el cual se da en un potencial con respecto a ESC de -178 mV y $Zn^0 \rightleftharpoons Zn^{2+} + 2e^-$ esta reacción tiene como potencial vs ESC de 251 mV, que de acuerdo a la ley Hess haciendo un balance de carga y masa da un potencial de 343 mV el cual es similar al potencial observado con el electrodo modificado, lo que se atribuye a la transferencia aproximada de un electrón a partir de la pendiente que es la respuesta del potencial en función de la concentración de Cobre, lo que es indicativo de la interacción del Zinc presente en el MOF y la solución electrolítica. Por otra parte, se observa también la curva de calibración utilizando el electrodo de pasta de carbón sin modificar (azul), presentando el valor promedio de potencial en función de p [Cu]. Cada punto presenta una desviación estándar no mayor a 5 mV por excepción de la concentración de 10^{-5} mol/L en la cual la variabilidad excede el valor de 48 mV, debido a la baja concentración de Cu. Lo cual no se observa en el electrodo de pasta de carbón modificado el cual muestra variabilidad mínima en cada uno de los puntos. Además se observa que presenta una respuesta lineal en el intervalo de concentraciones evaluadas, con una ecuación lineal con valores de pendiente de $36.4.9 \pm 17.8$ mV por década de p [Cu] que corresponde a la transferencia de más de un electrón durante el proceso Redox y una intersección de 268.9 ± 65.5 mV, dicho potencial es atribuible a la reacción $Cu^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Cu^0$ el cual tiene un potencial vs ESC -92 mV, lo que indica que hay un desplazamiento hacia potenciales más positivos debido a la ausencia de este metal en la superficie del electrodo.

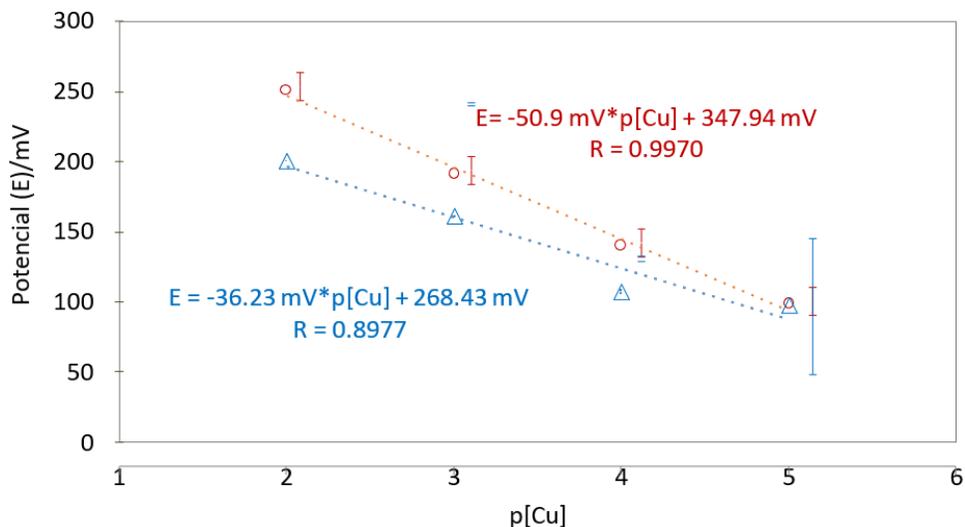


Figura 2 Comparación de respuesta potenciométrica del Electrodo de Pasta de Carbón (azul) y Electrodo de pasta de Carbón modificado (rojo)

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se determinó el efecto del p [Cu], en el cual se observa que hay una modificación en las condiciones energéticas del electrodo modificado de pasta de carbón, lo cual indica que existe una respuesta potenciométrica con respecto a la concentración de Cobre en la solución.

Se determinó que existe una relación de p [Cu] con respecto a la respuesta del potencial, dando como resultado la transferencia aproximada de 1 electrón, con una muy baja variabilidad que, al compararse con el electrodo de pasta de carbón sin modificar, en el último punto existe una diferencia en la estabilización de la señal, al igual que una posible transferencia de 1.6 electrones por década de concentración de Cobre.

AGRADECIMIENTOS

I.G. Meza-Pardo agradece a CONACYT la beca otorgada.

REFERENCIAS

- [1] Guo, W.; Xu, I.; Xu, B.; Wang, Y.; Sun, Z.; Liu, J. *J. Appl. Electrochem* **39**, 647-652 (2009).
- [2] Völker, E., F. J. Williams, D. J. Schiffrin, *Electrodos modificados y sus aplicaciones en electrocatálisis*, Universidad de Buenos Aires. Argentina. (2013).
- [3] Cobos-Murcia J.A. *Síntesis y caracterización electroquímica de una membrana poli (5Afen) para el desarrollo de electrodos modificados útiles para la determinación de neurotransmisores en presencia de ácido ascórbico*, UAM-Iztapalapa. México. (2007).
- [4] S. L. James *Chemical Society Reviews* **32**, 276-288 (2003).
- [5] P. Horcajada. T. Chalati *Nature Materials* **9**, 172-178 (2010).
- [6] F. Prieto-García, S. Serrano-López, C. A. Galán-Vidal, R. I. Beltrán-Hernández. *Rev. LatinAm. Met. Mat.* **26**, 1-2 Caracas (2006).

DETERMINACIÓN DE LA ESTEQUIOMETRÍA Y LA CONSTANTE DE COMPLEJACIÓN DEL COMPLEJO FORMADO POR CAPSAICINA Y β - CICLODEXTRINA EMPLEANDO EL MÉTODO DE VARIACIONES CONTINUAS

Gloria Alejandra Méndez Rivera
Luz María Torres Rodríguez*
Antonio Montes Rojas¹

INTRODUCCIÓN

Los capsaicinoides, son oleorresinas que se encuentran presentes en los chiles y a los que se les atribuye el picor de éstos. Dentro de la familia de los capsaicinoides se han reportado más de 20 compuestos, siendo el principal de ellos la capsaicina (CP) (Figura 1a). De acuerdo con diferentes estudios la capsaicina presenta distintas propiedades y aplicaciones, como: propiedades anticancerígenas, antibacteriales y analgésicas; así como aplicaciones para el tratamiento del asma para uso como pesticida y como componente principal en el espray de protección personal [1]. Sin embargo, la CP tiene una baja solubilidad en medio acuoso (60 mg L^{-1}) [2], lo que complica su manejo y aplicación en estas áreas.

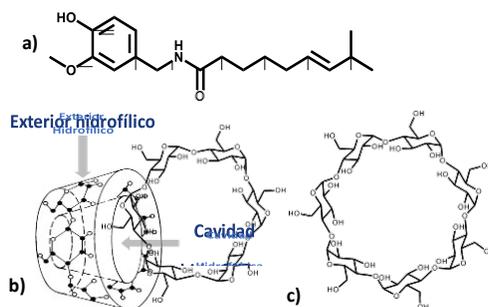


Figura 1. a) Estructura molecular de CP, b) forma cónica de las ciclodextrinas y c) estructura de la β -ciclodextrina.

¹ Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Facultad de Ciencias Químicas, Laboratorio de Electroquímica. Av. Dr. Manuel Nava No 6, Zona Universitaria, San Luis Potosí, S.L.P., México. C.P. 78210, Tel: +52 (444) 826 2300 ext. 6543. e-mail: gloria.ale.mendez@live.com, luzmaria@uaslp.mx *, antonio.montes@uaslp.mx.

Por otra parte, las ciclodextrinas (CD) son macromoléculas formadas por unidades de glucosa. Las CD se caracterizan por tener una forma cónica (Figura 1b) que tiene un exterior hidrofílico y una cavidad hidrofóbica, lo que hace de las CD buenas solubilizadoras para compuestos hidrofóbicos en medios acuosos [3]. En diferentes estudios se ha encontrado que la β -ciclodextrina (β CD), que tiene en su estructura 7 unidades de glucosa (Figura 1c), forma con la CP un complejo con el cual se han podido aprovechar las propiedades de la CP, eliminando las limitaciones que presenta por su baja solubilidad. Por ejemplo, se ha probado el uso del complejo de β CD-CP para mejorar la formulación de pesticidas [4], se han hecho estudios del complejo entre la CP y un derivado de la β CD para su aplicación farmacéutica [5] y también, se ha cuantificado CP con un electrodo de pasta de carbono modificado con β CD [6]

Debido al interés y aplicaciones que ha tenido el complejo CP- β CD es necesario entender la interacción del complejo. Por lo que el objetivo de este trabajo es determinar la estequiometría de CP- β CD, y su constante de complejación (K_e)

Para lograr este objetivo se usará el Método de Variaciones Continuas, o Método de Job. La estequiometría del complejo se definirá usando datos obtenidos de dos técnicas, una con espectrofotometría UV-Vis y la otra electroquímicamente por voltamperometría cíclica.

El gráfico de variaciones continuas, elaborado a partir de los datos de UV-Vis, será tratado con dos técnicas gráficas: el método de tangentes iniciales (TI) y el método de cuerdas (MC) [7], para obtener la constante aparente de complejación y el coeficiente de extinción molar del complejo.

EXPERIMENTACIÓN

Todos los reactivos usados fueron grado analítico y todas las soluciones fueron preparadas con agua desionizada (18 M Ω cm).

Se prepararon soluciones madre de capsaicina (CP) 0.01 mol L⁻¹ en etanol y de β -ciclodextrina (β CD) 0.005 mol L⁻¹ en HClO₄ 1 mol L⁻¹. A partir de estas soluciones se prepararon mezclas isomolares de CP y β CD en diferentes proporciones de estas, para que la suma final de sus moles sea de 0.001 mol L⁻¹. El aforo en las mezclas se completó con HClO₄ 1 mol L⁻¹.

Las soluciones preparadas varían en función de la fracción molar de la CP, que va de 0 a 1, aumentando en 0.1 unidades. Las soluciones fueron dejadas en agitación toda la noche para asegurar la formación del complejo CP- β CD, y al día siguiente se procedió con el estudio por espectrofotometría UV-VIS y voltamperometría cíclica.

Todos los experimentos electroquímicos se realizaron en un potencióstato/galvanostato EPSILON BASi y una celda de tres electrodos. Como electrodo de trabajo se usó pasta de carbono con una proporción en masa de 60/40 de grafito/nujol, y un área superficial de 0.1256 cm²; como de referencia se empleó un electrodo de Ag/AgCl/3 mol L⁻¹ NaCl y como contraelectrodo un alambre de Pt.

Los voltamperogramas cíclicos de las mezclas se obtuvieron con una ventana de potencial de 200 a 900 mV y una velocidad de barrido de 50 mVs⁻¹. Las soluciones fueron burbujeadas por 10 minutos con N₂ para eliminar el oxígeno presente en las mismas y se conservan en atmósfera inerte durante las mediciones.

Para el estudio espectrofotométrico se usó un espectrofotómetro Genesys 10S UV-Vis, en donde se estudian las soluciones siguiendo la absorbancia en una longitud de onda (λ) de 279 nm, dentro de una celda de cuarzo con 1 cm de longitud de paso óptico.

Tratamiento matemático

Es posible determinar la K_e por el método de variaciones continuas, para un complejo 1:1, cuya reacción de complejación es:



Para aplicar el método de variaciones continuas, se debe medir una propiedad característica de la mezcla en equilibrio, como corriente, absorbancia etc., para una serie de soluciones isomolares en las que se varía la concentración del compuesto A ($[A]_i$) y B ($[B]_i$) manteniendo constante la concentración final ($[C]_o$):

$$[A]_i + [B]_i = [C]_o \quad (2)$$

La propiedad medida se grafica en función de la fracción molar de A (χ). La gráfica para un complejo 1:1 se caracteriza por presentar un máximo cuyo valor en 0.5 χ representa la estequiometría del complejo [8, 9].

También a partir del gráfico es posible conocer la K_e , en este trabajo se empleó el método de cuerdas y el de tangentes, para los cuales se realiza un tratamiento matemático a partir de los datos del gráfico. De acuerdo con Bruneau [7], la ecuación del gráfico de variaciones continuas es:

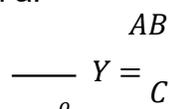
$$Y = \frac{m + 1 - m + 1^2 - 4m^2\chi}{2m} \frac{1 - \chi^2}{1 - \chi} \quad (3)$$

Donde m es igual a la constante sin unidades:

$$m = \frac{K_e C_o}{Y} \quad (4)$$

$$\frac{m}{-Y} = \frac{\chi - Y}{1 - \chi} \quad (5)$$

y de acuerdo con la reacción (1) Y es igual a: (6)



Para explotar los datos, se debe hacer una transformación del gráfico de variaciones continuas, en donde se elimine la aportación a la señal dada por CP y β CD sin acomplejar (A_a). Lo cual es sencillo hacer para los datos obtenidos por UV-Vis con la fórmula:

$$\Delta A = A_{ex} - A_a = Y \Delta \epsilon l C_o \quad (7)$$

Donde:

$$A_a = \epsilon_{CP} - \epsilon_{\beta CD} \chi + \epsilon_{\beta CD} l C_o \quad (8)$$

Y:

$$\Delta \epsilon = \epsilon_{CP-\beta CD} - \epsilon_{CP} - \epsilon_{\beta CD} \quad (9)$$

Siendo A_{exp} los valores de absorbancia leídos para cada solución, $\Delta \epsilon$ la diferencia de los coeficientes de extinción molar del complejo ($\epsilon_{CP-\beta CD}$), de la β -ciclodextrina ($\epsilon_{\beta CD}$) y el de la capsaicina (ϵ_{CP}); y con l que es la longitud de paso óptico en cm.

Por otra parte, el método de TI [7, 10], consiste en trazar dos líneas tangentes a la parábola, usando los datos experimentales correspondientes a los primeros y los últimos valores de χ_{CP} , como se muestra en la Figura 2. En la intersección de ambas líneas se obtiene el punto Y_1 , y Y_{max} es el valor de Y en $0.5 \chi_{CP}$. Donde d está dada por la fórmula:

$$d = \frac{Y_1 - Y_{max}}{Y_1} \quad (10)$$

Teóricamente el valor de d se obtiene relacionando las fórmulas 10 y 5:

$$d = \frac{1 + 2m^{-1/2} - 1 + m - 2m - 1}{m^2} \quad (11)$$

A la fórmula 11 se le deben asignar valores de m que den un valor de d igual al obtenido por nuestro gráfico con la fórmula 10. Esta técnica es sensible para valores de m que van de 1 a 10^3 .

El otro método gráfico utilizado es el MC [7], donde se trazan dos líneas (cuerdas) que van de $\chi_{CP} = 0$ hasta $\chi_{CP} = 0.5$ y de $\chi_{CP} = 1$ hasta $\chi_{CP} = 0.5$, como se puede observar en la Figura 2. Dada la simetría del gráfico de Job, se tendrá $Z = \chi$ cuando $\chi \leq 0.5$; y cuando χ

≥ 0.5 Z es: $Z = 1 - \chi$.

Para cada valor de χ se puede tener un valor correspondiente a la cuerda que es igual a $2ZY_{max}$ que restándolo al valor de Y_χ nos da un valor de δ de acuerdo con la fórmula:

$$\delta = Y - 2ZY_{max} \quad (12)$$

Con este método podemos obtener diferentes valores de δ (uno por cada punto experimental de χ) y con ellos estimar una constante de complejación, que promediándose será el valor de la constante estimada para nuestro complejo.

Para lograr esto se debe encontrar el valor teórico de δ sustituyendo en 12, la fórmula 6 y la fórmula para Y_{max} que está dada por:

$$Y_{max} = \frac{m + 1 - 1 + 2m^{-1/2}}{2m} \quad (13)$$

Se deben asignar valores de m (1 a 10^3), para encontrar valores de δ teóricos iguales a los obtenidos con nuestro gráfico, como en el método de tangentes, y así calcular K_e .

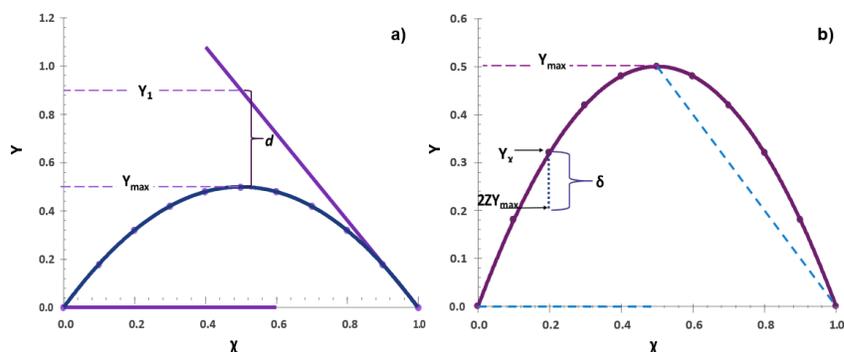


Figura 2. Gráficos de Job en donde se ilustra cómo se obtienen los datos para determinar la K_e con el método de a) cuerdas y b) tangentes.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las soluciones isomolares fueron analizadas por espectroscopía de UV-Vis y voltamperometría cíclica. En efecto, la CP es una especie electroactiva [11], como se puede observar en la Figura 3a, la respuesta voltamperométrica de la CP en ausencia de β CD, se caracteriza por un pico de oxidación irreversible centrado en 811 mV (pico I), atribuido a la oxidación de la CP. En el barrido inverso, se observa un pico de reducción, que corresponde a la reducción de la especie oxidada de CP (pico III) localizado en 420 mV. En el segundo barrido de potencial se observa un pico de oxidación con un máximo en 660 mV (pico II), asignado a la oxidación de la especie formada durante la oxidación de CP. En presencia de β CD el comportamiento fue similar, aunque los picos se desplazaron ligeramente, lo que evidencia que el requerimiento energético de las reacciones redox cambia en presencia de β CD. Para elaborar el gráfico de Job (figura 3b), se empleó la corriente del pico anódico I, se graficó $\Delta i_p \cdot \chi_{CP}$, en función de la fracción molar de CP (χ_{CP}), siendo:

$$\Delta i_p = i_{po} - i_{p\chi} \quad (14)$$

Donde i_{p0} es la corriente de pico anódico cuando se tiene solo CP en la solución y i_{pX} es la corriente de pico anódico de la mezcla de CP con β CD en función χ_{CP} .

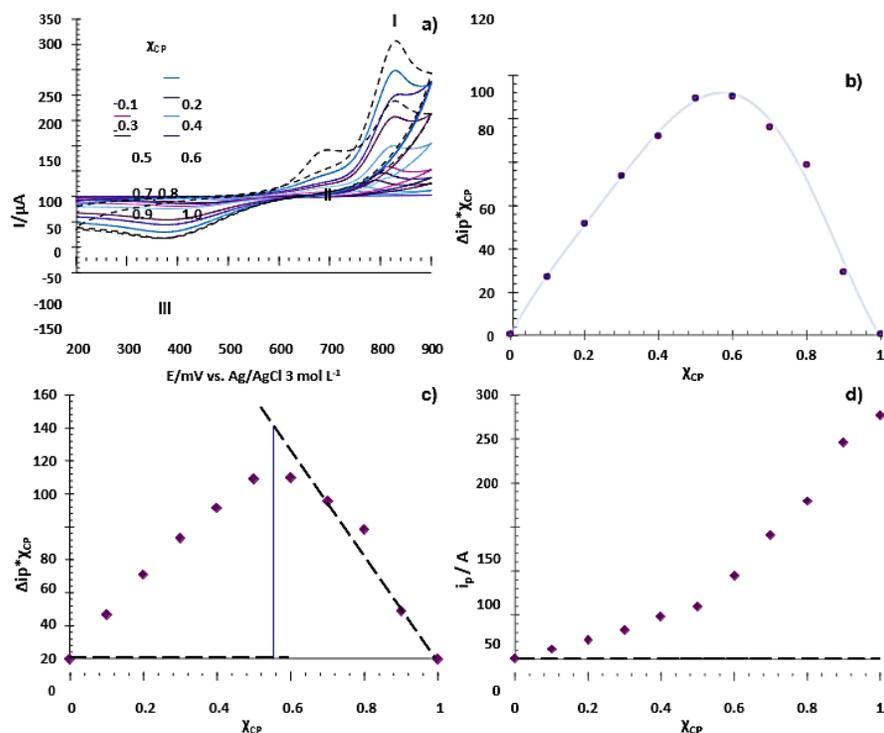


Figura 3. a) Voltamperogramas cíclicos de las soluciones de CP- β CD con una concentración total de 0.001 mol L^{-1} en HClO_4 1 mol L^{-1} . Obtenidos con un electrodo de pasta de carbono a una velocidad de barrido de 50 mVs^{-1} . b) y c) Gráficos de variaciones continuas para el complejo CP- β CD construido a partir de los datos de i_p obtenidos por voltamperometría, el segundo con tangentes marcando su intersección en χ_{CP} . Y d) grafico de i_p en función de χ_{CP} .

La curva obtenida presenta la forma típica de un gráfico de Job, sin embargo, la curva es asimétrica lo que puede sugerir la presencia de más equilibrios en la solución debido probablemente a la presencia del complejo de CP oxidada producida por voltamperometría cíclica. En la Figura 3c al trazar dos tangentes a la curva se tiene una intersección en $0.55 \chi_{CP}$; por otro lado, en la Figura 3d está representado el grafico de i_p contra χ_{CP} , en donde se observa como aumenta la corriente a mayores valores de χ_{CP} y en aproximadamente 0.5 hay un mayor incremento de corriente creando dos rectas con diferentes pendientes. Al trazar las rectas correspondientes, éstas intersecan en un valor de $0.54 \chi_{CP}$. Los valores obtenidos de estos gráficos son aproximadamente $0.5 \chi_{CP}$, lo que indica una estequiometría 1:1. Además, se puede notar en ambas curvas que el pico en el valor de χ_{CP} de 0.5 no es angulado ni muy pronunciado, lo que sugiere que

el valor de la constante de complejación es pequeño [8]. Para obtener K_e con esos métodos se requiere eliminar la contribución de CP y β CD cuando no se encuentran complejadas, lo que no es posible hacer con este tratamiento matemático aplicado a técnicas electroquímicas, por lo que no se calculó la K_e por medio de esta técnica.

Una vez analizados los datos obtenidos con voltamperometría cíclica, se procedió a hacerlo con los espectros de espectroscopía de UV-Vis. Los espectros obtenidos son mostrados en la Figura 4a, se puede observar en el gráfico que a medida que aumenta la concentración de CP en la mezcla, aumenta la absorbancia de la solución, lo que nos indica que la CP complejada no cambia su comportamiento espectroscópico. La CP presenta un espectro con un máximo de absorbancia en 279 nm, que es la longitud de onda elegida para seguir la absorbancia y así construir el gráfico de variaciones, continuas (Figura 3b). El cual es construido graficando ΔA multiplicado por χ_{CP} , en función de χ_{CP} , siendo:

$$\Delta A = A_o - A_\chi \quad (15)$$

Donde A_o es la absorbancia cuando se tiene solo CP en la solución y A_χ es la absorbancia de la mezcla de CP con β CD.

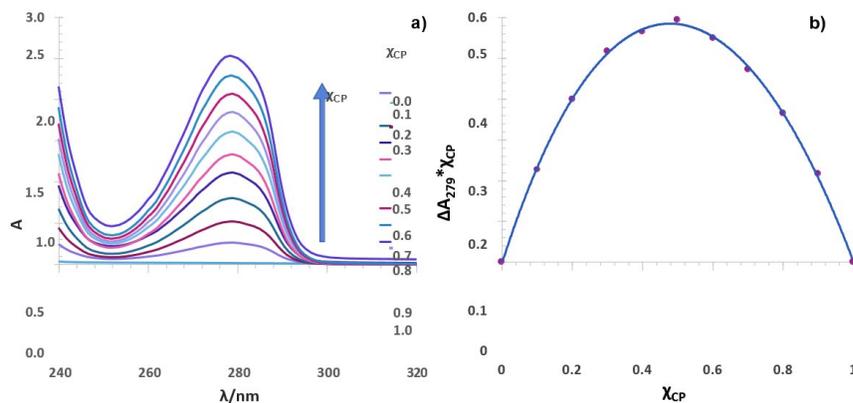


Figura 4. a) Espectros de absorbancia UV-Vis de las soluciones CP- β CD con una concentración total de 0.001 mol L^{-1} en HClO_4 1 mol L^{-1} . Y b) Gráfico de variaciones continuas para el complejo CP- β CD construido a partir de los datos de absorbancia a una λ de 279 nm.

El gráfico de Job obtenido presenta la forma típica con un máximo en una fracción molar de 0.5, que corresponde a un complejo 1:1 en congruencia con lo obtenido con voltamperometría cíclica. A partir de los datos de la curva se determinó que el valor de K_e del complejo CP- β CD por

el TI es $2491.79 \text{ mol}^{-1}\text{L}$, en tanto que el coeficiente de extinción molar del complejo en 279 nm fue de $5899.96 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. K_e . Usando el MC, el valor de la K_e del complejo CP- β CD es $1388.38 \text{ mol}^{-1}\text{L}$ y el valor de $\epsilon_{\text{CP-}\beta\text{CD}, 279 \text{ nm}}$ da: $5544.36 \text{ mol}^{-1}\text{L cm}^{-1}$. Comparando los valores de K_e obtenidos por TI y MC con el reportado en la literatura para el complejo CP- β CD en pH neutro ($1187 \text{ mol}^{-1}\text{L}$) [4], podemos ver que ambos valores de K_e aparente encontrados en este trabajo están en el mismo orden posiblemente diferenciándose por el pH de trabajo, que en este caso fue ácido. También se puede notar que al igual que en otros trabajos [7], los valores de K_e y $\epsilon_{\text{CP-}\beta\text{CD}}$ difieren entre sí, de acuerdo a Likussar [12], el método de tangentes nos permite calcular el valor de K_e con un error más pequeño, ya que Y_{max} es donde la complejación de CP- β CD es mayor y se encuentra el equilibrio en la reacción. Por otra parte, el MC calcula K_e en diferentes valores de χ_{CP} , lo que difiere de las condiciones de equilibrio en el valor de Y_{max} , y puede llevar a la diferencia entre los valores calculados por estos métodos.

CONCLUSIONES

La CP y la β CD forman un complejo con estequiometría 1:1 como se demostró con los gráficos de variaciones continuas, obtenidos espectrofotométricamente y electroquímicamente. Además, se obtuvo el valor de K_e y el de $\epsilon_{\text{CP-}\beta\text{CD}, 279 \text{ nm}}$ por los métodos de tangentes iniciales y de cuerdas, a partir del gráfico de Job espectrofotométrico. Siendo, K_e $2491.78 \text{ mol}^{-1}\text{L}$ y $\epsilon_{\text{CP-}\beta\text{CD}, 279 \text{ nm}}$ $5899.96 \text{ mol}^{-1}\text{L cm}^{-1}$ los valores obtenidos por el método de tangentes iniciales, y para el método de cuerdas de K_e $1388.38 \text{ mol}^{-1}\text{L}$ y $\epsilon_{\text{CP-}\beta\text{CD}, 279 \text{ nm}}$ $5544.36 \text{ mol}^{-1}\text{L cm}^{-1}$. Debido a que el método de TI permite determinar estos valores cuando se tiene la mayor cantidad de complejo CP- β CD ($0.5 \chi_{\text{CP}}$) son los valores que se cree son más cercanos a los reales.

AGRADECIMIENTOS

Los autores externan su gratitud a la UASLP por el apoyo de proyecto por medio del FAI (C18-FAI-05-71.71-726) y al CONACyT por la beca otorgada para estudios de posgrado con el número 285939.

REFERENCIAS

- [1] M. Reyes-Escogido, E. G. Gonzalez-Mondragon, E. Vazquez-Tzompantzi. *Molecules*. **16**, 1253-1270 (2011).
- [2] C. Turgut, B.-m. Newby, T. J. Cutright. *Environmental Science and Pollution Research*. **11**, 7-10 (2004).
- [3] T. Loftsson, M. E. Brewster. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **85**, 1017-1025 (1996).
- [4] C. Shen, X. Yang, Y. Wang, J. Zhou, C. Chen. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. **72**, 263-274 (2011).
- [5] Y. Zhao, C. Sun, F. Shi, C. K. Firempong, J. Yu, X. Xu, W. Zhang. *Pharmaceutical Biology*. **54**, 130-138 (2016).
- [6] E. Díaz de León Zavala, L. M. Torres Rodríguez, A. Montes-Rojas, V. H-Torres Mendoza, A. E. Liñán González. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. **814**, 174-183 (2018).
- [7] E. Bruneau, D. Lavabre, G. Levy, J. Micheau. *Journal of Chemical Education*. **69**, 833 (1992).
- [8] V. M. Gil, N. C. Oliveira. *Journal of Chemical Education*. **67**, 473 (1990).
- [9] A. Rojas-Hernández, N. Rodríguez-Laguna, M. T. Ramírez-Silva, R. Moya-Hernández. *Distribution Diagrams and Graphical Methods to Determine or to Use the Stoichiometric Coefficients of Acid-Base and Complexation Reactions. Stoichiometry and Research - The Importance of Quantity in Biomedicine*. A. Innocenti, InTech, (2012).
- [10] Z. Slovak, J. Borak. *Analytica Chimica Acta*. **68**, 425-434 (1974).
- [11] R. T. Kachoosangi, G. G. Wildgoose, R. G. Compton. *Analyst*. **133**, 888-895 (2008).
- [12] W. Likussar, D. Boltz. *Analytical Chemistry*. **43**, 1265-1272 (1971).

VALIDACIÓN DE UN MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN POR RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE *REBAUDIOSIDO A* EN ENDULZANTES COMERCIALES

David Paniagua Vega^{1,2}
Norma Cavazos Rocha⁽¹⁾
Ariana Huerta Heredia^{2,3}
Verónica Rivas Galindo⁽¹⁾
Noemí Waksman Minsky⁽¹⁾
Alma Leticia Saucedo Yáñez^{(1,2)*}

INTRODUCCIÓN

De las hojas de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) se extraen los edulcorantes naturales no calóricos denominados glucosidos de esteviol (GE). Estos metabolitos secundarios han tomado un gran auge por las propiedades edulcorantes y medicinales que se les atribuyen. Los GE de mayor importancia son el esteviosido y el Rebaudiosido A. En la industria alimentaria se prefiere el Rebaudiosido A (RebA, Fig. 1) porque presenta las mejores características organolépticas. La alta demanda de RebA ha impulsado la generación de diferentes estrategias, por una parte, el desarrollo de cultivos de *S. rebaudiana* capaces de producir Reb A en mayor proporción. Mientras que, en paralelo, se han implementado diferentes estrategias de extracción y purificación para obtener extractos con alto contenido de Reb A respecto al resto de los GE. Los GE se utilizan principalmente en la fabricación de alimentos. En los últimos años, los GE han reemplazado a algunos edulcorantes en la industria de la alimentación, la medicina y la industria química, lo que impulsa el aumento constante de la demanda de estos edulcorantes. La mayoría de las agencias reguladoras de normas alimentarias a nivel mundial han confirmado que los GE son seguros para

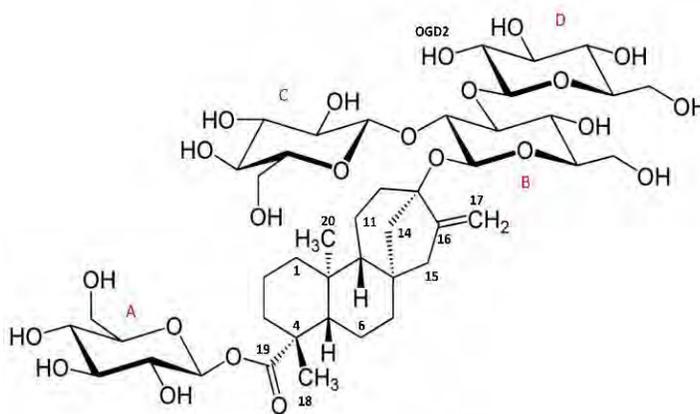
¹ Universidad Autónoma de Nuevo León, Departamento de Química analítica, Facultad de Medicina.

² Programa de Cátedras CONACyT. e-mail: * alsaucedoya@conacyt.mx, alma.saucedoy@uanl.edu.mx

³ Universidad del Papaloapan, Instituto de Biotecnología.

utilizarse como endulzantes de uso general. Respecto al control de calidad de los diferentes productos con GE, el análisis químico está basado el uso de métodos normalizados o validados. Para la cuantificación analítica de los GEs son utilizados métodos de UV, de espectrometría de masas, amperométricos y detección en aerosol cargado. Sin embargo, los métodos más utilizados para la cuantificación de los GEs individuales son HPLC-UV y LC-MS. De hecho, el método de la JECFA está basado en HPLC-UV. Los métodos cromatográficos dependen de la selección de una columna adecuada, las columnas polares presentan baja reproducibilidad y largos periodos de equilibrio, mientras que las de fase inversa son robustas, pero muestran poca selectividad con respecto a separación entre los GE. También, son necesarios periodos relativamente largos de análisis. Además, tanto para HPLC como para LC-MS es necesario implementar la preparación y limpieza de la muestra y para la identificación se requieren analitos estándar que deben ser utilizados como marcos de referencia para la cuantificación. El mensurando utilizado no puede ser recuperado.

La NMR es una técnica analítica fundamental para el análisis estructural de compuestos químicos, sin embargo, es también, una herramienta cuantitativa factible, a pesar de su baja sensibilidad (en el orden micro molar) cuando es comparada con la espectrometría de masas (en el orden pico molar). La repercusión en la validación del método de la baja sensibilidad de la qNMR estará en función del alcance en el intervalo de cuantificación. Muestras con elevadas concentraciones del analito de interés son ideales para estos desarrollos. Los métodos cuantitativos derivados de qNMR cumplen con todos los criterios analíticos especificados para los métodos cromatográficos, tales como confiabilidad, exactitud y precisión al mismo tiempo que proporcionan ventajas adicionales como la facilidad de preparación de la muestra en un reducido volumen de disolvente (usualmente menor a un mililitro), tiempos de análisis cortos y calibración con distintos tipos de estándares. En este contexto la qNMR es una herramienta valiosa para el análisis de mezclas complejas y la cuantificación de analitos sin necesidad de separaciones cromatográficas. [1,2].



En el presente trabajo, mostramos el desarrollo de un método analítico basado en ^1H -qNMR para la cuantificación de rebaudiosido A en muestras comerciales de endulzantes, como una estrategia versátil porque es aplicable a una amplia diversidad de matrices; rápida porque el tiempo de análisis por muestra es menor a 5 minutos; y amigable con el medio ambiente, ya que la generación de residuos de disolvente es mínima comparada con los métodos tradicionales de análisis basados en cromatografía de líquidos.

Figura 1. Estructura química del RebA

EXPERIMENTACIÓN

Estándares y reactivos

Rebaudiosido A (Sigma Aldrich, pureza $\geq 97\%$) fue utilizado como estándar. Las diluciones para la curva de calibración de RebA (24 mM) fueron preparadas con DMSO- d_6 (Sigma Aldrich, 99.5%). El estándar de referencia de sensibilidad de ^1H que contiene 0.1% de etilbenceno + 0.01% TMS en cloroformo- d (Bruker) fue utilizado como estándar externo.

Se prepararon por triplicado disoluciones de RebA con concentración final de 25 mg/mL en DMSO- d_6 , usando matraces volumétricos clase A de 1 mL, 48 horas después de la dilución las muestras fueron analizadas y diluidas como se describe a continuación. Los distintos niveles de la curva de calibración se prepararon a partir de diluciones sucesivas de 200 μL de la disolución stock y añadiendo 400 μL de DMSO- d_6 , para el análisis se utilizaron tubos de RMN de 5 mm. Se prepararon siete diluciones sucesivas de RebA para obtener disoluciones en el intervalo de concentración de 0.1 a 24.9 mM. Todas las disoluciones fueron almacenadas en oscuridad a 18°C . Diluciones adicionales fueron preparadas por debajo de 0.1 mM para determinar el límite de cuantificación (LOQ) y el límite de detección (LOD).

El LOQ, de acuerdo con la definición sugerida por la IUPAC, debe indicar un valor de confianza del 90% para $n=3$. El LOD fue definido como la concentración más baja a la que las señales conservan el perfil característico del RebA.

Muestras

Endulzantes comerciales en presentación de 1-2 g que contienen RebA fueron adquiridos en tiendas departamentales de Monterrey y Ciudad de México durante enero-agosto de 2017. En algunos de estos productos el empaque muestra la leyenda de que fueron preparados a partir de

extractos de *Stevia rebaudiana*. En todos los casos el tenido de RebA reportado fue menor a 3.5%. Se incluyeron formulaciones basadas en dextrosa con diferentes azúcares (isomaltosa, eritritol, sucralosa e inulinas de agave). Las muestras fueron preparadas a concentración of 45.0 mg/mL in DMSO-6 un matraz volumétrico clase A de 1.0 mL, y fueron analizadas 48 horas después de haber sido preparadas.

Experimentos de RMN

Los experimentos de RMN fueron realizados en un equipo de 400 MHz Bruker HD Avance III equipado con una sonda BBO *SmartProbe* de 5mm con gradientes de campo en z. Los espectros de RMN cuantitativo fueron obtenidos usando el experimento de pulso de 90° (zg) bajo los siguientes parámetros de adquisición: 16 incrementos con un valor fijo de ganancia de 36 y 10s para el D1, con una ventana espectral de 20.2 ppm, 65535 puntos en el dominio del tiempo en el modo DQD (*Digital Quadrature Detection*), con tiempo de adquisición de 4 s. La secuencia de pulsos selmlpg fue utilizada para la obtención de los espectros 1D-TOCSY (1D-*Total Correlation Spectroscopy*) para identificar el sistema de espín de los motivos glucosídicos del RebA. Los datos fueron colectados en el modo DQD con 65536 puntos, 20 ppm de ventana espectral. El valor de O1 fue fijado en función de la frecuencia de resonancia de la señal seleccionada. El D9 fue evaluado entre 20- 200 ms para optimizar la transferencia de magnetización al sistema de espín completo. Todos los experimentos de RMN fueron adquiridos a 298K y la señal residual del DMSO- d5 en 2.5 ppm fue utilizada como referencia de desplazamiento químico. Los datos fueron analizados y procesados con el software *TopSpin* 3.5 (Bruker, Karlsruhe, Germany). La corrección de fase y línea base fueron hechas manualmente. La integración de la señal singulete de los protones metílicos del H18 y el OH6'''' (OGD2) fueron hechas de forma automática delimitando el intervalo de desplazamiento químico entre 1.20-0.09 ppm y 5.70-5.58 ppm, respectivamente.

Cuantificación con estándar externo

La cuantificación de RebA mediante ¹H-qNMR fue evaluada por el método de estándar externo utilizando la herramienta de ERETIC2 en *TopSpin* 3.5. El análisis se realizó utilizando la señal del grupo metileno del etilbenceno. La determinación de la concentración del RebA en los distintos niveles de la curva de calibración fue realizada para cada muestra y posteriormente fue realizado el análisis estadístico para evaluar la precisión del método.

Validación del método

El intervalo lineal de la curva de calibración fue calculado mediante el método de regresión lineal de mínimos cuadrados. Las pruebas de repetición fueron llevadas a cabo al adquirir 3 lecturas sucesivas intradía y 3 lecturas interdía no consecutivas. La precisión fue evaluada utilizando como estándar externo el estándar de etilbenceno empleando el módulo de ERETIC2. La repetibilidad fue evaluada al preparar tres disoluciones adicionales cuya concentración cae en el intervalo acotado por los niveles máximo y mínimo de la curva de calibración. La selectividad fue confirmada por la asignación de las señales de resonancia de cada uno de átomos de hidrógeno del RebA. Adicionalmente, la relación de área de las dos señales analizadas los protones del grupo metilo H18 y el protón del grupo hidroxilo 6''' (OGD2) fueron utilizadas para asegurar la especificidad de la detección de RebA. La robustez del método fue examinada al obtener curvas de calibración por adición de RebA en cuatro diferentes matrices de edulcorantes.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Obtención y evaluación de la curva de calibración de RebA

De cada una de las disoluciones stock preparadas se obtuvieron los espectros de ^1H -qNMR por triplicado, tanto en lecturas intradía como inter día. Después del procesamiento manualmente los espectros se realizó la integración automática en la región comprendida entre 1.2 a 0.09 ppm, en donde se observa la señal del grupo CH_3 (H18). Esta señal pertenece al núcleo hidrofóbico del RebA por lo que se observa en la zona de desplazamiento químico característica de los protones alifáticos. Los resultados obtenidos de la curva de calibración del RebA (RebA CC) se resumen en la Tabla 1, en donde se indican las concentraciones de los siete niveles con los que se construyó la curva en el intervalo de concentraciones de 0.1 a 25.1 mM. El valor de la integral corresponde al promedio de las 27 lecturas obtenidas (intra e interdía) y el coeficiente de variación (CV) fue calculado como cien veces el cociente de la desviación estándar entre el promedio. Los valores de CV obtenidos oscilan entre 0.6 a 3.1, éste último fue obtenido precisamente para el nivel de menor concentración. La linealidad de la respuesta de la concentración del RebA en relación a la intensidad de la señal fue evaluada mediante el método de regresión lineal de mínimos cuadrados. El valor de R^2 obtenido para los siete niveles de la RebA CC fue 0.9995. Este valor demuestra que la preparación de tres estándares individuales y sus diluciones correspondientes da lugar a un

resultado que cumple con el criterio de exactitud aplicado en los análisis basados en cromatografía de líquidos. Adicionalmente, este resultado demuestra que no se presentan variaciones interdía en el registro de la señal de resonancia monitoreada.

La repetibilidad del método fue demostrada al realizar el mismo análisis cuantitativo, pero con un nuevo juego de tres muestras pesadas de forma independiente a las anteriores pero preparadas de la misma manera. Para evaluar la repetibilidad de las mediciones de este conjunto de disoluciones patrón se hicieron lecturas triplicadas interdía e intradía, de modo que en total se obtuvieron 27 espectros de cada nivel, posteriormente se realizaron tres diluciones adicionales en el intervalo de concentración definido por el punto medio y en el punto inferior de la RebA CC. La desviación calculada a partir del coeficiente de variación fue menor al 5% en los tres casos. La selectividad del método fue evaluada al realizar la asignación de las señales de hidrógeno en el espectro de RMN, a partir de los datos de desplazamiento químico calculados teóricamente [3]. El experimento 1D-TOCSY selectivo fue utilizado para identificar sin ambigüedad las señales del sistema de espín del motivo de glucosa D, en donde se encuentra la señal del grupo hidroxilo HOGD2. Los valores del LOQ y LOD fueron también establecidos. De acuerdo con la definición del LOQ sugerida por la IUPAC, el LOQ debe ser aquella concentración que presente un CV menor o igual a 10%, de acuerdo a nuestros resultados el LOQ para el RebA fue 103 μM , ya que a esta concentración el CV es 3.1%, ya que a 34 μM de RebA el CV es 12.7%. Por otra parte, mediante la inspección visual de los espectros, se observó que por debajo de 34 μM , la relación de las señales de RMN de RebA se difuminan lo suficiente como para dificultar la identificación de los distintos patrones de acoplamiento, por lo que, aunque la relación señal-ruido es de 4.6, no es posible asegurar la presencia de RebA en la disolución. Es por ello que se fijó el LOD en 34 μM , cuando la detección de las señales no es afectada por el ruido espectral. De estos valores experimentales, se obtiene una relación LOQ/LOD = 3.0, que es consistente y próxima al valor de 3.3 sugerido por la IUPAC.

Adicionalmente, la especificidad fue evaluada al calcular el cociente de integración de la señal singulete del H18 con la señal doblete de hidrógeno del grupo hidroxilo OGD2, razón H18/HOGD2. La razón H18/HOGD2 fue terminada para cada uno de los espectros de los siete niveles de la curva de calibración y se encontró que tiene un valor promedio de 0.334 ± 0.0005 , por lo que bajo las condiciones de análisis confirma que entre estas señales se mantiene una relación 3:1 consistente con la estructura química del compuesto.

Cuantificación de RebA usando ERETIC2 como método de estándar externo.

A través de ERETIC2, la señal del grupo metileno del etilbenceno fue utilizada como estándar externo para calcular la concentración de RebA a partir de la señal de los protones H18 del RebA. Los valores de R^2 , pendiente e intercepto de esta segunda regresión lineal, mostrados en la Tabla 1, confirman los resultados iniciales obtenidos a partir de la RebA CC y corroboran las interpretaciones propuestas, ya que el valor de $R^2=1$ demuestra la precisión del método.

Tabla 1. Datos obtenidos para la curva de calibración de RebA. Para cada nivel de la curva de calibración de reporta el valor de la integral, la desviación estándar y el coeficiente de variación. Adicionalmente, se incluyen los valores del coeficiente de correlación lineal R^2 , la pendiente y el intercepto de la CC de RebA y la curva calculada a partir de la cuantificación con el estándar externo.

CC Level	RebA (mM)	Integral*	Est. Dev.	CV
1	25.1	104585377.10	1527035.6	1.5
2	14.6	62059302.00	770066.1	1.2
3	8.4	36014498.00	603558.7	1.7
4	2.8	12329478.75	77939.5	0.6
5	0.9	4484690.12	38702.4	0.9
6	0.3	1819239.25	42025.0	2.3
7	0.1	821451.25	25243.9	3.1

	RebA CC	ERETIC2
R^2	0.9995	1.0000
m	4203530.9	4305305.9
Intercept	775092.6	-4015.1

Determinación cuantitativa de RebA en endulzantes comerciales

En la Tabla 2, se muestra el resultado de la cuantificación de RebA utilizando ERECTIC2 como método de estándar externo a través de la cuantificación de referencia de la señal de grupo metileno del etilbenceno, así como también, la relación de áreas H18/HOGD2

Tabla 2. Cuantificación de RebA en muestras comerciales. En la mayoría de los casos la cantidad cuantificada es mayor a la cantidad reportada en la etiqueta.

Muestra	%RebA 1H-qRMN	%RebA derivado de datos de la etiqueta
1	3.7% ± 0.32	3.5%
2	3.3% ± 0.38	2.5%
3	0.8% ± 0.07	0.4%
4	3.0% ± 0.41	3%
5	9.0% ± 1.08	7%

CONCLUSIONES

Se generó una aplicación por 1H-qNMR para la cuantificación del glucósido de esteviol Reb A en formulaciones de edulcorantes comerciales de consumo humano, se demostró que el método desarrollado cumple con los parámetros de validación necesarios de acuerdo a las guías europeas para los métodos analíticos basados en qNMR [2] donde destacan su excelente reproducibilidad evaluada como precisión intermedia y exactitud, así como su robustez. Además, el método muestra múltiples de las características necesarias para un método de rutina en el control de calidad químico de los alimentos, entre las que destacan que es un método rápido porque no requiere pretratamiento de la muestra, altamente reproducible y confiable. Finalmente, es importante mencionar que este desarrollo puede ser completado con estudios posteriores para incluir la cuantificación de otros glucosidos de esteviol de alta importancia en el área de alimentos y en la industria farmacéutica.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la asistencia técnica de Ivonne Carrera.

REFERENCIAS

- [1] Simmler, C.; Napolitano, J. G.; McAlpine, J. B.; Chen, S.-N.; Pauli, G. F. Universal Quantitative NMR Analysis of Complex Natural Samples. *Curr. Opin Biotechnol.* **25** 51– 59 (2014).
- [2] Eurolabs, T. R. EUROLABS Technical Report No. 01/2014 May 2014.(2014)
- [3] Napolitano, J. G.; Simmler, C.; McAlpine, J. B.; Lankin, D. C.; Chen, S. N.; Pauli, G. F. Digital NMR Profiles as Building Blocks: Assembling 1H Fingerprints of Steviol Glycosides. *J. Nat. Prod* **78** 4 658–665 (2015)

Calidad y Normas

IMPLEMENTACIÓN DE UN SISTEMA DE GESTIÓN CALIDAD EN LA UNIDAD DE GEOQUÍMICA DE FLUIDOS GEOTÉRMICOS, BAJO LA NORMA ISO/IEC 17025

Ruth Esther Villanueva Estrada*
Blanca Xóchitl Felipe Martínez
Patricia Jacqueline Ramos Chaparro
Julio Cesar Romero Gallegos
Nora Elia Ceniceros Bombela
Oscar Ordoñez Librado, Sergio Cruz Martín¹

INTRODUCCIÓN

El aprovechamiento de la energía geotérmica tiene una larga tradición en México, estimándose que un milenio antes de la conquista española muchos asentamientos, principalmente en la parte central del país, se desarrollaron gracias a que había manantiales de agua caliente en su cercanía. Sin embargo, los primeros estudios para utilizar los recursos geotérmicos de México para generar electricidad ocurrieron hasta inicios de la década de los cincuenta, inaugurándose a fines de 1959 en el campo geotérmico de Pathé, Hidalgo, una planta geotermoeléctrica de 3.5 MW de capacidad, siendo la primera que se instaló en el continente americano, misma que funcionó hasta 1973, cuando fue desmantelada. Actualmente, los campos geotérmicos en explotación en México son Cerro Prieto, Baja California con una capacidad instalada de 720 MW; Los Azufres, Michoacán con 194 MW; Los Humeros, Puebla, con 93 MW y Las Tres Vírgenes, Baja California Sur con 10MW. México ocupa el cuarto lugar respecto a los países por orden de capacidad geotermoeléctrica instalada, solamente después de Estados Unidos, Filipinas e Indonesia.

Derivado del esfuerzo conjunto de la academia con el sector gubernamental y la industria, el

¹ Universidad Nacional Autónoma de México. Unidad de Geoquímica de Fluidos Geotérmicos. Circuito de la Investigación Científica S/N. Colonia UNAM CU. C.P. 04510. Ciudad de México, México. 56-22-41-31-ext. 130. ruth@geofisica.unam.mx
Universidad Nacional Autónoma de México. Coordinación de la Investigación Científica. Circuito de la Investigación Científica S/N. Colonia UNAM CU. C.P. 04510. Ciudad de México, México.

26 de noviembre de 2013 se crea el Centro Mexicano de Innovación en Energía Geotérmica (CeMIE-Geo), liderado por el Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California (CICESE), siendo un consorcio financiado por la Secretaría de Energía (SENER) y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), a través del Fondo de Sustentabilidad Energética (FSE), instrumento creado por el Gobierno de México en 2006 para facilitar todos los elementos que desarrollen el sector energético nacional en cuatro líneas: eficiencia energética, fuentes renovables, uso de tecnologías limpias y diversificación de fuentes primarias de energía.

El 11 de agosto del 2014 se publicó en el Diario Oficial de la Federación la Ley de Energía Geotérmica que tiene por objeto regular el reconocimiento, la exploración y la explotación de recursos geotérmicos para el aprovechamiento de la energía térmica del subsuelo dentro de los límites del territorio nacional, con el fin de generar energía eléctrica o destinarla a usos diversos. Esta Ley, se describe lo que se entenderá por:

- a) Reconocimiento: Actividad que permite determinar, por medio de la observación y la exploración a través de estudios de geología por fotos aéreas, percepción remota, toma y análisis de muestras de rocas, muestreo geoquímico y geohidrológico, entre otras, si determinada área o territorio puede ser fuente de recursos geotérmicos para la generación de energía eléctrica o destinarla a usos diversos; y
- b) Recurso geotérmico: Recurso renovable asociado al calor natural del subsuelo, que puede ser utilizado para la generación de energía eléctrica, o bien, para destinarla a usos diversos.

Tales definiciones dan pie a las labores efectuadas por la Unidad de Geoquímica de Fluidos Geotérmicos (UGFG).

La UGFG es el resultado del esfuerzo realizado por la Dirección del Instituto de Geofísica (IGEF) y la Coordinación de la Investigación Científica de la UNAM al participar en la Convocatoria del Fondo Sectorial CONACYT-SENER-Sustentabilidad Energética para el desarrollo de un proyecto de conformación del Centro Mexicano de Innovación en Energía Geotérmica (CeMIE-Geo).

Con el fin de fortalecer las labores efectuadas por el Departamento de Recursos Naturales del IGEF, y en concordancia con el objetivo principal del Sistema de Laboratorios Especializados

del CeMIE-Geo que consiste en: 1) Fortalecer los laboratorios existentes en las instituciones participantes y 2) Apoyar directamente en el cumplimiento de las metas y objetivos de los proyectos estratégicos, el día 27 de marzo de 2017 se inaugura la UGFG del IGEF de la UNAM, que, junto con otros tres laboratorios, conforma el Laboratorio de Fluidos Geotérmicos del Sistema de Laboratorios Especializados del CeMIE-Geo en esta máxima casa de estudios. Con lo anterior, la Unidad de Geoquímica de Fluidos Geotérmicos nace con la misión de desarrollar estudios e investigaciones de exploración geotérmica, que permitan generar conocimiento e información actualizada, completa y confiable para beneficio del sector académico, industrial y gubernamental nacional e internacional, bajo un marco de responsabilidad que se fortalezca mediante la mejora continua de las ciencias geotérmicas.

En la actualidad es requisito indispensable la adopción de estándares internacionales (Normas) para estar a la vanguardia tecnológica y también para entrar en el mercado mundial.

La adopción de normas permite definir la estructura medular de un sistema de Gestión de Calidad (SGC) con el objetivo de mapear y estructurar las actividades desarrolladas dentro del laboratorio de manera que estén bien documentadas e integradas a procedimientos técnicos y administrativos. De esta forma, el SGC permite una administración eficiente por proceso para lograr los resultados esperados. La aplicación de la norma ISO/IEC 17025. “Requisitos generales relativos a la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración” [1], aplicable a laboratorios de investigación y ensayo. Esta norma describe la estructura de un Sistema de Gestión de la Calidad y los requisitos que se deben de cumplir para demostrar que las actividades y operaciones que se llevan a cabo dentro de los laboratorios de ensayo son técnicamente competentes.

La importancia de implementar un SGC en la UGFG, del Instituto de Geofísica de la UNAM, reside en el hecho de que sirve de plataforma para desarrollar desde el interior del laboratorio un conjunto de actividades, procesos y procedimientos, encaminados a lograr que las características presentes en el servicio de control químico cumplan con los requisitos exigidos por el usuario. Es decir, que los resultados obtenidos en la UGFG sean de calidad.

En este trabajo se presenta las actividades de la UGFG, así como el Sistema de Gestión de Calidad que se implementará junto con la Coordinación de Gestión para la Calidad de la Investigación.

EXPERIMENTACIÓN

Estructura documental que conforma al SGC

Se estableció una organización jerárquica (fig. 1) de los documentos que integran al SGC, para lo cual se definieron los procedimientos administrativos y técnicos que son de cumplimiento obligatorio a la norma ISO/IEC 17025 [1].

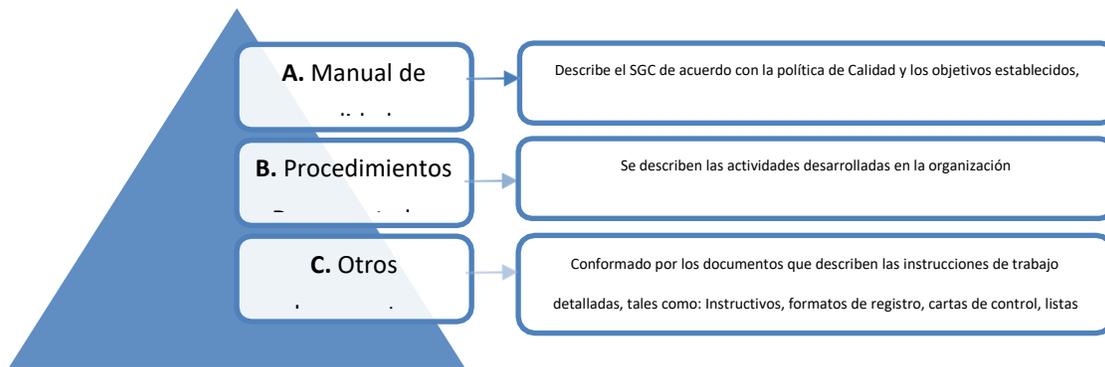


Figura 1. Organización de los niveles de documentos que integran al SGC. Infraestructura Técnica de la UGFG

El análisis geoquímico comienza en el muestreo y continúa con el análisis de aguas y gases de manantiales termales y agua subterránea, a partir de las cuales puede obtenerse información sobre las formaciones por las que ha circulado el fluido y la interacción del fluido con la roca. En el caso del agua que circula por el acuífero, esta reacciona químicamente con la roca, de manera que puede ocurrir que procesos de disolución, precipitación química o intercambio iónico entre la roca y el fluido [2].

En la tabla No 1, se encuentra la infraestructura disponible en la UGFG, el analito o analitos que se determinan con el equipo mencionado y la aplicación específica para geotermia.

Teoría y Aplicaciones de la Química Analítica en México

Tabla 1. Equipos y analitos que se determinan en la UGFG, así como la aplicación directa a geotermia de estos analitos.

EQUIPO	ANALITO	APLICACIÓN
Cromatógrafo Iónico Marca: Thermo Dionex ICS-5000	Aniones: F ⁻ , Cl ⁻ , NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , PO ₄ ³⁻ Cationes: Li ⁺ , Na ⁺ , K ⁺ , Mg ⁺ , Ca ²⁺ , NH ₄ ⁺	Geotermómetro Calidad de aguas Indicador del tipo de agua Proceso de Mezcla de diferentes tipos de aguas
Titulador Automático Marca: Metrom 905 Titrand	Determinación de HCO ₃ ⁻ y CO ₃ ²⁻ en aguas geotérmicas como subterráneas	Identificación de procesos geoquímicos a profundidad Deposición de calcita
Analizador de carbono orgánico e inorgánico Marc: Aurora 1030	Carbono Orgánico Total Carbono Inorgánico total En matriz sólida como líquida	Estima la medida rápida y directa del Carbono, que puede ser derivado de la actividad biológica Parámetro para la evaluación de la contaminación por carga orgánica en agua y suelos.
Espectrómetro de emisión atómica-plasma inductivamente acoplado (ICP-OES)	Determinación de elementos menores y traza (As, B, Ba, Si, Fe, Mn, Li, Al, Rb, Cs, etc.).	Indicativo de contaminación de suelos y agua. Geotermómetro de sílice Interacción agua-roca
Espectrómetro de absorción de láser de intracavidad (CRDS)	Determinación de isótopos estables de δ ¹⁸ O y δD en agua.	Origen del agua geotérmica (meteórica, magmática, andesítica). Estimar la zona de recarga y los procesos de mezcla que ocurren a profundidad.
Cromatógrafo de gases AGILENT serie 7890B con detector de ionización de flama (FID)	Análisis de H ₂ , CH ₄ , N ₂ , O ₂ , He y Ar en gases de fluidos geotérmicos	Conocer la interacción del fluido con la roca a profundidad y estimar la temperatura del reservorio [3]-Proveer información para el mejor uso de los recursos naturales en el contexto de las plantas geotérmicas [4]
Cromatógrafo de gases AGILENT-serie 7890B con detector de conductividad térmica (TCD) - Muestreador HEADSPACE	Análisis de H ₂ , CH ₄ , N ₂ , O ₂ , He y Ar en el espacio de cabeza de fase de acuosa.	
Sonda Multiparámetros In-situ, Aqua TROLL 600.	Determinación de parámetros fisicoquímicos en agua: pH/ORP, temperatura, OD, conductividad eléctrica, turbiedad.	Caracterización del tipo de agua, y del sistema geotérmico. Información sobre la interacción fluido-roca en el interior del sistema. Muestreo especializado según los parámetros fisicoquímicos del agua.
Colorímetro Hach DR900.	Determinación de silicio, bisulfuros y sulfuros.	Caracterización del tipo de agua, y del sistema geotérmico. Información sobre la interacción fluido-roca en el interior del sistema.
Medidor de flujo de gases difusos, con cámara de acumulación de gases y sensores para detección de CO ₂ (LI-820), H ₂ S (Tox-05-H ₂ S 1410) y CH ₄ (WS-CH ₄ -TLD 14018), MARCA West Systems.	Flujo de CO ₂ , H ₂ S, CH ₄ .	Detección de estructuras geológicas (fallas y fracturas).
Sistema de reacción por microondas, CEM MARS 6.	Tratamiento de muestras sólidas y acuosas.	Procesamiento químico de muestras que asegure su disolución apropiada para su posterior análisis por técnicas espectroscópicas de cuantificación.

Control de Calidad

Los métodos involucrados son confiables a través del uso de materiales de referencia certificados y métodos validados que demuestran la precisión y exactitud de cada técnica, así como el intervalo de trabajo y los límites de detección y de cuantificación. Además, cada lote de análisis de muestras es respaldado con el control de calidad que se realiza mediante el uso de muestras control, muestras adicionadas y muestras duplicadas, evaluando estadísticamente las tendencias de cada control mediante gráficos de control.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para gestionar un sistema de calidad que respalde las buenas prácticas profesionales y la alta confiabilidad de los servicios analíticos de la UGFG se elaboró la documentación de todos los procedimientos de aseguramiento y control de calidad de los procesos técnicos y administrativos bajo los criterios de la norma ISO/EC 17025:2016 cuyos avances se muestran la figura 2.

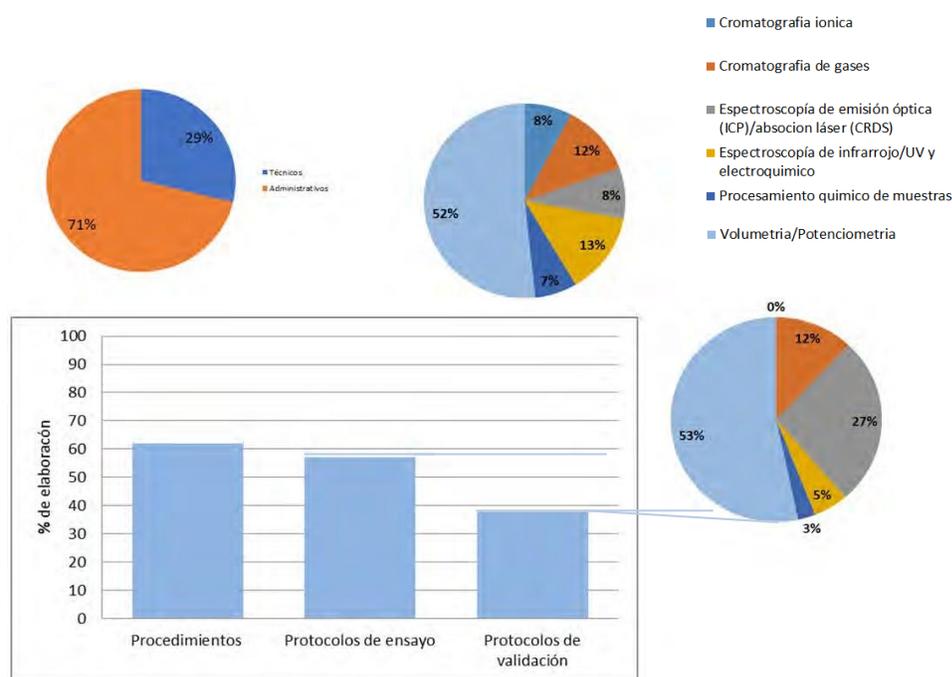


Figura 2. Se muestra el porcentaje de elaboración de los procedimientos (Administrativos y técnicos) con un avance del 62%, los protocolos de ensayo con el 57% y los protocolos de validación con el 38%, más el detalle de cada grupo de documento.

CONCLUSIONES

Los procedimientos administrativos y técnicos elaborados no solo permitirán una buena administración de las actividades desarrolladas dentro de la UGFG, sino que además facilitará una rápida inducción a usuarios nuevos y una rápida trazabilidad de los resultados obtenidos. El manejo de un sistema de gestión de la calidad requiere de disciplina y constancia para lograr consolidarlo dentro de la UGFG; con una correcta aplicación de la norma es posible optimizar tiempos y recursos económicos al tener controladas y planificadas todas las actividades realizadas dentro de la unidad. En la UGFG se ha realizado la verificación del método para la cuantificación de iones mayoritarios en muestras de agua natural y geotérmica por cromatografía de iones, así como la validación de la metodología para la determinación de alcalinidad. En proceso se encuentra la validación de digestión de muestras sólidas de origen geotérmico y la elaboración de los protocolos de ensayo y los protocolos de validación de las técnicas restantes

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la colaboración de los estudiantes de la Facultad de Química (UNAM): Julia Viridiana Méndez Ibarra, Sergio Antonio Macedo Herrera y Arturo Jafit Hernández, así como al M.C. Jorge Federico Landa Arreguín, Ing. Geól. Blanca Sofía Campos Amézaga, Ing. Geól. Bárbara Cinthya Carrillo. Se agradece el apoyo otorgado por la Dra. Ma. Teresa de J. Rodríguez Salazar. El trabajo fue financiado por el proyecto de Laboratorios Especializados del CeMIE-Geo del Fondo de Sustentabilidad Energética SENER–CONACYT. El grupo de trabajo quiere agradecer a la Dra. Flor Mónica Gutiérrez Alcántara, la Ing. Luz Mendoza Sanlúcar y a la Dra. Gabriela García de la Coordinación de la Gestión para la Calidad de la Investigación de la Coordinación de la Investigación Científica.

REFERENCIAS

- [1] ISO/IEC 17025:2017, Requisitos Generales para la Competencia en los laboratorios de ensayo y de calibración (2017)
- [2] Kitano, Geochemistry of water. Pennsylvania: Dowden, Hutchinson & Ross, Inc. (1975)
- [3] A.J. Ellis, W.A.J. Mahon, Chemistry in Geothermal Systems, Energy Science and Engineering Resources, Technology and Management. An International Series. Academic Press, Inc. (1977)
- [4] Martínez Rivas Abner Alexis, 2016. Análisis del desempeño de un sistema de remoción de gases no condensables en una planta geotérmica. Geoquímica Aplicada a la Geotermia, Diplomado para América Latina (2016).

VALIDACIÓN DE LA DETERMINACIÓN MULTIELEMENTAL EN SUELO POR FLUORESCENCIA PORTÁTIL DE RAYOS X

Norma Ruth López-Santiago*
Leiny Karla López Hernández
Jessica Lorena Román Franco
Reyna Roldan Armas
Margarita Eugenia Gutiérrez-Ruiz¹

INTRODUCCIÓN

Los dispositivos de fluorescencia portátil de rayos x (FP-RX) ofrecen ventajas significativas para su uso en la caracterización ambiental de sitios contaminados sin embargo es crucial entender sus capacidades y limitaciones. Estos equipos tienen numerosas ventajas en comparación con otras técnicas como espectrometría de emisión por plasma acoplada inductivamente. Las principales ventajas del análisis por FP-RX son la escasa preparación de muestra, el análisis no destructivo, disminución de la generación de residuos, bajo costo de arranque y funcionamiento [1; 2; 3], amplia selectividad de elementos y análisis multielemental [4]. Sin duda, la mayor ventaja de los dispositivos FP-RX es que pueden proporcionar resultados inmediatos, sin embargo, la desventaja principal de su uso es que estos instrumentos no alcanzan típicamente la exactitud, la precisión, y el nivel de detección obtenidos con los métodos laboratorio. Estas características de rendimiento difieren según el elemento objetivo y el instrumento. El método EPA 6200 *Field portable x-ray fluorescence spectrometry for the determination of elemental concentrations in soil and sediment* [5] indica que la información obtenida por este método solo es de carácter informativo y que la decisión de los criterios de calidad depende de los fines de la investigación y es decisión de usuario final. Algunos investigadores han reportado un buen desempeño de dispositivos FP-RX para ciertos metales y elementos compositivos importantes, Parsons et al. demostraron niveles

¹ Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. Laboratorio de Biogeoquímica Ambiental. Av. Universidad 3000, Ciudad Universitaria. C.P. 04510, Coyoacán; México, CDMX. Tel: +52 (55) 5622 43 36. nruthls@yahoo.com

aceptables de detección, precisión y precisión para la determinación de algunos elementos en suelos por FP-RX [4]. Por lo que es importante desarrollar y validar este método bajo las condiciones de análisis óptimas para la determinación de los analitos en las matrices de interés.

En este trabajo se presentan los resultados de la validación de la determinación *ex-situ* de simultanea de Aluminio (Al), Cadmio (Cd), Plomo (Pb), Arsénico (As), Cromo (Cr), Selenio (Se), Antimonio (Sb), Cobre (Cu), Vanadio (V), Calcio (Ca), Manganeso (Mn), Zinc (Zn) en muestras de suelo usando un equipo de FP-RX y tomado como base el método EPA 6200, utilizando materiales de referencia certificados de NIST y de ERA para establecer la veracidad de los resultados mediante la precisión y exactitud, y la tasa de respuesta positiva. Previo a este trabajo se desarrolló un análisis estadístico para determinar los criterios de aceptación usados en la validación bajo la consideración de técnica semicuantitativa, cuyo alcance fue determinado en el desarrollo y validación del método.

EXPERIMENTACIÓN

Materiales de referencia certificados (MRC). Montana Soil NIST2710a, Montana Soil NIST2711a, Soil DO99-540, ficha “*Cal Check*” de acero inoxidable 31.

Materiales y equipo general. Contenedores de polietileno para muestras 30 mm de diámetro con collar, Mylar de 2.5 μm , espátula.

Los análisis se realizaron en el analizador portátil de fluorescencia de rayos X. Delta Premium DP-6000. Con las siguientes condiciones: modo geoquímico para la lectura de aluminio y calcio, con dos fuentes de emisión de rayos X y un tiempo de análisis de 360 s, y modo modo suelo para la determinación de arsénico, antimonio, cadmio, cromo, cobre, manganeso, plomo, selenio, vanadio y zinc, con tres fuentes de emisión y un tiempo de análisis de 540 s

Preparación de MRC y muestras. Una alícuota o porción de MRC o muestra homogenizada, secada y molida deberá ser colocada en el contenedor de polietileno para el análisis, el cual deberá llenarse a tres cuartos de su capacidad. El contenedor se cubre con Mylar de 2.5 μm para el análisis.

Validación del método. Se obtuvieron los siguientes parámetros: exactitud (como recobro), precisión (Repetibilidad), y la Tasa de respuesta positiva (%), de acuerdo al plan de validación mostrado en la Tabla 1 [5]

Tabla 1. Plan de validación

Parámetro	Analizar	Obtener	Criterio de aceptación
Precisión (Repetibilidad)	Se hicieron 10 mediciones independientes con tres repeticiones cada MRC	Para cada analito calcular la media (\bar{x}), de la concentración medida, la desviación estándar (s) y la desviación estándar relativa (DER) $DER = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\%$	DER ≤ 15%
Recobro (%)		$\% \text{ Recobro} = \frac{C_{MRC}}{\text{Valor certificado}} * 100$	± 20%
Tasa de respuesta positiva (%)		$\% TRP = \frac{\text{Respuestas positivas}}{\text{Total de mediciones}} * 100\%$	100%

*Es un Falso negativo cuando la concentración del analito en el MRC está por arriba del LDD del equipo de Fluorescencia portátil Olympus y el analito no es detectado y Falso positivo cuando la muestra realmente no contiene el analito por encima del LDD del equipo de Fluorescencia portátil y, sin embargo, el equipo lo detecta.

Aplicación a muestras. Una vez validado el método se aplicó el procedimiento para el análisis de otros MRC y muestras de suelo. Como control de calidad se leyeron por cada del lote de análisis (15 muestras): un blanco, los MRC correspondientes (al inicio y final del lote) y una muestra duplicada, por cada 15 muestras analizadas. Se hicieron 10 mediciones independientes con tres repeticiones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Validación del método

Se realizó la validación con el procedimiento antes descrito, los parámetros obtenidos se presentan en la Tabla 1. De los resultados se desprende que el método cumple con los criterios de aceptación establecidos para la validación, por consiguiente, las determinaciones de los elementos dentro del alcance de la validación se pueden considerar veraces.

Tabla 2. Parámetros de validación

Elemento	MRC	Concentración certificada (mg/kg)	mg/kg	DER (%)	Recobro (%)	Tasa de respuesta positiva
Al	NIST2710a	59500.0	56621.2	0.6	95.2	100
As	NIST2710a	1540.0	1549.1	0.4	100.6	100
Ca	NIST2711a	24200.0	24715.2	0.2	102.1	100
Cd	NIST2711a	54.1	57.5	3.2	106.2	100
Cr	NIST2711a	52.3	54.1	1.6	103.5	100
Cu	NIST2710a	3420.0	3433.5	0.4	100.4	100
Mn	NIST2710a	2140.0	2148.9	0.5	100.4	100
Pb	NIST2710a	5520.0	5530.0	0.1	100.3	100
Se	DO99-540	206.0	232.8	0.4	113.0	100
Sb	NIST2710a	52.5	51.0	4.7	97.1	100
V	NIST2711a	80.7	87.6	0.9	108.5	100
Zn	NIST2710a	4180.0	4255.5	0.3	101.8	100

Adicional a los elementos presentados se examinaron Níquel, Cobalto y Hierro, sin embargo, los recobros fueron inferiores a lo establecido y su precisión, expresada como desviación estándar relativa, superaba los criterios de aceptación determinados. Algunos autores sugieren que un mayor tiempo de análisis aumenta la precisión de los resultados por lo que se sugiere explorar nuevas condiciones de análisis para los elementos antes descritos.

El método validado fue sometido a la evaluación ante la entidad mexicana de acreditación y laboratorio obtuvo la acreditación del mismo en noviembre del 2017.

Aplicación a muestras

Una vez que se tuvo el método validado y con el control de calidad establecido se aplicó el procedimiento a 15 muestras de suelos, en la Tabla 3 se muestran los resultados de un lote analizado, y los controles de calidad medidos.

Tabla 3. Análisis de un lote de muestras de suelos

	Al	As	Ca	Cd	Cr	Cu	Mn	Pb	Se	Sb	V	Zn
LD (mg/kg)	450-1400	1-3	10-35	5-9	2-9	2-6	3-7	1-4	1-2	10-13	4-10	1-3
Muestra	mg/kg											
M1	30174	15	41576.3	<LD	108.7	81.3	594	337.3	<LD	<LD	79.1	333.7
M2	31472.3	15	36133.7	<LD	97	79.7	612.7	437.3	<LD	<LD	76.7	298
M3	31371.3	9	44281.7	<LD	104.3	81	605.7	305	<LD	<LD	74.4	268
M4	32893.7	14.7	34882	<LD	117	63.3	634.3	460	<LD	<LD	81.7	329.3
M5	34157	<LD	33951	<LD	105.3	60.3	633.7	380.7	<LD	<LD	81	302.7
M6	36487.3	<LD	33768.3	<LD	102.7	60	651	452.7	<LD	<LD	85.5	329
M7	39201.7	15.5	30771.7	<LD	103.7	50	654.3	397	<LD	<LD	85.1	255.7
M8	13546.3	10.4	40364	<LD	70.6	174.3	362.7	144.8	<LD	<LD	46.6	487.3
M9	31109	17	33243.7	<LD	121.7	76.3	594.3	647.7	<LD	<LD	82.3	382
M10	19146	16.3	36876	<LD	67	194.3	472.3	267.7	<LD	<LD	63.4	399.7
M11	19091	15.1	38283.7	<LD	71	182.3	471.7	279.3	<LD	<LD	61.3	376.3
M12	16984.3	11.2	35204.7	<LD	83	111.7	427.3	133.4	<LD	<LD	57.3	218.7
M13	29406.7	11.3	35489.3	<LD	93	131.3	640.7	311	<LD	<LD	77.8	341
M14	25032.3	5.2	45842	<LD	115.7	429.7	600.7	158.3	<LD	<LD	83.2	722
M15	24292.3	4.2	44162.7	<LD	97.3	167	529.7	120.7	<LD	<LD	79	408
Blanco												
	Al	As	Ca	Cd	Cr	Cu	Mn	Pb	Se	Sb	V	Zn
Recobro (%)	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
DER (%)	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
MRC												
Elemento	Al	As	Ca	Cd	Cr	Cu	Mn	Pb	Se	Sb	V	Zn
MRC	A	B	A	A	A	B	B	B	C	A	A	B
Recobro (%)	89.6	95.8	104.0	89.3	102.0	107.5	89.7	102.4	112.9	94.0	<LD	98.7
% DER	0.87	0.63	1.93	8.36	3.90	0.46	0.73	0.18	0.66	25.75	<LD	0.32
Muestra duplicada												
%DPR	1.4	4.0	0.2	ND	4.3	72.4	1.5	1.7	<LD	<LD	5.0	2.0

MRC. A (NIST2711a), B. (NIST2710a) y C (Soil DO99-540)

CONCLUSIONES

La validación realizada en términos de veracidad de los resultados generados en la determinación de elementos por FP-RX indican que se puede utilizar para identificar con confianza Al, Cd, Pb, As, Cr, Se, Sb, Cu, V, Ca, Mn y Zn, en muestras de suelo, puesto que la cuantificación de estos elementos en los materiales de referencia cumple con los criterios de aceptación del método establecidos para el método con la aplicación semicuantitativa.

REFERENCIAS

- [1] K. Dennis, R. Singhvi. Field portable XRF analysis of environmental samples. **83**, 93- 122 (2001).
- [2] K. Young, et al. A review of the handheld X-ray fluorescence spectrometer as a tool for field geologic investigations on Earth and in planetary surface exploration, **72**, 77-87 (2016).
- [3] R. Brend, et al. *Validation of handheld X-ray mercury in soils*. **5**, 768-776 (2017).
- [4] C. Parson, et al. *Quantification of trace arsenic in soils by field-portable X-ray fluorescence fluorescence spectrometry: Considerations for sample preparation and measurement conditions*. **262**, 1213-1222 (2016)
- [5] *EPA 6200 Field portable x-ray fluorescence spectrometry for the determination of elemental concentrations in soil and sediment*. EPA. 2007.
- [7] Eurolab España. P.P. Morillas y colaboradores. Sitio web de Eurachem. [Online] 2016. [Cited: septiembre 11, 2016.] www.eurachem.org

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE UN MÉTODO SEMICUANTITATIVO: FLUORESCENCIA PORTÁTIL DE RAYOS X

Leiny Karla López Hernández
Norma Ruth López Santiago*
Margarita Eugenia Gutiérrez Ruiz¹

INTRODUCCIÓN

Los métodos de análisis semicuantitativos expresan la concentración del analito de interés mediante una valoración somera con una incertidumbre importante. Este tipo de métodos constituyen una primera aproximación a la cuantificación total del elemento, que debe ser confirmada a través de otras técnicas de carácter cuantitativo. Un ejemplo de análisis semicuantitativo es la espectrometría de fluorescencia portátil de rayos X que, de acuerdo al EPA 6200 para la determinación elemental en suelos y sedimentos, se considera un método de exploración inicial que en función de las condiciones de análisis puede usarse, si se satisfacen los criterios de precisión y exactitud establecidos por el usuario [1]. Esto permite, bajo los requisitos óptimos, validar el método para su uso en el laboratorio como método semicuantitativo.

La Organización internacional para la estandarización define la validación como la confirmación por examen y la provisión de pruebas objetivas de que se cumplen los requisitos particulares para un uso previsto en específico [2]. Es posible localizar diversos protocolos para la validación de métodos cuantitativos, sin embargo, no existen guías claras para la validación de métodos semicuantitativos por lo que es necesario adaptar los parámetros de validación a cada caso en específico.

La validación de un método está estrechamente relacionada con el desarrollo del mismo, ya que permite determinar las capacidades de desempeño del mismo, muchos de los parámetros de

¹ Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. Laboratorio de Biogeoquímica Ambiental. Av. Universidad 3000 Ciudad Universitaria, CP. 04510, Coyoacán, Ciudad de México. Tel: +52 (55) 5622 43 36. nruthls@yahoo.com; leiny.lopez04@gmail.com

validación se evalúan, parcialmente de forma interactiva, como parte del desarrollo del método [3; 4]. Esto permite que durante el desarrollo del método sea posible establecer los criterios de aceptación o rechazo para la precisión y exactitud.

La evaluación de la precisión y exactitud requiere del análisis repetido de materiales referencia de la misma matriz que las muestras para las que se establece el alcance del método, estables y homogéneas [5], durante un lapso importante de tiempo. En el caso particular de los métodos semicuantitativos, resulta útil recurrir al análisis estadístico de las mediciones de estas muestras para identificar los criterios adecuados para el método. Una forma de monitorear el comportamiento de las mismas es mediante el uso de gráficos de control, esta metodología inicialmente descrita por Shewhart permite determinar si el modelo de variabilidad de un proceso es estable [6] o, en otras palabras, se encuentra bajo control estadístico. En los gráficos, se presentan los límites de control del proceso que deben calcularse a partir de la distribución de probabilidades de la variable [7, 8]. Habitualmente, los "límites de aviso" se definen como $\bar{x} \pm 2s$ (donde \bar{x} es la media y s es la desviación estándar), y los "límites de acción" como $\bar{x} \pm 3s$ [5], cálculos que se retomaron en la presente investigación. De esta manera, al asegurar que el proceso está bajo control estadístico, es posible estimar la precisión mediante parámetros estadísticos que describen la propagación de los resultados [5], basado en el histórico de datos. De igual manera, se establece el criterio de exactitud, calculado como recobro de las mismas observaciones.

El presente trabajo presenta el establecimiento de los criterios de exactitud y precisión mismos para la determinación de Aluminio (Al), Antimonio (Sb), Arsénico (As), Calcio (Ca), Cadmio (Cd), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Manganeso (Mn), Plomo (Pb), Selenio (Se), Vanadio (V), Zinc (Zn) por espectrometría de fluorescencia portátil de rayos X.

EXPERIMENTACIÓN

Equipo y materiales. El análisis de los analitos de interés se realizó con el analizador portátil de fluorescencia de rayos X Delta Premium DP-6000. Para la construcción de las cartas de control se emplearon los Materiales de referencia certificados (MRC) Montana Soil NIST2710a, Montana Soil NIST2711a y Soil DO99-540, mientras que la verificación de la calibración energética del equipo se realizó con una ficha "Cal Check" de acero inoxidable 316. Los materiales de referencia certificados fueron empaquetados en contenedores de polietileno para muestras de un diámetro

de 30 mm cubiertos con una película de poliéster Mylar® calibre 6.0 µm.

Análisis de los materiales de referencia certificados (MRC). Durante un periodo de tres meses se determinaron aluminio, arsénico, antimonio, calcio, cadmio, cromo, cobre, manganeso, plomo, selenio, vanadio y zinc en los MRC seleccionados para cada elemento, con un número de observaciones $n \geq 30$. Se emplearon dos modos de calibración para el análisis de los analitos: modo geoquímico para la lectura de aluminio y calcio, con niveles de concentración porcentuales, con dos fuentes de emisión de rayos X y un tiempo de análisis de 360 s y modo suelo para la determinación de arsénico, antimonio, cadmio, cromo, cobre, manganeso, plomo, selenio, vanadio y zinc, a un nivel de concentración de mg/kg con tres fuentes de emisión y un tiempo de análisis de 540 s. Cada material de referencia se analizó por triplicado por día.

Cálculo de los límites de control. El promedio (\bar{x}) de los datos por elemento y la desviación estándar s correspondiente se calculan de acuerdo a las siguientes ecuaciones:

Adicionalmente, se añaden los límites del recobro de acuerdo a lo recomendado por el EPA 6200 [1], como sigue:

$$\text{Límites de recobro} = \text{valor de referencia} \pm 20\% \quad (5)$$

Cálculo de los criterios de precisión y exactitud. El criterio de precisión se estableció mediante el cálculo de la precisión límite (6) para cada uno de los elementos conforme a lo establecido en la guía de validación de métodos de la Eurachem [5].

$$\text{Precisión límite} = 2.8 \times s \quad (6)$$

$$\text{DER límite} = \frac{\text{Precisión límite}}{\bar{x}} * 100 \quad (7)$$

Donde:

s es la desviación estándar debida a la repetición de los datos DER límite es la desviación estándar relativa límite Finalmente, el recobro se calculó de la siguiente manera:

$$\%R = \frac{\text{Valor medido}}{\text{Valor de referencia}} * 100 \quad (8)$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se trabajó con un número de observaciones $n \geq 30$ para cada uno de los elementos en el periodo determinado. Con los datos recopilados se graficaron las cartas de control correspondientes, a manera de ejemplo, la Figura 1 ilustra la carta de control para Cd, mientras que las Figuras 2 y 3, muestran las correspondientes a Mn y Cr. En la carta se presentan las lecturas promedio (por día) del elemento analizado (), el valor de referencia de acuerdo al certificado de cada material (), el valor medio de las todas las lecturas a lo largo del periodo de tiempo establecido (), los límites de la zona de los límites de aviso $+2s$, $-2s$ (), de la zona de los límites de acción $+3s$, $-3s$ () y el intervalo de recobro () que corresponden al $\pm 20\%$ respecto a lo reportado en el certificado.

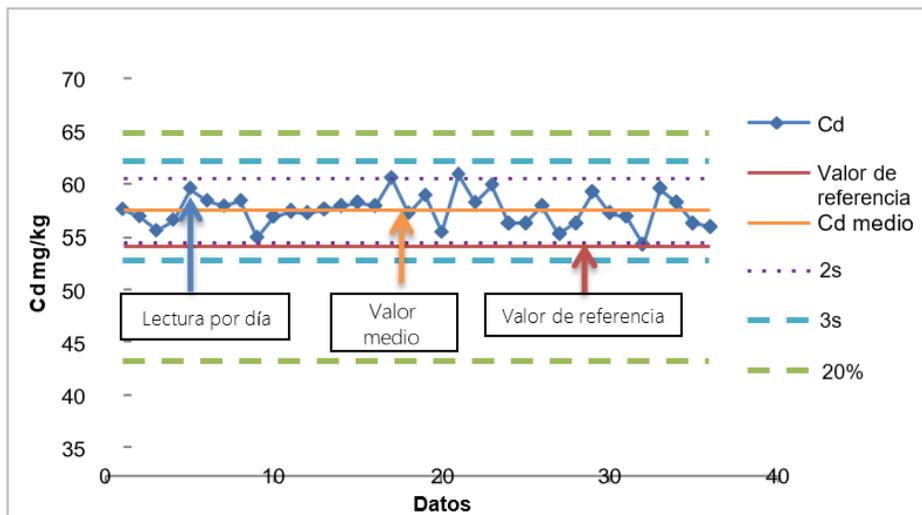


Figura 1. Gráfico control de Cadmio, determinaciones del 11/05 al 31/08 de 2017

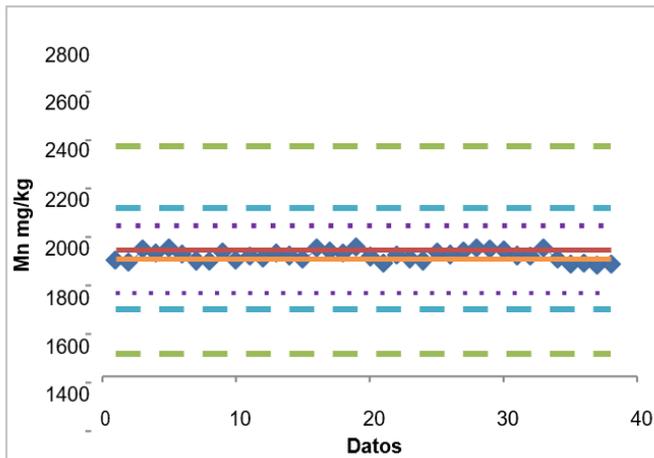


Figura 2. Gráfico de control de Manganeseo

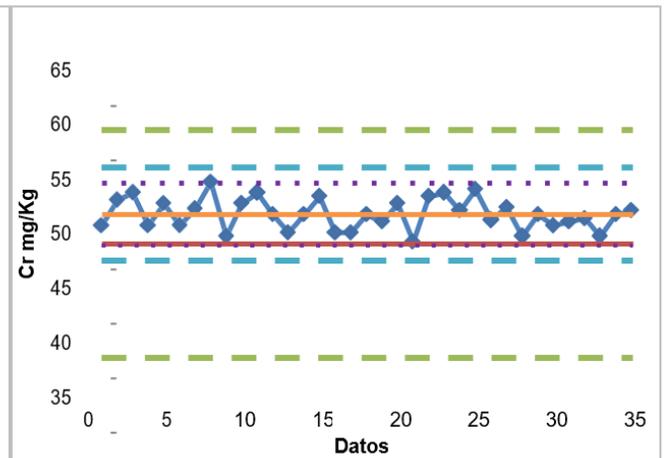


Figura 3. Gráfico de control de Cromo

Los datos muestran una distribución aleatoria que se ajusta al modelo gaussiano, por lo que es posible construir las cartas control. Para todos los elementos analizados se observa un proceso de control estadístico con observaciones dentro de los límites de la zona de aviso ($\pm 2s$ el valor de la media) por lo que se trata de un método bajo control estadístico. En las cartas de control analizadas no se observan tendencias que determinen la revisión del equipo o de las variables que influyen en la determinación. Adicionalmente, todos los valores se encuentran en el intervalo de recobro esperado.

La Tabla 1, muestra el resumen de resultados para cada uno de los analitos de interés y el resultado del cálculo de la precisión límite con la desviación estándar, esta es proporcional a la concentración del analito, por lo que en este caso es más apropiado expresar la precisión como desviación estándar relativa ya que ésta es aproximadamente constante a lo largo del rango de interés [5]. La Figura 4 muestra gráficamente los valores obtenidos para la precisión límite. Mientras que la Figura 5, muestra el porcentaje de recobro obtenido para cada elemento.

Tabla 1. Resumen de los resultados obtenido por FP-RX

Elemento	MRC mg/kg	Promedio mg/kg	Recobro (%)	S _r	Precisión límite (s)	DER límite
Al	59500.0	58512.0	98.3	667.0	1520.8	2.6
As	1540.0	1552.1	100.8	8.4	19.2	1.2
Ca	24200.0	24839.8	102.6	104.4	238.0	1.0
Cd	54.1	57.6	106.4	1.6	3.6	6.2
Cr	52.3	55.0	103.3	1.4	3.2	5.9
Cu	3420.0	3440.4	100.6	17.4	39.7	1.2
Mn	2140.0	2102.5	98.2	69.3	158.1	7.5
Pb	5520.0	5558.1	100.4	20.5	46.8	0.8
Se	206.0	228.2	110.4	3.1	7.0	3.1
Sb	52.5	50.0	95.2	3.2	7.2	14.4
V	80.7	87.7	108.6	1.1	2.5	2.8
Zn	4180.0	4288.0	102.6	30.2	68.9	1.6

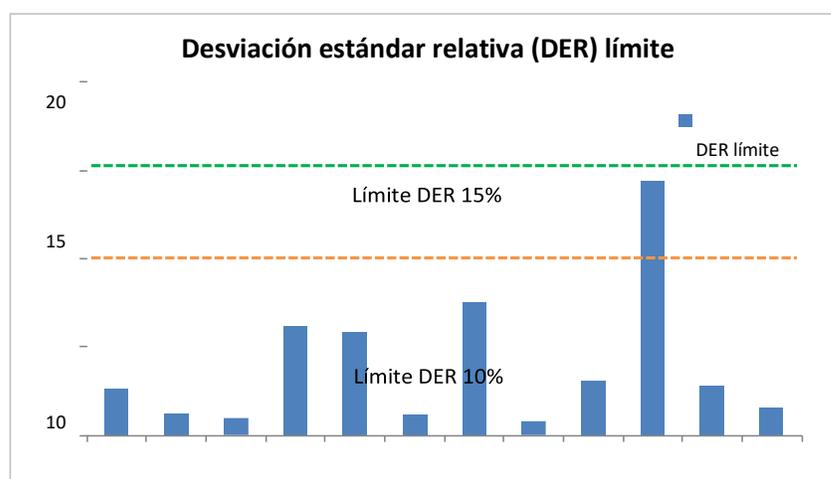


Figura 4. Desviación estándar relativa límite para los elementos analizados

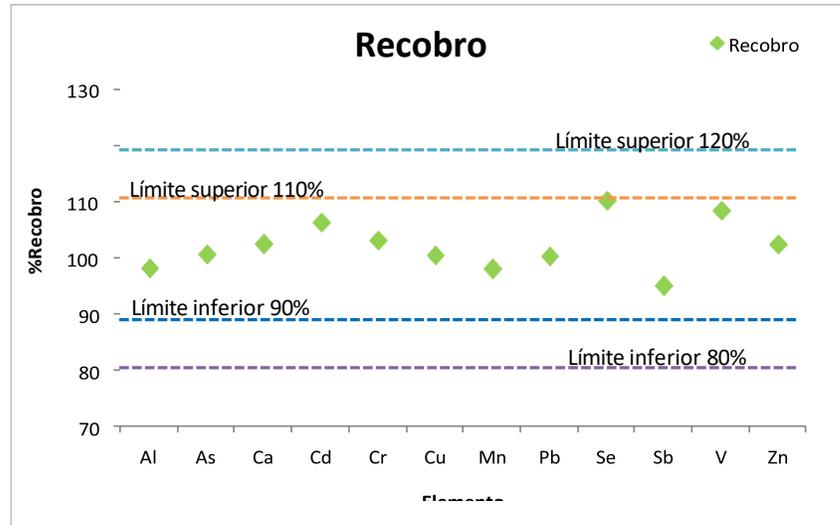


Figura 5. Porcentaje de recobro para los elementos analizados

Como se puede apreciar en la Figura 4 la desviación estándar relativa límite de los elementos analizados no excede el 15%, por lo que se puede establecer como criterio de aceptación una $DER \leq 15\%$ de las determinaciones elementales. Respecto al recobro, el método EPA 6200 [1], recomienda un criterio de $\pm 20\%$ del valor de referencia, a excepción de cromo, para el que sugiere $\pm 30\%$, sin embargo, este elemento, bajo las condiciones de análisis ha demostrado una recuperación equiparable a la de los demás elementos, por lo que se establece como criterio de aceptación de la exactitud $\pm 20\%$ del valor de referencia, es decir, el control de calidad se acepta si el recobro obtenido entra en el intervalo del 80% al 120%. Estos criterios constituyen la base para establecer los criterios de aceptación o rechazo tanto para la validación del método, los parámetros iniciales de desempeño de un analista y para establecer el programa de control de calidad del método (que para su aplicación ha sido considerado como semicuantitativo).

CONCLUSIONES

El análisis estadístico de las mediciones elementales de Aluminio (Al), Antimonio (Sb), Arsénico (As), Calcio (Ca), Cadmio (Cd), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Manganeseo (Mn), Plomo (Pb), Selenio (Se), Vanadio (V), Zinc (Zn) realizadas en materiales de referencia certificados con el equipo portátil de fluorescencia de rayos X permitió establecer el criterio de precisión (a través de la

desviación estándar relativa límite) en un valor de DER

$\leq 15\%$ para todos los elementos. Así mismo las concentraciones medias obtenidas por FP-RX para cada elemento se encuentran entre el *valor certificado* $\pm 20\%$, por lo que el criterio de exactitud se estableció en un porcentaje de recobro *valor certificado* $\pm 20\%$.

Este análisis evidencia la aplicación de la estadística para el establecimiento de criterios de aceptación de un método semicuantitativo, a través de los datos históricos obtenidos en el laboratorio, y cuyos parámetros de desempeño difieren a lo presentado en las guías para métodos cuantitativos, por lo que ofrece una posibilidad de efectuar una validación en términos de la veracidad para la aplicación destinada.

AGRADECIMIENTOS

A Lorena Román Franco por su colaboración en el proyecto.

REFERENCIAS

- [1] Method EPA 6200 *Field portable x-ray fluorescence spectrometry for the determination of elemental concentrations in soil and sediment. RCRA Test Methods (SW-846)*. EPA. (2007).
- [2] P. Araujo. Key aspects of analytical method validation and linearity evaluation. **877**, 2224-2234 (2009).
- [3] M. Rambla-Alegre, J. Esteve-Romero, S. Carda-Broch. Is it really necessary to validate an analytical method or not? That is the question. **1232**, 101-109 (2012).
- [4] D. Stöckl, H. D'Hondt, L. Thienpont. Method validation across the disciplines— Critical investigation of major validation criteria and associated experimental protocols. **877**, 2180-2190 (2009).
- [5] B. Magnusson and U. Ornemark (eds.) *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*, (2014)
- [6] L. Bertrand, M. Prabhakar. *Control de calidad, teoría y aplicaciones*. Ediciones Díaz de Santos S.A. España (1990)
- [7] H. Gutierrez, R. Salazar. *Control estadístico de la calidad y Seis Sigma*. McGraw-Hill Interamericana, México (2013)
- [8] J. Verdoy, J. Mateu, S. Sagasta, R. Sirvent. *Manual de control estadístico de calidad: teoría y aplicaciones*. Universidad Jaume I. España (2006).

ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DE UN MÉTODO ANALÍTICO A MICROESCALA

María Guadalupe Cáñez Carrasco*
Alejandro Monserrat García Alegría¹

INTRODUCCIÓN

En la actualidad se pretende que los químicos analíticos estén en condiciones de demostrar la calidad de sus resultados, indicando el grado de confianza en que cada uno de ellos demuestra su idoneidad para la finalidad prevista [1]. Por esto, es importante que para un método validado o verificado por el laboratorio, se realice la determinación de las diferentes fuentes o componentes de la incertidumbre de la medición presentes. Generalmente para el análisis de las fuentes de incertidumbre se utiliza el diagrama de espina de pescado (Ishikawa) u otro tipo de diseño esquemático que permita con facilidad identificar las fuentes de incertidumbre presentes durante el proceso analítico [2].

Por otro lado, los asuntos ecológicos cada día adquieren mayor relevancia. En la actualidad son parte de los modelos educativos, por lo que las universidades cada vez los tratan con mayor énfasis debido a que son generadoras, en menor escala, de desechos y residuos peligrosos que incrementan el problema de la contaminación ambiental [3, 4]. En aquellas universidades donde se enseñan profesiones relacionadas con el área Química, el problema de la contaminación ambiental se ve incrementado [5]. Existe normatividad internacional y nacional en donde se proponen pautas a seguir para lograr un efectivo sistema de control de mediciones. Sin embargo, lograr cubrir esas recomendaciones se dificulta, cuando se trata de un método de prueba. En este estudio se estableció un procedimiento metodológico con la finalidad de conocer y cuantificar las fuentes más significativas de incertidumbre en un método analítico a microescala para titulación ácido-base validado.

¹ Universidad de Sonora. Departamento de Ciencias Químico Biológicas. Luis Encinas y Rosales s/n. Colonia Centro. Hermosillo, Sonora, México. CP 83000. Tel y fax: (662) 2592163 y 64. e-mail: guadalupe.canez@unison.mx

EXPERIMENTACIÓN

Se estandarizó la metodología a microescala utilizando como mensurando ácido acético, basándose en la titulación de este con una disolución de hidróxido de sodio utilizando fenolftaleína como indicador. En esta etapa se modeló el proceso de medida. Es decir, se estableció la relación que existe entre el resultado analítico y los parámetros de los que depende.

$$N_{CH_3COOH} = \frac{N_{NaOH} * V_{NaOH}}{V_{CH_3COOH}} = \frac{m_{KHP} * P_{KHP} * V_{NaOH}}{Meq_{KHP} * V_{NaOH_{KHP}} * V_{CH_3COOH}} \quad (1)$$

Donde N_{NaOH} representa la normalidad de la disolución titulante de NaOH, V_{NaOH} el volumen gastado de disolución NaOH y V_{CH_3COOH} el volumen del mensurando (CH_3COOH) titulada. En la ecuación 1 se asume que el hidróxido sódico se estandariza frente a una disolución de $KHC_8H_4O_4$ (KHP) como patrón primario. Por tanto, N_{NaOH} depende a su vez de la masa de KHP (m_{KHP}), de su pureza (p_{KHP}), de su masa equivalente (meq_{KHP}), y del volumen de la disolución de NaOH gastado durante la valoración del KHP ($V_{NaOH_{KHP}}$). Identificación y análisis de las fuentes de incertidumbre. Se enlistaron todas las fuentes de incertidumbre para cada una de las magnitudes que afectan el valor del mensurando. Se elaboró un diagrama de causa efecto (Ishikawa), para mostrar las fuentes potenciales de incertidumbre que podrían contribuir al valor de la incertidumbre asociada al valor medido de la concentración del mensurando, ácido acético.

Cuantificación de las fuentes de incertidumbre. Para la estimación de la incertidumbre estándar ($u_{M_{KHP}}$) y relativa ($ur_{M_{KHP}}$) del $KHC_8H_4O_4$ se consideró: pureza KHP (P_{KHP}), masa del KHP (m_{KHP}), volumen de la disolución de NaOH para titular el KHP (V_{T1}) donde se consideró la tolerancia (u_{Tol}), repetibilidad del llenado del material (u_{Rep}) y diferencia entre la temperatura de especificación del fabricante y la de trabajo (ΔT) correspondiente al volumen de la pipeta y/o matraz volumétrico. En el caso de la bureta volumétrica, el volumen está sujeto a la influencia de fuentes de incertidumbre como Tol , Rep , ΔT y a la contribución de la incertidumbre en la detección del punto final (u_{Pfinal}). Además, se consideró la contribución por la resolución (u_{resol}), ya que posee una escala graduada. Los cinco parámetros anteriores se utilizaron para estimar la incertidumbre estándar combinada para V_{T1} y V_{T2} (volumen de la disolución de NaOH para titular el CH_3COOH (mensurando)). Finalmente, se calculó la incertidumbre estándar combinada ($\frac{u_{CH_3COOH}}{C_{CH_3COOH}}$) a partir de las incertidumbres estándares individuales. La incertidumbre expandida del mensurando (U_{CH_3COOH})

se calculó multiplicando la incertidumbre estándar combinada por el factor de cobertura (K) igual a

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El diagrama de Ishikawa o causa-efecto muestra la identificación y análisis de las fuentes de Incertidumbre (Figura 1).

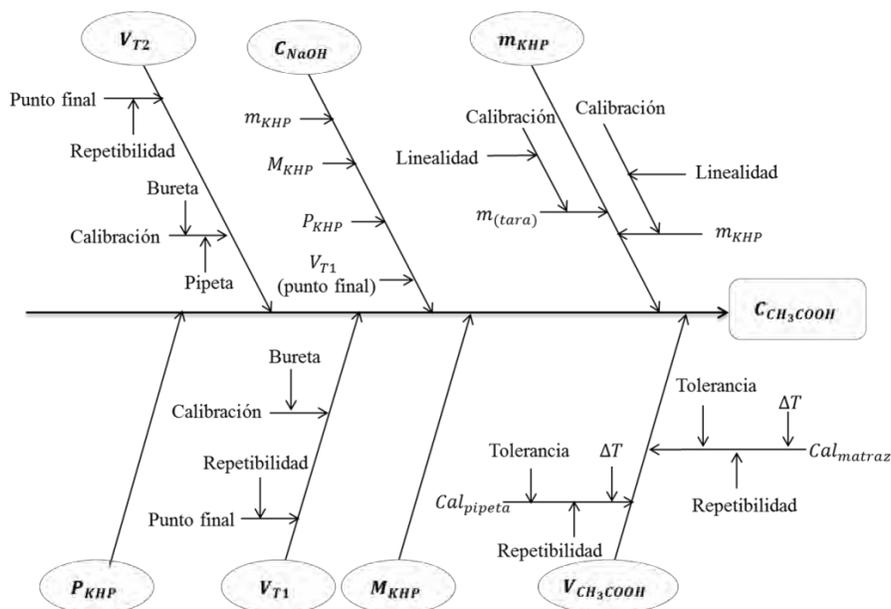


Figura 1. Diagrama de Ishikawa o causa-efecto para la identificación de las fuentes de incertidumbre.

Para la cuantificación de las fuentes de incertidumbre se estimó la incertidumbre estándar (μ_{KHP}) y relativa (μ_{rKHP}) del KHP.

La pureza del $KHC_8H_4O_4$ (P_{KHP}) es de 1.0000 ± 0.0005 y la incertidumbre citada por el proveedor (Fermont) está dentro de los límites de 99.95 – 100.05%. Se consideró como una distribución rectangular para la estimación de la incertidumbre estándar ($u_{P_{KHP}}$) y la incertidumbre estándar

$$\text{relativa } (ur_{P_{KHP}}) \cdot u_{P_{KHP}} = \frac{u}{\sqrt{3}} = u_{P_{KHP}} = \frac{0.0005}{\sqrt{3}} = 0.0003ur_{P_{KHP}} = \frac{u_{P_{KHP}}}{P_{KHP}} = \frac{3 \times 10^{-4}}{1.0} = 3 \times 10^{-4} \quad (2)$$

Masa molar del $KHC_8H_4O_4$ (M_{KHP}). Se estimó la incertidumbre estándar ($u_{M_{KHP}}$) y relativa ($ur_{M_{KHP}}$) de la M_{KHP} .

$$u_{M_{KHP}} = \sqrt{u_C^2 + u_H^2 u_O^2 + u_K^2} = 3.766 \times 10^{-3} \text{ mol}^{-1} \quad (3)$$

$$ur_{M_{KHC_8H_4O_4}} = \frac{u_{M_{KHP}}}{M_{KHP}} = \frac{3.766 \times 10^{-3}}{204.2212} = 1.844 \times 10^{-5} \text{ mol}^{-1} \quad (4)$$

Masa del $KHC_8H_4O_4$ (m_{KHP}). Se estimó la incertidumbre estándar ($u_{m_{KHP}}$) y relativa ($ur_{m_{KHP}}$) de la m_{KHP} . Se pesaron por diferencia un promedio de 0.2115 g de KHP para estandarizar la disolución de NaOH. Cada una de las pesadas estuvo sujeta a la variabilidad y la incertidumbre de la calibración y repetibilidad de la balanza analítica.

$$u_{m_{KHP}} = \sqrt{(\text{Calibración})^2 + (\text{Repetibilidad})^2} = 4.123 \times 10^{-5} \quad (5)$$

$$ur_{m_{KHP}} = \frac{u_{m_{KHP}}}{m_{KHP}} = \frac{4.123 \times 10^{-5}}{0.2115} = 1.949 \times 10^{-4} \text{ g} \quad (6)$$

Volumen de la disolución de NaOH para titular el KHP (V_{T1}). Se estimó la incertidumbre estándar correspondiente al volumen de la bureta de 25.00 mL. La tolerancia de la bureta de 25.0 mL (clase A) es de 0.03 mL.

$$\mu_{Tol} = \frac{\text{Tolerancia}}{\sqrt{3}} = \frac{0.03 \text{ mL}}{\sqrt{3}} = 1.732 \times 10^{-2} \text{ mL} \quad (7)$$

Sustituyendo los datos de la desviación estándar de la bureta:

$$u_{Rep} = \frac{s}{\sqrt{n}} = u_{Rep} = \frac{5.542 \times 10^{-2} \text{ mL}}{\sqrt{30}} = 1.012 \times 10^{-2} \text{ mL} \quad (8)$$

n = número de mediciones y s = desviación estándar experimental de las repeticiones

$$u_{\Delta T} = \frac{V_{mat vol} * \Delta T * \text{coeficiente de expansión térmica}}{\sqrt{3}} = \frac{25 * 5 * 2.1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} = 9.397 \times 10^{-3} \quad (9)$$

$$u_{pfinal} = \frac{s}{\sqrt{n}} = \frac{0.15}{\sqrt{5}} = 6.708 \times 10^{-2}$$

$$u_{Resol} = \frac{\text{Resolución de bureta}}{2\sqrt{3}} = \frac{0.10 \text{ mL}}{2\sqrt{3}} = 2.887 \times 10^{-2} \text{ mL} \quad (10)$$

La incertidumbre estándar combinada para V_{T1} se obtuvo sustituyendo en la ecuación

$$u_{V_{Ti}} = \sqrt{u_{Tol}^2 + u_{Rep}^2 + u_{\Delta T}^2 + u_{pfinal}^2 + u_{Resol}^2} = 5.787 \times 10^{-2} \text{ mL} \quad (11)$$

$$ur_{V_{T1}} = \frac{u_{V_{T1}}}{V_{T1}} = \frac{5.787 \times 10^{-2}}{1.48} = 3.91 \times 10^{-2} \text{ mL}$$

Fuentes de incertidumbre involucradas en V_{T2} . Se estimó la incertidumbre estándar correspondiente al volumen de la microbureta (pipeta de 2.00 mL). El volumen estuvo sujeto a la influencia de fuentes de incertidumbre como Rep, ΔT , Tol (ecuaciones 5, 6 y 7, respectivamente). La tolerancia de la pipeta de 2.0 mL (clase A) es de 0.01 mL.

$$u_{Tol} = \frac{0.01 \text{ mL}}{\sqrt{3}} = 5.774 \times 10^{-3} \text{ mL}$$

$$u_{Rep} = \frac{8.020 \times 10^{-3} \text{ mL}}{\sqrt{30}} = 1.497 \times 10^{-3} \text{ mL}$$

$$u_{\Delta T} = \frac{2 * 5 * 2.1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} = 1.212 \times 10^{-3}$$

La incertidumbre estándar combinada para V_{T2} se obtuvo sustituyendo en la ecuación:

$$u_{V_{T2}} = \sqrt{u_{Tol}^2 + u_{Rep}^2 + u_{\Delta T}^2} = 6.083 \times 10^{-3} \text{ mL} \quad (12)$$

$$ur_{V_{T2}} = \frac{u_{V_{T2}}}{V_{T2}} = \frac{6.083 \times 10^{-3}}{1.26} = 4.828 \times 10^{-3} \text{ mL}$$

Volumen de la alícuota de CH_3COOH (V_1). Se midió una alícuota de 1.0 mL de disolución de CH_3COOH . Se consideraron las tres fuentes de incertidumbre Rep, Tol y ΔT (ecuaciones 5, 6 y 7, respectivamente). La tolerancia en la especificación del fabricante, para una pipeta volumétrica de 1.00 mL es de $\pm 0.007 \text{ mL}$.

$$u_{Tol} = \frac{0.007 \text{ mL}}{\sqrt{3}} = 4.042 \times 10^{-3} \text{ mL}$$

$$u_{Rep} = \frac{S_{Rep}}{\sqrt{n}} = \frac{7.04 \times 10^{-2} \text{ mL}}{\sqrt{30}} = 1.285 \times 10^{-2} \text{ mL}$$

$$u_{\Delta T} = \frac{V_{pipeta} * \Delta T * 2.1 * 10^{-4}}{\sqrt{3}} = \frac{1 * 5 * 2.1 * 10^{-4}}{\sqrt{3}} = 6.062 \times 10^{-4} \text{ mL}$$

La incertidumbre del $V_{\text{CH}_3\text{COOH}}$, se estimó combinando las tres fuentes de incertidumbre (Tol, Rep y ΔT) que afectan la medición de volumen de la alícuota de 1.0 mL.

$$u_{V_{1\text{ mL}}} = 1.348 \times 10^{-2} \text{ mL} \quad u_{rV_{1\text{ mL}}} = \frac{u_{V_1}}{V_1} = \frac{1.348 \times 10^{-2}}{1} = 1.348 \times 10^{-2} \text{ mL} \quad (13)$$

Estimación de la incertidumbre estándar del volumen del matraz volumétrico donde se preparó la dilución de ácido acético (V_{100}). Se consideraron las tres fuentes de incertidumbre Rep, Tol y ΔT (ecuaciones 5, 6 y 7, respectivamente). La tolerancia del matraz volumétrico de 100mL es de $\pm 0.1\text{ mL}$.

$$u_{tol} = \frac{\text{tolerancia}}{\sqrt{3}} = \frac{0.1}{\sqrt{3}} = 5.77 \times 10^{-2} \text{ mL}$$

$$u_{rep} = \frac{s}{\sqrt{n}} = \frac{0.0811 \text{ mL}}{\sqrt{30}} = 1.481 \times 10^{-2} \text{ mL}$$

$$u_{\Delta T} = \frac{100 * 5 * 2.1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} = 6.062 \times 10^{-2} \text{ mL}$$

Incertidumbre combinada del volumen de la disolución de ácido acético (V_{100})

$$u_{V_{100\text{ mL}}} = 8.499 \times 10^{-2} \text{ mL} \quad u_{rV_{100\text{ mL}}} = \frac{u_{V_{100}}}{V_{100}} = \frac{0.08499}{100} = 8.499 \times 10^{-4} \text{ mL} \quad (14)$$

Cálculo de la incertidumbre estándar combinada:

$$C_{CH_3COOH} = \frac{1000 * m_{KHP} * P_{KHP} * V_{T2}}{V_{T1} * M_{eqKHP} * V_{CH_3COOH}} = \frac{1000 * 0.2125 * 1.00 * 1.48}{1.26 * 204.2212 * 1.00} = 1.222 \text{ mol L}^{-1} \quad (15)$$

Las incertidumbres individuales asociadas con cada componente se combinan para estimar la incertidumbre estándar combinada.

$$\frac{u_{C_{CH_3COOH}}}{C_{CH_3COOH}} = \sqrt{\left(\frac{u_{m_{KHP}}}{m_{KHP}}\right)^2 + \left(\frac{u_{P_{KHP}}}{P_{KHP}}\right)^2 + \left(\frac{u_{V_{T1}}}{V_{T1}}\right)^2 + \left(\frac{u_{V_{T2}}}{V_{T2}}\right)^2 + \left(\frac{u_{M_{KHP}}}{M_{KHP}}\right)^2 + \left(\frac{u_{V_{100}}}{V_{100}}\right)^2 + \left(\frac{u_{V_{250}}}{V_{250}}\right)^2} = 3.024 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1} \quad (16)$$

La incertidumbre expandida U_{CH_3COOH} se calculó multiplicando la incertidumbre estándar combinada por el factor de cobertura (κ) igual a 2, que es similar a un nivel de confianza del 95% [6].

$$U_{C_{CH_3COOH}} = 3.024 \times 10^{-2} * 2 = 0.065 \text{ mol L}^{-1}$$

$$C_{CH_3COOH} = 1.222 \pm 0.065 \text{ mol L}^{-1}$$

CONCLUSIONES

Se estableció un procedimiento metodológico con la finalidad de conocer y cuantificar las fuentes más significativas de incertidumbre en un método analítico a microescala para titulación ácido-base validado [7] mediante un diagrama de Ishikawa, además de representar gráficamente cada una de sus contribuciones. Se estimaron las incertidumbres individuales, obteniéndose la incertidumbre estándar combinada de ($\mu_c = 7.39 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$), la incertidumbre estándar relativa ($\mu_{rc} = 3.024 \times 10^{-2}$) y la incertidumbre expandida (U), para un nivel de confianza de aproximadamente 95 % con $k = 2$, fue de $6.5 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. Las contribuciones (Figura 2) muestran que el mayor aporte a la incertidumbre estándar relativa en la determinación lo proporciona el volumen de la disolución de NaOH para titular el KHP (V_{T1}), seguido de la concentración del mensurando y de la incertidumbre debida al volumen de la alícuota del mensurando (V_1). El resto de las contribuciones, tienen una influencia menos significativa. En el proceso de validación del método analítico se cuantificó la concentración de CH_3COOH [7], por lo que a ese valor se debe agregar el resultado de la incertidumbre expandida. Por lo tanto, el resultado final fue $1.222 \pm 0.065 \text{ mgL}^{-1}$.

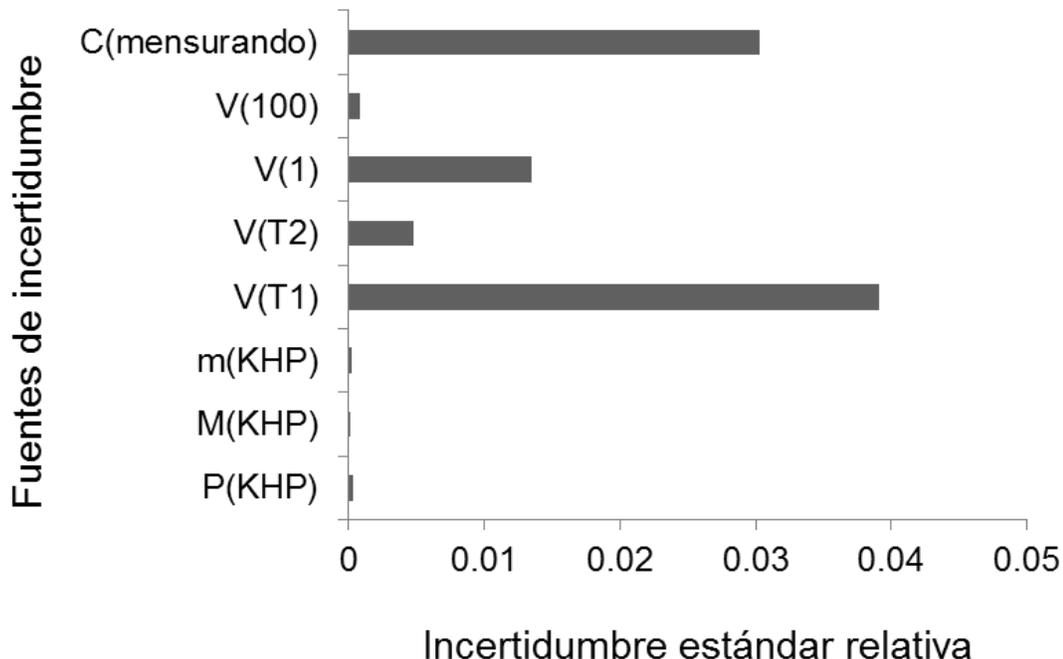


Figura 2. Contribución gráfica de las fuentes de incertidumbre.

REFERENCIAS

- [1] P.P. Morillas, Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos. Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados Disponible en www.eurachem.org. 1ª ed. (2016).
- [2] I. Farrance, R.Frenkel, Uncertainty of measurement: A review of the rules for calculating uncertainty components through functional relationships. *Clin. Biochem. Rev.* **33** 48-75(2012).
- [3] A. González, C. Urzúa. Experimentos químicos de bajo costo: un aporte desde la microescala. *Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias*, **9** [3] (2012)
- [4] R.R Lozano. Sostenibilidad en educación superior. III Congreso Internacional de Química e Ingeniería Verde. (2015)
- [5] R.A. Aponte, G.R. Aguilar, S.I. Austin. Trabajos prácticos en microescala como estrategia didáctica en cursos de química de educación media. *Revista Electrónica "Actualidades Investigativas en Educación. Universidad de Costa Rica.* **13** [2] (2013)
- [6] CENAM-EMA. Guía para estimar la incertidumbre de la medición. México, D. F (2004)
- [7] C.M.G. Cáñez, A.A.M. García A. Validación del método analítico a micro, semi-micro y macro escala para titulación ácido base. 6o. Congreso Internacional de Biología, Química y Agronomía. Volumen 1. ISBN:978-607-719-008-0. Universidad Autónoma de Guadalajara (2014)

DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIONES SOLUBLES DE METALES Y METALOIDES EN JALES CON BASE EN LA NOM-141-SEMARNAT-2003

Jessica Anaid Hernandez Cano¹
Agueda Elena Cenicerros Gómez ^{1*}
Margarita Eugenia Gutiérrez Ruiz¹
Luis Gerardo Martínez Jardines²

INTRODUCCIÓN

Los jales, son residuos sólidos generados en las operaciones primarias de separación y concentración de minerales. La toxicidad de estos está determinada por la fracción extraíble que es móvil en el ambiente bajo condiciones ambientales (lluvia, viento, etc.) pudiendo representar un riesgo para el equilibrio ecológico. Debido a ello en México la NOM-141-SEMARNAT-2003 establece los criterios y el procedimiento para la evaluación de la peligrosidad de los jales provenientes de las operaciones mineras. La validación de un método es un requisito importante en la práctica del análisis químico debido a que es el proceso para definir un requisito analítico, y la confirmación de que cuenta con capacidades consistentes para las aplicaciones requeridas. Se deben validar los métodos debido a las implicaciones legales que conllevan las decisiones a partir de los resultados obtenidos, por ello es necesario ser capaz de demostrar que el resultado es correcto, la validación de un método permite al químico demostrar que este es “adecuado para el uso previsto”.

En este proyecto se desarrollaron y validaron los métodos de la Norma Oficial Mexicana NOM-141-SEMARNAT-2003.; en su anexo normativo 5.

¹ Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, Laboratorio de Biogeoquímica Ambiental, Av. Universidad 3000, Ciudad Universitaria, C.P. 04510, Coyoacán, Ciudad de México. Tel.: +52(55)56224336, e-mail: jessian.2911 @gmail.com

² Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Geología, Av. Universidad 3000, Ciudad Universitaria, C.P. 04510, Coyoacán, Ciudad de México. Tel.: +52(55)56 224283 ext. 228, e-mail: quimicagm@gmail.com

I. Prueba para realizar la extracción de metales y metaloides en jales, con agua en equilibrio con CO₂.

V. Determinación de elementos en jales por espectroscopía de emisión atómica por plasma inductivamente acoplado.

EXPERIMENTACIÓN

La experimentación se dividió en tres partes: validación del método de medición; desarrollo de métodos de preparación de la muestra siguiendo la NOM- 141.SEMARNAT-2003 (extracciones solubles) y la propuesta de un método de preparación alternativo. Finalmente se comparan ambos métodos analizando muestras de jales reales.

Validación sistema de medición

En la validación del sistema de medición por espectrometría ICP-OES de elementos solubles, se determinaron los siguientes parámetros: intervalo lineal (IL), sensibilidad, repetibilidad, recobro, límite de detección LD, límite de cuantificación (LC) y reproducibilidad [1].

Validación de métodos de preparación de elementos solubles en jales

Posteriormente, se realizó la validación del método de preparación de las muestras de jales, en este caso la extracción con H₂O en equilibrio con CO₂. Los parámetros para la validación de la determinación de concentraciones solubles con base en la NOM-141- SEMARNAT-2003, son los siguientes: repetibilidad, recobro, LD, LC y reproducibilidad [1]. Se utilizó el procedimiento de extracción reportado en la NOM-141-SEMARNAT- 2003, en su anexo normativo 5. Métodos de prueba. I. Prueba para realizar la extracción de metales y metaloides (MM) en jales, con agua en equilibrio con CO₂ [2]. En la validación de los métodos de preparación se utilizó un jal de referencia proveniente de Taxco de Alarcón, Guerrero. En la propuesta de un método alternativo para la extracción solo se modifica la cantidad de jal cambiando de 70 g (lo que indica la NOM-141) a 5 g manteniendo la relación 1:20 en sólido del jal en gramos a mL de solución extractante.

Determinación de elementos solubles en muestras de jales siguiendo ambos métodos. En la confirmación con muestras de jales provenientes de: Chihuahua, Colima, Guerrero y Michoacán se utilizan las dos metodologías desarrolladas y validadas. Adicionalmente se realizaron digestiones ácidas parciales de estos jales EPA 3051A [3].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN*Validación sistema de medición*

En la Tabla 1 se muestran los parámetros de validación del sistema de medición de los elementos tóxicos normados.

Elemento	λ (nm)	IL (mg/L)	Sensibilidad	LD (mg/L)	LC (mg/L)	Repeti- bilidad (DER)	Reproduci- bilidad (DER)	Re- cobro (%)
Ag	328.1	1.0 - 10.0	37346.1	0.04	0.13	0.86	4.8	96.60
As	189.0	0.05- 10.0	265.2	0.03	0.09	2.31	4.8	113.90
As	193.7	0.25- 10.0	228.7	0.04	0.12	2.21	6.5	117.30
Ba	233.5	0.01- 10.0	42697.2	0.01	0.02	0.68	0.8	106.60
Ba	455.4	0.01- 1.0	1793979.4	0.01	0.02	0.69	2.7	102.10
Cd	226.5	0.01 - 10.0	7464.2	0.01	0.02	0.62	1.5	107.80
Cr	267.7	0.01- 10.0	25059.7	0.01	0.02	0.78	0.7	107.30
Ni	231.6	0.01- 10.0	1932.9	0.01	0.02	0.55	0.6	109.10
Pb	220.4	0.01- 10.0	275.4	0.02	0.07	1.24	3.6	107.60
Se	196.0	0.25- 10.0	215.9	0.04	0.14	1.35	5.1	111.00

Tabla 1. Resultados para los parámetros de validación del sistema de medición ICP-OES.

Los elementos normados que considera la NOM-141 potencialmente tóxicos son: Ag, As, Ba, Cd, Cr, Ni, Pb y Se, por lo que en la Tabla 1 se muestran los resultados de sus parámetros de validación. Se observa que se calcularon los parámetros de validación para un mismo elemento a diferentes longitudes de onda debido a que, en estas longitudes de onda, las respuestas del

sistema ICP-OES han demostrado que presentan una mejor sensibilidad y coinciden con ser las recomendadas por las normas y métodos analíticos como el EPA 6010 C. Por otro lado, observamos que el intervalo lineal (IL) es el intervalo de concentraciones del analito, sobre los cuales el método puede aplicarse [1]. Por ejemplo, Ag el IL es de 1-10 mg/L. También se muestran los límites de detección y cuantificación de los elementos normados (LD y LC), en todos los casos cumplen con ser menores a los límites que establece la NOM-052-SEMARNAT- 1993 (Tabla 2) para considerar al residuo como tóxico [4].

Tabla 2. Concentraciones del lixiviado que hacen peligroso a un residuo por su toxicidad al ambiente.

Elemento	Ag	As	Ba	Cd	Cr	Ni	Pb	Se
Concentración máxima permitida (mg/L)	5.0	5.0	100.0	1.0	5.0	5.0	5.0	1.0

En general, todos los parámetros obtenidos para cada uno de los elementos normados en la Tabla 1 cumplen con los criterios de aceptación, por lo que el sistema de medición por ICP-OES es adecuado para medir los constituyentes tóxicos móviles en jales mineros, y se considera exacto y preciso de acuerdo con el recobro y la repetibilidad.

Validación de métodos de preparación de elementos solubles en jales

Tabla 3. Resultados de los parámetros de la validación para la confirmación de matriz para extracción de solubles en jales utilizando 70 g (NOM-141).

Elemento	λ (nm)	LD (mg/L)	LC (mg/L)	Repetibilidad (DER)	Repetibilidad Adición 1 mg/L (DER)	Recobro (%)
Ag	328.1	0.01	0.02	NA	3.28	110.4
As	189.0	0.04	0.14	4.06	5.50	115.9
As	193.7	0.03	0.11	5.41	5.81	113.6
Ba	233.5	0.01	0.02	NA	2.45	106.6
Ba	455.4	0.01	0.02	NA	2.38	107.0
Cd	226.5	0.01	0.04	6.13	3.10	120.0

Teoría y Aplicaciones de la Química Analítica en México

Cr	267.7	0.01	0.04	NA	2.47	105.8
Ni	231.6	0.01	0.02	NA	2.52	103.0
Pb	220.4	0.03	0.11	NA	4.57	117.3
Se	196.0	0.04	0.12	NA	3.40	123.8

NA: No Aplica; concentración <LD

En la Tabla 3 se observa que en el método de preparación los parámetros evaluados fueron LD, LC, repetibilidad y recobro. Los resultados indican que se cumplen con todos los criterios de aceptación para el método oficial en la NOM-141 vigente a excepción del recobro para Se y Cd que se encuentran en el límite superior del criterio de aceptación, Durante la experimentación la metodología con 70 g demostró poca facilidad en el laboratorio, por ello se planteó como alternativa realizar la validación del método con 5 g.

Tabla 4. Resultados de los parámetros de la validación para la confirmación de matriz para extracción de solubles en jales utilizando 5 g (método alternativo a la NOM-141).

Elemento	λ (nm)	LD (mg/L)	LC (mg/L)	Repetibilidad (DER)	Repetibilidad adición 1mg/L (DER)	Recobro (%)	Reproducibilidad (DER)
Ag	328.1	0.08	0.25	NA	4.97	100.30	5.28
As	189.0	0.07	0.24	7.13	2.55	106.00	8.76
As	193.7	0.08	0.26	8.44	2.42	108.80	8.37
Ba	233.5	0.01	0.05	NA	1.47	96.80	5.53
Ba	455.4	0.01	0.04	NA	1.46	101.20	6.11
Cd	226.5	0.03	0.08	5.07	1.90	105.20	7.56
Cr	267.7	0.02	0.05	NA	1.27	97.60	4.97
Ni	231.6	0.01	0.03	NA	1.60	97.60	4.96

Teoría y Aplicaciones de la Química Analítica en México

Pb	220.4	0.02	0.07	NA	2.15	102.00	9.84
Se	196.0	0.04	0.13	NA	2.90	106.40	7.30

NA: No Aplica; concentración <LD

En la Tabla 4 se observa que los LC y LD del método son mayores a los de la Tabla 3 aun así todos estos límites de los elementos normados cumplen con ser menores a los que establece la NOM-052 [4]. A su vez podemos comprobar que en general al evaluar la repetibilidad esta es menor en comparación a los observados en la Tabla 3, todos los recobros cumplen con el criterio de aceptación establecidos e incluso en su mayoría son más exactos y precisos; cumpliendo adicionalmente con la reproducibilidad.

Determinación de elementos solubles en muestras de jales siguiendo ambos métodos

Se realizó una digestión acida parcial con el fin de conocer la concentración total de los elementos potencialmente tóxicos presentes en los diferentes jales utilizados.

Tabla 5. Resultados de concentración en mg/L obtenidos de la digestión ácida parcial.

Elemento	Ag	As	As	Ba	Ba	Cd	Cr	Ni	Pb	Se
λ (nm)	328.1	189.0	193.7	233.5	455.4	226.5	267.7	231.6	220.4	196.0
LD (mg/L)	0.08	0.07	0.08	0.01	0.01	0.03	0.02	0.01	0.02	0.04
LC (mg/L)	0.25	0.24	0.26	0.05	0.04	0.08	0.05	0.03	0.07	0.13
447-15	0.26	9.04	9.14	1.17	1.25	0.07	0.1	0.04	2.26*	<LD
2695-17	<LD	<LD	<LD	2.13	2.27	0.52	0.07	0.13	2.78**	<LD
0632-16	0.34	2.07*	2.06*	0.86	0.92	0.11	0.07	0.02	4.77*	<LD
JSUP 12	0.12	0.19	0.19	0.26	0.28	0.07	0.41	0.03	<LD	<LD

Teoría y Aplicaciones de la Química Analítica en México

JSUP 13	<LD	0.34	0.36	0.14	0.1 5	0.0 8	0.3	0.1 8	<L D	<L D
0594-16	0.18	9.48	9.55	0.53	0.5 7	0.7 2	0.1 7	0.1 2	2.5 3	<L D
0622-16	0.37	0.28*	0.31*	5.39	5.7 2	5.0 3	0.0 8	0.0 3	3.0 2*	<L D
JGV-17	<LD	<LD	<LD	0.22	0.2 4	0.0 4	0.1	0.1 4	<L D	<L D
JGTN-17	<LD	<LD	<LD	0.04	0.0 4	0.0 4	0.1 1	0.2 2	<L D	<L D

Nota: * Concentración con dilución 1:10, ** Concentración con dilución 1:50

En la Tabla 5 podemos observar que todos los jales contienen concentraciones de los elementos potencialmente tóxicos algunos en concentraciones altas como el As y Pb, sin embargo, estos elementos son poco solubles como se muestra en la Tabla 6.

Ambos métodos validados se evaluaron con muestras reales y los resultados comparativos se muestran (Tabla 6): Elementos como Ba, Cd tienen concentraciones en algunos casos mayores al LC y en otros muy cercanos al LD. Por otra parte, elementos como Ag, Cr, Ni y Se, se encontraron en concentraciones muy cercanas o por debajo del LD.

Tabla 6. Comparación entre los métodos validados con muestras de jales reales.

Elemento	Ba	Ba	Cd	Ni	Pb
λ (nm)	233.5	455.4	226.5	231.6	220.4
LD (mg/L)	0.01	0.01	0.03	0.01	0.02
LC (mg/L)	0.05	0.04	0.08	0.03	0.07
JGV-16 NOM	0.03	0.03	<LD	<LD	<LD
JGV-16 Alt	0.03	0.03	<LD	<LD	<LD
% DPR	0	0	NA	NA	NA
JSUP12 NOM	0.02	0.02	<LD	<LD	<LD
JSUP12 Alt	0.02	0.02	<LD	<LD	<LD
% DPR	0	0	NA	NA	NA

0632-16 NOM	<LD	<LD	0.22	<LD	<LD
0632-16 Alt	<LD	<LD	0.22	<LD	<LD
% DPR	NA	NA	2.30	NA	NA
0622-16 NOM	0.07	0.07	<LD	<LD	0.03
0622-16 Alt	0.07	0.06	<LD	<LD	0.03
% DPR	15.38	0	NA	NA	0
2695-17 NOM	0.02	0.02	1.38	0.22	0.39
2695-17 Alt	<LD	<LD	1.44	0.22	0.38
% DPR	NA	NA	4.26	0.00	2.60

NA: No Aplica concentración <LD.

En la Tabla 6 se muestran los jales que resultaron tener concentraciones solubles en ambos métodos y se calculó el porcentaje de DPR para analizar la exactitud entre ambos métodos con un criterio de aceptación del 20%, cabe destacar que la mayoría de las concentraciones solubles de los elementos Ba, Cd, Ni y Pb están cercanas al límite de detección y la incertidumbre en la medición es mayor; las muestras 2695-17 y 0632-16 posiblemente tienen problemas de homogeneidad. Sin embargo, se realizarán más análisis para descartar un problema experimental. Descartando estas muestras las concentraciones demuestran tener reproducibilidad no importando la cantidad en gramos utilizada para el método.

CONCLUSIONES

Se logró la validación del sistema de medición (ICP-OES), para los elementos Ag, As, Ba, Cd, Cr, Ni, Pb y Se; cumpliendo con todos los criterios de aceptación establecidos. Obteniendo los parámetros de Intervalo lineal, límite de detección y cuantificación que permiten evaluar los límites permisibles en la NOM-141, así como la exactitud (% recobro) y precisión (repetibilidad y reproducibilidad).

En la evaluación de la metodología de preparación, usando el método de extracción de solubles que indica la NOM-141, se observa que la exactitud (% recobro) está en el límite del criterio de aceptación, por lo que se propuso un cambio en la metodología. Al comparar los resultados del método alterno en la preparación de los elementos extraídos con CO₂ pesando

únicamente 5 g, se cumple con todos los criterios de aceptación establecidos.

Es importante mencionar que se deben confirmar los resultados para Ba, Cd y Ni ya que están cercanos al límite de cuantificación, donde la incertidumbre de medición es alta, así como descartar problemas de homogeneidad en las muestras, para hacer una propuesta oficial como método alterno.

Los resultados con muestras reales indican que los métodos son equivalentes. El método con 5g es una alternativa que permite reducir la cantidad de muestra a analizar en comparación a lo establecido en la norma para la determinación lo que a su vez reduce la cantidad de residuos generados y permite el ahorro de insumos consumidos como agua, electricidad, tiempo, energía, facilitando la experimentación.

AGRADECIMIENTOS

A la M. en C. Raquel Domínguez Martínez por sus enseñanzas, ayuda y consejos en la realización de este proyecto.

REFERENCIAS

- [1] P. Morrillas, V. Barwick, Ellison Stephen, J. Engman, & B. Magnusson. Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados. (2016) <https://doi.org/ST/NAR/41>
- [2] Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. NOM-141-SEMARNAT-2003, Que establece el procedimiento para la caracterización y preparación del sitio, proyecto, construcción, operación y posoperación de presas de jales. Publicado por el Diario Oficial de La Federación, **55**. (2004).
- [3] U.S. EPA. Method 3051A (SW-846): Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Oils,” Revision 1. Washington, DC. (2007)
- [4]. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. NOM-052-Semarnat-2005. Que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos. Publicado por el Diario Oficial de La Federación, (2005).

EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DE UN ANALIZADOR PORTÁTIL DE FLUORESCENCIA DE RAYOS X EN LA DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN MULTIELEMENTAL DE RESIDUOS MINEROS

Fabiola Vega García¹
Rufino Lozano Santa Cruz²⁽¹⁾
Olivia Zamora Martínez³⁽¹⁾

INTRODUCCIÓN

En diferentes regiones de México, las actividades mineras se caracterizan por la generación de grandes cantidades de residuos que contienen elementos potencialmente tóxicos (EPT's), por lo que, con la finalidad de tomar las medidas de protección necesarias para minimizar su riesgo, se realizan estudios de evaluación ambiental. Como primera etapa de esta evaluación se lleva a cabo el muestreo de los residuos y la determinación de la concentración total de los EPT's. La calidad de esta evaluación depende del número y de la distribución de las muestras que se colecten y debido a que, durante un proceso de beneficio de minerales se generan varios cientos de toneladas de residuos, es necesario realizar un número considerable de análisis químicos.

Los costos de los análisis químicos por las técnicas convencionales como la espectroscopía de absorción atómica (EAA) y la espectroscopía de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES), son relativamente altos y se requiere de una inversión de mucho tiempo para obtener resultados, ya que para llevar a cabo el análisis de muestras sólidas –como los

¹ Universidad Nacional Autónoma de México. Laboratorio Nacional de Geoquímica y Mineralogía. Paseo de la Coordinación Científica, Coyoacán, C.P. 04510. Tel: +55 56224282 ext. 201, email: fvegag@geologia.unam.mx

² Universidad Nacional Autónoma de México-Ciudad Universitaria. Instituto de Geología, Departamento de Geoquímica, Laboratorio de FRX. C.P. 04510. Tel: +55 56224240 ext. 81850, email: rufino@unam.mx

³ Universidad Nacional Autónoma de México-Ciudad Universitaria. Instituto de Geología, Departamento de Edafología, Laboratorio de Cromatografía. C.P. 04510. Tel: +55 56224240 ext. 81853, email: oliviazm@geologia.unam.mx

residuos mineros- es necesario digerirlas bajo condiciones específicas para lograr la solubilización completa de los elementos que las conforman. Aspectos relacionados con los costos y el tiempo para la obtención de los resultados, son las principales causas de que, en los estudios ambientales de residuos mineros, el número de muestras que se toman en campo no siempre son suficientes para garantizar una buena calidad del estudio [1].

Con el propósito de plantear una alternativa de bajo costo, en comparación con las técnicas de análisis convencional, y de una rápida generación de resultados, con el objetivo de llevar a cabo en tiempo la toma de decisiones para garantizar la estabilidad y el manejo adecuado de un residuo minero, han aparecido en el mercado diversos instrumentos de análisis portátiles, que pueden trasladarse a campo para realizar los análisis "in situ", que requieren de una mínima o ausente preparación de la muestra y en donde el operador del instrumento no necesita un entrenamiento especializado. Un ejemplo de éstos son los equipos portátiles de Fluorescencia de Rayos X, los cuales son capaces de determinar de manera simultánea, la concentración de varios EPT's y de otros elementos químicos de interés ambiental, en periodos de tiempo cortos (≈ 2 min), utilizando algoritmos de cálculo precargados en la memoria del equipo, los cuales fueron desarrollados con base en parámetros fundamentales de FRX, por lo que no se requiere del uso de curvas de calibración.

Sin embargo, dentro del quehacer de un químico analítico al trabajar con una metodología de análisis, se encuentra la confirmación de ésta, mediante el examen y suministro de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para su uso específico, es decir, la verificación de que los resultados generados son confiables [2].

Debido a lo anteriormente mencionado, es necesario realizar la evaluación del desempeño del equipo portátil para la determinación de la concentración de los analitos de interés en las matrices de estudio. Para lo cual el uso de materiales de referencia certificados y su comparación con un equipo convencional de FRX es primordial.

EXPERIMENTACIÓN

- Instrumentación. Como equipo portátil de Fluorescencia de Rayos X(PFRX) se utilizó uno de la marca Thermo Fisher Scientific, modelo NITON XL3t gold+. Se utilizó un espectrómetro de Fluorescencia de Rayos X, Rigaku modelo Primus II, equipado con tubo de rodio y ventana

de berilio de 30 μm (FRX-WD).

- Materiales. Se utilizaron 18 materiales de referencia: 10 de la serie SIEM (SIEM-01, SIEM-02, SIEM-03, SIEM-04, SIEM-05, SIEM-06, SIEM-07, SIEM-08, SIEM-09, SIEM-10) reportada por [3] y 8 de la serie IGL (IGLc-1, IGLd-1, IGLs-1, IGLa-1, IGLsy-1, IGLsy-2, IGLsy-4 y IGLgb-3) de acuerdo con lo reportado por [4].

Las mediciones de los estándares con el PFRX se realizaron por triplicado sin llevar a cabo ningún tipo de preparación de muestra, utilizando 2 modos de lectura, “soils” para elementos traza: Zr, Sr, Rb, Pb, Zn, Cu, Ni, Mn y Nb, y “mine” para los elementos mayoritarios: Ca, Fe y Ti. Los tiempos de análisis fueron de 135 s. Los valores de concentración se reportan como el promedio de las tres mediciones.

Con respecto a los análisis de FRX-WD, la preparación de los materiales consistió en pesar 5.6 g del material sólido y mezclarlos con 1.0 g de aglutinante para FRX (cera-C micropolvo) en un mortero de ágata hasta observar una mezcla homogénea en forma de polvo fino. Posteriormente, la mezcla se comprimió a 20 ton/in² durante 45 s para obtener una tableta de 3 cm de diámetro [4].

El análisis de los materiales de trabajo se llevó a cabo mediante el uso de curvas de calibración monoelementales para FRX-WD, las cuales se generaron mediante el uso de 19 materiales de referencia certificados (MRCs): AGV-1, Es-5, Es-15, JA-2, JG-2, JR-3, MICA-Mg, RGM-1, SDC-1, SDO-1, QLO-1, SCo-1, SGR-1b, W-2a, BX-N, JSd-2, FK-N y DTS-1 de acuerdo con lo reportado por [4].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presentan los resultados obtenidos al graficar la concentración de cada elemento determinada con el equipo portátil de FRX en función de la concentración de su respectivo valor de referencia.

Teoría y Aplicaciones de la Química Analítica en México

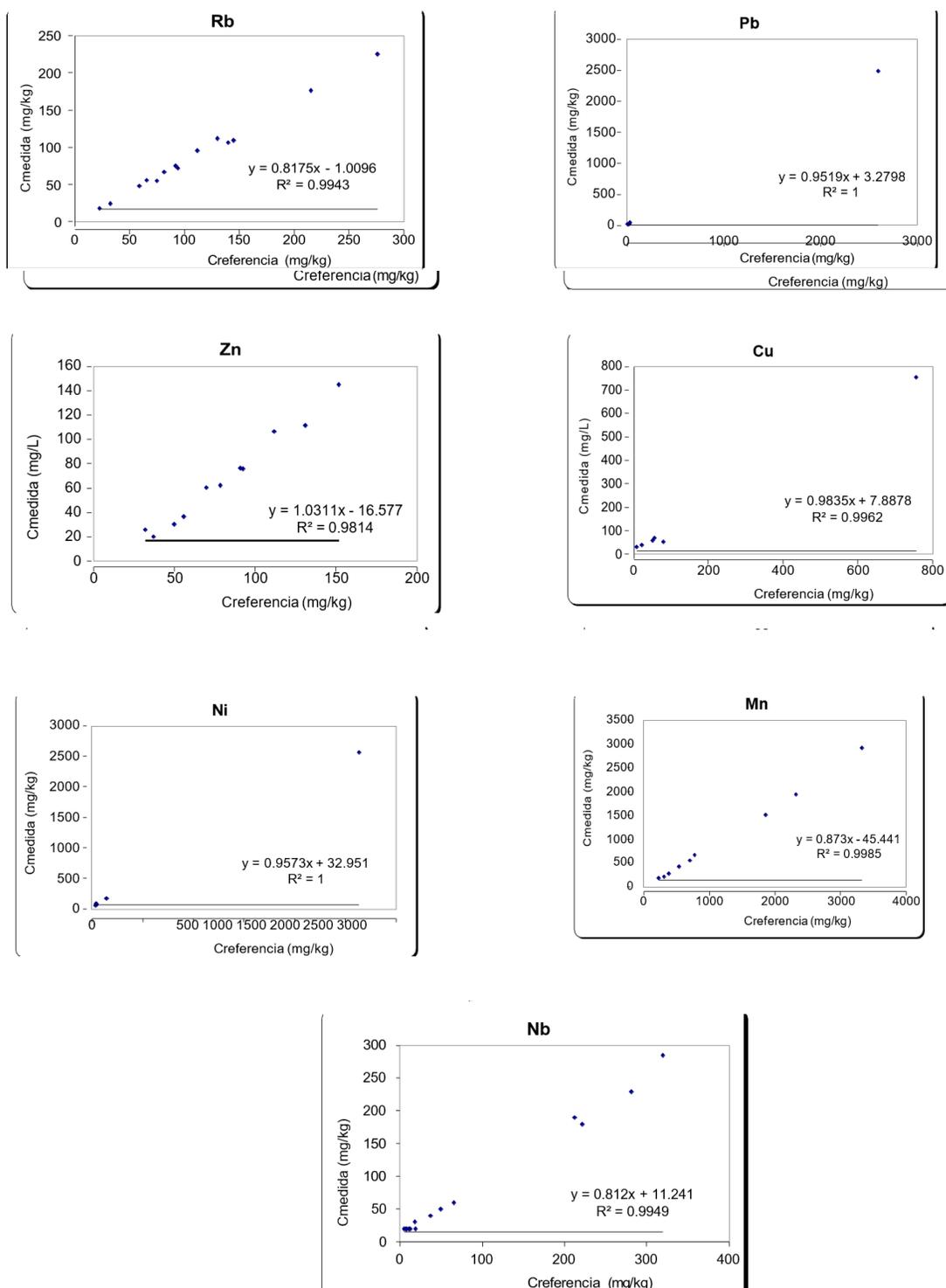


Figura 1. Representación gráfica de los elementos traza: Zr, Sr, Rb, Pb, Zn, Cu, Ni, Mn y Nb (Concentración equipo portátil vs concentración de referencia).

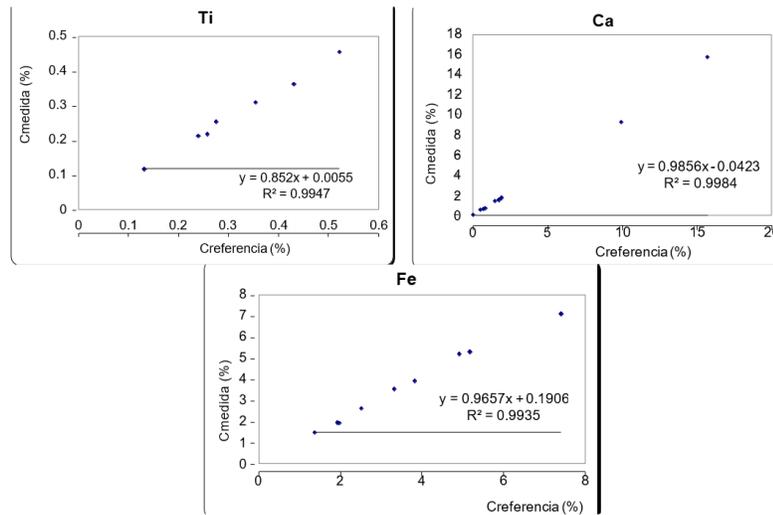


Figura 2. Representación gráfica de elementos mayores: Ti, Ca y Fe (Concentración equipo portátil vs concentración de referencia).

De manera ideal para este tipo de representaciones la pendiente debería ser igual a la unidad (100 % de exactitud), sin embargo, toda determinación analítica tiene una incertidumbre asociada y considerando las recomendaciones propuestas [2] para analitos que se encuentran en niveles de concentración del orden de los mg/kg se permite una exactitud en la medición de materiales de referencia del 95 al 105 %, mientras que para analitos en concentraciones del orden de los porcentajes es del 98 al 102 %.

En el caso de los elementos traza determinados con el equipo portátil de FRX, sólo el Sr, Pb, Cu, Zn y Ni, cumplen con este criterio. Con respecto a los elementos considerados como mayoritarios, solamente el Ca cumple con este requerimiento.

Sin embargo, el método EPA 6200 [5], documento elaborado para evaluar el desempeño de equipos portátiles de FRX, menciona que, al analizarse estándares de referencia, deberá calcularse la diferencia porcentual (% D) para cada analito y que ésta deberá estar dentro de ± 20 por ciento (ver ecuación 1)

$$\% D = \frac{(C_{medida} - C_{referencia})}{C_{referencia}} * 100 \quad (1)$$

Si el % D cae afuera de este intervalo de aceptación, entonces el valor de concentración del elemento deberá de corregirse matemáticamente, utilizando el valor de la pendiente y la ordenada al origen de la respectiva curva de calibración. En la tabla 1, se presenta los valores de la diferencia porcentual calculados para Zr, Rb, Mn, Nb, Ti y Ca. En esta tabla se observa que el Mn, Nd, Fe y Ti cumplen con el criterio de $\% D \leq 20$. En el caso del Rb presenta un error por defecto, ya que todos los valores de % D son negativos, mientras que el Zr presenta un error por exceso, ya que todos los valores de % D fueron positivos. Por lo que para los casos de Rb y Zr habrá que corregir los valores de concentración reportados por el equipo considerando los valores de m y de b de sus respectivas curvas de calibración.

Tabla 1. Valores de % D determinados para Rb, Zr, Mn, Nd, Fe y Ti.

Estándar	Rb	Zr	Mn	Nd	Fe	Ti
	% D					
SIEM-01	-18.4	31.9			8.2	-12.8
SIEM-02	-14.2	30.4	-20.1		2.4	-16.1
SIEM-03			-13.6		2.2	
SIEM-04	-13.5	34.8	-18.7	-10.9	4.1	-8.3
SIEM-05	-14.7	25.8			5.7	-12.4
SIEM-06						
SIEM-07	-18.3		-19.3		2.4	-15.8

SIEM-08	-22.8	44.1	- 16.0	-18.9	-4.2	
SIEM-09	-24.0	22.6	- 19.8		5.9	- 13. 0
SIEM-10	-18.1	1.4	- 12.6		-1.7	- 11. 6
IGLs-1	-25.8	35.3		0.1		
IGLa-1	-23.9	34.0		5.5		
IGLsy-1	-17.7	34.0		-18.3		
IGLsy-2	-23.9	30.1		-10.6		
IGLsy-4	-18.5	30.8		-8.9		
IGLgb-3	-18.6	34.5		6.7		

Finalmente, los resultados obtenidos de los % D determinados para una serie de 14 muestras de residuos mineros, en los cuales se considera que el valor de concentración de cada elemento analizado por FRX-WD, técnica previamente validada, es la concentración de referencia, indicaron un buen desempeño del equipo portátil de FRX, ya que los resultados obtenidos de % D fueron en todos los casos ≤ 20 %.

CONCLUSIONES

El uso de un equipo portátil de FRX permite la determinación confiable de Zr, Sr, Rb, Pb, Zn, Cu, Ni, Mn, Nb, Ti, Fe y Ca en muestras de residuos mineros, con resultados comparables a los obtenidos con un espectrómetro de Fluorescencia de Rayos X de dispersión de longitudes de onda, en tiempos de análisis relativamente cortos (135 s) y con una mínima preparación de la muestra.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

REFERENCIAS

- [1] R.K.Soodan, Y.B. Pakade, A.Nagpal y J.K. Katnoria. Analytical techniques for estimation of heavy metals in soil ecosystem: A tabulated review. *Talanta* **125**, 405-410 (2014).
- [2] I. Taverniers, M. De Loose y E. Van Bockstaele. Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *Trends in Analytical Chemistry* **23**, 535-552 (2004).
- [3] P.J. Potts, A.G. Tindle y P.C. Webb. Geochemical reference material compositions. Whittless Publishing. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida, Estados Unidos, (1992).
- [4] R. Lozano y J.P. Bernal. Characterization of a new set of eight geochemical reference materials for XRF, major and trace element analysis. *Revista Mexicana de Ciencias. Geológicas* **22** [3], 329-344 (2005).
- [5] U.S. EPA. Method 6200 Field portable x-ray fluorescence spectrometry for the determination of elemental concentrations in soil and sediment. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/6200.pdf>. 09/04/2018.

ÍNDICE DE CALIDAD DE GRASAS (ICG) Y SU APLICACIÓN EN LA EVALUACIÓN DE TRATAMIENTOS DE PURIFICACIÓN DE MANTECA DE CERDO

José Ángel Cobos Murcia¹
Eduardo Hernández Aguilar²
María Elizabeth Márquez López²
Karla Díaz Castellanos²

INTRODUCCIÓN

Durante el proceso de la investigación realizada en la Universidad Veracruzana con respecto al tratamiento de grasas, se presentó la dificultad de caracterizar las grasas nuevas, aquellas degradadas durante el proceso de fritura y las que fueron tratada en procesos de purificación. Debido a que se requiere evaluar y comparar una gran cantidad parámetros que se asocian a la calidad de la grasa y el cambio sufrido por aplicar un tratamiento para su recuperación.

Para realizar comparaciones entre tratamientos experimentales se desarrolló un índice numérico del 0 al 100, que concentra toda la información analítica de la normatividad de grasa para consumo humano. Este Índice es una expresión matemática que indica el estado de la calidad de una muestra de grasa y que se ha denominado Índice de Calidad de Grasas (ICG) [1]. Que fue establecido de manera análoga al Índice de Calidad de Agua (ICA) [2,3] empleando un sistema de ponderación que asigna un peso específico para cada parámetro evaluado.

Así el ICG integra los valores de todos los parámetros y permite establecer mediante un solo valor numérico la calidad de la grasa de acuerdo con los criterios de calidad, valores límites o

¹ Consejo Nacional De Ciencia y Tecnología. Departamento de Cátedras CONACyT. Av. Insurgentes Sur 1582, Col. Crédito constructor, Delegación Benito Juárez, Ciudad de México, C.P. 03940, México. e-mail: catseven78@gmail.com

² Universidad Veracruzana. Facultad de Ciencias Químicas-Orizaba, Ote 6 #1009, Orizaba, Veracruz, México. e-mail: eduhernandez@uv.mx

máximos permitidos en grasas para consumo humano; ya sea de origen animal, vegetal o compuestas.

En términos de control de calidad, en la industria el ICG permitirá evaluar más detalladamente las pequeñas diferencias entre materias primas, proveedores, además de evaluar el estado de grasa cruda, efecto de tratamientos o aquellas usadas en la preparación de alimentos como ingredientes o medio de calentamiento para realizar fritura. Por lo que este trabajo presenta el Índice de Calidad de Grasas, su utilidad, beneficios y aplicación en la industria de los alimentos.

EXPERIMENTACIÓN

Se analizaron tres muestras de grasas de origen animal; manteca comercial (nueva) que cumple con los estándares de calidad de productos alimenticios de acuerdo con la normatividad vigente en México en la NMX-F-110-1999 [4] e internacionalmente en el CODEX STAN 211 [5], manteca de cerdo que ya ha sido usada (fritura) en el proceso de fritura de “*carnitas estilo michoacano*” hasta perder gran parte de sus propiedades, y manteca tratada mediante un procedimiento registrado ante el IMPI (tratada) por la Universidad Veracruzana para el tratamiento de manteca quemada.

Para este trabajo solo se evaluaron experimentalmente los parámetros; índice de refracción, índice de acidez, humedad, rancidez, relación insaturados/saturados, olor y sabor, textura y aspecto. Las metodologías analíticas empleadas para determinar experimentalmente los valores de parámetros analíticos para realizar la comparación de mantecas fueron realizadas empleando la metodología descrita para cada parámetro de acuerdo con la normatividad mexicana vigente NMX-F-110-1999 [4], realizando las pruebas por triplicado.

La escala del índice de calidad de grasas tiene un intervalo de 0 a 100, que representa la calidad de la grasa como producto alimenticio. Donde se presentan cinco intervalos de calidad de la grasa: excelente de 91 a 100, buena de 71 a 90, calidad media de 51 a 70, mala de 26 a 50 y muy mala entre 0 y 25.

Para determinar el valor del Índice de Calidad de Grasa se usa el valor de promedio aritmético ponderado para cada parámetro, mostrado en la Ecuación 1.

$$ICG = \sum_{i=0}^n w_i Sub_i \quad (1)$$

Donde, Sub_i corresponde al valor del subíndice del parámetro i y un peso asignado w para cada parámetro, cuyo valor depende de la importancia que tiene cada parámetro en la calidad de la grasa. Los parámetros casi en su mayoría presentan subíndices obtenidos mediante el método de curvas descritas por ecuaciones matemáticas y basada en normatividad internacional [1].

Para determinar el valor de cada parámetro se empleó la “*Calculadora de ICG*” que es una hoja de cálculo disponible en internet [6] donde se emplean las ecuaciones para determinar el valor de cada parámetro descrita en la Tabla 4 del documento de Cobos- Murcia [1]. El peso para los parámetros fue evaluado experimentalmente se les asignó un valor de cinco, mientras que para los parámetros que no fueron obtenidos experimentalmente se les asignó un peso de cuatro y como valor para cada parámetro se utilizaron los reportados como valor promedio para grasas de origen animal establecido en la Tabla 3 del documento de Cobos-Murcia et al [1], con el propósito de mantener constante estos parámetros y centrar el efecto del tratamiento en los parámetros que si fueron evaluados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los valores promedio de los parámetros evaluados en las grasas estudiadas para realizar una comparación entre las muestras y evaluar el efecto del tratamiento de recuperación de grasas. Para cada parámetro se determinó el valor de su correspondiente subíndice y con los pesos asignados para cada parámetro se determinó el valor de ICG. Se puede observar que la manteca nueva presenta valores excelentes para los parámetros evaluados, mientras que la manteca usada en fritura presenta un índice inferior a 71, por lo tanto, no sería aceptable para consumo humano. Finalmente, la manteca tratada presenta que los valores de cada parámetro se acercan a los indicados por la NMX-F-110-1999 [4] incrementando su valor hasta un índice de calidad de 90.4.

Tabla 1. Parámetros evaluados de una muestra de manteca de cerdo en diferentes condiciones; nueva, fritura, y tratada. Mostrando su correspondiente valor Sub_i y el valor del ICG.

Parámetro	Nueva		Fritura		Tratada	
	Valor	Sub_i	Valor	Sub_i	Valor	Sub_i
<i>Índice de refracción 40/25°C</i>	1.458	100	1.462	93	1.463	86
<i>Saponificación / g KOH *kg⁻¹</i>	197.36	98	205.81	100	187.97	96
<i>Insaponificable / g*kg⁻¹</i>	9.0	89	10.25	87	9.5	88
<i>Índice de acidez / %</i>	0.120	99	0.439	97	0.3434	99
<i>Humedad / %</i>	0.021	100	0.026	100	0.6787	100
<i>Rancidez</i>	+	100	-	30	+	100
<i>Insaturados/saturados</i>	2.21	90	0.9	82	1.9	90
<i>Olor y Sabor</i>	+	100	-	30	+	100
<i>Textura</i>	+	100	-	30	+	100
<i>Aspecto</i>	+	100	-	30	+	100

En la Figura 1 se muestra una gráfica del ICG mostrando tres intervalos de color que corresponden a la Calidad de las Grasa; Excelente (azul), muy buena (Verde), buena (Amarillo) y regular (rojo). Ya que las grasas son para el consumo humano deben presentar un valor de ICG superior a 71 para considerar una grasa dentro de especificación de la normativa internacional y en particular en México con la norma NMX-F-110-1999 [4]. Se muestra el valor del ICG para las tres grasas evaluadas.



Figura 1. Gráfico ICG de las mantecas evaluadas; nueva, fritura y tratada.

Los resultados del análisis de grasas utilizando el ICG muestran que la manteca nueva y la tratada presentan un valor de 92.2 ± 0.1 y 90.30 ± 0.15 , por lo que se encuentran dentro de especificación y la manteca nueva presenta una excelente calidad y la tratada una muy buena calidad. Por otro lado, la manteca utilizada en la fritura presenta varios de sus parámetros de calidad con subíndices inferiores a 71, por lo que se encuentra fuera de especificación, lo que se refleja en un valor de ICG de 64.4 ± 2.4 , por lo que, no es aceptable para la preparación de alimentos de consumo humano.

CONCLUSIONES

Se presentó el Índice de Calidad de Grasas que puede ser una excelente herramienta analítica en el control de calidad en la industria de los alimentos. Determina los valores de cada subíndice empleando modelos matemáticos robustos ajustados a partir de tendencias estadísticas. Además de la versatilidad de ajustar u omitir el valor del peso de los parámetros, que permite el estudio de los parámetros de una norma en particular o facilitar el análisis de resultados de diseños experimentales para evaluar variables que afecten algunos parámetros de calidad. Aunado a la normalización de los valores de cada parámetro, que permite un procesamiento y manejo más sencillo para el control y automatización de procesos monitoreados en línea.

Se demostró que el ICG puede ser empleado para establecer el nivel de calidad de materias primas o productos terminados, que ayude a facilitar la trazabilidad del proceso de producción y ayudar al seguimiento en conjunto con el control estadístico de procesos. Para evaluar el efecto cualquier variable que pueda afectar la calidad de la grasa como materia prima, dentro de un proceso como producto terminado.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Facultad de Ciencias Química y JACM Agradece al programa de Cátedras CONACyT.

REFERENCIAS

- [1] J. A. Cobos Murcia, A. Osorio Mirón, E. Márquez López, E. A. Hernández Aguilar. Fat Quality Index (FQI) proposal. *Grasas y Aceites*. **66**, [3], e089, 1-14 (2015). doi:<http://dx.doi.org/10.3989/gya.0714142>
- [2] P. Flores Jacinto, J. Meléndez Estrada, M.A. Amezcua Allieri, Propuesta de índice de calidad de agua residual utilizando un modelo aritmético ponderado. *Interciencia*. **38**, 145– 149 (2013).
- [3] N.E. Samboni Ruiz, Y. Carbajal Escobar, J.C. Escobar, Revisión de parámetros fisicoquímicos como indicadores de calidad y contaminación del agua. *Ingeniería e Investigación*, **27**, 172–181 (2007).
- [4] Diario Oficial de la Federación. NMX-F-110-1999 Manteca de Cerdo. Denominación, Especificaciones y Métodos de Prueba, Cd. de México (1999).
- [5] Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y agricultura. CODEX STAN 211 Codex Standard for Named Animal Fats, Roma: International Food Standards (1999).
- [6] Calculadora de ICG. Fat Quality Index Calculator. Universidad Veracruzana. Facultad de Química <https://t.co/AZDRIBFouO> (2015)

APLICACIÓN DEL ÍNDICE DE CALIDAD DE GRASAS (ICG) PARA LA CARACTERIZACIÓN DE GRASA RESIDUAL DE LA INDUSTRIA AVÍCOLA

Luis Eduardo Ek León¹
José Ángel Cobos Murcia²
Nayeli Gutiérrez Casiano¹
Eduardo Hernández Aguilar^{1*}

INTRODUCCIÓN

El índice de calidad de grasas (ICG) [1] ha sido utilizado en investigaciones de la Universidad Veracruzana para caracterizar y tratar grasa de cerdo empleada en la cocción de “carnitas estilo Michoacán” [2]. El índice de calidad de grasas cuyo intervalo es de 0 a 100 e indica información analítica de los diversos parámetros de calidad como el índice de refracción, índice de acidez y densidad entre otros. Estableciendo de forma ponderada y de acuerdo a las normas correspondientes para cada parámetro. En este trabajo tiene como objetivo la aplicación del índice en la grasa obtenida de la descarga en aguas residuales de la industria avícola (cruda y desgomada) está representa entre el 30% y el 75% de la carga contaminante en aguas residuales de matadero [3]. Dicha grasa tiene usos potenciales en campos como los combustibles alternativos [4] y el índice de calidad de grasas se postula como una herramienta útil para caracterizar la grasa y en caso de requerirlo realizar un pretratamiento para su posterior uso.

En el presente trabajo, el índice de calidad de grasas sirvió como precedente para comparar la calidad de grasa de pollo obtenida de la planta procesadora de aves del municipio de Fortín de las Flores, Veracruz.

¹ Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Químicas-Orizaba, Ote 6 #1009, Orizaba, Veracruz, México. e-mail: eduhernandez@uv.mx

² Consejo Nacional De Ciencia y Tecnología. Departamento de Cátedras CONACyT. Av. Insurgentes Sur 1582, Col. Crédito constructor, Deleg. Benito Juárez, Ciudad de México, C.P. 03940, México. e-mail: catseven78@gmail.com

EXPERIMENTACIÓN

La grasa de pollo fue obtenida de la planta procesadora de aves de la empresa “San Antonio” ubicada en el municipio de Fortín de las Flores, Veracruz fue analizada antes y después del pretratamiento conocido como desgomado.

Para llevar a cabo el desgomado primero se pesó 300 g de grasa de pollo sin tratar y se llevó a calentamiento a 60°C, se pesaron 3 g de bicarbonato de sodio en un vidrio de reloj. Se agregaron 22.8 mL de agua destilada a la grasa precalentada y seguidamente se agregó el bicarbonato de sodio, se aumentó la temperatura hasta 100°C durante una hora con agitación magnética. La grasa resultante se colocó en un embudo de separación donde se podía apreciar la interfase entre la grasa limpia y los residuos que se separaron debido al pretratamiento.

Los parámetros analizados tanto de grasa de pollo desgomada y sin desgomar fueron: densidad, punto de fusión, humedad, índice de refracción, índice de acidez, índice de saponificación y se analizaron minerales tales como: Manganeso, Sodio, Potasio, Hierro, Cobre, Zinc, Magnesio, Molibdeno, Mercurio, Arsénico, Plomo, Cromo, Cadmio, Níquel, Cobalto y Selenio. La metodología para las pruebas analíticas a la grasa de pollo fue tomada de la normatividad mexicana vigente NMX-F-110-1999 para manteca de cerdo, esto se debe a que no existe hasta el momento parámetros de calidad para grasa de pollo en la normatividad actual.

La escala del índice de calidad de grasas tiene un intervalo de 0 a 100, que representa la calidad de la grasa como producto alimenticio. Se observan cinco intervalos de calidad de la grasa: de 91 a 100 se clasifica como excelente, de 71 a 90 se considera como buena, de calidad media de 51 a 70, mala de 26 a 50 y muy mala entre 0 y 25.

Para determinar el valor de cada parámetro se empleó la “Calculadora de ICG” [1] de acuerdo con la metodología descrita. El peso para los parámetros fue evaluado experimentalmente se les asignó un valor de siete, mientras que para los parámetros que no fueron obtenidos experimentalmente se les asignó un peso de cero para centrar el efecto del tratamiento en los parámetros que si fueron evaluados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Actualmente no existe una normatividad para evaluar la grasa de pollo, sin embargo, es utilizada en alimentos balanceados y en la producción de biodiesel [5]. Por esta razón la aplicación del índice de calidad de grasas puede ser tomada como referencia para evaluar la mejora de esta materia prima potencial.

En la Tabla 1 se muestran los valores de cada uno de los parámetros evaluados de la grasa de pollo residual y tratada. Se observó que algunos valores como el índice de refracción y el punto de solidificación están fuera de los valores establecidos por el ICG. Sin embargo, se obtuvo una mejoría en el índice de acidez dado que el proceso de desgomado logró reducir significativamente la acidez de la grasa hasta que esta quedó dentro de los parámetros del ICG obteniendo un Subíndice de 90, mientras que la grasa sin pretratamiento obtuvo un Subíndice de 63.

El punto de solidificación de la grasa de pollo de acuerdo con datos encontrados en la literatura está por debajo de los 25°C [6] lo cual es consistente con los valores obtenidos en la experimentación, sin embargo, indica una calidad mala para una grasa debido a que las grasas utilizadas en el desarrollo del ICG fueron manteca de cerdo, margarina, manteca vegetal y mantequilla las cuales tienen un punto de solidificación superior a los 25°C. Sin embargo, esta característica puede ser benéfica en el caso de aprovechar esta grasa para la producción de biodiesel, siendo los problemas de solidificación a bajas temperaturas una de las dificultades principales de la implementación de biodiesel.

El análisis de minerales detectó 25 ppm de hierro y 10 ppm de zinc en la grasa sin desgomar, sin embargo, el proceso de desgomado logró reducir el hierro a 20 ppm y eliminó por completo el zinc de la grasa. Cabe mencionar que no se encontró presencia de los otros metales analizados por tanto no se identificó efecto del tratamiento sobre la grasa tratada.

Tabla 1. Parámetros evaluados de una muestra de grasa de pollo residual y tratada. Mostrando su correspondiente valor Sub_i y el valor del ICG.

Parámetro	Residual		Tratada	
	ICG=	$\frac{37}{.6}$	ICG	$\frac{68.}{7}$
	Valor	Sub_i	Valor	Sub_i
Gravedad específica 40/25 °C	0.922	100	0.909	100
Punto de fusión / °C	10.33	3	7.66	3
Punto de solidificación / °C	2.5	3	2.3	3
Índice de refracción 40°C	1.5855	3	1.5855	3
Saponificación / g KOH *Kg ⁻¹ fat	192.38	95	246.37	79
Insaponificables / g*Kg ⁻¹ fat	0.065	100	0.985	99
Índice de acidez / %	4.8917	63	1.397	90
Metales		51		83
Hierro / mg*Kg ⁻¹	25		22	
Zinc / mg*Kg ⁻¹	12.6		0	
Humedad / %	0.0177	100	0.0256	100
Rancidez	-	0	+	100
Olor y Sabor	-	0	+	100

<i>Textura</i>	-	0	+	10 0
<i>Aspecto</i>	-	0	+	10 0

El incremento de 37.6 a 68.7 en el índice de calidad de grasa queda por debajo del 71 indicado para grasas de consumo humano con calidad media, esto justifica que su aplicación y aprovechamiento sea en procesos diferentes del consumo humano, específicamente para la producción de alimentos balanceados para cerdo y biodiesel.

CONCLUSIONES

El índice de calidad de grasas puede ser una excelente herramienta en la caracterización y evaluación de la calidad de la grasa de pollo, sin embargo, tiene ligeros problemas en los valores de referencia, pues como se mencionó en un inicio, el índice de calidad de grasas tiene como límites permisibles valores de grasa de cerdo y grasas de origen vegetal tales como mantequillas y margarinas, pero al no estar en el modelomatemático la grasa de pollo algunos valores están muy por debajo de los parámetros establecidos por el ICG.

El desgomado de la grasa mejora algunos parámetros de la grasa como el índice de acidez y reduce la ppm de algunos metales presentes en la grasa, sin embargo, reduce la calidad de otros como el índice de saponificación por lo que se debe plantear si el desgomado es necesario en este tipo de materia grasa.

Aun con lo anterior, se estima que la grasa de pollo no es apta para consumo humano, sin embargo, esto no limita su uso en otras áreas como la ambiental o los biocombustibles. Además, es muy importante el desarrollo de normativa y especificaciones de grasa de pollo, con estos valores se puede ajustar el índice de calidad de grasas para este caso específico.

REFERENCIAS

- [1] J.A. Cobos Murcia, A. Osorio Miron, E. Hernández Aguilar. A fat quality index (FQI) proposal. Grasas y aceites. 1-14 (2015)
- [2] B. P. Hernández, "Evaluación de la Aplicación de Mezclas Etanol-Metanol En El Proceso de Producción de Biodiesel a Partir de Manteca Residual". Orizaba, Veracruz, México: Universidad Veracruzana. (2017).
- [3] L. Masse, K. Kennedy, & S. Chou, Testing of alkaline and enzymatic hydrolysis pretreatments for fat

- particles in slaughterhouse wastewater. *Bioresource Technology*, **77** [2], 145-155 (2001).
- [4] M. Rehan, J. Gardy, A. Demirbas, U. Rashid, W. Budzianowski, D. Pant, A. Nizami, Waste to biodiesel: A preliminary assessment for Saudi Arabia. *Bioresource Technology*, 17-25 (2018).
- [5] M. Gürü, A. Koca, Ö. Can, C. Çınar, F. Şahin Biodiesel production from waste chicken fat based sources and evaluation with Mg based additive in a diesel engine. *Renewable Energy*, **35** [3], 637-643 (2010).
- [6] C. C. Ming, L. A. Gioielli, V. S. Solis, Fraccionamiento de la grasa abdominal de pollo. *Grasas y aceites*, **53** [3], 298-303 (2002).

Educación

REVISIÓN DE MÉTODOS VOLUMÉTRICOS INDICADOS PARA LA DETERMINACIÓN DE PUREZA DE FÁRMACOS EN LA FEUM

Carolina Flores Avila¹
Norma Ruth López Santiago²

INTRODUCCIÓN

La Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) es un documento oficial en el que se consignan los métodos generales de análisis (MGA) y los requisitos que deben cumplir, con respecto a las características de identidad, pureza y calidad, los fármacos, aditivos, medicamentos, productos biológicos y demás insumos para la salud [1], bajo el cual se debe regir la Industria Farmacéutica y farmoquímica dentro del territorio nacional. Por tanto, es una de las referencias más importantes y una fuente muy consultada por muchos profesionistas del área química.

Una revisión a los MGA de la FEUM muestra que, a pesar del gran auge en el desarrollo de metodologías analíticas instrumentales para el análisis de medicamentos, la volumetría sigue siendo una opción ampliamente utilizada dentro de sus monografías, lo cual es explicable si se considera que representan una alternativa muy atractiva en la que se conjugan criterios de confiabilidad, tiempo y dinero [2, 3].

Las titulaciones o valoraciones son la aplicación cuantitativa de la volumetría [4], están consideradas dentro la química analítica como una operación experimental básica [5], que se define como el proceso para la determinación de la cantidad de una sustancia A que reacciona con una sustancia B (referencia), la cual se va añadiendo a incrementos [6].

¹ Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, Departamento de Control Analítico y Departamento de Química Analítica. Av. Universidad 3000, Distrito Federal, C.P. 04510. Tel: +52 (55) 56 22 3717, e- mail: qcaroflores@yahoo.com.mx

² Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, Laboratorio de Biogeoquímica Ambiental y Departamento de Química Analítica. Av. Universidad 3000, Distrito Federal, C.P. 04510. Tel: 52 (55) 56 22 43 36, e-mail: nruthls@yahoo.com

En este trabajo se presentan los resultados de la revisión de las más de 500 monografías de la sección de fármacos incluidas en la FEUM 11ª edición, que es la publicación vigente de uso obligatorio en la industria de medicamentos mexicanas, con la finalidad de realizar un estudio estadístico que nos permita concluir sobre las aplicaciones que aún sigue teniendo ésta metodología analítica clásica dentro de una de las industrias más reguladas a nivel nacional y la importancia de su estudio y validación dentro de las materias de Química analítica de la Facultad de Química, UNAM.

Experimentación

Estrategia de análisis

La revisión de las monografías de la FEUM se llevó a cabo de la siguiente forma:

- Se decidió utilizar la sección de fármacos ya que son la materia prima más importante de esta industria.
- Nos enfocamos en las pruebas de evaluación de la pureza que emplean las técnicas de valoración para explorar los siguientes aspectos: a) Uso de métodos de titulación

frente a otras técnicas, b) Tipo de valoración, c) Técnica de titulación utilizada (directa o retroceso) y d) Detección del punto final.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después de analizar las más de 500 monografías de fármacos contenidas en la FEUM se obtuvieron los siguientes resultados:

Uso de métodos de titulación frente a otras técnicas

En la Figura 1 se puede observar, de forma desglosada, que la metodología analítica más utilizada para la evaluación de pureza de los fármacos, contemplados dentro de la FEUM 11ª edición, es la titulometría, con un 48 % de las menciones, seguida, de forma importante por la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR), con un 35 %, después, también figurando, la espectroscopia UV-VIS con un 12 % y con porcentajes del 1%: cromatografía de gases, métodos enzimáticos, microbiológicos y gravimétricos.

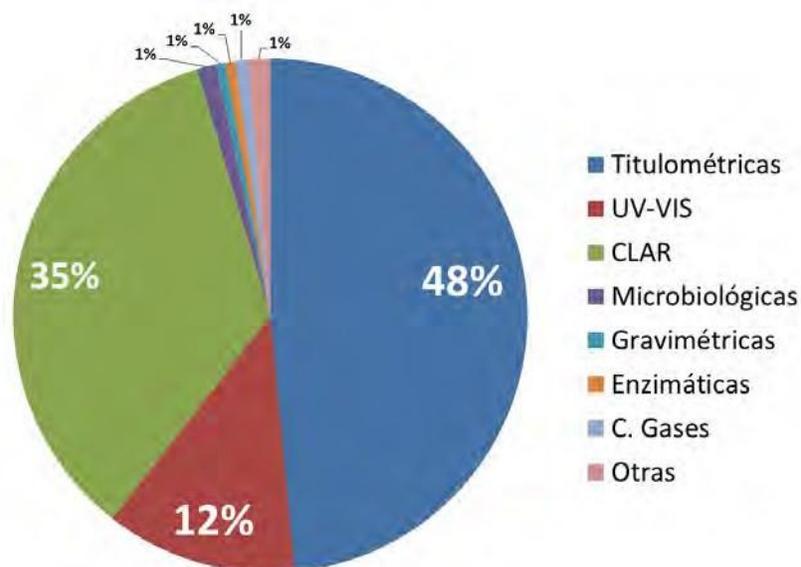


Figura 1. Porcentaje de aplicación las diferentes técnicas analíticas señaladas dentro monografías de fármacos para determinación de pureza, considerando aquellas que tenían más de 2 menciones

Es importante reflexionar que no siempre los métodos instrumentales son los únicos que pueden resolver, de la forma más práctica y precisa, los problemas analíticos dentro de un laboratorio, y que, sin embargo, es probable que se hayan convertido en un factor excluyente para muchas pequeñas y medianas empresas que no cuentan con los medios económico para efectuarlos, como por ejemplo, la cromatografía de líquidos, cuya implementación representa un desembolso económico muy importante para cualquier laboratorio, pero que, dada la influencia de la USP sobre las diferentes farmacopeas, incluida la mexicana, se ha vuelto la metodología por excelencia.

a) Tipo de valoración

Una clasificación elemental del tipo de valoraciones dentro del análisis volumétrico sería la siguiente: ácido-base en medio acuoso, ácido-base en medios no acuosos, deprecipitación, complejométricas y de óxido-reducción [5]. En la Figura 2 sobresale el hecho de que, dentro los tipos de titulación encontrados, más de la mitad corresponden a métodos basados en valoraciones ácido-base en medios no acuoso, seguido de las ácido-base en medio acuoso, cubriendo entre ambas un 76% de los métodos de valoración de las monografías que indican procedimientos analíticos por titulometría, con

lo que queda claro que este tipo de equilibrios son los que tiene más aplicaciones en la evaluación de la pureza de los fármacos utilizados dentro del territorio nacional.

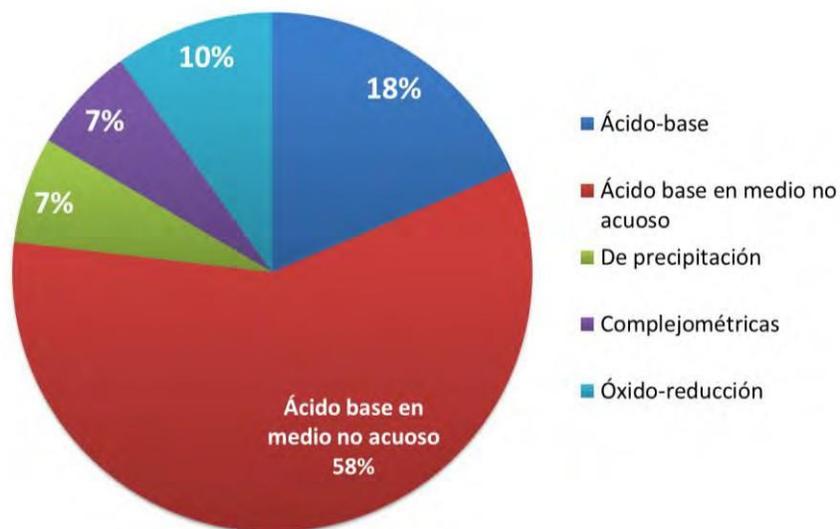


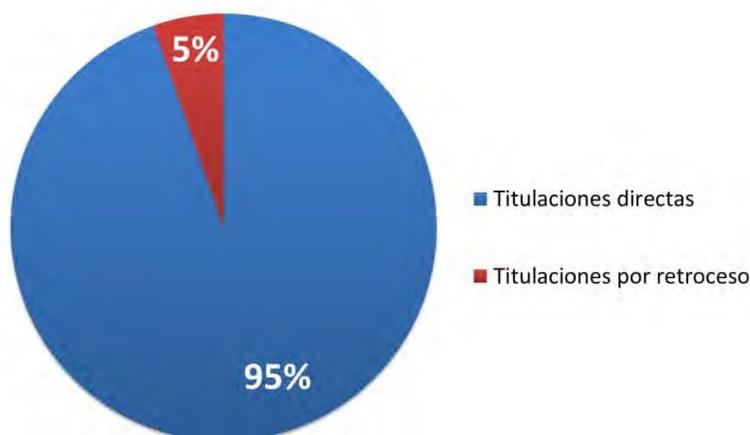
Figura 2. Tipo de titulaciones utilizadas en la evaluación de impurezas de fármacos

b) Técnica de titulación utilizada (directa o retroceso) y detección del punto final

La Figura 3a nos muestra que el predominio de las valoraciones directas sobre las de retroceso, presentándose ambos tipos valoraciones dentro de las titulaciones ácido base en medio acuoso y las complejométricas.

Y dado que un aspecto importante a considerar para que un procedimiento de titulación sea aplicable, evidentemente, debe existir la posibilidad de detectar el punto final mediante la observación de algún cambio físico de la mezcla reaccionante, o de alguna sustancia añadida, que esté asociado a la condición de equivalencia química [2], en la Figura 3b se ilustra que los métodos de detección de los puntos finales de las valoraciones, indicados en las monografías, se dividen básicamente en dos tipos: visual, a través del uso de indicadores, y potenciométrico, ambas detecciones prácticamente en la misma proporción.

a)



b)

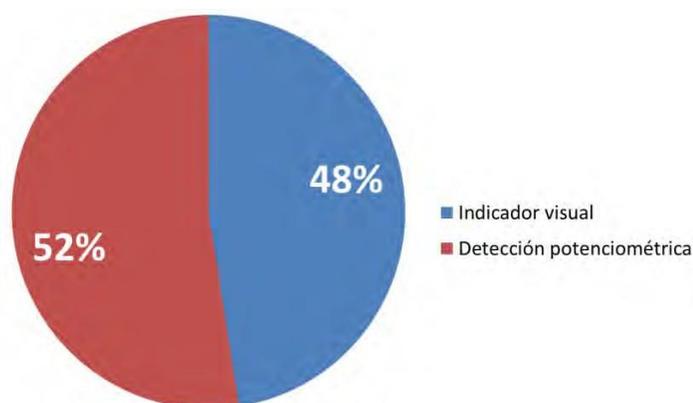


Figura 3. a) porcentaje de técnicas de titulación directa y por retroceso indicadas en las monografías. b) Tipos de detección señalados dentro de los diferentes tipos de titulaciones.

Del análisis realizado se desprende la vigencia de las determinaciones analíticas cuantitativas basadas en las titulaciones volumétricas. Queda claro que su aplicación sigue trascendiendo a muchas áreas, incluyendo la farmacéutica, que es una de las más importantes y reguladas a nivel mundial, ya que sus productos e insumos están directamente relacionados con la salud humana.

En este punto es importante reconocer algunas de las ventajas y desventajas del uso de los métodos de titulación con el fin de explicar su permanencia, Tabla 1.

Se confirma, por tanto, lo esencial que resulta no dejar de abordar la revisión de los fundamentos teóricos y experimentales de las titulaciones volumétricas en los diferentes

programas de estudio de las carreras del área química, con el fin de que los estudiantes sean capaces de desarrollar, planificar, ejecutar, evaluar y validar métodos de análisis volumétrico cuantitativo, aplicando criterios de calidad, para su futuro ejercicio profesional. Haciendo énfasis en no limitarse a abordar los equilibrios en medio acuoso, pues tal como lo demostró la revisión de la FEUM, las aplicaciones en medio no acuoso son las más utilizadas en la evaluación de la pureza de fármacos.

Tabla 1. Ventajas y desventajas de las titulaciones.

Titulaciones volumétricas	
Ventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> • Son un método absoluto que no necesita una sustancia de referencia del analito de interés • No se necesita de mucha inversión para implementarlas • Son susceptibles a automatización • En general son sencillas • Habitualmente son rápidas • Validación simple 	<ul style="list-style-type: none"> • No son específicos • Para una precisión aceptable, la cantidad de muestra empleada no debe ser muy pequeña • La variabilidad de los resultados por la contribución del analista generalmente es la mayor de todo el proceso analítico.

Así mismo, queda de manifiesto que los métodos potenciométricos para la detección del punto final en las titulaciones volumétricas tienen la misma relevancia que los métodos visuales, utilizando un indicador, por lo que es evidente la importancia de la implementación de prácticas que utilicen este medio de monitoreo de las reacciones para que los estudiantes y futuros profesionistas entiendan su fundamento y desarrollen las habilidades y destreza necesarias para su manejo.

CONCLUSIONES

La vigencia de las aplicaciones de métodos de titulación volumétrica para la determinación de purezas de fármacos y medicamentos, el hecho de que para implementarlas se necesite básicamente material de uso común de laboratorio y la facilidad para llevar a cabo su ejecución, los hacen candidatos idóneos para ser empleados en los laboratorios de enseñanza del análisis de medicamentos y validación de métodos analíticos.

Sustancias activas tan comunes e importantes como la cafeína, ácido acetilsalicílico, naproxeno, metronidazol, clorfenamina, etc. son evaluadas a través de titulaciones ácido- base, 3

de ellas en medio no acuoso, por lo que es esencial abordar el estudio y aplicaciones de estos equilibrios en ambos medios para que los alumnos tengan un panorama más amplio de todas las técnicas analíticas básicas que se siguen utilizando y que pueden ayudarles a resolver algunas de las diversas problemáticas a las que se enfrentarán durante su ejercicio profesional.

AGRADECIMIENTOS

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) de la UNAM por el financiamiento otorgado a través del proyecto PE201618 “Enseñanza de la validación de métodos analíticos”

REFERENCIAS

- [1] Secretaría de Salud. Secretaría de Salud. [En línea] 10 de 02 de 2016. [Citado el: 20 de 03 de 2018.] <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/compi/ris.html>.
- [2] D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler & S. R. Crouch. Química Analítica. Cengage Learning. México. (2015).
- [3] Secretaría de Salud. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. I, (2014).
- [4] K. A. Connors. Curso de análisis farmacéutico. Reverté. España. (1981).
- [5] R. Sandoval-Márquez. Equilibrios en disolución en Química Analítica. Universidad Autónoma de México. México. (2011).
- [6] IUPAC. International Union of Pure and applied Chemistry (Recuperado el 15 de marzo de 2018) <https://iupac.org/what-we-do/books/color-books/> (2018).
- [7] Secretaría de Salud. Ley General de Salud. Diario Oficial de la Federación. (1992).
- [8] D. C. Harris. Análisis Químico Cuantitativo. España. Reverté. (2001).
- [9] J. G. Dick. Química Analítica. El Manual Moderno. México. (1979).
- [10] G. H. Aires. Análisis Químico Cuantitativo. Harla. México. (1970).
- [11] G. D. Chistian. Química Analítica. Mc. Graw Hill. México. (2009).

LA INVESTIGACIÓN EXPLORATORIA APLICADA COMO ESTRATEGIA DIDÁCTICA EN EL LABORATORIO

Alejandra Castro Lino*
Lidia Meléndez Balbuena
Ana Bertha Escobedo López
Guadalupe López Olivares
Ana Lilia Padilla Velasco
Cristal Morales Zamorano¹

INTRODUCCIÓN

Investigación exploratoria: este tipo de investigación se centra en analizar e investigar aspectos concretos de la realidad que aún no han sido analizados en profundidad, básicamente se trata de una exploración o primer acercamiento que permite que investigaciones posteriores puedan dirigirse a un análisis de la temática tratada. Por su parte, Hernández, Fernández y Baptista [1] dice que la “Observación Participante, es un enfoque exploratorio que sirve para la formulación de nuevos conceptos, medidas e hipótesis preliminares”. Con este método de investigación, el investigador debe sumergirse en los datos, aprender de ellos todo lo que pueda, desde la mayor cantidad de perspectivas posibles y extraer información muy general en lugar de datos limitados a un ámbito reducido.

La Investigación aplicada se trata de uno de los tipos de investigación más frecuentes en los que la ciencia se centra, es el tipo de investigación que se utiliza con el fin de intentar determinar las causas y consecuencias de un fenómeno concreto, se busca no solo el qué sino el porqué de las cosas. Para ello pueden usarse diferentes métodos, como la del método observacional, correlacional o experimental, se caracteriza porque busca la aplicación o utilización de los conocimientos que se adquieren, la investigación aplicada se encuentra estrechamente vinculada con la investigación básica, que requiere de un marco teórico [2].

¹ Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Av. San Claudio y 18 sur, Col. San Manuel, Puebla, Pue. Tel: 52 (222) 24706155. e-mail: alcastro1228@yahoo.com.mx.

El desarrollo de la ciencia en la etapa moderna se caracteriza por el empleo intensivo de los métodos de la investigación empírica activa: el experimento y la observación, el trabajo de laboratorio puede tener diferentes modalidades e intenciones. Se considera la actividad de aprendizaje a partir de una situación problemática, en la cual los contenidos teóricos y experimentales asociados a ella, están en permanente relación e interdependencia, tal como ocurre en la actividad de investigación científica; en consecuencia, su resolución implica una compleja actividad cognitiva que requiere de diversos campos de conocimientos [3]. El análisis de la naturaleza de estos trabajos demuestra que se trata de prácticas de verificación, ilustración o desarrollo de técnicas de laboratorio, en ellos el alumnado consume buena parte del tiempo haciendo observaciones, medidas, manipulando aparatos y describiendo resultados, es decir realizando tareas de un bajo nivel de indagación. No obstante, la química también se puede aprender con la exploración y la investigación para resolver problemas que las personas se plantean en forma de proyectos; se trata de incluir tareas de investigación, de presentar problemas a los que hay que dar respuesta a través de actividades prácticas que se lleven a cabo por medio de la planificación y el desarrollo de una metodología experimental, sin lugar a dudas, estas actividades incrementan la autonomía del alumno, ya que debe tomar decisiones relacionadas con el diseño, la planificación y la realización del trabajo, en este sentido, se propone implementar actividades experimentales dirigidas a la investigación, en las cuales progresivamente se va incrementando el nivel de investigación, como estrategia para la construcción de conceptos, procedimientos y actitudes. La estrategia consiste en la modificación del sistema clásico de enseñanza/aprendizaje que se lleva a cabo en la asignatura, de modo que se ayuda a desarrollar en el alumnado conocimientos a partir de la resolución de situaciones basadas en problemas abiertos, mediante investigación dirigida.

La investigación dirigida es una actividad experimental que requiere la participación del estudiante y que orienta la búsqueda de una evidencia que permita resolver un problema práctico o contestar un cuestionamiento teórico [4].

Este es un proceso de indagación que usualmente lo realiza el estudiante en forma individual o grupal fuera de la institución educativa es un trabajo que el educador asigna, y para lograr el cumplimiento de los objetivos, proporciona a los estudiantes una guía, para que ellos la manejen y puedan realizar su proyecto científico, en este tipo de investigación, además de los conceptos y los procedimientos, es preciso identificar las variables que se tomarán en

consideración, ya que esto permitirá orientar a los estudiantes en los procesos experimentales, y les facilitará el camino para encontrar respuesta a los problemas planteados. Esta modalidad de investigación puede ser convergente, cuando con el problema planteado tiene solamente una respuesta determinada; o divergente, cuando el problema tiene varias respuestas; en este último caso el estudiante puede reformular el problema y plantear nuevos procedimientos, es decir, cambiar el diseño experimental proporcionado por el educador, para realizar otras actividades que le permitirán buscar nuevas respuestas al problema [5]. El objetivo de este trabajo es que los alumnos logren desarrollar, la capacidad de trabajo en equipo; la capacidad de observación teniendo una actitud abierta a la búsqueda del conocimiento; la capacidad de construir el propio aprendizaje, a través de la investigación teórica, así como, motivar el interés por la búsqueda de información actualizada sobre el área de conocimiento y desarrollar capacidad práctica de interpretación, discusión y síntesis

EXPERIMENTACIÓN

La química bioinorgánica es una asignatura de carácter teórico-experimental, con un enfoque inorgánico, se imparte en la carrera de Químico Farmacobiólogo de la Facultad de Ciencias Químicas de la BUAP. La propuesta se ha diseñado basándose en el modelo didáctico de investigación dirigida, abordando la problemática de determinar experimentalmente a través del análisis químico cualitativo la presencia de bioelementos, principalmente iones metálicos en alimentos, con el propósito de relacionar la teoría con la práctica ya que se necesita conocer de dónde obtenemos ciertos elementos químicos y cuál es la función de estos en el organismo. Dicha propuesta se concreta en una secuencia de actividades que tratan de despertar la curiosidad y el interés de los alumnos, se parte de las ideas previas de los alumnos, que, a modo de hipótesis, son contrastadas y discutidas, se favorece asimismo mediante la búsqueda de información, y retroalimentación alumno – docente, introduciendo nuevas ideas y aplicándolas a diversas situaciones.

A continuación, se describe la secuencia de los pasos:

1.- El profesor les plantea esta actividad como un problema a resolver por parte de los alumnos, con la idea de facilitar el proceso de investigación, una serie de preguntas que servirán como guía, para que los estudiantes puedan realizar indagaciones, que los lleven a descubrir y a

redescubrir. Como, por ejemplo:

¿Qué alimentos contienen qué elementos metálicos necesarios para el buen funcionamiento del organismo? (ejemplo: ¿realmente las espinacas contienen hierro?),

¿En qué proporción se encuentran?, ¿Cómo muestrear?, ¿qué es una muestra? ¿De qué tamaño debe de ser una muestra?, ¿Cómo se preparan las muestras para el análisis químico?, ¿Qué reactivos químicos son utilizados en cada caso (dependiendo del metal presente), ¿Cómo interpretar y reportar los resultados de un análisis?

2.- Los alumnos en pequeños grupos abordan el problema mediante una investigación bibliográfica, con la supervisión del profesor, procurando que en el proceso investigación estén implicados valores y aspectos éticos que permitan la discusión e introducción a aspectos científicos relacionados con la química.

3.- Los alumnos y el maestro planean la forma y secuencia en que van abordar el problema para lograr resolverlo, para lo cual diseñan una serie de actividades como: revisión bibliográfica, elección de las muestra, Análisis de las características de la muestra (vegetal o animal, tamaño), tratamiento adecuado de la muestra para el análisis químico, técnica analítica aplicada (preparación de los reactivos a utilizar, preparación del material y equipo analítico), interpretación de los resultados obtenidos, reporte de los resultados.

4.- Al finalizar el tratamiento de la muestra y al haber realizado el análisis cualitativo con la técnica de la gota y haber identificado que elementos se encuentran, reportando finalmente los resultados obtenidos y discutidos en el grupo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En cada sesión de laboratorio se hacen por lo regular seis equipos de tres alumnos y máximo de cuatro, los alumnos escogen diferentes tipos de muestras a analizar por lo que se debe de tener en cuenta que siempre habrá resultados diferentes, las muestras que los alumnos eligen comúnmente se muestran en la Tabla 1

Tabla 1. Muestras elegidas por los estudiantes

Equipos de 4 alumnos	Muestra	Tipo de muestra
2	Frutas	Vegetal
3	Leguminosas	Vegetal
4	Diferentes tipos de carnes	Animal
5	Verduras	Vegetal
6	Hueso	Animal

Posteriormente de haber elegido la muestra los alumnos deberán de darle el tratamiento adecuado para su posterior análisis.

Los tratamientos dependerán del tipo de muestra que traigan los cuales pueden ser:

La calcinación es una medida eficaz que no contamina tanto, además de que el alumno aprende a diferenciar términos entre carbonización y calcinación que en algunas ocasiones confunden, otro punto importante que comprenden es que la cantidad de muestra a tratar dependerá de la muestra y sus propiedades físicas ya que para la calcinación algunas contienen cantidades grandes de agua por lo que al finalizar la calcinación se deberá de contar con al menos 1 g de muestra.



Figura 1 Muestras calcinadas

La digestión ácida, es el siguiente paso para tratar la muestra ya que tiene como fundamento eliminar la base molecular de carbón, por lo que se le agrega concentrados oxidantes (Nítrico y/o Clorhídrico) dependiendo de la cantidad de muestra y se pone en calentamiento hasta sequedad, pero si la muestra no se calcina se agregara 2 a 1 de ácidos y se pondrá en calentamiento para destruir la muestra orgánica hasta eliminar los vapores que se generan al destruir la muestra, hasta obtener una solución transparente, como se muestra en la figura 2 y al terminar este proceso se llevan a la marca de aforo a cincuenta mililitros con agua des ionizada.



Figura 2. Muestras tratadas en medio ácido

Identificación a la gota: posteriormente los alumnos deberán de hacer su identificación de los elementos con el método analítico cualitativo a la gota, haciendo una investigación previa del método debido a que deberán investigar que reactivos son los más adecuados para el análisis de cada uno de los elementos químicos que se encuentran en la muestra ya obtenida después del tratamiento químico como se muestra en la figura 3.



Figura 3: Identificación de bioelementos en muestras tratadas

Algunos reactivos sugeridos por las investigaciones de los alumnos son los que se encuentran en la tabla 2

Tabla 2 reactivos sugeridos por los alumnos

Elemento(Sugerido)	Reactivo	Color esperado
Fe ⁺²	Tiocianato de potasio	Rojo intenso
Cu ⁺²	Oxalato de potasio	Azul claro
Mg ⁺²	Hidróxido de potasio	Gel
Ca ⁺²	Hidróxido de potasio	Precipitado blanco
K ⁺	Cobaltinitrito de potasio+ amarillo de titanio	Anaranjado
I	Almidón	Café
Mg	Hidróxido de sodio	Blanco gelosa

En la tabla 3 se muestran algunos elementos que los alumnos identifican después de la investigación del tratamiento y análisis que realizan de las muestras que son de su interés.

Tabla 3 elementos encontrados en muestras tratadas por los alumnos

Equipos de 4 alumnos	Muestra	Elementos metálicos identificados
1	Espinacas	Fe ⁺² , Cu ⁺² , Mg ⁺² , Ca ⁺² , K ⁺
2	Jugo de naranja	K ⁺ , Mg ⁺² , Ca ⁺² , Fe ⁺²
3	Frijoles	Fe ⁺² , Ca ⁺² , Mg ⁺² , K ⁺
4	Cascarón de huevo	Ca ⁺² , Fe ⁺² , Mg ⁺²
5	Suero sanguíneo	Ca ⁺² , Fe ⁺² , Mg ⁺²
6	Hueso	Ca ⁺² , Fe ⁺² , Mg ⁺² , Cu ⁺²

Finalmente, los estudiantes reportan sus resultados obtenidos con una v Gowin como se muestran a continuación en la figura 4



Figura 4. Reportes entregados por los alumnos al final de cada práctica con formato VG

CONCLUSIONES

Con esta actividad se logra que los estudiantes se interroguen sobre cómo estamos formados químicamente y qué funciones biológicas tienen cada uno de los bioelementos en nuestro organismo ya que los estudiantes diseñan sus procesos de trabajo activo y los relacionan con los procesos químicos, por medio de actividades que conducen la investigación y las actividades que realizan por medio de una práctica llevándolos a la observación, a la entrevista, a la discusión con docentes y compañeros, a la reflexión, a la observación, a la experimentación y a la acción práctica, teniendo como resultado un aprendizaje significativo.

REFERENCIAS

- [1] Hernández, Fernández y Baptista, Metodología de la Investigación, Mac Graw Hill, México (2003).
- [2] A.L, Marín Villada, Clasificación de la investigación, (2008).
- [3] C. A, Severiche Sierra; R.L Acevedo Barrios, Las prácticas de laboratorio en las ciencias ambientales, Revista Virtual Universidad Católica del Norte, **40** (2013).
- [4] M. J Arellano. I.S Lazo. Evaluación del logro de las competencias básicas en el laboratorio de química general, Educación. Química (1999).

FLEXIBILIZACIÓN CURRICULAR ¿UNA OPCIÓN PARA ENSEÑAR QUÍMICA ANALÍTICA?

Luis Ángel Aguilar Carrasco^{1*}

INTRODUCCIÓN

La enseñanza de las ciencias en México sigue estando atada a una estructura curricular lineal que no favorece el desarrollo de las habilidades de los estudiantes en este campo [1], construir programas y rutas curriculares que se preocupan más por la cantidad de asignaturas, las horas y la secuenciación de los programas sigue jugando en detrimento del aprendizaje de los alumnos, pero aún más grave es que esta forma de construir las rutas curriculares, condicione la conceptualización por encima de las habilidades de los alumno [2]. La flexibilidad de los programas de estudio superior asociado a la química, se presenta hoy como uno de los retos más importantes de este campo del conocimiento debido a que no basta la incorporación de asignaturas optativas para considerar que un programa de estudio es flexible, sino se deben dar condiciones para el libre tránsito tanto dentro de programa de estudios como hacia afuera del mismo, esto debe sumar al perfil de egreso de los estudiantes, debido a que las experiencias que pueden adquirir en esta movilidad impactarán directamente en la aplicación de los conocimientos y el desarrollo de habilidades, la flexibilidad curricular debiera trascender el mero requisito de los organismos acreditadores para convertirse en el eje de desarrollo de los programas académicos.

EXPERIMENTACIÓN

Flexibilidad Curricular

De acuerdo con Londoño [3, 4] la flexibilidad curricular significa transformar medios, pensamientos y contenidos temáticos de los programas de estudio de la licenciatura, quizá en esta parte radica

¹ Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Filosofía y Letras. Doctorado en Investigación e Innovación Educativa. Palafox y Mendoza 430 Col. Centro. Tel: (222) 2 29 55 00 e-mail: qluis82@gmail.com

la complejidad de una propuesta en este sentido, el cambio de contenidos temáticos es sin lugar a duda el punto nodal de una revisión curricular, no obstante para lograr que esta seas exitosa, dependemos mucho de cómo se acople el trabajo docente y el cambio de paradigma de los participantes en un programa de estudios resulta trascendental para el éxito o fracaso de una nueva propuesta de ruta curricular

Amieva [5] describe a la flexibilidad como: La capacidad que posee o contempla un plan de estudios en lo que concierne a posibilidades de diversificación en atención a orientaciones o especializaciones de una carrera, de su adecuación a ámbitos particulares de desarrollo de la práctica profesional, y la incorporación de diferentes intereses y necesidades del estudiantado y del profesorado.

Basándonos en esta definición podemos decir que la flexibilidad curricular permitiría la incorporación de nuevas temáticas, aunado a lo anterior es posible plasmar en programas y planes de estudio el interés de los alumnos por una u otra asignatura, esto puede dar fortaleza a los programas educativos, desde la perspectiva de que se centra el proceso en el estudiante, favoreciendo en todo momento el hecho de que el alumno se estará preparando más allá de lo que dictan los propios programas. Existen una serie de ventajas y desventajas que presenta la implementación de este cambio de estructura en el currículo:

Ventajas

- Mediación del aprendizaje por parte del alumno
- Favorece el aprendizaje autónomo
- Especialización del estudiante en un área desde temprana formación
- Revisión de conceptos básicos afines a todas las asignaturas
- Existen asignaturas que se convierten en herramientas más que en requisitos
- Se potencializa el trabajo en equipo
- Carece de antecedentes
- Implica una redistribución de horas lo que no es bien visto por la planta docente
- Dificultad en la comprensión de temas avanzados

- Los niveles educativos anteriores no operan de la misma manera
- Requiere de la participación de docentes entre academias.
- Elimina los programas de acompañamiento estudiantil

En base a esto ANUIES [6] propone dividir el plan de estudios se divida en 6 grandes áreas

- Formación general básica:
- Formación disciplinar
- Formación interdisciplinar
- Perfiles profesionales graduados.
- Perfiles profesionales alternos
- Vinculación inter e intrainstitucional

La propuesta de ANUIES no es la única que encontraremos respecto a la flexibilización el currículo, Amieva [5] propuso una serie de estructuras para forma un currículum flexible, en todos los casos se definen los diseños curriculares a partir del número de materias que debe contener la ruta curricular que el estudiante en cuestión debe cubrir para obtener el título de licenciatura, para la autora es posible presentar variantes en el diseño curricular en función de si existen o no materias optativas y materias de especialización en ambos casos estamos hablando de contenidos temáticos que impactarán directamente en la formación profesional del estudiante. En base a lo anterior, podemos reconocer 3 clases de diseño curricular:

- Diseño curricular que contiene un determinado número de materias obligatorias y materias optativas
- Diseño curricular con materias obligatorias y diversas especializaciones.
- Diseño curricular con un tronco común de materias obligatorias al que le suceden varias orientaciones o especializaciones cada una de las cuales incorpora materias optativas.

Es en este sentido en el que consideramos que se puede generar un diseño del plan de estudios de la Licenciatura en Química de la Benemérita Universidad autónoma de Puebla, con

una estructura flexible lo que impactaría en todas las áreas, pero en particular consideramos que sería funcional para el área de Química Analítica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Propuesta

De acuerdo con la propuesta que realiza ANUIES [6] se diseñó una propuesta de ruta curricular (Figura 1) que se encuentra distribuida no de forma lineal como se acostumbra a representar a las rutas curriculares. Las asignaturas de química analítica se encuentran en los núcleos de formación disciplinar, conocimientos interdisciplinarios y perfiles profesionales. El primero de los núcleos donde se ubica química analítica es el disciplinar, dado que es una asignatura que hará uso de los temas revisados en el núcleo de conceptos básicos (matemáticas y física principalmente) se tiene contemplado que se impartan los cursos de análisis clásico y los cursos de análisis instrumental solo en este núcleo, los conceptos referentes a equilibrio químico pasarán a ser responsabilidad del núcleo de conceptos básicos en las asignaturas de química general. En formación interdisciplinaria se enseñará la asignatura “quimiometría” herramienta fundamental en el estudio de la química analítica pero que impacta en el trabajo de laboratorio de todas las áreas y que además se nutre de los temas y conocimientos que se revisan en la estadística del nivel básico.

Finalmente, en perfiles graduados se impartirán asignaturas como espectroscopia avanzada (optativa) química analítica integral (optativa), certificación, normatividad y calidad (estas tres asignaturas en el caso de la BUAP están adscritas al departamento de química analítica).

Bajo este esquema un alumno construirá su avance en las materias según sean sus intereses, es decir si el alumno está interesado en desarrollar habilidades y competencias en tona a la química analítica puede construir una trayectoria escolar secuenciando en las materias de analítica, esto quiere decir que un estudiante podría estar culminando las asignaturas de analítica hasta en un lapso de 2 años desde inicio de la carrera, la decisión del alumno en torno a cómo cursa las asignaturas, si combina los análisis, si tomarlas materias de tipo administrativo (certificación, calidad y normatividad) en un solo periodo o si a estas les combina otras asignatura de analítica. Un alumno podría elegir cursar en primer término todo el bloque de analítica y posteriormente el de fisicoquímica, por ejemplo, o cursar aquellas asignaturas que en primer lugar no le son atractivas y dejar en los últimos semestres las materias de analítica buscando que esto

también le impulse a la elección de las prácticas profesionales y de tesis, buscando que estas actividades lo encaminen a su futura inserción laboral.

Pese a que se ha descrito que una de las desventajas de la flexibilidad curricular es la eliminación del acompañamiento, consideramos que es necesario realizar un diseño de tutoría que fortalezca el trabajo entre de los docentes, no se trata de permitir el libertinaje de los alumnos en la selección de las materias, pero sí de que ellos sean capaces de elegir en función de sus intereses, pero también de sus habilidad.

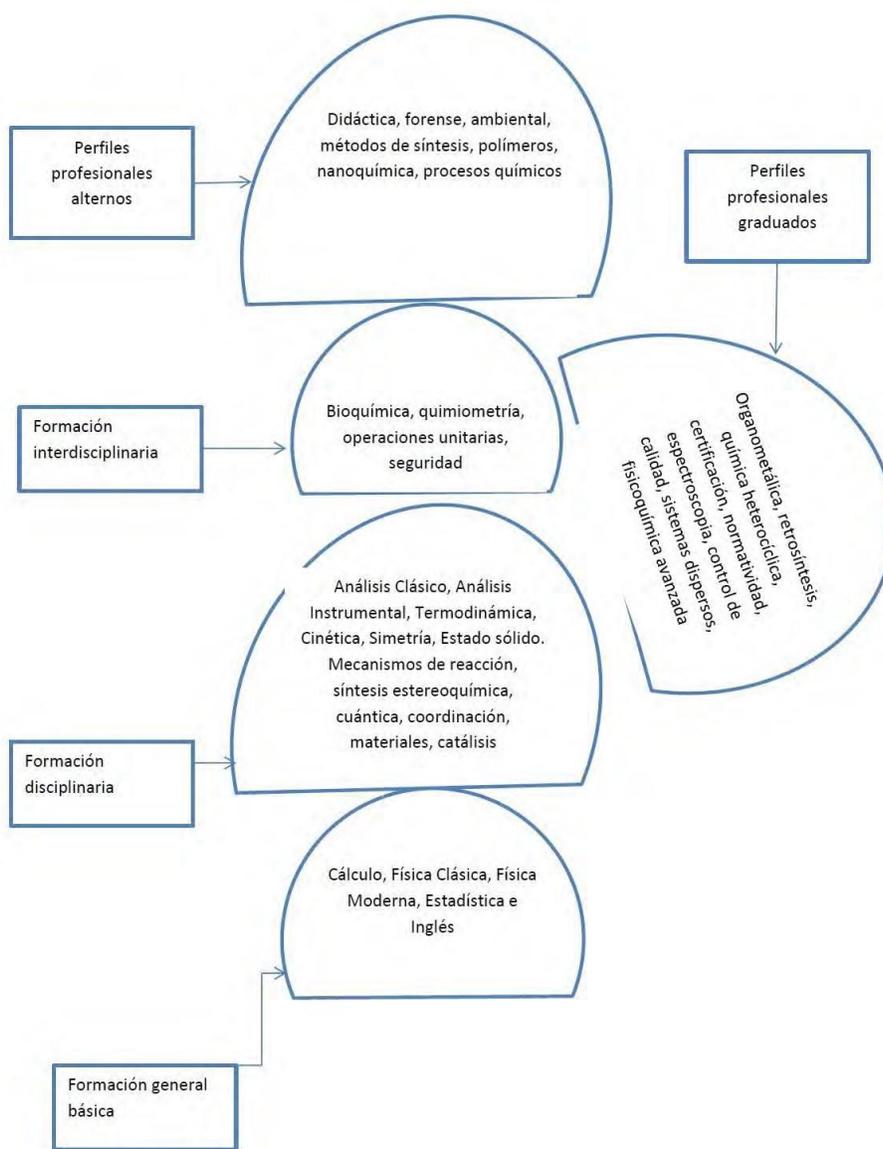


Figura 1. Propuesta de ruta curricular para química analítica.

CONCLUSIONES

Si bien es cierto que la propuesta de flexibilizar la ruta curricular de la Licenciatura en Química, parece por demás arriesgada, debemos considerar que los planes de estudio no pueden continuar estructuras rígidas, o se trata en ningún momento de pretender que cualquier estudiante que ingrese a una licenciatura pueda culminarla en el menor tiempo posible, se trata de comenzar a potenciar las habilidades de los alumnos a partir de la oportunidad de que ellos mismos puedan crear su avance curricular, la labor de los tutores académicos en este sentido cobra una importancia trascendental en el sentido de que la relación tutor-tutorado y la orientación que el primero pueda hacer sobre este, determinará en buena medida el avance del estudiante, compromiso como tal es que un programa flexible no debe dar pie al libertinaje para cursar las asignaturas de manera indistinta, la línea entre ambos parece muy pequeña, pero sin lugar a dudas el trabajo colegiado y la implementación de sistemas reales de tutorías podrían llevar al éxito de esta idea.

La química analítica es la principal herramienta de trabajo en el laboratorio, flexibilizar la ruta curricular podría permitir que el alumno adquiera las herramientas y conocimientos de análisis tanto clásico como instrumental que usará en los laboratorios de otras áreas (orgánica, inorgánica fisicoquímica) a fin de cuentas las volumetrías y las espectroscopias son técnicas que impactan no únicamente en analítica sino en el resto de área de la química

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Marco Velázquez por la orientación en torno a la flexibilidad curricular desde el pensamiento complejo. A la Facultad de Ciencias Químicas por permitirme la información de la ruta curricular de la licenciatura en Química.

REFERENCIAS

- [1] M. Díaz. Flexibilidad y organización de la educación superior, 63–117, en Flexibilidad académica y curricular en las instituciones de educación superior, René Pedroza Flores, Bernardino García Briceño, comps. México: M.A. Porrúa (2005).
- [2] L. Escalona Rios. Flexibilidad curricular: elemento clave para mejorar la educación Investigación Bibliotecológica **22**, [44], 143-160 (2008).

- [3] F. Londoño. Un Modelo Curricular Flexible desde el Enfoque Sistémico para la Formación en Ingeniería en Sistemas Colombia (2013).
- [4] S. Londoño, M Velilla. Manual de Iniciación Pedagógica al Pensamiento Complejo. Corporación para el Desarrollo Complexus. 202-211 Colombia (2015)
- [5] R. Amieva. Flexibilidad Curricular algunas estrategias de implementación. Gabinete de Asesoramiento Pedagógico. Facultad de Ingenierías. Universidad Nacional del Curso del Río. Argentina (1996)
- [6] M. A. Escotet. Universidad para la flexibilidad, pp. 43–117, en Flexibilidad académica y curricular en las instituciones de educación superior, René Pedroza Flores, Bernardino García Briceño, comps, México: M.A. Porrúa (2005).

[Escriba aquí]

Estudios fundamentales

APORTES ANALÍTICOS PARA LA ESTABILIZACIÓN DEL ÁCIDO CARMÍNICO NATURAL CON CATIONES METÁLICOS

Víctor Hugo Calvo Jiménez¹

Edgar Islas Ortiz¹

Octavio Reyes Salas^{1*}

Margarita Reyes Salas²

Eduardo Madrigal Lagunas¹

Gerardo Reyes García¹

INTRODUCCIÓN

Durante siglos el hombre ha utilizado pigmentos y colorantes para poder desarrollar sus medios de expresión y comunicación. Es esta búsqueda la que lo lleva al descubrimiento de los “colorantes naturales”, llamados así porque eran obtenidos a partir de plantas, insectos, moluscos, minerales y cualquier cosa que se encontrara a su alrededor. Durante mucho tiempo estas preciadas sustancias se convirtieron en productos de gran demanda a nivel mundial.

En el coloreado de los alimentos procesados se han utilizado “colorantes sintéticos” pero muchos de ellos han sido prohibidos para su uso alimenticio por su toxicidad y efectos a largo plazo (principalmente carcinogenicidad). Se han identificado problemas con ciertos colorantes azoicos, especialmente con FD&C Rojo No. 3 (eritrosina), FD&C Rojo No. 40 (rojo allura) y FD&C Amarillo No. 5 (tartrazina), por lo que en la actualidad se ha incrementado nuevamente el interés por los colorantes naturales ^[1].

¹ Universidad Nacional Autónoma de México. Depto. de Química Analítica. Laboratorio 114 DEPg. Facultad de Química. Ciudad Universitaria. Ciudad de México. Tel: +52 (55) 56 22 37 87. E-mail: octavio_reyessalas@yahoo.de.

² Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Geología

Entre los colorantes naturales más utilizados desde tiempos remotos como fuentes de pigmentos rojos, se encuentran el ácido carmínico, obtenido de los cuerpos secos de la hembra del insecto conocido como grana cochinilla (*Dactylopius coccus Costa*). Sin embargo, la información y el estudio químico sobre estos colorantes es limitado. Se considera importante la interacción que forma con cationes metálicos ya que estos le dan mayor estabilidad a la molécula con el fin de tener una mayor aplicación como aditivo alimentario y cosmético. Aunque existen procesos para su síntesis orgánica [2], la mejor forma de obtención ha sido, por costo y facilidad, a partir de una matriz natural.

Ácido carmínico (AC)

El ácido antraquinón-7-glucopiranosil-3, 5, 6, 8-tetrahidroxi-1-metil-2- carboxílico ($C_{22}H_{20}O_{13}$, masa molecular: $492.3 \frac{g}{mol}$) (Figura 1) es el componente principal del extracto de la grana cochinilla.

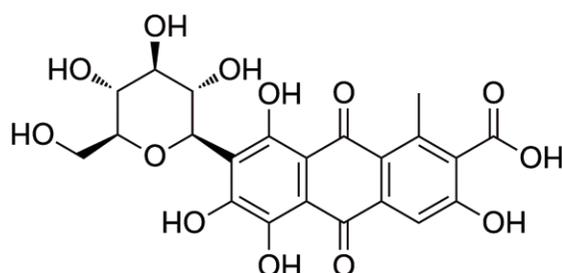


Figura 1. Estructura del ácido carmínico.

El ácido carmínico se ha utilizado por varios siglos en diferentes áreas (textiles, pinturas, alimenticia, etc.); debido a la diversidad de colores que se pueden obtener a partir de él, tanto al variar el pH (naranja: $pH < 4.8$, rojo-naranja: $4.8 < pH < 6.2$; violeta: $pH > 6.2$), como al formar complejos en presencia de cationes (Tabla 1). Estas cualidades se conocen desde la antigüedad y le dan gran estabilidad ante los factores ambientales y procesos en que se implementan. Su estudio, por parte del área química, ha sido relativamente escaso; los pocos estudios químicos se han enfocados más a la detección de trazas de algunos metales [3] [4], que a su cuantificación o síntesis.

Tabla 1. Ejemplo de cationes con ácido carmínico [5].

Catión metálico con ácido carmínico	Color
Aluminio (III) - Plomo (II)	Rojo escarlata
Aluminio (III) Hierro (III)	Carmesí
Bario (II) Cromo (III)	Morado Violeta
Mercurio (II) Cobre (II)	Morado
Magnesio (II) Plomo (II)	Rojo escarlata
Estaño (II) Uranio (IV)	Vino Rosa
Zinc (II)	Rojo-café Rojo escarlata
	Verde esmeralda Rojo carmesí

EXPERIMENTACIÓN

Estudio cualitativo de complejos de ácido carmínico (extracto de *Dactylopius coccus Costa*)

Dentro del estudio cualitativo se utilizaron 4 oligoelementos (Ca^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} y Mg^{2+}) y aluminio (Al^{3+}), representado por M. Al variar la concentración molar de M o de ácido carmínico (AC) se encuentran los resultados presentados en la figura 2.

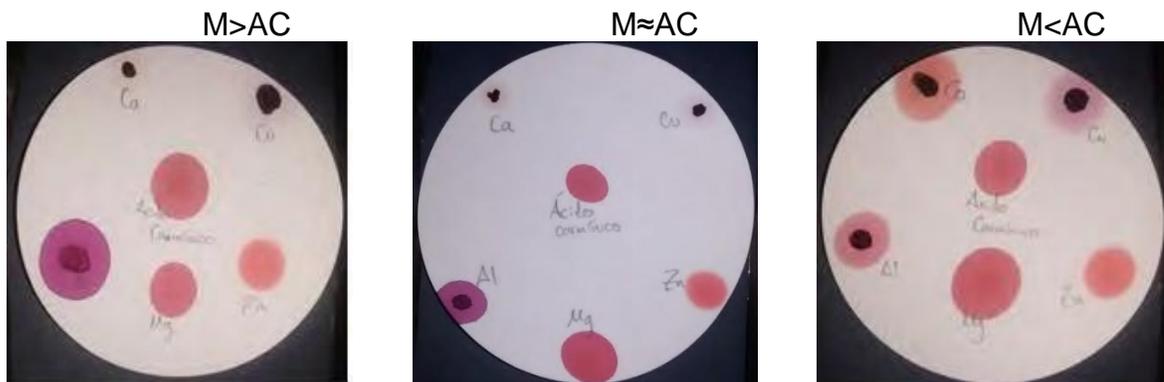


Figura 2. Presentación de complejos donde se observa diferencias de color al variar las relaciones molares de especie metálica y ácido carmínico.

En la figura 2 se observa que al variar las proporciones de M y AC hay cambios de color

(el ácido carmínico estándar se encuentra al centro de los círculos); es decir, el carmínico reacciona formando nuevos compuestos coloridos, algunos forman precipitados como el aluminio, pero es observable que los 3 productos de reacción son diferentes entre sí: esto sucede en todos los casos.

Estudio de estequiometrías y constantes de formación de ácido carmínico y cationes metálicos [aluminio (Al^{3+}), cobre (Cu^{2+}) y calcio (Ca^{2+})]

Para determinar la estequiometría se utiliza la señal de los polarogramas diferenciales de impulsos para diferentes proporciones de catión y ácido carmínico (proveniente de un extracto de grana cochinilla). A partir de los polarogramas (Figura 3) se traza una curva de $I_p=f$ (mol de catión / mol ácido carmínico) donde se determinan las estequiometrías de los complejos.

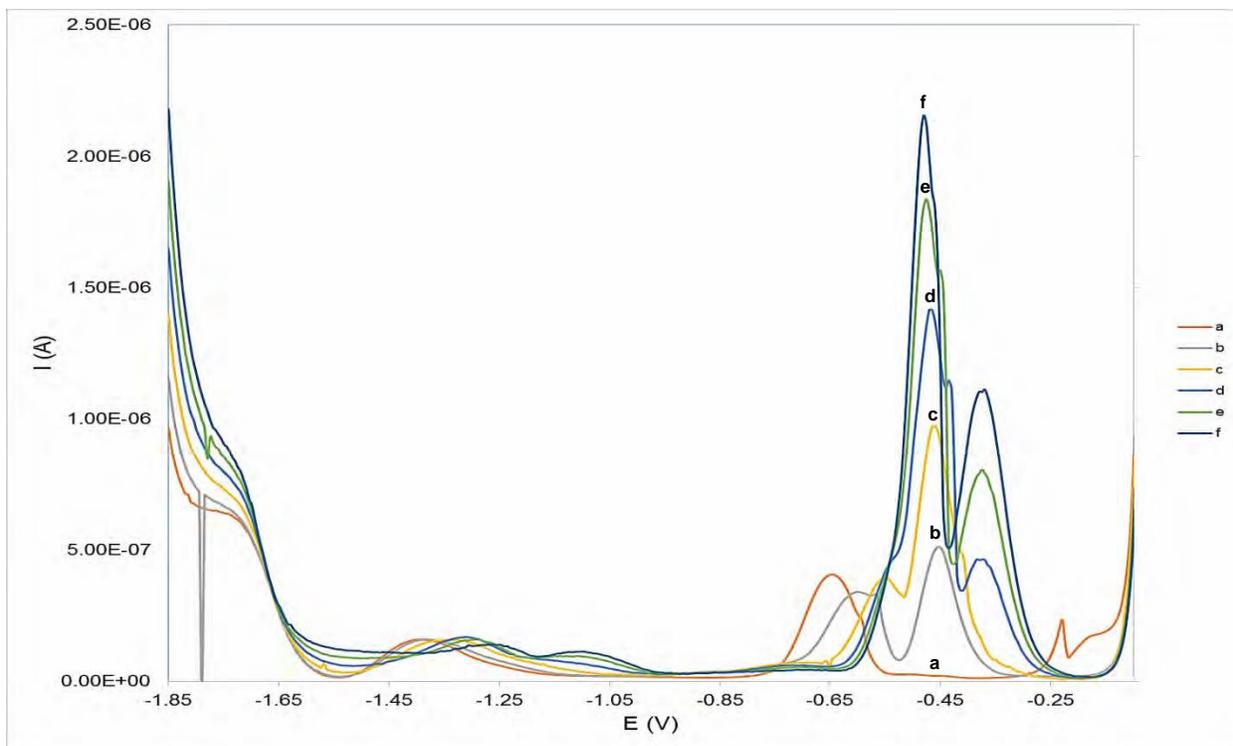


Figura 3. Polarogramas diferenciales de impulsos para el catión Cu^{2+} Condiciones de trabajo: inicio de potencial 0.0 V, fin de potencial -1.7 V, velocidad de barrido (V/s) 0.005, amplitud de impulso (V) 0.050, tiempo de impulso (s) 0.040 y tamaño de gota: 4. Electrolito soporte: 10 ml KSCN 0.3 mol/L. Moles iniciales de carmínico $2.67\text{E}-06$. (Mol de Cu^{2+} / Mol ácido carmínico: a=0, b=0.5, c=1, d=1.5, e=2 y f=2.5)

Como puede observarse en la Figura 3, los polarogramas presentan cierta complejidad, pero la medición amperométrica a potencial determinado permite la representación del método de relaciones molares (figura 4) aplicado al estudio de complejos para el sistema de los polarogramas [$I_p=f$ (mol de catión /mol ácido carmínico)]; este experimento se realizó con diferentes concentraciones de ácido carmínico y del catión de estudio.

Los gráficos obtenidos presentan cambios de pendientes con los cuales se pueden determinar las estequiometrías. A partir de estos resultados se estiman los valores de las constantes de formación (β), en las condiciones de trabajo. Se presenta como ejemplo el caso de cobre (Cu^{2+}), para el que se obtuvieron β_{CuAC} : $10^{6.97}$ y β_{CuAC_2} : $10^{8.89}$.

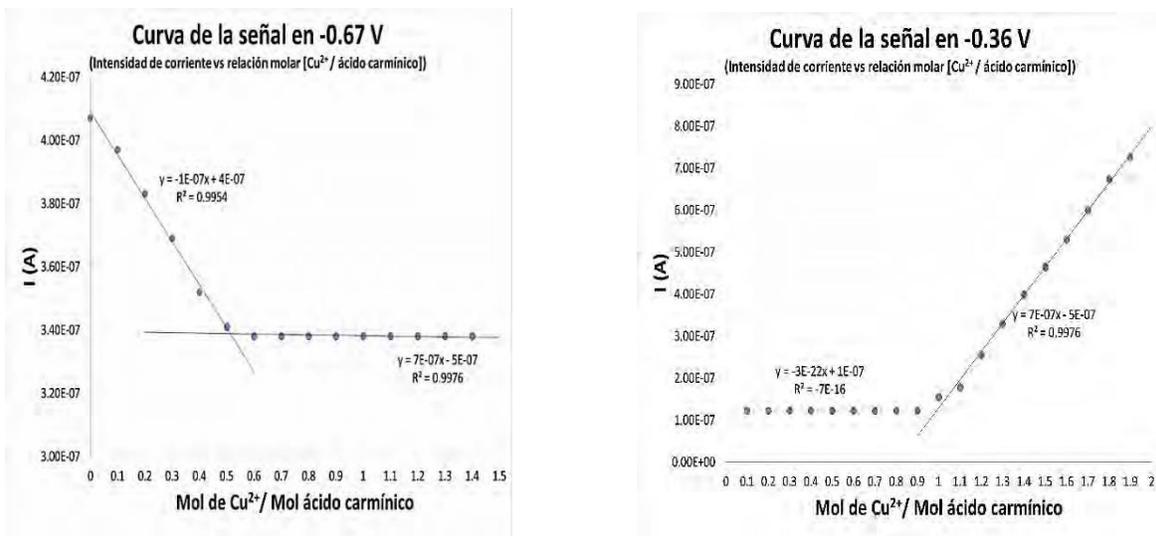


Figura 4. Curvas de intensidad de corriente de pico vs relación molar (Cu^{2+} / ácido carmínico) a diferentes valores de potencial de medida, indicados en las gráficas.

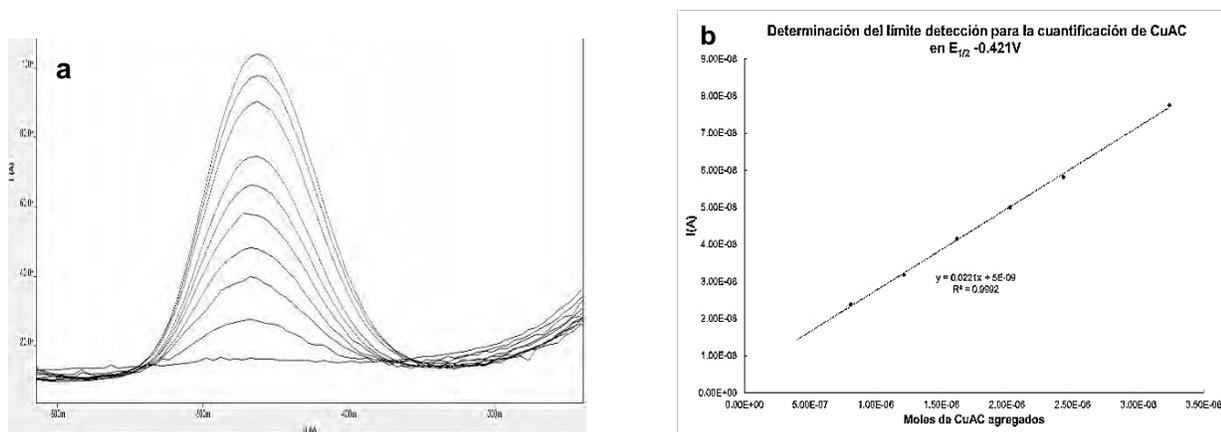


Figura 5. (a) Polarograma diferencial de impulsos (recortado en el área de estudio). Condiciones de trabajo: inicio de potencial -0.1 V, fin de potencial -1.4 V, velocidad de barrido (V/s) 0.005, amplitud de impulso (V) 0.050, tiempo de impulso (s) 0.040 y tamaño de gota: 4. (b) Linealidad del método y determinación del límite de detección para el complejo CuAC.

Estudio polarográfico de complejos

El estudio polarográfico del complejo de M_yAC_x se divide en 2 partes: polarografía clásica y diferencial de impulsos. Al realizar el polarograma clásico (barrido lineal del potencial en régimen de difusión convectiva) se determinan los valores de potencial de media onda ($E_{1/2}$) de reducción. Para determinar el límite de detección del complejo se realizan polarogramas diferenciales de impulsos (figura 5a) y se determina la dependencia de la corriente de pico (I_p) con respecto a la concentración del complejo; al graficar los valores de I_p (A) en función de mol del complejo (figura 5b) (se obtiene una regresión lineal por el método de mínimos cuadrados donde la corriente es directamente proporcional a la concentración).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir del estudio cualitativo se eligieron 3 elementos [aluminio (Al^{3+}), cobre (Cu^{2+}) y calcio (Ca^{2+})] para el estudio cuantitativo de la reacción con ácido carmínico (formación de complejos).

La determinación de estequiometrías y constantes de formación en este trabajo se obtuvieron a partir del análisis cuantitativo de los polarogramas $i_p=f$ (mol de metal/mol ácido carmínico). Se presentan los siguientes resultados (Tabla 2).

Tabla 2. Estequiometrias y constantes de formación experimentales (β).

Metal	β (experimentales)
Cobre	$\beta_{\text{CuAC}}: 10^{6.97}$, $\beta_{\text{CuAC}_2}: 10^{8.89}$
Aluminio	$\beta_{\text{AlAC}}: 10^{5.33}$, $\beta_{\text{AlAC}_2}: 10^{10.99}$
Calcio	$\beta_{\text{CaAC}}: 10^{3.78}$, $\beta_{\text{Ca}_2\text{AC}}: 10^{8.63}$

Partiendo de los resultados de estequiometrías experimentales encontradas se realizó la síntesis de 3 complejos: cobre [ML, (CuAC)], aluminio [ML, (AlAC)] y calcio [M₂L, (Ca₂AC)]. Estos complejos de calcio y aluminio tienen importancia industrial. El complejo de cobre se propone como alternativa de uso al aluminio, ya que su tonalidad es parecida.

Tabla 3. Potenciales de media onda ($E_{1/2}$) y límites de detección (LDD) de los complejos de estudio.

Complejo	$E_{1/2}$	LDD
CuAC	-0.421 V, - 0.649 V	3.6 ppm (-0.421 V)
AlAC	-0.547 V	1.05 ppm
Ca ₂ AC	-0.748 V	1.92 ppm

A través de la polarografía (clásica y diferencial de impulsos), se determinan los valores de potencial de media onda ($E_{1/2}$) y los límites de detección (LDD) correspondientes a los complejos estudiados (Tabla 3) [cobre (CuAC), aluminio (AlAC) y calcio (Ca₂AC)] dentro de un sistema de KSCN 0.3 mol/L (10 mL) que se empleó como electrolito soporte (por ser el que mejores resultados dio de los complejos del ácido carmínico).

CONCLUSIONES

La determinación del ácido carmínico de una matriz natural se basa en sus propiedades (ácido-base, conductividad y oxido-reducción). Para el sistema propuesto (agua-etanol, ≈50:50) se determinaron 3 pKas (3.2, 6.2, 8.92) vía titulación ácido-base, que es un método fácil de reproducir. La otra metodología propuesta fue por polarografía donde se encontró un buen límite de detección (ppm) del ácido carmínico. Comparando con la NOM-119-SSA1-1994 se puede demostrar que los métodos propuestos son más precisos y sensibles que dicha norma.

El proceso de la formación de complejos del ácido carmínico es muy importante, ya que

da mayor estabilidad al compuesto y diversifica la gama de aplicaciones (la mayoría de los complejos son de colores intensos). Dentro de este estudio se determinaron estequiometrías y constantes de formación (β) para algunos cationes [Cobre (β_{CuAC} : $10^{6.97}$, β_{CuAC_2} : $10^{8.89}$) Aluminio (β_{AlAC} : $10^{5.33}$, β_{AlAC_2} : $10^{10.99}$) y Calcio (β_{CaAC} : $10^{3.78}$, $\beta_{\text{Ca}_2\text{AC}}$: $10^{8.63}$)]. Con base en los datos anteriores se realizó la síntesis de 3 complejos (CuAC, AlAC, Ca₂AC) a los cuales se les realizó un estudio electroquímico para determinar potenciales de media onda ($E_{1/2}$) y límites de detección del complejo [CuAC ($E_{1/2}$ = -0.421 V y - 0.649 V, LDD= 3.6 ppm (-0.421 V)), AlAC ($E_{1/2}$ = -0.547 V, LDD= 1.05 ppm) y Ca₂AC ($E_{1/2}$ = -0.748 V, LDD= 1.92 ppm)].

El aporte global de este estudio está dado por la aplicación de una metodología analítica, la cual propone derivados del ácido carmínico que ofrecen mayor estabilidad y nuevas tonalidades que pueden tener aplicación en la industria, ya que se tiene un respaldo analítico para su control de calidad en producción.

AGRADECIMIENTOS

- A la facultad de Química y Posgrado de Ciencias Químicas de la UNAM.
- A CONACYT por el otorgamiento de la beca (CVU/Becario) 364908/254276 para el estudio de Posgrado en Ciencias Químicas.
- A la compañía Metrohm México.

REFERENCIAS

- [1] O. R. Fennema, *Química de los alimentos.*, España, Zaragoza. Acribia (Ed.), 833- 841, 849, 977-979, (1993).
- [2] P. Allevi, et al. *The first total synthesis of carminic acid.* Journal of the Chemical Society, Chemical Communications, **18**, 1319-1320, (1991).
- [3] P.L. López de Alba y M. L López. *Simultaneous determination of uranium (VI) and thorium (IV) with carminic acid by derivate spectrophotometry.* Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. **164** [5], 309-319, (1992).
- [4] G.F. Kirkbright, T.S. West y C. Woodward. *Carminic acid as a reagent for the spectrofluorimetric determination of molybdenum and tungsten-I Development of procedures,* Talanta.**13**, 1637-1644, (1966).
- [5] The Society of Dyers and Colourists. *Colour Index International* (2da Ed.). England, Bradford, **I**, 1753, (1956).

ESTUDIO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE LA CURCUMINA EN PRESENCIA DE β -CICLODEXTRINA EN MEDIO ACUOSO

Jorge Martínez Guerra¹
María Teresa Ramírez Silva^{1*}
Alberto Rojas-Hernández¹
Manuel Palomar Pardavé²
Mario Romero Romo²
Silvia Corona Avendaño²

INTRODUCCIÓN

La curcumina (H_3Cur , $C_{21}H_{20}O_6$), es el compuesto principal que se encuentra en la raíz de la planta *Curcuma Longa L.* Estudios previos han demostrado sus propiedades antioxidantes [1, 3-7], antiinflamatorias [1,2], anticancerígenas [1, 6, 7, 8], y antivirales [9]. La curcumina en medio acuoso presenta un equilibrio ceto-enol (Figura 1), donde la fracción enólica representa el 95 % en disolución acuosa [10, 11].

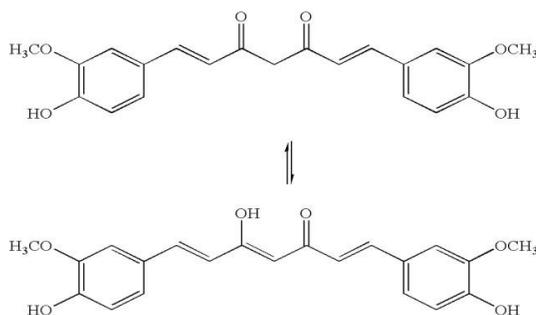


Figura 1. Estructura química de la curcumina la cual presenta un equilibrio ceto-enol.

¹ Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Departamento de Química. Área de Química Analítica. Laboratorio R-105. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, Ciudad de México. C.P. 09340. Tel: +52 (55) 58 04 46 70, Fax: +52 (55) 58 04 4666. e-mail: mtrs218@xanum.uam.mx

² Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco. Área de Materiales. Av. San Pablo Xalpa, Azcapotzalco, Reynosa Tamaulipas, Ciudad de México. C.P. 02200.

Las disoluciones acuosas de curcumina presentan procesos de degradación, lo cual ha generado discrepancia con la información que en la literatura se presenta. Tonnesen [14] pone en evidencia el cambio en la respuesta espectrofotométrica de la curcumina después de su exposición a la luz. Propone que este cambio es a causa de un rearrreglo estructural de la molécula, además, reporta que la degradación de la curcumina depende del valor de pH de la disolución. De esta manera determina que la estabilidad de la curcumina es mayor a valores de pH ácido con respecto a valores de pH básico en medio acuoso. Así mismo reporta a la vainillina, al ácido ferúlico y al feruloilmetano como sus principales productos de degradación. Wang [15] pone en evidencia la degradación de curcumina en diferentes sistemas amortiguadores (citrato, fosfatos y carbonatos) de concentración 0.1 M y determina una cinética de primer orden a 37°C. Actualmente, Gordon [16] en 2015 propone un proceso de autooxidación como mecanismo de degradación para formar la bicicloptadiona. Bernabé [12], a diferencia de Tonnesen y Wang, comenta que la estabilidad de las disoluciones acuosas de curcumina es incrementada conforme el valor de pH es más básico. Bernabé reporta tres constantes de acidez: $pK_{a1} = 8.38 \pm 0.01$ correspondiente al equilibrio $H_3Cur = H_2Cur^- + H^+$; $pK_{a2} = \pm 0.01$ correspondiente al equilibrio $H_2Cur^- = HCur^{2-} + H^+$ y $pK_{a3} = 10.51 \pm 0.01$ que pertenece al equilibrio $HCur^{2-} = Cur^{3-} + H^+$. De esta manera, para facilitar su estudio es conveniente trabajar a valores de pH menores al pK_{a1} con el objetivo de garantizar el predominio de una sola especie de curcumina en un porcentaje mayor al 99%.

Actualmente, la formación de compuestos supramoleculares con ciclodextrinas representa una alternativa para mejorar la estabilidad y solubilidad de algún compuesto de interés [18, 19, 20, 21]. En particular, la β -ciclodextrina, βCD , está formada por siete unidades de α -D-glucopiranosido (glucosa cíclica) las cuales están unidas sí creando la forma de un cono (Figura 2) cuya cavidad es ocupada por el compuesto de interés mediante una relación huésped-anfitrión.

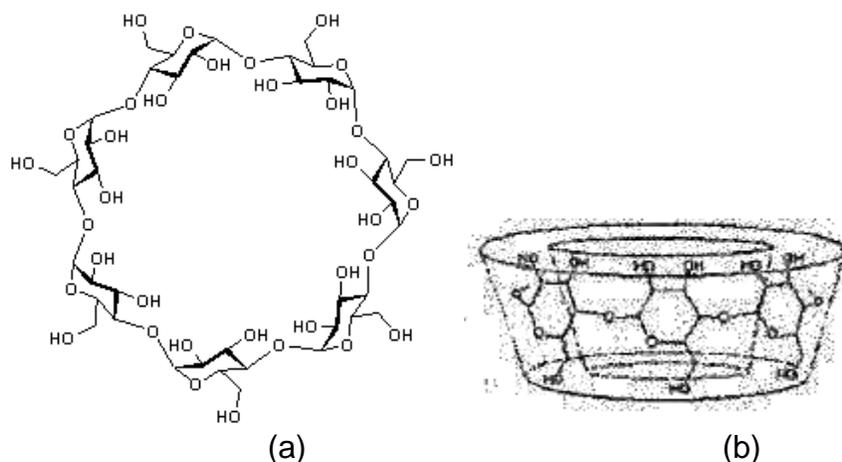


Figura 2. a) Estructura química de la β CD y b) su representación en forma de cono.

De esta manera, el objetivo de este trabajo es: 1) demostrar que la formación de un compuesto supramolecular entre la curcumina y β CD permite aumentar su estabilidad en medio acuoso y 2) determinar el valor de la o las constantes de inclusión involucradas el complejo curcumina- β CD por espectrofotometría de UV Vis.

EXPERIMENTACIÓN

Reactivos. Curcumina ($\geq 98\%$) marca Merck, lentejas de hidróxido de sodio, NaOH, marca Macron, ácido perclórico, HClO_4 , concentrado marca J. T. Baker, β -ciclodextrina ($\geq 97\%$) marca Sigma Aldrich y agua desionizada tipo I ($18.2\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$) libre de materia orgánica obtenida con un desionizador MilliQ de Millipore.

Metodología. La disolución de trabajo de curcumina se burbujea durante 5 minutos con gas nitrógeno, $\text{N}_{2(g)}$ (Praxair 99.998 %) manteniendo posteriormente, atmósfera inerte usando el mismo gas de $\text{N}_{2(g)}$ y una temperatura constante de $(25.0 \pm 0.1)^\circ\text{C}$ con la ayuda de un recirculador Grant W14 durante todo el tiempo que dura el experimento.

Para ajustar el pH se utiliza un potenciómetro pH sensION PH 31 equipado con un electrodo combinado para mediciones de pH con electrodo $\text{Ag}^+|\text{AgCl}$ [KCl , 3 M] como referencia.

Estudio espectrofotométrico

Preparación de disoluciones. Se prepara una solución stock de curcumina 2 mM en NaOH 5 mM.

Determinación de las constantes de inclusión del complejo curcumina— β -Ciclodextrina. Se utiliza el programa computacional SQUAD para el refinamiento del cálculo de las constantes de inclusión mediante el análisis de los espectros de absorción de UV Vis de curcumina en función de la concentración de β -ciclodextrina.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 3 se muestran los espectros de absorción bajo condiciones controladas de luz y temperatura a pH 3.303 ± 0.001 a diferentes concentraciones de β CD.

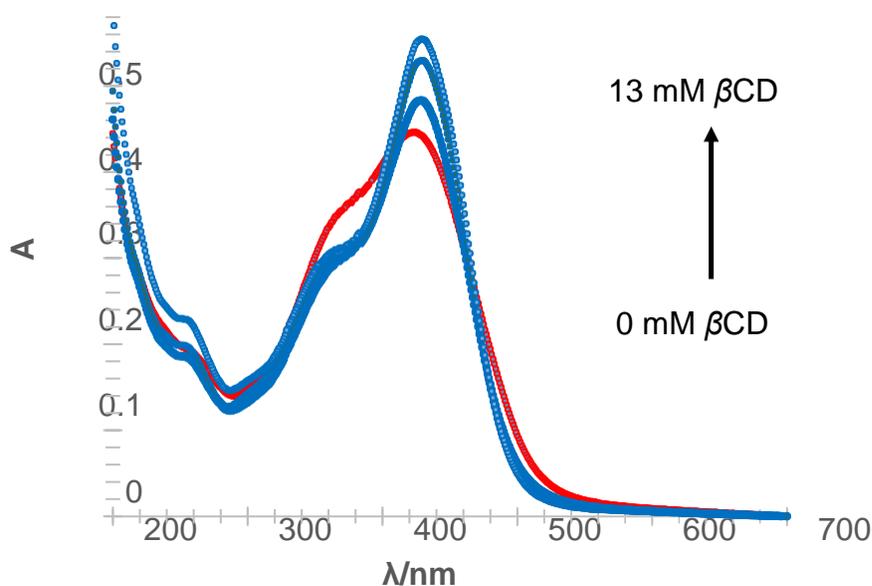


Figura 3. Espectros de absorción de curcumina R. A. ($\geq 98\%$) [$32.6 \mu\text{M}$] a pH 3.303 ± 0.001 (línea roja) a diferentes concentraciones de β CD (líneas azules) bajo condiciones controladas de luz y temperatura.

En la Figura 3 se muestra el comportamiento espectral de la curcumina en función de la concentración de β CD. Existe un máximo de absorción a 414 nm el cual es desplazado a 431 nm en presencia de β CD. La banda a 364 nm disminuye en presencia de β CD evidenciando una posible interacción entre curcumina- β CD. A partir de un valor de $\rho\beta$ CD igual a 3 existe un crecimiento de la señal a 431 nm hasta llegar a un valor que constante el cual se mantiene así por

30 min evidenciando su estabilidad. Entonces, se utiliza el programa computacional SQUAD para calcular el valor de log K encontrando que el modelo que mejor ajusta es de una relación 2 a 1. En la Tabla 1 se muestra el valor de las constantes de formación para el modelo de equilibrios propuestos con el menor valor de desviación estándar realizado por el programa computacional SQUAD.

Tabla 1. Valores de constantes de formación refinados por el programa computacional SQUAD para el sistema curcumina- β CD usando 17 espectros de 4 nm en 4nm cada uno a pH 3.303 \pm 0.001.

$H_3Cur + \beta CD = H_3Cur \beta CD$		Log K_1 3.972 \pm 0.066
$H_3Cur \beta CD + \beta CD = H_3Cur(\beta CD)_2$		Log K_2 2.061 \pm 0.053
σ		1.434 $\times 10^{-2}$
U/n		1.086 $\times 10^{-4}$

Se realiza el ajuste de los espectros de absorción a diferentes valores de concentración de β CD encontrando un buen ajuste entre los datos calculados por SQUAD y los datos obtenidos experimentalmente (Figura 4).

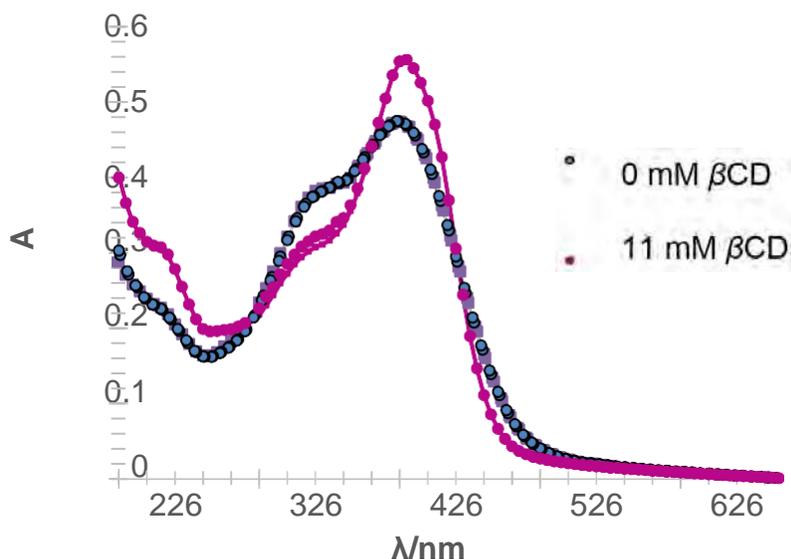


Figura 4. Ajuste de dos espectros de absorción representativos de la curcumina R. A. (\geq 98 %) en presencia de β CD a pH 3.303 \pm 0.001. Los marcadores son los datos experimentales mientras que las líneas continuas son los espectros calculados a partir de los coeficientes de extinción molar proporcionados por SQUAD.

En la Figura 5 se muestra la reacción representada de manera esquemática entre la especie neutra de curcumina (H_3Cur) y β CD de acuerdo a los resultados obtenidos por Uv Vis.

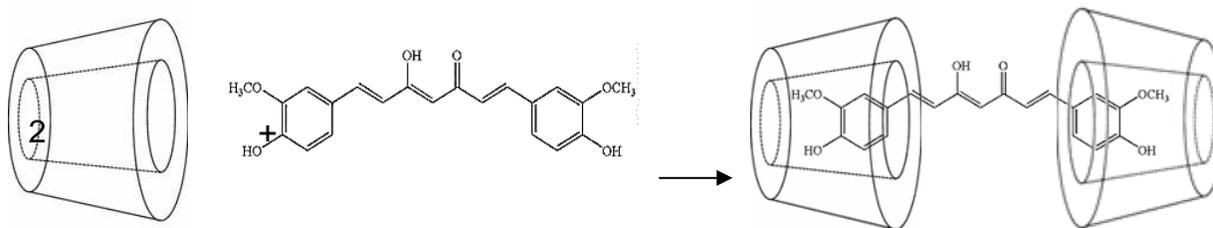


Figura 5. Representación esquemática de la interacción entre la curcumina y la β CD.

CONCLUSIONES

Las constantes de formación del complejo curcumina- β CD se calcularon por espectrofotometría de UV Vis. El buen ajuste de los espectros de absorción con los experimentales confirma la confiabilidad de los datos. De esta manera, queda demostrada la interacción entre la curcumina y β CD a pH 3.303 ± 0.001 en una relación de 2 β CD por cada curcumina lo cual permite incrementar la estabilidad de la curcumina a valores de pH ácido en solución acuosa. Esta nueva información da las bases para la mejora en el diseño y optimización de medios de reacción con fines analíticos, industriales o de investigación aplicada.

AGRADECIMIENTOS

JMG agradece la beca de doctorado con número 306024. ARH y MTRS agradecen el financiamiento por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) a través de los proyectos de ciencia básica 237327 y 237997 y de la cátedra con número 2159.

REFERENCIAS

- [1] H. Ammon, M. A. Wahl. Farmacología de la cúrcuma longa. **57**, [1] 1-7 (1991).
- [2] R. J. Anto, G. Kuttan, K. V. Babu, K. N. Rajasekharan, R. Kuttan. Actividad antiinflamatoria de curcuminoides naturales y sintéticos. **4**, 103-106 (1998).
- [3] A. Barik, B. Mishra, L. Shen, H. Mohan, R.M. Kadam, S. Dutta, H.Y. Zhang, K.I. Priyadarsini, Complejos de cobre-curcumina como superóxido dismutada mímica e inhibidores de radicales libres. **42**, 431-439 (2007).
- [4] N. Jha, S. Mishra, S. Jha, A. Surolia. Actividad antioxidante y elucidación electroquímica

del enigmático comportamiento redox de la curcumina y sus análogos modificados estructuralmente. **151**, 574-583 (2015).

[5] M. Rao. Curcuminoides como potentes inhibidores de la peroxidación lipídica. **46**, 1013-1016 (1994).

[6] M. Rao. Curcumina como inhibidor de la peroxidación lipídica dependiente del hierro **100**, 93-97 (1993).

[7] M. Unnikrishnan, M. Rao. Inhibición de nitratos inducidos por la oxidación de la hemoglobina debida a curcuminoides. **50**, 490-492 (1995).

[8] R. Anto, G. Kuttan, K. Babu, K. Rajasekharan, R. Kuttan. Actividad antimutagénica y anticancerígena de curcuminoides naturales y sintéticos. **370**, [2] 127-131 (1996).

[9] H. H. Tonnesen, H. De Vries, J. Karlsen, G. B. van Henegouwen. Estudio de la curcumina y curuminoides: Investigación de la actividad fotobiológica de la curcumina usando sistemas bacterianos como indicador. **76**, [5] 371-373 (1987).

[10] A. Galano, R. Álvarez-Diduk, M. T. Ramírez-Silva, G. Alarcón-Ángeles, A. Rojas Hernández. Rol de los radicales libres en el mecanismo antioxidante de la curcumina. **363**, 13-23 (2009).

[11] F. Payton, P. Sandusky, W. Alworth. Estudio de la estructura de la curcumina en solución acuosa por RMN. **70**, [2] 143-146 (2007).

[12] M. Bernabé-Pineda, M. T. Ramírez-Silva, M. Romero-Romo, E. González-Vergara y A. Rojas-Hernández. Determinación de las constantes de acidez de la curcumina en solución acuosa y su constante de velocidad aparente de degradación. **60**, [5] 1091-1097 (2004).

[13] M. T. Ramírez, M. E. Palomar, I. González, A. Rojas-Hernández. Electrodo de pasta de carbono con influencia de un aglutinante electrolítico en la preparación del método. **7**, [2] 184-188 (1995).

[14] H. H. Tonnesen, J. Karlsen, G. B. Van Henegouwen. Estudio de la curcumina y otros curcuminoides: Estabilidad fotoquímica de la curcumina. **183**, 116-122 (1986).

[15] Y. Wang, M. Pan, A. Cheng, L. Lin, Y. Ho, C. Hsieh, J. Lin. Estabilidad de la curcumina y caracterización de sus productos de degradación en soluciones amortiguadoras. **15**, 1867-1876 (1997).

[16] O. N. Gordon. Desentrañando la degradación por autooxidación de la curcumina. **290**, 4817-4828 (2015).

[17] Presentación oral EsF02. Libro de resúmenes del XXX CNQA y XX Simposio estudiantil.

[18] S. Corona-Avenidaño, A. Rojas-Hernández, M. A. Romero-Romo, M. Palomar-Pardavé, M. T. Ramírez-Silva. Estudio de la estabilidad de la noradrenalina y determinación de sus constantes de acidez. **61**, 3139-3144 (2005).

[19] R. A. Diduk, M. T. Ramírez-Silva, A. Galano, A. Merkoçi. Mecanismo de desprotonación y constantes de acidez de flavonoides en medio acuoso: Combinación de un estudio teórico y experimental. **117**, 12347-12359 (2013).

[20] B. Verastegui-Omaña, M. Palomar-Pardavé, A. Rojas-Hernández, S. Corona-Avenidaño, M. Romero-Romo, M. T. Ramírez-Silva. Cuantificación espectrofotométrica de las constantes termodinámicas de los complejos formados con dopamina y Cu(II) en medio acuoso. **143**, 187-191 (2015).

[21] M. Palomar-Pardavé, S. Corona-Avenidaño, M. Romero-Romo, G. Alarcón-Ángeles, A. Merkoçi, M. T. Ramírez-Silva, A. Rojas-Hernández. Complejo anfitrión-huésped formado entre ácido ascórbico y β -ciclodextrina inmovilizada en la superficie de un electrodo. **19**, 5952-5964 (2014).

DETERMINACIÓN DE LA RELACIÓN MOLAR DEL COMPLEJO O-ETILDITIOCARBONATO DE POTASIO CON Cu(II)

Karla Sanpedro Montoya¹
María Elena Páez Hernández^{1*}
Juan Francisco Flores Aguilar¹
Alberto Rojas-Hernández^{2*}

INTRODUCCIÓN

Los xantatos son sales producto del ácido xántico y se forman por la reacción del bisulfuro de carbono, un álcali y un alcohol. Es el alcohol usado es el que determina las propiedades colectoras del xantato: los de cadenas largas como el butílico y el amílico, son generalmente más poderosos que el etílico, pero este último es más selectivo. Son ampliamente utilizados como colectores en beneficio de flotación del metal base (como cobre, níquel, zinc, hierro y mercurio) [1], debido a su gran afinidad química con el grupo

$-\text{CS}^- \text{K}^+$ ya que precipitan en forma de sulfuros. De acuerdo con esto, la adherencia de los xantatos en la superficie mineral, se considera un proceso de formación de complejos entre átomos donadores del xantato y el metal de la red cristalina [2].

La relación molar de la formación de complejos entre xantato y cobre ha sido estudiada en el presente trabajo debido a que el cobre se encuentra en soluciones residuales de diferentes procesos industriales y en los afluentes de las aguas de drenaje de minas y su acumulación en el organismo contribuye un serio riesgo para la salud [3].

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Área de Química. Carretera Pachuca- Tulancingo, Km 4.5, Estado de Hidalgo. C.P. 42076. Tel: +52 (771) 717 2000, ext. 2217, e-mail: sanpedrokarla@gmail.com.

² Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Departamento de Química, San Rafael Atlixco. Col. Vicentina. Iztapalapa, C.P. 09340. México. Tel: +52(55) 5804 4670. e-mail: suemi918@xanum.uam.mx.

Es importante saber la relación molar adecuada en la cual se forma el complejo, para que la extracción de cobre sea óptima. Los pH estudiados hacen referencia a que el etilxantato extrae mejor los metales a pH mayores a 6 [4].

EXPERIMENTACIÓN

Se determinó la relación (metal:xantato) del complejo formado; por medio del método de relaciones molares a temperatura ambiente. Empleando reactivos de grado analítico, como son: agua desionizada, sulfuro de cobre pentahidratado $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, hidróxido de sodio (NaOH), ácido clorhídrico (HCl). También se utilizó O-etilditiocarbonato de potasio (xantato de potasio), sintetizado en la UAEH

Todas las soluciones se prepararon con agua desionizada con una resistividad mínima de 18 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ y libre de CO_2 . Para liberar el agua de iones se utilizó un desionizador marca MILLIPORE modelo Milli-Q Gradient.

Los valores de pH se midieron con un potenciómetro sensIONTM+ pH31 HACH (± 0.0001 de resolución) equipado con un electrodo de pH combinado HACH Ag/AgCl, modelo 50 14 T. La absorbancia de la solución se corrigió por efectos de dilución con la ecuación (1)

(1)

$$A_{corr}^{\lambda} = A_{exp}^{\lambda} \frac{V_i + V_a}{V_i}$$

Donde.

- A_{corr}^{λ} : Representa el valor de la absorbancia corregida a la longitud de onda de estudio. A_{exp}^{λ} : Representa el valor de la absorbancia obtenida experimentalmente a la longitud de onda de estudio
 V_i : Es el volumen inicial hasta antes de la primera adición de ligante (en su caso se considera el volumen de aforo y el volumen utilizado de NaOH o HCl para ajustar el pH
 V_a : Volumen acumulado en cada adición de ligante [5].

Para obtener los espectros de absorción se utilizó el equipo espectrofotómetro Perkin-Elmer Lambda 900, utilizando celdas de cuarzo con 1 cm de longitud de paso óptico.

Se utilizó el método de relaciones molares, en el cual consiste en preparar una serie de disoluciones manteniendo constante la concentración de uno de los reactivos, en este caso el Cu^{2+} y adicionando una cantidad de la solución de xantato, dependiendo de la relación molar (moles de xantato/ moles de Cu^{2+}) y con ello se obtiene el espectro de absorción UV-Visible

Para ello se realizaron adiciones de xantato a una alícuota inicial de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ a diferentes pH. La solución inicial de trabajo se preparó colocando 0.125 mL de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ de concentración inicial 0.01 mol L^{-1} , se ajusta el pH con NaOH o con HCl según sea el caso y se afora a 25 mL. La concentración final de cobre posterior al aforo es de $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1, se presenta la familia de espectros de absorción UV-Visible (absorbancia en función de la longitud de onda) a distintos valores de pH y se puede observar que, a medida que aumenta la relación molar de xantato a Cu (II), se presenta una banda bien definida en 413 nm, derivado de la formación del complejo $\text{Cu}(\text{C}_2\text{H}_5\text{OCS}_2)_2$ [6], también se presenta un desplazamiento hipercrómico 300 nm, en valores de relación molar alta característica del ion etilxantato, esto explica un exceso de etilxantato de potasio en el contenido de sulfato de cobre. En figuras 1b) y 1c) se presentan en una longitud de onda de 225 nm, una señal bien definida a medida que aumenta la relación molar, atribuida al disulfuro de carbono, mientras que en 1a) se presenta solamente cuando la relación molar es muy alta.

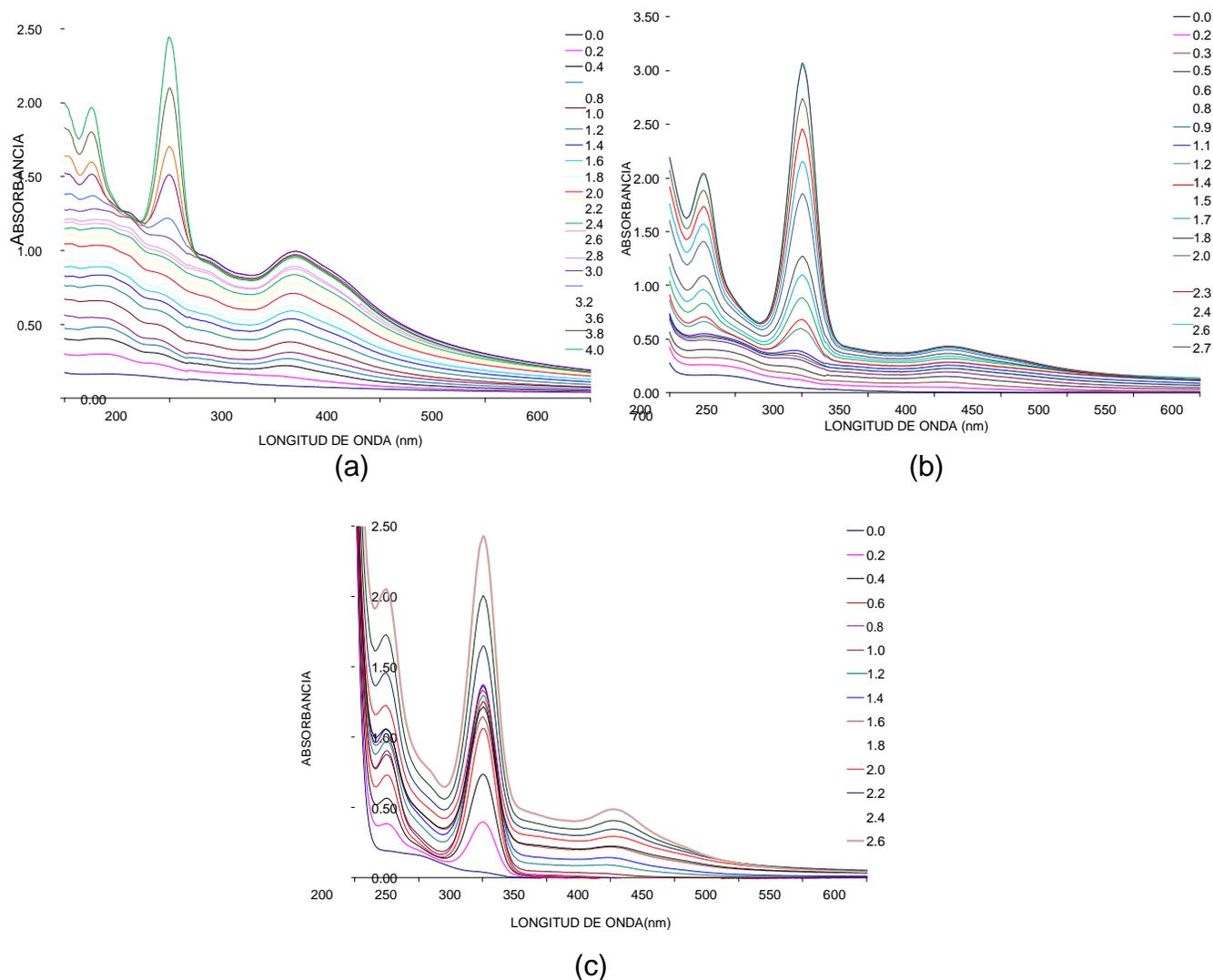
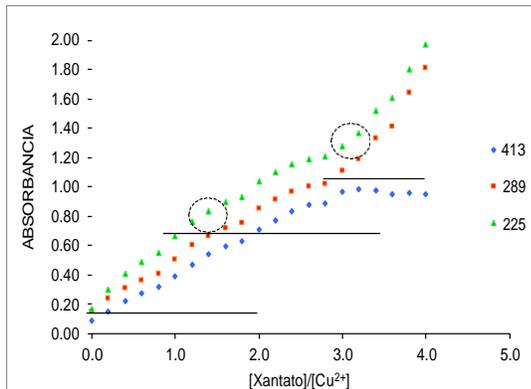


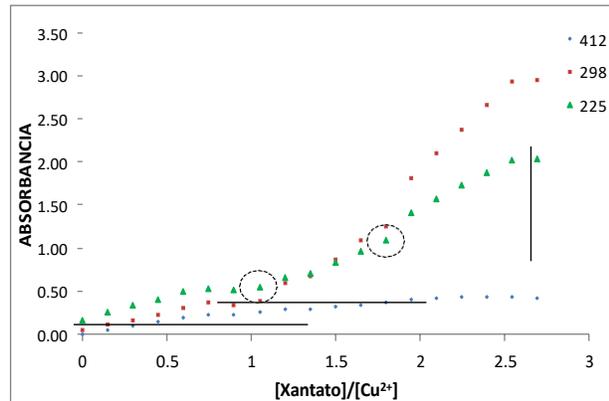
Figura 1. Familia de espectros de absorción, en la región del UV y del visible del espectro electromagnético, de las adiciones de xantato a Cu (II) constante; variación de la relación molar a pH fijo. a) pH=6.65, b) pH= 10.23, c) pH=11.47

En la Figuras 1a) se observa que la línea base aumenta a medida que se incrementa la relación molar, esto por la presencia de un precipitado de color amarillo.

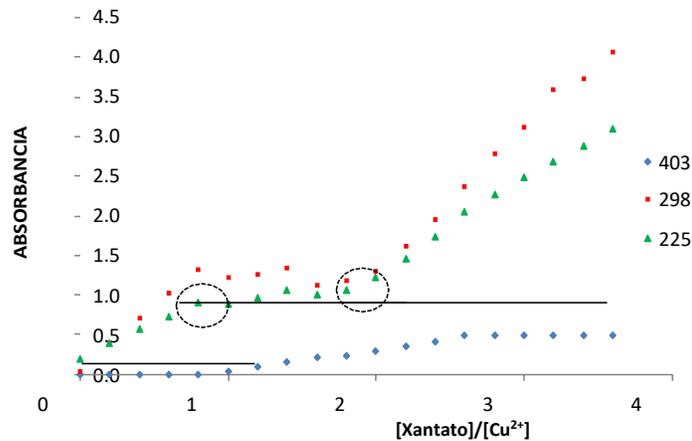
A continuación, en la Figura 2a) se muestran los comportamientos de la absorbancia a diferentes longitudes de onda, partiendo de la familia de espectros de la Figura 1a), teniendo en cuenta que se forma un complejo cuando hay un cambio de pendiente y en donde se cruzan las líneas de cada pendiente es el valor de la relación molar para cada complejo presentado dos cambios de pendiente, lo que indica que favorece a las relaciones molares 1:1 y 1:3.



(a)



(b)



(c)

Figura 2. Gráficas de absorbancia en función de la relación molar para adiciones xantato a una concentración fija de Cu (II) a diferentes 3 diferentes longitudes de onda longitudes de onda 413 nm, 289 nm, 225 nm, a un valor de pH fijo a) pH=6.65, b) pH= 10.23, c) pH=11.47

A partir de la familia de espectros de la Figura 1b) cuyo valor de pH es de 10.23 se realizó la Figura 2b), en la cual se presenta la gráfica de relaciones molares a diferentes longitudes de onda, en la cual se presenta cambios de pendiente lo que significa que se presenta la formación de un complejo.

Observando que se presentan dos cambios de pendiente, y en donde se cruzan las líneas es atribuida a la formación de complejos, en este caso se favorecen las relaciones molares 1:1 y 1:2.

Para obtener la Figura 2c), se utilizaron los datos de la familia de espectros de la Figura 1c), a un pH= 11.47. En esta se presenta las gráficas de relaciones molares a diferentes longitudes de onda

Se observan dos cambios de pendiente y el cruce de las rectas representa las relaciones molares que se van a formar en este caso son 1:1, 1:2 y 1:3. En base a la Figura 2 y de acuerdo al método de relaciones molares proponemos tres posibles relaciones molares para la formación Cu-xantato. Los cruces de las rectas nos dan las dos posibles estequiometrias de cada especie formada. Cu^{2+} -xantato, derivado de la relación molar 1:1 y Cu^{2+} -2xantato, derivado de la relación molar 1:2. Es importante tener en cuenta la relación molar 1:3 (Cu^{2+} -3xantato) presente en el sistema a pH=5.65, sin olvidar que se forma precipitado, el Cu (II) se descompone a Cu (I) [6].

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se determinaron las relaciones molares óptimas para la formación de complejos entre Cu^{2+} -Xantato, teniendo como resultado 1:1,1:2 y 1:3. De la misma manera se observó que a pH aproximadamente de 6.6 se forma un precipitado sólido. Estos resultados deben tomarse en cuenta para una extracción del metal para aumentar la eficiencia.

AGRADECIMIENTOS

A CONACYT por la beca otorgada en la estancia de posdoctorados nacionales y a la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa por su inmensa colaboración.

REFERENCIAS

- [1] Y. Shen, D. R. Nagaraj, R. Farinato. *Minerals Engineering*. **93**, 10-15, (2016).
- [2] J. Cuevas Martínez. Obtención del xantato de la oxima de la ciclohexanona y el estudio comparativo con el xantato del ciclohexanol. Universidad Autónoma de Nuevo León, (1984).
- [3] B. Ramírez Serrano, A.L. Coello Velázquez, A. Bernardo, E. Afif y J.M. Menéndez- Aguado. *Revista de metalurgia*, **48**, 254-263, (2012).
- [4] J. F. Flores-Aguilar, funcionalización de espuma de poliuretano con O- etilditiocarbonato para la remoción y confinamiento de Hg (II). UAEH. México, (2017)
- [5] A. Ibarra Escutia. Determinación de las constantes de acidez y complejación con Cu (II) del 4-terbutil-2,6-bis(tiomorfolin-1-ilmetil)Fenol. UAMI-Iztapalapa. México, (2017).
- [6] B. Ramírez-Serrano, F. J. Tavera-Miranda y R. Escudero-García. *Revista de Minería y Geología*, **XXIV**, 1-21, (2009).

MODELO PARA CONSTRUIR CURVAS DE VARIACIONES CONTINUAS EN SISTEMAS DE DOS COMPONENTES CON VARIAS REACCIONES DE CUALQUIER CUANTITATIVIDAD EN SISTEMAS POLIDONADORES DE LA PARTÍCULA L

Alberto Rojas-Hernández^{1*}
María Teresa Ramírez-Silva¹
Giaan Arturo Álvarez-Romero²
Manuel Eduardo Palomar-Pardavé³

INTRODUCCIÓN

Los métodos de relaciones molares y variaciones continuas eran temas clásicos de enseñanza de cursos de Química Inorgánica o Química Analítica a nivel licenciatura, en carreras del área de la Química.

Aunque en la actualidad los libros de texto de esas disciplinas ya prácticamente no tratan el tema, se siguen aplicando para determinar la estequiometría de especies o las constantes de equilibrio en campos como la química de coordinación, la química bioinorgánica o la química supramolecular.

¹ Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Área de Química Analítica. Laboratorio R-105. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, AP 55-534. CDMX. C.P. 09340. Tel: +52 (55) 5804 46 70, Fax: +52 (55) 5804 4666. e-mail: suemi918@xanum.uam.mx

² Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química, Laboratorio de Química Analítica. Ciudad Universitaria, Carr. Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Pachuca, Hidalgo. México. C.P. 42076. Tel: +52 (771) 717 2000 ext 6785, Fax: +52 (771) 717 2109. giaan.uaeh@gmail.com

³ Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco, Departamento de Materiales, Área Ingeniería de Materiales, Av. San Pablo 180, Col Reynosa Tamaulipas, 02200, CDMX

La enseñanza del tema siempre se hizo considerando tres restricciones:

La formación de un solo complejo, de estequiometría M_aL_b .

La formación de dicho complejo es cuantitativa en la condición estequiométrica.

La respuesta (R , que se va a medir para generar la curva típica) es lineal con la concentración del complejo.

Cuando estas restricciones se cumplen, la curva de relaciones molares, de la respuesta como función de la relación molar de L a M ($r_L = n_{Ltotal}/n_{Mtotal}$; siendo n la cantidad de sustancia) alcanza un valor constante a partir de la relación estequiométrica $r_{CE} = b/a$, como se muestra en las figuras 1a y 1b. Por otra parte, en el método de variaciones continuas la curva típica presenta un máximo en la fracción molar de L ($x_{CE} = (b)/[a + b]$) de la condición estequiométrica, como se puede ver en las figuras 1c y 1d. (Ver referencia [1].)

Estas restricciones limitan la comprensión del tipo de gráficas de relaciones molares y variaciones continuas que pueden obtenerse cuando algunas de las tres restricciones no se cumplen.

Lo único que se puede encontrar en la literatura es analizar qué ocurre si la reacción de formación de M_aL_b no es cuantitativa en condiciones estequiométricas; esto es, quitar la restricción 2 de las tres arriba señaladas. En ese caso se sabe que, en lugar de obtener dos rectas que se cruzan en las coordenadas de la condición estequiométrica se obtiene una curva, cuya envolvente está dada por el sistema de dos rectas; curva que se aleja más de las rectas conforme la cuantitatividad de la reacción va disminuyendo. Sin embargo, no hay un tratamiento general que pueda decir qué tan lejos queda la curva del sistema de rectas para una cuantitatividad dada.

Es así que quedan muchas preguntas sin responder y es difícil saber si algunas hipótesis que se formulan cuando las restricciones no se cumplen son válidas.

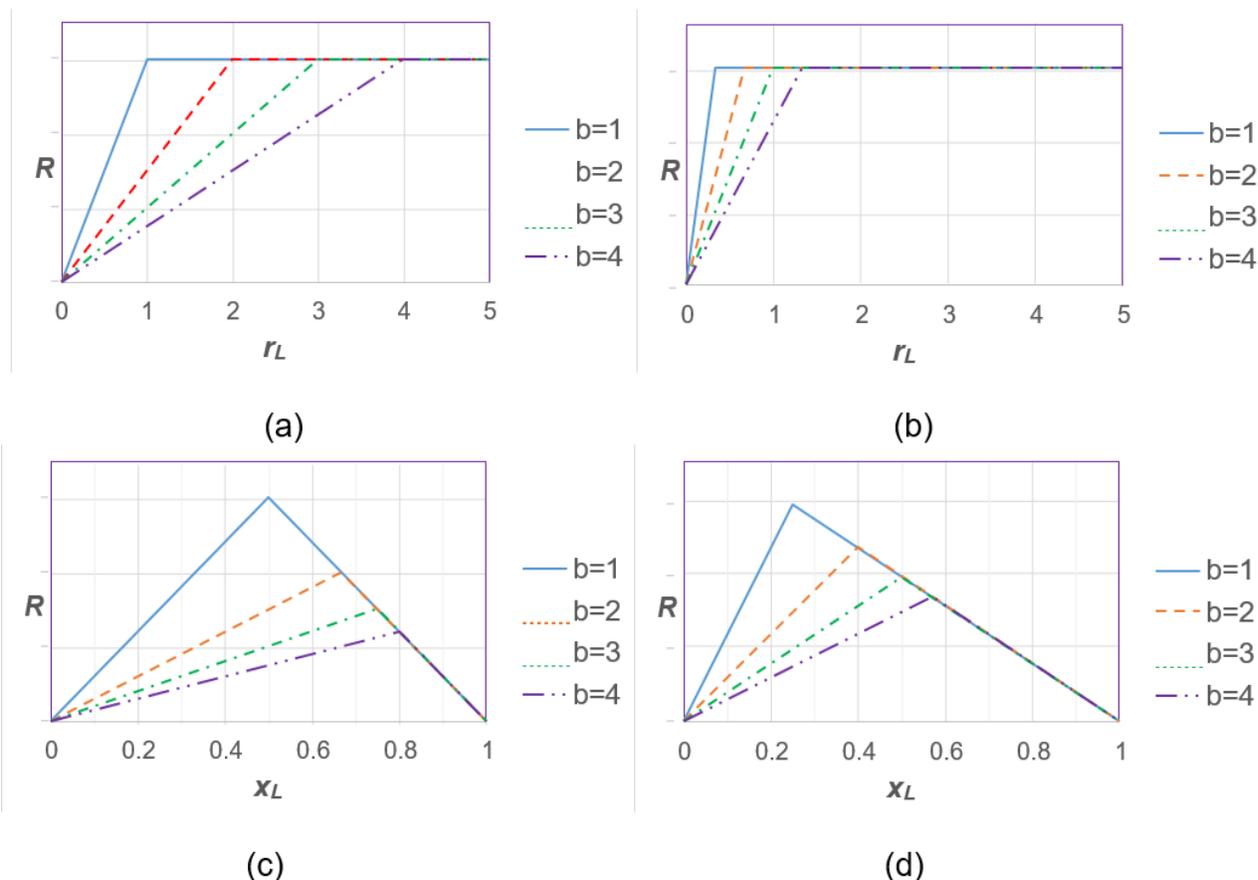


Figura 1. Curvas típicas de relaciones molares y variaciones continuas. a) Relaciones molares, cuando $a = 1$. b) Relaciones molares, cuando $a = 3$. c) Variaciones continuas, cuando $a = 1$. d) Variaciones continuas, cuando $a = 3$. (Tomada de [1].)

En este trabajo se presentan los fundamentos teóricos para obtener analíticamente curvas de variaciones continuas en sistemas donde se presenta la formación de varias especies en un sistema binario del tipo polidonador de la partícula L: $ML_n/\dots/ML_j/\dots/ML/M/L$.

Teoría

En un sistema del tipo $ML_n/\dots/ML_j/\dots/ML/M/L$, en donde L es la partícula intercambiable, se sabe que las fracciones molares de las especies que contienen L sólo dependen del valor de p_L [2], de acuerdo al conjunto de ecuaciones (1) y (2).

$$f \equiv f_M = \frac{[M]}{[M]_{total}} = \frac{1}{1 + \sum_{j=1}^n (\beta_j [L]^j)} \quad (1)$$

$$f_j \equiv f_{ML_j} = f \beta_j [L]^j, \text{ siendo } j \in \{1, 2, \dots, n\} \quad (2)$$

En las ecuaciones (1) y (2) β_j representan las constantes globales de formación de las especies ML , ML_2 , a ML_n .

Ahora bien, si la respuesta R que se va a medir depende linealmente de las concentraciones de todas las especies presentes en el sistema, puede escribirse la ecuación (3):

$$R = k_L[L] + k_M[M] + \sum_{j=1}^n k_{ML_j}[ML_j] \quad (3)$$

Sustituyendo en la ecuación (3) las ecuaciones (2) y (1), se obtiene la ecuación (4).

$$R = k_L[L] + \left(k_M f + \sum_{j=1}^n k_{ML_j} f_j \right) [M]_{total} \quad (4)$$

Por otro lado, por definición, la fracción mol de L en el sistema está dada por la ecuación (5):

$$x_L \equiv \frac{n_L}{n} = \frac{[L]_{total}}{[M]_{total} + [L]_{total}} = \frac{[L]_{total}}{C} \quad (5)$$

Y entonces, la concentración total del componente L se puede escribir, de acuerdo con la ecuación (6).

$$[L]_{total} = x_L C_{total} = [L] + \sum_{j=1}^n j [ML_j] = [L] + [M]_{total} \sum_{j=1}^n j f_j \quad (6)$$

Como se puede ver fácilmente, las ecuaciones (1) y (2) sólo dependen de la [L] como variable, en tanto que las ecuaciones (4) y (6) sólo dependen de [L] y $[M]_{\text{total}}$ como variables; y todas ellas tienen las constantes globales de formación de las especies de M como parámetros.

Sin embargo, en el experimento de variaciones continuas todos los sistemas están sujetos a la restricción de que la suma de concentraciones totales de M y L es una constante. Así, dicha restricción hace que la ecuación (6) sólo tiene una solución con significado físico para cada valor de fracción mol de L. Esto hace que se debe iterar la solución de la ecuación (6) para cada valor de x_L , y el procedimiento no tiene solución analítica: debe resolverse en forma numérica.

Se diseñó entonces una hoja de cálculo en donde cada punto de la típica curva de variaciones continuas se itera para cada valor de x_L .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presenta sólo el caso del sistema de Fe^{2+} /ortofenantrolina a pH entre y 8.0, obtenido con una hoja de cálculo que considera analíticamente hasta un sistema hexadonador de la partícula L.

En ese intervalo de pH, se puede pensar como si fuera un sistema binario, ya que la ortofenantrolina (ofen) no se protona y el Fe^{2+} todavía no comienza a hidrolizarse. Considerando entonces los valores de $\log\beta_1 = 5.8$, $\log\beta_2 = 11.1$ y $\log\beta_3 = 21.3$, (ver la referencia [2]), el mismo coeficiente de absorción para los tres complejos formados, de $13500 \text{ cm}^{-1}\cdot\text{M}^{-1}$; considerando también que a esa longitud de onda no absorben ni la ofen ni el Fe^{2+} (lo cual debe ser bastante similar al caso real para una longitud de onda de 510nm) y celdas con una longitud de paso óptico de 1 cm, se pueden obtener las curvas que se muestran en la figura 2.

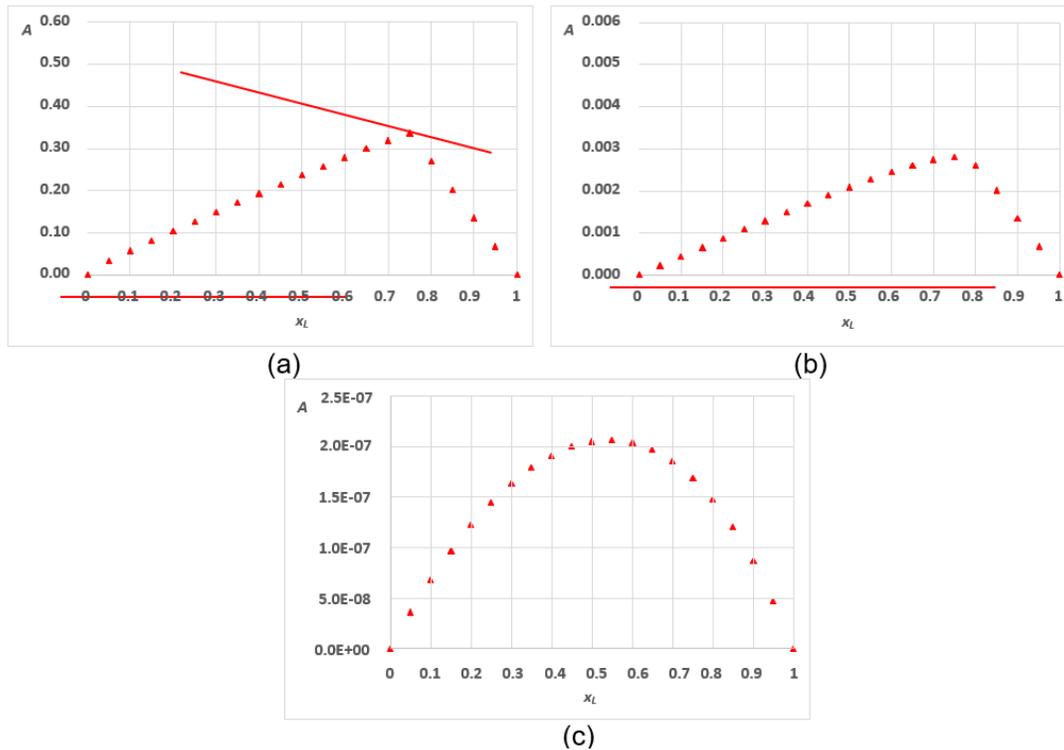


Figura 2. Curvas de variaciones continuas, calculadas iterativamente, para el sistema de Fe^{2+} /ortofenantrolina (ver texto). a) $[\text{Fe(II)}]_{\text{total}} + [\text{ofen}]_{\text{total}} = 1 \times 10^{-4}$ M. b) $[\text{Fe(II)}]_{\text{total}} + [\text{ofen}]_{\text{total}} = 1 \times 10^{-6}$ M. c) $[\text{Fe(II)}]_{\text{total}} + [\text{ofen}]_{\text{total}} = 1 \times 10^{-8}$ M. Las líneas auxiliares trazadas marcan las rectas límite esperadas.

En la figura 2a, en donde se esperaría un comportamiento muy similar al esperado de acuerdo con la figura 1c con $a = 1$ y $b = 3$, se puede observar una desviación cuando $x_L = 0.05$. Contra lo esperado, la figura 2b es la más parecida a ese comportamiento en donde se formaría un solo complejo con $a = 1$ y $b = 3$; aunque también se observa la típica desviación del sistema de rectas límite por tener una reacción no muy cuantitativa. Sin embargo, la figura 2c es totalmente diferente a lo esperado. Para empezar, se observa una curvatura para muchos valores de x_L (lo que se espera para una reacción muy poco cuantitativa), pero el máximo se encuentra en 0.55: ¿por qué este máximo se aleja tanto de la fracción mol de 0.75?

Las respuestas están relacionadas con los diagramas de distribución que están asociados con las soluciones que se prepararían en cada uno de los experimentos de variaciones continuas. Con el fin de comparar esos diagramas con lo esperado intuitivamente, en la Figura 3 se muestra el diagrama de distribución bien conocido para este sistema.

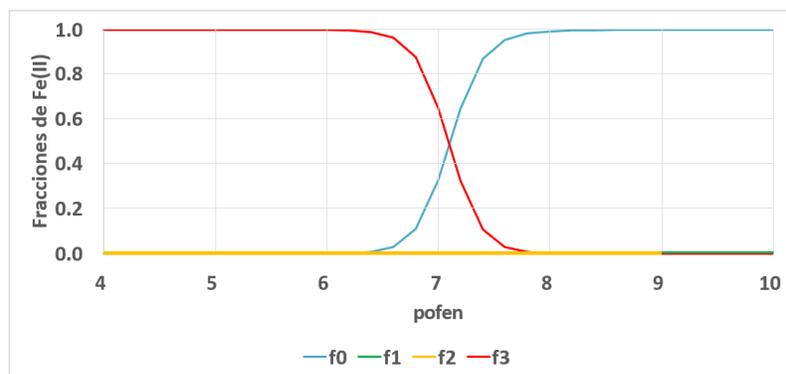


Figura 3. Diagrama de distribución del sistema $\text{Fe}^{2+}/\text{ofen}$. El diagrama muestra que la existencia de los anfolitos del sistema es muy pequeña.

El diagrama de distribución de las especies de Fe(II) en la figura 3 refuerza la idea intuitiva de que en los experimentos de variaciones continuas se esperaría ver una gráfica similar a la de la figura 1c para la formación de un solo complejo M_aL_b , con $a = 1$ y $b = 3$ (marcada con el color verde en punto y raya en dicha figura).

Sin embargo, en la Figura 4 se observa que la forma de preparación de soluciones en los experimentos de variaciones continuas, cuyas curvas calculadas se muestran en la figura 3, lleva solamente a explorar partes de la figura 3.

La figura 4a muestra que para el experimento de variaciones continuas en el que $[\text{Fe(II)}]_{\text{total}} + [\text{ofen}]_{\text{total}} = 1 \times 10^{-4} \text{ M}$, se exploran sistemas en donde se tienen valores de $4.000 < \text{pofen} < 7.719$. Si se observa la ampliación de la figura 4a en el intervalo $4.000 < \text{pofen} < 7.719$ se ve que en los valores de fracción mol de L cercanos a 0 la formación del complejo $\text{Fe}(\text{ofen})^{2+}$ no es despreciable frente a la del complejo $\text{Fe}(\text{ofen})_3^{2+}$, lo que puede explicar la desviación observada en la figura 2a.

La figura 4c muestra que la distribución de los valores de pofen es la más uniforme con respecto a los valores de fracción mol explorados cuando se preparan las soluciones con $[\text{Fe(II)}]_{\text{total}} + [\text{ofen}]_{\text{total}} = 1 \times 10^{-6} \text{ M}$. Tal vez en este caso la desviación inicial queda algo enmascarada por la poca cuantitatividad de la reacción cerca de la fracción mol estequiométrica para el complejo $\text{Fe}(\text{ofen})_3^{2+}$.

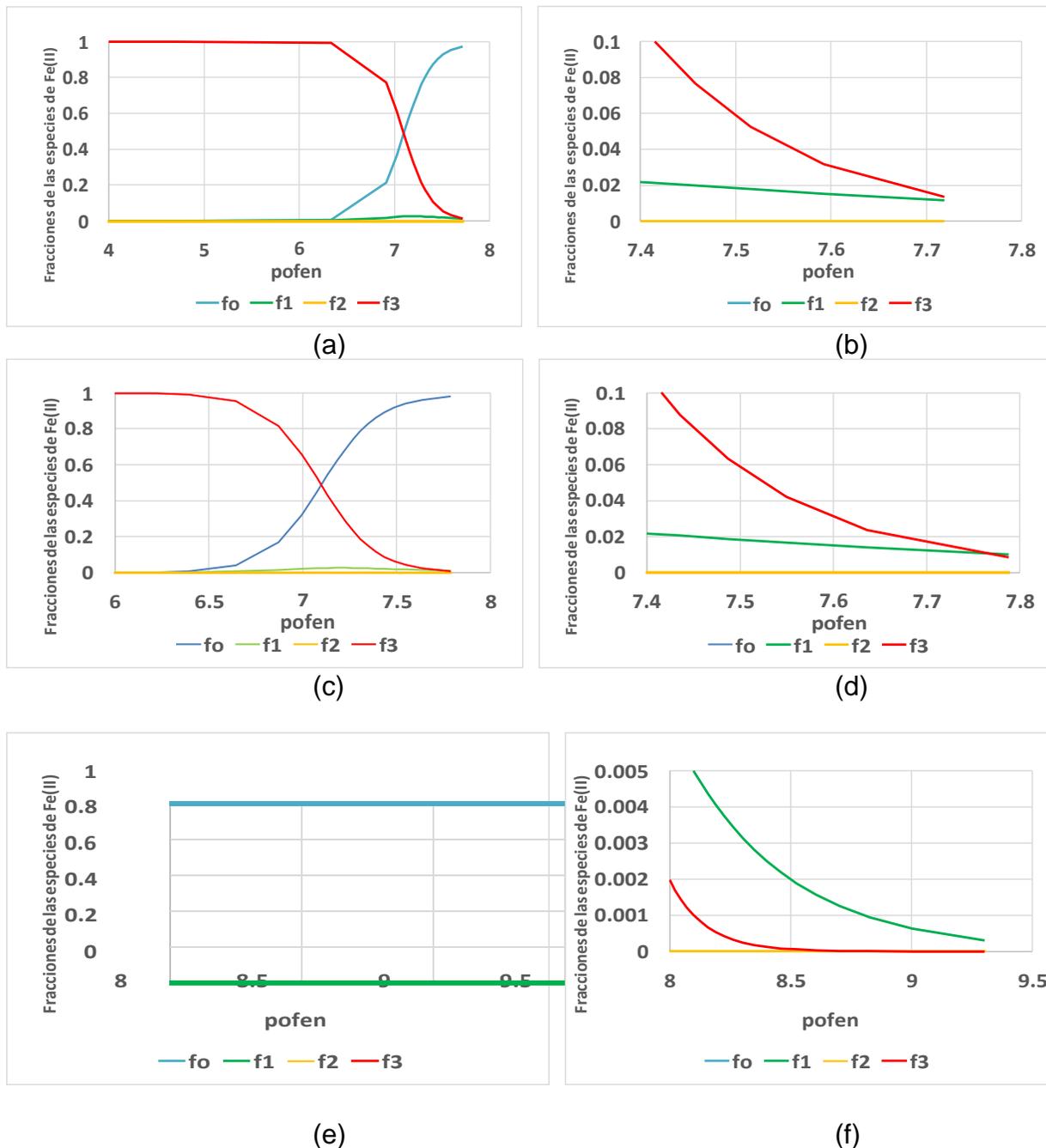


Figura 4. Diagramas de distribución asociados a las curvas de la figura 3 (ver texto).
 a) $[\text{Fe(II)}]_{\text{total}} + [\text{ofen}]_{\text{total}} = 1 \times 10^{-4} \text{ M}$. b) Ampliación de la figura mostrada en a).
 c) $[\text{Fe(II)}]_{\text{total}} + [\text{ofen}]_{\text{total}} = 1 \times 10^{-6} \text{ M}$. d) Ampliación de la figura mostrada en c).
 e) $[\text{Fe(II)}]_{\text{total}} + [\text{ofen}]_{\text{total}} = 1 \times 10^{-8} \text{ M}$. f) Ampliación de la figura mostrada en e).

Sin embargo, el diagrama de distribución de la figura 4e muestra que este experimento explora la región en donde $8.000 < \text{pofen} < 9.304$, sistemas en donde la fracción mayoritaria de especies de Fe(II) corresponde a Fe^{2+} ; esto es, se está formando una

fracción muy pequeña de los complejos $\text{Fe}(\text{ofen})^{2+}$ y $\text{Fe}(\text{ofen})_3^{2+}$. Y la ampliación de la figura 4e, que se muestra en la figura 4f, demuestra que en esas condiciones se está formando más $\text{Fe}(\text{ofen})^{2+}$ que $\text{Fe}(\text{ofen})_3^{2+}$, lo que explica el porqué el máximo de la curva de variaciones continuas está más cerca de 0.5 que de 0.75.

En la tabla 1 se muestran los valores que corresponden a las diferentes fracciones mol de ofen en las curvas de variaciones continuas presentadas en la figura 3.

Tabla 1. Relación de valores de la fracción mol de ofen con el pofen de los diferentes experimentos de variaciones continuas considerados en este trabajo.

X_{ofen}	$[\text{Fe}(\text{II})]_{\text{total}} + [\text{ofen}]_{\text{total}} = 1 \times 10^{-4} \text{ M}$	$[\text{Fe}(\text{II})]_{\text{total}} + [\text{ofen}]_{\text{total}} = 1 \times 10^{-6} \text{ M}$	$[\text{Fe}(\text{II})]_{\text{total}} + [\text{ofen}]_{\text{total}} = 1 \times 10^{-8} \text{ M}$
	pofen	pofen	pofen
0.05	7.719	7.778	9.304
0.1	7.592	7.636	9.003
0.2	7.458	7.487	8.701
0.3	7.365	7.390	8.525
0.4	7.284	7.309	8.400
0.5	7.201	7.228	8.303
0.6	7.098	7.134	8.223
0.7	6.914	6.996	8.156
0.8	4.699	6.644	8.098
0.9	4.222	6.221	8.046
1.0	4.000	6.000	8.000

CONCLUSIONES

La hoja de cálculo que se obtuvo a partir del tratamiento teórico mostrado en este trabajo es una herramienta valiosa, tanto para la enseñanza de la química de las disoluciones, como para el trabajo de investigación en la determinación experimental de estequiometrías y de constantes de equilibrio en muchos campos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al PRODEP por el financiamiento parcial para el desarrollo de este trabajo, a través de la RedNIQAE, y al CONACyT a través del financiamiento parcial por medio del proyecto 237997.

REFERENCIAS

- [1] A. Rojas-Hernández, M. T. Ramírez-Silva, G. A. Álvarez-Romero, M. E. Palomar- Pardavé. "Modelo para construir curvas de relaciones molares en sistemas de dos componentes con varias reacciones de cualquier cuantitatividad en sistemas polidonadores de la partícula L." Teoría y Aplicaciones de la Química Analítica 2017. AMQA, León. 457-461 (2017).
- [2] A. Rojas-Hernández, M.T. Ramírez, I. González, J. Ibanez. J. Chem. Educ. 72, 1099- 1105. (1995).

ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN CICLODEXTRINA CON COBRE (II) EN DISOLUCIÓN ACUOSA

Adrián Ricardo Hipólito Nájera¹

María del Rosario Moya Hernández^{1*}

Rodolfo Gómez Balderas¹

Alberto Rojas-Hernández²

INTRODUCCIÓN

Las ciclodextrinas (CDs) son oligosacáridos de unidades glucopiranosas unidas por enlaces α - (1 \rightarrow 4). Las CDs más comunes son la α -, β - y γ -CDs que contienen en sus estructuras 6, 7 y 8 unidades de α -D-glucopiranosas respectivamente. Al no estar unidas linealmente y formar un cono trunco o de forma toroidal, debido a las moléculas que las conforman, presentan una cavidad apolar con grupos hidroxilo secundarios en el interior y con grupos hidroxilos primarios en el exterior (Fig. 1). Debido a esta cavidad apolar es posible la inclusión de moléculas dentro de las CDs el cual es llamado complejo de inclusión y es ampliamente usado en muchas áreas de la química, por ejemplo, en sistemas acarreadores de fármacos, industria de alimentos y cosméticos [1].

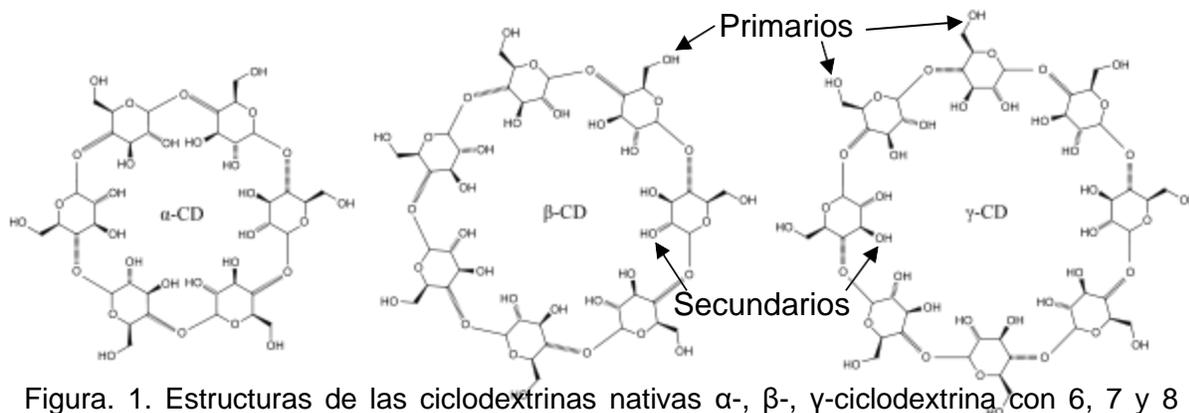


Figura. 1. Estructuras de las ciclodextrinas nativas α -, β -, γ -ciclodextrina con 6, 7 y 8 unidades glucopiranosas, respectivamente.

¹ Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 4, Unidad de Investigación Multidisciplinaria, Laboratorio 10, Físicoquímica Analítica. Km. 2.5, Carr. Cuautitlán Teoloyucan, C.P. 54740, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México. Tel: 56 23 19 99, Ext. 39420. e-mail: a.ricardohipolito.n@gmail.com.

² Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Área de Química Analítica. Laboratorio R-105. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, AP 55-534. México, D.F. C.P. 09340. Tel: +5804 4600 Ext. 4378, Fax: +52 (55) 58 04 4666. e-mail: suemi18@xanum.uam.mx

Los complejos de iones metálicos con CDs tienen el potencial como modelos enzima-metal, además de ser utilizados en reconocimiento molecular y catálisis [1,2]. Se ha demostrado que las CD tienen poca habilidad de coordinación la cual puede ser aumentada por: (i) un pH mayor de pH=7 ó (ii) una CD sustituida con un grupo funcional que contenga sitios de coordinación.

Los estudios que se han sido realizados con Cu(II) y CD nativas, han sido por diversas técnicas como son titulaciones conductimétricas, pH-métricas y polarimétricas principalmente. Estas mediciones se han realizado a pH mayores de 11 debido a que las CD se desprotonan a valores muy básicos y esto facilita la complejación con los iones de Cu^{2+} . A pH neutro se ha reportado la síntesis de un complejo estable de CuCl_2 y β -CD [3]. En otros estudios a pH neutro ha sido posible estudiar la formación de complejos de inclusión por medidas de coeficientes de difusión para sales de cobre como el cloruro de cobre (II). En estos estudios existe poca información sobre las propiedades termodinámicas de la interacción Cu^{2+} -CD, así como las diferentes especies que puedan estar predominando.

ITC es el método más directo para medir el cambio de calor en la formación de complejos a T cte. Se puede obtener también K_a y la estequiometría o sitios de enlace, n, del complejo [4]. El estudio de complejos de inclusión con CD y fármacos con ITC puede ser de ayuda para entender la bioactividad de los químicos ya que entender las propiedades fisicoquímicas del fármaco ayudará a conocer la distribución del fármaco en el cuerpo humano [5].

Por lo anterior en este trabajo se busca determinar las propiedades termodinámicas de la Interacción Cu^{2+} -CD mediante la técnica de Calorimetría de Titulación Isotérmica (ITC) a 25 °C a pH ácido.

EXPERIMENTACIÓN

Reactivos

β -cyclodextrin Pureza 97% (Sigma Aldrich) y CuCl_2 Pureza 99% (Merck). Agua desionizada.

Instrumentos

Microcalorímetro VP-ITC (GE Health Care) de volumen de celda de reacción de 1.4 mL. Conductímetro y pH-metro combinado (Seven-Multi S47, Mettler Toledo), Electrodo de pH (HACH).

Metodología

El método elegido para el estudio de la interacción Cu/CD es relaciones molares (RM), la cual consiste en encontrar la estequiometría de las especies en disolución de una curva de la propiedad medida en función de la relación molar r de un titulante y un analito a titular [6].

Para los experimentos de ITC se realizan dos experimentos, uno de titulación y otro de dilución. A un $\text{pH} \approx 4-5$ a 25°C .

Experimento de Titulación. Una disolución de CuCl_2 de concentración 57.95 mM se coloca en la jeringa y una disolución de β -CD 8 mM se vierte en la celda de reacción; se realizan 70 adiciones de 4 μL con un espaciado de 310 s de la disolución de la jeringa sobre la disolución de la celda de reacción. Se registra el termograma correspondiente a 25°C (Figura. 2).

Experimento de Dilución. Una disolución de CuCl_2 de concentración 57.95 mM se coloca en la jeringa y en la celda de reacción se coloca agua desionizada. Se realizan 70 adiciones de 4 μL con un espaciado de 310 s de la disolución de la jeringa sobre agua desionizada en la celda de reacción. Se registra el termograma correspondiente a 25°C (Figura. 3).

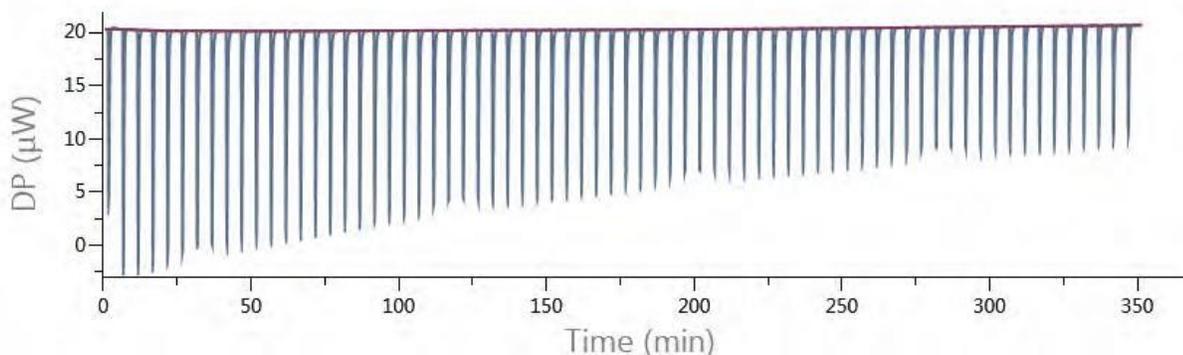


Figura. 2. Termograma correspondiente al experimento de titulación, adicionando la disolución de CuCl_2 a la disolución de $\beta\text{-CD}$ a 25°C .

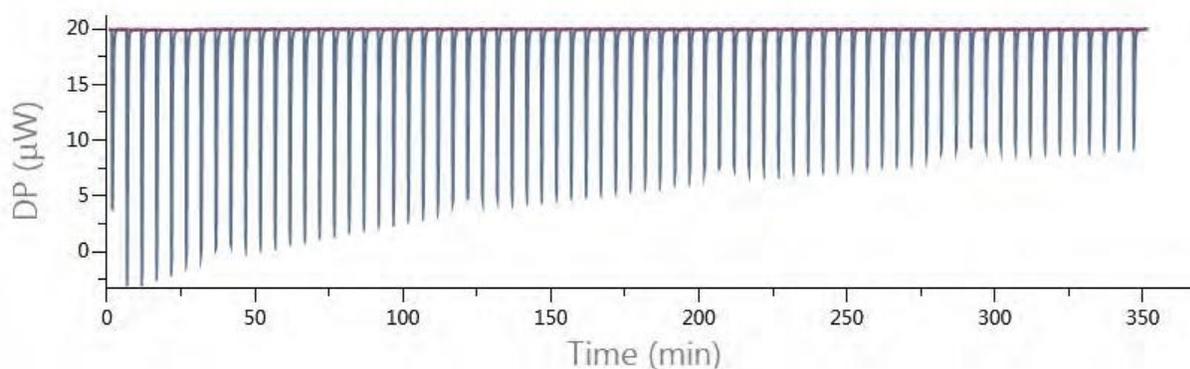


Figura. 3. Termograma correspondiente al experimento de dilución, que se obtiene al añadir la disolución de CuCl_2 sobre agua desionizada a 25°C .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después de realizar los experimentos descritos en la parte experimental, se prosiguió a realizar el análisis de los termogramas obtenidos. Al termograma de titulación (Fig. 2) se restó el efecto de la dilución o el termograma de dilución (Fig. 3) con lo cual se obtuvo el termograma de la Fig 4.

La integración del termograma de la fig. 4 da como resultados la isoterma de enlace de la interacción $\text{Cu}^{2+}\text{-}\beta\text{-CD}$ (Fig. 5) este gráfico se trató con el programa PEAQ-ITC para obtener un modelo que explique su comportamiento, el cual se observa como una línea continua en la Fig. 5. Con este modelo se obtuvieron los datos de la tabla 1.

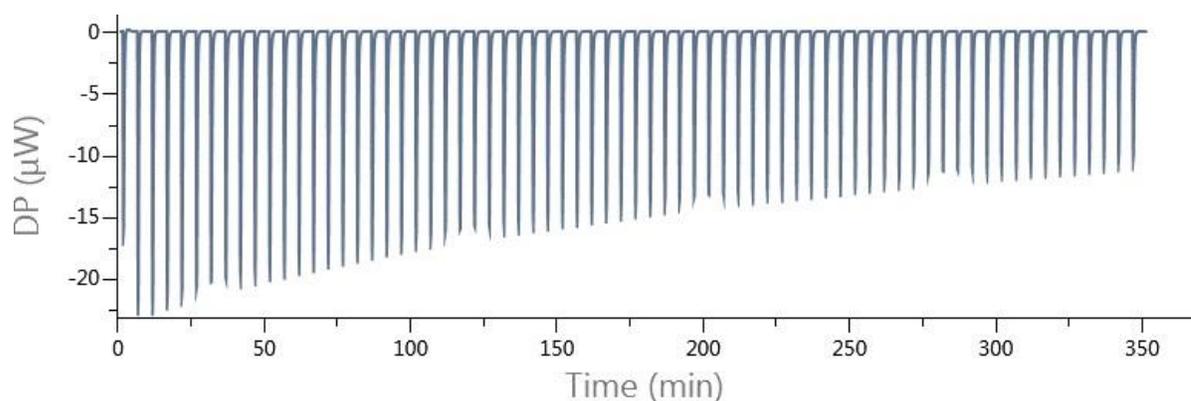


Figura. 4. Termograma resultante al retirar el efecto de dilución del experimento de titulación.

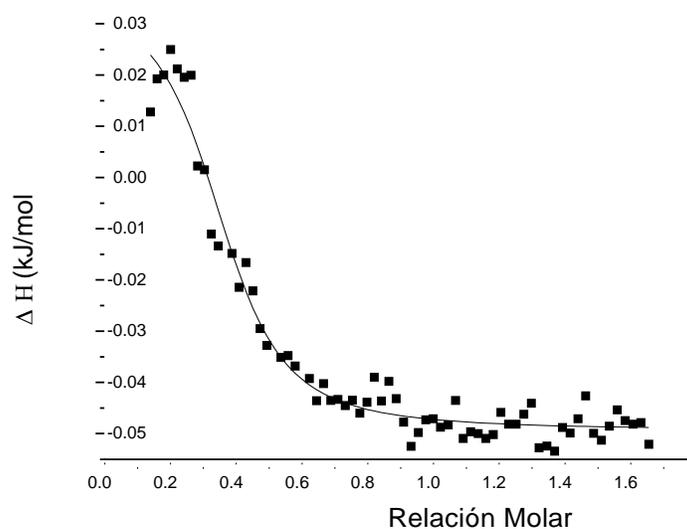


Figura. 5. Isotherma de enlace de la interacción Cu^{2+} - β -CD.

Tabla 1. Resultados del ajuste del modelo para la interacción Cu - β -CD por ITC.

CD	n	K_D	$\Delta H(\text{kJ/mol})$	ΔG (kJ/mol)	$-T\Delta S$ (kJ/mol)
β -CD	3.58 ± 0.14	$(1.12 \pm 0.28) \times 10^{-3}$	$(2.40 \pm 0.12) \times 10^{-3}$	-16.8	-16.9

De estos resultados se puede observar que los iones de Cu^{2+} interactúan con las moléculas de CD con una $K_D = (2.40 \pm 0.12) \times 10^{-3}$, lo que indica que es una interacción muy débil, lo cual es coherente debido a que en los valores de pH ($\text{pH} \approx 4-5$ ó pH ácidos) no se espera la formación de un enlace covalente; y es probable que el complejo no sea estable y su formación no sea inmediata.

Además, los parámetros termodinámicos indican que la reacción es espontánea por los valores negativos de ΔG y endotérmica por el valor positivo de ΔH . El componente de entropía $-T\Delta S$, al ser negativo, indica un aumento en el desorden, que puede justificarse por la salida de moléculas de agua de la cavidad de la CD para dar entrada a los iones Cu^{2+} y formar un complejo de inclusión. Los valores termodinámicos indican que la reacción de inclusión es no espontánea a bajas temperaturas y espontánea a temperaturas altas. Para observar un aumento en la estabilidad y espontaneidad de los complejos Cu^{2+} -CD se puede aumentar el pH, la temperatura, utilizar una CD diferente o una CD sustituida.

CONCLUSIONES

1. Se logró estudiar la interacción entre iones Cu^{2+} con β -CD a un pH entre 4 y 5, por la técnica de Calorimetría de Titulación Isotérmica.
2. Se lograron determinar los parámetros termodinámicos de la reacción; es probable que se esté llevando a cabo una reacción por inclusión o asociación (fuera de la cavidad de la CD).
3. Es posible observar que la interacción entre iones Cu^{2+} con β -CD es débil, endotérmica y espontánea, en las condiciones de trabajo establecidas.

AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT por la Beca Nacional para estudios de Posgrado con No. de registro 300687. Al proyecto PAPIIT IN211881 "Complejos de Cu(II) y Zn(II) con fármacos antiinflamatorios".

REFERENCIAS

- [1] E. Norkus, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, **65** [3] 237– 248 (2009).
- [2] N. R. Russell, *Metallo—Cyclodextrins*. In *Proceedings of the Eighth International Symposium on Cyclodextrins*. Dordrecht: Springer Netherlands 163–169 (1996).
- [3] G. Kurokawa, M. Sekii, T. Ishida, T. Nogami. *Supramolecular Chemistry*, **16** [5], 381– 384 (2004).
- [4] I. Jelesarov, H. R. Bosshard. *Journal of Molecular Recognition*, **12** [1], 3–18 (1999).
- [5] D. Sun, L. Li, X. Qiu, M. Liu, B. Yin. *Journal of Solution Chemistry*, **35** [11], 1537–1549 (2006).
- [6] N. Rodríguez-Laguna, L. I. Reyes-García, R. Moya-Hernández, A. Rojas-Hernández, R. Gómez-Balderas. *Journal of Chemistry*, 2016, 1–12 (2016).

FUENTES POSIBLES DE CONTAMINACIÓN EN CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS- ESPECTROMETRÍA DE MASAS (CL-EM)

Minerva Monroy Barreto
Margarita Guzmán Villanueva¹

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de detectores cada vez más sensibles ha facilitado el análisis al nivel de trazas. Los detectores de los espectrómetros de masas son excelentes ejemplos ya que en pocos años han incrementado su velocidad, exactitud y uso [1]. Sin embargo, con el incremento de la sensibilidad aparecen también interferencias que incorporamos durante el procesamiento de la muestra; estas pueden provenir del analista debido al contacto directo con la piel; de reactivos o disolventes; y, también pueden provenir de material empleado para la preparación de muestra, como son los filtros, viales, micropipetas y el instrumental de vidrio. En algunos casos se pueden eliminar o disminuir trabajando con buenas prácticas del laboratorio; pero, en otros casos es imposible suprimirlas.

Por ejemplo, de acuerdo con la literatura los tubos y puntas para micropipeta de polipropileno y polietileno presentan resistencia a la mayoría de los disolventes como a la acetona, dietiléter, cloroformo, tolueno, a los ácidos inorgánicos. No obstante, para su producción pueden agregarse una gran variedad de reactivos para alcanzar las propiedades deseadas [2]. Por ejemplo, las adiciones de plastificantes reducen la viscosidad del plástico fundido en bajas temperaturas y reducen su dureza además de que permite remover fácilmente la pieza de los moldes; pero es conocido que estos pueden lixivarse del material. Los problemas más comunes ocurren al usar un disolvente orgánico en los tubos de preparación de muestra debido a la extracción de compuestos como son los ftalatos, butilhidroxitolueno (BHT). También, algunos

¹ Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, Unidad de Apoyo a la Investigación y a la Industria, Av. Universidad 3000, Cd. Universitaria, Circuito Mario de la Cueva, Edif Mario Molina, CDMx, C.P. 04510. Tel: +52 (55) 5622 4800 ext. 84007.

metales pesados actúan como catalizadores en el proceso de polimerización del plástico mientras que detergentes antibacteriales previenen la colonización bacteriana en las superficies del material y reducen el desarrollo de cargas estáticas [3]. Todos estos aditivos de plásticos pueden lixiviarse del material.

En el trabajo cotidiano del laboratorio de cromatografía de líquidos-espectrometría de masas los usuarios llevan sus muestras en viales de diferentes materiales y se usa agua y disolventes solubles con agua para su análisis, entre ellos acetonitrilo (ACN) y metanol, por tal motivo en este trabajo se colocaron en contacto directo los disolventes de la fase móvil de rutina, agua con ácido fórmico al 0.1 % y ACN, con los materiales de los diferentes filtros usados, nylon, polifluoruro de vinilideno (PVDF), politetrafluoroetileno (PTFE) y los viales que usamos de polipropileno. Estas disoluciones se analizaron por CL acoplado al espectrómetro de masas. En unos casos en sencillo encontrar la fuente del problema y se informa, en otros casos sólo se publican los iones encontrados de los compuestos interferentes.

EXPERIMENTACIÓN

Reactivos

Agua, acetonitrilo grado LCMS marca J. T. Baker, ácido fórmico 90 % de pureza, J.T. Baker.

Equipo

Cromatógrafo de Líquidos, Modelo Series 1200, acoplado con un Espectrómetro de Masas Modelo G6410 LCMS Triple Cuadrupole, ambos marcan Agilent.

El modo de ionización empleado es electrospray con detección de iones positivos (ES+) y negativos (ES-).

Columna Zorbax Extend-C18 Analítica 4.6 X 150 mm, 5 µm, Serie No. USFK009452

Preparación de muestras

En tubos de polipropileno se colocaron los materiales de los filtros a estudiar; nylon, PVDF y PTFE, a todos se les adicionaron 2 mL de ACN, también a un tubo vacío para determinar si se extrae algún compuesto del vial. Además, se estudió el efecto de la fase

móvil de agua con 0.1 % de ácido fórmico en el Nailon y en el PVDF, todos los tubos se mantuvieron a temperatura ambiente durante una semana. Posteriormente estas disoluciones se colocaron en viales para cromatógrafo y se inyectaron en el sistema.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el análisis cotidiano de los blancos de muestra encontramos un pico cromatográfico con el espectro mostrado en la Figura 1. Los iones con $m/z=301$ y 149 se atribuyen al ftalato de dibutilo en forma de aducto con el sodio $[M+Na]^+$ y al anhídrido ftálico derivado del primero en su forma $[M+H]^+$, respectivamente, estos son visibles en el modo de adquisición ES+.

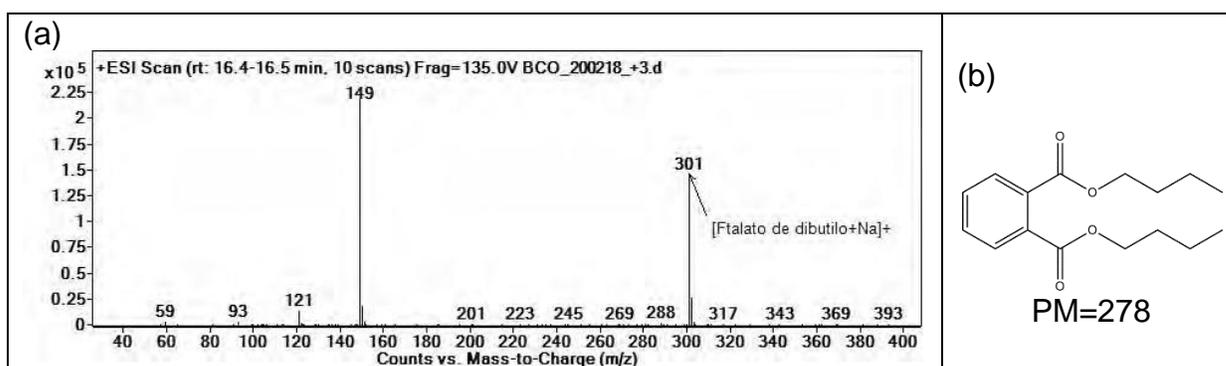


Figura 1. Espectro de masas obtenidos en modo scan (a) para el ftalato de dibutilo (b)

El ftalato de dibutilo funciona como plastificante y puede extraerse de material plástico como son mangueras, botellas, viales y tubos.

La disolución de ACN colocada en los viales de polipropileno al ser inyectada en el equipo proporcionó el cromatograma y espectro de la Figura 2. Del espectro de masas se pueden observar los iones con $m/z=274$ y 296 correspondientes a $[M+H]^+$ y $[M+Na]^+$ respectivamente, esto nos indica que el peso molecular del compuesto es de 273, al ser un número impar, se sospecha de un compuesto con número impar de nitrógenos; sin embargo, por el momento no ha sido posible identificarlo, se investigó en la literatura los posibles aditivos de polipropileno [4,5] y ninguno cumple con el peso molecular.

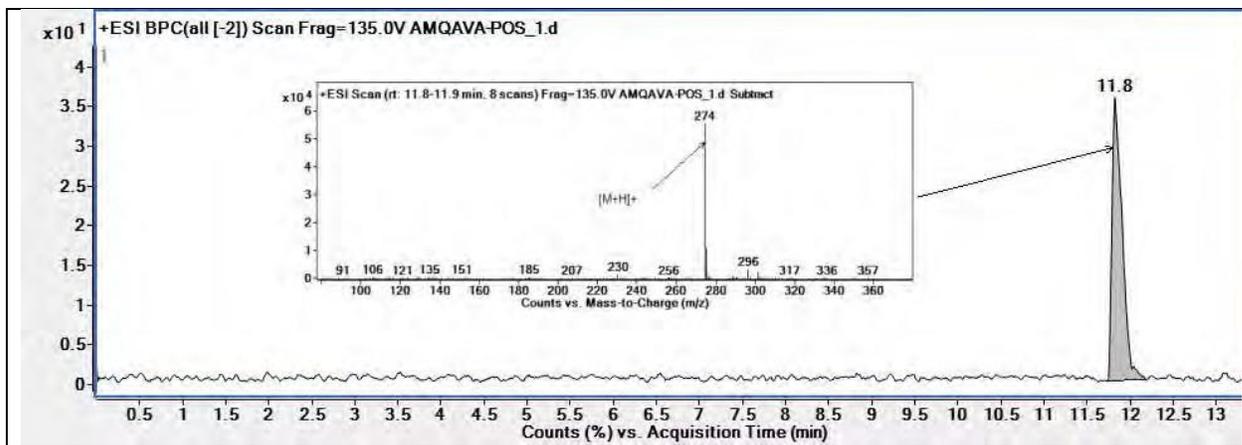


Figura 2. Cromatograma y espectro de masas ES+ obtenidos para el componente extraído de la lixiviación del vial de polipropileno.

Algunos proveedores recomiendan el uso de filtros de nailon para disolventes como el ACN, al analizar la disolución que contiene el nailon se observa lo mostrado en la Figura 3.

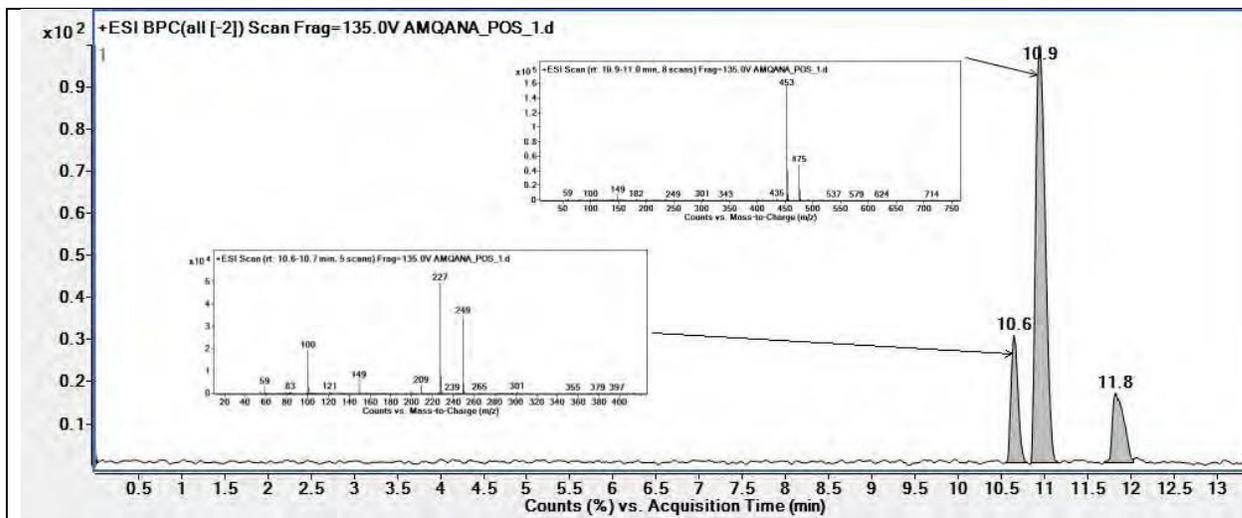


Figura 3. Cromatograma y espectro de masas ES+ obtenidos para el componente extraído de la lixiviación del vial de polipropileno.

En el cromatograma se observan 3 picos principales, los obtenidos con tiempo de retención 10.6 y 10.9 min corresponden al monómero y dímero cíclico del nailon con m/z de 227 y 453 (Figura 4), respectivamente. El pico con tiempo de retención 11.8 min proviene de un producto lixiviado del vial de polipropileno.

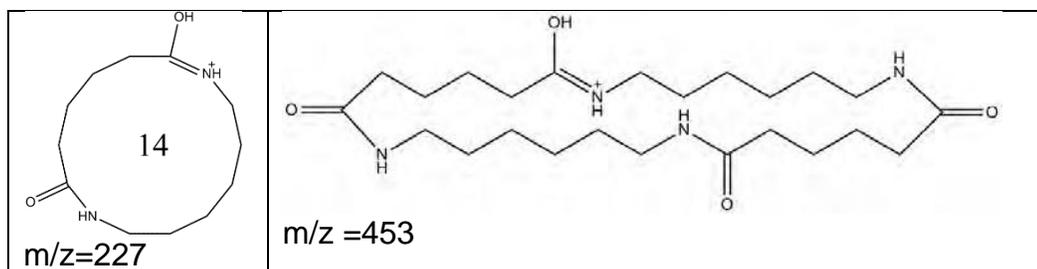


Figura 4. Iones provenientes del nailon

En el modo de ionización por electrospray negativo se pueden observar en los cromatogramas un compuesto poco retenido, afín al agua (figura 5), que es un aducto de la combinación del ácido fórmico y el Na^+ presente en el sistema. En el espectro, se observa el ion con $m/z= 113$ atribuido al aducto formado por dos formiatos y el sodio, las pérdidas de 68 se atribuyen a los aductos de formiato de sodio HCOONa (PM 68).

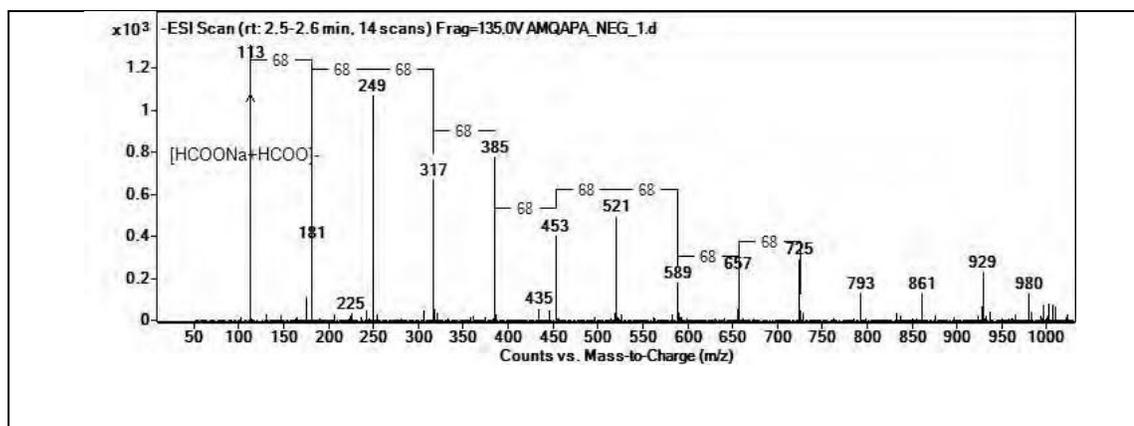


Figura 5. Espectro de masas ES-.

En el análisis de los materiales fluorados PVDF y PTFE en modo positivo no se observaron contribuciones de algún componente. En el modo ES- se encontraron las interferencias mostradas en la Figura 6. De los espectros se puede determinar que la interferencia tiene su origen en los aductos formados entre el extracto de los polímeros fluorados (PVDF, PTFE) y el ácido fórmico de la fase móvil. Para determinar con mayor certeza la estructura de la interferencia es necesario realizar experimentos de fragmentación.

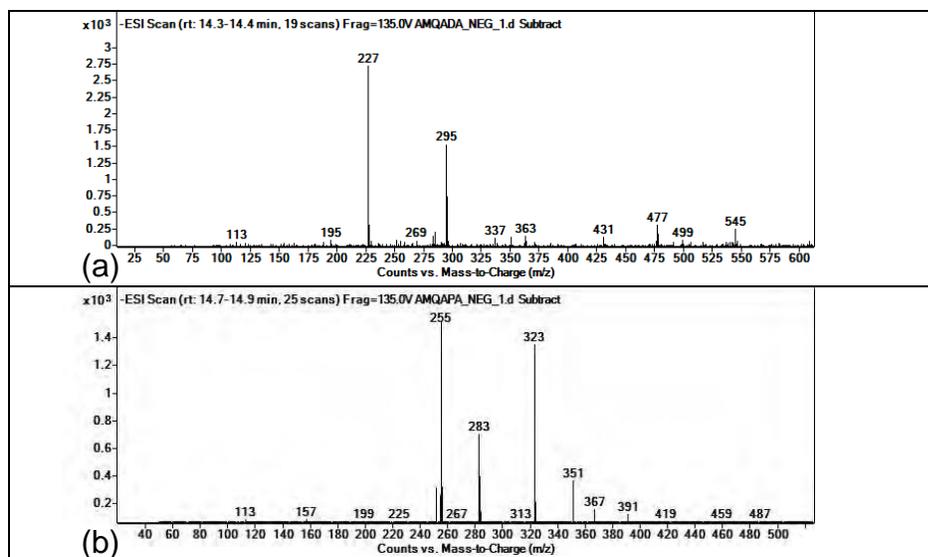


Figura 6. Espectros ES- de la interferencia encontrada en el PVDF (a) y en el PTFE (b).

CONCLUSIONES

El conocimiento de la presencia de interferencias y su origen permite discriminar éstas respecto a las señales de las muestras de análisis.

Con el detector de espectrometría de masas empleando el modo de ionización electrospray con detección de iones positivos se concluye lo siguiente:

- La interferencia que se debe al ftalato de dibutilo es ubicua en el sistema.
- De los viales de polipropileno con ACN se lixivia un compuesto, el cual contiene en su estructura un número impar de nitrógenos y su peso molecular es de 273.
- El ACN extrae del nailon tanto al monómero como el dímero y se observan como interferencias.

En el modo de ionización negativo:

- La principal interferencia observada se debe a la formación de los aductos del ácido fórmico con sodio.

REFERENCIAS

- [1] K. Hodge, S. Ten Have, L. Hutton, A. I. Lamond. *J. Proteomics* **88**, 92-103 (2013).
- [2] H. Chen, B. Blanchaert, A. Babaji Shinde, E. Adams, J. Rozenski, M. Baes, A. Van Schepdael *J Enzyme Inhib Med Chem*, **31**, 340–343 (2016).
- [3] A. Holt, J. L. Kozuska, *Laboratory Journal – Business Web for Users in Science and Industry* (<http://www.laboratory-journal.com>) (2010).
- [4] X. Yuan-Qing, S. Patel, R. Bakhtiar, R. B. Franklin, G. A. Doss, *American Society for Mass Spectrometry. J Am Soc Mass Spectrom* **16**, 417-421 (2005).
- [5] H. Chen, B. Blanchaert, A. B. Shinde, E. Adams, J. Rozenski, M. Baes, A. Van Schepdael. *J Enzyme Inhib Med Chem*, **31** [2] 340–343 (2016).

ANÁLISIS ELECTROQUÍMICO E HIDRODINÁMICO DE UN REACTOR DE COMPARTIMENTOS SEPARADOS

Jaret del Carmen Ramírez Castellanos¹
José Ángel Cobos Murcia^{1,2}
Víctor Esteban Reyes Cruz¹
María Aurora Veloz Rodríguez¹
Miguel Pérez Labra¹

INTRODUCCIÓN

Uno de los procesos electroquímicos novedosos en la actualidad es la electrolixiviación metálica, de manera específica es la recuperación de metales a partir de una mezcla multimetálica de desechos electrónicos (e-waste) empleando un reactor capaz de llevar a estado iónico el material sólido metálico de manera eficiente [1]. De esta manera, es importante lograr optimizar dicho proceso mediante la disminución del potencial de celda del reactor, optimizar su comportamiento hidrodinámico [2], así como buscar obtener la mayor transformación de materia en el proceso durante la lixiviación de los metales. Para ello, es necesario caracterizar electroquímicamente e hidrodinámicamente el reactor operando de manera estándar sin partículas de e-waste y posteriormente realizar el proceso de lixiviación como tal.

De tal manera que, durante la etapa de diseño de los reactores electroquímicos es importante considerar el potencial de celda (E_{Cel}) [3] que se requiere durante el proceso electrolítico de electrolixiviación metálica, por lo que, para optimizar este parámetro se utilizan electrodos con materiales que permitan obtener valores de E_{Cel} lo menos energéticamente posible y con ello optimizar los procesos, así como mejorar el desarrollo tecnológico del reactor

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Área Académica de Ciencias de la Tierra y Materiales. Laboratorio de Procesos Electroquímicos, Carr. Pachuca-Tulancingo km 4.5 s/n, Mineral de la Reforma, Hidalgo México, C.P. 42184. e-mails: reyescruz16@yahoo.com, mveloz@uaeh.edu.mx, miguelabra@hotmail.com.

² Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Depto. de Cátedras, Av. Insurgentes Sur 1582, Col. Crédito constructor, Del. Benito Juárez, Ciudad de México, CP 03940, México. e-mail: catseven78@gmail.com.

electroquímico y su rentabilidad [4]. Para determinar el E_{cel} de un reactor es necesario considerar todas las contribuciones presentes en el sistema electroquímico, como se muestra en la ecuación (1).

$$E_{cel} = E^{\circ} - E_a^{\circ} - \eta_c - \eta_a - R_{cel} - R_{cir} \quad (1)$$

Donde E_c° y E_a° son el potencial estándar catódico y anódico, η_c y η_a el sobrepotencial catódico y anódico, así como IR_{cel} e IR_{cir} son las resistencias de la celda y del circuito respectivamente. Por lo que, valores altos de resistencia repercuten en la termodinámica del reactor y por ello es necesario vencer estas barreras energéticas con otras variables que permitan ajustar condiciones de operación [5]. De acuerdo a lo anterior, la disminución de E_{cel} , se logra al utilizar materiales que catalicen la reacción catódica (evolución de H_2) [6], disminuyendo los valores de sobrepotencial catódico η_c de inicio de esta reacción. Este caso de estudio se enfoca en el análisis electroquímico de un reactor con compartimentos separados por una membrana para conocer su comportamiento de manera estándar al utilizar un electrodo de platino como cátodo para posteriormente evaluar diferentes materiales que catalicen la reacción catódica y lograr la disminución del potencial de celda que se obtenga a partir de este análisis.

Por otra parte, la caracterización y el análisis del comportamiento hidrodinámico es esencial para determinar las adecuadas condiciones de operación ya que se requiere que opere de manera óptima, para asegurar la transformación deseada y correcto funcionamiento. Para ello es necesario el estudio de la distribución de tiempos de residencia (DTR) [7] del reactor, el cual es una característica del grado de mezclado. Este parámetro es de especial importancia en un reactor electroquímico ya que la distribución del flujo de electrolito puede influir en la distribución de corriente del reactor [8]. La forma de estudiar este comportamiento es mediante el uso de un trazador físico que no reaccione y que al inyectarse se le aplica un pulso o escalón y se monitorea su entrada y salida del reactor [9]. Por otro lado, la determinación de la DTR en reactores electroquímicos se realiza mediante la construcción de una curva E vs tiempo que se refiere a la edad del flujo. Para ello es necesario hacer un tratamiento de datos obtenidos a partir de la concentración del trazador [10].

EXPERIMENTACIÓN

Todos los experimentos se realizaron con ayuda de un potenciostato-galvanostato marca PAR, modelo 263A, el cual procesa los datos mediante el software Suite 2.35.2 TM Análisis electroquímico

Se caracterizó la respuesta electroquímica utilizando un electrodo de titanio (Ti) como ánodo, un electrodo de platino (Pt) como cátodo y como referencia un electrodo de Calomel saturado (ECS). Utilizando como anolito HNO_3 a 2.4 mol L^{-1} y como catolito una solución de H_2SO_4 0.5 mol L^{-1} . Para evaluar la reacción catódica, se estudió como electrodo de trabajo al cátodo y se impuso un potencial a partir de circuito abierto (OCP); de -600 mV vs ECS . Mientras que, para evaluar la reacción anódica del reactor se estudió la respuesta del ánodo como electrodo de trabajo y se polarizó la celda hasta 2500 mV a partir de OCP. Evaluando 25 y 50 mVs^{-1} como velocidades de barrido para ambas reacciones.

Análisis hidrodinámico

Por otro lado, se realizó el estudio de la DTR mediante el método experimental utilizando como trazador una solución de CuSO_4 a una concentración de 0.05 mol L^{-1} el cual se inyectó en la entrada del reactor en un lapso de 10 s . Se utilizaron dos electrodos de cobre los cuales funcionaron como ánodo y cátodo respectivamente. Se empleó la técnica de cronoamperometría imponiendo un potencial de -500 mV . La reducción de las especies de sulfato fue monitoreada por el equipo en intervalos de 3 segundos durante un tiempo de 1500 segundos. Las velocidades evaluadas fueron de 0.64 , 0.75 , 1.15 , y 1.73 cm/s . Los datos obtenidos de las cronoamperometrías fueron tratados en el programa OriginPro 8 obteniendo un ajuste no lineal utilizando la ecuación (2). En donde i es corriente, y_0 la línea base, t es tiempo, t_m tiempo medio observado, w amplitud del pico y A el área bajo la curva.

$$i = y_0 + \frac{A}{2\pi w t} e^{-\ln\left(\frac{t}{t_m}\right)^2} \quad (2)$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis electroquímico.

En la Figura 1 se muestra el voltamperograma expresado en sobrepotencial (η/mV) y densidad de corriente (j/mAcm^{-2}) obtenido en el proceso catódico evaluando dos diferentes velocidades de barrido de 50 (Línea sólida) y 25 (línea punteada) mVs^{-1} .

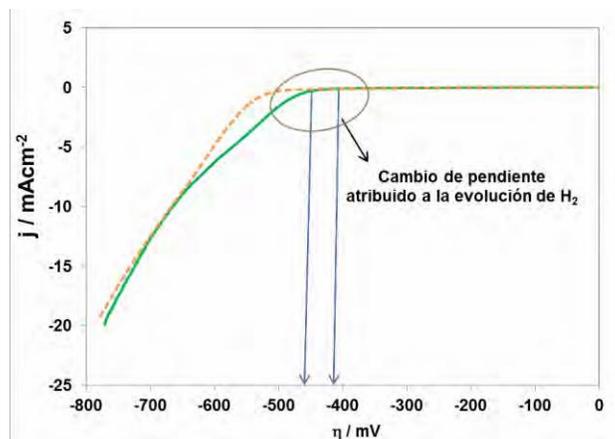


Figura 1. Respuestas de corriente catódicas, utilizando Pt como electrodo de trabajo a velocidades de barrido de potencial de 50 (—) y 25 (---) mVs^{-1} en un medio de HNO_3 2.4 mol L^{-1} .

Se observa para ambas velocidades, un cambio de pendiente asociado al inicio del proceso de evolución de hidrógeno con un valor de sobrepotencial de inicio de reducción de -510 y -480 mV con una densidad de corriente de -0.419 y -0.913 mAcm^{-2} para las velocidades de 25 y 50 mVs^{-1} respectivamente. Como se observó en ambos casos existe un incremento de la corriente atribuida a la reducción del medio electrolítico para dar lugar a la evolución del H_2 . Estos resultados indican que la velocidad de barrido mayor beneficia ligeramente el proceso de reducción de H_2 aunado al aumento de la corriente capacitiva como consecuencia del aumento de la velocidad de barrido de potencial.

Así mismo y para complementar el estudio de caracterización electroquímica, la reacción anódica fue evaluada como se muestra en la Figura 2 a dos velocidades de barrido de 50 (Línea sólida) y 25 (línea punteada) mVs^{-1} . Empleando como electrodo de trabajo el Ti y como contraelectrodo el Pt.

En ambos casos se observa que existe un incremento de la densidad de corriente atribuido a la evolución de oxígeno que se presenta a valores de sobrepotencial superiores a 1500 mV. Aunado al incremento de la corriente capacitiva por efecto del incremento de la velocidad de barrido de potencial.

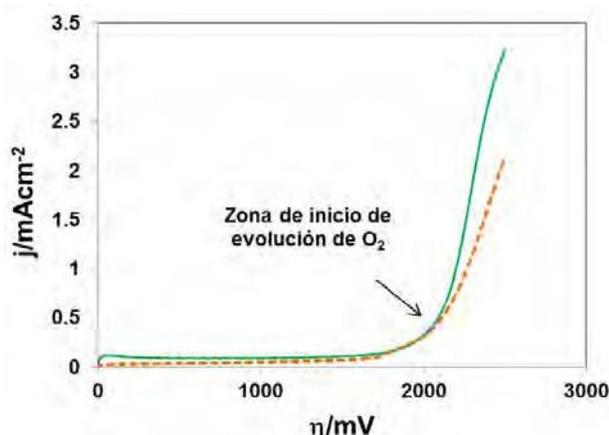
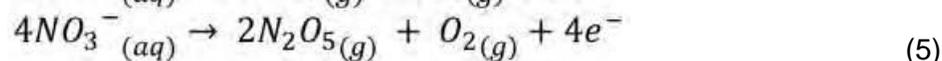
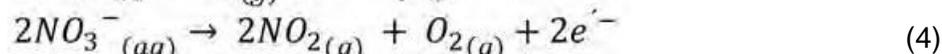
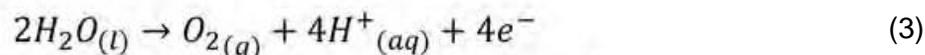


Figura 2. Respuestas de corriente anódicas, utilizando Pt como contra electrodo a velocidades de barrido de potencial de 50 (—) y 25 (---) mVs^{-1} en un medio de HNO_3 2.4 mol L^{-1} .

Se observa la aparición de la descomposición de las moléculas de agua como lo muestra la reacción (2) a un potencial estándar de 1877 mV Vs SHE, dando como resultado la aparición del muro de oxígeno. Así mismo, se observa que al utilizar una velocidad de barrido de 50 mVs^{-1} en comparación con la de 25 mVs^{-1} es posible obtener una mayor densidad de corriente; esto es posible asociarlo a que se presenta una transformación mayor de especies por efecto de una especie en disolución. Por lo que dicho incremento puede ser atribuido a la descomposición por oxidación de los nitratos presentes en la disolución, favoreciendo la formación de óxidos de nitrógeno ($E^0 = 1692$ mV Vs SHE) y posteriormente a pentóxidos de dinitrógeno ($E^0 = 1758$ mV Vs SHE) como se muestran en las reacciones (3) a la (5).



Para completar la caracterización electroquímica se realizó el cálculo de E_{Cel} aplicando la fórmula de la ecuación (1), para lo cual fue necesario obtener los productos IR tanto de la membrana como los electrolitos. Así mismo, se realizó la estandarización de los valores de

sobrepotencial tanto de reducción como de la oxidación del medio referenciados al electrodo estándar de hidrógeno; obteniendo así los valores de potencial de celda tanto en equilibrio como en polarización. Se obtuvo que para un estado en equilibrio de la celda el E_{Cel} fue de 755 mV y polarizada de 1842 mV Vs SHE.

Análisis hidrodinámico

En cuanto al análisis hidrodinámico, a partir de las cronoamperometrías se obtuvieron las curvas $i(t)$ y $E(t)$ Vs t mostradas en la Figura 3 a) y b) respectivamente. La curva $i(t)$ fue directamente obtenida como resultado de la corriente de reducción de la especie de Cu en la solución trazadora, observando que la especie termina de reducirse completamente en aproximadamente 700 segundos; sin embargo, para determinar de manera precisa un tiempo de residencia es necesario obtener el área bajo la curva y hacer el tratamiento de los datos. Obteniendo así la curva $E(t)$, la cual muestra los diferentes flujos estudiados. Se observó que no existe una tendencia entre los diferentes flujos que se estudiaron, ya que las de mayor velocidad de entrada presentan un tiempo más tardío en comparación con los de menor.

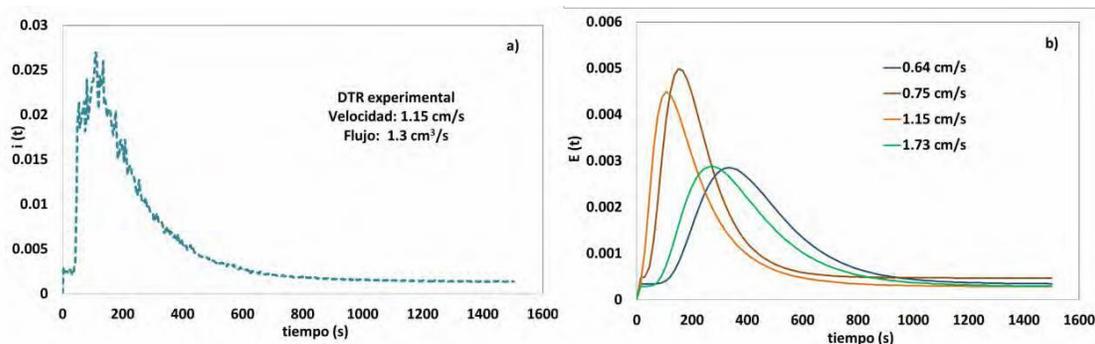


Figura 3. a) DTR experimental sin ajustar y b) DTR's ajustadas obtenidos a diferentes velocidades.

De igual manera, se observa que todas las curvas tienen una terminación coleada lo cual de acuerdo a la literatura se debe a que el reactor presenta zonas muertas en la parte baja. Este fenómeno repercutirá de manera benéfica al proceso de lixiviación ya que generará una cierta recirculación que permitirá el arrastre de las especies a la salida del reactor. Por otro lado, como se mencionó en la metodología, uno de los parámetros obtenidos del ajuste no lineal representa el tiempo medio observado lo cual se traduce a la DTR. Este t_m es el tiempo que tarda el flujo con

especie en salir del reactor, por lo cual entre menor sea quiere decir que optimiza el proceso. Dichos parámetros se muestran en la Tabla 1 para cada velocidad de entrada estudiada. Se observa que el menor valor de t_m , es a una velocidad 1.15 cm/s con un valor de 174.1 segundos.

Tabla 1. Valores obtenidos a partir del ajuste no lineal

Valores	0.64 cm/s	0.75 cm/s	1.15 cm/s	1.64 cm/s
y_0	0.004	0.002	0.001	0.002
t_m	388.1	403.2	174.1	259.7
W	0.396	0.432	0.691	0.535
A	11.362	5.629	5.257	8.059

CONCLUSIONES

Se estableció la operación en condiciones estándar del reactor utilizando como ánodo Ti y cátodo Pt mediante el análisis electroquímico; observando que la velocidad de barrido mayor influye de manera efectiva en el potencial y la densidad de corriente en los procesos de evolución de H_2 y de O_2 . Con ello fue posible obtener un valor de referencia para trabajar posteriormente en la optimización de dicho dispositivo. Por otro lado, el comportamiento hidrodinámico del reactor determinó que el valor óptimo obtenido fue a una velocidad de entrada 1.15 cm/s, obteniendo mediante el estudio de la DTR un t_m de 174.1 segundos. Además de que el comportamiento en cola de la curva representa procesos de recirculación de fluido dentro del reactor que beneficiará el proceso de lixiviación de los metales contenidos en el fondo del reactor.

AGRADECIMIENTOS

Los autores Jaret del Carmen Ramírez Castellanos y José Ángel Cobos Murcia agradecen al Conacyt, por la beca 709495 otorgada y al programa de Cátedras Conacyt, respectivamente.

REFERENCIAS

- [1] R. M. Almeida Freitas, S. D. Carvalho Da Costa, J. De Freitas Soares, & J. Marques Coura Aragao. Tratamiento de los aparatos electrónicos obsoletos que han sido utilizados en la generación de conocimiento. UMSA, 09-10 (2012).
- [2] A. Gómez Rodríguez. Lixiviación electroquímica de metales preciosos provenientes de algunos componentes de los desechos eléctricos y electrónicos. Pachuca, Hidalgo: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, tesis de licenciatura (2007).

- [3] D. Pletcher. Un primer curso de Procesos Electrónicos. España: Club Universitario, (1998).
- [4] K. Scott. Electrochemical Reaction Engineering. London: Academic Press (1991).
- [5] Gennero de Chialvo M., R., & Chialvo A., C. Electrochemistry Communications., **1**, 379, (1999).
- [6] J. Prabhuram, X. Wang, C. L. Hui, I. Ming Hsing. Synthesis and Characterization of Surfactant-Stabilized Pt/C Nanocatalysts for Fuel Cell Applications. Journal Physical Chemistry B, **107**, 11057-11064, (2003).
- [7] A. J. Frías Ferrer. Optimización de la hidrodinámica de reactores electroquímicos: empleo de métodos experimentales y numéricos. Alicante España: Universidad de Alicante, tesis doctoral (2004).
- [8] S. J. Newman. Electrochemical Systems, Second Edition. United States of America. Prentice Hall (1971).
- [9] H. Scott Fogler. Elements of chemical reaction engineering, Fourth Edition. United States of America. Prentice Hall (2006).
- [10] O. Levenspiel. Ingeniería de las reacciones químicas, Tercera edición. Limusa Wiley (2004).

EVALUACIÓN FUNDAMENTAL DE LOS MECANISMOS DE FORMACIÓN DE DEPÓSITO DE Ag_2S DURANTE LA RECUPERACIÓN DE PLATA DE LAS SOLUCIONES REVELADORAS RESIDUALES

Quinik Luis Reyes Morales¹
José Ángel Cobos Murcia^{2*}
Víctor Esteban Reyes Cruz¹
María Aurora Veloz Rodríguez¹

INTRODUCCIÓN

Durante el procesamiento analógico de imágenes radiográficas se generan residuos líquidos con concentraciones de plata de entre 900 y 11000 partes por millón (155.59 mM a 83.41 mM) [1]. Tal contenido se encuentra en forma de bis tiosulfato argentato, compuesto con propiedades ecotoxicas y bioacumulativas que hacen necesaria la aplicación de un tratamiento que facilite el disponer de estos efluentes [2]. Para cumplir con dicha tarea se han desarrollado múltiples técnicas que permiten la remoción y recuperación del contenido de plata complejada [5]. Una de las más destacables es el método electroquímico, pues hace uso de tecnología flexible, que permite la recuperación del metal noble en una forma refinada de alto valor agregado y requiere una cantidad mínima de consumibles durante su operación [6]. Sin embargo, este método se encuentra limitado por la incidencia de reacciones concomitantes, que interfieren con el mecanismo de reacción principal y disminuyen su eficiencia de recuperación a través de la formación de sulfuro de plata [5]. Para diseñar una estrategia que permita evitar la sulfuración del contenido argéntico de estas soluciones durante su tratamiento es necesario determinar las

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Ciencias de la Tierra y Materiales, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería. Laboratorio de Procesos Electroquímicos. Ciudad Universitaria, Carr. Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Pachuca, Hidalgo. México. C.P. 42076. Tel: +52 (771) 717 2000.

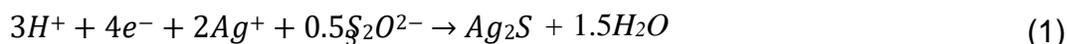
² Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Depto. de Cátedras, Av. Insurgentes Sur 1582, Col. Crédito constructor, Deleg. Benito Juárez, Ciudad de México, CP 03940, México. Tel: +52 (272) 722 66 76. e-mail: catseven78@gmail.com*

condiciones en las cuales dicho fenómeno parasitario se desenvuelve. Con este propósito, en el presente trabajo se estudiaron las energías de reacción de las interacciones catódicas y químicas a través de las cuales el bis tiosulfato argentato es capaz de generar Ag_2S , así como las condiciones de equilibrio químico necesarias para observar dicho comportamiento.

EXPERIMENTACIÓN

La determinación de la reacción electroquímica de sulfuración se realizó en dos fases; en la primera se utilizaron balances de cargas y masas para establecer las posibles interacciones catódicas donde el resultado fuera la formación del depósito de Ag_2S . Para esto se consideró al bis tiosulfato argentato como única especie de plata disponible para la reacción, pues su predominancia se ve asegurada gracias a las condiciones de equilibrio químico en la solución fijadora [2]; así como al tiosulfato como especie alternativa, gracias a su disponibilidad en las proximidades del cátodo [4]. La segunda fase consistió en la evaluación de las reacciones formuladas a través de sus energías de reacción y potenciales de semicelda, datos que fueron calculados a través del programa HSC Chemistry en su versión 5.11.

Para la construcción de los diagramas de especies y constantes condicionales, necesarios para el estudio de los equilibrios químicos relacionados con el proceso de sulfuración, se utilizaron los programas Hydra y Medusa. El equilibrio global de formación considerado para el sulfuro de plata cuenta con un $\log K$ de 50.447 y se muestra en la reacción 1:



Se utilizó un diagrama de Pourbaix para evaluar la formación de sulfuro en función de las variaciones de pH después del tratamiento y en función de la posición respecto del electrodo [3]. De igual manera, se examinó el efecto de los cambios en la concentración de plata y tiosulfato, relacionados con el mecanismo de depósito reportado [9] y la proximidad con los electrodos, a partir de cuatro diagramas de zonas de predominio. Estos últimos fueron construidos con potenciales cercanos a la generación de sulfuro, según el diagrama de Pourbaix, y considerando un pH de 6 y 5, para representar las condiciones previas y posteriores al tratamiento respectivamente [2].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las reacciones catódicas propuestas para la formación de sulfuro de plata se muestran a continuación:



Por otro lado, las reacciones formuladas para reducción de iones tiosulfato se muestran a continuación:

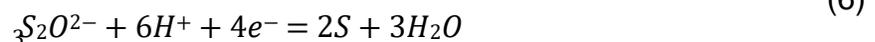
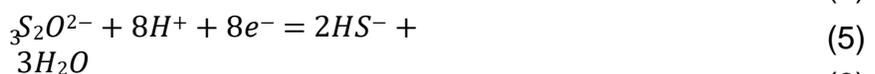
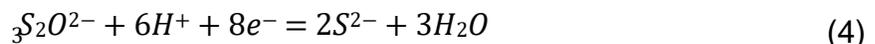


Tabla 1. Energías de formación y potenciales catódicos para las reacciones propuestas

Reacción	ΔG (kJ)	E vs. SHE (V)
(2)	-238.38	-0.077
(3)	-755.617	-0.245
(4)	-20.832	-0.027
(5)	-168.614	-0.219
(6)	-192.777	-0.5

Las energías libres de Gibbs y los potenciales de semicelda de las reacciones de consumo de $Ag_2(S_2O_3)_2^{3-}$ y $S_2O_3^{2-}$ se desglosan en la tabla siguiente.

Las energías libres de las reacciones 4, 5 y 6, de consumo de iones tiosulfato, muestran que dicho proceso es menos proclive a ocurrir que el consumo de bis tiosulfato argentato; esto se debe a la estabilidad que el sulfuro de plata presenta respecto a las otras especies de azufre. Al mismo tiempo, se revela que la formación de sulfuro de plata está más inclinada a ocurrir según lo muestra la reacción 3, generando iones sulfuro de hidrogeno como producto secundario. La naturaleza poco activa de las especies formadas por la reacción 3 la hacen capaz de sustituir al depósito de plata metálica como interacción catódica principal, dado que esta última cuenta con

una energía libre de -14.349 kJ. No obstante, el potencial que esta reacción concomitante requiere es mayor a los -149 mV que la reacción de depósito de plata necesita para llevarse a cabo [9].

Dicho resultado discrepa de lo obtenido experimentalmente, donde se observa la formación de sulfuro de plata aun imponiendo potenciales de celda menores a 50 mV, al igual que con lo reportado en la literatura, donde se relaciona la sulfuración con concentraciones de plata menores a 500 ppm (4.6×10^{-3}) [8].

Esta discrepancia puede explicarse según lo que se muestra en el diagrama de Pourbaix de la Figura 1.

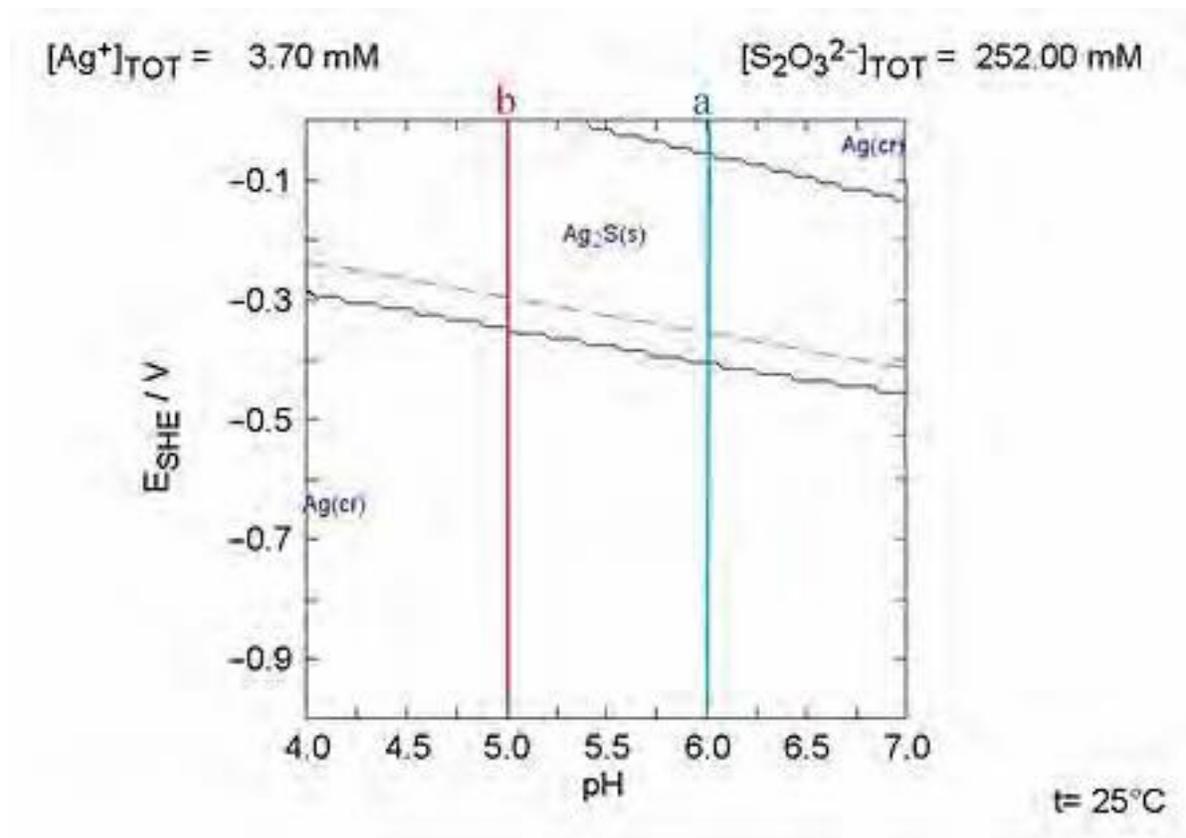


Figura 1. Diagrama de Pourbaix para la formación de Ag_2S con una concentración de 500 ppm (4.6×10^{-3}) de bis tiosulfato argentato; la línea a señala las condiciones de potencial en un pH inicial de 6, mientras que la línea b hace lo propio para un pH final de 5. La línea segmentada representa la barrera de hidrogeno para dicho sistema.

Es posible notar que la formación de sulfuro de plata requiere de menos energía conforme la solución disminuye su pH, esto se relaciona con el aumento en la disponibilidad de los protones necesarios para que la reacción 3 se lleve a cabo. El cambio observado se acentúa más en regiones cercanas al cátodo, donde la concentración de protones tiende a acumularse por efecto de la migración. Es posible observar como los límites de sulfuración en el pH inicial abarcan el intervalo entre los 50 y los 400 mV, mientras que al disminuir al pH a 5 el mismo intervalo comprende prácticamente desde el potencial 0 hasta los 350 mV.

El efecto del pH en el proceso de depósito de plata ya había sido observado en investigaciones anteriores, donde los cambios de potencial se habían atribuido a únicamente interacciones entre la superficie electródica y los iones tiosulfato, sin estudiar sus energías de reacción o equilibrios de formación [7]. Por lo que fueron descartadas en trabajos empíricos posteriores [8].

El efecto de la variación de la plata disponible en la solución y los cambios de concentración de los iones de tiosulfato, por efecto del mecanismo principal de depósito al principio del proceso, se muestran en el diagrama de zonas de predominio de la Figura 2.

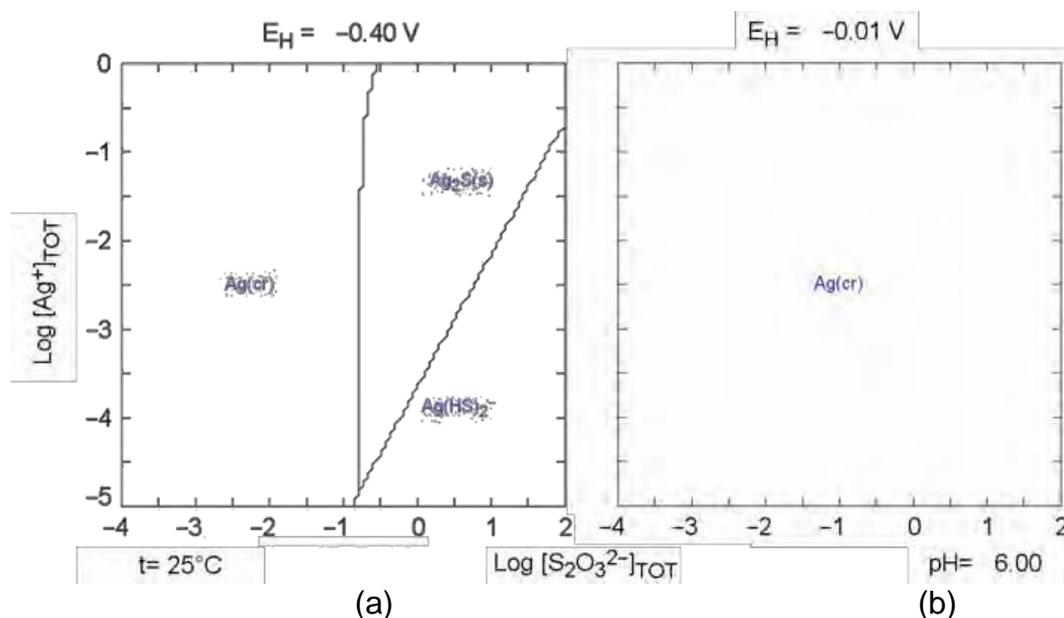


Figura 2. Diagramas de zonas de predominio para los límites de potencial menor (a) y mayor (b) del proceso de sulfuración, en un pH inicial de 6.

En la Figura 2 es posible observar como el potencial más catódico comienza a favorecer la formación de sulfuro de plata, aunque dicho fenómeno solo ocurre en concentraciones relativamente altas de tiosulfato. Estas condiciones se rápidamente alcanzadas en la proximidad

de los cátodos debido a la descomposición de bis tiosulfato argentato durante el proceso catódico de depósito; sin embargo, la constante merma en el contenido de plata que deriva de dicha reacción favorece la aparición de un complejo secundario en concentraciones cercanas a la mínima permitida por la NOM-147-SEMARNAT/SSA1- 2004 [3].

Los potenciales más anódicos, por otro lado, demostraron inhibir satisfactoriamente la sulfuración en el pH 6, así como el resto de los procesos acoplados, para cualquier concentración de iones tiosulfato y plata, permitiendo así mantener una condición de selectividad al principio del proceso.

Los mismos efectos fueron estudiados para un pH de 5, relacionado con un periodo posterior al tratamiento electroquímico; para su construcción se consideraron los mismos potenciales que en el estudio anterior. El diagrama resultante se muestra en la Figura 3, donde la sección 3(a) muestra como la sulfuración se vio disminuida a los -400 mV y da lugar a una reacción de depósito de plata, incluso en concentraciones relativamente altas de tiosulfato.

Mientras que la 3(b) muestra como la caída de pH favorece la formación de Ag_2S en el potencial más anódico, requiriéndose un sistema donde la cantidad de plata iguale a la de tiosulfato para poder obtener depósitos de plata metálica.

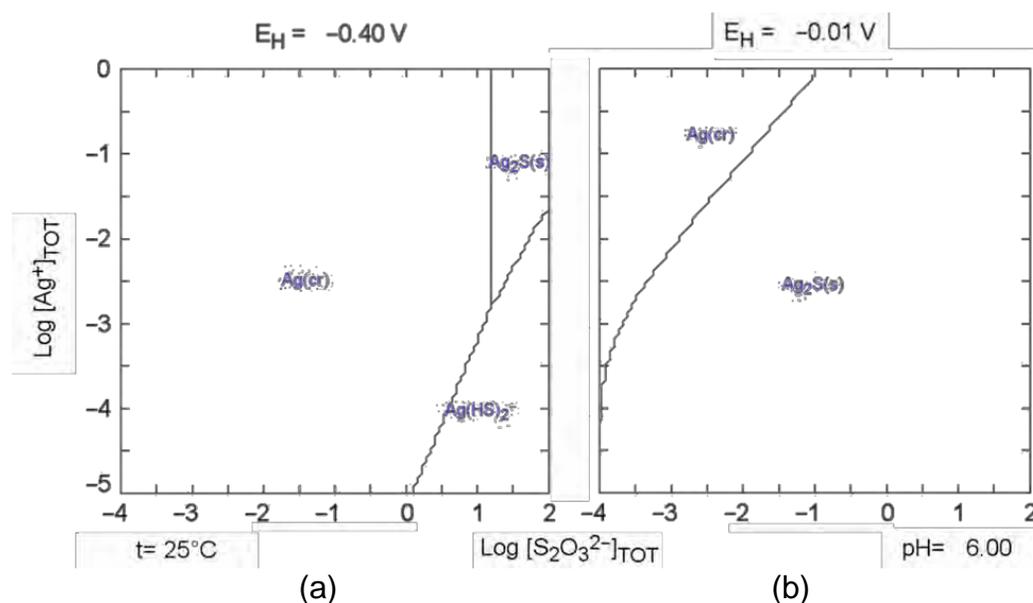


Figura 3.- Diagramas de zonas de predominio para los límites de potencial menor (a) y mayor (b) del proceso de sulfuración, en un pH terminal de 5.

El comportamiento observado en la Figura 3(b) se muestra poco probable en la región catódica, debido a la acumulación de iones tiosulfatos en la interfase del electrodo. Sin embargo, la imposición de un mayor potencial de celda podría llevar al electrodo negativo a las regiones de depósito nuevamente y prevalecer en dicha región mientras el proceso se vuelve más ácido al avanzar el tratamiento.

CONCLUSIONES

El pH de la solución demostró ser un elemento sumamente importante para la selectividad del proceso de recuperación de plata ya que, conforme menor es el mismo, se observa la pérdida de la región selectiva en potenciales mayores a los -100 mV. Al mismo tiempo, se aprecia un mayor intervalo de selectividad en potenciales menores a -300 mV, de manera que el depósito de plata metálica depende menos de la concentración de Ag y tiosulfatos y más del potencial de celda impuesto. Este comportamiento es indicativo de un cambio en el mecanismo de reacción de depósito, en el cual la disponibilidad de protones en la solución beneficia la estabilidad de la plata metálica por sobre la de las especies sulfurosas. A pesar de los beneficios de los potenciales más altos, existe el problema de la evolución de hidrógeno en el lado catódico. Dicha reacción concomitante disminuye la eficiencia de corriente y afecta la morfología de depósito. Una solución viable es el uso de una configuración electroquímica que permita llegar a potenciales de celda más altos, al inhibir la reacción de evolución de hidrógeno o bien la generación de protones, de manera que el pH se mantenga estable durante el proceso de depósito.

Otra forma propiciar la reacción de formación de plata metálica es alcalinizar la solución de trabajo. Esto es una solución más problemática, pues implica el agregar consumibles y posibles interferentes en el equilibrio químico de la solución.

AGRADECIMIENTOS

Los autores Q. L. Reyes Morales y J. A. Cobos Murcia agradecen al CONACyT, por la beca de posgrado otorgada y por el programa de Cátedras CONACyT, respectivamente. Así como a la UAEH por la información, apoyo e instalaciones prestadas.

REFERENCIAS

- [1] A. A. Melo López, V. E. Reyes Cruz. Estudios electroquímico preliminares en un reactor tipo prensa para la recuperación de Ag proveniente de los efluentes de la industria Fotográfica y Radiográfica. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo- Mineral de la Reforma. México. (2006).
- [2] A. C. Tapia Gonzales, I. Rivera Landero. Cinética de la reacción de precipitación de plata complejada con tiosulfatos. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo- Mineral de la Reforma. México. (2007)
- [3] C. G. Herver Lara, M. T. Leal Ascencio. Recuperación de palta de líquido fijador cansado por medio de un proceso electrolítico. Universidad Veracruzana- Xalapa. México. (2014).
- [4] J. A. Palacios Reséndiz, V. E. Reyes Cruz, M. A. Veloz Rodríguez. Electrodepósitos de plata provenientes de los desechos de la industria fotográfica. XV Congreso internacional de metalurgia extractiva- Hermosillo. México. (2006).
- [5] S. Syed. Silver recovery aqueous techniques from diverse sources Hydrometallurgy in Recycling. **50**. 234-256. (2016).
- [6] N. Mejía Domínguez, V. E. Reyes Cruz, M. A. Veloz Rodríguez. Electrorecuperación de Ag proveniente de efluentes radiográficos sobre A304 a diferentes potenciales en un reactor Batch. XXV -SMEQ- Zacatecas. México. (2011).
- [7] P. Adaikkalam, N. Sathaiyan, S. Visvanathan. Cyclic Voltammetric studies of the photographic fixer solution. **12**. 408-410. (1996).
- [8] P.F.A Prado, L. A. M. Ruotolo. Silver recovery from simulated photographic baths by electrochemical deposition avoiding Ag₂S formation. **4**. 3283-3292. (2016).
- [9] Q. L. Reyes Morales, J. A. Cobos Murcia, V. E. Reyes Cruz. Diseño y evaluación de un reactor electroquímico alimentado por energía fotovoltaica para la recuperación de plata de los residuos radiológicos líquidos. Universidad Veracruzana- Xalapa. México. (2018).

Materialles

OBTENCIÓN DE UNA FORMULACIÓN PARA LA DEGRADACIÓN DEL POLÍMERO BASE EN PIEZAS DE IMPRESIÓN 3D

Ana Lilia Padilla Velasco¹ *
Alejandro Moreno Hernández¹
Santa Toxqui López²
Ulises Ángel Peña Rosas³
Alejandra Castro Lino¹
Lidia Meléndez Balbuena¹

INTRODUCCIÓN

La impresión 3D, o manufactura aditiva, es un grupo de tecnologías de fabricación que, partiendo de un modelo digital, permiten manipular de manera automática distintos materiales y agregarlos capa a capa lanzando un haz de luz ultravioleta de forma muy precisa endureciéndose para construir un objeto en tres dimensiones.

Los tipos de impresión disponibles actualmente son de compactación, con una masa de polvo que se compacta por estratos, y de adición, o de inyección de polímeros, en las que el propio material se añade por capas; dependiendo del método de compactación utilizado se puede clasificar en: a) Impresoras 3D de tinta: utilizan una tinta aglomerante para compactar el polvo. El uso de una tinta permite la impresión en diferentes colores,

Impresoras 3D láser: un láser transfiere energía al polvo haciendo que se polimerice.

¹ Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Facultad de Ciencias Químicas. Departamento de Química Inorgánica. San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9. Ciudad Universitaria, Col. San Manuel. Puebla Pue. C.P. 72540. Tel: 01(222) 229 55 00 ext. 7390 y 01(222)229 55 00 ext. 2835. e-mail: anapadi21@yahoo.com.mx

² Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Facultad de Ingeniería. Área de tronco común. Boulevard Valsequillo s/n, San Manuel, Edificio ING 2. Ciudad Universitaria, Col. San Manuel. Puebla Pue. C.P. 72570. Tel: 01(222) 229 55 00 ext. 7610. e-mail: stoxqui72@hotmail.com

³ Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Facultad de Ciencias Químicas. Departamento de Química Analítica. San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9. Ciudad Universitaria, Col. San Manuel. Puebla Pue. C.P. 72540. Tel: 01(222) 229 55 00 ext. 7390. e-mail: quim_perua@hotmail.com.

Después se sumerge en un líquido que hace que las zonas polimerizadas se solidifiquen [1].

También existe una gran diversidad de métodos disponibles para la impresión 3D. Sus principales diferencias se encuentran en la forma en la que se usan las diferentes capas para crear piezas. Algunos métodos como el modelado por deposición fundida (FDM) o el sinterizado selectivo por láser (SLS) utilizan fundido o ablandamiento del material para producir las capas, mientras que otros depositan materiales líquidos que son tratados con diferentes tecnologías [2].

Además de sus innumerables ventajas, la impresión 3D cuenta también con una serie de inconvenientes como son el uso limitado de materiales, tamaño limitado de los productos, creación de productos peligrosos, costo elevado de las impresoras y en algunos casos la limpieza de los productos terminados que dependiendo de la complejidad de la pieza puede tardar hasta 18 horas (Figura 1).



(a)



(b)

Figura 1. a) pieza impresa 3D sin limpiar y b) pieza impresa en 3D limpia.

Es por ello que nuestro objetivo es crear una formulación que degrade el polímero base (poliamida) de las piezas impresas en 3D en un tiempo corto, sin cambiar las propiedades físicas de color y dureza de las piezas terminadas.

EXPERIMENTACIÓN

Reactivos.

Todos los ácidos, bases y disolventes se utilizaron sin previo tratamiento y fueron adquiridos comercialmente.

Material de vidrio.

Todo el material de vidrio utilizado se sometió a tratamientos físicos (lavados con agua y jabón) y químicos (baño básico y ácido) para su limpieza total.

Baño básico: Solución acuosa al 10% (v/v) de KOH. Baño ácido: Solución acuosa al 10% (v/v) de HCl.

Formulación Propuesta.

Reactivo 1^a: Disolver 300 g de KOH en 700 mL de agua destilada (esta disolución es exotérmica). Dejar que la solución adquiriera la temperatura ambiente antes de utilizarla.

Reactivo 2^b. Alcohol isopropílico (2-Propanol) grado reactivo.

Reactivo 3^c. N-metil-2-pirrolidona (NMP) grado reactivo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizaron pruebas de solubilidad del polímero base (poliamida) en disoluciones de ácidos fuertes y débiles: ácido clorhídrico (HCl), ácido sulfúrico (H₂SO₄), ácido perclórico (HClO₄), ácido nítrico (HNO₃), ácido acético (CH₃COOH), ácido fosfórico (H₃PO₄) y ácido fórmico (HCOOH), observando que el polímero base no sufre ningún cambio, no importa la concentración, todas las disoluciones se monitorearon en un tiempo de 30 minutos (tabla 1).

Tabla 1. Prueba de solubilidad del polímero base en ácidos.

Disolución acuosa (v/v)	10%	20%	30%	40%	50%
ácido clorhídrico (HCl)	NS	NS	NS	PS	PS
ácido sulfúrico (H ₂ SO ₄)	NS	NS	NS	PS	PS
ácido perclórico (HClO ₄)	NS	NS	NS	NS	NS
ácido nítrico (HNO ₃)	NS	NS	NS	NS	NS
ácido acético (CH ₃ COOH)	NS	NS	NS	NS	NS
ácido fosfórico (H ₃ PO ₄)	NS	NS	NS	NS	NS
ácido fórmico (HCOOH)	NS	NS	NS	NS	NS

NS= No Soluble PS= Poco Soluble

También se realizaron pruebas de solubilidad del polímero base (poliamida) en disoluciones de bases fuertes y débiles: hidróxido de sodio (NaOH), hidróxido de litio (LiOH), hidróxido de potasio (KOH), e hidróxido de amonio (NH₄OH), observando que el polímero base se disuelve en NaOH y KOH, pero el mejor comportamiento es con el hidróxido de potasio, todas las disoluciones se monitorearon en un tiempo de 30 minutos (tabla 2).

Tabla 2. Prueba de solubilidad del polímero base en bases.

Disolución acuosa (v/v)	10%	20%	30%	40%	50%
Hidróxido de sodio (NaOH)	NS	NS	PS	PS	PS
Hidróxido de litio (LiOH)	NS	NS	NS	NS	NS
Hidróxido de potasio (KOH)	NS	PS	PS	PS	S
Hidróxido de amonio (NH ₄ OH)	NS	NS	NS	NS	NS

NS= No Soluble PS= Poco Soluble S= Soluble

De igual manera se realizó la prueba de solubilidad con algunos disolventes orgánicos, encontrando que tanto el 2-propanol y la N-metil-2-pirrolidona solubilizan al polímero base, monitoreadas en un tiempo de 30 minutos (tabla 3).

Tabla 3. Prueba de solubilidad del polímero base en disolventes orgánicos.

Acetona	NS
Benceno	NS
2-Propanol	S
N-metil-2-pirrolidona	S
Hexano	NS
Acetato de etilo	NS
Tolueno	NS
Xileno	NS

NS= No Soluble S= Soluble

Se realizaron varias formulaciones con el hidróxido de potasio, el 2-propanol y la N-metil-2-pirrolidona, encontrando que sólo la formulación realizada con 20 mL del reactivo 1^a, 4 mL del reactivo 2^b y 2 mL del reactivo 3^c, logra solubilizar el polímero base de las piezas impresas 3D en un tiempo máximo de 30 minutos (Figura 2).

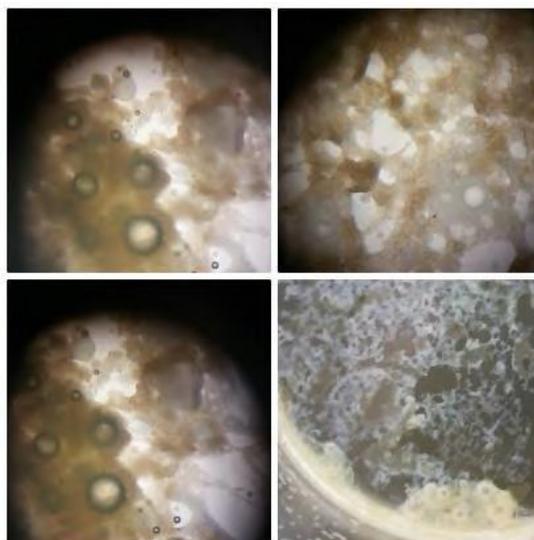


Figura 2. Visualización del polímero base en la formulación propuesta después de 30 min. Las piezas son colocadas por inmersión en la formulación, tomando los tiempos de reacción, encontrando que, en piezas pequeñas, el polímero base se desprendió en un tiempo entre 20 a 30 minutos, incluso se observó que la solución empieza a cambiar de color transparente a un tono amarillo intenso (Figura 3). Pero si se pasa de 40 minutos la pieza empieza a deformarse.

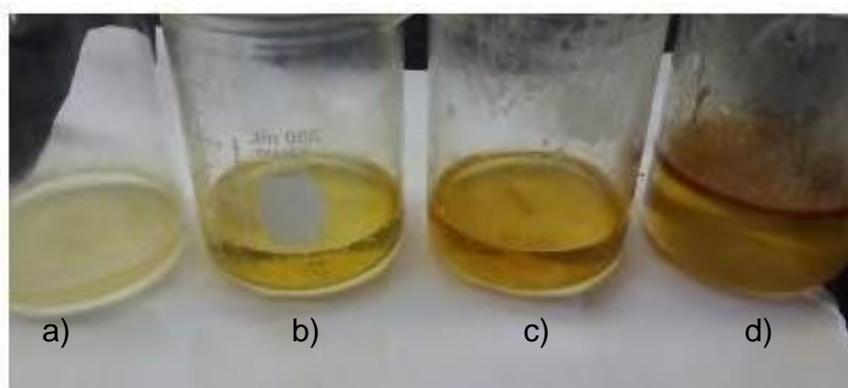


Figura 3. Fotografía de la solución expuesta con el polímero base en: a) 10 min, b) 15 min, c) 20 min y d) 30 min.

Transcurrido el tiempo, se sacaron las piezas y se enjuagaron con agua de la llave, como se muestra en la Figura 4, encontrando que: a) cuando sólo llevan 15 minutos en la formulación, la pieza muestra gran cantidad de residuos del polímero base, b) cuando llevan 20 minutos en la formulación, tiene polímero base, pero en menor superficie, c) cuando llevan 25 minutos en la formulación, aún en algunas de las líneas de la pieza muestra polímero base y d) cuando lleva 30 minutos en la formulación, la pieza se limpia totalmente.

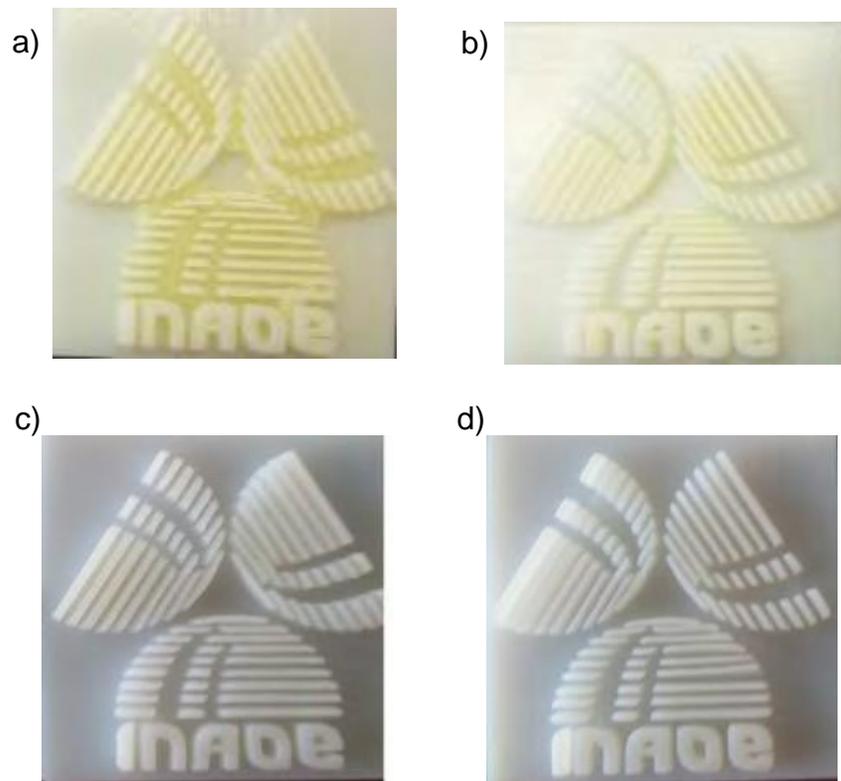


Figura 4. a) pieza con 15 minutos en la formulación, b) pieza con 20 minutos en la formulación, c) pieza con 25 minutos en la formulación y d) pieza con 30 minutos en la formulación.

CONCLUSIONES

Se elaboró una formulación para degradación del polímero base (poliamida) en piezas impresas en 3D logrando optimizar el tiempo de limpieza que antes era de hasta 18 horas dependiendo de la complejidad milimétrica, alcanzando un tiempo máximo de media hora para piezas pequeñas.

Las piezas después de ser sometidas a la formulación no cambian sus propiedades físicas de color y dureza, siempre que sea la inmersión en un tiempo máximo en 30 minutos, después de ese tiempo la pieza comienza a deformarse debido a que es el mismo polímero (poliamida), solo que al imprimir la pieza se deposita capa a capa lanzando un haz de luz ultravioleta de forma muy precisa endureciéndose para construir la pieza en tres dimensiones.

REFERENCIAS

- [1] A. Jorquera Ortega. Fabricación digital: Introducción al modelo e impresión 3D. Ministerio de Educación, Cultura y Deperte. España. (2015).
- [2] J. Fontrodona Francolí, R. Blanco Díaz. Estado Actual y perspectivas de la Impresión en 3D. Generalitat de Catalunya. España. (2014).
- [3] F. W. Bullmeyer. Ciencia de los polímeros. Reverte, S.A. España. (2004).

OBTENCIÓN DE PELÍCULAS TERMOPLASTIFICADAS DE ARABINOXILANOS EXTRAÍDOS DE BAGAZO DE CEBADA Y SU APLICACIÓN COMO MATRICES DE LIBERACIÓN DE CAFEÍNA

Jesús Guadalupe Pérez Flores¹
Araceli Castañeda Ovando^{1*}
Elizabeth Contreras López¹
Mirandeli Bautista Ávila²
Claudia Velázquez González²
Raquel Cariño Cortés³

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, se ha incrementado el interés por utilizar la biomasa procedente de los procesos agroindustriales, tales como el bagazo de cebada (BSG) generado por la industria cervecera, el cual es un subproducto valioso en términos de cantidad producida y composición química. El BSG se ha utilizado para alimentar animales, para producir energía y también se ha estudiado su uso en la nutrición humana. No obstante, por su composición química, es un buen candidato para utilizarse como fuente de biopolímeros [1,2].

Por otra parte, las hemicelulosas se han convertido en la segunda fuente vegetal renovable, siendo los arabinosilanos (AX) los compuestos más abundantes [3], los cuales consisten en una cadena principal de β -D-xilopiranosil (β -D-Xilp) unida por enlaces β - (1 \rightarrow 4), en la que los grupos α -L-arabinofuranosil (α -L-Araf) están unidos por enlaces α - (1 \rightarrow 3) y/o α -(1 \rightarrow 2) [4]. Algunos residuos de α -L-Araf pueden presentar ácido ferúlico (ácido 4-hidroxi-3-metoxi-cinámico, AF) unido en la posición (O)-5, por medio de un enlace éster y se denominan arabinosilanos ferulados (AXF) [5].

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química, Laboratorio de Físicoquímica de Alimentos II. Ciudad Universitaria, Carr. Pachuca- Tulancingo km. 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo. México. C.P. 42184. Tel: +52 (771) 717 2000 ext. 2512. e-mail: ovandoa@uaeh.edu.mx

² Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Farmacia. Ex- Hacienda de la Concepción, Tilcuautla, Pachuca, Hidalgo. México. C.P. 42080.

³ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Medicina. Campus Ramírez Ulloa, Calle Dr. Eliseo Ramírez Ulloa 400, Col. Doctores, Pachuca, Hidalgo. México. C.P. 42090.

Algunas investigaciones han reportado el potencial de los AX como materia prima para producir películas [3,6,7]. Entre las aplicaciones que se han estudiado para estos polisacáridos se encuentran: desarrollo de fibras para el vendaje de heridas [8], producción de hidrogeles por copolimerización con otros materiales sintéticos [9], elaboración de una crema con propiedades antioxidantes [10] y evaluación como acarreadores de fármacos [11].

Por otro lado, estudios previos han demostrado que los hidrogeles de AXF inducidos por vía enzimática, también podrían ser empleados como vehículos de liberación controlada de moléculas activas con aplicaciones biomédicas; por ejemplo, insulina [12,13], metilxantinas [14], probióticos [15] y licopeno [16]. Este tipo de sistemas presenta varios beneficios, ya que al ser basados en polisacáridos; son naturales, no tóxicos y altamente biocompatibles, lo que los convierte en buenos candidatos para el diseño de nuevos sistemas de administración de fármacos [11,14].

Por lo que, el objetivo de este trabajo fue evaluar la aplicación de películas termoplastificadas, elaboradas a partir de arabinosilanos de bagazo de cebada (BSG- AX), como matrices de liberación de cafeína. Los resultados permitirán diseñar vehículos de liberación controlada de otros fármacos y/o aditivos alimentarios.

EXPERIMENTACIÓN

Obtención de la película termoplastificada

A 10 mL de agua desionizada se le adicionaron 500 mg de BSG-AX (previamente obtenido por extracción alcalina), 100 mg de glicerol y 65 mg de cafeína (como compuesto modelo). La mezcla se mantuvo en agitación a 500 rpm y 25°C, por 6 h. Paralelamente, se elaboró una película sin cafeína para ser utilizada como control. Las dispersiones se depositaron en una caja de metal de 6x6 cm y se secaron a 60°C, durante 2 h (Figura 1A).

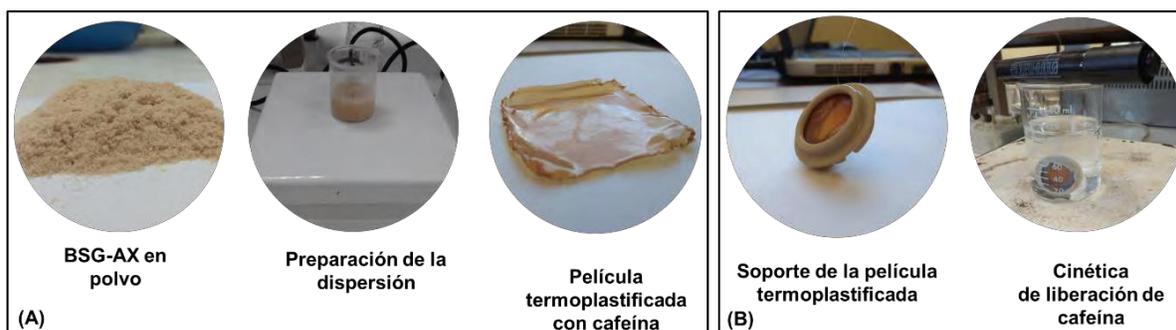


Figura 1. Procedimiento para la evaluación de la liberación de cafeína. (A) Preparación de la película termoplastificada de BSG-AX con cafeína. (B) Cinética de liberación de cafeína.

Cinéticas de liberación de cafeína

Las películas secas se montaron en un dispositivo de plástico, para realizar la cinética de liberación de cafeína (Figura 1B).

Las películas soportadas se introdujeron en un vaso de precipitados que contenía 100 mL de agua desionizada y el sistema se mantuvo a 25°C y agitación constante (100 rpm). Para evaluar la cantidad de cafeína liberada de la película, se tomaron alícuotas de 100µL cada 30 min, durante 8.5 h. Cada alícuota se aforó a 10 mL y se le midió la absorbancia a 273 nm (máximo de absorción para la cafeína).

La determinación de la cafeína se realizó por interpolación a una curva de calibración ($C_{\text{cafeína}}$ vs Absorbancia) que se construyó con nueve estándares en el intervalo de 2-18 mg L⁻¹.

Análisis cinético de liberación de cafeína

La relación potencial empírica (Ecuación 1) se utilizó para determinar si el mecanismo de difusión del fármaco a través de la matriz polimérica es de tipo fickiano, no-fickiano o caso-II [17].

$$\ln \frac{W_t}{W_\infty} = \ln k_p + n \ln t \quad (1)$$

Los datos de liberación de cafeína se analizaron con la ecuación de Higuchi (Ecuación 2), para determinar el coeficiente de difusión [18].

$$\frac{W_t}{W_\infty} = k_H t^{1/2} \quad (2)$$

donde: W_t/W_∞ es la fracción de cafeína liberada en el tiempo t ; k_p es la constante de relación potencial, característica del sistema polímero-fármaco; n es el exponente de difusión y k_H es la constante de liberación de Higuchi.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la cinética de liberación de cafeína se muestran en la Figura 2. El porcentaje de liberación de cafeína (Figura 2A) se calculó a partir de la Ecuación 3.

$$\%Liberación = \frac{m_2}{m_1} \times 100 \quad (3)$$

donde: m_1 es la masa de la cafeína inicial en la película y m_2 es la masa de cafeína liberada a la disolución acuosa (en cada t).

En la Figura 2B se presenta la cinética de liberación en función a la liberación acumulada de la cafeína (W_t/W_∞), a partir del vehículo de BSG-AX.

A pesar de que no se calculó el índice de hinchamiento de la película, cuando se llevó a cabo la cinética de liberación se observó que el material se hinchó en función del tiempo, por lo que se puede considerar una matriz hinchable.

De acuerdo con reportes previos [11], la liberación de un fármaco a partir de una matriz hinchable comienza con la difusión del agua hacia el interior de la matriz, hidrata al polímero, disuelve el fármaco, provoca la relajación de las cadenas del polímero y finalmente, el fármaco se difunde hacia el medio. Por ello, la liberación del fármaco depende en gran medida de la solubilidad que tenga éste en el medio de disolución.

La gráfica mostrada en la Figura 2B se linealizó mediante las ecuaciones de relación potencial (Figura 3A) y Higuchi (Figura 3B), con la finalidad de determinar el mecanismo de liberación y determinar el coeficiente de difusión.

A partir de la pendiente e intersección en el eje de la relación potencial (Figura 3A), se calculó el exponente de difusión ($n=0.41\pm 0.01$) y la constante de relación potencial ($k_p=0.53$), los cuales son específicos para el sistema BSG-AX/cafeína.

Se ha reportado que los valores de $n=0.5$ o cercanos sugieren que la difusión del fármaco a través de la matriz polimérica es de tipo fickiano y es dependiente de la raíz cuadrada del tiempo ($t^{1/2}$) [17,19].

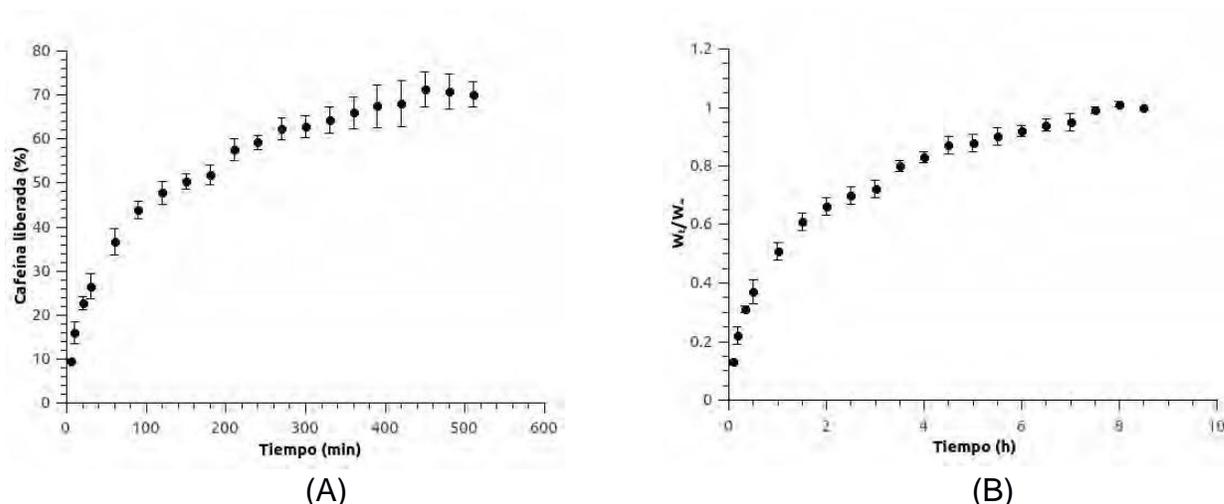


Figura 2. Cinética de liberación de cafeína a partir de un vehículo elaborado con BSG- AX. (A) Porcentaje de cafeína liberada en función del tiempo. (B) Liberación acumulada (W_t/W_∞) de cafeína en función del tiempo.

Por lo anterior, el patrón de liberación de la cafeína a través de la película termoplastificada de BSG-AX se puede considerar de tipo fickiano ($n=0.41$), el resultado se atribuyó a que la liberación de la cafeína está regulada por la velocidad de difusión del agua hacia el interior de la matriz polimérica y su velocidad de hinchamiento, pero ambos fenómenos no son comparables [17]; es decir, la velocidad de relajación de las cadenas poliméricas es mayor a la velocidad de penetración del medio (agua).

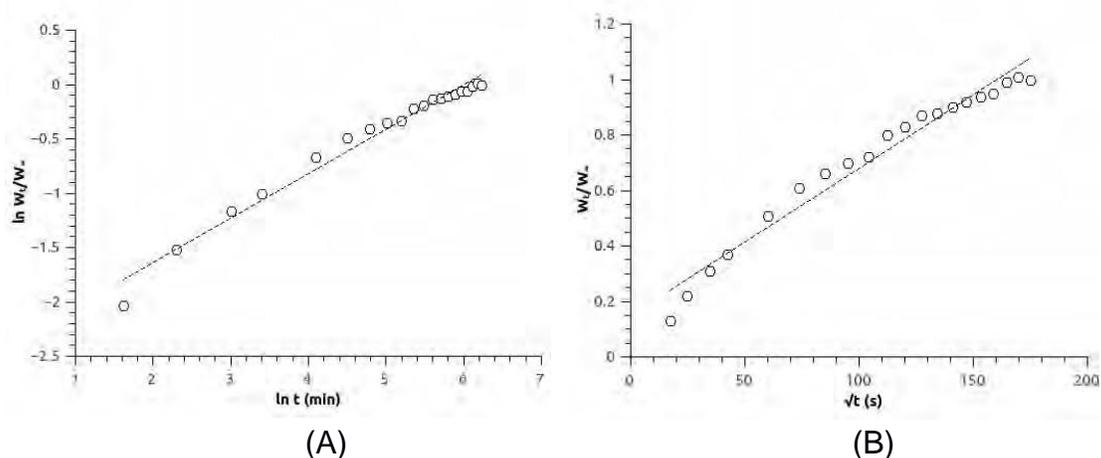


Figura 3. Representaciones linealizadas para la liberación de la cafeína a 25°C. Representación de la ecuación de: (A) Relación potencial, basada en la ley de Fick ($r^2=0.975$) y (B) Higuchi ($r^2=0.965$).

Como la liberación de la cafeína está controlada por un mecanismo fickiano y dependiente de la raíz cuadrada del tiempo ($t^{1/2}$), se puede determinar la constante de liberación (k_H), mediante la ecuación de Higuchi (Ecuación 2) [11,14,16], a partir de la cual se grafica la liberación acumulada de la cafeína (W_t/W_∞), en función de $t^{1/2}$ (Figura 3B).

Los parámetros de liberación de cafeína a partir del vehículo de BSG-AX, se muestran en la Tabla 1. Estos resultados son prometedores para la aplicación de las películas basadas en BSG-AX en el diseño de vehículos para la liberación controlada de compuestos activos.

Tabla 1. Parámetros de liberación de cafeína a partir del vehículo de BSG-AX.

BSG-AX (%)	k_H ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$) $\times 10^{-3}$	Cafeína liberada (%) ^a
5	5.4 \pm 0.2	70.13 \pm 2.92

Los valores son los promedios de 3 réplicas. ^aMasa de cafeína liberada después de 8.5 h de incubación del vehículo de BSG-AX/masa de cafeína embebida inicialmente en el vehículo.

CONCLUSIONES

La cafeína embebida en la disolución de BSG-AX, no interfiere con la formación de la película. La mayor parte de la cafeína embebida en el vehículo es liberada por difusión, mientras que lo demás podría ser liberado después de la degradación de la película de BSG-AX por parte de la microbiota en el colon. Los resultados indican que las películas de BSG-AX podrían ser matrices de liberación de compuestos bioactivos. Estudios adicionales ayudarían a evaluar el efecto de la concentración de los BSG-AX, del agente plastificante y de la cafeína, sobre los valores de los coeficientes de difusión y del porcentaje de cafeína liberado.

AGRADECIMIENTOS

J.G.P.F. agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para realizar los estudios de doctorado. A.C.O., E.C.L., M.B.A., C.V.G. y R.C.C. agradecen al SNI por el estímulo económico recibido.

REFERENCIAS

- [1] S.I. Mussatto. Journal of the Science of Food and Agriculture. **94**, 1264-1275 (2014).
- [2] B. Bartolomé, M. Santos, J.J. Jiménez, M.J. Del Nozal, C. Gómez-Cordovés. Journal of Cereal Science. **36**, 51-58 (2002).
- [3] A. Höije, M. Gröndahl, K. Tømmerraas, P. Gatenholm. Carbohydrate Polymers. **61**, 266-275 (2005).

- [4] E.L. Adams, P.A. Kroon, G. Williamson, V.J. Morris. *Carbohydrate Research*. **338**, 771-780 (2003).
- [5] F.E. Ayala-Soto, S.O. Serna-Saldívar, J. Welti-Chanes. *Food Hydrocolloids*. **60**, 21-28 (2016).
- [6] A. Hoije, E. Sternemalm, S. Heikkinen, M. Tenkanen, P. Gatenholm. *Biomacromolecules*. **9**, 2042-2047 (2008).
- [7] C. Péroval, F. Debeaufort, D. Despré, A. Voilley. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **50**, 3977-3983 (2002).
- [8] M. Mirafteb, Q. Qiao, J.F. Kennedy, S.C. Anand, M. R. Grocock. *Carbohydrate Polymers*. **53**, 225-231 (2003) M. Söderqvist Lindblad, E. Ranucci, A.C. Albertsson. *Macromolecular Rapid Communications*. **22**, 962-967 (2001).
- [9] Y. Li, C. Yang. *International Journal of Cosmetic Science*. **38**, 238-245 (2016).
- [10] M.S. Iqbal, J. Akbar, M.A. Hussain, S. Saghir, M. Sher. *Carbohydrate Polymers*. **83**, 1218-1225 (2011).
- [11] A.M. Morales-Burgos, E. Carvajal-Millan, N. Sotelo-Cruz, A.C. Campa-Mada, A. Rascón-Chu, Y. Lopez-Franco, J. Lizardi-Mendoza. *Polysaccharides in Alternative Methods for Insulin Delivery. In: Biopolymer Grafting: Synthesis and Properties* (Vijay Kumar Thakur, Ed.), 2° Ed., Elsevier Inc. (2018).
- [12] E. Carvajal-Millán, C. Berlanga-Reyes, A. Rascón-Chu, A.L. Martínez-López, J.A. Márquez-Escalante, A.C. Campa-Mada, K.G. Martínez-Robinson. *MRS Online Proceedings Library Archive*, 1487 (2012).
- [13] S. Irvani, C.S. Fitchett, D.M. Georget. *Carbohydrate Polymers*. **85**, [1] 201-207 (2011).
- [14] A. Morales-Ortega, E. Carvajal-Millan, F. Brown-Bojorquez, A. Rascón-Chu, P. Torres-Chavez, Y.L. López-Franco, J. Lizardi-Mendoza, A.L. Martínez-López, A.C. Campa-Mada. *Molecules*. **19**, [3] 3628-3637 (2014).
- [15] A.B. Hernández-Espinoza, M.I. Piñón-Muñiz, A. Rascón-Chu, V.M. Santana-Rodríguez, E. Carvajal-Millan. *Molecules*. **17**, [3] 2428-2436 (2012).
- [16] F. Ganji, F.S. Vasheghani, F.E. Vasheghani. *Iranian Polymer Journal*. **19**, [5] 375-398 (2010).
- [17] T. Higuchi. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **52**, [12] 1145-1149 (1963).
- [18] J. Wang, W. Wu, Z. Lin. *Journal of applied polymer science*. **109**, [5] 3018-3023 (2008).

EFECTO DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO TIPO BAMBÚ SOBRE LA RESPUESTA ELECTROQUÍMICA DE LA L-DOPA

Yessica Pazarán García¹
Silvia Corona Avendaño ^{1*}
María Teresa. Ramírez-Silva²
Manuel Eduardo Palomar-Pardavé ¹
Mario Alberto Romero-Romo¹

INTRODUCCIÓN

La 3,4 dihidroxifenilalanina mejor conocida como L-DOPA (L-D) Figura 1, es un aminoácido de gran importancia para la industria farmacéutica, ya que su uso principal es para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson (Pk), cuyo padecimiento se ha relacionado directamente a la deficiencia de Dopamina (DA) en el cerebro. La L-D juega un rol importante en el tratamiento del (Pk) ya que es administrada vía oral al cuerpo humano, con la finalidad de atravesar la barrera sanguínea encefálica y así convertirse en DA. A pesar de que resulta ser un control exitoso, un exceso en la ingesta de este aminoácido, presenta efectos secundarios como son náuseas y vómito, es por ello que el control en las dosis adecuadas es sumamente importante, por lo que el desarrollo de métodos que permitan su determinación en forma sencilla, rápida y confiable es de suma relevancia [1,2].

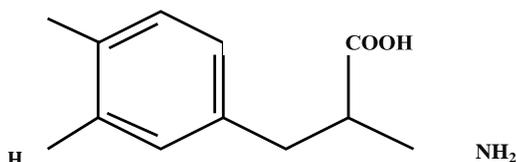


Figura 1. Estructura química de la L-D

¹ Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Azcapotzalco, Departamento de Materiales, Av. San Pablo 180, Col. Reynosa-Tamaulipas, Distrito Federal, C.P. 02200. Tel: +52 (55) 53189472. e-mail: sylvia_cav@yahoo.com.mx.

²Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Departamento de Química, Área de Química Analítica, C.P. 09340, Ciudad de México, México. e-mail: mtrs218@hotmail.com

Una alternativa viable es el desarrollo de técnicas electroquímicas, las cuales presentan diversas ventajas sobre otros métodos de análisis, siendo una de las más relevantes el uso de electrodos modificados con diversos materiales que permiten obtener parámetros analíticos competitivos. En la literatura se han reportado un gran número de modificaciones, con distintos materiales, que buscan hacer determinaciones y cuantificaciones más efectivas, uno de los mayores retos es desarrollar sensores que puedan hacer determinaciones simultáneas, en muestras reales. Para ello, unos de los candidatos idóneos son los materiales nanoestructurados, en donde destaca el uso de los nanotubos de carbono tipo bambú (NTCb), debido a que presentan propiedades electrónicas excepcionales, que favorecen la transferencia electrónica para diferentes sistemas redox [3], debido a su reciente uso, aún no hay reportes en la literatura para la determinación de L-D. Estos materiales han sido utilizados para modificar la superficie de electrodos de carbón vítreo, sin embargo, debido a la naturaleza de estos es necesario realizar una serie de adecuaciones que permitan a los nanotubos adherirse a su superficie, implicando que el proceso de modificación sea complejo alargando los tiempos de determinación [4]. Una alternativa a esta desventaja es emplear electrodos de pasta de carbono (EPC) ya que presentan ventajas como su fácil preparación, su costo es menor comparado con el carbón vítreo, la superficie se renueva con facilidad y además la estructura porosa permite una mayor interacción con las nanoestructuras.

Aprovechando las ventajas de los EPC, y de los NTCb en este trabajo se propone conocer la respuesta del electrodo al modificar su superficie con las nanoestructuras (EPC/NTCb), para la determinación de L-DOPA.

EXPERIMENTACIÓN

Los estudios se realizaron en un potenciostato-galvanostato marca AUTOLAB PGSTAT 100, por la técnica de Voltamperometría Cíclica, en una celda típica con tres electrodos: como contraelectrodo un alambre de platino, como electrodo de referencia un electrodo de Ag/AgCl_{sat.} y EPC - EPC/NTCb como electrodos de trabajo. Como electrolito soporte se utilizó una disolución 0.1 M NaCl (J. T. Baker) pH 7, la solución madre 0.002 M de L- D (Sigma-Aldrich).

Para la construcción del EPC se siguió la metodología propuesta por Ramírez-Silva y colaboradores [5]. La cual consiste en mezclar grafito (Johnson Matthey) y aceite mineral (Sigma-

Aldrich) en una proporción 1:1, hasta obtener una pasta homogénea; la cual se introduce en un contenedor de plástico y para hacer contacto eléctrico un dispositivo de cobre.

La modificación del EPC con NTCb (NanoLab, 95% pureza), se realiza preparando una dispersión de NTCb en agua, una alícuota de 20 μl es tomada de la dispersión y se coloca sobre la superficie del EPC dejando secar en una estufa a 40° C por 5 min.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 2a, se presenta la comparación de los Voltaperogramas Cíclico (VC) para el EPC y EPC/NTCb de una solución 0.1 M NaCl, pH 7, donde se observa un incremento en la corriente capacitiva del electrodo modificado, propio de las nanoestructuras a base de carbón.

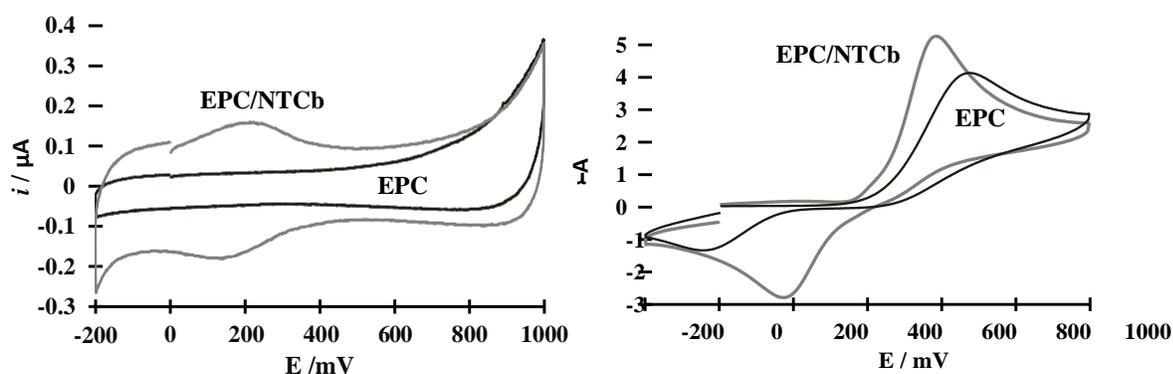


Figura 2. VC de los sistemas: 0.1 M NaCl pH7, (—) EPC y (---) EPC/NTCb a) sin L-D b) con 0.1 mM L-D, $v = 50\text{mVs}^{-1}$.

En la Figura 2b el mismo sistema en presencia de 0.1 mM L-D, el potencial del pico de oxidación (E_{po}) para el EPC se encuentra en 650 mV, mientras que con el EPC-NTCb se ubica en 590 mV, lo que provoca un desplazamiento del E_{po} de 60 mV; en la zona catódica el potencial del pico de reducción se encuentra en -32 mV para el EPC y 190 mV con el EPC/NTCb, en este caso el desplazamiento fue mayor, ya que es de 270mV, también puede observarse un incremento de la corriente anódica/catódica con el EPC/NTCb. Por lo que la modificación del electrodo favorece el proceso redox del analito de interés.

En la figura 3a se muestra de la familia de voltamperogramas para el sistema EPC 0.1M NaCl (pH 7), con una concentración 0.2 mM de L-D a diferentes velocidades de barrido. El barrido

se inició en sentido anódico en donde se observa un primer pico de oxidación de la L-D a un potencial de 660 mV a una velocidad de 20 mVs⁻¹, desplazándose hasta un potencial de 770 mV a una velocidad de 500 mVs⁻¹, este pico se asocia a la oxidación del grupo hidroxilo presente en la molécula, al invertir el sentido de barrido, hacia la zona catódica se observa un pico catódico en un potencial de -12 mV. Dada la diferencia de los potenciales de pico anódico/catódico, la cual es mayor a 0.59 V, el proceso redox preliminarmente es de tipo no reversible.

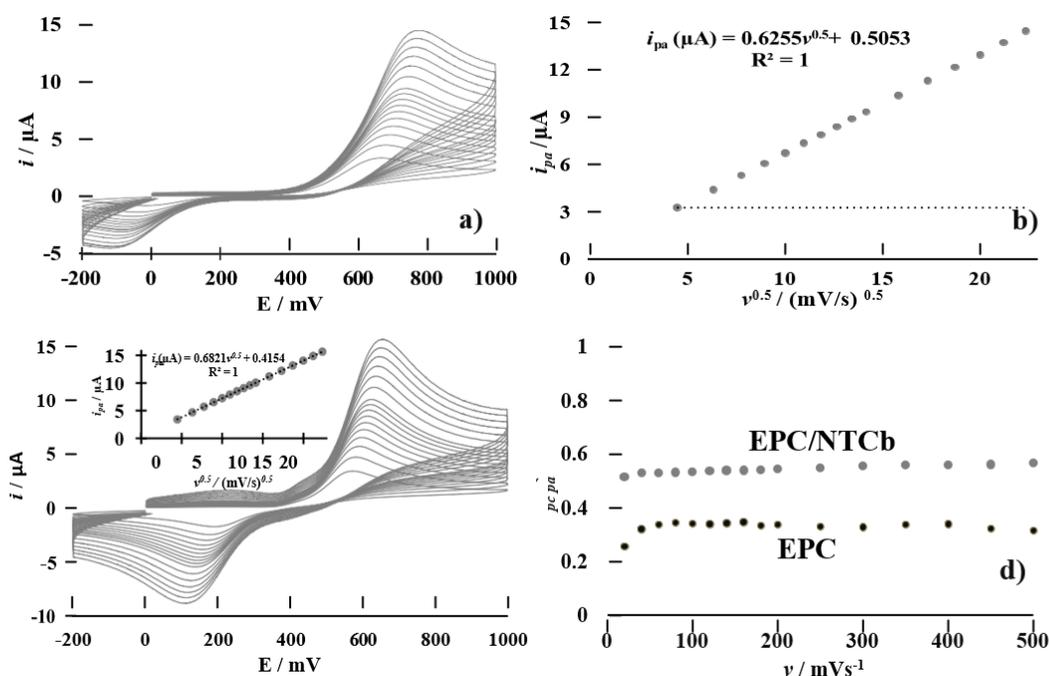


Figura 3. a) VC EPC 0.1 M NaCl (pH 7), 0.2 mM L-D a diferentes velocidades de barrido: 20 - 500 mVs⁻¹. b) EPC relación i_{pa} vs $v^{0.5}$. c) VC EPC/NTCb 0.1 M NaCl (pH7), 0.2 mM L- D a diferentes velocidades de barrido: 20 - 500 mVs⁻¹, inserto i_{pa} vs $v^{0.5}$. d) relación i_{pa}/i_{pc} vs. v para EPC y EPC/NTCb.

Al graficar i_{pa} en función de la velocidad de barrido $v^{0.5}$, se obtiene una tendencia lineal (Figura 3b), de acuerdo con la ecuación de Randles-Sevick para un proceso no reversible este comportamiento corresponde a un proceso de transferencia de masa difusivo [6]. En la Figura 3c se muestran los VC para un sistema EPC/NTCb 0.1 NaCl con una 0.1 mM de L-D, en donde se observa que la modificación favorece la actividad redox, ya que la separación de picos disminuye, obteniendo un $(E_{pc}-E_{pa}) \Delta E_{pNTCb} = 0.45 < \Delta E_{pEPC} = 0.8V$. Al variar la velocidad de barrido, se observa un

comportamiento similar al EPC ya que dada la relación i_{pa} vs $v^{0.5}$ (mostrado en el inserto Figura 3c), se concluye que el proceso de transferencia de masa es también de tipo difusivo.

Se calcula la constante de velocidad heterogénea para el EPC ($k^{\circ} = 3 \times 10^{-3} \text{ cms}^{-1}$) parámetro que indica se trata de un sistema cuasireversible, con la finalidad de conocer si existe un cambio en el comportamiento electroquímico de la L-D, se calcula la constante de velocidad heterogénea para el EPC modificado ($k^{\circ} = 7 \times 10^{-3} \text{ cms}^{-1}$), cambio que se asocia directamente a un sistema cuasireversible de cinética lenta en ambos casos [7].

Además de observarse un cambio en el valor en k° , se calcula un coeficiente de transferencia de carga o coeficiente de simetría, el α calculado para el EPC tiene un valor de 0.3 y para el EPC/NTCb de 0.4. En la Figura 3d) se muestra la tendencia de la relación i_{pc}/i_{pa} en función de la velocidad de barrido, para ambos electrodos, los valores muestran que para el EPC la relación se encuentra por debajo de 0.4 indicando la posible presencia de una reacción química acoplada por lo que el sistema se considera como Electroquímico-Químico (EC), al comparar el valor con el obtenido al EPC/NTCb cercano a 0.6 indicaría que la reacción química es menos favorecida como nos indicó el cálculo de α .

Como bien se observó existen cambios en los parámetros cinéticos de la L-D al modificar el electrodo, por lo que se esperaría que existiera una variación en los parámetros analíticos. En la Figura 4a se muestra una familia de voltamperogramas en un sistema EPC/ 0.1 M NaCl variando la [L-D] desde $3.9 \times 10^{-6} \text{ M}$ hasta $1.1 \times 10^{-4} \text{ M}$, con la intensidad de corriente anódica generada en función de la concentración se obtuvo una curva de calibración (Figura 4b), con esta se calcularon los parámetros analíticos de acuerdo a la IUPAC [8], los cuales son calculados $3\sigma + b$ para el límite de detección y $10\sigma + b$ para el límite de cuantificación, mientras que la sensibilidad es obtenida de la ecuación de la recta (Tabla 1).

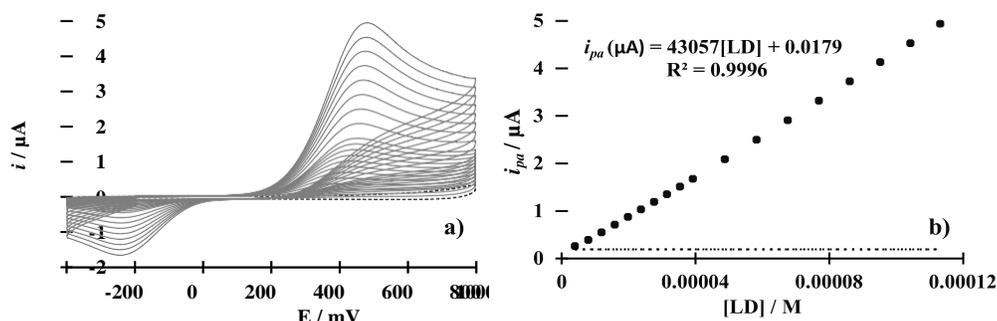


Figura 4. a) VC EPC 0.1 M NaCl (pH 7) al variar la concentración de L-D $3.9 \times 10^{-6} \text{ M}$ hasta 1.1×10^{-4}

⁴, $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$. b) curva de calibración i_{pa} vs [L-D].

Al realizar el estudio por VC variando la concentración de L-D, ver Figura 5a, el sistema con el electrodo modificado se observa un aumento en la corriente anódica generada con respecto al EPC, este aumento se puede traducir en la mejora de los parámetros analíticos.

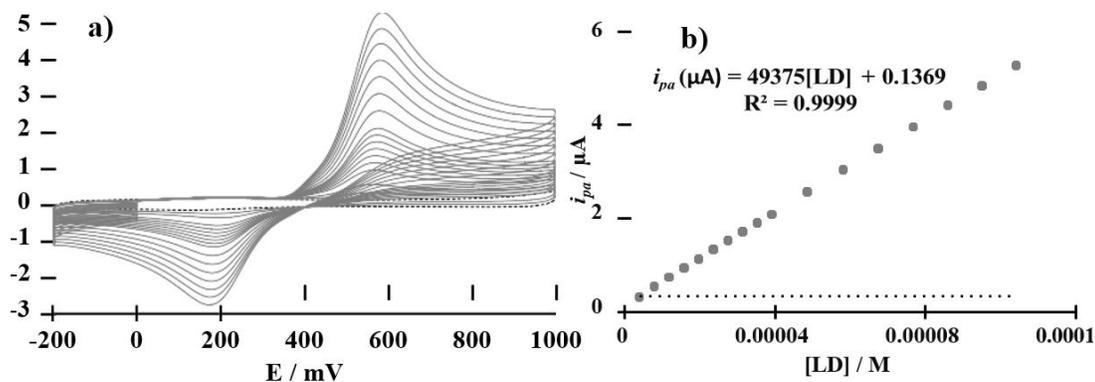


Figura 5. a) VC EPC/NTCb 0.1 M NaCl (pH 7) al variar la concentración de L-D de $3.9 \times 10^{-6} \text{ M}$ hasta 1.1×10^{-4} , $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$. b) curva de calibración i_{pa} vs [L-D].

De la familia de voltamperogramas obtenidos de la Figura 6a, se obtiene la i_{pa} la cual se grafica en función de la variación de [L-D] para obtener la curva de calibración presentada en la Figura 6b, en donde se observa un mayor pendiente con el electrodo modificado parámetro que se asociada a la sensibilidad, con respecto a el EPC. En Tabla 1 se muestra la comparación de los parámetros obtenidos para el EPC y el EPC/NTCb.

Tabla 1. Parámetros analíticos obtenidos para la L-D.

Electrodo	Sensibilidad ($\mu\text{A/M}$)	Límite de Detección (*) (M)	Límite de Cuantificación(**) (M)	Intervalo de Linealidad (M)
EPC	43057	2.06×10^{-6}	6.89×10^{-6}	3.9×10^{-6} – 1.1×10^{-4}
EPC/NTC b	49375	9.1×10^{-7}	3.05×10^{-6}	3.9×10^{-6} – 1.1×10^{-4}

*($3\sigma + b$), **($10\sigma + b$)

σ =Desviación Estándar; b = ordenada al origen

CONCLUSIONES

Al utilizar EPC modificados con NCTb se obtienen mejores parámetros al obtener mayor sensibilidad del electrodo, así como menores límites de detección y cuantificación con respecto al EPC. Estos parámetros son equiparables con los reportados en la literatura, por lo que esta modificación es una alternativa para la determinación de L-D.

Con respecto a la transferencia de masa no existe la evidencia de un cambio en ella ya que ambos se rigen por la difusión. El aumento en la corriente se asocia a que las nanoestructuras están interaccionando de manera afín con la L-D favoreciendo la transferencia electrónica

AGRADECIMIENTOS

YPG (725897) agradece a CONACyT por la beca otorgada para realizar sus estudios de maestría. SCA, MTRS, MEPP y MARR agradecen al SNI por la distinción otorgada y el estímulo recibido. MTRS reconoce a CONACyT por el proyecto 237327 y la cátedra 2159.

REFERENCIAS

- [1] M.F. Bergamini, A.L.Santos, N.R.Stradiotto and M.V.B Zanoni. *J. Pharm. Biomed. Anal* **39**, 54-59 (2005).
- [2] S.Shanmugam, A. Gedanken. *Electrochemistry Communications*. **8**, 1099-1105 (2006).
- [3] S. Shahrokhian and E. Asadian. *J. Electroanal. Chem.* **636**, 40-46 (2009).
- [4] A. Gutiérrez, E. N. Primo, M. Eguílaz, C. Parrado, M. D. Rubianes, and G. A. Rivas. *Microchem. J.* **130**, 40-46 (2017).
- [5] R. Martínez, M. T. Ramírez and I. González. *Electroanalysis*. **10**, 336-342 (1998).
- [6] A. J. Bard, L.R. Faulkner *Electrochemical Methods*. John Wiley & Sons, Inc. United States of America (2001).
- [7] D. K. Grosser, Jr. *Cyclic Voltammetry*, VC Publisers, Inc. United States of America (1993).
- [8] M. Thompson, S.L.R Ellison, and R. Wood. **74**, 835-855 (2002).

ESTUDIO CRONOPOTENCIOMÉTRICO DE UNA CELDA DE PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO

Miguel Ángel González López¹
Víctor Esteban Reyes Cruz^{1*}
José Ángel Cobos Murcia²
María Aurora Veloz Rodríguez¹

INTRODUCCIÓN

Existen numerosas investigaciones sobre el desarrollo de celdas electroquímicas, las cuales, al ser suministradas con hidrógeno gaseoso como combustible y oxígeno obtenido directamente del aire, son capaces de producir este tipo de energía mediante procesos redox [1]. Este método de obtención de energía eléctrica es una alternativa viable, debido a que sus productos son, en algunos casos, únicamente energía, agua y calor [2]. Sin embargo, antes de llevar a cabo la producción masiva de estas celdas es necesario resolver la cuestión de la producción de hidrógeno gaseoso para poder contar con un suministro confiable del mismo. Hoy en día, existen diferentes trabajos sobre el proceso electroquímico de evolución de $H_{2(g)}$ [3-9]. Sin embargo, en éstos no se evalúa el efecto que presenta el contraelectrodo en el arreglo de la celda electroquímica para la producción de hidrógeno ($H_{2(g)}$).

En este trabajo se realiza la modificación de un electrodo de acero A304, el cuál es elaborado a partir de una solución del precursor polimérico mediante una versión modificada del método Pechini, el cual consiste en la polimerización del citrato metálico con etilenglicol, y la quelación de cationes (Ru) usando ácido cítrico [10]. Este procedimiento permite obtener una resina homogénea en la cual los iones de rutenio están distribuidos completa y uniformemente en la matriz [11]. Este electrodo modificado A304| RuO_2 cumple con el papel de un contraelectrodo del

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Ciencias de la Tierra y Materiales, Laboratorio de Procesos Electroquímicos. Ciudad Universitaria, Carr. Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Pachuca, Hidalgo. México. C.P. 42076. Tel: +52 (771) 717 2000 ext. 2292. e-mail responsable de la investigación*: reyescruz16@yahoo.com

² Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Depto. de Cátedras, Av. Insurgentes Sur 1582, Col. Crédito constructor, Deleg. Benito Juárez, Ciudad de México, C.P 03940, México. Tel: +52 272 722 6676. e-mail: catseven78@gmail.com

tipo DSA (ánodo dimensionalmente estable) y se realizan estudios cronopotenciométricos para determinar la estabilidad del recubrimiento del electrodo modificado por un tiempo de funcionamiento de 15 horas en el proceso de la catálisis de evolución de $H_{2(g)}$ en un medio de NaOH (10 g/L).

EXPERIMENTACIÓN

Sistema Electroquímico

Las soluciones de trabajo fueron preparadas utilizando productos químicos grado reactivo analítico y agua desionizada. La temperatura de trabajo fue de 25°C aproximadamente. Todos los experimentos fueron realizados a presión atmosférica. Como solución de trabajo se preparó hidróxido de sodio (NaOH) 10 g/L. Se empleó una celda comercial tipo filtro prensa con 5 cátodos de acero inoxidable A304 y 4 ánodos modificados de A304| RuO_2 de 10 x 10 cm². Se utilizó con una fuente de poder que suministraba una corriente de 10 A, registrando los valores de potencial (V) y flujo de $H_{2(g)}$ (mL/s) que se observaron durante 16 horas.

Preparación de electrodos

La superficie de los electrodos se pulió mecánicamente con hojas de lija de distintos tamaños de grano y fueron llevados a un baño ultrasónico en agua desionizada por 10 minutos para ser secados al aire posteriormente. Los electrodos que se utilizaron como ánodos fueron preparados mediante un *método Pechini modificado*. Para esto se preparó una solución polimérica precursora de 0.012 moles de ácido cítrico y 0.050 moles de etilenglicol, y se calentó hasta 70 °C en una parrilla de calentamiento con agitación hasta obtener una solución homogénea. A continuación, se añadieron 0.001 mol de $RuCl_3$ y se continuó la agitación con calentamiento hasta obtener una tinta homogénea. Las placas de A304 se sometieron a un decapado con ácido clorhídrico y ácido nítrico al 20%, posteriormente se enjuagaron con abundante agua desionizada y se secaron en mufla a 50°C. Posteriormente se aplicaron varias capas de la solución preparada sobre los sustratos de A304 hasta obtener el recubrimiento deseado. Finalmente, se sometieron a un proceso de sinterizado con una rampa de calentamiento a 5 °C/min hasta llegar a 500 °C, obteniendo los electrodos modificados A304| RuO_2 , que cumplen con la función de ánodo dimensionalmente estable (DSA).

Estudios cronopotenciométricos

A lo largo de esta investigación se han evaluado diferentes arreglos electroquímicos para la catálisis de evolución de hidrógeno, con base en los resultados obtenidos anteriormente se seleccionó el arreglo electroquímico (Cátodo-Ánodo) A304-A304|RuO₂, como el mejor para llevar a cabo la producción masiva de H_{2(g)}. Por lo tanto, con este arreglo se realizaron pruebas de cronopotenciometría usando NaOH 10 g/L como solución electrolítica. Se empleó una celda comercial tipo filtro prensa con 5 cátodos de acero inoxidable A304 y 4 ánodos modificados de A304|RuO₂, todos de 10 x 10 cm². Se utilizó una fuente de poder que suministraba una corriente de 10 A, registrando los valores de potencial (V) y flujo de H_{2(g)} (mL/s) que se observaron durante 16 horas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos obtenidos durante 16 horas de operación de la celda con 5 cátodos de A304 y 4 ánodos modificados A304|RuO₂, se recopilaron y analizaron, para realizar los gráficos de control estadístico, en donde se evalúan dos variables, el flujo de H_{2(g)} (mL/s) y el potencial de celda (V). Los datos obtenidos mostraron un potencial de celda promedio de 2.51 ± 0.12 V, además de un flujo de H_{2(g)} producido en la celda con un valor promedio de 1.88 ± 0.10 mL/s, independientemente del valor del potencial de celda registrado.

En la Figura 1 se muestran los gráficos de control estadístico de procesos que fueron obtenidos para a) potencial de celda (V) y b) la variable flujo de H_{2(g)} (mL/s). En la Figura 1a se observa una tendencia de incremento en el potencial (V), la cual tiende a estabilizarse a partir de la tercera hora, en donde los valores caen, en su mayoría, dentro del primer límite superior de confianza, a excepción de las horas 8, 14 y 15, en donde el potencial sale de dicha zona de tendencia, esto es atribuido a los cambios superficiales por los que pasan los electrodos durante el proceso de evolución de H_{2(g)}, ya que durante este proceso se generan burbujas de gas que quedan adheridas a la superficie de los electrodos, lo que genera una disminución de la superficie electroactiva y, por lo tanto, el aumento de la energía necesaria para transformar las especies.

Por otro lado, en la Figura 1b se aprecia el gráfico de control estadístico de procesos construido para la variable de flujo en el proceso de evolución de H_{2(g)}, en este gráfico se observa que a partir de la segunda hora el proceso tiende a estabilizarse, observando la mayoría de los

datos dentro del intervalo de los límites de confianza, tanto superior como inferior. Sin embargo, existen ciertos datos (7 y 16 horas) que se encuentran en el tercer y segundo límites de confianza, respectivamente, no obstante, estos puntos son atribuidos a una acumulación de gas y el súbito desprendimiento de éste que genera un cambio en el área electroactiva.

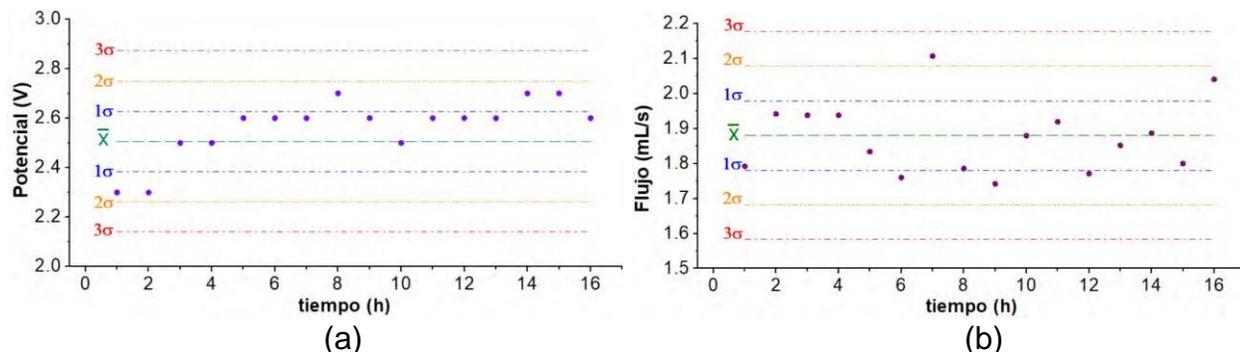


Figura 1. Gráficos de control construidos para a) la variable potencial (V) y b) la variable flujo de $H_{2(g)}$ (mL/s).

CONCLUSIONES

Para el caso del flujo de $H_{2(g)}$, el gráfico de control sugiere que algunos puntos se encuentran fuera de la tendencia, con lo que se afecta el control en el proceso de generación de $H_{2(g)}$, sin embargo, los datos que sobresalen de las líneas de tendencia centrales son datos obtenidos propiamente debido a la cantidad de $H_{2(g)}$ producida en ese punto específico. Estos resultados en la variación del potencial o del flujo de $H_{2(g)}$ indican también que los recubrimientos de los electrodos modificados que se prepararon son estables, debido a que no se observó cambios significativos o alteraciones en los gráficos y, por consiguiente, no existiría una alteración importante en la superficie de los electrodos. Por lo tanto, los resultados indican que el uso de electrodos de acero A304 modificados con RuO_2 son una opción confiable para la producción masiva de $H_{2(g)}$ y además es un material más económico que el titanio, el cual es el metal que comúnmente se utiliza para realizar las modificaciones de estos electrodos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al CONACyT por la beca de doctorado otorgada para la realización de la presente investigación.

REFERENCIAS

- [1] Y. Martínez, R. Hernández. *Electroquímica Energía y Ambiente*. La Hechicera, Venezuela. **1**, 10 (2004).
- [2] U. Cano. Las celdas de combustible: verdades sobre la generación de electricidad limpia y eficiente vía electroquímica. Instituto Nacional de Electricidad y Energías Limpias. [Boletín IIE (sep/oct)], 208 (1999).
- [3] F.E. Senftle, J.R. Grant, F.P. Senftle. *Electrochimica Acta*. **55**, 5148-5153 (2010).
- [4] C. Lamy, A. Devadas, M. Simoes, C. Coutanceau. *Electrochimica Acta*, **60**, 112-120 (2012).
- [5] Y.M. Lin, M.H. Rei. *Catalysis Today*. **67**, 77-84 (2001).
- [6] G. Felton, et al. *Journal of the American Chemical Society*. **129**, [41], 12521-12530 (2007).
- [7] V. Marinovic, R. Despic, *Russian Journal of Electrochemistry*. 40, 995, (2004).
- [8] B.M. Jovic, V.D. Jovic, G. Brankovic, M. Radovic, N.V. Krstajic. *Electrochimica Acta*. **24**, 571-584 (2017).
- [9] L. Jinlong, Y. Meng, L. Tongxiang, K. Suzuki, H. Miura. *Chemical Physics Letters*. **678**, 212-215 (2017).
- [10] M.I.B. Bernardi, S. Cava, C.O. Paiva-Santos, E.R. Leite, C.A. Paskocimas, E. Longo. *Journal of the European Ceramic Society*, **22**, 2911-2919 (2002).
- [11] M.I.B. Bernardi, L.E. Soledade, I.A. Santos, E.R. Leite, E. Longo, J.A. Varela. *Thin Solid Films*, **405**, 228-233 (2002).

CONSTRUCCIÓN DE UN ELECTRODO POTENCIOMÉTRICO SELECTIVO A IONES DE ACETILCOLINA Y MODIFICADO CON NANOPARTÍCULAS DE ORO

Crystal de Rosa García-Díaz¹
Silvia Corona Avendaño¹
María Teresa Ramírez Silva²
Jorge Juárez Gómez^{2*}
Manuel Palomar Pardavé¹
Mario Romero Romo¹

INTRODUCCIÓN

La acetilcolina (ACh) es un neurotransmisor de suma importancia para el organismo, ya que es el principal responsable de provocar la fase REM (Rapid Eye Movement por sus siglas en inglés) en el ciclo del sueño en la cual se llevan a cabo los procesos de aprendizaje y memorización, además produce los impulsos que viajan a través del sistema nervioso y controlan los movimientos musculares en el cuerpo [1]. En consecuencia, la acumulación de ACh en el organismo es un factor relevante ya que puede llevar a diversas enfermedades que van desde debilidad muscular, dificultad para aprender o memorizar cosas nuevas, hasta enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson y el Alzheimer [1,2]. Esto demuestra la importancia de desarrollar métodos que logren determinar y cuantificar su actividad. Debido a que la ACh no se controla fácilmente, que no se absorbe en la banda UV, no presenta fluorescencia y no es una sustancia electroactiva, en la literatura existen diversos estudios espectrométricos, colorimétricos, radiométricos, calorimétricos y electroquímicos basados en el uso de sustratos no naturales como la acetiltiocolina y

¹ Universidad Autónoma Metropolitana–Azcapotzalco, Departamento de Materiales, Área de Ingeniería Materiales. C.P. 02200, Ciudad de México, México

² Universidad Autónoma Metropolitana–Iztapalapa. Área de Química Analítica. Laboratorio R-105. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, AP 55-534. México, D.F. C.P. 09340. Tel: +52 (55) 58 04 46 70, e-mail: el_inge85@hotmail.com.mx.

butiriltiocolina [3]. No obstante, gracias a la estructura molecular de la ACh mostrada en la figura 1, el catión de ACh⁺ puede ser monitoreado mediante electrodos de membrana conocidos como electrodos selectivos a iones, los cuales se basan en la utilización de una membrana selectiva, semipermeable y lipofílica que puede ser polimérica o de vidrio, permitiendo el paso de ciertos iones dependiendo de la composición de la misma [3,4]. Las ventajas que presentan los electrodos selectivos a iones es que son confiables, prácticos y de fácil preparación. Su tamaño es pequeño por lo que las determinaciones además de ser rápidas pueden ser in situ [5]. En este tipo de electrodos es primordial encontrar una interfase cuya composición favorezca la selectividad de un tipo de ión sobre los demás. En el caso de la ACh las interferencias que se encuentran en este sistema son catiónicas, (iones con carga positiva), cuando los cationes se desplazan desde la membrana a la solución externa se genera una concentración superior a la existente produciéndose un fenómeno de interferencia [6,7].

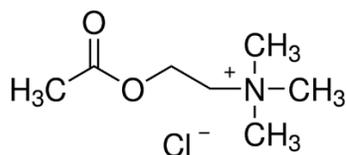


Figura 1. Estructura química del cloruro de acetilcolina [7].

Por otro lado, el auge que han tenido los materiales nanoestructurados en el campo de los sensores electroquímicos ha ayudado a diseñar sensores más selectivos y sensibles, el uso de estos nanomateriales han abierto posibilidades también en el desarrollo de biosensores; los cuales se han aplicado con éxito en áreas de la medicina para el diagnóstico de cáncer y detección de organismos infecciosos [8]. Por tal motivo, en este trabajo se propone el uso de nanopartículas de Oro (NPsAu) para modificar un electrodo potenciométrico selectivo a iones de ACh.

EXPERIMENTACIÓN

Síntesis y soporte de las NPsAu

La síntesis de las NPsAu se llevó a cabo mediante el método propuesto por Turkevich y colaboradores [9] preparando 100 mL de una solución de ácido tetracloroáurico (HAuCl₄) al 0.01 %

la cual se calentó hasta alcanzar la temperatura de ebullición. En ese momento se le añadió una solución de citrato trisódico ($\text{Na}_3\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{COO})_3$) al 1 % y se dejó enfriar a temperatura ambiente hasta que el color de la solución cambia de transparente a rojo rubí obteniendo así una solución coloidal. Con el objetivo de lograr una mayor dispersión y evitar la aglomeración de las NPsAu, estas se soportan en carbón Vulcan XC-72R(cv) adicionando 20 mg del carbón Vulcan a la solución coloidal, posteriormente se colocaron en agitación constante durante 48 horas, pasado este tiempo, se filtraron utilizando una bomba de vacío y se secaron en la estufa a una temperatura no mayor a 50 °C durante 45 minutos obteniéndose un polvo oscuro.

Construcción del electrodo

Se construyeron electrodos tipo composite [9] mezclando grafito en polvo, Araldita como resina y endurecedor HY (Ciba-Geigy) hasta obtener una pasta homogénea, esta se depositó en tubo de PVC de 7 mm de diámetro aproximadamente, en el cual se encuentra un contacto sólido de cobre unido a un conector previamente soldado que sirve como conductor y soporte de la mezcla. El dispositivo se deja curar por 24 horas a 40 °C. *Modificación del electrodo con NPsAu*

Para su modificación se construyeron electrodos tipo composite utilizando la misma metodología anterior, pero se agregaron 1% en peso de las NPsAu previamente obtenidas y se mezclaron junto con la pasta, esta mezcla se depositó en tubo de PVC de 7 mm de diámetro aproximadamente, en el cual se encuentra un contacto sólido de cobre unido a un conector previamente soldado que sirve como conductor y soporte de la mezcla. El dispositivo se deja curar por 24 horas a 40 °C.

Construcción de la Membrana polimérica

Se construyen dos membranas diferentes utilizando como plastificante Nitrofenil Octil Eter (NPOE) o Nitrofenil pentil éter (NPPE), como ionóforo Tetrafenil borato de potasio (KTPB), o Tetrafenil borato de sodio (NaTPB) y como matriz policloruro de vinilo de alto peso molecular (PVC) a una composición de Matriz al 33.2%, Plastificante al 66.3% e ionóforo al 0.5% tal como se muestra en la tabla 1 y se añadió 1 mL de Tetrahidrofurano (THF) hasta obtener una mezcla homogénea para cada membrana, posteriormente se colocaron 40 μL de la membrana correspondiente sobre el electrodo, y se coloca en la estufa a una temperatura de 40°C durante 2 horas.

Tabla 1. Componentes de las membranas en por ciento peso.

Componentes	Membrana 1		Membrana 2	
Matriz	PVC	33.2%	PVC	33.2%
Plastificante	NPOE	0.5%	NPPE	0.5%
Ionóforo	KTPB	66.3%	NaTP B	66.3%

Sistema Electroquímico

Para las mediciones electroquímicas se utiliza un potencióstato de la marca Epsilon mediante la técnica de potenciometría con un potencial de corriente nula y colocando 10 mL de agua desionizada en una celda termostatada a 30°C en agitación constante de 400 rpm, utilizando un electrodo de Ag/AgCl saturado como electrodo de referencia. Los electrodos de trabajo fueron previamente acondicionados sumergiéndolos en una solución de ACh $0.1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, durante 15 minutos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 2 se observan las curvas de calibración de la ACh y sus iones interferentes para el electrodo con la membrana 1, en donde se puede ver que conforme aumenta la concentración del ion, aumenta el potencial, se observó que los cambios en el potencial para los iones Na^+ y K^+ son insignificantes en comparación con los de ACh^+ , lo que indica que esta membrana separa de forma efectiva a los interferentes Na^+ y K^+ , sin embargo la señal del interferente Colina (Ch^+) es muy similar a la de la ACh. Por otro lado, en el inciso b se observan las curvas de calibración de la ACh y sus iones interferentes obtenidas con un electrodo con una membrana 2, en donde se observa que aumenta el potencial conforme aumenta la concentración del ion. Esta membrana separa de forma efectiva a los interferentes Na^+ , Ch^+ y K^+ por lo que se puede observar sin problema la señal de la ACh.

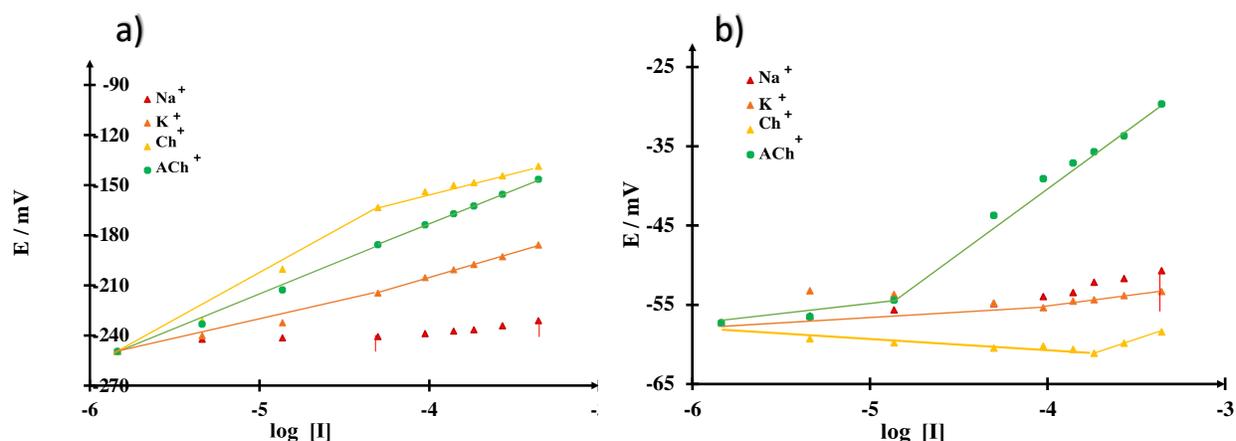


Figura 2. Curva de calibración para la ACh y sus iones interferentes utilizando un electrodo sin modificar, en a) se utilizó la membrana 1 y en b) se utilizó la membrana 2.

Para conocer los valores de la pendiente (m) y el límite de detección (LD) se realizó un ajuste, se utilizan los datos obtenidos de cada una de las curvas de calibración realizando un ajuste lineal, en la tabla 2 se muestran los resultados de dichos valores en donde se observa que el valor de la pendiente de la ACh para la membrana 1 se acerca a un comportamiento Nernstiano, sin embargo tiene una fuerte interferencia del ion Ch^+ por lo que no se considera como una membrana selectiva a iones de ACh. Por otro lado, la membrana 2 aunque muestra un valor bajo en la pendiente, no existe una interferencia con el ion Ch^+ separando de forma efectiva a la ACh por lo que decide utilizar esta membrana con el electrodo modificado con NPsAu.

Tabla 2. Valores de m y LD para cada membrana.

Membrana 1			
ion	m		LD
ACh^+	41.1	mV/década	$4.29 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$
	0		1
Membrana 2			
ion	m		LD
ACh^+	14.2	mV/década	$7.31 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$
	6		1

Electrodo potenciométrico modificado con NPsAu

En la figura 3 se muestra la curva de calibración correspondiente al electrodo modificado con el 1% en peso de NPsAu, en donde se observa claramente un aumento del potencial conforme aumenta la concentración de los iones, además se advierte que la señal de la Ch no interfiere y es menor que la de la ACh.

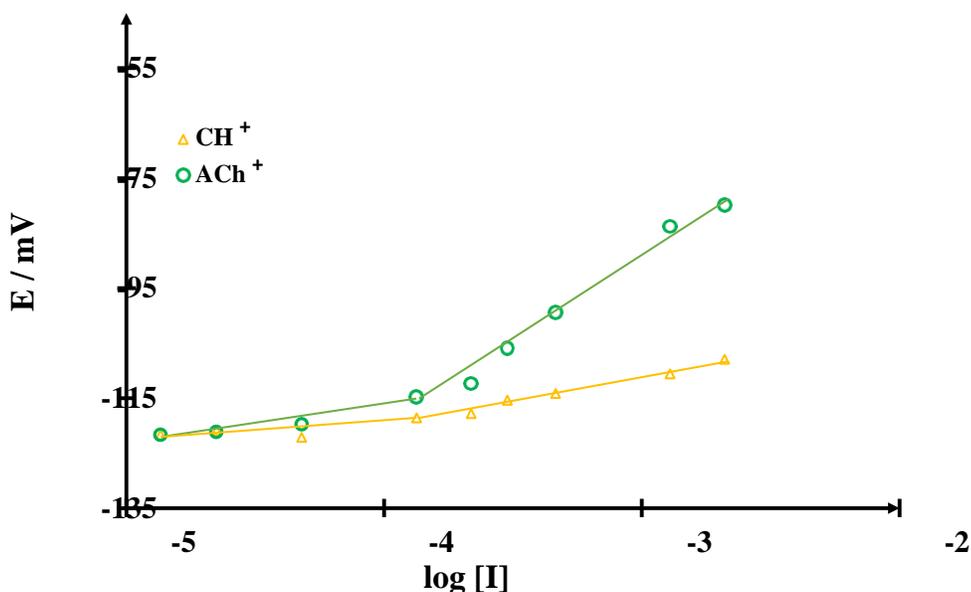


Figura 3. Curva de calibración para la ACh y Ch con un electrodo modificado con NPsAu al 1% en peso y la membrana 2.

Para conocer los valores de los parámetros analíticos se realizó un ajuste lineal de la curva de calibración, obteniendo una pendiente es de 33.31 mv/década y un LD de $1.33 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Se advierte que el valor de m para el electrodo modificado es mucho mayor que para el electrodo sin modificar lo que permite que se acerque a un comportamiento Nernstiano.

CONCLUSIONES

Con base a los resultados obtenidos en las curvas de calibración, la membrana 2 brinda la mejor selectividad ante el ion de ACh y es la que se utiliza para el electrodo modificado con las NPsAu, las cuales dotan al electrodo de una pendiente mayor en comparación con el electrodo sin modificar.

AGRADECIMIENTOS

CRGD (723693) agradece a CONACyT por la beca otorgada para realizar sus estudios de maestría. SCA, MTRS, JJG y MEPP agradecen al SNI por la distinción otorgada y el estímulo recibido. MTRS reconoce a CONACyT por el proyecto 237327 y la cátedra 2159. Los autores también agradecen a SEP PRODEP por el apoyo financiero a través de RedNIQAE.

REFERENCIAS

- [1] T. Kandel, E.R Schwartz, J.H. Jessell. Principles of Natural Science. **71**, (2001).
- [2] J. Estévez, V. Selva, M. Benabent, I. Mangas, M.A, Sogorb, E.Vilanova. Chemico- Biological Interactions.4-11, (2016).
- [3] M. Cuatero, J.A. Ortuño, M.S. García, F. García Cánovas. Analytical Biochemistry.**421**, 208-212, (2012).
- [4] J. Juárez Gómez, F. Pérez García, M.T. Ramírez Silva, A. Rojas Hernández, C.A. Galan Vidal, M.E. Paez García. Talanta. **114**, 235-242, (2013).
- [5] E. Bakker, P. Bühlmann, E. Pretsh. Chemical Reviews. **7**, 3083-3132, (1997).
- [6] J. Juárez Gómez, M.T. Ramírez Silva, M. Romero Romo, E. Rodríguez Sevilla, F. Pérez García, M. Palomar Pardavé. Journal of Electrochemical Society. **163**, B90-B96, (2016).
- [7] M. Pohanka, V.Adam, R. Kizek. Sensors (Basel). **13**, 11498-11506, (2013).
- [8] M. Pumera, S. Sánchez, I. Ichinose, J. Tag. Sensors Actuators. **123**, 1195-1205, (2007).
- [9] P.H.J. Turkevich, John, Coper. Discuss Faraday Society. **55**, 55-74, (1951).

FUNCIONALIZACIÓN DE MAGNETITA CON FIBROÍNA PARA SU POSIBLE USO COMO SOPORTE MAGNÉTICO EN EXTRACCIONES EN FASE SÓLIDA DISPERSIVA

Araceli Castañeda Ovando¹
Karina Aguilar Arteaga^{2*}
Elizabeth Contreras López¹
Luis Guillermo González Olivares¹
Victoriano Hernández Martínez²
Luis Díaz Batalla²

INTRODUCCIÓN

En los últimos años el campo de estudio de la nanotecnología se ha ampliado y se ha utilizado en diversas aplicaciones, como por ejemplo en la elaboración de nuevos materiales, la miniaturización de componentes eléctricos, el tratamiento y/o diagnóstico de enfermedades, la energía renovable y la fabricación de textiles [1].

El diseño de nuevos materiales nanométricos ha tenido aplicaciones importantes en Química, entre las que destacan su uso como catalizadores y como soportes de extracción. Las nanopartículas magnéticas (MNPs) son materiales que, gracias a sus propiedades y a su gran variedad en recubrimientos, se han implementado en metodologías para la extracción de componentes en matrices complejas, particularmente en muestras ambientales, biológicas y en los alimentos [2].

Los métodos de síntesis de MNPs son muy variados, destacando el de coprecipitación y el solvotérmico. Cada uno de ellos presenta peculiaridades, pero lo que se persigue es que los tamaños de partículas de los materiales obtenidos sean nanométricos (no mayores 100 nm) y que sus propiedades magnéticas sean adecuadas para poder utilizarlas como soportes en métodos de extracción en fase microsólida dispersa.

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química. Laboratorio de Físicoquímica de Alimentos 2. Ciudad Universitaria, Carr. Pachuca- Tulancingo km. 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo. México. C.P. 42184. Tel: +52 (771) 7172000 ext. 2512, Fax: +52 (771) 717 2109. e-mail: ovandoa@uaeh.edu.mx

² Universidad Politécnica de Francisco I. Madero. Ingeniería Agroindustrial. Domicilio Conocido s/n, Francisco I. Madero, 42660 Tepatepec, Hgo., México. e-mail: kaguilar@upfim.edu.mx

El método solvotérmico ha sido usado para la síntesis de una gran variedad de nanopartículas a través de una reacción líquido-sólido, esta técnica fue sugerida por Wang y colaboradores [3]. El sistema consiste de un linolato metálico (sólido), una fase líquida (etanol/ácido linoleico) y una mezcla de agua-metanol a diferentes condiciones de temperatura bajo condiciones hidrotérmicas [4].

Deng y colaboradores reportaron la síntesis de ferritas microesféricas por reducción hidrotérmica [5]. El método consistió en mezclar FeCl_3 , etilenglicol, acetato de sodio y polietilenglicol hasta obtener una solución clara, la cual se sometió a un tratamiento térmico en una autoclave de acero inoxidable a 200°C , durante 8-72 h. En este método, el etilenglicol actúa como agente reductor, el acetato de sodio previene la aglomeración y el polietilenglicol funciona como surfactante.

Este método de síntesis presenta una cinética muy lenta, por lo que se ha planteado una modificación, la cual consiste en calentar mediante microondas, lo que aumenta la formación de cristales. Sreeja y Joy [6] sintetizaron nanopartículas de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, obtenidas en microondas en 25 min a 150°C .

A pesar de que existen diversas técnicas de síntesis, las MNPs presentan susceptibilidad a la oxidación y a la aglomeración, por ello se han diseñado estrategias que permitan su estabilidad; las cuales pueden ser usadas para funcionalizar. Los recubrimientos previenen la agregación de las MNPs, durante o después de su síntesis, y pueden unirse química y físicamente para formar un recubrimiento simple o doble, por lo que el estado coloidal se puede mantener [7,8]. Los recubrimientos orgánicos más utilizados son: ácidos orgánicos, surfactantes (sales de amonio, polioles, lisina y ácidos grasos), líquidos iónicos (LIs) y polímeros (dextrano, almidón, quitosano y alginato).

Debido a que las nanopartículas magnéticas funcionalizadas pueden presentar una amplia aplicación en las extracciones dispersivas en fase microsólida magnética (MDMSPE) y a que los biopolímeros presentan grupos funcionales que pueden ser afines a una gran variedad de analitos, el objetivo del presente trabajo fue sintetizar soportes magnéticos funcionalizados con fibroína, la cual es un biopolímero obtenido de los capullos del gusano de seda, para su posible aplicación en métodos basados en MDMSPE.

EXPERIMENTACIÓN

Síntesis de los soportes magnéticos

La síntesis se realizó por el método solvotérmico asistido por microondas reportado por Hernández-Hernández y colaboradores [9], mezclando 590 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 350 mg de acetato de amonio (antiaglomerante), 400 mg de citrato de sodio (amortiguador de pH) y 6 mL de etilenglicol, y se mantuvieron en un baño ultrasónico durante 10 min. La reacción por microondas se realizó en un equipo de MONOWAVE Extra de Anton Paar. a agitación constante (600 rpm) y se inició con un incremento en la temperatura desde 18 hasta 235°C ($31^\circ\text{C min}^{-1}$); posteriormente, la temperatura se mantuvo durante 10 min. Finalizada la síntesis, el sólido se lavó con etanol al 70%, se separó con un magneto de neodimio de 30000 Gauss y se secó en estufa a 60°C .

Extracción de fibroína

La extracción de fibroína de la seda nativa se realizó mediante un desgomado o eliminación de las fibras del recubrimiento de sericina. Para lo cual, se pesaron 15 g de seda nativa y se agregaron a 100 mL de una solución de Na_2CO_3 al 1%, la mezcla se calentó a 90°C durante 10 min a 200 rpm. Transcurrido el tiempo de desgomado, las fibras de fibroína se separaron por decantación, se lavaron con agua desionizada y se sometieron a un secado en estufa a 100°C , con la finalidad de eliminar el agua residual. La fibroína seca se almacenó en un vial de vidrio cerrado, hasta su uso.

Funcionalización de los soportes magnéticos

Se pesaron 500 mg de fibroína y se le adicionaron 25 mL de NaOH 2 mol L^{-1} , la mezcla se transfirió a un matraz balón de 125 mL de fondo plano y se mantuvo en agitación constante (200 rpm) durante 24 h, hasta obtener una disolución homogénea de la fibroína en el medio básico. Posteriormente, se adicionaron 500 mg de magnetita sintetizada previamente. La mezcla se llevó a reflujo, a 95°C durante 2 h, con agitación constante a 200 rpm. La suspensión obtenida se vertió en un vaso de precipitados y se colocó sobre un imán de neodimio de 30000 Gauss para favorecer la sedimentación magnética de las partículas, se retiró el sobrenadante y las partículas se sometieron a un secado en estufa a 60°C . El sólido seco se almacenó en un vial hasta su caracterización y uso.

Caracterización de los soportes magnéticos

Para la caracterización se utilizaron como técnicas analíticas la espectroscopia en el infrarrojo por transformadas de Fourier (FT-IR), la difracción de rayos X (DRX) de polvos y la microscopía electrónica de barrido (MEB).

Los espectros FT-IR se obtuvieron en un espectrofotómetro FT-IR Spectrum GX de Perkin Elmer y a partir de una pastilla de KBr, mezclando la muestra (soporte magnético) con KBr en relación 1:100. Para el análisis por DRX, la muestra previamente seca se colocó y se distribuyó de manera uniforme en un portamuestras. Posteriormente, se realizó el análisis en un difractómetro PHILIPS PW1710 durante 5 min utilizando radiación de cobre ($K_{\alpha 1}=1.54 \text{ \AA}$) a 40 kV de tensión del generador, 30mA de corriente del generador, relación de intensidad (α_2/α_1) 0.500, apertura de divergencia 1° , apertura receptora 0.1, ángulo inicial ($2\theta^\circ$) 5, ángulo final ($2\theta^\circ$) 70. Para visualizar el patrón de difracción obtenido para cada una de las muestras y comparar con los difractogramas estándar de la base de datos de cristalografía (COD) se utilizó el programa Match! 3 (Crystal Impact, Alemania).

Los parámetros de DRX se utilizaron para hacer una estimación del tamaño de partícula de los polvos obtenidos, a partir de la ecuación de Debye-Scherrer (Ecuación 1).

$$\tau = \frac{K\lambda}{B\cos\theta} \quad (1)$$

donde: K es un factor de forma (esférica) con valor 0.9, λ es la longitud de onda de la radiación del análisis ($K_{\alpha 1}=0.154 \text{ nm}$), B ancho de pico medio, y θ es el máximo del pico 2θ [10].

La morfología de los soportes magnéticos se determinó en un equipo de microscopía electrónica de barrido modelo JSM- 6300 (JEOL®, Japón).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN*Caracterización de la fibroína*

El desgomado de la fibroína permite eliminar la capa de sericina, proteína que representa alrededor del 30% del peso del capullo de seda y que está constituida por 18 grupos de aminoácidos que contribuyen con propiedades físicas, químicas y biológicas tales como adhesión y protección hidrófoba, propiedades importantes en otros métodos o desarrollos tecnológicos, pero que en el

presente trabajo causaría aglomeración en la matriz de las partículas, debido a su característica aglomerante. Entre otros atributos de la sericina destacan la actividad antioxidante, supresión de la oxidación de lípidos e inhibición de la actividad de la tirosina [11].

Las micrografías (Figura 1) demuestran la ausencia del recubrimiento de sericina en las fibras de fibroína, las micrografías se obtuvieron a 15 kV, 15 mm de distancia y un rango de conteos de 50 a 600. En la Figura 1(A) se presenta la micrografía de la fibroína con la sericina, en la que se exhibe una superficie parcialmente irregular, además de una capa superficial de aspecto laminar, dando mayor grosor, lo que corrobora que la fibroína nativa es una serie de paquetes de fibras adheridas por la sericina. Las Figuras 1 B-D muestran fibras individuales, más angostas y de superficie más homogénea y regular (C y D son a diferentes conteos). De esta forma, se comprueba que con la etapa de desgomado se elimina la sericina, lo que permite que la fibroína se quede libre para poder disolverse en medio básico.

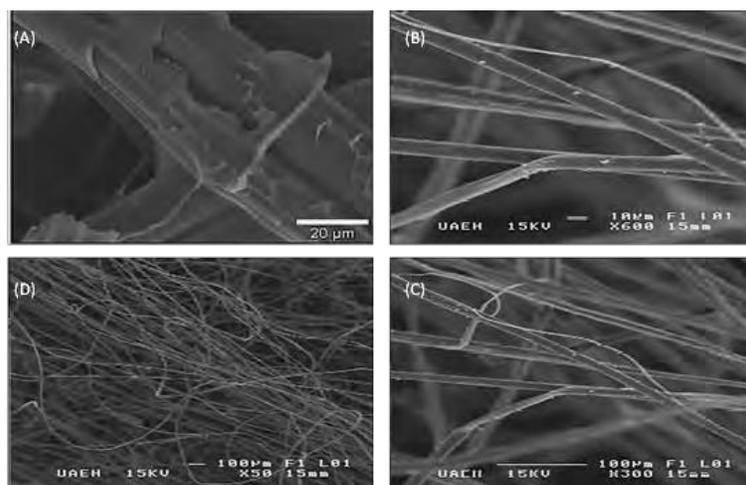


Figura 1. Micrografías de las fibras de seda (A) Con el recubrimiento de sericina y (B), (C) y (D) fibras de fibroína desgomada.

Caracterización de los soportes magnéticos funcionalizados

El análisis por FT-IR permitió identificar los grupos funcionales característicos de la proteína (principalmente -NH y -COO-) en la superficie de la partícula magnética. La Figura 2 muestra los espectros FT-IR para la magnetita (Figura 2A), fibroína (Figura 2B) y de las partículas magnéticas funcionalizadas (Figura 2C), en esta última se puede apreciar la presencia de los grupos característicos de la fibroína.

En la Figura 2A se puede observar la banda característica debida a FeO con una fuerte absorción en 581 cm^{-1} . La banda característica de los enlaces hidroxilo (-OH) aparece en un rango que va desde los $3570\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$, estos grupos se deben a la presencia de la treonina, serina y tirosina, aminoácidos estructurales de la fibroína. Cabe resaltar que la banda se presenta en una forma ancha pero definida. Las bandas de metileno que aparece en el rango que va de $2935\text{-}2865\text{ cm}^{-1}$ y se presenta de forma estrecha y definida, se debe a las ramificaciones tanto de la alanina como de la glicina, aminoácidos mayoritarios en la composición de la fibroína.

En la Figura 2 se puede identificar la banda perteneciente al grupo carbonilo tipo amida que se localiza en un rango de $1680\text{-}1639\text{ cm}^{-1}$, la cual es causada por los enlaces en forma de polímero de los aminoácidos. El espectro correspondiente a la partícula magnética funcionalizada con fibroína (Figura 2B) muestra la banda característica de los óxidos de hierro en un rango de entre $600\text{-}550\text{ cm}^{-1}$, con lo que se confirma la presencia de magnetita en el sólido magnético y fibroína adherida a la partícula.

La Figura 3 muestra el difractograma obtenido del análisis de los soportes magnéticos funcionalizados, en los que se observan los cinco picos característicos de la magnetita en los ángulos $35, 41, 50, 67$ y 75° , sin que se presenten señales características para otras fases de óxidos de hierro u otros minerales de hierro.

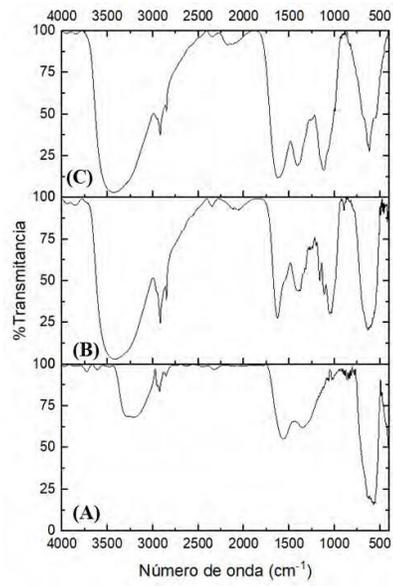


Figura 2. Espectros FT-IR para: (A) magnetita, (B) fibroína y (C) partículas magnéticas funcionalizadas.

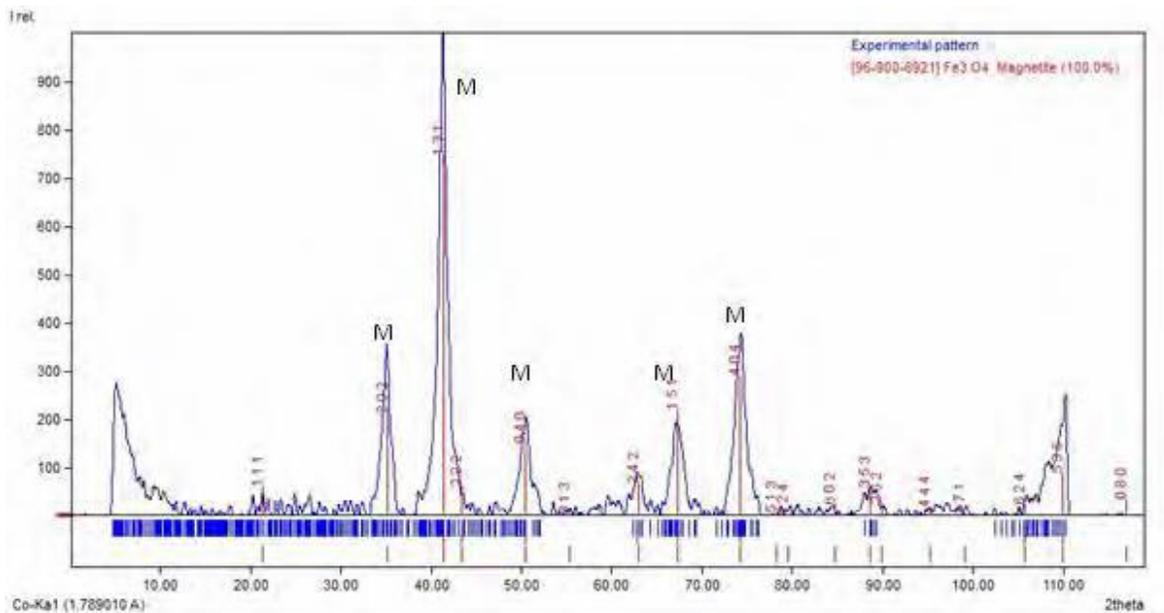


Figura 3. Difractograma de rayos X de las partículas magnéticas funcionalizadas con fibroína, los picos característicos de la magnetita se identifican con la letra M.

La Tabla 1 muestra los resultados de los cálculos realizados para la estimación del tamaño de partícula de los soportes magnéticos funcionalizados con fibroína a partir de la ecuación de Debye-Scherrer, la cual ha sido utilizada por otros autores para calcular el tamaño de partícula de nanopartículas magnéticas funcionalizadas [9,12,13] y los resultados han mostrado concordancia con datos obtenidos por microscopía electrónica de transmisión (TEM).

Tabla 1. Estimación de los tamaños de partícula mediante la ecuación de Debye-Scherrer para el soporte magnético funcionalizado con fibroína.

Parámetro	Valor
Θ	41.39
B (grados)	1.4798
B (rad)	0.0251
τ (nm)	7.35 nm

El análisis morfológico de las partículas magnéticas se realizó mediante microscopía electrónica de barrido. Las micrografías se obtuvieron bajo las siguientes condiciones: 15 kV, distancia de 15 mm con un rango de conteos de 500-1500. La Figura 4 muestra una de las micrografías obtenidas para las partículas de magnetita funcionalizadas con fibroína. Se pueden observar partículas uniformes; sin embargo, se observa una aglomeración, que se puede deber a la alta saturación magnética que presentan los soportes.

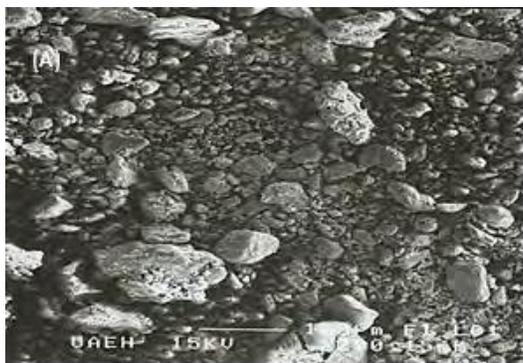


Figura 4. Micrografía de las partículas magnéticas funcionalizadas con fibroína.

CONCLUSIONES

Los sólidos magnéticos obtenidos presentan características adecuadas para utilizarlos como soportes para la extracción en fase sólida dispersa. El recubrimiento de estos soportes con fibroína (proteína) permite tener grupos funcionales que pueden interactuar con especies que estén presentes en muestras complejas, lo que facilitaría su extracción de matrices complejas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento otorgado (Número de proyecto: CB-2013-220163).

REFERENCIAS

- [1] B.S. Murty, P. Shankar, B. Raj, J. Murday. Textbook of Nanoscience and Nanotechnology. Springer. USA. (2013).
- [2] M. Wierucka, M. Biziuk. Trends in Analytical Chemistry. **59**, 50–58 (2014).
- [3] X. Wang, J. Zhuang, Q. Peng, Y.D. Li. Nature. **437**, 121-124 (2005).
- [4] A. Lu, E.L. Salabas, F. Schüth. Angewandte Chemie International Edition. **46**, 1222- 1244 (2007).
- [5] Deng H., Li X., Peng Q., Wang X., Chen J., Li Y. Angewandte Chemie International Edition in English. **44**, 2782-2785 (2005).
- [6] V. Sreeja, P.A. Joy. Materials Research Bulletin. **42**, 1570–1576 (2007).
- [7] G. Giakissikli, A.N. Anthemidis. Analytica Chimica Acta. **789**, 1–16 (2013).
- [8] M. Faraji, Y. Yamini, M. Rezaee. Journal of the Iranian Chemical Society. **7**, 1-37 (2010).
- [9] A.A. Hernández-Hernández, G.A. Álvarez-Romero, A. Castañeda-Ovando, Y. Mendoza-Tolentino, E. Contreras-López, C.A. Galán-Vidal, M.E. Páez-Hernández. Materials Chemistry and Physics. **205**, 113-119 (2018).
- [10] B. Barfi, M. Rajabi, M.M. Zadeh, M. Ghaedi, M. Salvati-Niasari, R. Sahraei. Microchimica Acta, **182**, 1187-1196 (2015).
- [11] V.R. Silva, M. Ribani, M.L. Gimenes, A.P. Scheer. Procedia Engineering. **42**, 833- 841 (2012).
- [12] M.-J. Kim, B. Lim, Y.-K. Jeong, Y.W. Cho, Y.-H. Choa. Journal of Ceramic Processing Research. **8**, 293-295 (2007).
- [13] T. Nypelö, C. Rodríguez-Abreu, J. Rivas, M.D. Dickey, O.J. Rojas. Cellulose. **21**, 2557–2566 (2014).

ELECTROXIDACIÓN DE METANOL SOBRE NPs DE Pt/C SINTETIZADAS A TRAVÉS DEL MÉTODO POLIOL EN PRESENCIA DE Ag⁺

Noemí Roque de la O
Silvia Corona Avendaño
Jessica J. Osorio Ramos
Manuel E. Palomar Pardavé
Mario Romero Romo
Gerardo Vázquez Huerta^{1*}

INTRODUCCIÓN

En la reacción de oxidación de metanol (MOR), el platino (Pt) es el catalizador utilizado por excelencia; sin embargo, se trata de un material escaso lo que provoca un alto costo, además presenta poca tolerancia al envenenamiento por CO, limitando su actividad catalítica; debido a esto ha surgido la necesidad de mejorar su actividad y selectividad, así como minimizar la cantidad de Pt empleado. El desarrollo de nanocatalizadores con control de forma y tamaño, permite aumentar el área electroactiva. En la literatura se ha reportado que la forma de las NPs está ligada a los planos superficiales presentes, a su vez la actividad catalítica se determina dependiendo del tipo de plano [1]. Xia y colaboradores, encontraron que la MOR es selectiva a los planos superficiales en electrodos monocristalinos de Pt (100), Pt (110) y Pt (111), mostrando que el mejor comportamiento se presenta en el electrodo de Pt (110), y además encontraron que el potencial de oxidación, el potencial de pico, así como los procesos de adsorción son sensibles al plano superficial presente [2].

Existen diversos métodos para la síntesis de nanopartículas (NPs) con control de forma entre los cuales podemos mencionar el método electroquímico, método fotoquímico, y

¹ Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco, Departamento de Materiales. Av. San Pablo #180, Col. Reynosa-Tamaulipas, C.P. 02200, Ciudad de México. Tel: +52 (55) 53189356, e-mail:(*)gvh@correo.azc.uam.mx.

particularmente el método poliol, este último ha mostrado buenos resultados para el control de tamaño y forma. Este método emplea un poliol (un alcohol con 2 o más grupos hidroxilo) como solvente y reductor, presenta ventajas como solubilizar diversos materiales, poseer propiedades quelantes (lo cual previene la aglomeración de partículas) y actuar como agente reductor [3]. La adición de surfactantes, polímeros, moléculas pequeñas y especies atómicas puede promover la formación de planos preferenciales dependiendo del tipo de especie, así como su concentración lo que se ve reflejado en la morfología de las nanopartículas.

En este trabajo se emplea el método poliol para la síntesis de NPs de Pt, utilizando 1,5-pentanodiol como solvente y agente reductor, incorporando nitrato de plata (AgNO_3) como agente modificador, con el propósito de variar la forma de las NPs de Pt. En la literatura se ha encontrado que la variación de la concentración de iones de plata (Ag^+ de una sal precursora AgNO_3) en presencia de otros agentes modifica la formación de NPs de Pt, desde la obtención de cubos, octaedros, tetraedros y otros poliedros [4,5]. En este trabajo se evalúa la influencia que tiene el Ag^+ como único agente modificador de forma durante la síntesis de NPs de Pt; para después evaluar su actividad catalítica en la reacción de oxidación de metanol (MOR).

EXPERIMENTACIÓN

Las NPs de Pt se sintetizaron a través del método poliol, con el objetivo de modificar la morfología de las NPs, se varió la relación molar entre la sal de Pt y el AgNO_3 (Tabla 1), empleando 1,5-pentanodiol (PD) como agente reductor y disolvente. Se prepararon las siguientes disoluciones:

Disolución Pt/PD 5 mL de una disolución 5 mM de tetracloroplatinato de sodio ($\text{Na}_2\text{PtCl}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) en PD.

Disolución Ag^+ /PD 5 mL de una disolución 5 mM de AgNO_3 en PD.

Para preparar las NPs de Pt1 (relación molar 0.1) el procedimiento es el siguiente.

En un matraz erlenmeyer de 250 mL se colocaron 60 mL de 1,5-Pentanodiol, se calentó en un baño de glicerina y se mantuvo en agitación hasta alcanzar una $T=90^\circ\text{C}$. Una vez alcanzada la temperatura se agregaron 250 μL de la disolución " Ag^+ /PD", se dejaron pasar a 30 s y se agregaron 100 μL disolución " Pt/PD " cada 30 s hasta agregar 2.5 mL de esta disolución. La disolución se mantuvo a $T=90^\circ\text{C}$ con agitación vigorosa, transcurridos 18 min, se retiró del calentamiento y se dejó enfriar. Se agregaron 200 mL de agua desionizada mientras se seguía agitando.

Tabla 1. Relación Molar para la síntesis de NPs de Pt en presencia de Ag⁺.

Relación Molar Pt:Ag ⁺	Disolución Pt/PD (mL)	Disolución Ag ⁺ /PD (μL)	Catalizador
0.10	2.5	250	Pt1
0.02	2.5	50	Pt2
0.01	2.5	25	Pt3

Las NPs fueron soportadas en Carbón Vulcan 72R y se filtraron para obtener el polvo catalítico el cual fue depositado como tinta en un electrodo de carbón vítreo (electrodo de trabajo). La electroactividad de las NPs Pt1/C, Pt2/C, Pt3/C fue comparada con la de NPs sintetizadas por el método coloidal (Pt0/C), el cual consiste en calentar 200 mL de una solución 0.125 mM de Na₂PtCl₄•6H₂O manteniendo agitación constante, una vez alcanzada la temperatura de 90°C, se agregaron 1.54 mL de una solución 0.1 mol L⁻¹ citrato trisódico (C₂H₅Na₃O₇) como agente reductor, el cambio de coloración de la solución de amarillo a canela indica la formación de las NPs de Pt, el catalizador NPs Pt/C ha sido estudiado por el grupo de trabajo y ha presentado buena respuesta para la MOR.

La caracterización electroquímica se realizó en una celda electroquímica de tres electrodos; donde el electrodo de trabajo era carbón vítreo modificado con la tinta catalítica. El electrodo de referencia utilizado fue de calomel (Hg/Hg₂Cl₂ sat, KCl) y una barra de grafito como contra electrodo. Se emplearon técnicas como voltamperometría cíclica y cronoamperometría. La técnica de adsorción–redisolución anódica de CO se utilizó para determinar el área electroactiva real de los catalizadores (no se muestra en este trabajo).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización Física, STEM

La morfología de las NPs de Pt, fue analizada mediante STEM, la Figura 1 a-c muestra las micrografías correspondientes a las NPs a) Pt0, b) Pt1 y c) Pt2, en todos los casos se obtienen tamaños de partículas uniforme, se puede observar que para las partículas de Pt0 presentan partículas esféricas de tamaño promedio de 20 nm, en las NPs de Pt1 y Pt2 se observa un cambio en la morfología, las NPs Pt1 (Figura 1b) presentan partículas en su mayoría cúbicas que se asocian a la presencia de planos {100}, mientras las NPs Pt2 (Figura 1c) presenta una forma angular intermedia entre cubos y esferas con un tamaño promedio de 25 nm.

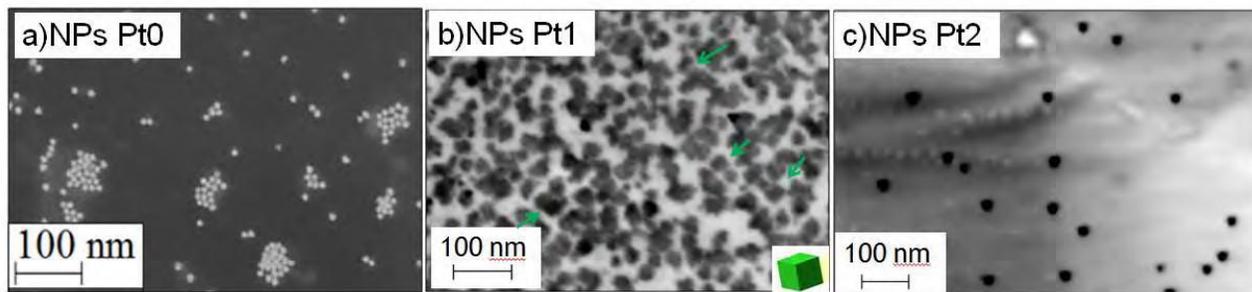


Figura 1. Imágenes de STEM de las NPs a) Pt0 b) Pt1 y c) Pt2

Caracterización Electroquímica

La caracterización electroquímica de las NPs de PtX/C ($X = 0, 1, 2$ y 3) se realizó en una celda electroquímica de tres electrodos, en un Potenciostato-Galvonostato AUTOLAB PGSTAT12. La actividad electrocatalítica de las NPs de Pt con diferentes relaciones molar de Ag^+ durante la síntesis, fue comparada con la de NPs de Pt0/C preparadas a través del método coloidal.

Voltamperometría Cíclica (VC)

De manera previa a la caracterización electroquímica, el electrodo de trabajo se sometió a un proceso de limpieza electroquímica, mediante VC a través de 150 ciclos en una solución $0.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$, a una velocidad de barrido de 0.20 V/s , en una ventana de potencial de -0.20 V a 0.95 V vs SCE , hasta lograr un voltamperograma sin cambios en la respuesta de corriente, los voltamperogramas correspondientes a las NPs de Pt0/C, Pt1/C, Pt2/C y Pt3/C se muestran en la Figura 2.

La respuesta en corriente de estos catalizadores representa los procesos característicos de una superficie de Pt en un electrolito ácido ($0.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$) los cuales son dependientes del potencial, y se mencionan a continuación: i) adsorción de protones sobre los átomos de Pt en el intervalo de potencial de 0 a -0.2 V vs SCE , ii) desorción de protones entre -0.2 y 0 V , iii) oxidación de la superficie de Pt a potenciales mayores de

0.6 V y iv) el pico de reducción del óxido de platino entre 0.4 y 0.8 V vs SCE [6].

Cabe mencionar que los catalizadores de Pt1/C, Pt2/C y Pt3/C, no muestran la presencia de plata (Ag) en su superficie, ya que es oxidada en los primeros ciclos de limpieza y únicamente actúa como agente modificador de forma durante la síntesis, la influencia de la plata como modificador de la forma puede verse en la zona de desorción de protones (Figura 2) en

comparación con la del catalizador de Pt0/C (morfología esférica), éste presenta dos zonas características de desorción, un primer pico a -0.15 V asociado a la desorción de protones en el plano (110) y un par de ellos entre -0.1 y 0 V asociados a una superficie (111) [7], esta última se ve modificados cuando se agrega Ag^+ durante la síntesis, en los catalizadores Pt2/C y Pt3/C, son más definidos, mientras que en el catalizador Pt1/C que presenta una morfología mayoritariamente cúbica asociada a planos {111} solo aparece un pico desde -0.15 a 0 V.

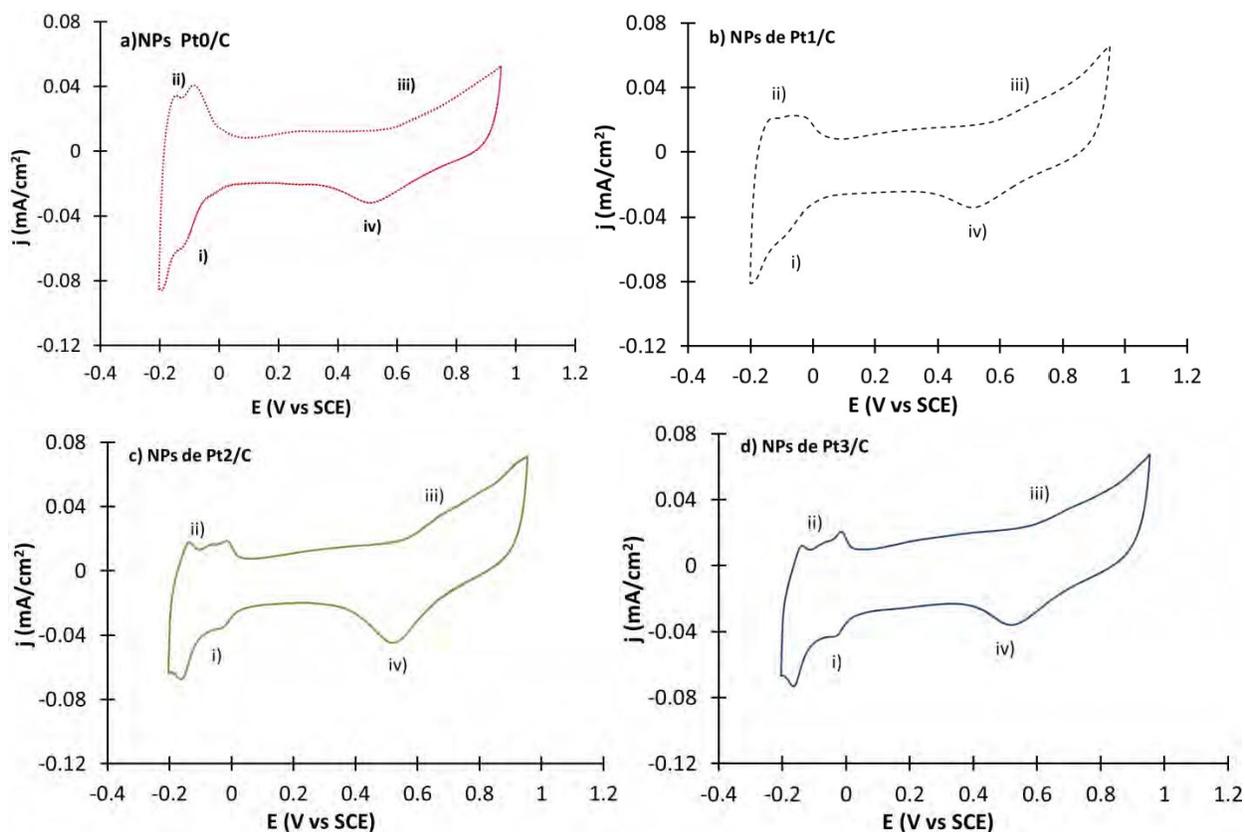


Figura 2. Voltamperograma típico de NPs de: a) Pt/C. b) Pt1/C en $0.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ a 0.05 V/s . c) Pt2/C. d) Pt3/C en $0.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ a 0.05 V/s .

Voltamperometría de las NPs de Pt en la oxidación de CH_3OH

La oxidación de metanol (MOR) se estudió a través de VC en un intervalo de potencial de -0.2 a 0.95 V vs SCE, en una disolución $0.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ CH}_3\text{OH} + 0.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$, iniciando el barrido de potencial desde el potencial de circuito abierto (E_{ocp}) en dirección anódica. En la Figura 3 se observa el comportamiento de los catalizadores NPs de Pt0/C, Pt1/C, Pt2/C y Pt3/C, para cada uno de ellos podemos apreciar que se forman dos picos uno durante el barrido en dirección positiva y otro cuando se invierte la dirección del barrido de potencial; el primer pico aparece entre 0.3 y 0.9 V vs

SCE (Figura 3) al máximo de la densidad de corriente se le denomina pico I, que generalmente se ha atribuido a la oxidación de las moléculas de metanol formando CO_{ads} como principal especie intermediaria [8,9]; una vez alcanzado el potencial de 0.95 V la dirección del barrido de potencial se invirtió y durante el barrido de regreso se formó un segundo pico de oxidación (Figura 3 pico II), aproximadamente entre 0.6 y 0.2 V, en la literatura se ha informado que este pico se debe a la oxidación de las especies adsorbidas, así como de más moléculas de metanol, las cuales reaccionan en la superficie regenerada de Pt metálico [6].

El valor del pico de oxidación (I y II) depende del catalizador empleado, la densidad de corriente máxima se obtiene con el catalizador NPs Pt2/C, mientras que el catalizador Pt/C presenta menor densidad de corriente durante el barrido de ida además de presentar ambos picos ligeramente desplazados hacia potenciales más positivos, la presencia de Ag^+ afecta el arreglo (plano superficial) que tienen los átomos de Pt lo que se ve reflejado en la MOR, los catalizadores NPs Pt1/C y Pt3/C presentan una actividad catalítica muy similar tanto para el pico I como en el pico II.

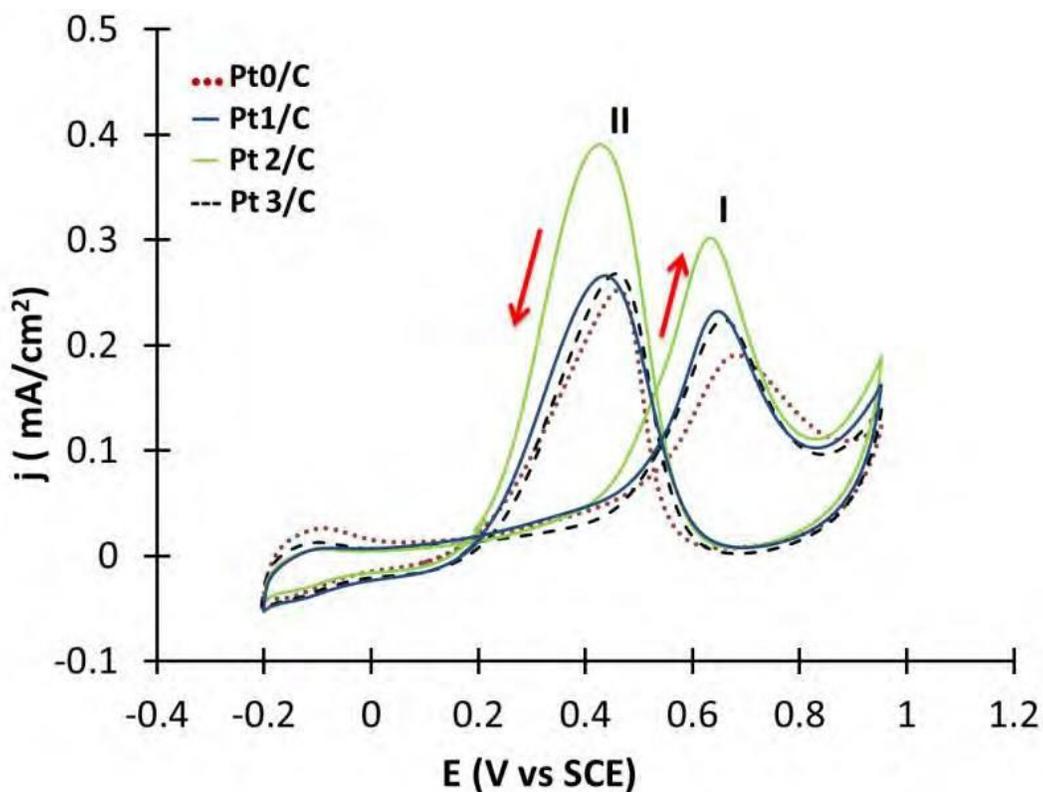


Figura 3. Comportamiento de j vs E de la oxidación de metanol, en un electrodo de: (●●) NPs Pt0/C, (—) Pt1/C, (—) Pt2/C y (—) Pt3/C en una solución $0.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ CH}_3\text{OH} + 0.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$, velocidad de barrido de 0.05 V/s

Cronoamperometría de las NPs de Pt en la oxidación de CH₃OH

En la Figura 4 se presentan las curvas de densidad de corriente j (mA/cm²) en función del tiempo t (s) de las NPs Pt0/C, Pt1/C, Pt2/C y Pt3/C durante la oxidación de metanol cuando se impone un potencial constante de 0.5 V vs SCE durante 300 s. Los transitorios de corriente han sido normalizados con el área real y muestran que al término de 300 s la densidad de corriente anódica (j_a) del sistema es mayor en las NPs de Pt2/C lo que coincide con lo encontrado en la técnica de voltamperometría cíclica en donde la mejor respuesta la tienen las NPs de Pt2/C. Mientras la j_a en los otros catalizadores disminuye en el siguiente orden: Pt0/C > Pt3/C > Pt1/C.

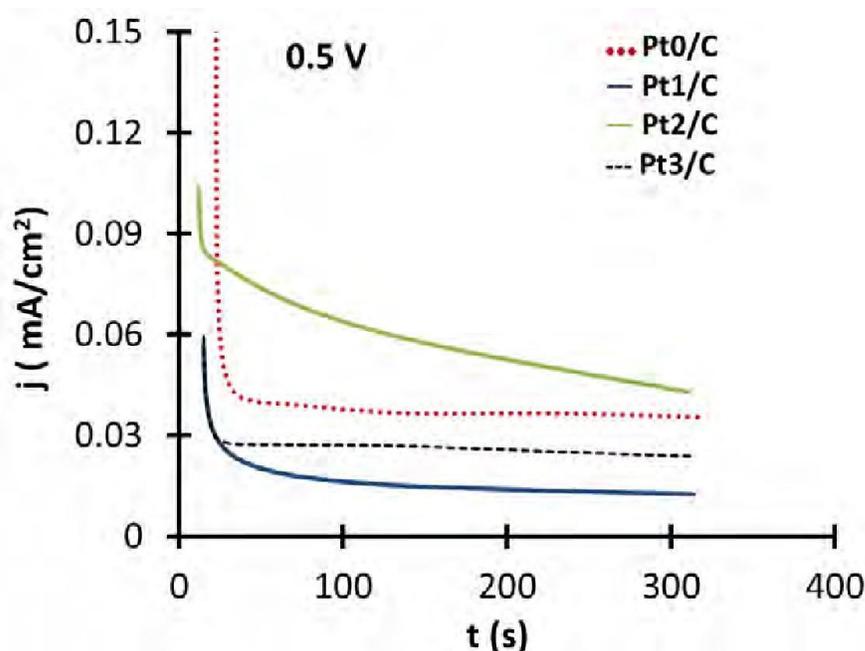


Figura 4. Comportamiento j vs t , a potenciales de 0.5V vs SCE, en electrodos de: (●●) NPs Pt0/C, (—) Pt1/C, (—) Pt2/C y (---) Pt3/C en una disolución 0.5 mol L⁻¹ CH₃OH + 0.5 mol L⁻¹ H₂SO₄, durante 300 s.

CONCLUSIONES

En este trabajo se evaluó la influencia que tiene la presencia de Ag⁺ como agente modificador de la forma de NPs de Pt y su actividad electroquímica para la MOR, mediante STEM se observó que la forma de las NPs cambia dependiendo de la cantidad de Ag⁺ en la síntesis, formándose predominantemente partículas cúbicas asociadas con los planos {100}, mientras las NPs de Pt0 presentan una forma esférica. La caracterización electroquímica revela una alteración en los picos correspondientes a la zona de desorción de protones en la solución blanco, asociados los planos

formados dependiendo del contenido de Ag^+ . En la MOR, el mejor catalizador fue Pt₂/C evaluado tanto por voltamperometría cíclica como por cronoamperometría.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo financiero otorgado a través de la beca de Doctorado.

REFERENCIAS

- [1] Z. Peng, H. Yang, Designer platinum nanoparticles: Control of shape, composition in alloy, nanostructure and electrocatalytic property, *Nano Today*, **4** [2] 143-164, (2009).
- [2] X.H. Xia, T. Iwasita, F. Ge, W. Vielstich, Structural effects and reactivity in methanol oxidation on polycrystalline and single crystal platinum, *Electrochemical Acta*, **41** [5] 711- 718, (1996).
- [3] K. Eid, H. Wang, L. Wang, Chapter 6 - Nanoarchitectonic Metals, *Supra Materials-Nanoarchitectonic*, William Andrew Publishing, 135-171, (2017).
- [4] H. Song, F. Kim, S. Connor, G.A. Somorjai, P. Yang, Pt Nanocrystals: Shape Control and Langmuir-Blodgett Monolayer Formation, *The Journal of Physical Chemistry B*, **109** [1] 188-193, (2005).
- [5] N.V Long, M. Ohtaki, M. Uchida, R.Jalem, H.Hirata,N.D.Chien,M.Nogami,*Journal of Colloid and Interface Science*, **35 9** [2] 339-350, (2011).
- [6] F.Seland, R. Tunold, D.A. Harrington, Impedance study of methanol oxidation on platinum electrodes, *ElectrochimicaActa*, **51** [18] 3827-3840, (2006).
- [7] J.S. Gullón, P. Rodriguez, E. Herrero, A. Aldaz, J.M. Feliu, Surface characterization of platinum electrodes, *Physical Chemistry Chemical Physics*, **10** 1359-1373, (2008).
- [8] G.X. Cai, Negative resistance for methanol electro-oxidation on platinum/carbon (Pt/C) catalyst investigated by an electrochemical impedance spectroscopy. *Journal of Power Sources*, **276** 279-290, (2015).
- [9] H. I-Ming, W. Xin, L. Yong-Jun, Electrochemical Impedance Studies of Methanol Electro-oxidation on Pt/C Thin Film Electrode *Journal of the Electrochemical Society*, **149** [5] A615-A621, (2002).

COMPARACIÓN DE DEPÓSITOS DE ZINC Y CADMIO FORMADOS EN DISOLVENTES EUTÉCTICOS PROFUNDOS Y SU EFECTO EN LA CORROSIÓN DE ACERO AL CARBÓN 1018

Evelin Gutiérrez Moreno¹
José Antonio Rodríguez Ávila^{1*}
Julián Cruz Borbolla¹
Yolanda Castrillejo Hernández²
Enrique Barrado Esteban²

INTRODUCCIÓN

Los líquidos iónicos (ILs) son una clase de solventes compuestos de iones totalmente disociados que funden a temperaturas menores de 100°C [1]. ILs han sido empleados para realizar la electrodeposición de metales muy electronegativos, un proceso que es imposible de lograr con solventes acuosos debido a la evolución de H₂, que además causa la fragilización del sustrato [2,3]. A pesar de los beneficios que presentan los ILs tienen algunas desventajas: toxicidad, poca biodegradabilidad y alto costo. Como alternativa al uso de los ILs se encuentran los Disolventes Eutécticos Profundos (DES), siendo algunos de estos, líquidos a temperatura ambiente con características físico- químicas similares a los ILs. Los DES son económicos en comparación con los ILs y menos agresivos con el medio ambiente [4,5]. Los DES más comunes consisten de la mezcla de cloruro de colina (ChCl) con una especie donadora de enlaces hidrógeno (HBD), como aminas, ácidos carboxílicos, glicoles y fenoles.

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Centro de Investigaciones Químicas, Laboratorio de Química Analítica. Ciudad Universitaria, Carr. Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Pachuca, Hidalgo. México. C.P. 42076. Tel: +52 (771) 717 2000 ext 6785, Fax: +52 (771) 717 2109. e-mail: josear@uaeh.edu.mx

² Universidad de Valladolid. Dpto. de Química Analítica, Facultad de Ciencias. Prado de la Magdalena s/n, 47005 Valladolid, España.

Debido a las ventajas del uso de DES en el presente se realiza la comparación de electrodepositos de Zn y Cd formados en el medio cloruro de colina con urea (U), tiourea (TU) o etilenglicol (EG), sobre un sustrato de acero al carbón 1018 para analizar la corrosión cuando son expuestos en un medio salino NaCl 3% peso.

EXPERIMENTACIÓN

Los DES basados en cloruro de colina con urea, tiourea o etilenglicol fueron preparados disolviendo los componentes en agitación continua. Las temperaturas de trabajo fueron 70°C para las mezclas ChCl-U y ChCl-EG, y 80°C para la mezcla ChCl-TU. Los reactivos con grado analítico fueron mezclados considerando la relación molar 1:2, para alcanzar un punto de fusión menor al de las especies puras correspondientes. ZnCl₂ y CdCl₂ (Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo. USA) se adicionaron a los tres disolventes preparados, considerando la cantidad necesaria para alcanzar una concentración de 0.2 mol·kg⁻¹. Los disolventes preparados fueron almacenados a temperatura ambiente.

El análisis de corrosión del acero modificado fue realizado utilizando solución de NaCl 3% (p/v) (JT Baker, México) preparado en agua desionizada obtenida mediante un sistema Milli-Q Plus (Millipore, Bedford, MA, USA), con una resistividad no menor que 18.2 MΩ·cm.

Todos los ensayos fueron realizados en una celda electroquímica de tres electrodos. El electrodo de trabajo (WE) consistió en una varilla de acero al carbón AISI 1018 con un diámetro de 0.32 cm² (0.15-0.20% C, 0.60-0.90% Mn, 0.04% P, 0.05 % S, balance % Fe), se utilizó un alambre de platino como electrodo auxiliar (CE), y un electrodo de referencia (RE) de plata-cloruro de plata (Ag/AgCl MW-2021 BASi, West Lafayette, IN, USA). La superficie expuesta fue renovada con papel de grano, limpiada con acetona y lavada con agua desionizada. La temperatura de los disolventes fue controlada utilizando un sistema de recirculación (Brinkmann Lauda Econoline RE106).

Los ensayos voltamperométricos se iniciaron a partir de potencial de circuito abierto hacia potencial catódico a 10 mV·s⁻¹. La formación de depósitos sobre acero al carbón se realizó utilizando un electrodo de pseudo-referencia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestran los voltamperogramas cíclicos de Zn (II) obtenidos en los tres DES preparados. En el caso del solvente ChCl-TU fue necesario el incremento de temperatura a 80°C, para la disminución de la viscosidad del solvente, lo que representa una desventaja respecto a las mezclas ChCl-EG y ChCl-U. La mezcla ChCl-EG tiene menor viscosidad aún a 70°C, lo que puede asociarse con un impacto positivo en la formación de depósitos metálicos, a pesar de tener una ventana de potencial más limitada en la zona catódica, respecto a ChCl-U.

Para poder atribuir la señal de reducción observada en los voltamperogramas cíclicos, realizados en los DES, a la reducción de Zn (II) a Zn, se llevó a cabo un voltamperograma bajo las mismas condiciones de temperatura y en ausencia de ZnCl₂, esta vez empleando como electrodo de trabajo una lámina de cinc de superficie no controlada. Como puede observarse en la Figura 1, el valor máximo de la señal de reducción se encuentra en un potencial cercano al obtenido en presencia de ZnCl₂ sobre el electrodo de acero al carbón.

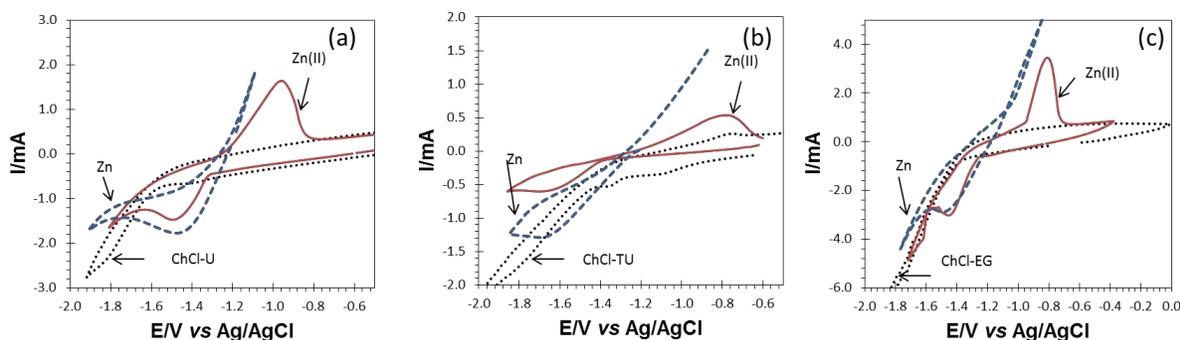


Figura 1: Voltamperogramas cíclicos (10 mV·s⁻¹) obtenidos en: (a) ChCl-U, (b) ChCl-TU y (c) ChCl-EG, en presencia de ZnCl₂, con acero al carbón como electrodo de trabajo (línea roja), y empleando una lámina de Zn como electrodo de trabajo en ausencia de ZnCl₂ (línea azul).

Tomando en cuenta que la difusión de especies hacia la superficie del electrodo de trabajo es un factor clave para lograr la reducción de especies y la formación de depósitos metálicos, se realizaron una serie de voltamperogramas en los diferentes DES, para determinar los coeficientes de difusión de Zn (II) mediante la técnica de convolución. Los valores de coeficiente de difusión obtenidos para Zn (II) en los diferentes medios se muestran en la Tabla 1, resulta evidente que el coeficiente de difusión en ChCl-EG, es mayor lo que se asocia a una menor viscosidad del medio.

Tabla 1. Coeficientes de difusión de Zn(II) obtenidos por convolución de una serie de voltamperogramas cíclicos en DES.

DES	T(°C)	Densidad	Coeficiente de difusión
			$10^{-7} \text{ (cm}^2\cdot\text{s}^{-1}\text{)}$
ChCl-U	70	1.17	2.4 ± 0.5
ChCl-TU	80	1.19	1.1 ± 0.2
ChCl-EG	70	1.09	11.3 ± 1.1

La formación de depósitos de metales como Zn y Ni, entre otros, con fines de protección de la corrosión tiene como principal objetivo el reemplazo de metales como cadmio, que a pesar de su eficacia, presenta como principal desventaja su toxicidad. Para comparar los resultados obtenidos con ZnCl_2 se realizó el mismo procedimiento con CdCl_2 . Los voltamperogramas obtenidos en los diferentes DES se muestran en la Figura 2. En la zona catódica se observa la señal correspondiente a la reducción de Cd(II) a Cd, en los diferentes DES. Para complementar la información se realizó la convolución de una serie de voltamperogramas, los coeficientes de difusión obtenidos se muestran en la Tabla 2.

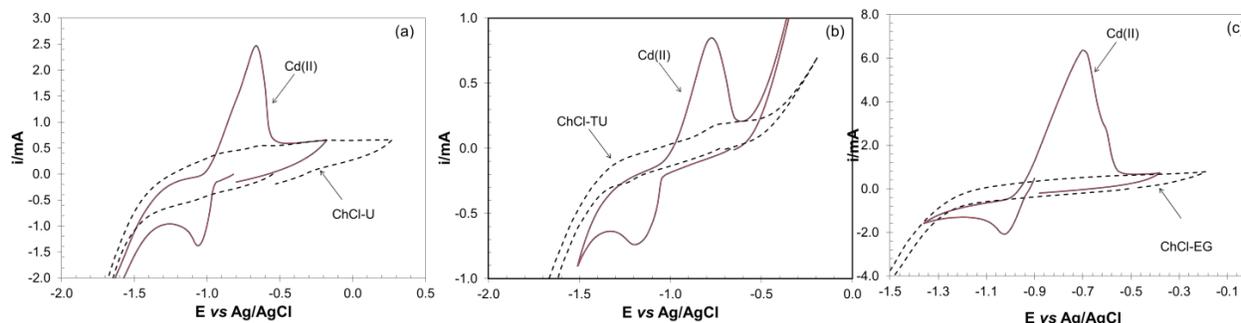
Figura 2: Voltamperogramas cíclicos ($10 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$) obtenidos en: (a) ChCl-U, (b) ChCl-TU y (c) ChCl-EG, en presencia de CdCl_2 , con acero al carbón como electrodo de trabajo (WE).

Tabla 2. Coeficientes de difusión de Cd(II) obtenidos por convolución de una serie de voltamperogramas cíclicos en DES.

DES	T(°C)	Densidad	Coeficiente de difusión
			$10^{-7} \text{ (cm}^2\cdot\text{s}^{-1}\text{)}$
ChCl-U	70	1.17	3.28 ± 0.4
ChCl-TU	80	1.19	1.5 ± 0.7
ChCl-EG	70	1.09	9.7 ± 0.2

Los coeficientes de difusión de Zn(II) y Cd(II) en los DES, siguen la tendencia: Ch-Cl-EG>ChCl-U>ChCl-TU. Este resultado puede atribuirse principalmente a la viscosidad del medio.

Para verificar el efecto del DES en la formación de depósitos metálicos Zn y Cd, se realizó el depósito de estos metales en los diferentes DES mediante cronoamperometría, eligiendo los potenciales correspondientes a la zona de reducción observadas por voltamperometría cíclica. Se utilizó como sustrato una superficie de acero al carbón 1018, los tiempos de depósito fueron de 5 y 10 minutos. Las superficies de acero modificadas y no modificadas (superficie de control) fueron expuestas en un medio acuoso corrosivo de NaCl 3% (p/v). Para analizar los depósitos se realizó un seguimiento entre otras propiedades a la evolución del potencial de corrosión durante 6 h obtenido a partir de polarización potenciodinámica. Los cambios de potencial de corrosión (E_{corr}) vs tiempo (min) se muestran en la Figura 3.

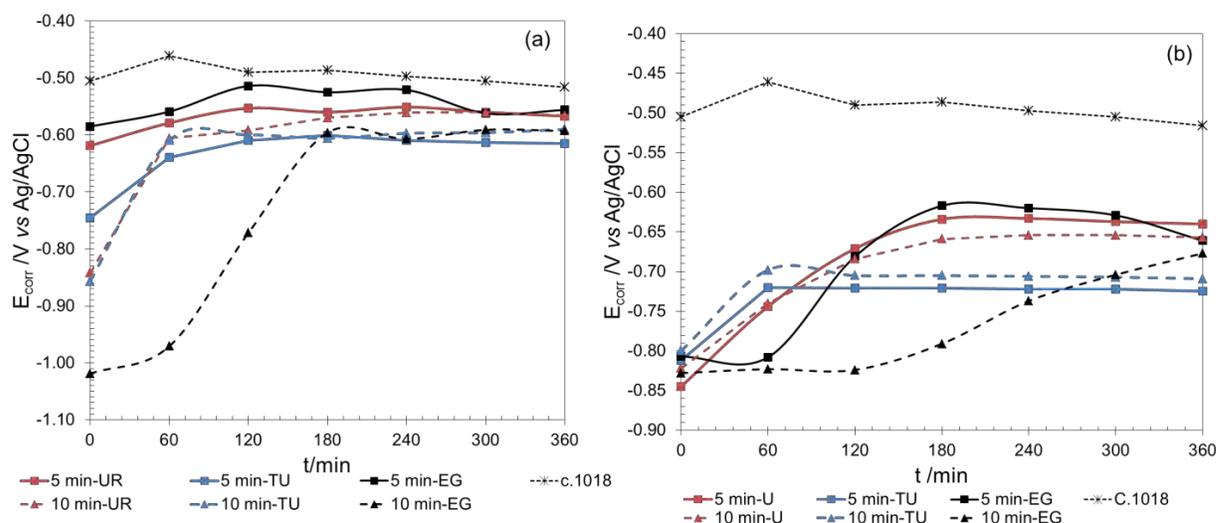


Figura 3: Variación de E_{corr} vs tiempo de los electrodepositos de: (a) Zn y (b) Cd en los diferentes DES.

La formación de depósitos de Zn y Cd ocasiona un desplazamiento en el E_{corr} hacia valores negativos respecto del acero al carbón. Se puede observar en ambas gráficas que el depósito formado en el DES ChCl-EG evoluciona lentamente respecto a los depósitos formados en ChCl-U y ChCl-TU, cuando se encuentra sometido a un medio corrosivo.

CONCLUSIONES

Del análisis de corrosión de los depósitos de Zn y Cd formados en tres DES se pudo observar que la resistencia de estos depósitos depende de factores como coeficiente de difusión, temperatura, viscosidad y composición del medio.

La presencia de Zn y Cd sobre la superficie de acero fue evidenciada por polarización potenciodinámica en medio salino; la presencia de estos metales ocasiona un desplazamiento del potencial de corrosión de la superficie metálica. El desplazamiento más lento del E_{corr} se observó en los depósitos formados en ChCl-EG, que son los que tienen un mayor coeficiente de difusión observado en presencia de ambas especies [Zn

(II) y Cd (II)]. En el caso del DES ChCl-TU, se logró la formación de depósitos de Zn y Cd, sin embargo, la viscosidad del medio vuelve necesario el uso de temperaturas elevadas, lo que representa una desventaja respecto a ChCl-U y ChCl-EG, que son líquidos a temperaturas moderadas.

REFERENCIAS

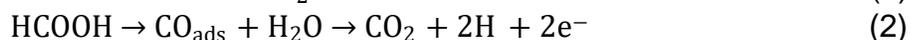
- [1] E. Barrado, R.A.S. Couto, M.B. Quinaz, J.L.F.C. Lima, Y. Castrillejo, Electrochemical behaviour of ferrocene in the ionic liquid 1-ethyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate, EMIMBF₄, at 298 K, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **720** [72], 139-146 (2014).
- [2] A.P. Abbott, G. Capper, K.J. McKenzie, K.S. Ryder, Electrodeposition of zinc-tin alloys from deep eutectic solvents based on choline chloride, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **599**, 288-294 (2007).
- [3] P. Ganesan, S.P. Kumaraguru, B.N. Popov, Development of compositionally modulated multilayer Zn-Ni deposits as replacement for cadmium, *Surface & Coatings Technology*, **201**, 7896-7904 (2007).
- [4] Q. Abbas, L. Binder, Synthesis and characterization of choline chloride based binary mixtures, *ECS Trans.* **33**, 49-59 (2010).
- [5] A.P. Abbott, K.El Ttaib, K.S.Ryder, E.L. Smith, electrodeposition of nickel using eutectic based ionic liquids, *Trans. Inst. Met. Finish.* **86**, 234-240 (2008).

ESTUDIO DE LA OXIDACIÓN DE ÁCIDO FÓRMICO SOBRE NANOPARTÍCULAS DE Pt/C Y Au@Ptx

Alejandro Vásquez Arango
Silvia Corona Avendaño
Jessica Jezabel Osorio Ramos
Manuel Eduardo Palomar Pardavé
Mario Alberto Romero Romo
Gerardo Vázquez-Huerta^{1*}

INTRODUCCIÓN

La creciente demanda de energía exige la investigación de nuevas fuentes de energía más eficientes y con menor impacto ambiental. Las celdas de combustibles de ácido fórmico son una de ellas, en ellas el mecanismo más aceptado por el cual se lleva a cabo la Oxidación de Ácido Fórmico (FAO) es el de dos vías paralelas: la vía directa (1) y la vía indirecta (2); la vía indirecta genera CO_{ads} en un paso intermedio provocando el envenenamiento de catalizadores de Pt lo cual disminuye su actividad catalítica [1,2,3].



La utilización de nanopartículas (NP) de núcleo de Au y envolvente de Pt (Au@Pt/C) como catalizador disminuye el efecto de envenenamiento. En este trabajo se estudia cómo afecta variar la cantidad de Pt en la actividad catalítica en NPs Au@Pt_x/C (x = 0.1, 0.2, 1 y 4) para ello se utiliza la densidad de corriente de pico de oxidación obtenido en el barrido en dirección negativa de los voltamperogramas cíclicos (VC); además, con el fin de diferenciar los cambios en los procesos ocurridos durante la -FAO-se realizan un análisis por Espectroscopia de Impedancia Electroquímica (EIS).

¹ Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco. Departamento de Materiales. Laboratorio Interdisciplinario de Electroquímica e Ingeniería de Materiales. Av. San Pablo #180, Col. Reynosa-Tamaulipas, Azcapotzalco, AP 55-534. México, Ciudad de México. C.P. 02200. Tel: +52 (55) 53 18 90 00 ext. 2238. e-mail*: gvh@correo.azc.uam.mx.

EXPERIMENTACIÓN

La síntesis se realizó mediante métodos coloidales a partir de la reducción de las sales tetracloroplatinato de sodio hexahidratado ($\text{Na}_2\text{PtCl}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) y ácido tetracloraúdrico trihidratado ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) utilizando $\text{C}_2\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_2$ como agente reductor y estabilizante. Las NP fueron soportadas en carbón vulcan XC-72R. Los experimentos electroquímicos fueron realizados en una celda electroquímica convencional de tres electrodos con un electrodo de trabajo de carbón vítreo, una barra de grafito como contraelectrodo y un electrodo de referencia de calomel saturado (SCE), todos los potenciales aquí reportados están referenciados a SCE. Antes de llevar a cabo cualquier experimento se realizó una limpieza y activación electroquímica del catalizador realizando una voltamperometría cíclica de 100 ciclos a una velocidad de barrido de 0.2 V/s en una ventana de potencial de -0.2 a 1V vs SCE. Los valores de corriente e impedancia fueron normalizados respecto al área electroactiva que se obtuvo con la técnica electroquímica de Adsorción-Redisolución Anódica de CO, tomando en cuenta una densidad de carga para la oxidación de una monocapa de CO de $420 \mu\text{C}/\text{cm}^2$ [4]. Con el fin de determinar si existen diferencias significativas entre las actividades catalíticas de las NP y que estas diferencias se deben a la modificación en la cantidad de Pt en el envoltorio y no a los errores experimentales realizados durante el proceso de caracterización se plantea un análisis estadístico, para ello todos los experimentos se realizaron por triplicado y se utiliza un *Análisis de Varianza* (ANOVA), además, para comparar las actividades catalíticas entre los pares de NPs se hace uso de una *prueba t de dos muestras* [5], para ambas pruebas la hipótesis nula es que no existe evidencia de diferencias significativas entre las actividades catalíticas de las NP.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la *Figura 1* se muestran los voltamperogramas de la FAO sobre NPs de Pt/C y Au@Pt_x/C con $x = 0.1, 0.2, 1$ y 4 a una velocidad de barrido de $0.05\text{V}/\text{s}$. En el caso de las NPs de Pt/C (*Figura 1a*), en el barrido de ida, se forma un pequeño pico de oxidación (Pico I) a un potencial de 0.38V , en la literatura este pico de oxidación se adjudica a la FAO por la vía directa y formación de CO_{ads} por la vía indirecta [6]. Por su parte, Seland y col. [7] han informado que la disociación del agua para formar OH^- y H^+ se produce en el intervalo de potencial de 0.26V vs SCE a 0.526V vs SCE, por lo que los OH^- pueden combinarse con el CO_{ads} , formándose CO_2 , con lo cual la corriente observada en el

primer pico de oxidación de las NPs de Pt podría ser una contribución de ambas vías de oxidación. Al incrementar aún más el potencial, aparece un segundo pico de oxidación, a un potencial de 0.919V, en la literatura este pico de oxidación se asocia a la vía indirecta de la FAO [6], el incremento en el pico de oxidación se debe a que se llega a potenciales en los cuales el CO_{ads} es oxidado liberando sitios de Pt, donde la vía directa también puede llevarse a cabo [7]. Una vez alcanzado un potencial de 1V se invierte la dirección de barrido de potencial, apareciendo un pico de oxidación a un potencial de 0.802V, algunos autores mencionan que el crecimiento abrupto de corriente se debe a que en esta región de potencial la superficie Pt_{ads} está bloqueada por CO alcanzando un máximo cuando la superficie de Pt está completamente reducida [6, 7, 8], a potenciales menores se aprecia un hombro en $\sim 0.5\text{V}$, Perales y Col. [8] han relacionado este hombro con la FAO que toma lugar sobre diferentes planos cristalinos, sin embargo, Seland y col. [7] han propuesto que este hombro puede ser debido a un cambio en la vía indirecta de oxidación, donde, inicialmente el CO_{ads} es oxidado en presencia de PtO y posteriormente en presencia de OH^- ; al disminuir aún más el potencial la generación de CO_{ads} se incrementa, lo cual hace disminuir la densidad de corriente. Las curvas j vs E de las NPs $\text{Au@Pt}_x/\text{C}$ muestran un comportamiento similar al Pt/C con algunas diferencias, por ejemplo, para las NPs $\text{Au@Pt}_4/\text{C}$ y $\text{Au@Pt}_1/\text{C}$ el hombro mostrado en NPs Pt/C se transforma en un segundo pico en el barrido de regreso, mientras que en las NPs $\text{Au@Pt}_1/\text{C}$ se transforman en una meseta, además, en las NPs $\text{Au@Pt}_1/\text{C}$ se aprecia un hombro a un potencial aproximado de 0.2 V, este hombro puede ser debido a que termina la vía indirecta de oxidación del CO_{ads} en presencia de los OH^- provenientes de la disociación del agua [7]; en las NPs $\text{Au@Pt}_{0.2}/\text{C}$ el pico I de oxidación mostrado en el barrido de ida se incrementa, Perales y col. [8] explican que la altura de este pico de oxidación depende de la presencia de un mayor número de planos cristalinos (111) y los cuales son selectivos a la FAO por la vía directa, en este trabajo el pico I es mayor conforme disminuye el contenido de Pt en el envoltente; las NPs $\text{Au@Pt}_{0.1}/\text{C}$ (Figura 1e) presentan sólo el pico de oxidación (I, II) en un potencial de 0.744 V, esto posiblemente se deba a un traslape de los picos I y II anteriormente mencionados asociados a la vía directa e indirecta de la FAO, el aumento de la densidad de corriente sobre NPs de $\text{Au@Pt}_{0.1}/\text{C}$ respecto de $\text{Au@Pt}_x/\text{C}$ puede deberse a la modificación de las propiedades electrónicas del Pt en el envoltente por el Au en el núcleo facilitando la oxidación del CO_{ads} .

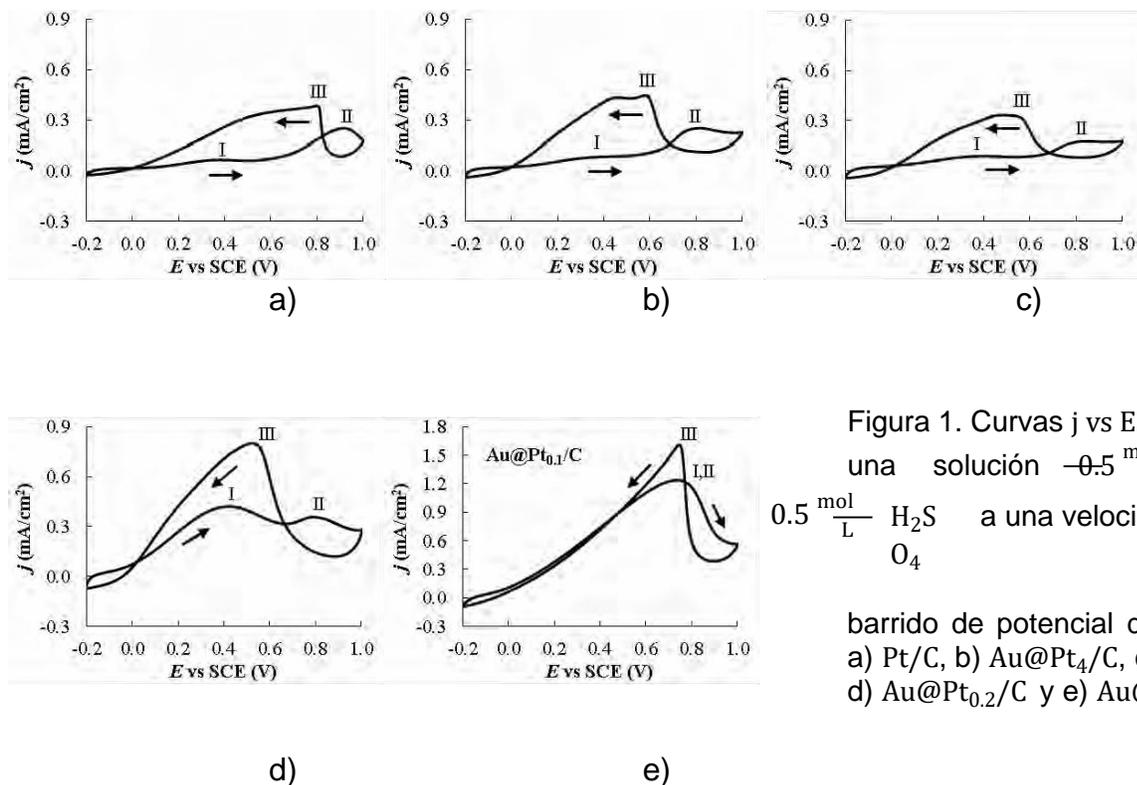


Figura 1. Curvas j vs E de NPs en una solución $0.5 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \text{HCOOH} + 0.5 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \text{H}_2\text{S}$ a una velocidad de barrido de potencial de 0.05 V/s . a) Pt/C, b) Au@Pt₄/C, c) Au@Pt₁/C, d) Au@Pt_{0.2}/C y e) Au@Pt_{0.1}/C.

De la información obtenida de las curvas j vs E de la oxidación en NPs Pt/C y Au@Pt_x con $x = 4, 1, 0.2$ y 0.1 se puede concluir que el catalizador Au@Pt_{0.1} presenta la mejor actividad catalítica, al presentar la mayor densidad de corriente de oxidación de pico III.

En la Figura 2a se muestran los diagramas de Nyquist de la FAO sobre NP de Pt/C, en ellos se representa la componente imaginaria de la impedancia contra la componente real; donde se observa una mayor concentración de puntos se considera la zona de altas frecuencias mientras que donde la densidad de puntos es menor se considera la zona de bajas frecuencias; de manera general, los diagramas de Nyquist en Pt/C presentan tres diferentes comportamientos, que se dividieron en tres zonas: Zona I las curvas presentan dos semicírculos distorsionados en el primer cuadrante, Zona II los espectros se muestran el segundo semicírculo en el segundo cuadrante (resistencias negativas) y Zona III los espectros presentan dos semicírculos más una contribución en el primer cuadrante. Las NPs Au@Pt_x/C muestran un comportamiento similar, por lo que los espectros correspondientes fueron ordenados de manera similar. En la Zona I (Figura 2a), el semicírculo en altas frecuencias se muestra incompleto y se observa sólo cuando se hace una ampliación de la escala, dado que la oxidación de ácido fórmico por la vía directa (1) es un proceso

rápido, es de esperar que se observe en altas frecuencias, mientras que el CO generado en la vía indirecta bloquea los sitios activos por lo que la resistencia de transferencia de carga (R_{tc}) asociada es mayor. El CO no puede oxidarse sino a potenciales mayores por lo que el semicírculo que se observa en altas frecuencias se asocia con la vía directa de la FAO, mientras que el de bajas frecuencias se asocia con la R_{tc} de la oxidación de CO.

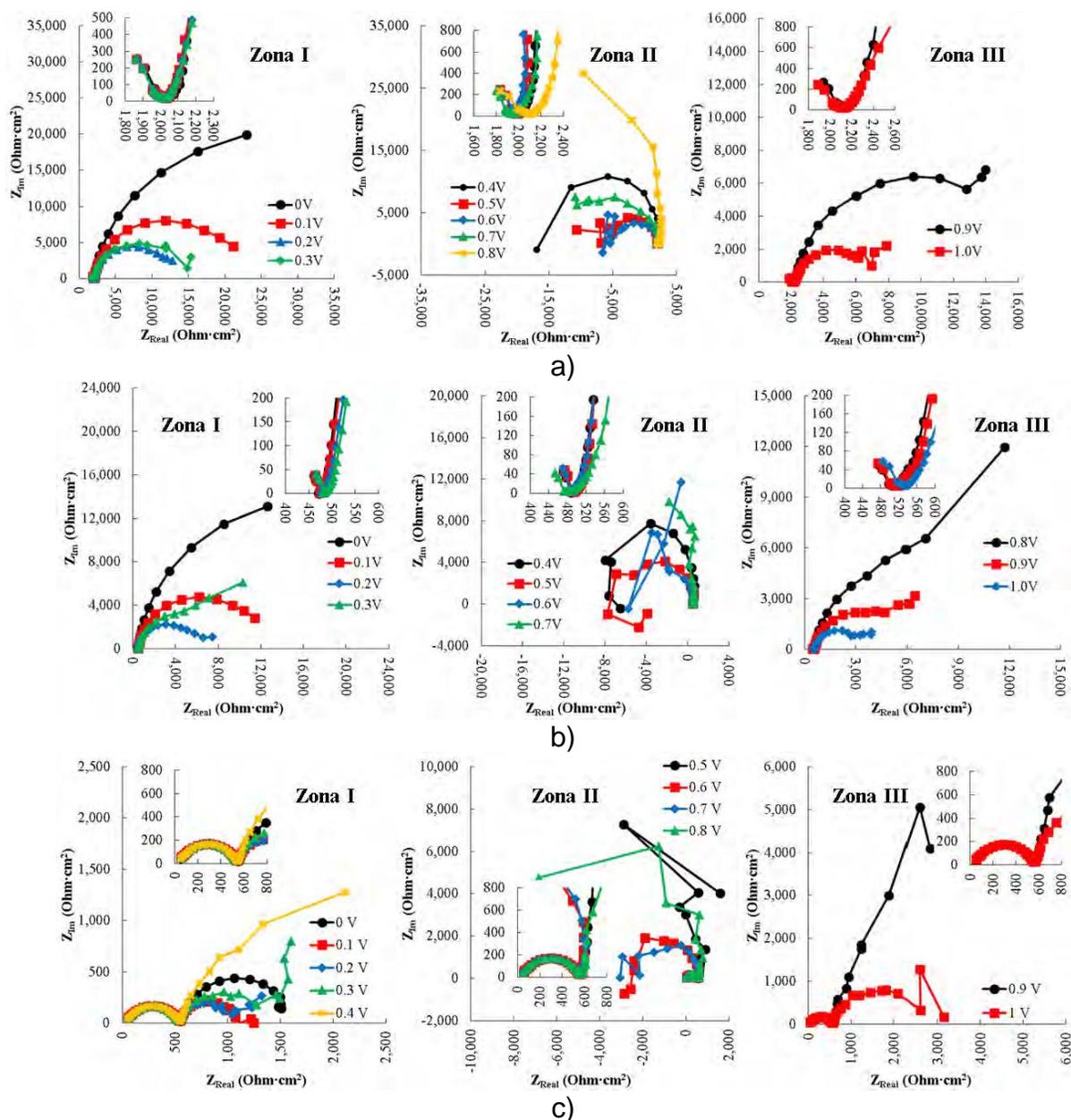


Figura 2. Diagramas de Nyquist a diferentes potenciales de la oxidación de ácido fórmico en una solución 0.5M HCOOH + 0.5M H₂SO₄ usando NPs a) Pt/C, b) Au@Pt₄/C y c) Au@Pt_{0.1}/C.

Al incrementar el potencial entre 0.4V-0.7 V (Zona II) la vía directa de la FAO se sigue observando como un semicírculo a altas frecuencias (Figura 2a, Zona II), sin embargo, el semicírculo en bajas frecuencias, asociado a la oxidación de CO, se presenta ahora en el segundo cuadrante produciendo valores negativos de R_{tc} . En la literatura se ha informado que la producción de OH_{ads} se incrementa sustancialmente a partir de (0.36 V vs SCE) [9], los OH_{ads} generados en potenciales intermedios pueden reaccionar con el CO_{ads} (ya presente desde la Zona I), presentando R_{tc} negativas. Al incrementar el potencial a valores mayores de 0.9V (Zona III) los espectros de impedancia aparecen nuevamente en el primer cuadrante (Figura 2a, Zona III), el semicírculo en altas frecuencias asociado a la vía directa de la FAO no muestra cambios significativos, mientras que el semicírculo a bajas frecuencias asociado a la oxidación de CO_{ads} es dependiente del potencial. Seland y col. [7] proponen dos procesos la reacción por la vía directa de la FAO (en altas frecuencias) y la vía indirecta reaccionando el PtO con CO_{ads} (en bajas frecuencias).

Los espectros de impedancia de las NPs $Au@Pt_4/C$ (Figura 2b) y $Au@Pt_{0.1}/C$ (Figura 2c) presentan un comportamiento similar a las NPs Pt/C, mostrando las zonas de potencial ya mencionadas en las NPs de Pt/C. La diferencia más relevante en el comportamiento de las NPs $Au@Pt_4/C$ es la disminución importante en los diámetros asociados a los procesos tanto de la vía directa de la FAO como la oxidación de CO_{ads} , esto puede deberse a la influencia del núcleo de Au dado que el CO_{ads} no se adsorbe sobre Au [3, 6], es posible que la estructura núcleo de Au y envolvente de Pt facilite la oxidación de CO_{ads} lo cual a su vez deja área electroactiva libre para llevar a cabo la FAO disminuyendo las R_{tc} asociadas. De manera general y cualitativa puede decirse que las R_{tc} de los semicírculos en altas y bajas frecuencias disminuyen conforme disminuye la cantidad de Pt en los catalizadores $Au@Pt_x/C$, la disminución de las R_{tc} significa que los procesos electroquímicos asociados ocurren con mayor facilidad, lo que concuerda con los resultados obtenidos en los estudios de VC, donde se encontró que las densidades de corriente de oxidación aumentan conforme disminuye la cantidad de Pt en el envolvente. El catalizador que presenta el menor diámetro de semicírculo para la oxidación de CO es el $Au@Pt_{0.1}/C$ donde ambas vías presentan diámetros de semicírculos competitivos concordando con lo obtenido en el voltamperograma cíclico para la FAO de estas NPs donde no se puede distinguir entre el pico de oxidación I y II asociados con la vía directa e indirecta de la FAO.

En la Tabla 1 se muestran las densidades de corriente de pico de oxidación durante el barrido de regreso (pico III), obtenidas durante los experimentos de voltamperometría cíclicas para NPs Pt/C y Au@Pt_x/C con x = 4, 1, 0.2 y 0.1, los datos de esta tabla se utilizaron para realizar el método de ANOVA y para el modelo con un solo factor y efectos fijos se obtuvo una $F_0 = 274.5827$ para un nivel de confianza de 99% $F_{crítica} = 5.99$ por lo que la hipótesis nula se rechaza lo cual nos indica que existen diferencias significativas entre las actividades catalíticas de las NPs y que esta diferencia se debe a la modificación de la cantidad de Pt en las NP y no al error experimental asociado a la caracterización de las mismas.

La Tabla 2 muestra los valores calculados para la prueba t ($|t_0|$) y el valor del estadístico de prueba con su nivel de confianza, de aquí podemos observar que todos los pares de NP presentan diferencias significativas a excepción del par Pt/C con Au@Pt₁/C, esto nos indica que este par de NPs no presentan diferencias significativas en su actividad catalítica por lo que, para la FAO, no hay diferencia entre usar una u otra.

Tabla 1. Densidad de corriente máxima (mA/cm²) obtenida en las voltamperometrías cíclicas de NPs en una solución 0.5 mol/L HCOOH + 0.5 mol/L H₂SO₄.

Experimento	Pt/C	Au@Pt ₄ /C	Au@Pt ₁ /C	Au@Pt _{0.2} /C	Au@Pt _{0.1} /C
1	0.384	0.4475	0.3285	0.8377	1.6128
2	0.352	0.4557	0.4308	0.8018	1.8190
3	0.331	0.4635	0.3336	0.7266	1.7534
<i>Suma</i>	1.068	1.3668	1.0929	2.3660	5.1852
<i>Media</i>	0.356	0.4556	0.3643	0.7887	1.7284

Tabla 2. $|t_0|$ y $t_{crítica}$ para pares de NPs.

Pareja (i)	NP 1	NP 2	$t_{calculada}$	$t_{crítica}$
1	Pt/C	Au@Pt ₄ /C	5.0275	4.604
2	Pt/C	Au@Pt ₁ /C	0.1338	0.271
3	Pt/C	Au@Pt _{0.2} /C	9.7530	8.610
4	Au@Pt ₄ /C	Au@Pt ₁ /C	1.5759	1.533
5	Au@Pt ₄ /C	Au@Pt _{0.2} /C	8.2255	7.173
6	Au@Pt ₁ /C	Au@Pt _{0.2} /C	6.0434	5.598

7	Au@Pt _{0.1} /C	Pt/C	17.8527	8.610
8	Au@Pt _{0.1} /C	Au@Pt ₄ /C	17.0371	8.610
9	Au@Pt _{0.1} /C	Au@Pt ₁ /C	14.4819	8.610
10	Au@Pt _{0.1} /C	Au@Pt _{0.2} /C	11.1082	8.610

Por último, se presenta una gráfica del comportamiento de la actividad catalítica en NP Au@Pt_x/C como función del contenido del Pt (Figura 3) en donde se aprecia claramente como al disminuir la cantidad de Pt la actividad catalítica aumenta.

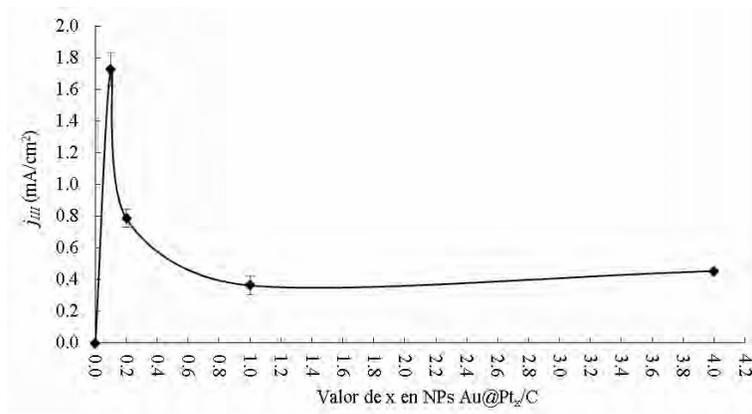


Figura 3. Variación de j_{III} vs x utilizando NPs Au@Pt_x/C con líneas suavizadas y barras de error.

CONCLUSIONES

Por medio de la voltamperometría cíclica se determinó que en las NPs de Pt/C y Au@Pt_x/C con $x = 0.1, 0.2, 1$ y 4 , la intensidad de los picos de oxidación de ácido fórmico son función del catalizador, la densidad de corriente en todos los casos se incrementa al disminuir la cantidad de Pt (x), en particular el catalizador Au@Pt_{0.1}/C presenta la mayor actividad catalítica para la oxidación de ácido fórmico, donde el aumento de la densidad de corriente del pico III puede deberse al incremento de la oxidación del ácido fórmico por la vía directa. Mediante el análisis estadístico se concluyó que la actividad catalítica se debe a la variación de la cantidad de Pt en el envoltorio y no al error experimental asociado.

Con el análisis por Espectroscopia de Impedancia Electroquímica se determinó que la oxidación de ácido fórmico en NPs Pt/C y Au@Pt_x/C son función del potencial; se determinó que las resistencias asociadas a la vía directa e indirecta de oxidación de ácido fórmico disminuyen al disminuir la cantidad de Pt en el envoltorio en las NPs Au@Pt_x/C. En particular, el catalizador Au@Pt_{0.1}/C presenta la menor resistencia para la FAO, por lo que este catalizador posee la mejor actividad electrocatalítica y puede ser utilizado en una celda de ácido fórmico.

AGRADECIMIENTOS

El Ing. Alejandro Vásquez Arango con beca número 589194 agradece a CONACyT por otorgar el apoyo financiero para realizar sus estudios de maestría. SCA, GVH agradecen a CONACyT por el apoyo otorgado.

REFERENCIAS

- [1] Z. Gou, X Zhang, H. Sun, X. Dai, Y. Yang, X. Li y T. Meng, *Electrochimica Acta*, **113**, 411, (2014).
- [2] C. Rice, S. Ha, R. Masel, P. Waszczuk, A. Wieckowski y T. Barnard, *Journal of Power Sources*, **111**, 83, (2002).
- [3] G. Vázquez-Huerta, M. E. Palomar-Pardavé, M. A. Romero-Romo, M. G. Montes de Oca-Yemha, E. Garfias-García y J. I. Aldana González, *Electrocatalysis*, **7**, 174, (2016).
- [4] C. Dong, T. Qian, W. L. Ling, L. Shao Xiong, C. Yan Xia and Y. Shen, *Electrocatalysis*, **2**, 207-219, (2011).
- [5] D.C. Montgomery, *Diseño y análisis de experimentos*, Limusa Wiley, México, (2008).
- [6] M. D. Obradovic, A. V. Tripkovic and S. L. Gojkovic, *Electrochimica Acta*, **55**, 204-209, (2009).
- [7] F. Seland, R. Tunold and D. A. Harrin, *Electrochimica Acta*, **53**, 6851–6864, (2008).
- [8] J. V. Perales-Rondón, E. Herrero and J. M. Feliu, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **742**, 90-96, (2015).
- [9] N. M. Marković y P. N. Ross Jr., *Surface Science Reports*, **45**, 117-229, (2002).

Medicina, Farmacia y Salud

FORMACIÓN DE UN COMPLEJO MANGIFERINA/ β -CICLODEXTRINA Y DETERMINACIÓN DE SU CONSTANTE DE INCLUSIÓN POR EL MÉTODO DE HIGUCHI-CONNORS

Lucero Hernández-García
Alberto Rojas-Hernández
Annia Galano¹

INTRODUCCIÓN

Los complejos de inclusión se forman a partir de la encapsulación de una molécula con características específicas en ciclodextrinas (CD's), que son oligosacáridos cíclicos [1] que presentan una estructura formada por grupos glucosídicos, unidades D-glucosa conectados por enlaces glucosídicos entre los átomos de carbono en las posiciones α - (1-4) [2,3]. Los tipos más comunes son α CD, β CD y γ CD, que se componen de 6, 7 y 8 moléculas de glucosa, respectivamente, que se caracterizan por formar los complejos mediante interacciones de tipo van der Waals, interacciones hidrofóbicas, efectos de tamaño y enlaces de hidrógeno.

La capacidad única que presentan las CD's para formar complejos que son conocidos como complejos de inclusión [4] debido al tipo de interacciones que involucra, esto permite que se pueda explotar en muchas áreas, por ejemplo, en sistemas que fungen como portadores de fármacos, en industria alimentaria y cosmética.

Los complejos también son conocidos como anfitrión-huésped [5-6], (por la traducción en inglés de "Host-Guest"), la formación de este tipo de complejos ha demostrado tener diferentes efectos sobre la molécula huésped como es mejorar la capacidad antioxidante, disminuir la oxidación por luz, aumentar la solubilidad, entre otras propiedades.

¹ Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, Departamento de Química, Área de Química Analítica. San Rafael Atlixco 186. Col. Vicentina, Iztapalapa, Distrito Federal, C.P. 09340. Tel. 52-55-58044670. Fax. 52-55-58044666, e-mail: suemi918@xanum.uam.mx y luzhg2609@gmail.com

La mangiferina (H_4MGF , C2- β -D-glucósido 1,3,6,7- tetrahidroxi 9 ona), es un derivado del grupo de las xantonas [7], y un polifenol de origen natural que se encuentra principalmente en la corteza del árbol de mango (*Mangifera Indica L.*) [8], posee diversas funciones farmacológicas [9] como son: analgésicas, antidiabéticas, antiescleróticas, antimicrobianas, antivirales, cardiohepatoprotectoras, antiinflamatorias, antialérgicas y antioxidantes. Sin embargo, presenta poca solubilidad en agua y baja biodisponibilidad, con un valor de 0.111 mg / mL [10, 11], lo que limita su uso farmacéutico debido a su mala absorción oral [12].

En la actualidad, muchos productos farmacéuticos o compuestos biológicamente activos se encapsulan con CD's [13-15], que conduce al aumento de la solubilidad de la molécula orgánica, así como mejorar la velocidad de disolución, la permeabilidad de la membrana y la biodisponibilidad, que puede ser estudiado por diferentes métodos, siendo el más común el método de *Higuchi-Connors* [16,17], el cual consiste en saturar una solución con la molécula en estudio y adicionar diferentes cantidades de CD.

EXPERIMENTACIÓN

Preparación de complejos: Para el diagrama de solubilidad de fase propuesto con el método de Higuchi y Connors, la experimentación se llevó a cabo del siguiente modo. Se prepararon soluciones acuosas de β CD (β -ciclodretrina, Sigma-Aldrich, 95%) de concentraciones de 0 M hasta 0.013 M en 10 mL de agua desionizada. Posteriormente se añadieron cantidades en exceso de H_4MGF (Mangiferina, Sigma-Aldrich, 98%), pesadas con exactitud y precisión; en cada solución de β CD. Las soluciones se cubrieron y se colocaron en agitación constante a temperatura ambiente durante 24 horas, pasado este intervalo de tiempo las soluciones se filtraron usando una membrana de nylon de 0.45 μ m marca Merck Millipore. Finalmente, el residuo recolectado fue secado y pesado, para conocer por diferencia de pesos la cantidad de mangiferina disuelta y la concentración en la solución. En cada solución se utiliza agua desionizada, (Milli-Q- Gradiente, Millipore, 18.2 M Ω cm a 25 °C).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio de solubilidad de fase

Existe una gran variedad de estudios que muestran el aumento de la solubilidad de sustancias orgánicas poco solubles en agua cuando se encuentran con ciclodextrinas y se forman los complejos de inclusión. En estos trabajos utilizan el método propuesto por Higuchi-Connors, que consiste en elaborar un diagrama de solubilidad de fase entre las concentraciones de mangiferina y β CD, como se presenta en la Figura 1. Según su clasificación el diagrama obtenido fue de tipo A, donde la solubilidad del huésped aumenta linealmente con la concentración de ciclodextrina.

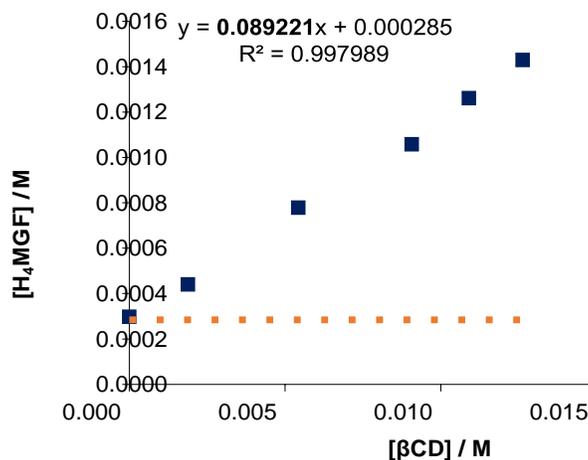


Figura 1. Diagrama de solubilidad-fases de H₄MGF' con la presencia de diferentes concentraciones de β CD dentro de un intervalo de 0 - 0.013 M.

A partir de esta curva, se puede observar que la solubilidad aparente de la mangiferina aumenta debido a la formación de uno o más complejos de inclusión solubles. El mecanismo de interacción para el diagrama de tipo A es complicado, debido a una contribución significativa de la interacción soluto-disolvente en la formación de complejos. Pero se puede hacer una aproximación al medir el valor del pH de la solución estando en todos los casos dentro del intervalo de $4.6 \leq \text{pH} \leq 5.4$, donde la especie predominante, según los valores de pK_a reportados en la literatura es H₄MGF (mangiferina protonada). Por otro lado, el método de Higuchi-Connors propone que para determinar la constante de inclusión de un complejo formado se necesita el diagrama de solubilidad de fases, ($[G_0] = f([\beta\text{CD}])$) de soluciones saturadas y con ayuda de la ecuación 1, que llevan a pensar en la formación del complejo $G(\text{CD}) = 1 \text{ H}_4\text{MGF} : 1 \beta\text{CD}$.

$$K_{1:1} = \frac{\alpha}{G_0(1-\alpha)} \quad (1)$$

donde $[G]_0$ representa la solubilidad del H_4MGF en ausencia de βCD y α indica la pendiente de la recta obtenida en el diagrama de solubilidad de la Figura 1.

A partir del diagrama de fases (Figura 1) que presenta una tendencia claramente lineal; la ecuación de la recta puede ser representada con la ecuación 2:

$$[H_4MGF] = 0.089221[\beta CD] + 0.000285 \quad (2)$$

con un coeficiente de correlación de 0.9980. Es por ello que se puede considerar como un diagrama de tipo A, de acuerdo a la clasificación de Higuchi y Connors; lo que implica la formación de complejos de inclusión que aumentan la solubilidad de la mangiferina con posibles estequiometrias $H_4MGF(\beta CD)$, $(H_4MGF)_2(\beta CD)$, $(H_4MGF)_m(\beta CD)$. Pero se puede tomar como especie mayoritaria el complejo $H_4MGF(\beta CD)$, por los valores de pH medidos en las disoluciones. Con esta información se puede determinar el valor de la constante de inclusión ($K_{1:1}$) para el complejo $H_4MGF(\beta CD)$, sustituyendo la pendiente y ordenada al origen de la ecuación 2 en la ecuación 1, resultando un valor de $K_{H_4MGF(\beta CD)} = 343.723$.

Se utiliza espectrofotometría UV-visible, para confirmar el aumento de la solubilidad de mangiferina, que se sabe es una sustancia que presenta absorción en la región de los 200 nm hasta los 450 nm, situación que no sucede βCD , mostrando así solo el efecto que tiene sobre la mangiferina, dichos espectros se presentan en la Figura 2.

En la Figura 2 se muestra el efecto que tiene la βCD sobre la mangiferina, al aumentar la absorbancia en cada solución llegando a la saturación del detector en longitudes de onda menores a 390 nm. Esto confirma el aumento de la solubilidad de la mangiferina al aumentar la concentración de βCD y lo que indica la formación de complejos de inclusión.

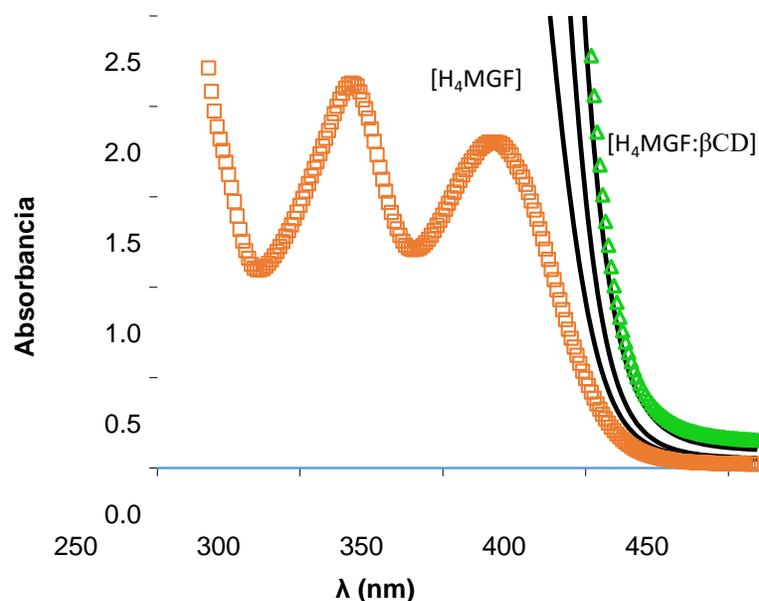


Figura 2. Espectros de absorción de mangiferina de concentraciones (0.000298 - 0.002197) M y de β CD en (0 - 0.013) M, de forma creciente cada concentración. Los espectros marcados con \square representan la solubilidad de mangiferina en ausencia de β CD y los marcadores \triangle indican la formación del complejo $H_4MGF: \beta CD$ con la concentración máxima de β CD 0.013 M. Las líneas continuas muestran las soluciones intermedias que verifican que al ir aumentando la concentración β CD aumenta la solubilidad de mangiferina.

CONCLUSIONES

Este estudio puso en evidencia la formación de complejos de inclusión debido al aumento de la solubilidad de la mangiferina con la concentración presente de β CD. Con el estudio del diagrama de solubilidad de fases se logró determinar la constante de inclusión

$$K_{HMGF(\beta CD)} = \frac{[H_4MGF] \cdot [\beta CD]}{[H_4MGF:\beta CD]} = 343.7 \quad \text{que es equivalente a decir } \log K_{HMGF(\beta CD)} = 2.54 .$$

Las técnicas de medición utilizadas confirmaron la interacción y formación de complejos de inclusión, al presentarse el aumento de la solubilidad de mangiferina y como consecuencia el aumento en la absorbancia en el sistema, en la región UV del espectro electromagnético.

AGRADECIMIENTOS

LHG agradece al CONACyT por el apoyo económico otorgado a través de la beca de doctorado 542524. Los autores también agradecen a CONACyT, por el financiamiento parcial a través de los proyectos 237327 y 237997, y al PRODEP por el apoyo a la RedNIQAE.

REFERENCIAS

- [1] E.M. Martin Del Valle. Cyclodextrins and their uses: A review. *Process Biochemistry*. **39**, 1033–1046 (2004).
- [2] T. Cserhati, E. Forgacs. *Cyclodextrins in Chromatography*. RSC Chromatography Monographs; Cambridge, UK. 1-10 (2003).
- [3] J. Szejtli. Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry. *Chem. Rev.* **98**, 1743-1753 (1998).
- [4] L. Szente, J. Szeman. Cyclodextrins in Analytical Chemistry: Host-Guest Type Molecular Recognition. *Anal. Chem.* **85**, 8024-8030 (2013).
- [5] K. Uekama; F. Hirayama; T. Irie. Cyclodextrin Drug Carrier Systems. *Chem. Rev.* **98**, 2045-2076 (1998).
- [6] V.M. Rekharsky, Y. Inoue. Complexation Thermodynamics of Cyclodextrins *Chem. Rev.* **98**, 1875-1917 (1998).
- [7] J. Graham and L. Hiok-Huang. Xanthones from guttiferæ. *Phytochemistry*. **28**(4), 967- 998 (1989).
- [8] P. Kumar, S. Kapur. Mangiferin: A potential natural molecule for management of metabolic syndrome. *Int J Pharm.* **7**, 9-13 (2015).
- [9] A. Vyas, K. Syeda, A. Ahmad, S. Padhye, F. H. Sarkar. Perspectives on Medicinal properties of Mangiferin. *Med. Chem.* **12**(5), 412-425 (2012).
- [10] J. D. Van der Merwe, E. Joubert, M. Manley, D. de Beer, C. J. Malherbe, W. C. Gelderblom. Mangiferin glucuronidation: important hepatic modulation of antioxidant activity. *Food Chemistry Toxicology*. **50**(3-4), 808-815 (2012).
- [11] Z. Wang, J. Deng, X. Li, Q. Wang. Dissoluble mangiferin inclusion compound and its preparation method. CN101019877-A Chinese Patent. (2007).
- [12] Ch. A. Lipinski, F. Lombardo, B. Dominy, P. Feeney. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. **46**, 3–26 (2001).
- [13] M. Strazisar, S. Andresek, A. Smidovnik. Effect of β -cyclodextrin on antioxidant activity of coumaric acids. *Food Chemistry*. **110**, 636–642 (2008).
- [14] B. Han, B. Yang, X. Yang, Y. Zhao, X. Liao, Ch. Gao, F. Wang, and R. Jiang. Host-guest inclusion system of norathyriol with β -cyclodextrin and its derivatives: Preparation, characterization, and anticancer activity. *J. Biosci. Bioeng.* **117**(6), 775-779 (2014).
- [15] V. T. Karathanos, I. Mourtzinou, K. Yannakopoulou, N. K. Andrikopoulos. Study of the solubility, antioxidant activity and structure of inclusion complex of vanillin with β - cyclodextrin. *Food Chemistry*. **101**, 652–658 (2007).
- [16] T. Higuchi, K. Connors. Phase-solubility techniques. *Adv. Anal. Chem. Instrum.* **4**, 117–212 (1965)
- [17] K. Connors. The Stability of Cyclodextrin Complexes in Solution. *Chem. Rev.* **7**, 1325-135 (1997).

CARACTERIZACIÓN Y CUANTIFICACIÓN ELECTROANALÍTICA DE DICLOFENACO USANDO OPTIMIZACIÓN BOX-BEHNKEN Y ELECTRODOS A BASE DE NANOTUBOS DE CARBONO MULTIPARED Y NANOPARTÍCULAS DE TiO_2

Miriam Franco Guzmán¹
Luis Humberto Mendoza Huizar¹
Carlos Andrés Galán Vidal¹
Gabriela Roa Morales²
Giaan Arturo Álvarez Romero^{1*}

INTRODUCCIÓN

El diclofenaco es un derivado del ácido fenilacético (ácido 2-[(2, 6-diclorofenil) amino] fenil} acético) [1], sin embargo, clínicamente es utilizado como su sal sódica [2]. Es un antiinflamatorio no esteroideo ampliamente utilizado en el tratamiento de artritis reumatoide, osteoartritis, lesiones músculo-esqueléticas y como analgésico post- operatorio, ya que presenta fuertes propiedades antipiréticas, analgésicas y antiinflamatorias [1].

La Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos establece como métodos oficiales para la cuantificación de este fármaco, a la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) y la espectrometría UV-Vis. Sin embargo, el uso de estas técnicas presenta algunas desventajas como un alto costo de análisis, tiempos largos para la adquisición de resultados, el uso de metodologías complicadas y en ocasiones es indispensable un pretratamiento de la muestra [3].

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Área Académica de Química. Carretera Pachuca-Tulancingo Km 4.5. Mineral de la Reforma. Hidalgo. México. C.P. 42184. Tel: 771 717 20 00 Ext. 2217, Fax: 771 717 20 00 Ext. 6502. e-mail: giaan@uaeh.edu.mx

² UAEM-UNAM. Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable. Carretera Km. 14.5, Unidad San Cayetano, Toluca - Atlacomulco, Toluca de Lerdo, México. C.P. 50200. Tel: (772) 2766610 Ext. 7716, Fax: (772) 2766610 Ext. 7744. e-mail: groom@uaemex.mx

Actualmente se está trabajando en el desarrollo de metodologías alternativas para la cuantificación de fármacos, apoyadas en el uso de técnicas electroquímicas, ya que estas requieren de menores tiempos de análisis, son más sencillas de realizar y son de menor costo comparadas con las metodologías oficiales [4, 5]. Las técnicas electroanalíticas más eficientes para el análisis de especies químicas orgánicas se basan en voltamperometrías, donde se pueden usar electrodos de trabajo a base de carbono, dadas sus ventajas sobre otros materiales [6, 7].

Los electrodos modificados han atraído un gran interés debido a sus potenciales aplicaciones en varios análisis mejorando la respuesta electroquímica. Nanoestructuras basadas en carbón como nanofibras de carbono, nanotubos de carbono (NTCs, por sus siglas en inglés) y mesoporos de carbono han sido ampliamente utilizados para la fabricación de electrodos modificados [2]. Específicamente, los NTCs en conjunto con el dióxido de titanio (TiO_2) han sido utilizados debido a que presentan mejoras en la actividad electrocatalítica, ya que aumentan la transferencia electrónica y esto permite mejorar, a su vez, la respuesta en términos analíticos cuantitativos [7-10].

Aprovechando que los electrodos de pasta de carbono son fáciles de construir, presentan un bajo costo de construcción, tienen la posibilidad de renovar eficazmente la superficie y pueden ser introducidas fácilmente nanoestructuras [11], en este trabajo se explora el desarrollo de una metodología optimizada basada en voltamperometría de pulso diferencial, para la cuantificación de diclofenaco en muestras farmacéuticas, empleando un electrodo composite de pasta, con la mezcla grafito-nanotubos de carbono multipared (MWCNTs)-nanopartículas de TiO_2 .

EXPERIMENTACIÓN

1. Sistema Electroquímico

Todos los experimentos se realizaron en una celda electroquímica convencional de tres electrodos. Como electrodo de trabajo se utilizó uno de pasta con la mezcla composite grafito-MWCNTs- TiO_2 ; como electrodo auxiliar se usó una barra de grafito y como electrodo de referencia uno de Ag/AgCl saturado al que están referidos todos los potenciales de este trabajo. Los estudios electroquímicos se llevaron a cabo en un potenciostato Metrohm Autolab B. V. Las soluciones de trabajo fueron preparadas utilizando reactivos grado analítico y agua desionizada con una resistividad de $18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$. Todos los experimentos fueron realizados a

temperatura ambiente.

2. Preparación del Electrodo de Pasta (grafito-MWCNTs-TiO₂)

Para la construcción del soporte del electrodo, se cortaron los extremos de una jeringa de 1 mL y se relleno con una mezcla composite que contiene 0.3 g de grafito, 0.066 g de nanotubos de carbono multipared, 0.133 g de nanopartículas de TiO₂ y 0.8 g de aceite mineral, teniendo el cuidado de no dejar espacios (burbujas) dentro de la misma. Finalmente, se le colocó un contacto eléctrico para poder conectar al equipo de análisis.

3. Preparación de Soluciones

Se utilizaron soluciones de diclofenaco con concentraciones de 10⁻³ y 10⁻⁴ M en buffer de fosfatos 0.1M con pH 7 como electrolito soporte para la mayoría de los experimentos.

4. Caracterización Electroquímica

4.1. Comportamiento electroquímico del diclofenaco

Con la finalidad de conocer el comportamiento electroquímico del diclofenaco sobre un electrodo de pasta de carbono y un electrodo de pasta grafito-MWCNTs-TiO₂, se aplicó Voltamperometría Cíclica (VC) a la solución del buffer de fosfatos 0.1 M pH 7 como blanco y a la solución de diclofenaco 10⁻³ M en el mismo buffer. La VC se realizó en una ventana de potencial de 0 a 1.3 V en sentido anódico, con una velocidad de barrido de 100 mV/s aplicando un ciclo.

4.2. Estudio de pH

Se estudió el efecto del pH del medio en la señal anódica y se eligió como óptimo aquel que presentara una onda mayor y mejor definida. Se prepararon 10 soluciones de diclofenaco 10⁻³ M en un buffer Britton-Robinson 0.1 M y se les ajustó el pH para obtener valores entre 7 y 12. Finalmente, se realizó VC a estas soluciones, en sentido anódico en una ventana de potencial de 0.1 a 1.3 V y aplicando un ciclo

4.3. Estudio de la señal de oxidación del diclofenaco a diferentes velocidades de barrido Se aplicó VC a la solución de diclofenaco 10⁻³ M a pH 7 usando diferentes velocidades de barrido (20-120 mV/s). La voltamperometría se llevó a cabo aplicando un ciclo en sentido anódico, en una ventana de potencial de 0.1 a 1.3 V.

4.4. Análisis del área electroactiva del electrodo en la oxidación de diclofenaco

Se aplicó coulombimetría a la solución de diclofenaco 10^{-4} M imponiendo un potencial de 0.47 V durante un tiempo de 80 segundos. Posteriormente, se grafica la carga frente a la raíz cuadrada del tiempo. Finalmente, se calculó el valor del área electroactiva del electrodo despejando de la pendiente de la

$$A = \frac{m\sqrt{\pi}}{2nFC_0\sqrt{D_0}} \quad (1)$$

En donde A es al valor del área electroactiva superficial del electrodo, m es el valor de la pendiente obtenida de la ecuación de Anson, n es el número de electrones transferidos, F la constante de Faraday, C_0 la concentración de diclofenaco en la solución y D_0 el coeficiente de difusión del diclofenaco.

1. Optimización de los parámetros de la Voltamperometría Diferencial de Pulso en la cuantificación del diclofenaco

Se optimizaron los parámetros para la Voltamperometría Diferencial de Pulso (VDP): paso de potencial, amplitud del pulso, periodo del pulso y ancho del pulso; mediante un diseño Box-Behnken y con ayuda del software Minitab 13. El diseño arrojó una matriz de 27 experimentos y estos se realizaron por duplicado. Todos los experimentos se realizaron en una solución de diclofenaco 10^{-4} M a pH 7.

2. Caracterización analítica de la metodología desarrollada para la cuantificación de diclofenaco

Se aplicó VDP imponiendo los parámetros óptimos encontrados en la optimización a estándares de diclofenaco con concentraciones entre 10^{-10} a 10^{-3} M. Los experimentos se realizaron por duplicado y posteriormente se graficó la intensidad de corriente obtenida frente a la concentración del estándar para poder determinar los parámetros analíticos con los datos de la recta según las recomendaciones de la IUPAC.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Caracterización Electroquímica

1.1. Comportamiento electroquímico del diclofenaco

En los voltamperogramas resultantes para el sistema diclofenaco (Figura 1), tanto con el electrodo de pasta de carbono como con el de pasta con grafito-MWCNTs-TiO₂, se observa una onda de oxidación con un potencial de corriente máxima (i_p) de 0.61 V aproximadamente, asociada a la oxidación del diclofenaco [12,13]; esta es la que se usará como señal analítica.

La señal analítica para el diclofenaco es considerablemente mayor al usar el electrodo de pasta grafito-MWCNTs-TiO₂, que cuando se usa el electrodo de pasta de carbono. Esto demuestra que hay un efecto positivo en la señal analítica gracias a la presencia de los MWCNTs y las nanopartículas de TiO₂ en el composite.

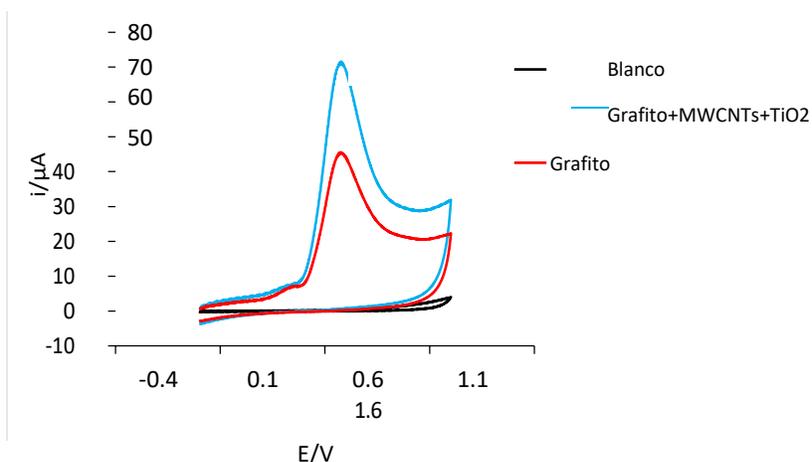


Figura 1. Voltamperogramas cíclicos obtenidos usando los diferentes electrodos de pasta en una solución de diclofenaco 10^{-3} M en buffer de fosfatos 0.1 M con pH 7, con una velocidad de barrido de 100 mV/s, en sentido anódico y aplicando 1 ciclo.

1.2. Estudio de pH

De los voltamperogramas obtenidos se graficó la intensidad de corriente frente a cada uno de los valores de pH evaluados; donde se comprobó que la máxima intensidad de corriente se obtiene cuando se impone un valor de pH de 7 al sistema, por lo que se tomó este valor

como óptimo y se utiliza para los estudios subsecuentes.

1.3. Estudio de la señal de oxidación del diclofenaco a diferentes velocidades de barrido
Al graficar la máxima intensidad de corriente anódica de la señal de oxidación del fármaco frente a diferentes velocidades de barrido elevadas a la un medio, como se muestra en la Figura 2a, se observó un comportamiento de tipo lineal con un coeficiente de correlación de 0.9948, lo que hace suponer que el proceso electroquímico es de tipo difusional, sin embargo el valor de la ordenada no es cero, lo que puede significar que existe un proceso adsorptivo adicional. Para confirmar esta suposición, se graficó el logaritmo de la máxima intensidad de corriente de la onda de oxidación del diclofenaco contra el logaritmo de la velocidad de barrido (Figura 2b). El valor de pendiente que se obtuvo de este gráfico fue de 0.6843, por lo que se puede decir que la reacción electroquímica está regida tanto por la difusión de la especie electroactiva, como por un proceso de adsorción.

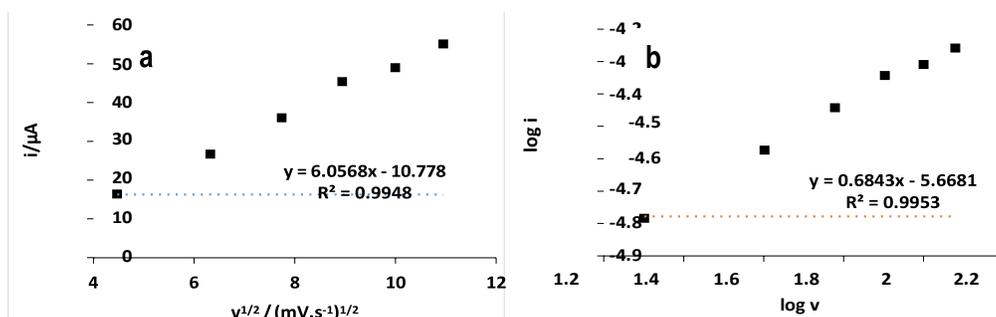


Figura 2. a) Gráfica i_p vs $v^{1/2}$, y b) gráfica del logaritmo de la intensidad de corriente vs el logaritmo de la velocidad de barrido usando el electrodo de pasta grafito-MWCNTs-TiO₂.

1.3. Análisis del área electroactiva del electrodo en la oxidación de diclofenaco

El área electroactiva del electrodo de grafito-MWCNTs-TiO₂ resultante fue de 0.047 cm², un área realmente mayor a la geométrica (0.19 cm²).

2. Optimización de los parámetros de la VDP en la cuantificación del diclofenaco

Los parámetros óptimos encontrados por medio del método de Box-Behnken para la técnica fueron: paso de potencial 10 mV, amplitud de pulso 100 mV, periodo del pulso 80 ms, ancho del pulso 20 ms.

3. Caracterización analítica de la metodología desarrollada para la cuantificación de diclofenaco

Por medio de la construcción de una curva de calibración, se realizó la caracterización analítica del método propuesto para la cuantificación de diclofenaco, usando las condiciones óptimas para la VDP. La curva de calibración resultante se muestra en la Figura 3 y a partir de esta se determinaron los parámetros analíticos siguiendo las recomendaciones de la IUPAC, como se mencionó en la sección 6 de la experimentación. Se encontró un intervalo lineal en el rango de concentraciones de 1×10^{-6} a 5×10^{-5} M con un coeficiente de correlación de 0.9958, un límite de detección de 0.36 μM , un límite de cuantificación 1.21 μM y una sensibilidad de $0.487 \mu\text{A} \cdot \mu\text{M}^{-1}$.

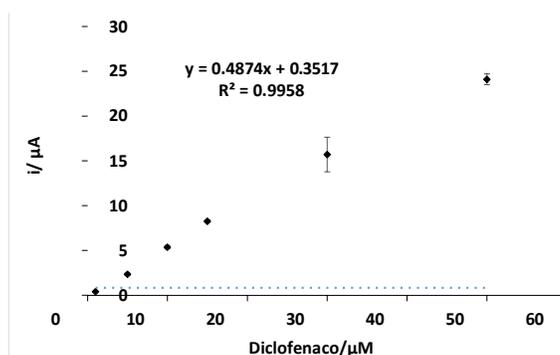


Figura 3. Gráfica i_p vs concentración de diclofenaco, utilizando el electrodo propuesto.

La sensibilidad encontrada con la metodología propuesta resulta ser mucho mayor al compararla contra otros trabajos en la literatura donde se usan electrodos carbonáceos [2,3,5,14-17], por lo que, aunado a su simplicidad en la construcción y menor costo, son una alternativa viable para la cuantificación de diclofenaco.

CONCLUSIONES

La cuantificación de diclofenaco en muestras farmacéuticas se muestra viable utilizando el electrodo de grafito-MWCNTs-TiO₂, dados los parámetros analíticos obtenidos en cuanto a sensibilidad y límites de detección.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al proyecto PRODEP (Proyecto RedNIQAE-2015) y CONACYT (Proyecto

180989) por el gran apoyo financiero para el desarrollo de este trabajo. MFG agradece a CONACYT por la beca otorgada para realizar sus estudios de Doctorado en Química.

REFERENCIAS

- [1] P. G. Silva. (2012). Desarrollo de tabletas de liberación prolongada de diclofenaco sódico a partir de una matriz hidrofílica. Recuperado el 04 de febrero de 2015 desde: <http://cdigital.dgb.uanl.mx/te/1080224674.pdf>.
- [2] A. Afkhami, A. Bahiraei, T. Madrakian. Gold nanoparticle/multi-walled carbon nanotube modified glassy carbon electrode as a sensitive voltammetric sensor for the determination of diclofenac sodium, *Materials Science and Engineering C*, **59**, 168-176 (2016).
- [3] M. Arvand, T. M. Gholizadeh, M. A. Zanjanchi.). MWCNTs/Cu(OH)₂ nanoparticles/IL nanocomposite modified glassy carbon electrode as a voltammetric sensor for determination of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac, *Materials Science and Engineering C*, **32**, 1682-1689 (2012).
- [4] Diclofenaco. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, Décima edición, 1160, (2011).
- [5] R. Goyal, S. Chatterjee, B. Agrawal. Electrochemical investigations of diclofenac at edge-plane pyrolytic graphite electrode and its determination in human urine, *Sensors and Actuators B*, **145**, 743-748 (2010).
- [6] P. Daneshgar, P. Norouzi, M. Ganjali, R. Dinarvand, A. Akbar. Determination of diclofenac on a dysprosium nanowire-modified carbon paste electrode accomplished in a flow injection system by advanced filtering, *Sensors*, **9**, 7903-7918 (2009).
- [7] A. Reza, B. Rafiee, A. Ahmar, A. Bagheri. Electrocatalytic determination of oxalic acid by TiO₂ nanoparticles/multiwalled carbon nanotubes modified electrode, *Analytical Methods*, **4**, 3314-3319 (2012).
- [8] P. Ganchimeg, W. T. Tan, N. A. Yusof, J. K. Goh. Voltammetric oxidation of ascorbic acid mediated by multi-walled carbon nanotubes/titanium dioxide composite modified glassy carbon electrode, *International Journal Electrochemical Science*, **6**, 520-528 (2011).
- [9] P. Ganchimeg, W. T. Tan, N. A. Yusof, J. K. Goh. Electrochemical detection of paracetamol at multi wall carbon nanotubes/ titanium dioxide composite modified electrode, *Asian Journal of Chemistry*, **7**, (23), 3143-3147 (2011).
- [10] P. Ganchimeg, W. T. Tan, N. A. Yusof, J. K. Goh. Voltammetric detection of potassium ferricyanide mediated by multi-walled carbon nanotube/titanium dioxide composite modified glassy carbon electrode, *International Journal Electrochemical Science*, **6**, 520-553 (2011).
- [11] M. T. Ramírez Silva, Diferentes electrodos composite con matriz de grafito. Estudio comparativo de su funcionamiento y de sus potencialidades, Tesis Doctoral, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (1996).
- [12] G. Y. Aguilar-Lira, G. A. Álvarez-Romero, A. Zamora-Suárez, M. Palomar-Pardavé, A. Rojas-Hernández, J. A. Rodríguez-Ávila, M. E. Páez-Hernández. New insights on diclofenac electrochemistry using graphite as working electrode, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **794**, 182-188 (2017).
- [13] R. S. Deinhammer, M. Ho, J. W. Andereg, M. D. Porter. Electrochemical Oxidation of Amine-Containing Compounds: A Route to the Surface Modification of Glassy Carbon Electrodes, *Langmuir*, **10**, [4], 1306-1313 (1994).

- [14] A. A. Ensafi, M. Izadi, H. Karimi-Maleh. Sensitive voltammetric determination of diclofenac using room-temperature ionic liquid-modified carbon nanotubes paste electrode, *Ionics*, **19**, 137-144 (2013).
- [15] M. C. Blanco-López, M. Lobo-Castañón, A. J. Miranda-Ordieres, P. Tuñón-Blanco. Voltammetric response of diclofenac-molecularly imprinted film modified carbon electrodes, *Analisis Bioanalytical Chemistry*, **377**, 257-261 (2003).
- [16] G. Parvizi Fard, E. Alipour, R. E. Ali Sabzi. Modification of a disposable pencil graphite electrode with multiwalled carbon nanotubes: application to electrochemical determination of diclofenac sodium in some pharmaceutical and biological samples, *Analytical Methods*, **8**, 3966-3974 (2016).
- [17] Arvand & Hassannezhad. Square wave voltammetric determination of uric acid and diclofenac on multi-walled carbon nanotubes decorated with magnetic core-shell Fe₃O₄@SiO₂ nanoparticles as an enhanced sensing interface, *Ionics*, **21**, 3245–3256 (2015).

DETERMINACIÓN DE CUERPOS CETÓNICOS EN MUESTRAS FORENSES POR CROMATOGRAFÍA DE GASES CON INYECCIÓN POR ESPACIO DE CABEZA

Ernesto Bernal Morales¹
Ana Itzel Ponce Correa²

INTRODUCCIÓN

En la práctica del médico forense es común encontrar casos de muertes repentinas y no esperadas en alcohólicos crónicos, donde no se encuentra alcohol etílico en las muestras analizadas o se encuentra en cantidades irrelevantes, lo que dificulta establecer una causa de muerte [1-3]; se ha propuesto que estas muertes son el resultado de una cetoacidosis alcohólica [4-5]. La cetoacidosis es una alteración metabólica producida por una disminución en la glucosa intracelular; en estas condiciones, la célula utiliza los lípidos como fuente alternativa de energía produciendo los llamados cuerpos cetónicos (acetona, acetoacetato y β -hidroxibutirato). La cetoacidosis se produce por la desnutrición, esfuerzos físicos con el estómago vacío, deficiencia de insulina (diabetes mellitus tipo 1), dieta rica en lípidos, hipotermia o desbalance del estado de óxido reducción de las células [6-8]. En el caso concreto de la cetoacidosis alcohólica, ésta es el resultado de un bajo consumo de alimentos junto a un desbalance en el metabolismo producido por la ingesta de grandes cantidades de alcohol etílico y está caracterizada por un aumento en la concentración sanguínea de los cuerpos cetónicos y glucemia normal o baja [3, 6, 9]. Para establecer una causa de muerte en estos casos es necesario contar con métodos analíticos que permitan determinar estas sustancias en muestras forenses. Se han aplicado métodos colorimétricos, enzimáticos y fluorométricos para realizar estos análisis; sin embargo, debido a la presencia de hemólisis y putrefacción típica de las muestras forenses, no es posible utilizarlos, así como por la falta de especificidad y sensibilidad en algunos de ellos. Estas dificultades pueden ser

□

¹ Instituto de Ciencias Forenses de la Ciudad de México. Laboratorio de Química. Niños Héroe 130, Col. Doctores, México, Cd. Mx., C.P. 06720. Tel: +52 (55) 27 68 81 44, e-mail: ernestob066@gmail.com

² Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas del Instituto Politécnico Nacional. Av. Instituto Politécnico Nacional s/n, Col. Nueva Industrial Vallejo, México, Cd. Mx., C.P. 07738. Tel: +52 (55) 57 29 60 00 e-mail: iqi.ponce@yahoo.com

superadas por la cromatografía de gases. En el presente trabajo se aplicó la técnica de cromatografía de gases con inyección por espacio de cabeza para determinar los cuerpos cetónicos. El método se basa en la conversión de acetoacetato y β -hidroxibutirato en acetona para su determinación para ello, la muestra se divide en tres partes; la primer parte se analiza en un medio alcalino para determinar acetona; la segunda parte se analiza en medio ácido con un calentamiento de 100°C por 50 minutos para convertir el acetoacetato en acetona y en la tercera parte se agrega al tratamiento anterior un oxidante para convertir el β -hidroxibutirato en acetoacetato, el cual con el calentamiento se descarboxila en acetona obteniéndose así el contenido total de cuerpos cetónicos. Finalmente, el método desarrollado se aplicó al análisis de muestras forenses provenientes de cadáveres con antecedentes de diabetes, cadáveres con antecedentes de alcoholismo con o sin causa de muerte y un grupo control con el propósito de confirmar los valores de referencia reportados en la literatura [5] y utilizar el método desarrollado como un medio para diagnosticar la cetoacidosis en general y la cetoacidosis alcohólica en particular.

EXPERIMENTACIÓN

Para elaborar las curvas de calibración de los compuestos de interés se prepararon estándares primarios de acetona, acetoacetato y β -hidroxibutirato en agua en una concentración de 2500 mg/dl, 1250 mg/dl y 3000 mg/dl respectivamente. A partir de estos estándares se prepararon estándares secundarios a distintas concentraciones disueltos en una disolución 4 M de hidróxido de sodio en el caso de la acetona y en 5 M de ácido fosfórico para el acetoacetato y β -hidroxibutirato. Dichos estándares se utilizan para preparar las curvas de calibración mezclando 25 μ l del estándar correspondiente con 125 μ l de sangre negativa a acetona en el caso de la curva de acetona y acetoacetato; para la curva de β -hidroxibutirato se mezclan 100 μ l de sangre negativa a acetona, 25 μ l del estándar correspondiente de β -hidroxibutirato y 50 μ l de 0.2 M de dicromato de potasio en 5 M de ácido fosfórico. De esta manera se preparan curvas de calibración en el intervalo de concentraciones reportados en la literatura [4-5]; es decir, de 10 a 80 mg/dl para la acetona, de 0.4 a 20 mg/dl para el acetoacetato y de 2 a 60 mg/dl para el β -hidroxibutirato. Estos estándares se guardan en refrigeración dentro de recipientes sellados y se monitorean los resultados de los estándares de acetoacetato al ser esta sustancia inestable.

Para realizar el análisis de cuerpos cetónicos, la muestra se divide en tres partes. Para la determinación de acetona se mezclan en un vial de espacio de cabeza 125 μ l de sangre total con 25 μ l de una disolución 4 M de hidróxido de sodio para prevenir la descarboxilación del acetoacetato y analizar exclusivamente la acetona. Para el acetoacetato, se mezclan 125 μ l de sangre problema con 25 μ l de una disolución 5 M de ácido fosfórico para promover la descarboxilación del acetoacetato y determinar en conjunto esta sustancia con la acetona. En el caso del β -hidroxibutirato se desproteinizó la muestra agregando 0.9 ml de ácido perclórico 0.6 M a 1 ml de sangre total, posteriormente se separan las proteínas mediante centrifugación a 3000 rpm durante 5 minutos; tomando 125 μ l del sobrenadante en un vial y se mezclan con 50 μ l de agente oxidante (0.2 M de dicromato de potasio en 5 M de ácido fosfórico) [11].

Una vez preparados los estándares, estos se analizan mediante un cromatógrafo de gases marca Agilent 6890n con detector de flama, el cual está acoplado a un inyector por espacio de cabeza Agilent G1888, utilizando para la separación una columna DB- 624 (6 % cianopropil, fenil, 93 % dimetilpolisiloxano) de 30 m de longitud, 320 μ m de diámetro interno y 1.80 μ m de película, a un flujo de nitrógeno de 1.7 ml/min como gas acarreador. La temperatura inicial del horno es de 60° C, programándose a los 4 minutos una rampa de temperatura de 30°C/minuto, hasta una temperatura final de 120°C, la cual se mantiene por 3 minutos [12]. Los viales se calientan en el headspace en el caso del análisis de acetona a 60°C por espacio de 10 minutos, mientras que para el caso del acetoacetato y el β -hidroxibutirato se encontró que una temperatura de 100°C por 50 minutos permite la descarboxilación cuantitativa del acetoacetato.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al implementar el método reportado se encontró que es adecuado para la determinación de acetona y acetoacetato en sangre total; sin embargo, para el caso del β -hidroxibutirato se encontró que el método es poco reproducible por lo que se procedió a optimizar la preparación de la muestra y el proceso de descarboxilación. Por ello fue necesario eliminar las proteínas de las muestras y aumentar la concentración del agente oxidante para encontrar las condiciones descritas en el apartado anterior; para optimizar el proceso de descarboxilación se probaron distintas temperaturas y tiempos de calentamiento encontrándose que una temperatura de 100 °C por 50 minutos dio los mejores resultados (Figura 1).

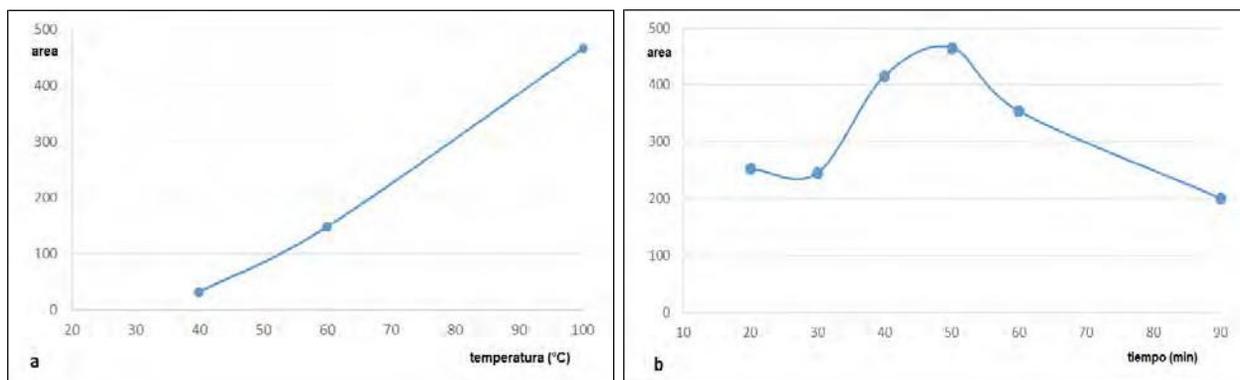


Figura 1. Optimización del proceso de oxidación y descarboxilación del β -hidroxibutirato. a) Temperatura de calentamiento y b) Tiempo de calentamiento.

Una vez que las condiciones del método fueron optimizadas se procedió a validar el método desarrollado, requisito indispensable para su aplicación en el área legal [13]; se obtuvieron las curvas de calibración correspondientes (Figura 2).

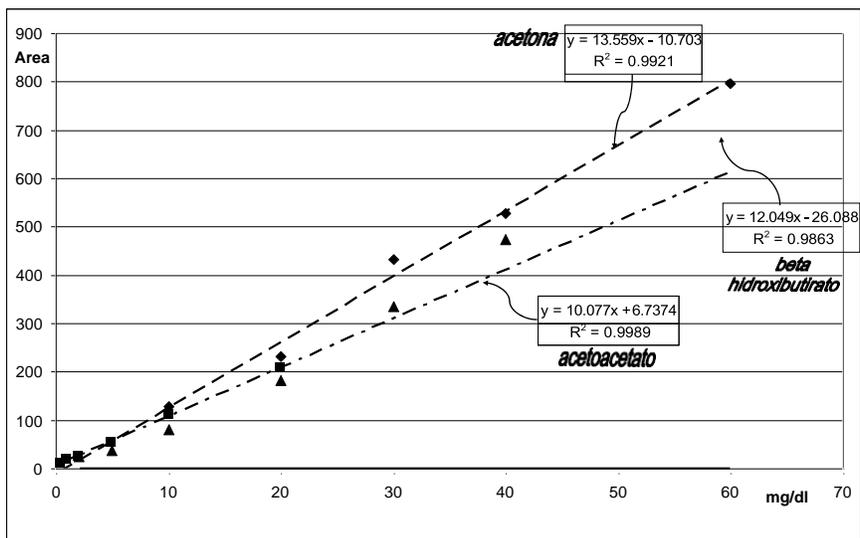


Figura 2. Curvas de calibración de los cuerpos cetónicos con el método utilizado.

Para comprobar la especificidad del método se analizaron muestras de sangre negativas a los analitos de interés; los resultados obtenidos estuvieron por debajo de los límites de cuantificación para cada sustancia. El cálculo de la repetibilidad se realizó inyectando en un mismo día diez repeticiones de un estándar: 40 mg/dl de acetona, 20 mg/dl de acetoacetato y 20 mg/dl de β -hidroxibutirato. La exactitud del método se calculó en base al porcentaje de recobro de muestras fortificadas a tres concentraciones distintas de cada analito (baja, media y alta), para cada punto se hicieron tres repeticiones; el cálculo de los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) se basó en la desviación estándar: tres veces para LOD y diez veces para LOQ de diez muestras diluidas y su extrapolación en las correspondientes curvas de calibración. Finalmente, la precisión intermedia se calculó mediante el análisis en días distintos por analistas distintos de estándares a tres concentraciones diferentes para cada analito; las cifras de mérito obtenidas se presentan en la Tabla 1. Los valores obtenidos cumplen con los criterios de aceptación propuestos para las ciencias forenses [13].

Tabla 1. Principales valores obtenidos de la validación del método.

Cuerpo Cetónico	Acetona	Acetoacetato	β -hidroxibutirato
Repetibilidad (CV%)	11.8	7.6	7.6
Exactitud. % Recobro [#]	94.4	84.8	107.1
Precisión Intermedia CV% global [#]	8.5	16.2	9.8
LOD (mg/dl)	0.3	0.2	0.2
LOQ (mg/dl)	1.1	0.6	0.6

[#] A tres distintos niveles de concentración

Con el propósito de verificar los niveles de cuerpos cetónicos propuestos previamente en distintos grupos [5] y establecer criterios de diagnóstico se procedió a analizar muestras de sangre total provenientes de cadáveres (Figura 3) de distintas poblaciones:

- a) grupo 1 o de control, cadáveres que tuvieron una muerte violeta y no tenían antecedentes de alcoholismo; b) grupo 2, cadáveres de personas con antecedentes de alcoholismo y con una causa de muerte definida; c) grupo 3, cadáveres de alcohólicos sin causa de muerte, pero con sospecha de muerte por cetoacidosis alcohólica; d) grupo 4, cadáveres de personas con diabetes mellitus

Al analizar las muestras de sangre, se observó que existe una correlación entre la

concentración encontrada para los distintos cuerpos cetónicos, observándose un coeficiente de correlación mayor a 0.85 entre la acetona y el β -hidroxibutirato y mayor a 0.9 entre la acetona y el acetoacetato.

Las concentraciones presentes en el grupo control coinciden con los valores basales reportados previamente [3, 5-6], y su media es estadísticamente igual al del grupo 2 de alcohólicos con causa de muerte con un 95% de confianza, los grupos 3 y 4 de alcohólicos sin causa de muerte y de diabéticos respectivamente presentan medias estadísticamente mayores al grupo control demostrando la presencia de cetoacidosis (Figura 4); sin embargo, estos grupos presentan gran variabilidad debido a casos que no presentan cetoacidosis y otros que presentan concentraciones muy elevadas de cuerpos cetónicos.

Figura 3. Cromatogramas de la determinación de cuerpos cetónicos de una muestra problema: (azul) determinación de acetona; (rojo) determinación conjunta de acetona y acetoacetato; (verde) determinación de cuerpos cetónicos totales.

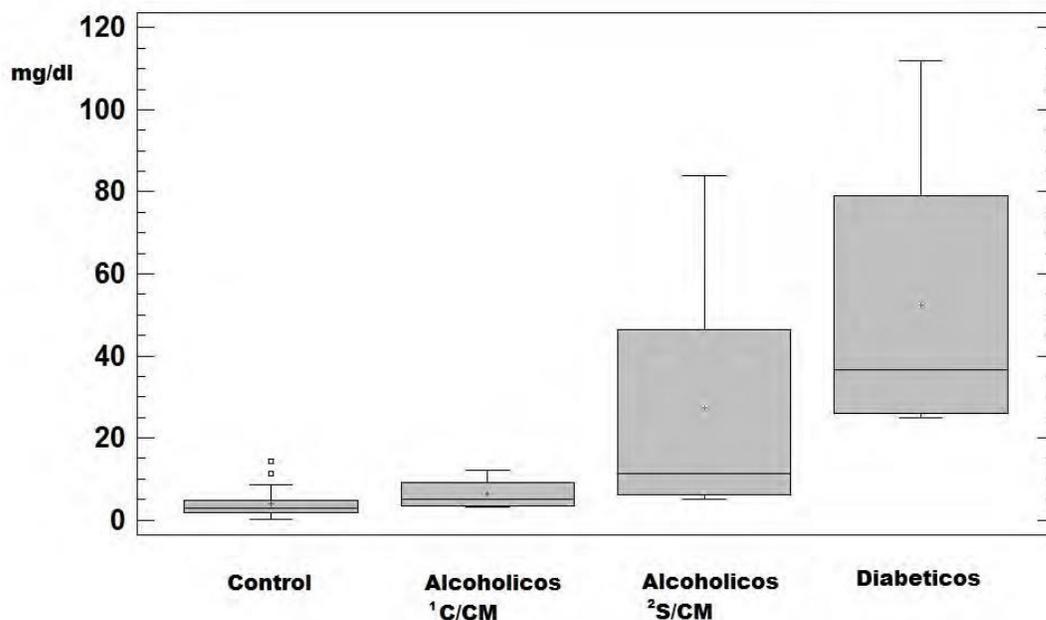


Figura 4. Concentración de β -hidroxibutirato determinada en los grupos estudiados. ¹C/CM con causa de muerte, ²S/CM, sin causa de muerte.

CONCLUSIONES

El método desarrollado permitió determinar los tres cuerpos cetónicos de manera específica y con una sensibilidad adecuada, a diferencia de los métodos utilizados en los análisis clínicos donde al carecer de la misma sensibilidad para todos los cuerpos cetónicos, reportan solo alguno de ellos o se reporta cuerpos cetónicos totales, sin especificar las concentraciones individuales de cada cuerpo cetónico.

El análisis de cuerpos cetónicos se basa en la identificación y cuantificación de acetona por efecto de la conversión de los cuerpos cetónicos a través de reacciones de oxidación y descarboxilación realizadas durante el periodo de calentamiento del método.

Debido a que el acetoacetato es una sustancia altamente inestable, el análisis debe de realizarse lo más rápido posible para evitar su degradación. En el caso del β - hidroxibutirato no se pudo realizar el análisis en sangre total por interferencias producidas por las proteínas de la sangre, por lo que fue necesario desproteínizar la muestra y modificar las condiciones del método.

El método desarrollado fue validado y cumple con los criterios de aceptación utilizados en las ciencias forenses.

Las concentraciones obtenidas en muestras reales coinciden con los previamente reportados tanto en niveles basales como en casos con cetoacidosis, y permite diferenciar los grupos estudiados, por lo que el método desarrollado es una opción adecuada para el diagnóstico de este desorden metabólico en el área forense y permite establecer la causa de muerte correctamente en estas situaciones.

Se encontró que la oxidación química utilizada produce en el tiempo reacciones secundarias no deseadas, por lo que formas de oxidación más suaves producirían resultados más reproducibles.

REFERENCIAS

- [1] J.L. Thomsen, F. Theilade, S. Felby, E. Nielsen. *Forensic Science International*. **60**, 3-4 (1993).
- [2] L.N. Denmark. *Forensic Science International*. **62**, 225-232 (1993).
- [3] D.J. Ponder, R.J. Stevenson, K.K. Taylor. *Journal of Forensic Science* **43**, 812-816 (1998).
- [4] J.L. Thomsen, S. Felby, F. Theilade, E. Nielsen. *Forensic Science International*. **75**, 163-171 (1995).

Teoría y Aplicaciones de la Química Analítica en México

- [5] C. Palmiere, M. Augsberger. Alcohol and Alcoholism. **49**, 271-281 (2014).
- [6] J. Hockenhull, W. Dhillon, R. Andrews, S. Paterson. Forensic Science International. **214**, 142-147 (2012).
- [7] G. Teresinski, G. Boszewicks, R. Madro. Legal Medicine. **11**, 18-24 (2009).
- [8] N. Sadones, W.E. Lambert, C.P. Stove. Forensic Science International. **274**, 38-43 (2017).
- [9] L.C. McGuire, A.M. Cruickshank, P.T. Munroe. Emergency Medicine Journal. **23**, 417-420 (2006).
- [10] F.J. López-Soriano, J.M. Argilés. Journal of Chromatographic Science **23**, 120-123 (1985).
- [11] C.J.P. Eriksson. Analytical Biochemistry. **47**, 235-243 (1972).
- [12] E. Bernal. Determination of Volatile Substances in Forensic Samples by Static Headspace Gas Chromatography, Gas Chromatography in Plant Science, Wine Technology, Toxicology and Some Specific Applications, Dr. Bekir Salih (Ed.) InTech Rijeka, Croacia (2012).
- [13] M.A. Martínez -González Revista Española de Medicina Legal. **40** [1], 30-38 (2014).

IMPLEMENTACIÓN DE UN MÉTODO PARA LA EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE IBUPROFENO DE TABLETAS DE MEDICAMENTOS NACIONALES DE DIFERENTES MARCAS PARA ENSAYOS DE IDENTIDAD

José Miguel Ángel Pérez Villagrán
Luis Ángel Aguilar Carrasco^{1*}

INTRODUCCIÓN

El ibuprofeno (IBU) tiene funciones antiinflamatorias, antipiréticas y analgésicas, es recetado principalmente para el tratamiento de dolores leves o moderados. Se encuentra en una gran variedad de formas farmacéuticas y a diferente concentración. El ibuprofeno puede presentar efectos secundarios nocivos en el organismo si es consumido en dosis altas e incluso puede llegar a aumentar la probabilidad de sufrir ataques cardiovasculares o cerebrovasculares. El ibuprofeno puede ser extraído de tabletas con un disolvente (tal como el cloroformo), para posteriormente realizar el correspondiente análisis cualitativo [1]. En este trabajo se presenta un método de análisis cualitativo mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier para demostrar que puede ser un método asequible en comparación al método oficial establecido por la farmacopea nacional: "Ensayos de identidad mediante la comparación de los tiempos de retención del pico principal en cromatogramas de HPLC" [2]. Los resultados obtenidos en este trabajo indican que todas las muestras analizadas presentaron una correcta caracterización del ibuprofeno en su contenido. Además, se caracteriza el excipiente de cada medicamento también por espectroscopia infrarroja, el cual demuestra ser almidón en mayor grado sin la presencia de banda características del principio activo con lo cual se muestra la eficiencia del método de extracción y purificación del método implementado para la separación del ibuprofeno.

¹ Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Químicas. Departamento de Química Analítica. Avenida 14 sur y San Claudio S/N, Col. San Manuel Puebla, Pue. C.P. 09340. Tel: (222) 2 29 55 00, Ext. 7367. e-mail: qluis82@gmail.com

Experimentación

Todos los medicamentos analizados presentan la forma farmacéutica de comprimidos y/o tabletas, los cuales contienen excipientes que pueden interferir en el análisis espectroscópico si se encuentran en concentraciones considerables. A fin de separarlos del principio activo se investiga un tratamiento de extracción de los medicamentos analizados con cloroformo el cual no altera la caracterización del principio activo de las muestras [7].

Tratamiento de purificación para tabletas de Ibuprofeno

- Se pesan de forma individual tres comprimidos del mismo medicamento.
- Moler las tres tabletas hasta polvo fino en un mortero, posteriormente, se pesa la cantidad correspondiente a un comprimido promedio de las 3 tabletas previamente pesadas.
- Añadir de 10 a 15 mL de cloroformo. La farmacopea indica que se debe solubilizar en 5 a 10 mL, sin embargo, experimentalmente se comprobó que en ese volumen, todo el compuesto que se encuentra en la muestra no se solubiliza por completo
- Agitar con barra magnética durante cinco minutos para asegurarse que la mayor cantidad de ibuprofeno es solubilizado.
- Filtrar en vacío con embudo buchner.
- Evaporar el filtrado con ayuda de una campana de extracción.
- En caso de que la muestra presente remanentes de la capa entérica, se centrifuga durante cinco minutos a fin de separarlos del principio activo.
- La muestra obtenida después de la purificación es un sólido blanco, el cual se puede guardar y almacenar a una temperatura menor a 60°C y en un ambiente seco y libre de humedad.

La primera etapa del método cualitativo consiste en el estudio del espectro infrarrojo de IBU puro, para así poder identificar las señales del espectro infrarrojo de este mismo. A tal fin, se prepara una pastilla de bromuro de potasio (KBr) con IBU extraído de las tabletas de una las

marcas nacionales (Pharmalife), el cual se purificó con el tratamiento previamente explicado y al cual se le aplicó el proceso de filtración tres veces para asegurar un alto grado de pureza de IBU. El espectro infrarrojo obtenido del IBU estándar es comparado con el de una base de datos (Spectral Database for Organic Compounds, SDBS) para decidir si puede ser empleado como referencia. El análisis de un espectro infrarrojo requiere una revisión preliminar, el cual permite descartar grupos funcionales y así determinar los componentes de la molécula y la pureza de la muestra. En general el análisis preliminar de un espectro debe determinar la presencia o ausencia de bandas de los principales grupos funcionales, con lo cual se dispone de una idea de las funcionalidades de la muestra en su investigación. Posteriormente, el espectro es entonces examinado más detalladamente [8]. El análisis se realiza a seis medicamentos de diferentes marcas nacionales, a los cuales se les caracteriza las señales más representativas mediante el análisis preliminar. Los medicamentos analizados son: Ibuprofeno, Medimart, Advil, Motrin Quadrax, Ibuprofeno Pharmalife, Tabalón

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El espectro infrarrojo de la base de datos del *National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Japan* (Figura 1), empleado para la comparación de los datos del espectro de IBU de referencia, muestra que la molécula de IBU (Figura 2) presenta un pico en 3089 cm^{-1} que corresponde a las vibraciones de tensión asimétrica del grupo $=\text{C}-\text{H}$ de grupos insaturados específicamente aromáticos para el caso del ibuprofeno. En 2941 cm^{-1} se muestra un pico agudo el cual se atribuye a las vibraciones de tensión asimétrica del enlace $-\text{C}-\text{H}$ de los grupos metilos presentes en la molécula. La señal ubicada en 2924 cm^{-1} muestra un pico agudo el cual está atribuido a la tensión asimétrica del enlace $\text{C}-\text{H}$ del grupo metileno saturado. Se presenta un pico en 2732 cm^{-1} el cual corresponde a las vibraciones de tensión simétrica de los grupos metilos, mientras que el pico ubicado en 2633 cm^{-1} corresponde a las mismas vibraciones de tensión asimétrica, pero del grupo metileno saturado. En 1721 cm^{-1} se muestra un pico agudo que se atribuye al estiramiento del grupo carbonilo $\text{C}=\text{O}$ de la función carboxilo COOH , también se puede observar una banda ancha que abarca de 3300 cm^{-1} a 2400 cm^{-1} que corresponde al estiramiento del enlace $\text{H}-\text{O}$ del grupo hidroxilo y que se presenta en ácidos carboxílicos en estado sólido y líquido. Las señales correspondientes al estiramiento los enlaces del grupo carboxílico se presentan como:

- Un pico agudo en 1420 cm^{-1} que corresponde a las vibraciones de estiramientos asimétricos de los enlaces del grupo carboxilo.
- Un pico agudo en 1230 cm^{-1} atribuido a las vibraciones simétricas de los enlaces del grupo carbonilo.
- Un pico ancho en 937 cm^{-1} correspondiente a las vibraciones de torsión del grupo carboxilo.

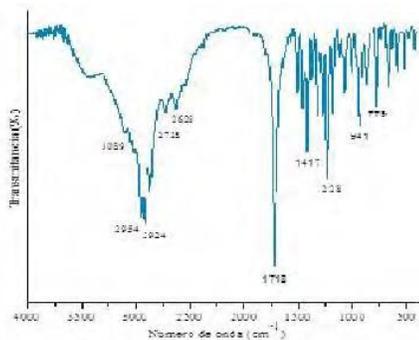


Figura 1. Ibuprofeno de Referencia

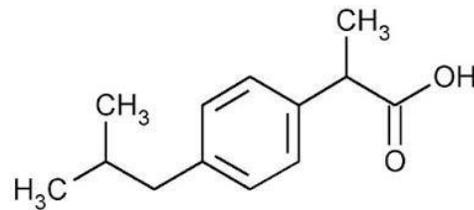


Figura 2. Molécula de Ibuprofeno

Los espectros de las pruebas (Figura 3-7) presentan similitud en la forma y posición de las bandas marcadas con respecto a las indicadas en el espectro infrarrojo del ibuprofeno de referencia. Se observa en los tres espectros una banda ancha en el orden de los 3400 cm^{-1} que se atribuye a las vibraciones tensión del enlace H-O de la molécula de agua

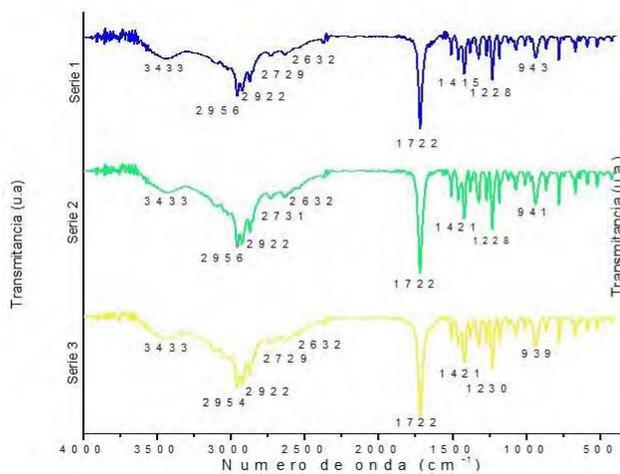


Figura 3. Caracterización Pharmalife

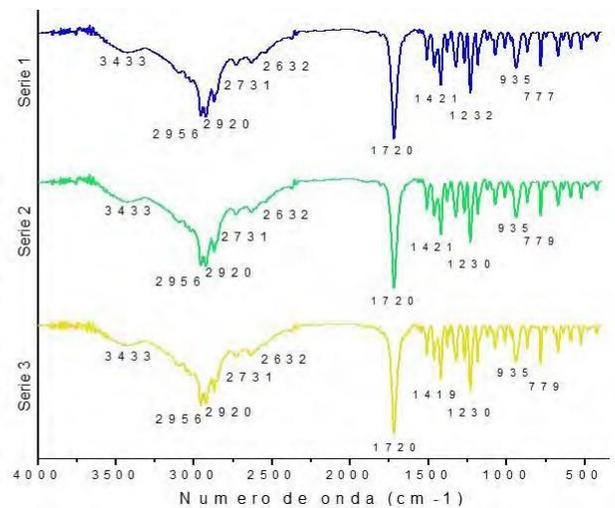


Figura 4. Caracterización de Medimart

Los tres espectros que se presentan en cada figura corresponden a los tres análisis que se efectuaron a cada una de las marcas. Todos los espectros muestran la ausencia de señales representativas de excipiente, es decir carecen de señales 3417 cm^{-1} , correspondiente a las vibraciones de tensión del enlace O-H (Figura 8), con lo que se comprueba la correcta extracción y purificación del principio activo.

Los espectros del excipiente analizados (Figura 8) muestran la ausencia de la señal cerca de 1718 cm^{-1} en forma de pico agudo característica de la vibración de tensión del grupo carbonilo de ácidos carboxílicos lo cual demuestra la ausencia de ibuprofeno en el excipiente. En el orden de 2900 se encuentra el pico característico para el IBU, en tanto que alrededor de los 3100 el pico que aparece es el que indica la humedad presente en la muestra.

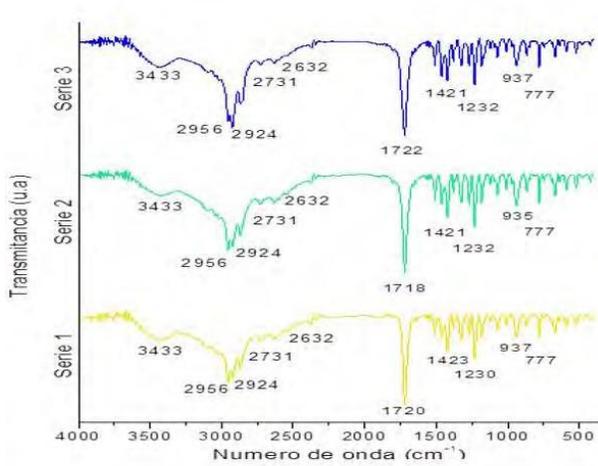


Figura 5. Caracterización Advil

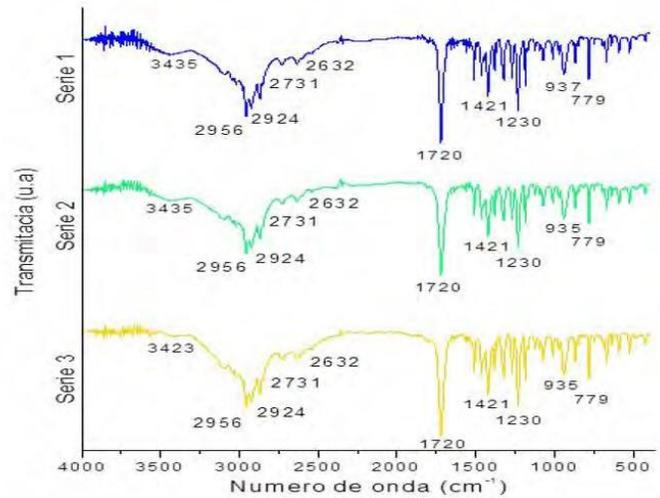


Figura 6. Caracterización Quadra

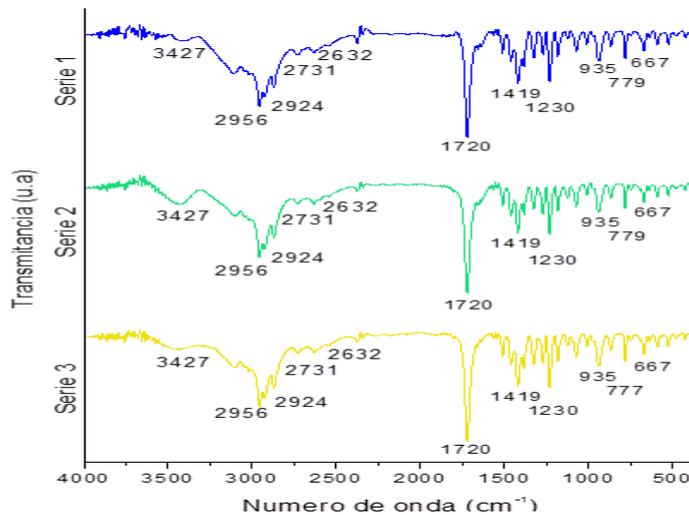


Figura 7. Caracterización Tábalon

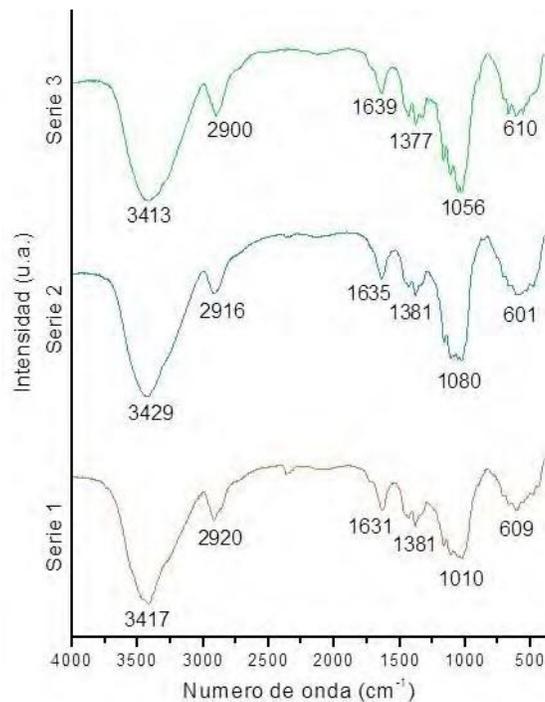


Figura 8. Ejemplo de excipiente

CONCLUSIONES

La presente investigación demuestra que el análisis infrarrojo, que sólo se ha utilizado hasta ahora como método alternativo para la identificación de principios activos de ibuprofeno y otros antiinflamatorios no esteroideos, puede extenderse como análisis cualitativo principal de ibuprofeno en comprimidos.

La extracción y purificación del principio activo de los medicamentos con cloroformo resulta ser un método práctico y adecuado ya que se observa que el cloroformo no afecta la posición ni la intensidad de las señales infrarrojas que se identificaron en el IBU sólido. Se puede repetir el proceso de extracción y purificación del principio activo para obtener una mejor caracterización de la muestra.

Adicionalmente el presente método deja abierta la posibilidad de aplicar la espectroscopia FTIR para cuantificar otros principios activos tal como se realizó con el IBU.

AGRADECIMIENTOS

Al Departamento de Química Analítica de la Facultad de Ciencias Químicas de la BUAP por brindarnos las facilidades para el empleo del equipo de IR.

REFERENCIAS

- [1] S. Matkovic, G. Valle, M. Galle, L. Briand, Desarrollo y Validación del Análisis. Cuantitativo de Ibuprofeno en Comprimidos por Espectroscopia Infrarroja (2004).
- [2] Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (11a ed., Vol. I). Secretaría de Salud (2014).
- [3] P. Camps, S. Vázquez y C. Escolano. Fundamentos de Síntesis de Fármacos (32a ed.). Barcelona., Editorial Universidad de Barcelona (2005).
- [4] G. Hernández, G. Herreo., A Zaragoza, F. García y A. Porras Tratado de Medicina Farmaceutica (32a ed.). Madrid., Editorial Médica Panamericana (2010).
- [5] A Remington, FARMACIA (20a ed.). Buenos Aires, Argentina, Editorial Médica Panamericana (2016)
- [6] Unidad Temática 1 Técnicas Espectroscópicas. Universidad de Murcia. <http://ocw.um.es/ciencias/experimentacion-en-quimica-organica-avanzada/material-de-clase-1/eqoa-tema-1.pdf>
- [7] Ibuprofeno (Ficha Técnica). Agencia Española de Medicamentos Productos Sanitarios. https://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/72804/72804_ft.pdf
- [8] J. Lambert, S. Gronert, S. Herbert, and D. Lightner *Organic Structural Spectroscopy* (2th ed.). USA, Pearson Prentice Hall (2011).

VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CAPTOPRIL EN JARABE (FORMULACIÓN MAGISTRAL PARA USO PEDIÁTRICO)

Alejandro Monroy Funes^{1,2}
Urias Bautista Sánchez¹
Ana Luisa Robles Piedras^{1*}

INTRODUCCIÓN

Una fórmula magistral es por definición un medicamento destinado a un paciente individualizado, preparado por el farmacéutico, o bajo su dirección, para cumplir con una prescripción médica detallada de las sustancias medicinales que incluye, según las normas técnicas y científicas del arte farmacéutico, dispensado en su farmacia o servicio farmacéutico y con la debida información al usuario. Antes de que la revolución industrial alcanzara al mundo y con el auge de la producción masiva de especialidades farmacéuticas, las fórmulas magistrales eran los únicos medicamentos disponibles; su elaboración constituía la principal labor de los farmacéuticos y su diseño, la mejor muestra de colaboración entre éstos y los médicos en pos del beneficio de los pacientes [1]. Sin embargo, el desarrollo de las especialidades farmacéuticas propició un continuo declive de estos medicamentos y actualmente en México, es considerada por un buen número de profesionales de la salud, como una reliquia del pasado. No obstante, la formulación magistral sigue teniendo un lugar en la terapéutica en un entorno de medicina basada en las pruebas y uso racional de los medicamentos. Ese lugar está en aquellos casos en los que se requiere: -Ajustar la dosis, forma farmacéutica o vía de administración a las necesidades de un determinado paciente. -Sustituir una especialidad farmacéutica porque uno de los componentes de su excipiente no es bien tolerado por el paciente. Con el uso de las fórmulas magistrales se pueden cubrir vacíos terapéuticos, facilitar

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias de la Salud, Área Académica de Farmacia, Cuerpo Académico de Farmacia Clínica. Ex-Hacienda la Concepción, Tilcuautla, Hgo. Tel: +52 (771) 7172000 ext. 5113, Fax: +52 (771) 7172000 ext. 5111. e-mail: roblesa@uaeh.edu.mx

² MarCon Pharma. Calzada de Tlalpan 2567, Delegación Coyoacán, Ciudad de México. Tel: +52 (55) 53387431. e-mail: alejandromfunes@hotmail.com

la individualización de los tratamientos y permitir la administración de preparados poco estables gracias a la preparación extemporánea [1,2]. Lo anterior cobra vital importancia cuando se trata de dosificar a pacientes pediátricos, debido al vacío terapéutico existente en relación con fármacos destinados a esta población y, la necesidad de tratar a estos pacientes originó la demanda de preparaciones que permitan la administración de dosis adecuadas en cada caso. Para cubrir este vacío terapéutico es necesario acudir a la formulación magistral. El mayor interés de la formulación magistral en pediatría es probablemente facilitar la administración de medicamentos a prematuros, recién nacidos y niños pequeños. Si una fórmula magistral es por definición un medicamento destinado a un paciente individualizado y preparado por un farmacéutico, entonces mediante la formulación magistral podemos elaborar preparaciones de aquellos principios activos que si bien están destinados a la terapéutica en pediatría carecen de una especialidad farmacéutica. Dichas preparaciones deben permitir flexibilidad en las dosis y facilidad de administración, siempre dentro de límites de calidad y estabilidad documentados. Se trata de evitar concentraciones indeseables sobre todo en fármacos que, como el captopril (antihipertensivo), cuyas reacciones adversas pueden llegar a ser dosis dependientes. En estos momentos, en los Servicios Farmacéuticos de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, nuestro objetivo consiste en establecer varias formulaciones magistrales, entre ellas el jarabe de captopril que sean eficaces, seguras, que garanticen una correcta administración, que se ajusten a pautas de calidad y fielmente reproducibles. En este sentido, es que se parte del diseño de la formulación en sí, es decir, la elaboración del jarabe de captopril conteniendo 1 mg/mL, y el desarrollo y validación de un método analítico barato, rápido y sencillo, con detección en la región del ultravioleta, que permita más adelante, realizar la cuantificación del principio activo contenido en la formulación, en estudios de estabilidad de la misma, y el subsecuente control de calidad.

EXPERIMENTACIÓN

1. Se prepararon 200 mL de jarabe de captopril conteniendo 1 mg/mL, utilizando estándar Sigma Aldrich como principio activo, de acuerdo a la siguiente:

Captopril 100 mg, Ascorbato de sodio 500 mg, Jarabe simple* 100 mL.

*La composición del jarabe simple es: Sacarosa 640 g y Agua estéril 360 mL

2. Se realizó un barrido a una dilución conteniendo sólo estándar de captopril y una dilución con jarabe formulación magistral, ambas de concentración final de 10 µg/mL, obteniéndose la longitud de onda de 212 nm.
3. La validación del método analítico se llevó a cabo determinando:

Linealidad del Sistema. Se preparó por triplicado, por dilución y pesadas independientes jarabe de captopril a partir del jarabe original cuya concentración es de 1mg/mL a las siguientes concentraciones: 6 µg/mL, 15 µg/mL, 23 µg/mL, 28 µg/mL, 30 µg/mL y 38 µg/mL en matraces volumétricos de 25 mL llevados al aforo con solución amortiguadora de fosfatos 0.05N a pH 7. Se midió la respuesta analítica de cada sistema bajo las mismas condiciones y se reportó la relación concentración–respuesta analítica. Se calculó el valor de la pendiente (b_1), la ordenada al origen (b_0), el coeficiente de determinación (r^2) y el intervalo de confianza para la pendiente $[IC(\beta_1)]$. $IC(\beta_1)$ se expresa en % de la concentración del contenido del analito de cada muestra. Criterios de aceptación: r^2 deberá ser mayor a 0.98; $IC(\beta_1)$ no deberá incluir el cero [3,4].

Precisión del Sistema. Se preparó por sextuplicado, por dilución y pesadas independientes jarabe de captopril a una concentración de 8 µg/mL como a continuación se indica: se llevaron al aforo 100 µL de jarabe de captopril en un matraz volumétrico de 25 mL con solución amortiguadora de fosfatos 0.05 N a pH 7 y se analizaron por UV cada una de las muestras, obteniéndose la absorbancia y concentración real de cada una de estas [3,4].

Linealidad del Método. Se preparó por triplicado, por dilución y pesadas independientes jarabe de captopril a partir del jarabe, concentración de 1 mg/mL a las siguientes concentraciones: 6 µg/mL, 15 µg/mL, 23 µg/mL, 28 µg/mL, 30 µg/mL y 38 µg/mL en matraces volumétricos de 25 mL llevados al aforo con solución amortiguadora de fosfatos 0.05 N a pH 7. Las concentraciones fueron preparadas a dichas diluciones con la finalidad que la concentración original, es decir, 25 µg/mL quedara dentro del sistema de cuantificación. Las muestras fueron analizadas por un mismo analista, bajo las mismas condiciones, utilizando la misma sustancia de referencia, el mismo material, equipo y reactivos en un solo día. Se determinó la

cantidad recuperada de analito, calculando el coeficiente de determinación (r^2), el intervalo de confianza para la media poblacional $[IC(\beta_1)]$, el intervalo de confianza para la ordenada al origen $IC(\beta_0)$ y el coeficiente de variación de regresión $[CV_{x/y}]$. Criterios de aceptación: r^2 deberá ser mayor a 0.98; $IC(\beta_1)$ deberá incluir la unidad; $IC(\beta_0)$ deberá incluir el cero; $CV_{x/y}$ no tendrá que exceder el 2 % [3,4].

Precisión del Método. A partir del jarabe original de concentración de 1 mg/mL, se preparó por triplicado, por dilución y pesadas independientes jarabe de captopril a una concentración de 23 $\mu\text{g/mL}$ en matraces volumétricos de 25 mL, llevados al aforo con solución amortiguadora de fosfatos 0.05 N a pH 7. Las muestras fueron analizadas en dos días diferentes \bar{Y} y por dos analistas, utilizando la misma sustancia de referencia, el mismo material, equipo y reactivos. Se determinó la concentración de cada una de las muestras. Se calculó la media aritmética (), desviación estándar (S) y el coeficiente de variación (CV) empleando los resultados obtenidos. Criterios de aceptación: CV deberá ser menor al 3 % [3,4].

Tolerancia del Método. A partir del jarabe original se preparó por triplicado, por dilución y pesadas independientes jarabe de captopril a una concentración de 23 $\mu\text{g/mL}$ en matraces de 25 mL llevados al aforo con solución amortiguadora de fosfatos 0.05 N a pH 7. Se preparó un sistema por condición variable, es decir, un sistema para la cuantificación en equipos diferentes y un \bar{Y} sistema para la cuantificación realizada por analistas diferentes. Las muestras fueron analizadas por dos equipos distintos, en días diferentes y por analistas diferentes. Se calculó la media aritmética, desviación estándar S y el coeficiente de variación CV. Criterios de aceptación: CV de deberá ser menor a 3 % [3,4].

Límite de detección y límite de cuantificación. Los cálculos se realizaron con base en la curva de calibración y la desviación estándar de regresión. Criterios de aceptación: Criterios de aceptación: $r^2 \geq 0.98$, $IC(\beta_1)$, no debe incluir el cero [3,4].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Linealidad del Sistema. En la Tabla 1 se presentan los resultados de la cuantificación del principio activo dentro del intervalo valorado (de 6 $\mu\text{g/mL}$ a 38 $\mu\text{g/mL}$); asimismo, en la Tabla 2 se presentan los resultados del análisis estadístico que confirma la linealidad del sistema.

Precisión del Sistema. La Tabla 3 muestra las absorbancias y concentraciones obtenidas en las 6 diferentes diluciones preparadas de una misma concentración, obteniéndose un coeficiente de variación de 0.554 % al medir 6 muestras diferentes de jarabe de captopril a una concentración de 23 µg/mL. El criterio de aceptación establece que el coeficiente de variación no debe exceder el 1.5 %, lo que demuestra que el sistema es preciso.

Tabla 1. Determinación de la linealidad del sistema para la cuantificación de captopril en jarabe.

Concentración (µg/mL)	A (Absorbancia)	B (Absorbancia)	C (Absorbancia)	Promedio
6	0.331	0.379	0.301	0.337
15	0.774	0.759	0.759	0.764
23	1.175	1.175	1.193	1.181
28	1.369	1.375	1.361	1.368
30	1.498	1.533	1.490	1.507
38	1.865	1.890	1.877	1.877

Tabla 2. Resultados del análisis estadístico para determinar la linealidad del sistema para la cuantificación captopril en jarabe.

N	b ₁	b ₀	r ²	IC(β ₁)+	IC(β ₁)-
18	0.048	0.043	0.997	0.049	0.046

Tabla 3. Determinación de la precisión del sistema para cuantificar captopril en jarabe simple.

No. de muestra	Absorbancia	Concentración Medida (µg/mL)
1	1.175	23.253
2	1.175	23.253
3	1.193	23.046
4	1.174	23.002
5	1.170	23.235
6	1.170	22.998
	DE	0.128
	Media	23.131
	%CV	0.554

Linealidad del Método. La Tabla 4 muestra que de acuerdo con los resultados obtenidos al

medir 6 concentraciones diferentes de jarabe de captopril y realizar el análisis estadístico correspondiente, partiendo de la construcción de una curva de calibración con una sustancia de referencia y en concordancia con los criterios de aceptación establecidos, el método es lineal al asegurar que los resultados obtenidos fueron proporcionales a las concentraciones de la sustancia de referencia dentro del intervalo determinado, pues se obtuvo un coeficiente de determinación de 0.9997, la unidad está incluida en la determinación del intervalo de confianza para la media poblacional, el valor de cero está dentro del intervalo de confianza para la ordenada al origen y el coeficiente de variación de regresión es menor al 2 %.

Tabla 4. Resultados del análisis estadístico para determinar la linealidad del método en la cuantificación de jarabe de captopril.

N	b_1	b_0	$CV_{x/y}$ (%)	r^2	$IC(\beta_1)_+$	$IC(\beta_1)_-$
18	1.001	0.033	0.686	0.9997	1.008	0.993

Exactitud y Repetibilidad del método. De las concentraciones obtenidas de la valoración analítica de jarabe de captopril (23 $\mu\text{g/mL}$) cuantificado por sextuplicado, se obtuvo que acorde a los parámetros establecidos como criterios de aceptación, el método es exacto pues el valor obtenido se encuentra en concordancia con el valor de referencia o real, al obtenerse un coeficiente de variación de 0.5541 %, mientras que el intervalo de confianza para la media poblacional incluye el valor de cero. Asimismo, el método se considera repetible [3,4], pues cada una de las 6 determinaciones fueron realizadas por un mismo analista, utilizando los mismos instrumentos y bajo el mismo método. (Ver Tabla 5 y Tabla 6).

Límite de detección y límite de cuantificación. Se utilizaron los parámetros determinados para la curva de calibración del método, para determinar el límite de detección y el límite de cuantificación, siendo de 0.03 $\mu\text{g/mL}$ y 0.08 $\mu\text{g/mL}$ de captopril, respectivamente.

Tabla 5. Cuantificación de 23 $\mu\text{g/mL}$ de jarabe de captopril por sextuplicado para la determinación del porcentaje de recobro.

No. de muestra	Concentración medida ($\mu\text{g/mL}$)	% de recobro
1	23.253	101.1
2	23.253	101.1
3	23.046	100.2
4	23.002	100.0

5	23.235	101.0
6	22.998	99.9

Tabla 6. Resultados del análisis estadístico para determinar la exactitud y repetibilidad del método en la cuantificación de jarabe de captopril 23 µg/mL.

N	DE	CV _{x/y} (%)	t _{0.975n-1}	$\bar{x} C()+$	$\bar{x} C()-$
6	0.557	0.554	2.571	101.15	99.98

CONCLUSIONES

Se desarrolló un método analítico para cuantificar captopril en muestras provenientes de un jarabe magistral, diseñado para su uso en población pediátrica, y se validó según lo establecido en la NOM-177-SSA-2013 y la Guía de Validación de Métodos analíticos del Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México. Se demostró que el método es lineal en un rango de concentraciones de 6 a 38 µg/mL, exacto y repetible con un coeficiente de variación de 0.554 %, obteniéndose un límite de detección de 0.03 µg/mL y un límite de cuantificación de 0.08 µg/mL.

El método es confiable para la cuantificación de captopril en jarabe formulación magistral y puede ser aplicado para los fines propuestos.

REFERENCIAS

- [1] J.R. Falconer, K.J. Steadman. Extemporaneously compounded medicines. Australian Prescriber. **40**, 5-8 (2017).
- [2] R.J. Timko. Applying Quality by Design Concepts to Pharmacy Compounding. Int International Journal Pharmaceutical Compounding. **19**, 453-63 (2015).
- [3] Secretaría de Salud. NORMA Oficial Mexicana NOM-177-SSA-2013, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados que realicen las pruebas de intercambiabilidad. Requisitos para realizar los estudios de biocomparabilidad. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados, Centros de Investigación o Instituciones Hospitalarias que realicen las pruebas de biocomparabilidad. DOF publicado el 6 de mayo del (2013).
- [4] Guía de validación de métodos analíticos. Editada por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, México (2002)

DETERMINACIÓN DE LA QUERCETINA EN MEDIO MICELAR USANDO FLUORESCENCIA

Julio Cesar Alva Ensastegui¹
Manuel Palomar Pardavé²
Silvia Corona Avendaño²
Mario Romero Romo²
María Teresa Ramírez Silva^{1*}

INTRODUCCIÓN

La quercetina es un componente bioactivo importante encontrado comúnmente en nuestra dieta diaria, apareciendo en frutas, verduras, vinos, chocolates, etc. con altas cantidades en manzanas, mandarinas y cebollas [1]. Este polifenol posee beneficios para la salud humana, ya que posee propiedades bioquímicas importantes ayudando a prevenir afecciones antiinflamatorias, antiaterogénicas y principalmente reconocida por su capacidad antioxidante [1] y [2]. Aún no se han observado efectos secundarios en dosis de unos pocos gramos al día en humanos o animales.

Para la cuantificación de la quercetina, se encuentran varios métodos reportados en la literatura que emplean instrumentación o reactivos costosos y principalmente tiempos largos para su determinación y ya que la quercetina es dependiente del pH y del tiempo [2], necesitan ser estabilizadas durante su determinación, ya que, de lo contrario, sus concentraciones pueden cambiar.

¹ Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Área de Química Analítica. Laboratorio R-105. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, C.P. 09340, ciudad de México, México, Tel: +52 (55) 58 04 46 70, Fax: +52 (55) 58 04 4666.

*e-mail: mtrs218@xanum.uam.mx.

² Universidad Autónoma Metropolitana – Azcapotzalco, Departamento de Materiales, Área Ingeniería de Materiales, Av. San Pablo #180, Col. Reynosa-Tamaulipas, C.P. 02200, Ciudad de México, México.

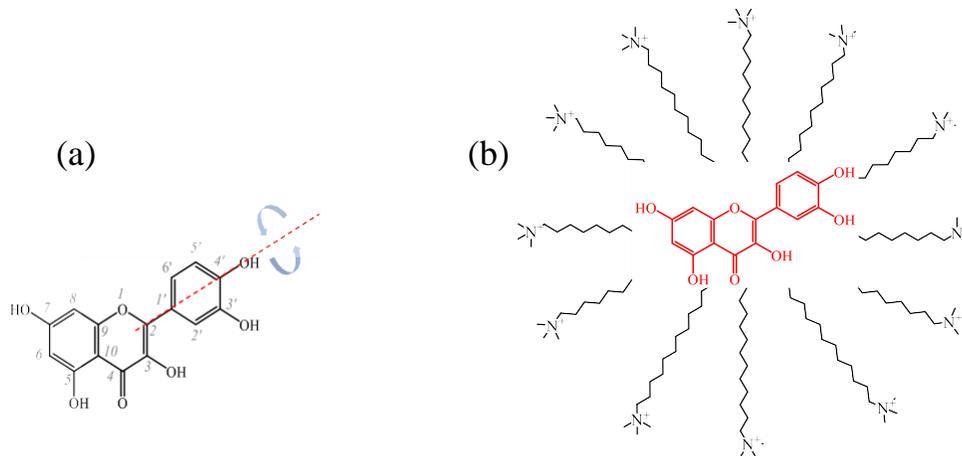


Figura 1. Estructuras químicas de: quercetina (a) y complejo supramolecular quercetina- micela (CTAB) (b).

La inestabilidad de la quercetina es debida a que, la estructura química de esta molécula está conformada por un grupo catecol, ver figura 1(a), el cual es fácilmente oxidado a una benzoquinona por medio de fuentes fotoquímicas o por la presencia de oxígeno [3].

Además, cuándo es excitado el cromóforo que involucra al grupo catecol (350 nm), el anillo aromático tiene libre movimiento, rotando en el eje de la posición C2, ver figura 1(a), ocasionando una inhibición en la fluorescencia de la quercetina, pero, cuando el complejo quercetina-micela (CTAB) es formado, se inhibe la rotación del grupo catecol, por lo que la molécula de quercetina se hace más rígida, por lo que se promueve la fluorescencia de este flavonoide [4].

En este trabajo se emplean micelas del surfactante bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) usadas como promotoras de la fluorescencia de la quercetina en medio acuoso, para su cuantificación a partir de la medición de los espectros de emisión y como se mostrará más adelante, el uso dicho surfactante supera la dependencia de la quercetina con el tiempo, ya que le confiere suficiente estabilidad durante el tiempo de cuantificación, además de promover la fluorescencia de este polifenol.

EXPERIMENTACIÓN

Reactivos e Instrumentación

Todas las sustancias usadas fueron grado reactivo. Quercetina y CTAB fueron obtenidas de Sigma-Aldrich, metanol para disolver a la quercetina fue obtenida de J.T. Baker Brand, el agua desionizada fue obtenida de un Millipore Milli-Q con resistividad de 18 M Ω la cual fue usada como disolvente. Para disolver las sustancias fue usado un Ultrasonic (8891 Cole-Parmer, set Sonic minutes). Todos los experimentos fueron realizados a 28 ± 0.1 °C con un recirculador Grant W14.

Una solución concentrada de CTAB fue preparada en agua y una solución de quercetina fue preparada en metanol. El pH de las soluciones fue medido con un pH-metro Mettler Toledo, con un error de ± 0.1 por unidad de pH.

Espectrofotometría UV-Vis. Las medidas espectrofotométricas fueron llevadas a cabo con un espectrofotómetro UV-Vis Lambda 20 usando celdas de cuarzo de un centímetro de longitud de paso óptico y el software WinLab.

Espectroscopía de fluorescencia. Las medidas espectrofotométricas de fluorescencia fueron llevadas a cabo con un espectrofotómetro LS50 Luminiscence de Perkin Elmer usando celdas de cuarzo de un centímetro de longitud de paso óptico y el software WinLab.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El valor de la concentración micelar crítica (CMC) nos indica, que concentración del surfactante es necesaria para la formación de la micela. La figura 2(a) muestra una familia de espectro de absorción medidos en el sistema quercetina-agua-CTAB a una concentración fija de quercetina y concentraciones diferentes del surfactante, donde los espectros mostrados se oscurecen conforme la concentración del CTAB aumenta. De la variación de absorbancia a 365 nm es posible estimar el valor de CMC, dando un valor de 0.94 ± 0.03 mM de CTAB, figura 2(b), el cual coincide con los reportados en la literatura que son de: 0.92 [5], [6] y 0.98 mM [7]. De los desplazamientos batocrómicos mostrados en la figura 1(a) se confirma la formación del complejo supramolecular quercetina- micela (CTAB).

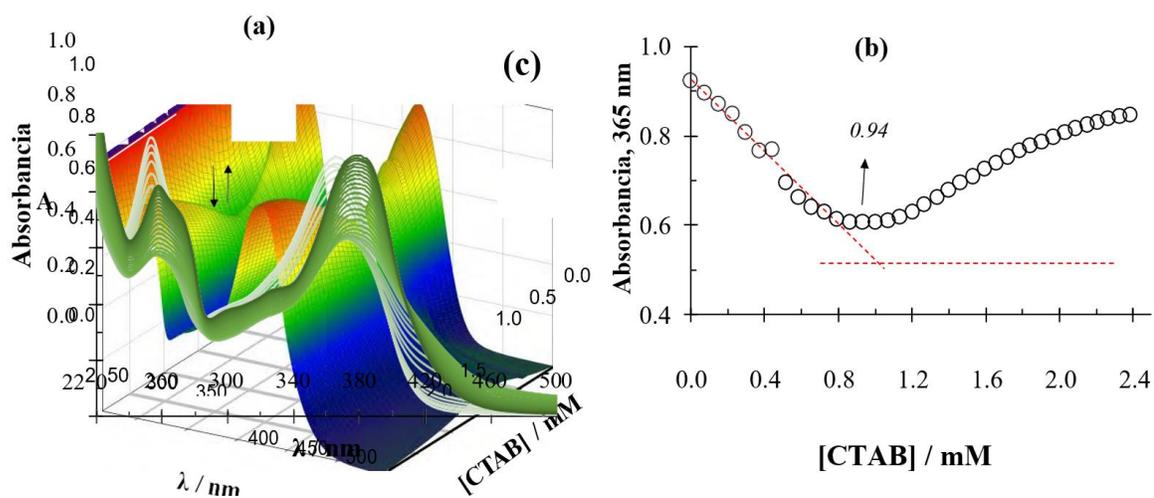


Figura 2. Familias de espectros de absorción de 5×10^{-5} M de quercetina que cambian cuando se añade CTAB al sistema (a) y relación de absorbancia a 365 nm en función de la concentración de CTAB (b). Se uso como disolvente agua pH 7.0 ± 0.2 y temperatura de 28.0 ± 0.1 °C.

En ausencia del CTAB la quercetina es inestable, figura 3(a), sin embargo, cuando la concentración del surfactante está presente a un valor mayor que su correspondiente valor de CMC, la quercetina se comporta estable, figura 3(b) en un intervalo de tiempo de 25 minutos, adecuando para la realización de la cuantificación de la quercetina.

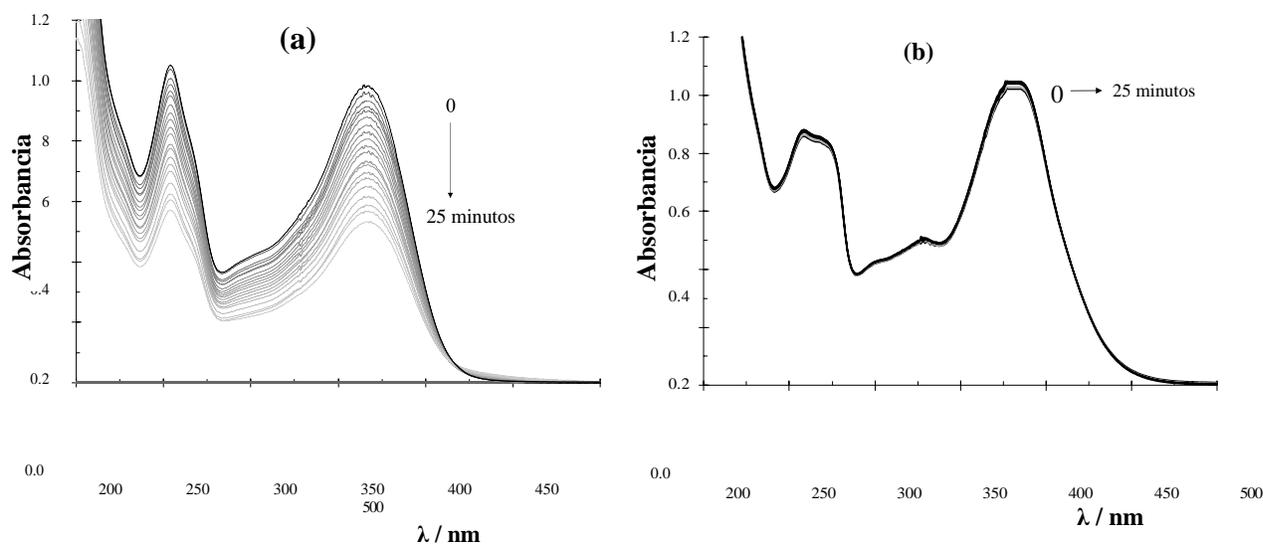


Figura 3. Espectros de absorción de 5×10^{-5} M quercetina que cambian con el paso del tiempo en un intervalo de tiempo de 25 minutos en ausencia (a) y en presencia de 2.0 mM de CTAB (b), bajo condiciones normales de laboratorio, usando como disolvente agua.

Una vez demostrada la interacción de la quercetina con micelas de CTAB y la estabilidad de la quercetina debida a dicha interacción, la cuantificación espectrofotométrica es llevada a cabo. Para hacer esto, se prepara un sistema con concentración de CTAB cuatro veces más que su respectivo valor de CMC. La figura 4(a) muestra los espectros de emisión medidos en medio acuoso a una concentración fija de CTAB, los cuales aumentan cuando alícuotas de quercetina son añadidas.

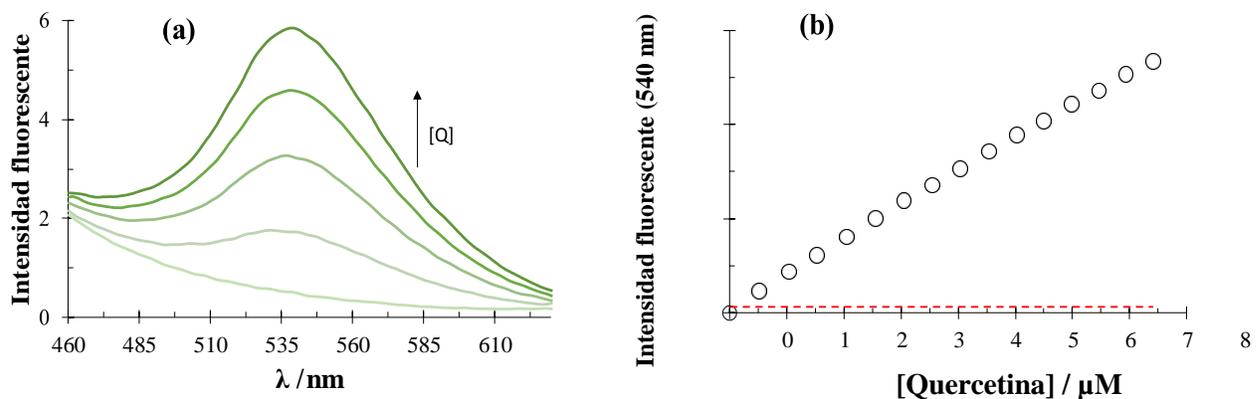


Figura 4. Espectros de emisión que cambian con el aumento de la concentración de la quercetina, con una concentración micelar 3.77 mM CTAB (a) y relación de intensidad fluorescente a 540 nm en función de la concentración de la quercetina (b). Longitud de excitación de 350 nm, temperatura 28.0 ± 0.1 °C y pH 7 ± 0.2 . La intensidad de fluorescencia debida a la concentración del surfactante fue restado a los espectros cuando se agregó la quercetina.

En la tabla 1 se muestran los resultados debidos a la regresión lineal además de los límites de detección (LD), cuantificación (LQ) y sensibilidad (m).

Tabla 1. Parámetros obtenidos de la regresión lineal para la cuantificación de quercetina en medio acuoso utilizando una concentración fija de CTAB. Datos obtenidos de la figura 4(b).

Surfactante	[Surfactante] / mM	LD / μM	LQ / μM	R^2	$m / \mu\text{M}^{-1}$
CTAB	3.77	0.24 ± 0.09	0.81 ± 0.09	0.9989	0.718 ± 0.006

CONCLUSIONES

Se ha demostrado que las micelas de CTAB en medios acuosos neutros interactúan con la quercetina formando complejos supramoleculares estables que promueven tanto la estabilidad en función del tiempo, como, la fluorescencia de la quercetina, que permiten su cuantificación

mediante fluorescencia.

AGRADECIMIENTOS

JCAE (216109) agradece a CONACyT por la beca otorgada para realizar los estudios de posgrado. MEPP, MARR, SCA y MTRS agradecen al SNI por la distinción otorgada y el apoyo recibido. MTRS agradece al CONACyT por el proyecto 237327 y la cátedra 2159. Los autores también agradecen al SEP PRODEP por el apoyo financiero recibido a través de RedNIQAE.

REFERENCIAS

- [1] Y. Li. Antioxidants in biology and medicine, essentials, advances, and clinical applications. Nova Science Publishers. New York. (2011).
- [2] R. Álvarez-Diduk, M. T. Ramírez-Silva, A. Galano, A. Merkoçi. *J. Phys. Chem. B* **117** [41] 12347–12359 (2013).
- [3] V. L. Singleton. *Am. J. Enol. Vitic.* **38** [1] 69-77 (1987).
- [4] D. A. Skoog, D.M. West, F.J. Holler, S.R. Crouch. *Fundamentos de Química Analítica*. Novena Edición. Cengage Learning. Santa Fe México. (2015).
- [5] J. H. Fendler and E. J. Fendler. *Catalysis in Micellar and Macromolecular System*. Academic Press. London. (1975).
- [6] K. Holmberg, B. Jönsson, B. Kronberg and B. Lindman. *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*. John Wiley & Sons Ltd. Great Britain. 2nd edn. (2003).
- [7] M. J. Rosen. *Surfactants and Interfacial Phenomena*. John Wiley & Sons Ltd. New Jersey. 3rd edn. (2004).

ESTUDIO DE COMPLEJOS DE INCLUSIÓN DE ISOXICAM (ISX) CON 2- HIDROXIPROPIL- β - CICLODEXTRINA (CD) MEDIANTE POLARIMETRÍA

Francisca Yuriko Rodríguez-Orduño¹
Alberto Rojas-Hernández¹
Giaan A. Álvarez- Romero²
Manuel E. Palomar-Pardavé³

INTRODUCCIÓN

En general los oxicams poseen bajas solubilidades en agua, siendo el isoxicam una de las más insolubles del grupo, por lo cual probablemente actualmente no se comercializa como antiinflamatorio.

De lo poco reportado acerca de complejos de inclusión isoxicam-ciclodextrinas es importante mencionar que solo se ha considerado la existencia de complejos con estequiometría 1:1, y es muy posible que se puedan formar complejos con otra razón estequiométrica como 1:2, 2:1, entre otras; por lo que es indispensable investigar más acerca de este tipo de complejos.

Para el estudio de complejos de inclusión acerca de propiedades termodinámicas y estructurales se utilizan diversas técnicas analíticas como polarimetría, espectroscopia UV/Vis, conductimetría, FT-IR, fluorescencia, entre otras. Cabe mencionar que la polarimetría es una técnica muy importante ya que es económica y rápida, además de ofrecer información acerca de la formación de los complejos de inclusión.

¹ Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Departamento de Química, Área de Química Analítica. San Rafael Atlixco 186; Col. Vicentina. Ciudad de México, C.P. 09340. Tel: +52(55)58044670, Fax: +52(55)58044666, e-mail: yury_lennon@live.com.mx, suemi918@xanum.uam.mx.

² Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Área Académica de Química, Carretera Pachuca-Tulancingo km. 4.5, 42076 Mineral de la Reforma, Hidalgo. giaan.uaeh@gmail.com.

³ Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco, Departamento de Materiales, Área de Ingeniería de Materiales, Av. San Pablo 180, Col Reynosa Tamaulipas, 02200, CDMX

EXPERIMENTACIÓN

Se utilizó un polarímetro Antonn Par modelo MVP300, a una longitud de onda de 589 nm, en una celda de aleación de níquel y platino con ventanas de cuarzo de 10 cm de longitud de paso óptico, a temperatura de 20 ± 0.1 °C controlada con un sistema Peltier.

Se trabajó con isoxicam (Isx) y 2-Hidroxiopropil- β -ciclodextrina (HPBCD), de pureza 99.99%; ambos de la empresa Sigma Aldrich, agua desionizada con resistividad de 18.2 M Ω cm.

También se utilizaron disoluciones estandarizadas 1 mol/L de NaOH y 1 mol/L de HCl de J.T Baker.

Curva estándar de 2-Hidroxiopropil- β -ciclodextrina.

Se preparó un conjunto de disoluciones de 2-Hidroxiopropil- β -ciclodextrina 0.2 mol/L, 0.05 mol/L, 0.02 mol/L, 0.005 mol/L y 0.002 mol/L, todas las disoluciones se realizaron en NaOH acuosa con un pH= 10 ± 0.2 .

Serie de complejos isoxicam-2-Hidroxiopropil- β -ciclodextrina

Se hizo una serie de disoluciones de HPBCD a diferentes concentraciones desde 0.1 mol/L hasta 0.005 mol/L, con isoxicam a concentración constante de 10^{-2} mol/L, en disolución acuosa de NaOH a pH= 11 ± 0.2 . Se monitoreó cada disolución durante 60 días.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los diferentes sistemas isoxicam-2-Hidroxiopropil- β -ciclodextrina, se puede observar que a mayor concentración de HPBCD, la rotación molar aumenta respecto a la curva estándar, conforme pasan los días es mayor este aumento (hasta el día 5) cuando la concentración de HPBCD es más elevada, como se observa en la figura 1.

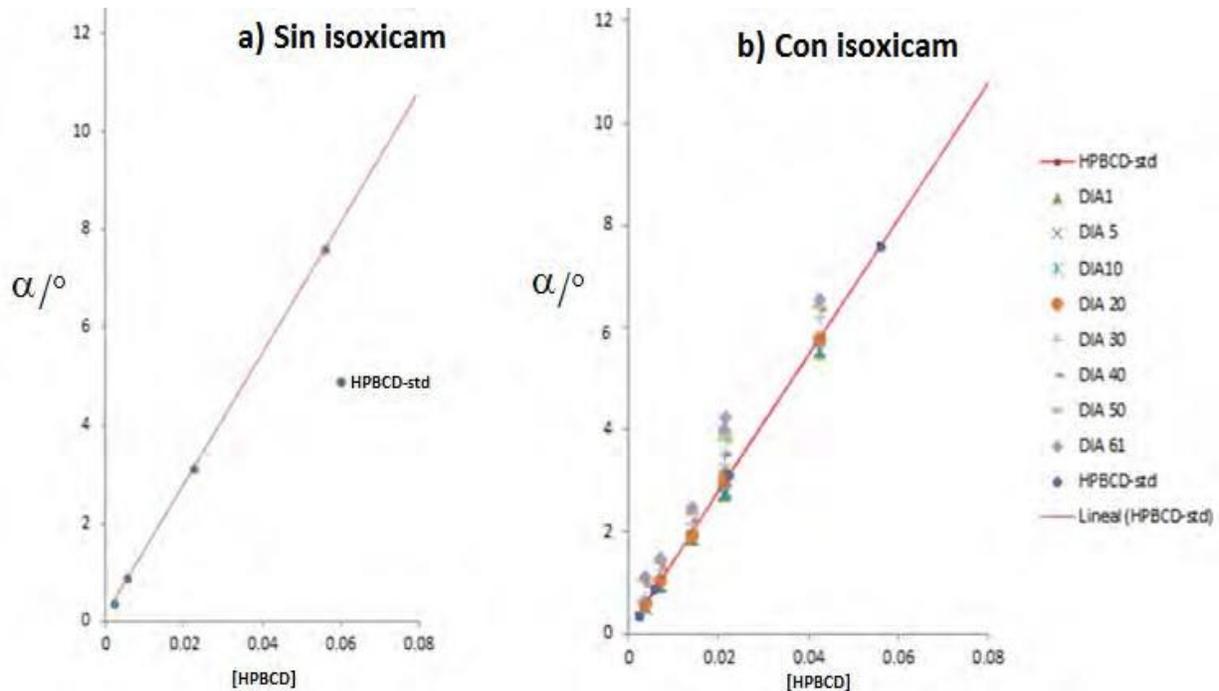


Figura 1 a) Gráfica de $[\alpha]^{20}_{589nm}$ rotación óptica=f([HPBCD]=g/mL), para una curva estándar, de concentraciones variables de HPBCD desde 0.0002 mol/L hasta 0.05 mol/L, a) Gráfica de α rotación molar=f([HPBCD]) de sistemas Isoxicam 10^{-2} mol/L y concentraciones variables de 2-Hidroxiopropil- β -ciclodextrina, desde 1:0.5 hasta 1:1.25.

Por otra parte, esa variación en la rotación molar en los sistemas indica la probable formación de complejos de inclusión isoxicam-2-Hidroxiopropil- β -ciclodextrina.

También se determinó el ángulo de rotación específica de la curva estándar experimental siendo $[\alpha]^{20}_{589nm}=+134^\circ$, el reportado en la literatura que es de $[\alpha]^{20}_D=+135 \pm 10^\circ$, $c=1\%$ en H_2O , lo que demuestra la confiabilidad de las mediciones.

Considerando el desarrollo algebraico del modelo de cálculo robusto para el sistema en que se forman los complejos de inclusión $IsxCD$ y $(Isx)_2CD$, se tiene que:

$$[Isx]_{total}=[Isx]+[IsxCD]+2[(Isx)_2CD] \quad (1)$$

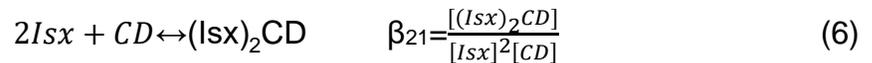
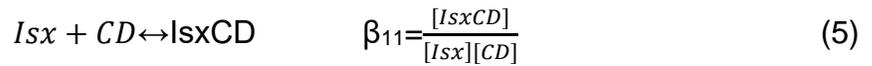
Definir las fracciones de todas las especies que contienen fármaco, en el sistema:

$$F_{Isx} = F_0 = \frac{[Isx]}{[Isx]_{total}} \quad (2)$$

$$F_{\text{Isx}CD} = F_1 = \frac{[\text{Isx}CD]}{[\text{Isx}]_{\text{total}}} \quad (3)$$

$$F_{(\text{Isx})_2CD} = F_2 = \frac{2[(\text{Isx})_2CD]}{[\text{Isx}]_{\text{total}}} \quad (4)$$

Considerando ahora los equilibrios de formación globales



Despejando $[\text{Isx}CD]$, $[(\text{Isx})_2CD]$ de las ecuaciones anteriores y sustituyéndolas en la ecuación de balance del fármaco:

$$[\text{Isx}]_{\text{total}} = [\text{Isx}] + \beta_{11}[\text{Isx}][CD] + 2\beta_{21}[\text{Isx}]^2[CD] \quad (7)$$

La ecuación 7 es cuadrática en $[\text{Isx}]$, por lo que fracciones del fármaco ya no son independientes de la concentración total de fármaco. Dividiendo la ecuación 7 entre $[\text{Isx}]_{\text{total}}$ e identificando la fracción F_0 a partir de su ecuación definición:

$$2\beta_{21}[CD][\text{Isx}]_{\text{total}}(F_0)^2 + (1 + \beta_{11}[CD])F_0 = 1 \quad (8)$$

De la solución general de ecuaciones cuadráticas, se obtiene una expresión algebraica para calcular F_0 .

$$F_0 = \frac{-(1 + \beta_{11}[CD]) + \sqrt{(1 + \beta_{11}[CD])^2 + 8\beta_{21}[CD][\text{Isx}]_{\text{total}}}}{4\beta_{21}[CD][\text{Isx}]_{\text{total}}} \quad (9)$$

Con lo que:

$$F_1 = \frac{[\text{Isx}CD]}{[\text{Isx}]_{\text{total}}} = \frac{\beta_{11}[\text{Isx}][CD]}{\frac{[\text{Isx}]}{F_0}} = \beta_{11}[CD]F_0 \quad (10)$$

$$F_2 = \frac{2[(\text{Isx})_2CD]}{[\text{Isx}]_{\text{total}}} = \frac{2\beta_{21}[\text{Isx}]^2[CD]}{\frac{[\text{Isx}]}{F_0}} = 2\beta_{21}[CD][\text{Isx}]_{\text{total}}(F_0)^2 \quad (11)$$

$$R=(k_{Isx}+k_{Isx(CD)}\beta_{11}[CD])F_0[Isx]_{total}+k_{(Isx)_2(CD)}\beta_{21}[CD]\{F_0[Isx]_{total}\}^2+k_{CD}[CD] \quad (12)$$

$$[CD]_{total}=[CD]+ \beta_{11}[CD]F_0[Isx]_{TOTAL}+\beta_{21}[CD]\{F_0[Isx]_{total}\}^2 \quad (13)$$

A los datos de la figura 1 se les aplicó el modelo de cálculo robusto para el sistema en que se forman los complejos de inclusión $IsxCD$ y $(Isx)_2CD$, para una reacción poco cuantitativa y a alta concentración de Isx_{total} , desde el día 1 y hasta el día 60.

Se realizó la gráfica de $R=f(pL_{total})$ utilizando los datos experimentales y contrastándolos con el modelo, y ambos coinciden perfectamente (figura 2).

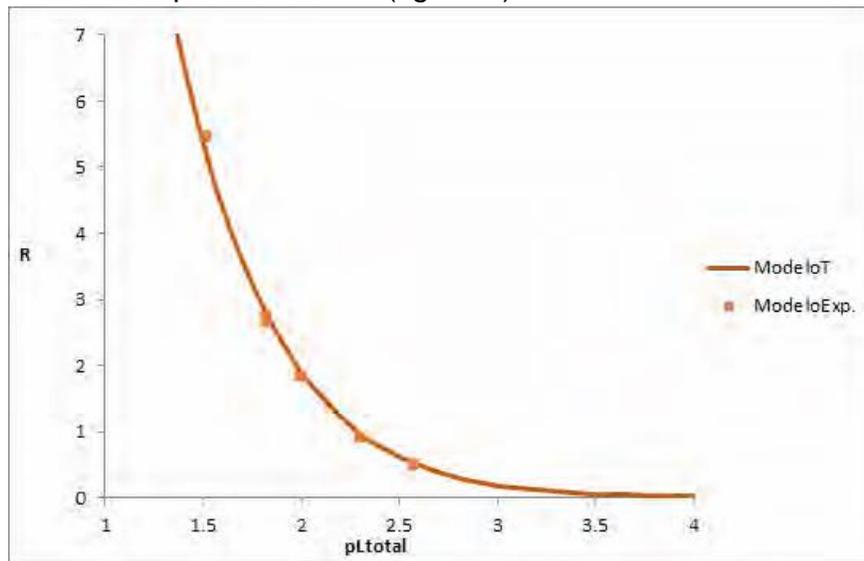


Figura 2. Comparación teórica y experimental de la gráfica de $\alpha=f(pCD_{total})$ del sistema de complejos $IsxCD$ y $(Isx)_2CD$, aplicando el modelo de cálculo robusto, con $[Isx]=1 \times 10^{-2}$ mol/L, $\log\beta_{11}=2.3$, $\log\beta_{21}=4.1$, $k_{CD}=133^{\circ}Lmol^{-1}$, $k_{Isx}=0$, $k_{IsxCD}=300^{\circ}Lmol^{-1}$ y $k_{(Isx)_2CD}=100^{\circ}Lmol^{-1}$.

También se realizó el diagrama de distribución, considerando únicamente los datos teóricos ya que se tiene muy pocos puntos experimentales, obteniéndose la figura 3, en la cual se observa la formación del complejo $IsxCD$ y $(Isx)_2CD$, estando este último en menor proporción, pero presente.

CONCLUSIONES

La variación en la rotación molar en los sistemas pone en evidencia la formación de complejos de inclusión Isoxicam-2-Hidroxiopropil- β -ciclodextrina; al utilizar el modelo de cálculo robusto se confirma la formación de complejos de inclusión con estequiometría 1:2, la cual no ha sido reportada.

El estudio de complejos de inclusión mediante polarimetría muestra resultados contundentes acerca de la relación estequiométrica de estos compuestos; cabe mencionar que de estos complejos no se ha reportado su estudio mediante esta técnica analítica.

Por otro lado, existe una importante variación de la rotación molar los primeros cinco días, después de esta medición la registrada en el día 60 permaneció relativamente igual.

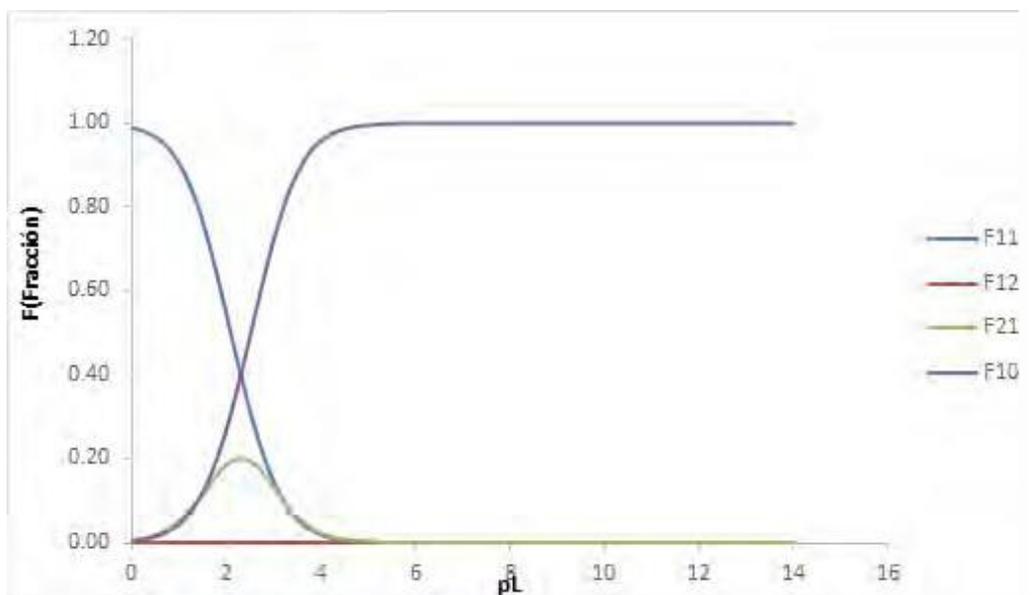


Figura 3. Diagrama de distribución de las especies de isoxicam con $[Isx]_{total}=0.01$ mol/L, $\log\beta_{11}=2.3$, $\log\beta_{21}=4.1$.

AGRADECIMIENTOS

Al PRODEP por el apoyo financiero parcial de este trabajo, a través de la Red Nacional de Investigación en Química Analítica y Electroquímica (RedNIQAE).

Al CONACyT por el financiamiento parcial a través de los proyectos 237327 y 237997, así como por el otorgamiento de la beca de doctorado 570599 a FYRO.

REFERENCIAS

- [1]H. Sun, Y. Hu, Y. Chen, L. Zhao, inventors;H. Sun, assigne. Compositions comprising meloxicam-cyclodextrin inclusión complexes and methods of treating acute pain. EE. UU. Patent. U.S.S.N.62/057,032. (2017)
- [2]G. Dipasquale, C. Rassaert, R. Richer, P. Welaj, R. Gingold, R. Singer, The anti- infamatory properties of isoxicam (4-hidroxy-2-methyl-N-[5-Methyl-3-isoxoly-2H-1,2- benzothiazine-3.carboxamide 1,1 dioxide]).Inflam. Res. **5** [1] 256-263 (1975).
- [3]S-S. Awasthi, T-G. Kumar, P. Manisha, Y. Preeti, S-S Kumar. Development of meloxicam

- formulations utilizing ternary complexation for solubility enhancement. *Pak. Pharm. J.* **24** [4] 533-538 (2011).
- [4]N. Erden, C. Nevin. A study of the inclusion complex of naproxen with β -cyclodextrin. *Int. Pharm. J.* **48** [3] 83-89 (1988).
- [5]T. Loftson, A. Magnúsdóttir, M. Masson, J. F. Sigurjonsdóttir. Self-association and cyclodextrin solubilization of drugs. *J. Pharm. Sci.* **91** [1] 2307-2316 (2002).
- [6]S. Goswami, A. Majumdar, M. Sarkar. Painkiller Isoxicam and Its Copper Complex Can Form Inclusion Complexes with Different Cyclodextrins: A Fluorescence, Fourier Transform Infrared Spectroscopy, and Nuclear Magnetic Resonance Study. *J. Phys. Chem. B.* **121** [1] 8454–8466 (2017).
- [7]F-Y. Rodríguez Orduño. Determinación de las constantes de equilibrio de inclusión de los complejos de isoxicam con 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina. [tesis maestría]. [Ciudad de México]: Universidad Autónoma Metropolitana, (2017).
- [8]J.H. Yoe and A.L. Jones, *Indian Eng. Chem. Anal. Ed.*, **16**, 111 (1944).
- [9]R. Saltão, F. Veiga. Ciclodextrinas em novos sistemas terapêuticos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.* **37** [1] 1-17 (2001).
- [10]B. Pose Vilarnovo. Efecto de las ciclodextrinas sobre la cesión de fármacos en matrices de hidroxipropilmetilcelulosa [tesis doctoral]. Santiago de Compostela: Universidad de Santiago de Compostela. Facultad de Farmacia, (2005).
- [11]C. Filho, S. Barreto. Utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão de interesse farmacêutico. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.* **28** [1] 1-9 (2007). [12]R. Singh, N. Bharti, J. Madan, S. N. Hiremath. Characterization of Cyclodextrin Inclusion Complexes – A Review. *J. Pharm. Sci. Technol.* **2**[3] 171-183 (2010).

BIOSENSOR DE AGLUTININA DE *VICIA VILLOSA* PARA LA DETECCIÓN DEL ANTÍGENO T_n ASOCIADO A CARCINOMAS

María Guadalupe Hernández Rangel
María Luísa Soares da Silva^{1*}

INTRODUCCIÓN

El cáncer es una de las enfermedades con mayor tasa de mortalidad en el mundo, la cual está relacionada con la progresión del cáncer en el momento del diagnóstico. Por eso es conveniente su detección en etapas tempranas para asegurar un tratamiento oportuno y aumentar la probabilidad de cura [1].

Las células tumorales presentan alteraciones en la glicosilación de proteínas y la síntesis incompleta de glicanos es una de ellas [2,3]. Los antígenos ST_n (Neu5Ac- α 2,6GalNAc- α 1-O-Ser/Thr), T_n (GalNAc-O-Ser/Thr) y T (Gal- β 1-3GalNAc- α -O-Ser-Thr) forman parte de los O-glicanos más inmaduros y son conocidos como antígenos pan- carcinoma porque son expresados hasta en 90% de los carcinomas (canceres de células epiteliales [3,4]. Por lo tanto, estos glicanos resultan de interés como biomarcadores de cáncer, que se pueden cuantificar a través de métodos poco invasivos.

Los biosensores que proporcionan el análisis *point of care* en la clínica son destacables en comparación con los métodos tradicionales para el diagnóstico de cáncer. Lo anterior se debe a que facilitan la detección, el diagnóstico y el monitoreo de biomarcadores procedentes de muestras biológicas [5-7]. Por otro lado, la tecnología de *screenprinting* ha permitido el desarrollo de biosensores electroanalíticos portátiles, fiables y de manipulación sencilla [8,9].

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Centro de Investigaciones Químicas, Laboratorio de Química Analítica. Ciudad Universitaria, Carr. Pachuca-Tulancingo km. 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo. México C.P. 42074 Tel: +52 (771) 7172000 ext. 2217, Fax: +52(771) 717 2000 ext. 6502. e-mail: mguadalupehr87@gmail.com

Entre los diversos tipos de biosensores desarrollados para la detección de biomarcadores de cáncer, los biosensores electroquímicos basados en lectinas presentan elevada utilidad para la detección de glicanos aberrantes [4,10,11]. Las lectinas son proteínas de origen vegetal, animal o microbiológico que tienen sitios específicos de unión con carbohidratos, presentando la capacidad para interactuar con determinados glicoconjugados de forma reversible [12]. Un caso particular es la lectina de *Vicia villosa* (VVA) que tiene especificidad por el glicano Tn, por lo que es de interés en la detección de glicoproteínas que poseen este glicano [13,14].

En cuanto al método de transducción de los biosensores, el impedimétrico se destaca porque no requiere marcación de las moléculas (label free). La espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) es una técnica no destructiva adecuada para analizar las condiciones de la superficie de un biosensor y la formación de complejos entre lectina y glicano.

EXPERIMENTACIÓN

Construcción del biosensor

Se llevó a cabo a temperatura ambiente, como se indica a continuación [4]: 1) Formación de la capa autoensamblada, a partir de ácido mercaptohexadecanoico (16- MHDA). 2) Activación del grupo carboxilo con una mezcla de N-(3-dimetilaminopropil)- N'-etilcarbodiimida (EDC) y de N-hidroxisulfosuccinimida (NHS). 3) Inmovilización de lectina VVA. 4) Bloqueo de la superficie del biosensor, que consiste en sumergir los biosensores en una solución de etanolamina (ETA) y posteriormente en una solución de etilenglicol (EG).

Medición impedimétrica

En un sistema electroquímico Autolab (Eco Chemiemodel PGSTAT 30) con módulo FRA se llevan a cabo las mediciones, en presencia de una solución del par redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ 5 mM en solución tampón de PBS, a una amplitud de 5 mV, en un intervalo de frecuencia de 1-100 000 Hz y a un potencial inicial de 250 mV.

El procedimiento para realizar las determinaciones de impedancia es el siguiente: 1) Una vez construido el biosensor, se mide la impedancia en presencia del par redox. 2) Se incubó en la superficie del biosensor un volumen de solución de la glicoproteína que contiene al glicano Tn, durante un determinado tiempo. 3) Se lava la superficie del sensor con una solución de dodecilsulfato sódico (SDS). Nuevamente se mide la impedancia en presencia del par redox.

A partir del gráfico de Nyquist se determina la variación de la resistencia a la transferencia de carga (ΔR_{CT}). Para comparar las variaciones entre los diferentes electrodos se calcula el porcentaje de variación, ($\% \Delta R_{CT}$), ecuación 1:

$$\% \Delta R_{CT} = \frac{R_{CT \text{ final}} - R_{CT \text{ inicial}}}{R_{CT \text{ inicial}}} \times 100 \quad (1)$$

Donde la $R_{CT \text{ inicial}}$ y la $R_{CT \text{ final}}$ son los valores de resistencia a la transferencia de carga antes y después de la incubación con la glicoproteína/muestra. El $\% \Delta R_{CT}$ constituye la señal analítica que se relaciona con la concentración del glicano aberrante en la muestra. Los experimentos se realizaron por duplicado.

Recolección de las muestras sanguíneas

En la recolección de las muestras se consideraron los siguientes criterios: mayores de edad, de ambos géneros y exentos de enfermedades crónicas. Un total de 25 muestras para cada grupo (control y casos) fueron recolectadas para la evaluación del biosensor. El suero se separa y se extrae para hacer *pools* (muestras generales) de cada grupo.

Pretratamiento de las muestras de suero

La técnica de *combinatorial peptide ligand library* (CPLL) [15] se aplicó para reducir la cantidad de proteínas más abundantes del suero, facilitando la detección de las glicoproteínas aberrantes menos abundantes. Por otro lado, mediante el ensayo de ácido bicinconínico (BCA) se determinó la concentración de las muestras con el fin de aplicar la misma cantidad de proteínas en cada biosensor.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Optimización

El valor óptimo para cada etapa de construcción fue seleccionado como el valor con mayor $\% \Delta R_{CT}$ y mayor reproducibilidad, después de incubar la asialofetúina (aFet) que presenta el glicano Tn. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

El tiempo de incubación de la glicoproteína control se optimizó con el fin de reducir los tiempos de ensayo sin afectar la formación del complejo lectina-glicano y el valor óptimo fue 10 min.

Tabla 1. Valores óptimos en la construcción del biosensor.

Condición	Valor
Concentración de PBS	0.5x
pH del sistema	pH = 7
Tipo de SAM	16-MHDA
Concentración de 16-MHDA	25 mM
Concentración de ECD-NHS	20-5 mM
Concentración de VVA	75 µg
Concentración de ETA	20 mM
Concentración de EG	10%
Concentración de SDS	2%

Selectividad e interferencias

El biosensor de VVA fue incubado con fetuina, transferrina, mucina submaxilar bovina (BSM) y albumina de suero bovino (BSA), que se emplearon como controles negativos, ya que no contienen el glicano Tn en su estructura (Figura 1). Los resultados para los controles negativos indican que las glicoproteínas que presentan otras estructuras de glicanos pueden interferir en la respuesta del biosensor, lo cual se debe a que la unión de la lectina a los glicanos no es tan específica como lo es la unión antígeno- anticuerpo. La interferencia de la BSA fue útil para evaluar la dilución requerida en las muestras reales, ya que simuló el efecto de la albumina humana (la proteína más abundante en el suero sanguíneo). Para evitar la interferencia causada por la albumina se estableció una dilución de los eluidos CPLL en un factor de 1:20.

Los controles positivos fueron la asialotransferrina, asialofetuina y asialoBSM (Figura 1). Los resultados obtenidos para estos controles varían, debido a las diferentes estructuras moleculares de las glicoproteínas, al número de glicanos Tn que contiene cada uno y a la interacción establecida con la lectina inmovilizada.

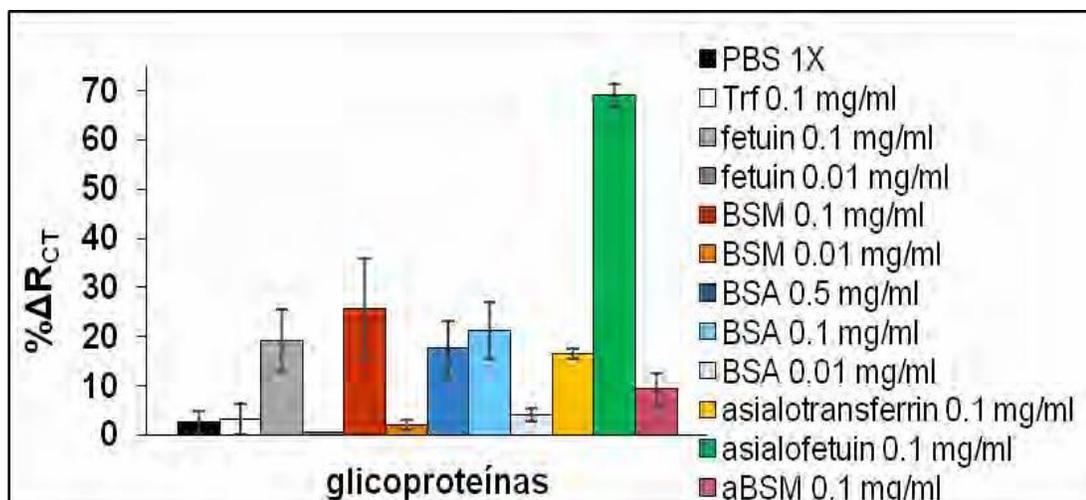


Figura 1. Respuestas del biosensor de VVA para las diferentes soluciones de glicoproteínas. Las barras de error indican la desviación estándar

Parámetros analíticos

Una curva de calibración fue realizada con el fin de evaluar la respuesta del biosensor de VVA frente a cantidades bajas de glicoproteína que contiene el antígeno Tn. El intervalo lineal fue de 0.25 a 5.0 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de solución de aFet. La ecuación de regresión fue $y=13.416x+2.831$ y $r=0.9964$ ($n=2$ para cada concentración y 7 puntos de concentración). El límite de detección fue de 0.68 $\mu\text{g ml}^{-1}$ y el de cuantificación de 2.25 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de aFet.

La reproducibilidad de las respuestas obtenidas en el análisis de una solución de aFet utilizando 4 diferentes biosensores de VVA fue evaluada a través de la desviación estándar relativa (DER), la cual fue de 4.2%. La estabilidad de los biosensores de VVA durante el almacenamiento en PBS a 4°C se mantuvo durante 3 días después de su construcción, periodo durante el cual la señal analítica se mantuvo constante.

Validación de los biosensores

Los biosensores de VVA construidos se validaron a través de un análisis comparativo entre muestras de suero de pacientes con diversos tipos de carcinomas (grupo de casos) y muestras de suero de individuos sin cáncer (grupo control).

Se realizó el análisis mediante muestras ciegas, que implica la asignación de un código de forma aleatoria a cada muestra y posteriormente se analizan sin tener conocimiento del tipo de muestra. Las muestras analizadas fueron 4 casos, 4 controles, un *pool* de 25 muestras de casos y

un *pool* de 25 muestras de controles. La ventaja de preparar *pools* de muestras es reducir las diferencias individuales e intensificar las características comunes entre todas ellas, en este caso los antígenos secretados por las células tumorales (antígeno Tn) [16,17].

Del análisis de muestras ciegas se obtuvo información de tipo cualitativo, la cual se confirma a través de la capacidad para discriminar entre muestras de pacientes con carcinomas y muestras de individuos sin cáncer. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Resultados del análisis de muestras.

Clave de la Muestra	Tipo de muestra	% ΔR_{CT}
1	Caso	48.19
2	Caso	57.45
3	Caso	36.44
4	Caso	56.03
5	<i>Pool</i> de casos	27.36
6	Control	9.54
7	Control	19.81
8	Control	13.85
9	Control	19.73
10	<i>Pool</i> de controles	-9.96

El tratamiento de datos se realizó mediante 2 pruebas estadísticas no paramétricas:

En la prueba *t* para la comparación de medias muestrales, el valor de la *t* experimental fue de 4.32 y el valor de la *t* crítica fue de 2.31 (contraste de dos colas, a un nivel de confianza de 95%, $n=5$), por lo tanto, la hipótesis nula se rechazó y se aceptó la hipótesis alternativa que establece lo siguiente: existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias obtenidas en el grupo de casos y en el grupo control.

En la prueba *U* de Mann-Whitney para comparación de grupos de muestras, el estadístico de contraste es 0 y el valor crítico es de 4 (contraste de una cola al nivel $P=0.05$, $n=5$), por lo que el valor estadístico fue menor que el valor crítico, entonces se aceptó la hipótesis alternativa que establece lo siguiente: existe diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos de muestras (controles y casos). En la Figura 2 se representa la clasificación de las muestras, donde se observa que los valores de % ΔR_{CT} son mayores para el grupo de casos.

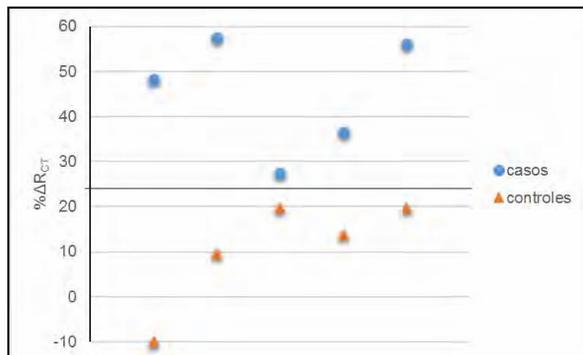


Fig. 2. Resultados obtenidos la Prueba U de Mann-Whitney para comparación de grupos de muestras.

CONCLUSIONES

El biosensor de VVA fue selectivo hacia glicoproteínas portadoras del antígeno Tn, aunque también se observó una respuesta inespecífica para BSM y BSA, lo cual se atribuye al perfil de selectividad de las lectinas en general. El aumento de la impedancia se relacionó con la concentración de asialofetulina, que se pudo detectar hasta una concentración de $0.60 \mu\text{g ml}^{-1}$. Los datos obtenidos en el análisis de las muestras de suero de controles y pacientes con diversos tipos de carcinomas permitieron clasificar las muestras de manera correcta.

El análisis de un mayor número de muestras es necesario para permitir conclusiones más consistentes y establecer correlaciones entre la respuesta del biosensor y el nivel de expresión del antígeno Tn en las glicoproteínas séricas para diferentes etapas de la enfermedad, incluido el diagnóstico precoz y la monitorización de la terapia. Sin embargo, el biosensor de VVA demostró ser sensible a las diferencias en la expresión de Tn del glicoproteoma sérico y constituye una herramienta potencialmente útil para la detección y el control clínico de cáncer.

AGRADECIMIENTOS

Al Centro Hospitalario São João (CHSJ) de la Facultad de Medicina de Porto (Porto, Portugal) y Hospital General de Pachuca (México), por proporcionar las muestras sanguíneas empleadas en el análisis.

REFERENCIAS

- [1] L. A. Torre, F. Bray, R. L. Siegel, J. Ferlay, J. Lortet-Tieulent, A. Jemal, Global Cancer Statistics 2012. CA: A Cancer Journal for Clinicians **65**, 87-108 (2015).
- [2] B. Adamczyk, T. Tharmalingam, P.M. Rudd, Glycans as cancer biomarkers. Biochimica et Biophysica Acta **1820**, 1347-1353 (2012).
- [3] S.A. Brooks, T.M. Carter, L. Royle, D.J. Harvey, S.A. Fry, C. Kinch, R.A. Dwek, P.M. Rudd, Altered Glycosylation of Proteins in Cancer: What Is the Potential for New Anti- Tumour Strategies. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry **8**, 2-21 (2008).
- [4] M.L.S. Silva, E. Gutiérrez, J.A. Rodríguez, C. Gomes, L. David, Construction and validation of a Sambucus nigra biosensor for cancer-associated STn antigen. Biosensors and Bioelectronics **57**, 254-261 (2014).
- [5] A. Rasooly, J. Jacobson, Development of biosensors for cancer clinical testing. Biosensors and Bioelectronics **21**, 1851-1858 (2006).
- [6] Z. Altintas, I. Tothill, Biomarkers and biosensors for the early diagnosis of lung cancer. Sensors and Actuators B **188**, 988-998 (2013).
- [7] C.I.L. Justino, A.C. Duarte, T.A.P. Rocha-Santos, Critical overview on the application of sensors and biosensors for clinical analysis. Trends in Analytical Chemistry **85**, 36-60 (2016).
- [8] K.F. Chan, H.N. Lim, N. Shams, S. Jayabal, A. Pandikumar, N.M. Huang, Fabrication of graphene/gold-modified screen-printed electrode for detection of carcinoembryonic antigen. Materials Science and Engineering C **58**, 666-674 (2016).
- [9] O. Domínguez Renedo, M.A. Alonso-Lomillo, M.J. Arcos Martínez, Recent developments in the field of screen-printed electrodes and their related application. Talanta **73**, 202-219 (2007).
- [10] J.T. La Belle, J.Q. Gerlach, S. Svarovsky, L. Joshi, Label-Free impedimetric detection of glycan-lectin interactions. Analytical Chemistry **79**, 6959-6964 (2007).
- [11] D. Pihíková, P. Kasák, J. Tkac, Glycoprofiling of cancer biomarkers: Label-free electrochemical lectin-based biosensors. Open Chemistry **13**, 636-655 (2015).
- [12] J. Unitt, D. Hornigold, Plant lectins are novel Toll-like receptor agonists. Biochemical Pharmacology **81**, 1324-1328 (2011).
- [13] T. Iskratsch, A. Braun, K. Paschinger, I.B.H. Wilson, Specificity analysis of lectins and antibodies using remodeled glycoproteins. Analytical Biochemistry **386**, 133-146 (2009).
- [14] T. Kawaguchi, H. Takazawa, S. Imai, J. Morimoto, T. Watanabe, M. Kanno, S. Igarashi, Expression of *vicia villosa* agglutinin (VVA)-binding glycoprotein in primary breast cancer cells in relation to lymphatic metastasis: is a typical MUC1 bearing Tn antigen a receptor of VVA? Breast Cancer Research and Treatment **98**, 31-43 (2006).
- [15] V. Thulasiraman, S. Lin, L. Gheorghiu, J. Lathrop, L. Lomas, D. Hammond, E. Boschetti, Reduction of the concentration difference of proteins in biological liquids using a library of combinatorial ligands. Electrophoresis **26**, 3561-3571 (2005).
- [16] A.P. Diz, M. Truebano, D. O. F. Skibinski, The consequences of sample pooling in proteomics: an empirical study. Electrophoresis **30**, 2967-2975 (2009).
- [17] C. Kendzioriski, R. A. Irizarry, K. S. Chen, J. D. Haag, M. N. Gould, On the utility of pooling biological samples in microarray experiments. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **102**, 4252-4257 (2005).

CARACTERIZACIÓN Y CUANTIFICACIÓN ELECTROQUÍMICA DE CEFTIOFUR EN ELECTRODOS DE PASTA DE CARBONO MODIFICADOS CON β -CICLODEXTRINA

Giovanni Manuel Ramos Reyes¹
Silvia Corona Avendaño^{1*}
Dafne Sarahia Guzmán Hernández²
María Teresa Ramírez Silva³
Manuel Eduardo Palomar Pardavé¹

INTRODUCCIÓN

El ceftiofur, CF (Figura 1), es un fármaco utilizado para el tratamiento de diversas enfermedades infecciosas en animales (debido a su actividad bactericida de amplio espectro). En la industria ganadera, su dosificación sin regulación ha ocasionado que se utilice de manera irresponsable, permitiendo que trazas de éste permanezcan en los alimentos que se producen en ésta y provocando con ello la aparición problemas como alergias y multirresistencia bacteriana [1].

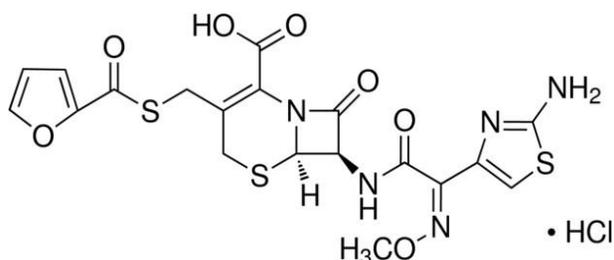


Figura 1. Estructura química del clorhidrato de ceftiofur [2].

Actualmente, existen sólo tres métodos electroquímicos reportados para la cuantificación

¹ Universidad Autónoma Metropolitana–Azcapotzalco, Departamento de Materiales, Área de Ingeniería Materiales. C.P. 02200, Ciudad de México, México. Tel.: 53 18 9000 ext. 9774. *e-mail: sylvia_cav@yahoo.com.mx

² CONACYT-Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Departamento de Química, Av. San Rafael Atlixco #186, Col. Vicentina, Ciudad de México, México, C.P. 09340., Tel.: 58 04 4600 ext. 9377. e-mail: sarahiaguz@gmail.com

³ Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Departamento de Química, Av. San Rafael Atlixco #186, Col. Vicentina, Ciudad de México, México, C.P. 09340. Tel.: 58 04 4600 ext. 9377. e-mail: mtrs218@xanum.uam.mx

de CF, no obstante, éstos carecen de fundamentos que permitan explicar de manera robusta los fenómenos reportados, y adicionalmente emplean electrodos de gota de mercurio. Tomando en consideración esta problemática, el grupo de trabajo ha comenzado a estudiar el comportamiento y propiedades de CF con más detalle, de manera fundamental [3], e inclusive desarrollando métodos para llevar a cabo su cuantificación sobre electrodos de pasta de carbono, EPC, más inocuos y menos costosos que los previamente mencionados [3,4].

La β -ciclodextrina, β -CD (Figura 2), es una molécula con forma de “cono trunco” constituida por siete unidades de *D*-glucopiranosas, cuyo arreglo atómico permite incluir en su interior (debido a su hidrofobicidad) moléculas no polares. Esta característica, permite otorgar “protección” a las moléculas incluidas, mejorando la solubilidad, e inclusive la estabilidad química de las mismas. El grupo de trabajo ha estudiado (entre otros temas) la modificación de EPC con β -CD mediante su electropolimerización (poli- β -CD), EPC $_{\beta$ -CD, logrando con ello obtener respuestas electroquímicas de los analitos más intensas y selectivas [5]. En este sentido, en este trabajo se presenta el estudio del comportamiento de CF sobre EPC $_{\beta$ -CD, así como su cuantificación, por medio de voltamperometría cíclica, VC, y diferencial de pulsos, VDP.

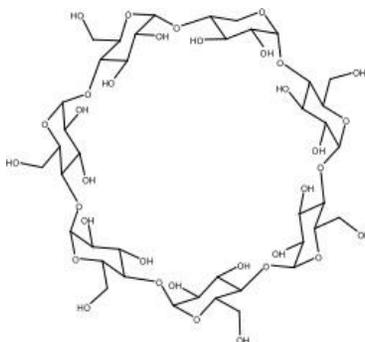


Figura 2. Estructura química de la β -ciclodextrina [6]

EXPERIMENTACIÓN

La experimentación se llevó a cabo utilizando un potenciostato galvanostato Autolab, modelo PGSTAT 100, además, se utilizó a celda electroquímica típica de tres electrodos: como electrodo de trabajo un EPC construido por la metodología propuesta por Martínez y col. [7], como electrodo de referencia Ag/AgCl_{sat} y como contraelectrodo un alambre de Pt. Para la modificación de los EPC con poli- β -CD, se empleó β -ciclodextrina (Sigma-Aldrich, $\geq 97\%$) y ácido perclórico (Sigma-Aldrich, $\geq 98\%$). Finalmente, para la preparación de las soluciones de trabajo se utilizaron los siguientes reactivos: metanol (Sigma-Aldrich), clorhidrato de ceftiofur (Vetranal®, Sigma-Aldrich, $\geq 97.3\%$),

ácido clorhídrico (Sigma-Aldrich, $\geq 37\%$). Todas las soluciones fueron preparadas con agua desionizada Tipo 1 Milli-Q ($18.2\ \Omega\cdot\text{cm}^2$), y burbujeadas con gas N_2 .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Crecimiento de la poli- β -CD sobre EPC

La modificación superficial de los EPC se llevó a cabo en una solución 7 mM de β -CD y 1 M de HClO_4 . Para ello, empleando la voltamperometría cíclica, VC, se llevaron a cabo 10 ciclos consecutivos en una ventana de potencial de -500 a 1500 mV y $100\ \text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$. La familia de VC obtenidos se presenta en la Figura 3a, en donde puede observarse claramente la señal típica del crecimiento de la β -CD. Además, en la Figura 3b se observa la tendencia lineal obtenida al graficar la carga generada en función del número de ciclos aplicados, esperada en la formación de polímeros conductores.

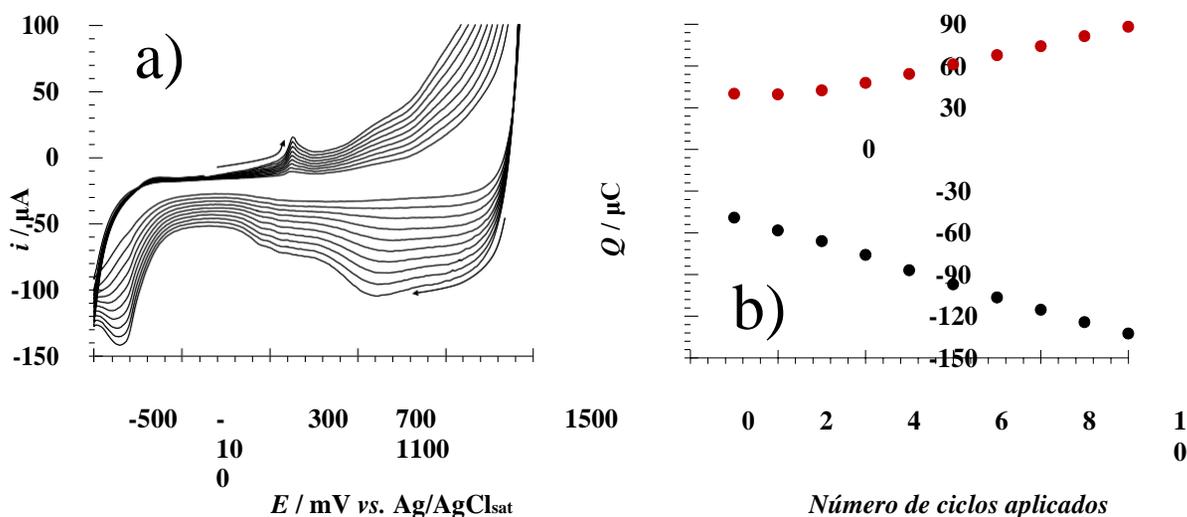


Figura 3. a) VC (10 ciclos) efectuados en el sistema $\text{EPC}_{\beta\text{-CD}}/7\ \text{mM}\ \beta\text{-CD}$, 1 M HClO_4 ($\text{pH}=0$). b) Carga acumulada durante cada ciclo en la rama anódica (●) y catódica (●).
Transferencia de masa de ceftiofur en $\text{EPC}_{\beta\text{-CD}}$

Para conocer la naturaleza del transporte másico que controla la reacción de transferencia de carga en el $\text{EPC}_{\beta\text{-CD}}$, se llevó a cabo un estudio de variación de velocidad de barrido de potencial, \mathbf{v} , en el sistema $\text{EPC}_{\beta\text{-CD}}/3.51\ \mu\text{M}\ \text{CF}$, 0.2 M HCl ($\text{pH}=0.8$), en una ventana de potencial de 500 a 1100 mV. La familia de VC obtenidos del estudio es presentada en la Figura 4, en donde

es posible observar que, a medida que v se incrementa también lo hace el potencial y la corriente de pico anódico, E_{pa} e i_{pa} , respectivamente. Al efectuar el ajuste de las i_{pa} por medio de los modelos de Randles-Sevcik (sistemas difusivos, $i_{pa}=f(v^{1/2})$) y Laviron (sistemas adsorptivos, $i_{pa}=f(v)$), se obtiene una tendencia lineal descrita por la ecuación $i_{pa} (\mu A) = 0.076v (\mu A) + 2.075 (\mu A)$ (inserto de la figura 4b) que permite diagnosticar al sistema como predominantemente adsorptivo, en contraste con el complejo control mixto obtenido en EPC [4].

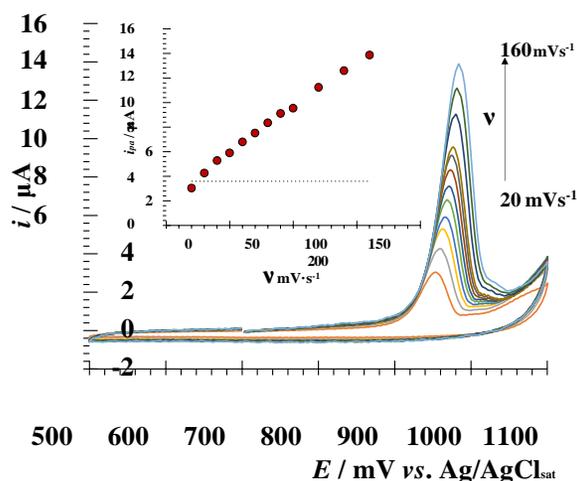


Figura 4. Familia de VC obtenidos del estudio de variación de velocidad de barrido.

Determinación de ceftiofur en EPC $_{\beta}$ -CD por VDP

Dado que la VDP es una técnica empleada por excelencia para cuantificación (debido a la minimización de la corriente capacitiva generada), ésta es empleada para llevar a cabo la determinación y cuantificación de CF en EPC $_{\beta}$ -CD. En la Figura 5a se presenta la comparación de los perfiles voltamperométricos diferenciales de pulso obtenidos en los sistemas EPC y EPC $_{\beta}$ -CD/ 2.18 μ M CF, 0.2 M HCl (pH=0.8) (línea discontinua y continua, respectivamente), a una amplitud de pulso, ΔE , de 25 mV. De los resultados obtenidos es posible observar que, en el segundo sistema la oxidación de CF se encuentra favorecida, ya que existe un desplazamiento del E_{pa} 35 unidades hacia potenciales menos positivos, y adicionalmente, se observa claramente un incremento en la intensidad de la señal obtenida, 3 veces superior con respecto al EPC.

La determinación de CF en EPC $_{\beta}$ -CD fue efectuada a través de un estudio de variación de concentración en el sistema EPC $_{\beta}$ -CD/ $x \mu$ M CF, 0.2 M HCl (pH=0.8), donde $\{x \in \mathbf{R} \mid$

$0.35 \mu\text{M} \leq x \leq 29.28 < \mu\text{M}$ }, en una ventana de potencial de 700 a 1000 mV y una ΔE de 25 mV. La familia de VDP obtenidos se presenta en la Figura 5b, en donde es posible apreciar que a medida que la concentración de CF aumenta en el sistema, también lo hace de manera consistentemente la i_{pa} ubicada en un E_{pa} de 946 mV. La curva de calibrado construida al graficar la i_{pa} en función de la concentración de CF se presenta en inserto de la misma figura, descrita por la ecuación $i_{pa} (\mu\text{A}) = (0.0950 \pm 0.0013)[\text{CF}] (\mu\text{A}) + (0.590 \pm 0.010) (\mu\text{A})$. Finalmente, los parámetros electroanalíticos obtenidos a partir de la regresión lineal de los datos, se encuentra en la Tabla 1, comparados con los obtenidos por medio de EPC [4].

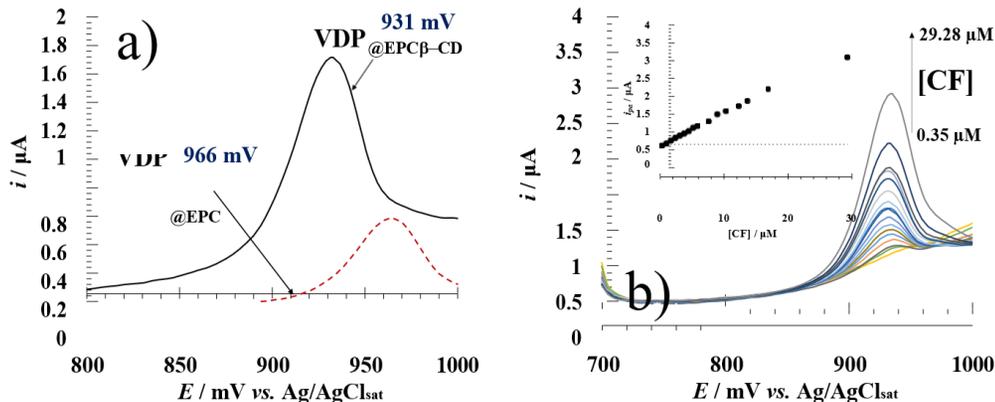


Figura 5. a) Perfiles voltamperométricos de CF (VDP) obtenidos en EPC y EPC β -CD. b) Familia de VDP obtenidos del estudio de variación de concentración. El inserto presentado muestra la curva $i_{pa}=f([\text{CF}])$ obtenida.

Cuantificación de ceftiofur en EPC β -CD

Dado que el sistema con EPC β -CD cuenta con los mejores parámetros electroanalíticos, la cuantificación de CF es llevada a cabo para evaluar el porcentaje de recobro de CF a distintas concentraciones. La cuantificación de CF fue conducida en el sistema EPC β -CD/ $x \mu\text{M}$ CF, 0.2 M HCl (pH 0.8), donde x es uno de dos niveles de fortificación: 16.89 y 26.27 μM . Para llevar a cabo esta cuantificación, seis soluciones frescas se prepararon por nivel de fortificación, efectuando en cada una de ellas una VDP. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 2, en donde es posible apreciar que el CF puede ser determinado de manera aceptable en

soluciones sintéticas.

Tabla 1. Parámetros electroanalíticos obtenidos en la determinación de ceftiofur.

Electrodo	Técnica	Sensibilidad ($\mu\text{A}/\mu\text{M}$)	LOD* (μM)	LOQ** (μM)	Intervalo de linealidad (μM)
EPC [4]	VDP	0.0483 ± 0.00010	1.2269 ± 0.0023	3.6993 ± 0.0064	$3.69 \pm 0.11 - 31$
EPC _{mod}		0.09320 ± 0.00087	0.880 ± 0.021	2.69 ± 0.13	$2.69 \pm 0.13 - 29.28 \pm 0.86$

*Límite de detección (LOD)= $3\sigma/m+b$ y **límite de cuantificación (LOQ)= $10\sigma/m+b$

Tabla 2. Resultados del recobro de CF en soluciones sintéticas por VDP.

Muestra	Técnica	Concentración adicionada (μM)	Concentración de recobro ^a (μM)	Recobro (%)	RSD (% , n=5)
HCl	VDP	16.89	15.65	92.67	12.71
		26.27	25.98	98.90	12.62

^a Promedio de seis determinaciones; RSD: desviación estándar relativa.

CONCLUSIONES

La modificación superficial efectuada en los EPC es un elemento de importancia en el estudio del comportamiento y la cuantificación de CF, ya que se demostró que la transferencia másica de CF es capaz de ser simplificada con respecto al complejo mecanismo de naturaleza mixta presente en EPC sin modificación [4]. La metodología desarrollada a través de la VDP permitió llevar a cabo de manera adecuada la confirmación de identidad de la señal electroquímica de CF, con parámetros electroanalíticos de mayor competitividad que los obtenidos a través de EPC sin modificación, y posibilitando la cuantificación del analito en muestras farmacológicas con un rendimiento aceptable, visto a través de los porcentajes de recobro obtenidos.

AGRADECIMIENTOS

GMRR (693797) agradece a CONACyT el apoyo financiero para la realización sus estudios de

maestría. MTRS, SCA, MRR, y MEPP agradecen a la SEP PRODEP por la RED —RedNIQAE. MTRS agradece a CONACyT por el apoyo del proyecto 237327. DSGH y MTRS agradecen al apoyo de la cátedra CONACyT 2159.

REFERENCIAS

- [1] M. Barbosa Jaques, A. Alfonso de Araujo, A.M. Aparecido Trinidad, and V. Souza Ferreira, *Microchem. J.*, **98**, 297–302 (2011).
- [2] Sigma-Aldrich Química S. de R. L. de C. V., Toluca, Estado de México, México, (2018).
- [3] Asociación Mexicana de Química Analítica A.C., Memorias del XXX Congreso Nacional de Química Analítica, León, Guanajuato, 589-593 (2017).
- [4] Sociedad Mexicana de Electroquímica A. C, Guanajuato, Guanajuato, México, (2017).
- [5] M. Palomar-pardavé, S. Corona-avendaño, M. Romero-romo, G. Alarcón-angeles, and A. Merkoçi, *J. Electroanal. Chem.*, **718**, 103–109 (2014).
- [6] D. S. Guzmán Hernández, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, (2014).
- [7] R. Martínez, M. T. Ramírez, and I. González, *Electroanalysis*, **10**, 336–342 (1998).

ESTUDIO ELECTROQUÍMICO 3, 3', 4', 5, 7-PENTAHIDROXIFLAVONA, FLAVONOIDE CON PROPIEDADES ANTIOXIDANTES

Teresa Jaens Contreras¹
Juan Ramírez Balderas²
Eugenio Octavio Reyes Salas³

INTRODUCCIÓN

Los flavonoides son un tipo importante de compuestos de origen vegetal, polifenólicos formados por dos anillos bencénicos unidos a través de un anillo heterocíclico de pirona, se caracterizan por poseer una alta capacidad antioxidante. Entre los flavonoides más destacados por sus propiedades farmacológicas se encuentran: la quercetina, las antocianinas, el kaemferol, rutina, crisina y flavona, entre otros.

La 2-(3,4-dihidroxifenil)-3,5,7-trihidroxi-4*H*-1-benzopiran-4-ona, ó 3,3',4',5,7-pentahidroxi flavona es también conocida como quercetina.

Los flavonoides se pueden obtener mediante la ingesta de productos de origen vegetal, la quercetina, por ejemplo, se encuentra en manzanas, cebolla, té verde, té negro, brócoli, etc [1]. Los antioxidantes naturales junto con algunos otros productos también de origen natural crean un efecto sinérgico beneficioso para la salud. La importancia farmacéutica de los flavonoides ha sido ampliamente investigada por sus propiedades antiinflamatorias, antibacteriales, antivirales, antialérgica, anticancerígenas, antioxidantes [2], así mismo la aplicación de quercetina presenta

¹ Instituto Politécnico Nacional. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. Departamento de Ciencias Básicas. Av. Acueducto s/n, Col. Barrio Laguna Ticomán, C.P. 07340 Gustavo A. Madero. México D.F. Tel 57 29 60 00 ext. 56444 terejaens@hotmail.com.

² Instituto Politécnico Nacional. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. Departamento de Ciencias Básicas. Av. Acueducto s/n, Col. Barrio Laguna Ticomán, C.P. 07340 Gustavo A. Madero. México D.F. Tel 57 29 60 00 ext. 56442. e-mail jramirez@ipn.mx

³ Universidad Nacional Autónoma de México. Posgrado de la Facultad de Química. Laboratorio de Química Analítica. Ciudad Universitaria, México D.F. Tel: 56 22 37 87, e-mail: oresal@servidor.unam.mx

muy buenos resultados contra artritis reumatoide [3]. El conocimiento del comportamiento electroquímico de los flavonoides permite comprender la forma de acción de los mismos como poderosos antioxidantes. Los antioxidantes son compuestos que retardan o inhiben la degradación oxidativa de las moléculas; ya que la mayoría de los antioxidantes son sintéticos pueden generar efectos tóxicos por su inestabilidad, de ahí que los antioxidantes naturales como los flavonoides sean de gran importancia y el comportamiento electroquímico de los mismos también.

EXPERIMENTACIÓN

Polarografía clásica (PC)

Se utiliza quercetina de concentración 0.0094 mol/L disuelta en 80% etanol y 20% H₂O v/v, y como electrolito soporte acetato de amonio 0.1 mol/L en la misma mezcla de disolventes. Se emplea un electrodo de gota de mercurio (EGM) como electrodo de trabajo, Pt como electrodo auxiliar y Ag/AgCl/KCl 3 mol/L como electrodo de referencia. Se utiliza el equipo Metrohm 797 Computrace.

Se traza inicialmente la curva *I-E* del electrolito soporte con un burbujeo previo de N₂ de cinco minutos para quitar las interferencias de oxígeno disuelto, a esta curva también se le llama curva de intensidad de corriente residual; esto se hace para determinar el dominio de electroactividad. Posteriormente, se adicionan alícuotas sucesivas de quercetina y se trazan las curvas *I-E* con un barrido lineal de potencial. El potencial de inicio es de 0.3 V, potencial final de -1.9 V, paso de voltaje de 50 mV, velocidad de barrido 50 mV/s, tiempo de vida de la gota 4 s. Se registra cada polarograma de barrido lineal.

Polarografía Diferencial de impulsos (PDI). Las condiciones de trabajo son: Potencial de inicio 0.3 V, potencial final -1.9 V, amplitud del pulso 50 mV, tiempo del pulso 40 s, paso de voltaje 5 mV, velocidad de barrido 5 mV/s.

Se traza inicialmente la curva *I-E* del electrolito soporte con un burbujeo previo de N₂ de cinco minutos para quitar las interferencias de oxígeno disuelto, posteriormente se adicionan alícuotas sucesivas del flavonoide, a saber, quercetina y se trazan las curvas *I* vs *E* por PDI.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Polarografía clásica de quercetina

El estudio por polarografía clásica utilizando acetato de amonio 0.1 mol/L en etanol-agua 80:20 v/v, como electrolito soporte permite obtener un dominio de electroactividad de 1.8 V hasta 0.2 V. Se observan tres señales de reducción y una de oxidación para la quercetina, trabajando bajo el sistema de disolventes mencionado, acetato de amonio 0.1 mol/L como electrolito soporte y con pH de 6.7. Estos resultados se pueden observar en la tabla 1.

Tabla 1. Señales observadas para la polarografía clásica de quercetina 0.0094 mol/L

Antioxidante	Señal 1 oxidación	Señal 1 de reducción	Señal 2 de reducción	Señal 3 de reducción
Quercetina	0.02 V	-0.6 V	-1.15 V	-1.6 V

En la figura 1 se puede observar el polarograma de barrido lineal de la quercetina y se pueden apreciar las señales de reducción y de oxidación.

Dado que la señal de -1.63 V crece proporcionalmente a la concentración de quercetina, se realiza un estudio logarítmico para obtener el $E_{1/2}$ y el número de electrones intercambiados. Esta señal de reducción de quercetina también posee la mayor intensidad de corriente en todo el intervalo de concentraciones trabajado.

Se obtiene un $E_{1/2} = 1.63$ V y el número de electrones intercambiados es mayor a 1. Para la segunda señal de reducción de quercetina, el $E_{1/2}$ onda probable es de -1.15 V. Esta señal presenta un comportamiento no lineal y el número de electrones intercambiados es menor a uno, obtenido mediante la pendiente del gráfico del estudio logarítmico, por lo que se cree se trata de una señal no nerstiana.

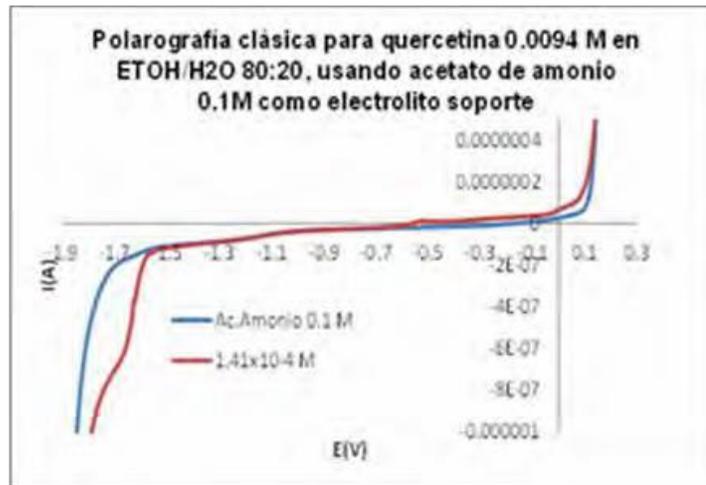


Figura 1. Polarografía clásica de quercetina 0.0094 mol/L.

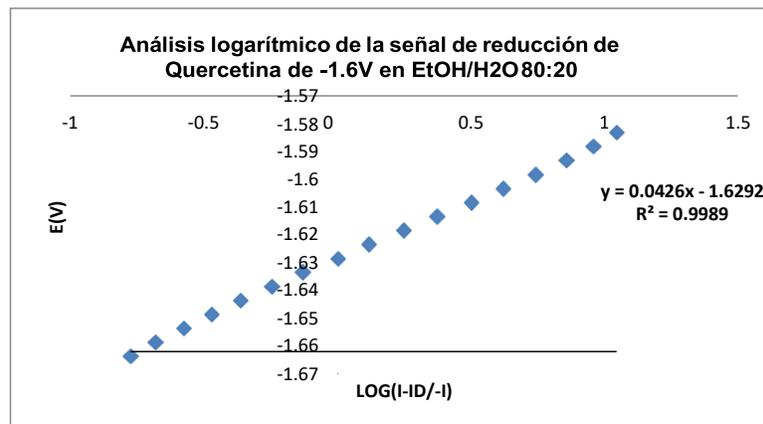


Figura 2. Estudio logarítmico para la señal de reducción de $E = -1.63$ V de quercetina $0.0094 \text{ mol L}^{-1}$.

La señal de reducción de -0.5 V y la señal de oxidación de 0.02 V no presentan comportamiento lineal con respecto a la concentración, al menos bajo estas condiciones de trabajo.

El límite de detección encontrado para la quercetina es de 4.035 mg/L o una concentración de quercetina de $1.19 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$.

De acuerdo con estos resultados, la señal de reducción de -1.63 V puede ser usada en la determinación cuantitativa de quercetina, en muestras comerciales de caléndula. El pH de trabajo de este sistema es de 6.7 , muy cercano al de las muestras comerciales, las cuales como tienen un fin farmacéutico presentan un pH neutro.

Polarografía Diferencial de Impulsos (PDI)

Se trazaron las curvas E vs I por polarografía diferencial de impulsos a diferentes concentraciones de quercetina en disolución, ésta es una técnica de mayor sensibilidad que la polarografía de barrido lineal. Se procedió a determinar la existencia de relación lineal para las diferentes señales de quercetina y reconocer así, los procesos gobernados por difusión, donde la Intensidad es directamente proporcional a la concentración.

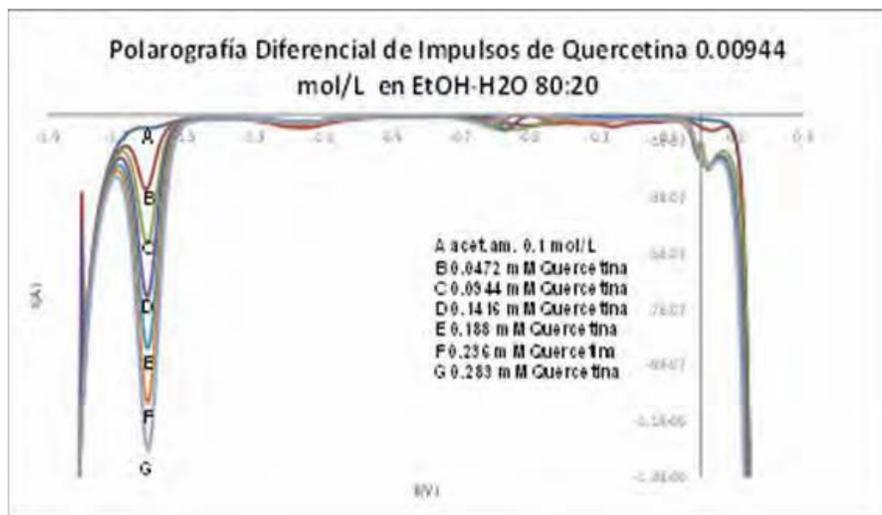


Figura 3. PDI de quercetina 0.0094 molL⁻¹ en un sistema de disolventes etanol-agua 80:20 v/v.

Para verificar la dependencia de la intensidad de corriente para cada señal respecto a la concentración de quercetina, se procedió a graficar los valores de la intensidad de corriente respecto a la concentración de quercetina, a partir de los cuales se realizó una regresión lineal por el método de mínimos cuadrados. Se encontró que, bajo estas condiciones, sólo la señal de -1.63 V es directamente proporcional a la concentración

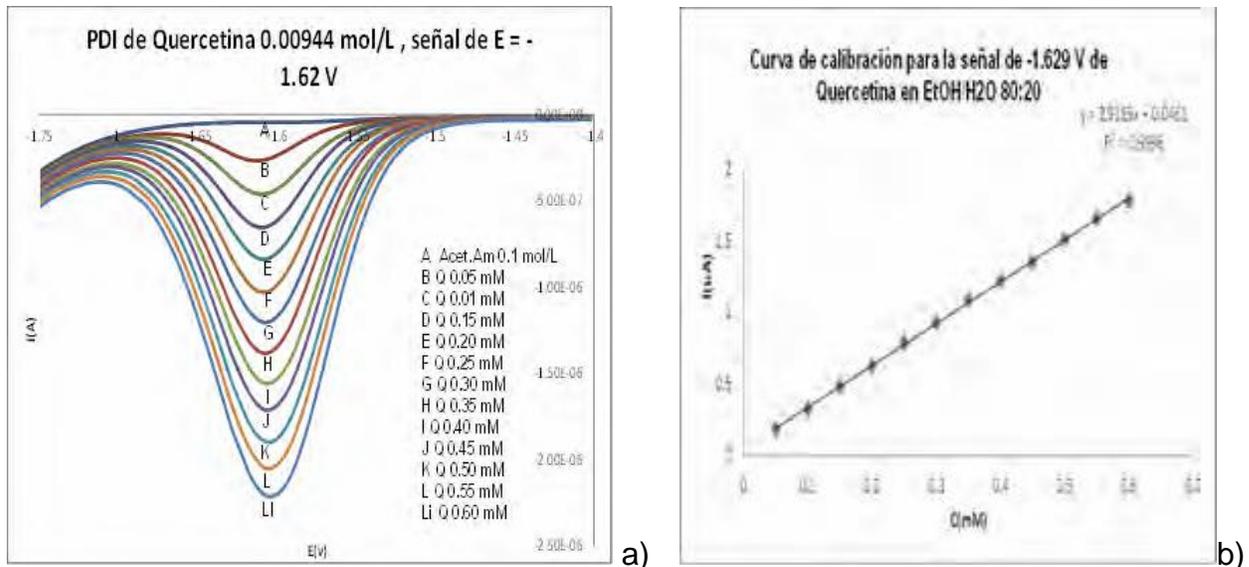


Figura 4 a) PDI para la señal de quercetina 0.0094 mol/L de $E = -1.63$ V, b) Curva de calibración para la señal de -1.63 V de quercetina.

La señal de -1.63 V presenta comportamiento lineal respecto a la concentración por lo que se puede utilizar con fines cuantitativos en muestras de caléndula comerciales.

CONCLUSIONES

La quercetina presenta una señal de oxidación y tres señales de reducción bajo las condiciones de trabajo mencionadas, solo la señal de reducción de -1.63 V es directamente proporcional a la concentración. El estudio logarítmico muestra que el potencial de media onda para esta señal es de -1.63 V, el número de electrones intercambiados puede ser mayor a 1.0, ya que se obtiene un valor de pendiente igual a 0.0423 en el gráfico del estudio logarítmico (figura 2).

La señal de -1.63 V puede ser utilizada con fines cuantitativos en muestras de antioxidantes comerciales.

La señal de oxidación se debe a la formación de la quinona correspondiente. En este medio no se observa para la señal de oxidación un comportamiento lineal con la concentración.

Presenta tres señales de reducción que se deben muy probablemente a la pérdida de un protón ácido y posterior estabilización por formación de puentes de hidrógeno.

El menor potencial de reducción de quercetina es el de -1.63 V y se cree que ese potencial muestra las propiedades antioxidantes de este flavonoide.

REFERENCIAS

- [1] A. Crozier, M. J. Lean, M. S. McDonald, C. Black. *J. Agric. Food Chem.* 45, 590 (1997)
- [2] Y. Hanasaki, S. Ogawa, S. Fukul. *Free Radical Biol. Med.* **16**, 845-850 (1994).
- [3] N. Haleagrajara, S. Miranda, M. Abdul, L. Hayes, G. Bird, N. Ketheesan. *Biomed. and Pharm.* **90**, 38-46 (2007).

Secretario de Investigación, Posgrado y Vinculación
Wilfrido Miguel Contreras Sánchez

Director de Difusión, Divulgación Científica y Tecnológica
Pablo Marín Olán

Jefe del Departamento de Publicaciones no Periódicas
Francisco Cubas Jiménez